

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych



**UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU**

Wydział Nauk Biologicznych
i Weterynaryjnych

mgr Ilona Rowińska

ROZPRAWA DOKTORSKA

**WPLÝW DIETY NA CHOROBY I ZMIANY W OBRĘBIE TKANEK
PRZYŻĘBIA INDUKOWANE PRZEZ MIKROBIOM BAKTERYJNY W
STANACH ZAPALNYCH JAMY USTNEJ LUDZI I ZWIERZĄT**

Effect of diet on diseases and changes in peraltage tissue induced by bacterial
microbiomes in oral and animal inflammation

Promotor pracy: dr hab. Paweł Kowalczyk prof. Instytut Fizjologii i Żywienia
Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polska Akademia Nauk

Promotor pomocniczy: dr n. med. lek. wet. Robert Paślawski Uniwersytet
Mikołaja Kopernika w Toruniu

TORUŃ 2022

Streszczenie.....	5
Streszczenie wersja angielska.....	6
Dane osobowe.....	7
Wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej.....	11
Lista publikacji popularno-naukowych opublikowanych w czasopismach spoza listy JCR	12
Spis skrótów	14
1. Wstęp.....	16
1.1. Jama ustna.....	16
1.1.1. Funkcje błony śluzowej jamy ustnej.....	16
1.1.1.1. Funkcja osłaniająca	16
1.1.1.2. Funkcja wchłaniania	17
1.1.1.3. Funkcja wydzielnicza	17
1.1.1.4. Funkcja czuciowa	18
1.1.1.5. Funkcja obronna.....	18
1.2. Fizjologiczna flora bakteryjna jamy ustnej	20
1.2.1. Kolonizacja mikroflorą jamy ustnej	23
1.2.1.1. Hamowanie procesów kolonizacji oporność na kolonizację	26
1.2.1.2. Wpływ temperatury na kolonizację jamy ustnej	26
1.2.1.3. Wpływ stężenia jonów wodorowych (pH) na kolonizację jamy ustnej	26
1.2.1.4. Wpływ potencjału oksydoredukcyjnego (Eh) na kolonizację jamy ustnej	27
1.2.2. Fizjologiczna flora bakteryjna ust i warg	27
1.2.3. Fizjologiczna flora bakteryjna nabłonka policzkowego	28
1.2.4. Fizjologiczna flora bakteryjna powierzchni języka	28
1.2.5. Fizjologiczna flora bakteryjna powierzchni naddziąsłowych zębów	28
1.2.6. Fizjologiczna flora bakteryjna powierzchni poddziąsłowych zębów, nabłonka szczelin i kieszonek dziąsłowych	29
1.3. Powstawanie płytki bakteryjnej i kamienia nazębnego	29
1.3.1. Płytki nazębna	29
1.3.2. Płytki naddziąsłowa	31

1.3.3. Płytką poddziałowa	31
1.3.4. Kamień naddziałowy	31
1.3.5. Kamień poddziałowy	32
1.4. Podział flory bakteryjnej jamy ustnej na kompleksy wg. Socransky'ego	32
1.4.1. Zespół niebieski	33
1.4.2. Zespół żółty	34
1.4.3. Zespół zielony	35
1.4.4. Zespół fioletowy	36
1.4.5. Zespół pomarańczowy	36
1.4.6. Zespół czerwony	36
1.5. Stany zapalne w jamie ustnej	38
1.5.1. Stres oksydacyjny - stymulator stanów zapalnych	39
1.5.2. Klasyfikacja chorób i zmian w obrębie tkanek przyzębia oraz tkanek wokół implantów	41
1.6. Dieta	45
1.6.1. Cukry	46
1.6.2. Białka	47
1.6.3. Tłuszcze	47
1.6.4. Witaminy	48
1.6.5. Antyoksydanty	51
1.6.6. Składniki mineralne	52
1.6.7. Suplementy diety	53
1.6.8. Wpływ diety na rozwój chorób przyzębia	55
1.6.9. Wpływ higieny jamy ustnej na choroby przyzębia	57
2. Cele pracy.....	58
3. Materiały i metody	58
3.1. Regulacje prawne	58
3.2. Pacjenci	59

3.3.	Techniki badawcze	62
3.3.1.	Techniki stomatologiczne – wskaźniki	62
3.3.2.	Techniki biomedyczne	67
3.4.	Hodowla inoculum bakteryjnego	68
3.5.	Analiza biofilmów bakteryjnych	68
3.5.1.	Test aktywności przeciwdrobnoustrojowej	69
3.5.2.	Analiza statystyczna	69
4.	Wyniki	69
4.1.	Analiza wskaźników stomatologicznych	69
4.1.1.	Wskaźnik fuksynowy	69
4.1.2.	Wskaźnik PI.I	70
4.1.3.	Wskaźnik OHI	70
4.1.4.	Wskaźnik API	70
4.1.5.	Wskaźnik PBI	70
4.1.6.	Wskaźnik CPITN	71
4.1.7.	Techniki stomatologiczne	73
4.1.8.	Analiza podobieństw w występowaniu drobnoustrojów i porównanie składu płytki bakteryjnej ludzi przebywających ze zwierzętami gospodarskimi lub domowymi, a osobami nie mającymi takiego kontaktu	76
4.1.9.	Oszacowanie jakie pokarmy w największym stopniu wywołują stres oksydacyjny w jamie ustnej ludzi i zwierząt	84
5.	Dyskusja	87
5.1.	Oszacowanie wpływu różnych typów diet w indukcji stanów zapalnych tkanek miękkich w jamie ustnej w obecności zalegającej płytki bakteryjnej i przy braku zalegającej płytki bakteryjnej nad- i poddziąsłowej	87
6.	Wnioski	94
7.	Literatura.....	95
8.	Załączniki	108

Streszczenie

Fizjologiczna flora bakteryjna jamy ustnej jest różnorodna, a skład mikroflory jest związany z dietą. Mniej zróżnicowana mikroflora jamy ustnej może sprzyjać rozwojowi bakterii chorobotwórczych wszystkich kompleksów bakteryjnych. Dane literaturowe wskazują, że zaburzenia równowagi flory bakteryjnej jamy ustnej wydają się przyczyniać zarówno do chorób jamy ustnej, jak i chorób ogólnoustrojowych. Nielezione zapalenie przyzębia może uszkodzić dziąsła i kości wyrostka zębodołowego, prowadzić do paradontozy i przedwczesnej utraty zębów. Coraz większym problemem w krajach wysoko rozwiniętych są niewłaściwe nawyki żywieniowe związane ze spożywaniem żywności wysoko przetworzonej, która ma niekorzystny wpływ na mikrobiom jamy ustnej i jelit, co zwiększa ryzyko wielu chorób przewlekłych, w tym zapalenia jelit, otyłości, cukrzycy typu 2, chorób układu krążenia i nowotworów. Choroba przyzębia jest już traktowana jako choroba cywilizacyjna. Celem badań było określenie wpływu różnych diet na powstawanie stresu oksydacyjnego i stanów zapalnych wywołanych przez biofilm bakteryjny w jamie ustnej. W badaniach wykorzystano dietę bogatą w warzywa (W), dietę bogatą w tłuszcze omega-3 (T), dietę białkową (B), dietę mieszaną (F) oraz nieinwazyjnie zebrany materiał biologiczny w postaci inokulum bakteryjnego powierzchni zębów, od ochotników nie posiadających zwierząt, posiadaczy zwierząt domowych, gospodarskich oraz ich zwierząt. Poprzez badania stomatologiczne, biomedyczne i laboratoryjne oceniliśmy wpływ stresu oksydacyjnego na stan zapalny tkanek miękkich w jamie ustnej w obecności zalegającego biofilmu nad- i poddziąsłowego. Analizowany materiał hodowano na pożywkach kompletnych i selektywnych wobec określonych szczepów wszystkich kompleksów bakteryjnych, a następnie izolowano DNA bakterii, wykonywano badania PCR i sekwencjonowanie. Wykazano, że najważniejszymi periopatogenami mikroflory jamy ustnej są bakterie wszystkich kompleksów, w tym kompleksu czerwonego. Uzyskane wyniki sugerują, że spożywanie diety warzywnej we wszystkich analizowanych grupach: ludzi i zwierząt mogą być pomocne w profilaktyce i leczeniu chorób przyzębia. Opracowany schemat badania przyzębia może być skutecznie wykorzystywany jako test przesiewowy do analizy mikrobioty bakteryjnej jamy ustnej i być narzędziem diagnostycznym dla profesjonalistów oraz osób dbających o prawidłową higienę jamy ustnej.

Abstract

The physiological bacterial flora of the oral cavity is diverse and the composition of the microflora is related to the diet. Less diversified microflora of the oral cavity may favor the growth of pathogenic bacteria of all bacterial complexes. Literature data indicate that disturbances in the balance of the oral bacterial flora appear to contribute to both oral and systemic diseases. Untreated periodontitis can damage the gums and bones of the alveolar process, leading to periodontitis and premature tooth loss. Improper eating habits related to the consumption of highly processed foods, which adversely affect the oral and intestinal microbiome, increasing the risk of many chronic diseases, including enteritis, obesity, type 2 diabetes and cardiovascular disease are an increasing problem in developed countries. and cancer. Periodontal diseases are already treated as a civilization disease. The subject of our considerations is the influence of the type of diet on the formation of oxidative stress and inflammation caused by the bacterial biofilm in the oral cavity. The studies used a diet rich in vegetables W, a diet rich in T fats, a protein diet B, a diet of mixing F and non-invasively collected biological material in the form of a bacterial inoculum of the tooth surface from volunteers and their animals. Through dental, biomedical and laboratory tests, we assessed the influence of oxidative stress on the inflammation of the soft tissues in the oral cavity in the presence of residual supra- and subgingival biofilm. The analyzed material was grown on media that was complete and selective for specific strains of all bacterial complexes. It has been shown that the most important periopathogens of the oral microflora are bacteria of all complexes, including the red complex. Additionally, the zones of growth inhibition were analyzed by the disc diffusion method. The research was supplemented with the use of molecular biology methods related to bacterial DNA isolation, PCR reactions and sequencing. The results obtained suggest that eating a specific diet rich in vegetables can be helpful in the prevention and treatment of periodontal diseases, and the selected methods are an ideal screening test for the analysis of oral bacterial microbiota. It seems that the developed periodontal examination scheme can be practically a useful diagnostic tool for professionals and anyone interested in proper oral hygiene.

Dane osobowe

1. Imię i nazwisko: Ilona Rowińska

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/artystyczne z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu prac dyplomowych

- magister w zakresie Promocji Zdrowia (2005r.), tytuł pracy magisterskiej: "Wiedza higieny jamy ustnej dzieci i młodzieży z wadami zgryzu".
- licencjat w zakresie Edukacji Zdrowotnej (2003r.)
- dyplomowana Higienistka Stomatologiczna (1986r.)
- 2003-2005 Wydział Pedagogiki i Psychologii - Akademia Bydgoska – studia magisterskie, w zakresie Promocji Zdrowia
- 2000-2003 Wydział Pedagogiki i Psychologii - Akademia Bydgoska – studia licencjackie, w zakresie Edukacji Zdrowia
- 1985- 1986 Policealne Studium Medyczne w Toruniu - kierunek Higienistka Stomatologiczna
- Egzaminator państwowy w zawodach Higienistka stomatologiczna, Asystentka stomatologiczna

- tytuł zawodowy:

- magister wydziału Pedagogiki i Psychologii w zakresie promocji zdrowia
- higienistka stomatologiczna
- nauczyciel mianowany

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/artystycznych:

- od 2006 roku, do chwili obecnej, Policealna Szkoła Medyczna /Medyczno-Społeczne Centrum Kształcenia Zawodowego i Ustawicznego w Toruniu, stanowisko - nauczyciel przedmiotów zawodowych teoretycznych i praktycznych na kierunkach: Higienistka Stomatologiczna i Asystentka Stomatologiczna
- październik 2013 - styczeń 2015 SKK (Szkoły Kursy Kariera) Bydgoszcz, stanowisko - nauczyciel przedmiotów zawodowych teoretycznych i praktycznych na kierunku Asystentka Stomatologiczna

- wrzesień 2012r. - czerwiec 2013 Szkoła Policealna TEB Edukacja, stanowisko - nauczyciel przedmiotów zawodowych teoretycznych i praktycznych na kierunku Asystentka Stomatologiczna

Dodatkowe osiągnięcia

- 2011, 2010, 2015, 2018, 2019, 2020, 2021 rok - Nagroda Dyrektora Szkoły za osiągnięcia w pracy i przygotowanie słuchaczy do egzaminów zewnętrznych
- 2017 - odznaczenie "Złoty Medal za Długoletnią Służbę"
- 2016 - Nagroda Zarządu Województwa Kujawsko - Pomorskiego
- 2014 - otrzymanie potwierdzenia wpisu do ewidencji egzaminatorów Okręgowej Komisji Egzaminacyjnej w Gdańsku, jako egzaminator potwierdzający kwalifikacje w zawodzie 325102 Higienistka stomatologiczna
- 2010 - otrzymanie potwierdzenia wpisu do ewidencji egzaminatorów Okręgowej Komisji Egzaminacyjnej w Gdańsku, jako egzaminator potwierdzający kwalifikacje w zawodzie 325101 Asystentka stomatologiczna
- 2017 - recenzent Podstawy Programowej w zawodzie Asystentka stomatologiczna nr zawodu 325101 współpraca z Skarb Państwa - Ośrodek Rozwoju Edukacji w Warszawie w ramach projektu „Partnerstwo na rzecz kształcenia zawodowego”. Projekt w ramach Funduszy Europejskich, Etap 3: Edukacja zawodowa odpowiadająca potrzebom rynku pracy
- 2017 - współautorka Podstawy Programowej w zawodzie Higienistka stomatologiczna nr zawodu 325102 współpraca z Skarb Państwa - Ośrodek Rozwoju Edukacji w Warszawie w ramach projektu „Partnerstwo na rzecz kształcenia zawodowego”. Projekt w ramach Funduszy Europejskich, Etap 3: Edukacja zawodowa odpowiadająca potrzebom rynku pracy
- 2017 - współpraca z Skarb Państwa -Ośrodek Rozwoju Edukacji w Warszawie w ramach projektu „Partnerstwo na rzecz kształcenia zawodowego”. Projekt w ramach Funduszy Europejskich Wiedza Edukacja Rozwój, Etap 1:Forum partnerów społecznych współfinansowany ze środków Unii Europejskiej w ramach

Europejskiego Funduszu Społecznego, zadanie 1: Przegląd i aktualizacja dokumentów programowych szkolnictwa zawodowego

- 2016 - współpraca z Skarb Państwa - Krajowym Ośrodkiem Wspierania Edukacji Zawodowej i Ustawicznej (KOWEZiU), Ośrodkiem Rozwoju Edukacji, Ministerstwem Edukacji Narodowej w ramach projektu: Partnerstwo na rzecz kształcenia zawodowego. Etap 1: Forum partnerów społecznych. Projekt współfinansowany przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego
- w 2014 - współpraca z Departamentem Edukacji Ministerstwa Zdrowia w ramach procesu nostryfikacji dokumentów Higienisty stomatologicznego, który ukończył proces kształcenia w zawodzie Higienista stomatologiczny we Włoszech
- 2016 - współpraca z Departamentem Edukacji Ministerstwa Zdrowia w ramach procesu nostryfikacji dokumentów Higienistek stomatologicznych, które ukończyły kształcenia w zawodzie Higienistka stomatologiczna: w Niemczech i na Litwie
- 2012 - autorka zadań Egzaminów Zawodowych w zawodach Asystentka stomatologiczna i Higienistka stomatologiczna, współpraca z Centralną Komisją Egzaminacyjną w Warszawie w ramach projektu „Modernizacja egzaminów potwierdzających kwalifikacje zawodowe w ramach Działania 3.2 Rozwój systemu egzaminów zewnętrznych”, Projekt III, „Wysoka jakość systemu oświaty”, projekt współfinansowany z Europejskiego Funduszu Społecznego
- 2011 - recenzentka Programu nauczania w kwalifikacji Z.14.-Higienistka stomatologiczna w ramach współpracy z Skarb Państwa - Krajowym Ośrodkiem Wspierania Edukacji Zawodowej i Ustawicznej (KOWEZiU), Ministerstwem Edukacji Narodowej
- 2021 - prelegentka na Konferencji Stomatologicznej Ekspodent, organizator Ekspodent, Hotel Filmar w Toruniu
- 25.11.2021 - prezentacja wyników własnych na forum Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kilińskiego w Jabłoncej
- 25.02.2021 - prezentacja wyników własnych na forum Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kilińskiego w Jabłoncej
- 2019 - prelegentka na Konferencji Stomatologicznej Ekspodent, organizator Ekspodent, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

- 2018 - prelegentka na Konferencji "Nowotwory - wyzwanie profilaktyki XXI wieku", Medyczo-Społeczne Centrum Kształcenia Zawodowego i Ustawicznego w Toruniu, Urząd Marszałkowski w Toruniu.
- 2016 - prelegentka na Konferencji dla dyrektorów i nauczycieli szkół kształcących dyplomowanych Opiekunów medycznych "Opiekun medyczny - wyzwaniem XXI wieku", Medyczo-Społeczne Centrum Kształcenia Zawodowego i Ustawicznego w Toruniu, Toruń
- 2016 - prelegentka na Targach Stomatologicznych „Krakdent”, sesja praktyczna dla Higienistek stomatologicznych, Stowarzyszenie Polskich Higienistek Stomatologicznych we współpracy z firmą Krakdent, Kraków
- 2013 - prelegentka na II Konferencji dla asystentek i higienistek stomatologicznych, ELAMED spółka z o.o. w Katowicach, Toruń
- 2013 - prelegentka III Konferencji dla asystentek i higienistek stomatologicznych, ELAMED spółka z o.o. w Katowicach, Wrocław
- 2014 - prelegentka IV Konferencji dla asystentek i higienistek stomatologicznych, ELAMED spółka z o.o. w Katowicach, Katowice
- 2014 - współorganizatorka i pomysłodawczyni Konferencji dla dyrektorów i nauczycieli szkół kształcących dyplomowane asystentki stomatologiczne i dyplomowane higienistki stomatologiczne, "Dobre kształcenie szansą na dobrą pracę", Medyczo-Społeczne Centrum Kształcenia Zawodowego i Ustawicznego w Toruniu, Toruń
- 2016/17 - członek Komitetów Naukowego i Organizacyjnego III Ogólnopolskiej Olimpiady z wiedzy dla Higienistek Stomatologicznych, organizatorzy: Stowarzyszenie Polskich Higienistek Stomatologicznych we współpracy z firmą Oral-B, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Łódź
- 2015/16 - członek Komitetu Naukowego II Ogólnopolskiej Olimpiady z wiedzy dla Higienistek Stomatologicznych, organizatorzy: Stowarzyszenie Polskich Higienistek Stomatologicznych we współpracy z firmą Oral-B, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Łódź
- 2014/15 - członek Komitetów Naukowego i Organizacyjnego I Ogólnopolskiej Olimpiady z wiedzy dla Higienistek Stomatologicznych organizatorzy: Stowarzyszenie Polskich Higienistek Stomatologicznych we współpracy z firmą Oral-B, Medyczo-Społeczne Centrum Kształcenia Zawodowego i Ustawicznego w Toruniu, Toruń.

Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 13 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2013r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.).

Jednotematyczny cykl publikacji: Wpływ diety na choroby i zmiany w obrębie tkanek przyzębia indukowane stresem oksydacyjnym i stanami zapalnymi w jamie ustnej ludzi i zwierząt

Wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej:

1. Rowińska I, Szyperska-Ślaska A, Zariczny P, Paślawski R, Kramkowski K, Kowalczyk P. Impact of the Diet on the Formation of Oxidative Stress and Inflammation Induced by Bacterial Biofilm in the Oral Cavity. *Materials* **2021**, *14*, 1372. doi: [10.3390/ma14061372](https://doi.org/10.3390/ma14061372), MNiSW: 140 pkt; IF: 3,623

Wkład w autorstwo: 60% - mój udział polegał na współtworzeniu koncepcji badania, przeprowadzeniu badań klinicznych, opracowaniu wyników, analizie statystycznej i przygotowaniu manuskryptu wspólnie z wszystkimi współautorami.

2. Rowińska I, Szyperska-Ślaska A, Zariczny P, Paślawski R, Kramkowski K, Kowalczyk P. The Influence of Diet on Oxidative Stress and Inflammation Induced by Bacterial Biofilms in the Human Oral Cavity. *Materials* **2021**, *14*, 1444. doi: [10.3390/ma14061444](https://doi.org/10.3390/ma14061444), MNiSW: 140 pkt; IF: 3,623

Wkład w autorstwo: 60% - mój udział polegał na współtworzeniu koncepcji badania, wykonaniu części klinicznej badania, opracowaniu wyników, analizie statystycznej i przygotowaniu manuskryptu we współpracy z wszystkimi współautorami.

3. Rowińska I, Lizut R, Zariczny P, Paślawski R, Kramkowski K, Skiba G, Raj S, Kowalczyk P. Effect of Diet on the Induction of Pathogens in the Oral Cavity of Humans and Animals *EC Veterinary Science* **2021**, *6.9*, doi: MNiSW: 5 pkt;

Wkład w autorstwo: 51% - mój udział polegał na współtworzeniu koncepcji badania oraz wykonaniu badania klinicznego Przeprowadziłam analizę statystyczną i przygotowałam manuskrypt, który omówiłam ze wszystkimi współautorami.

**Lista publikacji popularno-naukowych opublikowanych w czasopismach
spoza listy JCR**

1. Rowińska-Bojanowska I.: Skaling, ręczne usuwanie kamienia, narzędzia i sposoby. Asystentka i higienistka stomatologiczna AS MEDIA 2008, 2 (10), 8-13. ISSN 1895-6920. MNiSW: 5 pkt.
2. Rowińska-Bojanowska I.: Jak wyedukować pacjenta w zakresie higieny jamy ustnej cz. I. Asystentka i higienistka stomatologiczna, AS MEDIA 2008, 3 (11), 24-29 ISSN 1895-6920. MNiSW: 5 pkt.
3. Rowińska-Bojanowska I.: Jak wyedukować pacjenta w zakresie higieny jamy ustnej cz. II. Asystentka i higienistka stomatologiczna, AS MEDIA 2008, 4(12), 2018 -24. ISSN 1895-6920. MNiSW: 5 pkt.
4. Rowińska-Bojanowska I.: Jak wyedukować pacjenta w zakresie higieny jamy ustnej cz. III. Asystentka i higienistka stomatologiczna, AS MEDIA 2009, 2(14), 20 -27. ISSN 1895-6920. MNiSW: 5 pkt.
5. Rowińska-Bojanowska I.: Jak wyedukować pacjenta w zakresie higieny jamy ustnej cz. IV. Asystentka i higienistka stomatologiczna, AS MEDIA 2009, 3(15), 26 -31. ISSN 1895-6920. MNiSW: 5 pkt.
6. Rowińska-Bojanowska I.: Oczyszczanie przestrzeni międzyzębowych nitką dentystyczną. Asystentka i higienistka stomatologiczna, AS MEDIA 2010, 3(19), 112-116. ISSN 1895-6920. MNiSW: 5 pkt.
7. Rowińska-Bojanowska I.: Oczyszczanie przestrzeni międzyzębowych szczoteczką międzyzębową. Asystentka i higienistka stomatologiczna, AS MEDIA 2011, 2(22), 12-16. ISSN 1895-6920. MNiSW: 5 pkt.
8. Rowińska-Bojanowska I.: Oczyszczanie przestrzeni międzyzębowych nitką dentystyczną. Asystentka i higienistka stomatologiczna, AS MEDIA 2011, 4(24), 22-26. ISSN 1895-6920. MNiSW: 5 pkt
9. Rowińska-Bojanowska I.: Dobre kształcenie szansą na dobrą pracę. Asystentka i higienistka stomatologiczna, AS MEDIA 2015, 1(37), 5. ISSN 1895-6920. MNiSW: 5 pkt.
10. Rowińska-Bojanowska I.: Dlaczego warto prowadzić gabinet profilaktyki dentystycznej, Medical Maestro 2014, 4, 505-508. ISSN 2353-3560, MNiSW: 5 pkt.
11. Rowińska-Bojanowska I.: Higiena w gabinecie dentystycznym cz.3., Medical Maestro, 2014, 7, 974-975. ISSN 2353-3560, MNiSW: 5 pkt.

12. Rowińska-Bojanowska I.: Higiena w gabinecie dentystycznym cz.2., Medical Maestro, 2014, 6, 812-814. ISSN 2353-3560. MNiSW: 5 pkt.
13. Rowińska-Bojanowska I.: Higiena w gabinecie dentystycznym cz.1., Medical Maestro, 2014, 7, 664-666. ISSN 2353-3560. MNiSW: 5 pkt.
14. Rowińska-Bojanowska I.: Fizjologia a senior w gabinecie dentystycznym., Medical Maestro, 2015, 10, 1428-1430. ISSN 2353-3560. MNiSW: 5 pkt.

Wskaźniki bibliometryczne:

Sumaryczny IF: 7,246

Suma pkt. MNiSW: 345

Cytowania wg Web of Science: 25, h-index: 2

Cytowania wg Scopus, h-index: 23, h-index: 2

Spis skrótów

<i>A. odontolyticus</i>	<i>Actinomyces odontolyticus</i>
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	<i>Actinomyces actinomycetemcomitans</i>
<i>A. israeli</i>	<i>Actinomyces Israeli</i>
<i>A. meyeri</i>	<i>Actinomyces meyeri</i>
<i>A. naeslundii</i>	<i>Acinetobacter naeslundii</i>
<i>A. viscosus</i>	<i>Acinetobacter viscosus</i>
AP-1	Activating protein-1, białko aktywizujące 1
API	Aproximal Plaque Index, wskaźnik stomatologiczny służący do uwidocznienia i oszacowania obecności płytki bakteryjnej w przestrzeniach międzyzębowych
APP	American Academy of Periodontology
<i>C. concisus</i>	<i>Campylobacter concisus</i>
<i>C. albicans</i>	<i>Canida albicans</i>
<i>C. martuchotii</i>	<i>Corynebacterium martuchotii</i>
CI	Calcification index, ocena obecności uwapnionej (skalcyfikowanej) płytki bakteryjnej - parametr pomocniczy do obliczenia wskaźnika higieny jamy ustnej (OHI)
CPITN	Community Periodontal Index for Treatment Needs - wskaźnik określający potrzebę leczenia chorób przyzębia za pomocą oceny klinicznej obecności lub braku kieszonek przyzębnych, kamienia nazębnego i krwawienia dziąseł
<i>C. rectus</i>	<i>Camphylobacter rectus</i>
DI	Wskaźnik miękkiego nalotu nazębnego, w ocenie obecności miękkiej płytki bateryjnej - jeden z parametrów do obliczenia wskaźnika higieny jamy ustnej (OHI)
Eh	potencjał oksydoredukcyjny
<i>E. corrodens</i>	<i>Eikenella corrodens</i>
<i>E. nodatum</i>	<i>Eubacterium nodatum</i>
EPP	European Federation of Periodontology
<i>F. nucleatum</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
ICAM-1	(Intercellular Adhesion Molecule, znane jako CD54
ICD kod-	Międzynarodowa klasyfikacja statystyczna chorób
IL-8	Interleukina 8
klasyfikacja EFP/AAP	Clasification of American Academy of Periodontology (AAP) and the European Federation of Periodontology (EFP).
<i>L. salivarius</i>	<i>Ligilactobacillus salivarius</i>
<i>L. delbrueckii</i>	<i>Ligilactobacillus delbrueckii</i>
mV	millivolt, jednostka potencjału elektrycznego, napięcia elektrycznego i siły elektromotorycznej
NFkB	nuclear factor kappa B, jądrowy czynnik transkrypcyjny kappa B
Nrf2	Nuclear arythroid 2-related factor
<i>N. sicca</i>	<i>Neisseria sicca</i>

<i>N. subflavia</i>	<i>Neisseria subflavia</i>
OHI	Oral Hygiene Index - wskaźnik higieny jamy ustnej, określający obecność nalotu i kamienia nazębnego
<i>P. acynes</i>	<i>Propionibacterium acynes</i>
<i>P. asaccharolytica</i>	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>
PBI	Papilla Bleeding Index - służy do oceny krwawienia brodawek międzyzębowych
<i>P. endodontalis</i>	<i>Porphyromonas endodontalis</i>
<i>P. gingivalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
pH	ilościowa skala kwasowości i zasadowości roztworów wodnych związków chemicznych
Pl.I.	Plaque Index - wskaźnik służący do oceny grubości płytki bakteryjnej w okolicy szyjki zęba
<i>P. intermedia</i>	<i>Prevotella intermedia</i>
<i>P. melaninogenica</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>
<i>P. nigrescens</i>	<i>Prevotella nigrescens</i>
<i>P. micros</i>	<i>Peptostreptococcus micros</i>
<i>S. anginosus,</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>S. constellatus</i>	<i>Streptococcus constellatus</i>
<i>S. gordonii</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>
<i>S. intermedius</i>	<i>Streptococcus intermermedius</i>
<i>S. mitis</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>S. milieri</i>	<i>Streptococcus milleri</i>
<i>S. oralis</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>S. pyogenes</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>S. salivarius</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>S. sanguinis</i>	<i>Streptococcus sanguinis</i>
<i>S. mutans</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>S. vestibularis</i>	<i>Streptococcus vestibularis</i>
<i>T. forsythia</i>	<i>Tannerella forsythia</i>
<i>T. amylorolerum</i>	<i>Treponema amylovolum</i>
<i>T. denticola</i>	<i>Treponema denticola</i>
<i>T. lecthinolyticum</i>	<i>Treponema lecthinolyticum</i>
<i>T. maltophilum</i>	<i>Treponema maltophilum</i>
<i>T. medium</i>	<i>Treponema medium</i>
<i>T. pectinovorum</i>	<i>Treponema pectinovorum</i>
<i>T. vincenti</i>	<i>Treponema vincenti</i>
<i>V. alcalescens</i>	<i>Veillonella alcalescens</i>
<i>V. parvula</i>	<i>Veillonella parvula</i>
WHO	World Health Organisation, Światowa Organizacja Zdrowia

1. Wstęp

Przegląd piśmiennictwa dotyczącego tematu pracy doktorskiej i stanowiący pierwszą część dysertacji został opublikowany w pracy pt. "The influence of diet on oxidative stress and inflammation induced by bacterial biofilms in the human oral cavity" czasopismo Materials rok 2021, nr14, 1372. <https://doi.org/10.3390/ma14061372>.

1.1. Jama ustna

Jama ustna jest bardzo szczególnym środowiskiem, ogrywającym niezwykle istotną rolę dla całego organizmu. Jest początkiem układu pokarmowego, układu oddechowego, bierze udział w formowaniu dźwięków, pełni funkcje: osłaniającą, obronną, smakową, wydzielniczą, czuciową, zachodzą w niej procesy wchłaniania i przygotowania pokarmów do dalszych procesów trawiennych. Zdrowie jamy ustnej w znaczny sposób determinuje jakość życia człowieka. O jakości życia decyduje: brak bólu, obecność zębów, dostateczna ilość śliny, zdolność żucia, komfort żucia, brak objawów dysfunkcji spowodowanych chorobami przyzębia, estetyczny wygląd twarzy i prawidłowe odczuwanie smaku.

1.1.1. Funkcje błony śluzowej jamy ustnej

Błona śluzowa jamy ustnej pełni funkcję osłaniającą, obronną, wchłaniania, czuciową i wydzielniczą [1,2].

1.1.1.1. Funkcja osłaniająca

Nieuszkodzony nabłonek wielowarstwowy płaski wyściełający jamę ustną stanowi barierę dla większości drobnoustrojów. Wyjątek stanowią wirusy (drobnoustroje chorobotwórcze, niewidzialne przez mikroskop, przesączalne przez filtry i rozwijające się tylko wewnątrz żywej komórki) [1,2]. Nabłonek jamy ustnej ulega stałej odnowie. Komórki warstwy podstawnej nabłonka dojrzewają i przemieszczają się w kierunku powierzchni, a następnie złuszcza się wraz z drobnoustrojami osiadającymi na ich powierzchni. Poniżej nabłonka znajduje się błona śluzowa właściwa. W tej warstwie znajdują się między innymi: gruczoły ślinowe, naczynia krwionośne, naczynia limfatyczne, nerwy, fibroblasty, fibrocyty, niewielkie skupiska limfocytów, mięśnie gładkie, włókna

kolagenowe i sprężyste. Warstwa podśluzówkowa ma szczególne znaczenie w miejscach narażonych na rozciąganie i napinanie.

1.1.1.2. Funkcja wchłaniania

Błona śluzowa w okolicy podjęzykowej i na dnie jamy ustnej ma największą zdolność wchłaniania niektórych substancji chemicznych, szczególnie tych które rozpuszczają się w tłuszczach. Dobrze wchłaniana jest również nikotyna, nitrogliceryna, alkohol, cyjanek potasu i in..

1.1.1.3. Funkcja wydzielnicza

Na całej błonie śluzowej rozmieszczone są drobne gruczoły ślinowe, ale większość śliny wytwarzają gruczoły ślinowe przyuszne, podżuchwowe i podjęzykowe. Ilość wydzielanej śliny jest sprawą indywidualną, przeciętnie u dorosłego człowieka wynosi od 1 - 1,5 litra na dobę. O jej wydzielaniu decyduje wiele czynników, np. bodźce mechaniczne, termiczne, smakowe, zapachowe, psychiczne, spożywane pokarmy czy miejscowe czynniki drażniące. Stymulacja układu nerwowego przywspółczulnego powoduje wydzielanie dużej ilości śliny wodnistej, a stymulacja układu współczulnego powoduje mniejsze jej wydzielanie, a powstająca ślina jest gęsta. Na wydzielanie śliny mają też wpływ uwarunkowania anatomiczne, choroby ogólnoustrojowe, przyjmowane leki (ok. 430 leków zaburza jej wydzielanie), wady zgryzu, aparat ortodontyczny, uzupełnienia protetyczne i utrata zębów. Fakt, że ślina wytwarzana jest w różnych ilościach jest istotny, gdyż ilość śliny ma duży wpływ na rozwój próchnicy. Ślina ma właściwości buforujące. Zdolność buforowania zależy od stężenia kationów sodu, wapnia, potasu, anionu chlorkowego, fosforanowego i węglanowego, jak również stężenia białek i peptydów. Dzięki zdolności buforowania śliny stężenie jonów wodorowych jest stabilne i mieści się w zazwyczaj w przedziale pH 6,8 - 7,3 (waha się od 4,5 - 8,0). Ślina w 99% składa się z wody i w 1% ze składników organicznych i nieorganicznych. Zawarta w ślinie mucyna umożliwia zlepianie rozgryzionego pokarmu i tworzenie kęsów pokarmowych.

Ze śliną wydalane są produkty przemiany materii, związki wewnętrznego i zewnętrznego pochodzenia. W składzie śliny wyodrębniono wolne aminokwasy, niewielkie ilości węglowodanów i mocznik. W ślinie mogą być obecne ponadto alfa, beta i gamma amylazy oraz hormony [1-12].

Ślina bierze udział w trawieniu pokarmów, odbieraniu wrażeń smakowych, reguluje przyjmowanie wody i wpływa na odczucie pragnienia.

1.1.1.4. Funkcja czuciowa.

Błona śluzowa ma bardzo rozbudowany aparat czuciowy, dzięki czemu odbiera smak, dotyk, ból, ciepło, a ostatnio wykazano również, że zapach [1]. Bodźce smakowe odbierają kubki smakowe rozmieszczone na języku, podniebieniu, nabłonku gardła, nagłośni i górnej części przełyku. Skupiska kubków smakowych na języku umiejscowione są w brodawkach języka: okolonych, grzybowatych i liściastych. Narząd smaku mieści się w kubkach smakowych, które zbudowane są z wrzecionowatych komórek smakowych i walcowatych komórek podstawnych. Do podstawy komórek smakowych dochodzą zakończenia nerwowe IX nerwu czaszkowego (nerw językowo-gardłowy) odbierający bodźce smakowe z brodawek okolonych i liściastych oraz VII nerwu czaszkowego (nerw twarzowy) odbierający bodźce smakowe z brodawek grzybowatych. Najsilniej odczuwa się smak słodki na końcu języka, kwaśny na bokach języka, gorzki u nasady. Najwrażliwsze na dotyk są wargi i koniec języka. Cała błona śluzowa jamy ustnej posiada receptory czucia bólu i temperatury. Jako nieprzyjemna jest odczuwana temperatura poniżej 0° C i powyżej 70° C.

1.1.1.5. Funkcja obronna

Wyróżniamy dwa rodzaje mechanizmów obronnych: nieswoiste i swoiste.

Obrona nieswoista

Do nieswoistych mechanizmów obronnych w jamie ustnej zalicza się: ciągłość szkliska i błony śluzowej, złuszczenie nabłonka, obecność mikroflory fizjologicznej, automatyczne ruchy mięśni żucia (mastykacja) i języka podczas żucia oraz przepływ śliny.

Jak wspomniano wyżej nieuszkodzona błona śluzowa jamy ustnej stanowi barierę dla większości drobnoustrojów. Drobnoustroje te są stale splukiwane z powierzchni błony śluzowej, ale tylko wówczas gdy jest wytwarzana prawidłowa ilość śliny. Wychwytyją je mucyny - glikoproteiny, o silnych właściwościach adhezyjnych. Mucyny łączą bakterie w większe kompleksy - łatwiejsze do połknięcia. Ponadto utrudniają swoistą adhezję bakterii do tkanek. Niekiedy

jednak np. w stanach, gdy wytwarzana jest ślina o nadmiernej lepkości, agregaty te mogą gromadzić się na powierzchniach w jamie ustnej i stanowić podstawowe źródło pokarmu dla wielu innych drobnoustrojów. Zwiększona lepkość śliny działa niekorzystnie i w inny sposób, ponieważ sprzyja przylepianiu się resztek pokarmowych do powierzchni szkliwa i odkładaniu się kamienia nazębnego.

Ślina zawiera ciała buforowe, które zmieniają odczyn śliny i wykazują zdolności immunomodelujące. Istotnymi substancjami przeciwbakteryjnymi występującymi w ślinie są: lizozym, laktoferryna, histatyny, układ sialoperoksydazowy, stateryna, apolaktoferryna i bakteriocyny.

Lizozym (muramidaza) rozszczepia wiązania w ścianie komórkowej bakterii pomiędzy N-acetyloglukozaminą i kwasem N-acetylmuraminowym peptydoglikanu. Odczyn kwaśny śliny ($\text{pH} < 5$), wzmacnia lityczne działanie lizozymu.

Laktoferryna jest białkiem wiążącym żelazo, dzięki czemu blokuje wzrost drobnoustrojów, więc działa bakteriostatycznie.

Apolaktoferryna (forma laktoferryny wolna od żelaza) jest białkiem działającym bakteriobójczo w stosunku do *S. mutans* w środowisku tlenowym.

Układ sialoperoksydazy. Do układu sialoperoksydazowego należą: sialopreksydaza, nadtlenek wodoru i jony rodankowe. Podczas utleniania rodanków wytwarzany jest kwas hipocjanowy (peroksydaza + H_2O_2) o właściwościach bakteriobójczych. [1-5,12,24,43,93,96]. Nadtlenek wodoru jest produktem końcowym metabolizmu niektórych drobnoustrojów wchodzących w skład stałej flory bakteryjnej (*S. sanguis*, *S. mitis*).

Histatyny działają bakteriobójczo i bakteriostatycznie na *S. mutans*, *C. albicans*. Zbadano, że mogą regulować ilość grzybów drożdżopodobnych w jamie ustnej.

Stateryna jest białkiem, produkowanym w śliniankach, hamuje precypitację fosforanów wapnia z przesyconej nim śliny i zapobiega odkładaniu się kamienia nazębnego.

Bakteriocyny są peptydami o właściwościach bakteriobójczych - hamują syntezę DNA i RNA lub biosyntezę białek. Pałeczki Gram-ujemne - beztlenowce i kapnofilne wytwarzają bakteriocyny hamujące wzrost bakterii Gram-dodatnich (np. *S. sanguis*) [1-5,12,24,43,94,97].

Obrona swoista

Do swoistych mechanizmów obronnych należą immunoglobuliny (przeciwciała). Podstawową immunoglobuliną w ślinie jest IgA, produkowana głównie w śliniankach przyusznych. Jej zadaniem jest aglutynacja bakterii bytujących w jamie ustnej, jak również hamowanie procesu ich adhezji do zębów i nabłonka. W tkankach oraz płynie dziąsłowym znajdują się immunoglobuliny klas IgM, IgG, IgA. Przeciwciała utrudniają bakteriom kolonizację na tkankach jamy ustnej i hamują ich metabolizm. Niektóre drobnoustroje produkują specyficzne proteazy, które mają zdolność niszczenia immunoglobulin. W funkcji obronnej ma swój udział układ chłonny i siateczkowo-śródbłonkowy. Bardzo ważną rolę w obronie przeciwbakteryjnej pełnią komórki fagocytyjące. Do ich zadań należy: migracja do miejsc zaatakowanych przez bakterie, chemotaksja, pochłanianie i zabijanie drobnoustrojów. Bakterie bronią się przed komórkami fagocytyjącymi wytwarzając leukotoksyny (np. *A. actinomycetemcomitans*), otoczki (np. *P. gingivalis*), czynniki hamujące migrację i chemotaksję fagocytów do miejsc inwazji drobnoustrojów (np. *Capnocytophaga* spp., *P. gingivalis*) [1-43,94,97].

1.2. Fizjologiczna flora bakteryjna jamy ustnej

Flora bakteryjna jamy ustnej stanowi bardzo szczególne i różnorodne środowisko. W 1 mililitrze śliny występuje od 10^8 do 10^9 komórek bakteryjnych. Skład jakościowy i ilościowy mikroflory śliny determinowany jest obecnością drobnoustrojów poszczególnych nisz ekologicznych i zarazem jest wskaźnikiem zdrowia jamy ustnej. Zaburzenie równowagi może świadczyć o toczących się w jamie ustnej procesach chorobowych.

W jamie ustnej znajdują się drobnoustroje saprofityczne, potencjalnie chorobotwórcze, a niekiedy chorobotwórcze. Bytują w niej stale i przejściowo, mogą żyć ze sobą w symbiozie lub antybiozie. Zmiennymi wpływającymi na zmianę mikroflory jamy ustnej jest ślina zawierająca substancje hamujące rozwój niektórych drobnoustrojów i dostępność pokarmu. Drobnoustrojom bytującym w jamie ustnej do życia i rozwoju wystarczają występujące w ślinie aminokwasy, białka, węglowodany i glikoproteiny. Płyny wypływające ze szczelin dziąsłowych są dla bakterii obfitym źródłem składników odżywczych. Innym endogennym generatorem składników odżywczych są substancje wyzwalane przez rozkładające się chorobowo zmienione tkanki przyzębia. Rozkład ten umożliwiają enzymy hydrolityczne, tj. proteaza, kolagenaza, hialuronidaza i

DNA-za wytwarzane przez bakterie mikroflory jamy ustnej. Istotnym źródłem energii dla bakterii bytujących w jamie ustnej są węglowodany. Ulegają one przemianie na glukany i fruktany [1-12].

Zmiana środowiska, w którym żyją bakterie w jamie ustnej może spowodować, że bakterie saprofityczne staną się chorobotwórcze. Skład flory bakteryjnej jamy ustnej mogą zmieniać leki: cytostatyki, sterydy, środki bakteriobójcze i bakteriostatyczne. Te dwie ostatnie grupy leków wpływają hamująco na rozwój bakterii, przez co ułatwiają wzrost grzybów i bakterii opornych na ich działanie [2-5, 11,13, 134].

Fizjologicznie flora bakteryjna jamy ustnej jest zróżnicowana i składa się z bakterii, grzybów, mykoplazm, pierwotniaków oraz wirusów (najczęściej pojawia się wirus opryszczki *Herpes simplex*, HSV). Wyhodowano ok. 1200 gatunków drobnoustrojów z jamy ustnej, ale wielu gatunków jeszcze nie poznano. Bakterie stanowią najliczniejszą grupą. Znaczna część bakterii żyjących w jamie ustnej nie istnieje w innych ekosystemach w ludzkim organizmie [4-6], (Tab.1).

<i>Acitnomyces</i>	<i>Actinomyces</i>
<i>A. naestundi</i>	<i>A. israelii</i>
<i>A. odontolyticus</i>	<i>A. meyeri</i>
<i>A. viscosus</i>	<i>Propionobacterium</i>
<i>Arachnia</i>	<i>P. acnes</i>
<i>A. propionica</i>	<i>Bifidobacterium</i>
<i>Carynebacterium</i>	<i>B. dentium</i>
<i>C. matruchotii</i>	<i>Eubacterium</i>
<i>Rothia</i>	<i>E. alactolyticum</i>
<i>R. dentocariosa</i>	<i>E. brachy</i>
<i>Lactobactilius</i>	<i>E. nodarum</i>
<i>L.acidophilus</i>	<i>E. saburreum</i>
<i>L. brevis</i>	<i>E. timidum</i>
<i>L.buchneri</i>	<i>Bacterioides</i>
<i>L. Casei</i>	<i>B. buccae</i>
<i>L. fermentium</i>	<i>B. buccalis</i>
<i>L. plantorum</i>	<i>B. capiollosus</i>
<i>L. salivarius</i>	<i>B. denticola</i>
<i>Haemophilus</i>	<i>B. endodontalis</i>

<i>H. aphrophilus</i>	<i>B. forsythus</i>
<i>H. parahaemolyticus</i>	<i>B. gingivalis</i>
<i>H. parainflenzae</i>	<i>B. gracilis</i>
<i>H. paraphrophilus</i>	<i>B. heparinolyticus</i>
<i>H. segnis</i>	<i>B. intermedius</i>
<i>Actinobactillius</i>	<i>B. loesherii</i>
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	<i>B. melaninogenicus</i>
<i>Eikenella</i>	<i>B. oralis</i>
<i>E. corrodens</i>	<i>B. oris</i>
<i>Capnocytophaga</i>	<i>B. oulorum</i>
<i>C. gingivalis</i>	<i>B. pneumosintes</i>
<i>C. ochracea</i>	<i>B. uerolyticus</i>
<i>C. sputigena</i>	<i>B. veroralis</i>
<i>Campylobacter</i>	<i>B. zoogioformans</i>
<i>C. sputorum</i>	<i>Mitsuokella</i>
<i>C. concisus</i>	<i>M. dentalis</i>
<i>Simonsiella</i>	<i>Fusobacterium</i>
<i>Mycoplasma</i>	<i>F. naviforme</i>
<i>M. orale</i>	<i>F. nucleatum</i>
<i>M. salivar</i>	<i>F. periodonticum</i>
<i>Candida</i>	<i>Leptotricha</i>
<i>C. albicans</i>	<i>L. buccalis</i>
<i>C. tropicalis</i>	<i>Wiolionella</i>
<i>Entamoeba</i>	<i>W. curva</i>
<i>E. gingivalis</i>	<i>W. recta</i>
<i>Trihomonas</i>	<i>Selemomonas</i>
<i>T. tenax</i>	<i>S. sputigena</i>
<i>Tremponema</i>	<i>Centipeda</i>
<i>T. oralis</i>	<i>C. periodontii</i>
<i>T. pectinovorum</i>	<i>M. dentalis</i>
<i>T. scoliodontium</i>	<i>Fusobacterium</i>
<i>T. socranskii</i>	<i>F. naviforme</i>
<i>T. vincenti</i>	<i>F. nucleatum</i>
	<i>F. periodonticum</i>

	<i>Leptotricha</i>
	<i>L. buccalis</i>
	<i>Wiolionella</i>
	<i>W. curva</i>
	<i>W. recta</i>
	<i>Selemomonas</i>
	<i>S. sputigena</i>
	<i>Centipeda</i>
	<i>C. periodontii</i>

Tab. 1. Bakterie żyjące w ludzkiej jamie ustnej.

Mikroflora w zdrowej jamie ustnej jest w stałej równowadze biologicznej - homeostazie, nazywa się ją mikroflorą osiadłą lub endogenną. Sytuacja ta ulega zmianie, gdy pojawiają się stany chorobowe w organizmie, czy też dochodzi do wtargnięcia do jamy ustnej tzw. flory egzogennej lub przejściowej (mikroflory nabytej). Dzieje się to np. przy osłabieniu odporności (AIDS, chemioterapii), odwodnieniu, schorzeniach układowych, nowotworach, niedoborach żywieniowych (brakach żelaza, białek, witamin), zaburzeniach hormonalnych (w okresie pokwitania, ciąży, cukrzycy), antybiotykoterapii, w okresie dzieciństwa i starości. Środowisko jamy ustnej z mikroflorą osiadłą stanowi tzw. ekosystem zamknięty do którego należą mikrośrodowiska zwane niszami ekologicznymi takie jak: usta i wargi, nabłonek policzkowy, powierzchnia języka, powierzchnie naddziąsłowe zębów, powierzchnie poddziąsłowe zębów, nabłonek szczelin i kieszonek oraz ślina. [1-6,68].

1.2.1 Kolonizacja mikroflorą jamy ustnej

Procesy stopniowego zasiedlania nisz ekologicznych przez bakterie w jamie ustnej nazywa się sukcesją ekologiczną. Z czasem, wraz powstawaniem nowych nisz, napływaniem nowych drobnoustrojów, powstawaniem nowych warunków środowiskowych, ekosystem osiąga stabilizację - homeostazę. Określa się ten stan finałem rozwoju, albo punktem kulminacyjnym ekosystemu [2-5, 11,13,134].

Kolejność kolonizacji drobnoustrojów zależy od dostępności składników odżywczych i przełamania naturalnej granicy odporności nieswoistej. Jako

pierwsze jamę ustną zasiedlają gatunki tzw. pionierskie przekazywane przez makroorganizm i pozyskiwane z otoczenia. Kolonizują one określone nisze ekologiczne i z czasem się namnażają tworząc zbiorowiska ekologiczne. Środowisko w którym żyją zmienia się na skutek ich aktywności metabolicznej, co ułatwia przenikanie do nich innych gatunków bakterii i tak zaczyna się sukcesja ekologiczna, która prowadzi do dużego i znacznie zróżnicowanego środowiska mikroflory osiadłej albo do zmian patologicznych [2-13,134].

Każde wprowadzenie nowego elementu nie bakteryjnego do środowiska jamy ustnej począwszy od wyrżnięcia się pierwszego zęba, a skończywszy na protezach całkowitych, przyczynia się do powstawania nowych warunków środowiskowych. W nowych warunkach drobnoustroje rozwijają się gwałtownie, tworząc kolejne zbiorowiska ekologiczne. Jako pierwsza rozwija się tlenowa flora bakteryjna, która powoduje obniżenie potencjału oksydoredukcyjnego danej niszy, co z kolei stwarza przyjazne warunki do rozwoju bakterii beztlenowych.

Kolonizacja powierzchni zębów przez drobnoustroje jest możliwa dzięki procesom adhezji lub adherencji. Adhezyny umożliwiają połączenie lipofilnej powierzchni komórek bakteryjnych z hydrofobową powierzchnią komórek nabłonka. Adhezyny to białka, które łączą się z węglowodanami za pomocą struktur zwanych fimbriami (włóknkami o różnej długości występującymi na powierzchni komórki). Fimbrie wykryto na paciorkowcach - *S. anginosus*, *S. salivarius*, *S. oralis*, *S. mutans*, na promieniowcach - *A. viscosus*, *A. naeslundii* oraz u pałeczek Gram -ujemnych - *Prevotella*, *P. intermedia*, *P. oralis*, *P. buccae*, *P. melaniogenica* i gatunku *Porphyromonas gingivalis*.

Innymi substancjami adhezyjnymi są substancje zlepiające czy też transportujące substraty, np. polipeptydy, które wiążą glikoproteiny śliny z komórkami bakterii lub z jonami wapnia. Podobnie zachowują się zewnątrzkomórkowe polipeptydy, które reagują z białkami paciorkowców. W ścianach komórkowych paciorkowców są kwasy lipoteichojoyowe mogące wiązać się z nabytą osłonką ślinową (cienka warstwa, która tworzy się z glikoprotein ślinowych na zębach już po kilku minutach po ich szczotkowaniu i do nich przylega). Ważną rolę w procesach kolonizacji odgrywają poliproteiny błony cytoplazmatycznej pełniące rolę "transportera" składników tj. cukru czy peptydów związanych z nabytą osłonką ślinową lub powierzchniami innych komórek bakteryjnych. W procesach adherencji biorą udział tzw. ligandy - glikoproteiny śliny o ładunku ujemnym, które mogą występować na komórkach

nabłonka błony śluzowej, twardych tkankach zęba nad- i pod dziąsłem oraz na uzupełnieniach protetycznych. Związki te są naładowane dodatnio (Ca^{+2}), więc łączą się z ujemnie naładowanymi adhezynami bakteryjnymi paciorkowców - *S. mutans*, *S. oralis*, pałeczek z rodzaju *Actinomyces*, bakterii Gram-ujemnych, tj. *P. intermedia*, *F. nucelatum*, *P. gingivitis*, *E. corrdens* [2-13,134].

Innym istotnym mechanizmem adhezyjnym jest agregacja bakterii, polegająca na łączeniu się mikroorganizmów między sobą, jak również ich przyleganiu do różnych powierzchni. Głównymi podłożami w jamie ustnej są: osłonka nabyta na twardych powierzchniach szkliwa i cementu korzeniowego (kostniwa) i na błonie śluzowej jamy ustnej. Osłonka pokrywająca powierzchnie ma około 1 mikrona grubości i jest charakterystyczna dla każdej z powierzchni. Osłonki na powierzchniach tkanek twardych nie są tożsame i na nabłonku określa się je mianem powłoki śluzowej [5,13,134].

Osłonka usunięta z wyżej wymienionych tkanek odtwarza się już po 90 - 120 minutach. Składa się ona z: wody, lipidów, białka, glikoprotein, soli mineralnych, ponadto znajdują się w niej kwaśne białka bogate w prolinę i stearyna, które ułatwiają adhezję *S. mutans*, *A. viskosus* i czarno pigmentujących bakterii beztlenowych. Powyższe zjawisko wiąże się z występowaniem lektyn - związków węglowodanowo-białkowych wykazujących powinowactwo do reszt cukrowych komórek innych drobnoustrojów. Bakterie Gram-dodatnie agregują między paciorkowcami z gatunku *S. sanguis* a pałeczkami Gram dodatnimi - *C. matruchotii* lub *P. acnes*. Podobnie dzieje się między pałeczkami Gram-ujemnymi, tj. *P. gingivalis*, *F. nucelatum*, jak również między Gram-dodatnimi bakteriami *Actinomyces*, *Staphylococcus* i Gram-ujemnymi z rodzaju *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Capnocytophaga*, *Eiconella*, *Prophyromonas* i *Veillonella* [3,4,5].

Innym ważnym zjawiskiem w procesie kolonizacji są zewnątrzkomórkowe polimery wytwarzane przez paciorkowce z grupy *S. mutans*. Wytwarzane są tylko w obecności sacharozy i bardzo szybko agregują na powierzchniach gładkich szkliwa. Podobnie dzieje się wśród bakterii z rodzaju *Actiniomyces*, ale one kolonizują się na powierzchniach poddziąsłowych zęba. Procesy te zapoczątkowują powstanie płytki nazębnej, co skutkuje zmianami próchnicowymi [2-5, 13].

1.2.1.1. Hamowanie procesów kolonizacji - oporność na kolonizację

Hamowanie procesów kolonizacji odbywa się dzięki możliwościom stabilizacji flory bakteryjnej. Do stabilizacji dochodzi w znacznym stopniu dzięki zdolnościom eliminowania z nisz drobnoustrojów oportunistycznych i egzogennych (flory przejściowej), które często są chorobotwórcze dla makroorganizmu. Brak możliwości kolonizacji przez takie patogeny jest rezultatem braku dostępności do adhezyn zajętych przez mikroflorę zasiedlonej niszy. Co więcej mikroflora osiadła potrafi wytwarzać pewne związki antagonistyczne, które zakłócają zasiedlanie niszy przez szczepy bakterii egzogennych np. nadtlenuk wodoru wytwarzany przez paciorkowce *S. mitis*, saliwarycyna wytwarzana przez paciorkowce *S. salivarius* (która hamuje rozwój paciorkowców ropotwórczych *S. pyogenes*) lub enocyna (bakteriocyna) wytwarzana przez *S. mutans*, *C. martuchotii* i *A. actinomycetemcomitans* (która hamuje wzrost organizmów pokrewnych) [2,5, 134].

1.2.1.2. Wpływ temperatury na kolonizację jamy ustnej

Temperatura w jamie ustnej średnio wynosi 35° C - 37°C, ale może się zmieniać po wprowadzaniu do jamy ustnej pokarmów czy napojów o wysokiej lub niskiej temperaturze. Różnice te mogą sięgać 60°C i nie mają znaczącego wpływu na przeżywalność drobnoustrojów w jamie ustnej choć mają zasadniczy wpływ na środowisko i aktywność metaboliczną drobnoustrojów. Dodatkowo temperatura wpływa na rozpuszczalność gazów, aktywność enzymatyczną i stężenie jonów wodorowych, a ten fakt ma duże znaczenie dla okolic poddziąsłowych, gdyż ma związek z występowaniem niektórych gatunków bakterii (np. *P. gingivalis* i *C. rectus*) odpowiedzialnych za schorzenia przyzębia [2,4].

1.2.1.3. Wpływ stężenia jonów wodorowych (pH) na kolonizację jamy ustnej

Jak wspomniano wyżej optymalne stężenie jonów wodorowych w jamie ustnej kształtuje się w przedziale pH 6,8 - 7,3 i uzależnione jest w dużym stopniu od przepływu śliny. Do przejściowego obniżenia pH nawet do wartości 3 może dojść podczas picia napojów gazowanych. Za obniżenie pH w jamie ustnej odpowiadają ponadto węglowodany (szczególnie sacharoza) metabolizowane przez bakterie płytki nazębnej np. do kwasu mlekowego – co obniża pH i powoduje demineralizację szkliwa i zębiny. Długotrwałe zakwaszenie

środowiska jamy ustnej poniżej 4 pH doprowadza do powstania i rozwoju próchnicy. Silne zakwaszenie płytek nazębnych tylko częściowo hamuje rozwój mikroflory. Niektóre gatunki drobnoustrojów zanikają, ale bakterie kwasolubne tj. *Streptococcus mutans* i *Lactobacillus* rozwijają się bez przeszkód [13].

1.2.1.4. Wpływ potencjału oksydoredukcyjnego (Eh) na kolonizację jamy ustnej

Zależy od dostępności tlenu w jamie ustnej. Fizjologicznie dostępność tlenu wynosi ok. 20%, ale jest zróżnicowana w poszczególnych niszach ekologicznych: na języku wynosi około 16%, na błonie śluzowej policzków, podniebienia ok. 0,4%. Spadek ilości tlenu prowadzi do szybszego namnażania się bakterii kapnofilnych, mikroaerofilnych, bezwzględnych beztlenowców i względnych beztlenowców, tj. *S. salivarius*, *S. mitis*, *S. anginosus*, *N. sicca*, *V. alcalescens* [32, 35, 37,38].

Bakterie zasiedlające korony zębów oddychają tlenowo (Eh +200 m V) i wytwarzają dwutlenek węgla, w ten sposób szybko obniżają potencjał oksydoredukcyjny do ok.+76 mV, a w miarę powiększania się płytki bakteryjnej potencjał ten zmniejsza się nawet do -140 mV, co sprzyja pojawianiu się paciorkowców tj. *S. oralis*, *S. mutans* oraz promieniowców *A. odontolicus*. W szczelinach i kieszonkach dziąsłowych - zwłaszcza w poddziąsłowej płytce nazębnej potencjał oksydoredukcyjny waha się w przedziale Eh +72 mV do -300 mV, co prowadzi do powstania środowiska beztlenowego [13, 28, 30-39].

1.2.2. Fizjologiczna flora bakteryjna ust i warg

Usta (wargi) stanowią wrota jamy ustnej i dlatego bakterie w tej niszy wywodzą się z pogranicza skóry i jamy ustnej. Należą do nich: ziarenkowce z rodzaju *Mikrococcus* i *Staphylococcus*, Gram dodatnie pałeczki z rodzaju *Propionibacterium* i *Corynebacterium*, Gram dodatnie ziarenkowce z rodzaju *Nesseria* i *Veillonella* i bakterie Gram dodatnie z rodzaju *Actinomyces*. W tych okolicach ze zmian chorobowych najczęściej pojawia się opryszczka wargowa (*Herpes simplex*), zapalenie kątów ust (*Cheilitis angularis*), które wywołuje *Candida albicans* oraz *Staphylococcus aureus*. Rzadko w przedsionku jamy ustnej spotyka się *S. vestibularis*, Gram ujemne czarno pigmentujące pałeczki beztlenowe oraz bakterie z rodzaju *Fusobacterium* [2-5,13, 100, 101,134].

1.2.3. Fizjologiczna flora bakteryjna nabłonka policzkowego

Nabłonek policzkowy głównie zasiedlają paciorkowce - najczęściej gatunki tj.: *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. salivarius*, *S. vestibularis*, *S. anginosus*. Na innych powierzchniach nabłonka w jamie ustnej bakterie nie występują regularnie. Zbadano, iż na jedną komórkę nabłonka policzka przypada od 5 do 25 drobnoustrojów [5,13].

1.2.4. Fizjologiczna flora bakteryjna powierzchni języka

Górna powierzchnia języka pokryta jest licznymi brodawkami, co bardzo sprzyja nagromadzeniu się bakterii. Drobnoustroje nie są tu dobrze usuwane przez ślinę i mastykację (odruchowe ruchy żucia spowodowane kontaktem błony śluzowej jamy ustnej z pokarmem) z powodu zalegania resztek pokarmu na powierzchni języka. Badania mikroskopowe wykazały, że zagęszczenie mikroflory na jedną komórkę nabłonka wynosi ok. 100 bakterii [2-12, 117,134]. Górna powierzchnia języka jest bardzo gęsto zasiedlona i zróżnicowana pod względem flory bakteryjnej. Dominują na powierzchni języka przeważnie paciorkowce, tj. *S. salivarius*, *S. anginosus*, *S. mitis*, beztlenowce tj. *Peptostreptococcus*, *Stomatococcus*; pałeczki Gram dodatnie *A. naeslundii*, *A. odontolyticus*, często też zdarzają się beztlenowce *Haemophilus*, beztlenowce pigmentujące *P. intermedia* i *P. melaninogenica* i pałeczki niepigmentujące tj. *Capnocytophaga* i *Fusobacterium*. Rzadko spotyka się na języku pałeczki z rodziny *Lactobacillus*, krętki *Treponema* i drożdżaki *Candida* [2,4,13].

1.2.5. Fizjologiczna flora bakteryjna powierzchni naddziąsłowych zębów

Powierzchnie naddziąsłowe zębów wykazują różną podatność na kolonizację flory bakteryjnej. W różnych środowiskach, różne powierzchnie o nie tożsamyh właściwościach zasiedlane są zależnie od możliwości zalegania pokarmów. Zalegający pokarm stwarza dogodne warunki do tworzenia się zbiorowisk bakterii, co z kolei stanowi początek tworzenia się płytki bakteryjnej. Można tu spotkać ziarenkowce Gram -dodatnie, paciorkowce tj. *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. anginosus*, *S. gordonii*, *S. oralis*, *S. vestibularis*, jak również ziarenkowce Gram-ujemne w małych ilościach *N. subflavia*, promieniowce *A. viscosus*, *A. naeslundii*, *A. odontolyticus* i z pałeczek Gram-ujemnych wykrywane rzadko *Haemophylus* [2,13].

1.2.6. Fizjologiczna flora bakteryjna powierzchni poddziąsłowych zębów, nabłonka szczelin i kieszonek dziąsłowych

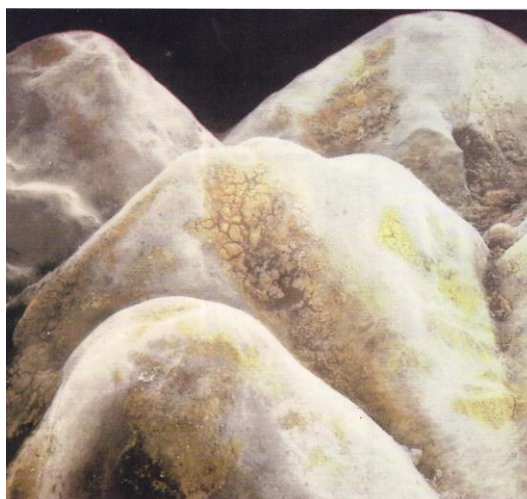
Zdrowa szczelina dziąsłowa, to zagłębienie między szkliwem zęba a wolnym brzegiem dziąsła, o głębokości 2 - 3 mm, jej dno stanowi przyczep nabłonkowy sięgający do granicy szkliwno-kostnej cementu zęba. Szczelina wyścielona jest nabłonkiem kończącym się na wysokości szyjki zęba przybierającym kształt wypustek i wrastającym w głąb dziąsła aż do kości zębodołu. W zdrowych szczelinach dziąsłowych znajduje się płyn dziąsłowy o składzie podobny do surowicy krwi. Wypływa on ze szczeliny dziąsłowej do jamy ustnej z szybkością 0,3 μ l/godz./zab. Zadaniem płynu dziąsłowego jest usuwanie bakterii gromadzących się w szczelinie dziąsłowej. Wydzielina ta może stać się również doskonałą pożywką dla mikroflory bakteryjnej osiadłej w jamie ustnej. Ponadto odgrywa ona ważną rolę w regulacji składu tejże mikroflory przy udziale swoistych i nieswoistych mechanizmów obronnych. W zdrowych szczelinach dziąsłowych znajduje się więcej gatunków drobnoustrojów niż w innych mikrosystemach ekologicznych, na jedną szczelinę przypada 10^3 - 10^6 komórek. Spotkać w nich można: *S. oralis*, *S. milleri*, *S. anginosus*, *A. meyeri*, *A. odontolyticus*, *A. viscosus*, *A. naeslundii*, pałeczki *Campylobacter*, *Rothia*, *P. melaninogenica*, *P. intermedia*, *P. gingivalis* (rzadko) [2,5,13].

Na liczbę drobnoustrojów na powierzchni poddziąsłowej zębów, nabłonka szczelin i kieszonek poddziąsłowych wpływają temperatura, stężenie jonów wodorowych, potencjał oksydoredukcyjny (Eh), dostępność składników pokarmowych, kolonizacja mikroflorą, kolejność zasiedlania jamy ustnej, warunki przylegania i przyczepiania bakterii w kolonizacji jamy ustnej, ale także hamowanie procesów kolonizacji - oporność na kolonizację [5,13].

1.3. Powstawanie płytki bakteryjnej i kamienia nazębnego

1.3.1. Płytką nazębna

Biofilm bakteryjny, inaczej nazywany płytką bakteryjną (dental plaque) jest miękką masą ściśle przylegającą do zębów, którą budują skupiska bakterii i macierzy międzykomórkowej powstające w jamie ustnej na twardych i miękkich strukturach (ryc.1). Płytką bakteryjną przylega do powierzchni tak mocno, że nie można jej spłukać, nawet przy pomocy preparatów pod ciśnieniem. Można ją jedynie usunąć szczoteczką do zębów względnie specjalnie do tego celu przeznaczonymi narzędziami stomatologicznymi.



Ryc.1. Płytką bakteryjną - powiększona pod mikroskopem elektronowym [89].

Płytkę nazębną rozwija się wieloetapowo, z czasem nie usuwana zmienia swoją objętość, strukturę i zawartość. Skład jej zależy od: lokalizacji, grubości, fizykochemicznych właściwości śliny, a także sposobu odżywiania. Pierwszym etapem jej tworzenia się jest osłonka nabyta zwana pellikulą, która ma grubość około 1 mikrometra i zbudowana jest przez glikoproteiny śliny. Pellikula tworzy na zębie warstwę ochronną, ale jednocześnie stwarza dogodne warunki adhezyjne dla bakterii. Następnie rozwija się płytka nazębna wczesna zawierająca kolonie: bakterii tlenowych, np. *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mutans*, *S. mitis* i bakterii beztlenowych *Porphyromonas gingivalis*.

W trakcie dojrzewania płytki nazębnej gwałtownie zwiększa się w niej liczba bakterii beztlenowych. Widoczna na zębach płytka nazębna składa się w 70% z drobnoustrojów (bakterii beztlenowych, grzybów, wirusów) i w 30% z macierzy organicznej - „szkieletu” utrzymującego te składniki razem [1-6,9-10,12,84,99]. Bakterie beztlenowe wytwarzają enzymy i toksyny. Matryca (zwana też macierzą organiczną) zbudowana jest z polisacharydów (elementów pochodzenia bakteryjnego), enzymów i toksyn (wytworów bakterii, kwasu mlekowego) i z substancji pochodzących od gospodarza - białek, węglowodanów, resztek pokarmowych, obumarłych komórek (tkanek jamy ustnej), czerwonych i białych krwinek, glikoprotein śliny oraz antygenów biorących udział w odpowiedzi immunologicznej organizmu. Do siódmego dnia trwa w płytce proces tzw. wczesnej kolonizacji, a po siedmiu dniach zaczyna się proces późnej kolonizacji i dojrzewania płytki nazębnej. W jednym gramie płytki

znajduje się około 2×10^{11} drobnoustrojów [14-16]. Płytką bakteryjną pokrywa struktury twarde nad dziąsłem i pod dziąsłem w jamie ustnej, dlatego dzieli się ją na płytkę nad- i poddziąsłową. Podział ten jest zasadny, gdyż bytują w nich różne drobnoustroje i różnią się warunkami ich środowiska.

1.3.2. Płytką naddziąsłowa

Stanowi miękką masę w kolorze żółto-białym. Osadza się na brzegu dziąsła szczególnie w okolicy nawieszonych wypełnień, prac protetycznych, bruzdy i w podobnych trudnodostępnych do oczyszczania miejscach. Szybkość jej powstawania jest bardzo indywidualna i zależy od takich parametrów jak: dieta, szybkość i ilość wydzielania śliny oraz higiena jamy ustnej. Małe ilości płytki naddziąsłowej są raczej niewidoczne dla nieuzbrojonego oka, ale można ją wykryć zgłębnikiem lub preparatem wybarwiającym biofilm bakteryjny. W płytce naddziąsłowej matryca stanowi 50% jej masy, a drugą połowę bakterie. Mikrobiota bakteryjna płytki naddziąsłowej jest mieszaniną bakterii względnie beztlenowych, z przewagą bakterii tlenowych, a jej metabolizm opiera się na przemianach węglowodanów [2-13,84].

1.3.3. Płytką poddziąsłowa

Występuje w rowku dziąsłowym lub w kieszonce przyzębnej - 3 mm poniżej brzegu dziąsłowego. Nie usuwana z powierzchni zębów rozwija się w kierunku rowka dziąsłowego. Jej obecność można stwierdzić przy pomocy narzędzi stomatologicznych, albo po odsunięciu brzegu dziąsła jeżeli jest to możliwe. Skład płytki nad- i poddziąsłowej nie jest tożsamy, ze względu na warunki jakie panują w rowku dziąsłowym. Doskonale rozwijają się w niej bakterie beztlenowe i szybko się w niej kolonizują. W rowku poddziąsłowym ograniczona jest skuteczność mechanizmów oczyszczających, występuje zmiana potencjału oksydoredukcyjnego, a płyn rowka dziąsłowego ułatwia napływ substancji odżywczych dla bakterii. Płyn ten zawiera w sobie ponad 90% bakterii beztlenowych o możliwości poruszania się [89,90].

1.3.4. Kamień naddziąsłowy

Nie usuwana płytką nazębna ulega procesowi kalcyfikacji i wówczas nie można jej już usunąć przy pomocy szczoteczki do zębów, a jedynie narzędziami ręcznymi i mechanicznymi w gabinecie dentystycznym. Proces mineralizacji

odbywa się z udziałem jonów wapnia i fosforu obecnych w ślinie. Kryształy fosforanu wapnia wzrastają w matrycy płytki i powiększają się, aż płytka zmineralizuje się. Wraz z upływem czasu kamień starzeje się na skutek mieszania się nieorganicznych kryształów - najpierw powstaje bruszyt (dihydrat wodorofosforanu wapnia), później fosforan ośmiowapniowy, a dojrzały kamień składa się z kryształów hydroksyapatytu i fosforanu trójwapniowego. Kryształy kamienia wzrastają w ścisłym kontakcie z powierzchnią zęba i dzięki nieregularności powierzchni zęba kamień uzyskuje retencję mechaniczną. Kamień nazębny z zewnątrz pokryty jest niezmineralizowaną płytką bakteryjną i podobnie jak płytka nazębna podlega podziałowi na nad- i poddziąsłowy [2-13,85,108,109]. Kamień nazębny ma kolor żółto-biały. Może być w kolorze zębów i jego mniejsze złogi widoczne są dopiero po oświetleniu powierzchni światłem reflektora. Kamień różni się od powierzchni zęba brakiem połysku i oprócz tego, że jest matowy, ma inną strukturę. Na brzegu dziąsłowym i na koronie często ulega przebarwieniom na skutek palenia papierosów, spożywanych pokarmów i napojów z silnymi barwnikami. Na tworzenie się kamienia ma wpływ stężenie jonów wapnia i fosforu w ślinie oraz wydzielanie śliny z gruczołów ślinowych, stąd najczęściej tworzy się przy ich ujściu.

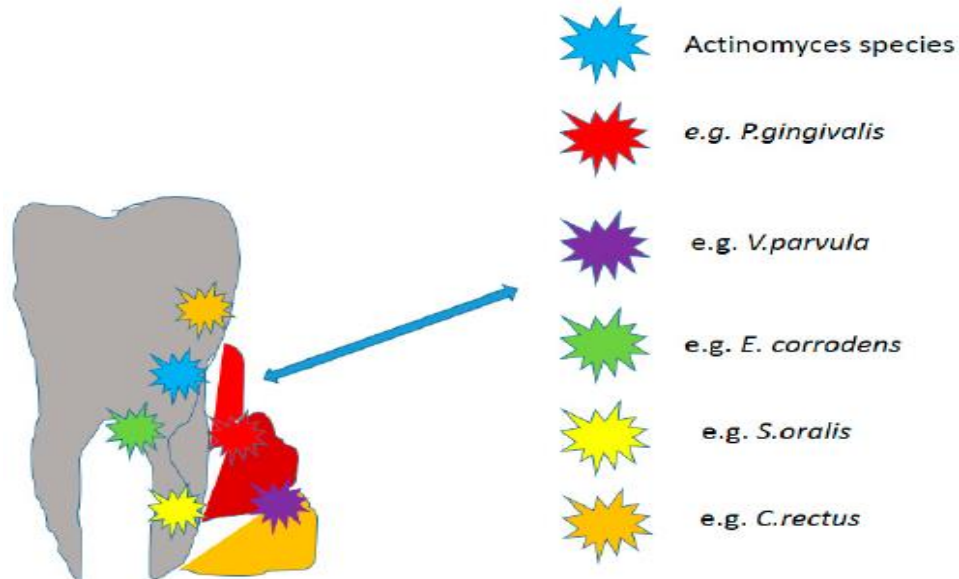
1.3.5. Kamień poddziąsłowy

Powstaje do wierzchołkowo na zębie w stosunku do brzegu dziąsłowego. Najczęściej jest w kolorze ciemnym, ponieważ zabarwia się barwnikami z obumarłych erytrocytów. Widoczny jest po osuszeniu brzegu dziąsłowego, gdzie prześwituje przez tkanki miękkie. Można go uwidocznic po odchyleniu brzegu dziąsła delikatnym strumieniem powietrza, jak również podczas leczenia chirurgicznego przyzębia. Do jego wykrycia w głębszych warstwach można użyć sondy periodontologicznej, wykonać zdjęcie rtg lub użyć sprzętu laserowego - kamery diagnostycznej. Kamień nazębny tworząc się pod wpływem naturalnej mikroflory jamy ustnej uciska tkanki miękkie i podtrzymuje stan zapalny [2,5,12,84-112].

1.4. Podział flory bakteryjnej jamy ustnej na kompleksy wg. Socransky'ego

W jamie ustnej bakterie grupują się w swoiste zespoły, inaczej zwane kompleksami, dzięki czemu lepiej wykorzystują składniki pokarmowe i

efektywniej bronią się przed mechanizmami obronnymi makroorganizmu. Pojęcie "kompleksu bakteryjnego" zostało wprowadzone przez Socransky'ego [89,90]. Kryterium podziału stanowią zależności między bakteriami. Socransky podzielił patogeny w biofilmie na 6 grup, którym przypisał odpowiedni kolor - niebieski, żółty, zielony, fioletowy, pomarańczowy i czerwony. Trzy ostatnie kompleksy (fioletowy, pomarańczowy i czerwony) dominują w przestrzeni poddziąsłowej [65-66,89-90], (Ryc.2).

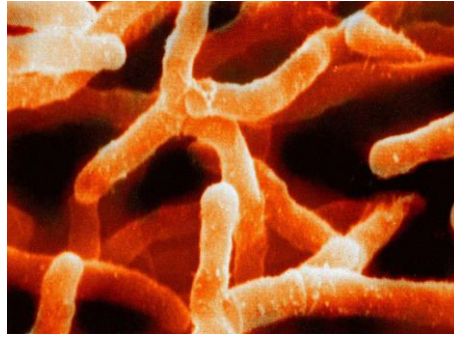


Ryc.2. Sześć głównych kompleksów bakterii w jamie ustnej wg. Socransky'ego [89,90].

1.4.1. Zespół niebieski

Zespół niebieski zawiera bakterie z rodziny promieniowców (*Actinomyces*) - Gram-dodatnie mikroorganizmy, występujące głównie w kanałach korzeniowych, po wcześniejszym leczeniu endodontycznym (leczeniu dotyczącym miazgi zęba i zębiny) – najczęściej występujące gatunki, to *A. israeli* i *A. meyeri*. Zespół niebieski rozwija się u pacjentów z uporczywymi zmianami okołowierzchołkowymi, gdzie szybko dochodzi do niedoboru składników odżywczych i mikroorganizmy te wytwarzają enzymy zewnątrzkomórkowe, wspomagające metabolizm sacharozy i mocznika. Podczas leczenia endodontycznego istnieje duże ryzyko przepchnięcia kolonii promieniowców poza wierzchołek korzenia. Promieniowce są również odpowiedzialne za tworzenie się ropni okołozębowych, które często umiejscawiają się w okolicy

kąta żuchwy, zmiany te mogą otwierać się na zewnątrz w postaci przetok [58-60,63], (Ryc.3).



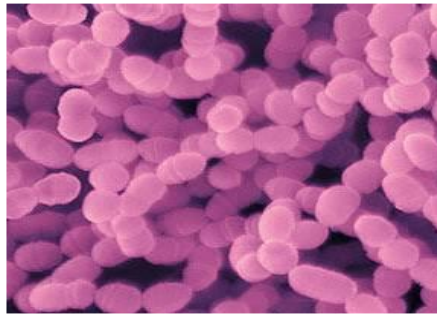
Ryc.3. Obraz z mikroskopu skaningowego *Actinomyces israeli* [89,90].

1.4.2. Zespół żółty

Zespół żółty składa się z bakterii gram dodatnich, głównie paciorkowców (*Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*). Paciorkowce ropne są charakterystyczne dla pierwotnych zakażeń miazgi zęba i zębiny (*endodontium*), gdzie przenikają pojedynczo lub w postaci koagregatów do kanalików zębinowych i stanowią częstą przyczynę próchnicy. Paciorkowce również odpowiedzialne za wywoływanie anginy i zakażeń ran w obrębie jamy ustnej. Należą one do stałej flory fizjologicznej jamy ustnej, także u zdrowych ludzi (do 20% ludzi w społeczeństwie jest ich nosicielami). W przypadku zapalenia dziąseł, ekstrakcji zęba lub zabiegów endodontycznych mogą przedostawać się przez uszkodzenia ścian naczyń do krwiobiegu i powodować przejściową bakteremię, a nawet zapalenie wsierdzia. W wypadku reinfekcji stanowią około 20% wszystkich bakterii patogennych jamy ustnej [89,90], (Ryc.4 i 5).

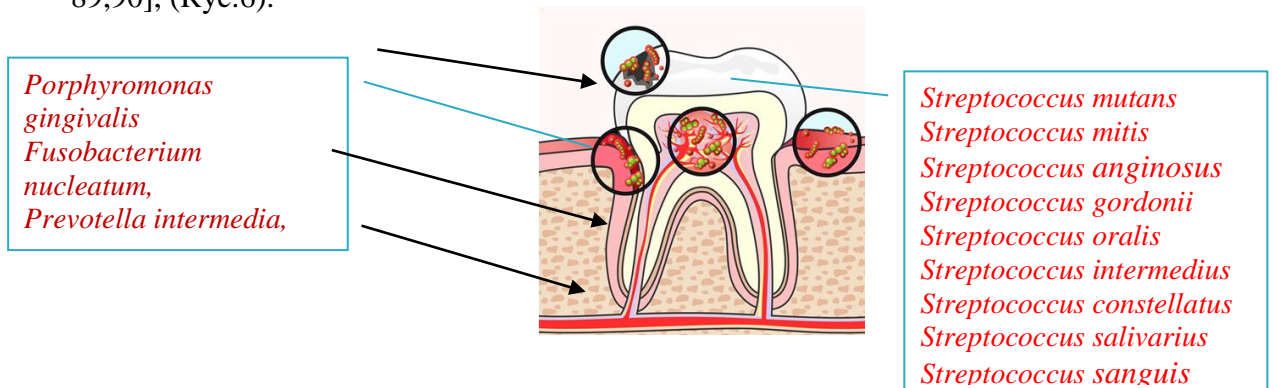


Ryc.4. Obraz z mikroskopu skaningowego *Streptococcus agalactiae* [89,90]



Ryc.5. Obraz z mikroskopu skaningowego *Streptococcus mutans* [89,90].

Do zespołu żółtego zalicza się również organizmy z grup kompleksu czerwonego na przykładzie *Porphyromonas gingivalis* oraz szczepy *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia* a także Streptokoki takie jak *S. anginosus* i *Streptococcus mitis*, chociaż najczęściej występują w nim *S. gordonii*, *S. anginosus* i *S. oralis*. Grupa *Streptococcus anginosus* zawiera gatunki *S. intermedius* i *S. constellatus*, które mają największą zdolność penetracji kanałków zębinowych. Rzadziej można spotykać *S. salivarius*, *S. sanguis* i *S. mutans*, które odpowiadają za wytwarzanie polisacharydów, mogących się dostawać do kanałów zębowych w trakcie leczenia infekcji endodontycznych [78, 89,90], (Ryc.6).



Ryc.6. Bakterie komensalne o aktywności chorobotwórczej zespołu żółtego [78,89,90]

1.4.3. Zespół zielony

Zespół zielony ma duże znaczenie dla powstawania próchnicy, należą do niego: *Capnocytophaga gingivalis*, *Campylobacter concisus*, *Eikenella corrodens*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* serotyp „a” ale również ziarniniaki względnie beztlenowe (*Enterococcus*), które rzadko są spotykane w pierwotnym zakażeniu kanałów zębowych, natomiast obecne są w 29–77 % przypadków zakażeń wtórnych [78,89,90]. Badacze stwierdzili, że do inwazji

enterokoków w kanałach dochodzi po leczeniu endodontycznym poprzez mikroprzecieki między ścianą kanału, a wypełnieniem. Inaczej mówiąc w wyniku jatrogennego zanieczyszczenia kanału w trakcie leczenia endodontycznego lub po pozostawieniu otwartego kanału korzeniowego na mikrośrodowisko jamy ustnej. Enterokoki dzięki enzymom proteolitycznym mają zdolność rozpuszczania kolagenu kanalików zębinowych, przez co mogą wnikać do komory zęba [2,4,5,13, 89,90,134].

1.4.4. Zespół fioletowy

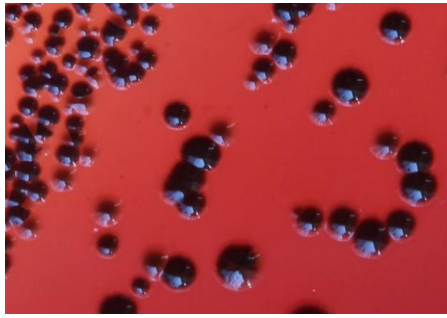
Do kompleksu fioletowego zalicza się *Actinomyces odontolyticum* i *Veillonella parvula* oraz *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* serotyp „b”, oraz dwa typy *Actinomyces naeshlundii* genospecies oraz *Selenomonas noxia* które nie są związane z innymi grupami. Kompleks fioletowy nie jest tak patogenny jak kompleks żółty i czerwony [89,90]

1.4.5. Zespół pomarańczowy

Do zespołu pomarańczowego zakwalifikowano bakterie, tj.: *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus micros*, *Campylobacter rectus*. Kompleks pomarańczowy jest ściśle związany z zespołem czerwonym ale jest mniej patogenny [89,90]

1.4.6. Zespół czerwony

Zespół czerwony jest najbardziej patogenny dla przyzębia. Zawiera także bakterie występujące najczęściej w zakażonych kanałach korzeniowych oraz w ropniach pochodzenia odzębowego. Należą do niego bakterie: *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* oraz *Treponema denticola* [89,90]. Do kompleksu czerwonego zalicza się również bakterie wytwarzające czarne barwniki, krętki, enterokoki, streptokoki, bakterie z rodziny *Actinomyces* i *Lactobacillus* oraz grzyby z rodziny *Candida*. Bakterie produkujące czarne pigmenty są Gram-ujemnymi beztlenowcami z rodzin *Porphyromonas* i *Prevotella*. Odpowiadają one za występowanie stanu zapalnego i objawów bólu oraz opuchlizny (Ryc.7).



Ryc.7. Obraz z mikroskopu skaningowego *Porphyromonas gingivalis* [89,90]

P. gingivalis są Gram-ujemnymi bakteriami względnie beztlenowymi, które zaopatrzone są w fimbrie z licznymi adhezynami, dzięki którym mogą przyczepiać się do tkanek przyzębia i umożliwiać koagregację z innymi gatunkami bakteryjnymi. Dodatkowo indukują one prozapalną odpowiedź cytokinową. Szczepy te wytwarzają egzoenzymy – proteazy cysteinowe o właściwościach podobnych do trypsyny, które powodują destrukcję tkanek. Końcowymi produktami fermentacji *P. gingivalis*, są kwas octowy, propionowy i masłowy oraz związki lotne siarki, które działają cytotoksycznie na komórki gospodarza. Niszczą w ten sposób integralność tkanek i doprowadzają do miejscowych zmian w mikrośrodoisku kieszonki przyzębnej. Większość szczepów *P. gingivalis* posiada otoczkę polisacharydową, która hamuje fagocytozę [65-92]. Oprócz *P. gingivalis*, najczęściej izolowanymi z tkanek przyzębia gatunkami są: *P. asaccharolytica* i *P. endodontalis*. Częstość występowania *P. gingivalis* jest niższa u osób ze zdrowym przyzęciem w porównaniu do pacjentów z chorobą przyzębia. *P. gingivalis* może być izolowany z kieszonek przyzębnych, płytki naddziąsłowej, kanałów korzeniowych, śliny, języka, błony śluzowej policzka, a także migdałków.

Do gatunków występujących w kanałach zębów należą: *P. nigrescens*, *P. intermedia* generująca zapalenia okołowierzchołkowe, *P. endodontalis*, *P. gingivalis* oraz *Prevotella tanneriae* (występująca w 60% wszystkich ropni pochodzenia endodontycznego). Powyższe mikroorganizmy posiadają czynniki endotoksyczne, np. lipopolisacharydy. Wiele z nich posiada otoczkę, która zabezpiecza je przed fagocytozą. Krętki są odpowiedzialne za występowanie ropni. Najczęściej izolowanymi gatunkami są: *Treponema denticola* i *T. socranskii*, rzadziej w zakażeniach kanałów występują *T. lecithinolyticum* i *T. maltophilum*, gatunki *T. amylovorum*, *T. medium*, *T. pectinovorum* oraz *T. vincentii*. Sądzi się, że *T. denticola* jest związany z osteoklastogenezą,

zapaleniami endodontium i przyzębia oraz tworzeniem się płytki miażdżycowej. Bakterie kompleksu czerwonego i pomarańczowego łączy się z krwawieniem przy badaniu zgłębnikiem kieszonek dziąsłowych.

Podsumowując warto nadmienić, iż tkanki przyzębia w jamie ustnej niszczone są przez różne czynniki pochodzenia bakteryjnego lub pośredniego, jako efekt reakcji zapalnej. Bezpośrednie działanie toksyczne na tkanki gospodarza wykazują endotoksyny, egzotoksyny, enzymy i końcowe produkty przemian metabolicznych tych bakterii. Najlepiej poznana jest cytotoksyczna aktywność *A. actinomycetemcomitans* (wcześniej nazywany *Haemophilus actinomycetemcomitans*). Lipopolisacharyd *A. Actinomycetemcomitans* jest chemoatraktantem dla neutrofilii. Ponadto *A. Actinomycetemcomitans* stymuluje komórki nabłonka dziąseł do syntezy interleukiny 8 (IL-8) i ICAM-1, które również są silnymi chemoatraktantami dla neutrofilii. Neutrofile są następnie niszczone przez substancje cytotoksyczne, powoduje śmierć komórek gospodarza poprzez zahamowanie ich proliferacji w fazie G2 cyklu komórkowego co prowadzi do apoptozy komórki. Jednocześnie bakterie te pobudzają osteoklasty, co powoduje lizę kości i może prowadzić do agresywniejszego przebiegu zapalenia przyzębia [121].

Endotoksyny *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* również prowokują monocyty, fibroblasty i makrofagi do uwalniania interleukiny 1 beta (IL-1 β) i prostaglandyny E₂, które uczestniczą aktywnie w resorpcji kości. Wiele enzymów bakteryjnych niszczy substancje międzykomórkowe i tkankę łączną makroorganizmu. Końcowe produkty przemian metabolicznych drobnoustroju (np. kwas masłowy, propionowy), amoniak, indol, aminy, lotne związki siarki produkowane w dużych ilościach niszczą integralność błony śluzowej i hamują syntezę kolagenu.

1.5. Stany zapalne w jamie ustnej.

Stany zapalne są jedną z głównych reakcji obronnych organizmu na działanie czynników szkodliwych - fizycznych, chemicznych i biologicznych (immunologicznych lub nieimmunologicznych). Reakcja zapalna jest złożonym procesem odpowiedzi organizmu na zewnętrzny lub wewnętrzny czynnik uszkadzający (chorobotwórczy). Objawem ostrego stanu zapalnego jest ból, zaczerwienienie, obrzęk, podwyższona temperatura, utrata funkcji i uszkodzenie tkanek. Reakcję zapalną wyzwalają i kontrolują mediatory zapalenia. Reakcja

zapalna w organizmie przebiega w trzech fazach - rozpoznania patogenu, eliminacji patogenu oraz wygaszania odpowiedzi immunologicznej. W pierwszej fazie w odpowiedzi na wtargnięcie drobnoustrojów do tkanek organizmu, dochodzi do wytworzenia się wielu rozpuszczalnych chemicznych substancji, które niszczą atakujące drobnoustroje. Substancje te, to lizosomy, interferony, interleukiny, inne cytokiny, białka ostrej fazy oraz układ dopełniacza. W kolejnym etapie napływają komórki biorące udział w procesach fagocytozy, trawienia i niszczenia obcych cząstek, tj. makrofagi, neutrofile, eozynofile, monocyty. Dodatkowo w odpowiedzi immunologicznej nieswoistej biorą udział bazofile, mastocyty, płytki krwi i komórki NK (natural killer). Charakter nacieku zapalnego zależy od rodzaju drobnoustrojów będących jego przyczyną. Niektóre produkty metabolizmu drobnoustrojów (endotoksyny) mogą zwiększać odpowiedź układu immunologicznego (działać adiuwancyjnie) [2-5,61-64,134]. Przewlekły stan zapalny sprzyja rozwojowi chorób autoimmunologicznych i nowotworowych – włączając w to również jamę ustną.

1.5.1. Stres oksydacyjny - stymulator stanów zapalnych.

Stres oksydacyjny to stan zakłóconej równowagi między układem utleniaczy i antyutleniaczy, czyli działaniem produktów ubocznych przemian metabolicznych - wolnych rodników, a zdolnością usuwania ich z organizmu. Wolne rodniki powstają w wyniku homologicznego rozrywania wiązań w cząsteczkach związków chemicznych, tzw. wybuchu oddechowego komórek fagocytujących lub na skutek przenoszenia elektronów, a ich wpływ na komórkę zależy od ich ilości. Stres oksydacyjny pełni dwojaką rolę, jest jednym z ważnych mechanizmów obronnych, ale może jednocześnie zainicjować wiele różnych zmian patologicznych. Szacuje się, że około 5% tlenu ulega w czasie procesów metabolicznych przekształceniu w reaktywne formy tlenu. Niski poziom stresu oksydacyjnego mobilizuje komórkowe mechanizmy antyoksydacyjne, między innymi przez kluczowe czynniki transkrypcyjne Nrf2 (nuclear arythroid 2-related factor). Wysoki poziom stresu oksydacyjnego aktywizuje mechanizmy tj. AP-1 (białko aktywizujące 1 - activating protein-1) i NFkB jądrowy czynnik transkrypcyjny kappa B (nuclear factor kappa B), które stymulują odpowiedź zapalną komórek (syntezy cytokin, adhezyn, chemokin). Bardzo wysoki poziom stresu oksydacyjnego przyczynia się do śmierci komórek (apoptoza i/lub nekroza). Coraz więcej badań sugeruje, że utrzymanie stresu

oksydacyjnego na odpowiednim poziomie znacząco wpływa na leczenie wielu chorób o podłożu zapalnym [27-57,130-133].

Głównymi wolnymi rodnikami są: aminorodnik ponadtlenkowy, rodnik wodorotlenkowy, nadtlenuk wodoru i tlen singletowy [120], ale pojawiają się również aktywne związki żelaza (rodnik ferrylowy) i reaktywne formy azotu, np. tlenek azotu, azotyn, azotan, nadtlenuk azotyn. Reaktywne formy tlenu uczestniczą w transporcie tlenu przez hemoglobinę, regulują przepływ krwi przez tkanki, aktywują cytochrom P450, biorą także udział w fagocytozie drobnoustrojów i odtruwaniu ustroju z toksyn. Reaktywne formy tlenu biorą udział w procesie fagocytozy drobnoustrojów [120]. W błonach komórkowych fagocytów i neutrofilii - są czynnikiem obronnym dla ustroju, ale wytwarzane w nadmiarze wchodzi w reakcje z DNA, białkami, lipidami i węglowodanami. Zmieniają ich funkcję i budowę w następstwie pobrania elektronu, co uszkadza komórki - szczególnie śródbłonek naczyń krwionośnych [27,29,34,35]. Wolne rodniki inicjują ponadto peroksydazę wielonasyconych kwasów tłuszczowych, powodując rozkład wodorotlenków lipidowych, gromadzenie toksycznych metabolitów i generowanie metabolitów kwasu arachidonowego - co prowadzi do uszkodzenia błon komórkowych. Reaktywne formy tlenu przyspieszają agregację płytek, denaturują białko, a te procesy skutkują zaburzeniem humoralnych mechanizmów odpornościowych układu dopełniacza wrodzonych mechanizmów odpowiedzi immunologicznej zawierający grupę ok 40 białek z rodziny immunoglobulin wspomagających procesy fagocytozy przed czynnikami zapalnymi indukowanymi przez drobnoustroje patogenne indukowanymi przez zaburzenia genetyczne. Duże ilości wolnych rodników powstają w jamie ustnej podczas wdychania dymu papierosowego. Szacuje się ich stężenie na około $10^{15}/35$ ml (jeden wdech dymu) i około $10^{17}/g$ w smole papierosowej [122]. W efekcie nikotyna nasila przebieg kliniczny chorób przyzębia [30].

Do rozwoju lub pogłębienia stresu oksydacyjnego przyczynia się flora bakteryjna jamy ustnej. Jak wspomniano wyżej bakterie zasiedlające korony zębów oddychają tlenowo ($E_h +200$ mV) i wytwarzają dwutlenek węgla, co skutkuje obniżeniem potencjału oksydującego do ok. +76 mV. W miarę powiększania się płytki bakteryjnej, potencjał ten, może zmniejszyć się nawet do -140 mV. W szczelinach i kieszonkach dziąsłowych - w poddziąsłowej płytce nazębnej potencjał oksydujący ulega wahaniom w przedziale $E_h +72$ mV do -300 mV, co prowadzi do powstania środowiska beztlenowego. Osoby z

wysokim poziomem stresu oksydacyjnego dwa razy częściej cierpią na choroby przyzębia i odwrotnie - choroby przyzębia ściśle korelują ze wzrostem poziomu parametrów stresu oksydacyjnego [20,43].

1.5.2. Klasyfikacja chorób i zmian w obrębie tkanek przyzębia oraz tkanek wokół implantów

Stany zapalne w obrębie jamie ustnej przedstawione na podstawie klasyfikacji Amerykańskiego Towarzystwa Periodontologicznego i Europejskiej Federacji Periodontologicznej z 2017 roku [23] (Tab.1a).

Obszar 1. Choroby i zmiany w obrębie tkanek przyzębia	
Zdrowe przyzębie, zdrowe dziąsła (niekiedy zredukowane przyzębie)	
Zdrowe przyzębie, choroby i zmiany w obrębie tkanek dziąseł	Zapalenie dziąseł wywołane przez biofilm nazębny, włączając w to modyfikacje biofilmu wywołane różnymi czynnikami ryzyka i powiększenie dziąseł spowodowane lekami. Podział w oparciu o czas trwania procesu zapalnego: początkowe, wczesne, ustalone.
	Choroby dziąseł nie wywołane przez biofilm nazębny: zaburzenia genetyczne i rozwojowe, swoiste infekcje, choroby immunologiczne, pigmentacja dziąsłowa, urazy, nowotwory, choroby hormonalne, wywołane nieprawidłowym odżywianiem i choroby metaboliczne
Zapalenie przyzębia	Podział w oparciu o stopień zawansowania zapalenia przyzębia i złożoność leczenia: początkowe, umiarkowane, ciężkie, ciężkie z możliwością utraty zębów. Podział w oparciu o zakres i umiejscowienie: miejscowe; uogólnione, dotyczące tylko zębów trzonowych i siekaczy Podział w oparciu o tempo progresji: wolne, średnie, szybkie
	Martwicze choroby przyzębia: martwicze zapalenie jamy ustnej, martwicze zapalenie dziąseł, martwicze zapalenie przyzębia
	Zapalenie przyzębia jako objaw chorób ogólnoustrojowych: klasyfikacja tych chorób powinna się opierać na zasadniczej

	chorobie ogólnej, zgodnie z kodem ICD - międzynarodową klasyfikacją statystyczną chorób
Inne stany chorobowe mające wpływ na przyzębie	Choroby wpływające na tkanki podtrzymujące przyzębie
	Ropnie przyzębne i zmiany endodontyczno-periodontologiczne
	Deformacje i stany chorobowe błony śluzowej
	Urazy wywołane przez siły zgryzowe
	Czynniki związane z zębami i uzupełnieniami protetycznymi
Obszar 2. Choroby i zmiany w obrębie tkanek wokół implantów	
Zdrowa błona śluzowa wokół implantów	
Zapalenie błony śluzowej wokół implantów	
Ubytek tkanek miękkich i twardych wokół implantów	

Tab.1a. Klasyfikacja chorób zmian w obrębie tkanek przyzębia oraz tkanek wokół implantów [23].

Wzorując się na definicji WHO, która mówi że zdrowie jest dobrostanem fizycznym, psychicznym i społecznym, a nie tylko brakiem choroby, zaproponowano definicję zdrowego przyzębia. Zgodnie z nową klasyfikacją EFP/AAP American Academy of Periodontology (AAP) and the European Federation of Periodontology (EFP) zdrowe przyzębie definiuje się jako wolne od stanu zapalnego w ocenie klinicznej (brak choroby) i wykazujące naturalną odpowiedź immunologiczną (poziomy markerów biologicznych i zapalnych zgodne ze stanem równowagi) [23].

Stany zapalne przyzębia nie leczone nie pozwolą pacjentowi na normalne funkcjonowanie i uniknięcie konsekwencji fizycznych i psychicznych spowodowanych obecną lub przebytą chorobą [23,46]. Zapalenie przyzębia u pacjenta może pozostać w remisji/stabilne, albo wkraczać w okresy zaostrzenia. Zapalenie przyzębia zalicza się do przewlekłych stanów zapalnych, które w obecnej dobie można skutecznie powstrzymać i zachować zęby do końca życia [23,46].

Ogólnie mówiąc choroby dziąseł rozpatruje się w dwóch kategoriach: jedną grupę stanowią choroby nie wywołane biofilmem płytki nazębnej, a drugą zapalenie dziąseł wywołane biofilmem płytki nazębnej. Stanem zapalnym dziąseł

wywołanym biofilmem bakteryjnym, określa się zmianę zapalną będącą wynikiem interakcji pomiędzy biofilmem płytki nazębnej, a odpowiedzią immunologiczno-zapalną gospodarza, ograniczającą się do dziąsła i nie przekraczającą granicy śluzówkowo-dziąsłowej. Zmiana ta jest odwracalna po zredukowaniu płytki nazębnej na brzegu dziąsła i wierzchołkowo od niego [32,108-117]. Tempo progresji zapalenia dziąseł i całego przyzębia jest zależne od miejscowych i ogólnoustrojowych czynników ryzyka. Do pierwszych należą: czynniki retencyjne dla biofilmu płytki nazębnej (wyluczając stosunki anatomiczne) oraz suchość jamy ustnej (ksero stomia, zespół Sjogrena, oddychanie przez usta). Do czynników ogólnych ryzyka, tzw. czynników modyfikujących zalicza się cechy charakterystyczne pacjenta wpływające negatywnie na odpowiedź immunologiczno-zapalną w reakcji na zalegający biofilm bakteryjny. Organizm wykazuje wówczas nadmierną reakcję obronną (stan hiperreaktywny). Do najczęstszych czynników ryzyka zalicza się: czynniki metaboliczne takie jak cukrzyca typu II, czynniki żywieniowe (niedobory mineralne i witaminowe), czynniki farmakologiczne (leki, łącznie z lekami redukującymi wytwarzanie śliny, przeciwdrgawkowymi, immunosupresyjnymi, blokerami kanału wapniowego, oraz lekami antykoncepcyjnymi), zaburzenia równowagi stężenia hormonów płciowych (np. w trakcie pokwitania lub w ciąży) oraz choroby hematologiczne (stany przednowotworowe i nowotwory krwi) i palenie.

Istnieją różnice w szacowanej częstości występowania stanów zapalnych przyzębia. Łagodne zapalenie dziąseł dotyczy 95% populacji, przez co niesłusznie jest traktowane jako „odmiana normalności” czyli "rodzaj zdrowia klinicznego", a nie jako choroba [121]. Zapalenie dziąseł diagnozuje się głównie na podstawie objawów klinicznych, takich jak: obrzęk, ból, pieczenie, dyskomfort przy lekkim zgłębnikowaniu, zaczerwienienie, trudności w jedzeniu, przykry zapach z ust, pogorszenie jakości życia i krwawienie dziąseł. Rozwój metod diagnostycznych ułatwia rozpoznanie tej patologii i pozwala scharakteryzować stan zapalny pod kątem mikrobiologicznym i molekularnym. Jednak nadal te nowoczesne metody nie mogą zastąpić oceny klinicznej. Patogeneza zapalenia dziąseł i przyzębia jest podobna, ale obie jednostki są oddzielnie opisywane. W przypadku zapalenia dziąseł, płytka bakteryjna gromadzi się na brzegu dziąsłowym, a produkty uboczne przemiany materii bakterii takie jak: proteazy, siarkowodór, czy endotoksyny przenikają przez

nabłonek i inicjują stan zapalny dziąseł. Odpowiedzią na powyższą sytuację jest zwiększona przepuszczalność i poszerzenie się naczyń krwionośnych oraz przenikanie płynu z przestrzeni naczyniowej do tkanek i rowka dziąsłowego. Neutrofile z rowka dziąsłowego i naczyń krwionośnych zaczynają migrować, na skutek czego dochodzi do rozpadu włókien kolagenowych otaczających naczynia krwionośne w kierunku dowierzchołkowym. Po kilku dobach zaczynają gromadzić się limfocyty (szczególnie typu T) i makrofagi, a fibroblasty na skutek zmian morfologicznych mają mniejszą zdolność produkowania kolagenu. W efekcie zaczynają dominować komórki plazmatyczne. Nadal niszczony jest kolagen i warstwa proliferacyjna nabłonka. Przewlekła zmiana zapalna dziąsła ogranicza się do sąsiadujących tkanek z nabłonkiem rowka dziąsłowego [121]. Początkowe zmiany zapalne rozwijają się w ciągu pierwszych czterech dni akumulacji płytki bakteryjnej. Charakteryzują się zwiększoną przepuszczalnością naczyń, migracją neurofilli poza naczynia do tkanek i uszkodzeniem włókien kolagenowych otaczających naczynia krwionośne. Wczesna zmiana zapalna - rozwija się między czwartym a siódmym dniem od akumulacji płytki. W tym okresie zaczynają gromadzić się limfocyty (szczególnie typu T) i makrofagi. Zmieniają się właściwości fibroblastów na czynniki cytotoksyczne, co objawia się obniżoną produkcją kolagenu i proliferacją komórek nabłonka łączącego. Tak zwana ustalona zmiana zapalna, uwidacznia się w przybliżeniu od 14 do 21 dnia przy niezakłóconym wzroście płytki bakteryjnej. W tym okresie rozpoznane jest klinicznie przewlekłe zapalenie dziąseł. Omówione we wcześniejszych etapach zmiany rozwijają się w dalszym ciągu i nadają ciemnoniebieski odcień na zmienionych rumieniowo dziąsłach. Komórki plazmatyczne stają się dominującymi komórkami zapalnymi. Zmiany zapalne ograniczają się do dziąsła, nie dotyczą kości wyrostka zębodołowego. Mogą być modyfikowane przez czynniki ogólne wyżej wymienione.

W sytuacji gdy zmiany powyższe rozprzestrzeniają się i zaczną dotyczyć tkanek kostnych, nazywamy je zapaleniem przyzębia. Przewlekły stan zapalny może rozwijać się bardzo długo. W tej sytuacji istotna jest równowaga między drobnoustrojami, a odpowiedzią gospodarza. Zmniejszenie odporności gospodarza lub rozwój patogennej flory może przyczynić się do powstawania zapalenia przyzębia i wówczas zmiany zapalne rozprzestrzeniają się na tkankę kostną: kości wyrostka zębodołowego, ozębnej i cementu korzeniowego. O degradacji tkanki łącznej świadczą widoczne ogniska martwicze, odsłonięcie się

cementu na korzeniu zęba, który pochłania produkty bakteryjne tj. endotoksyny prostaglandyny, interleukiny oraz czynnik martwicy nowotworów (TNF). Cement taki w skutek martwicy staje się miękki. Zapalenie przyzębia za które odpowiadają specyficzne bakterie lub grupy bakterii objawia się przewlekłym stanem zapalnym tkanek aparatu zawieszeniowego zęba. Na skutek ich działalności dochodzi do destrukcji włókien kości wyrostka zębodołowego i ozębnej, co skutkuje powstawaniem kieszeni przyzębnych i recesji dziąsłowych (często występujących jednocześnie), ruchomością zębów, zmianą konsystencji i kształtu dziąsła i częstym krwawieniem podczas badania sondą. Częste krwawienie w trakcie badania wskazuje na obecność stanu zapalnego i utratę przyczepu łącznotkankowego. Utrata przyczepu może mieć charakter ciągły lub epizodyczny. Zapalenie dziąsła o podłożu bakteryjnym nie powoduje bezpośrednio utraty zębów, ale nie leczone przechodzi w zapalenie przyzębia, którego efektem może być utrata zębów. Ponadto płytka bakteryjna obecna w przypadku zapalenia dziąsła niewywołanego przez płytkę nazębną, może przyspieszyć rozwój choroby [2-5,13, 61-99, 122-125].

1.6. Dieta

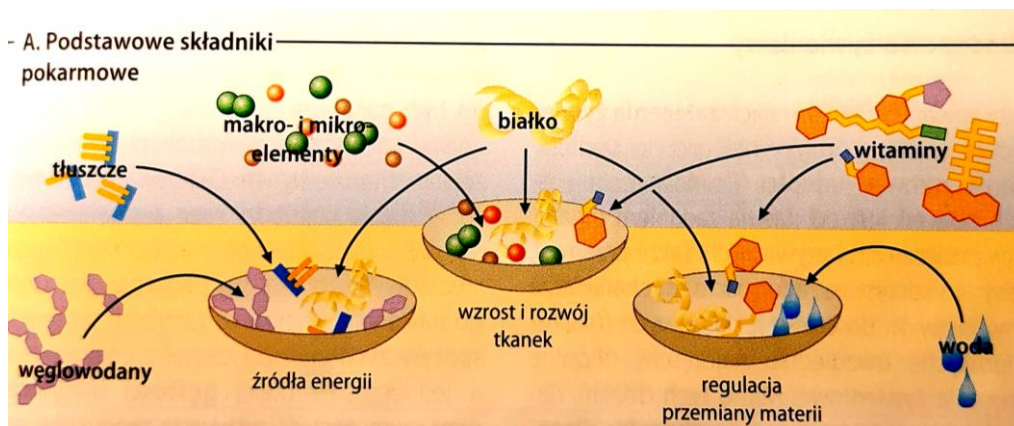
Pożywienie warunkuje prawidłową budowę zębów, układu stomatognatycznego, wpływa na odporność tkanek w jamie ustnej, może chronić przed chorobami przyzębia, ale może również przyczyniać się do powstania próchnicy, erozji, chorób dziąsła i przyzębia. Obecnie polecany model żywienia ma postać piramidy [80]. (Ryc. 8).



Ryc.8. Piramida żywienia [14,15].

1.6.1. Cukry

Są obok tłuszczów podstawowym źródłem energii dla organizmu. (Ryc.9).



Ryc.9. Rola składników pokarmowych w organizmie [16, 130-133].

Zespół do spraw cukrów dietetycznych Komisji ds. medycznych aspektów żywności i polityki żywieniowej (COMA) w Wielkiej Brytanii wyróżnił wśród cukrów spożywczych cukry – naturalne wewnętrzne (obecne w strukturze komórkowej) oraz zewnętrzne (uwolnione ze struktury komórkowej tzw. wolne cukry dodawane do pożywienia). Cukry zewnętrzne dzielone są dalej na cukry niemleczne i cukry mleczne.

Cukry wewnętrzne fruktoza, glukoza i sacharoza znajdują się w ścianach owoców i warzyw. Glukoza i sacharoza nie rozkładają się w jamie ustnej, dlatego są mniej próchnicotwórcze. Fruktaza zawarta w sokach owocowych jest próchnicotwórcza, ponieważ do jej rozkładu dochodzi już w jamie ustnej. Cukry wewnętrzne zawarte w owocach mogą być przekształcane w zewnętrzne niemleczne podczas procesu suszenia.

Cukry zewnętrzne obejmują: sacharozę, fruktozę, glukozę, dekstrozę, maltozę. Można je znaleźć w: słodyczach, napojach bezalkoholowych, ciastkach, ciastach, sokach owocowych, miodach, cukrach dodawanych do potraw, syropie, brązowym cukrze, surowym cukrze trzcinowym i trzcinie cukrowej. Cukry zewnętrzne mleczne to laktoza i galaktoza. Występują naturalnie w mleku, produktach mlecznych (jogurtach i serach), są mniej próchnicotwórcze, ponieważ zawierają wapń, który przeciwdziała rozwojowi próchnicy [6,47].

1.6.2. Białka

Źródłem białka w diecie są głównie produkty mleczne, mięso i jaja, ale niektóre produkty roślinne tj. groszek, fasola, soczewica, nasiona soi, tofu, ziemniaki i zboża zawierają również duże ilości białka: [6,14,15]. Aminokwasy powstające w wyniku trawienia białek, nie są preferowanym źródłem energii ale są istotnym budulcem mięśni. Białka są istotnymi składnikami śliny w jamie ustnej, należą do nich glikoproteiny (mucyny), które umożliwiają zlepianie i połknięcie kęsa bez podrażniania błony śluzowej, ale również z nich wytrąca się błonka nabyta stanowiąca pierwszą warstwę płytki nazębnej; histatyny wiążą się z błoną drobnoustrojów i prowadząc do ich zniszczenia; stateryny hamują wzrost hydroksyapatytów i kamienia nazębnego, uczestniczą w remineralizacji szkliwa i chronią je przed fizycznymi czynnikami; cystatyny łagodzą przebieg stanów zapalnych w jamie ustnej i odgrywają dużą rolę w zapobieganiu chorobom przyzębia; laktoferryne wiąże jony żelaza przyczyniając się do ograniczenia rozwoju bakterii potrzebujących tego pierwiastka do życia; immunoglobuliny IgG, IgA, IgM wpływają na ograniczenie przylepności bakterii do szkliwa zębów i nabłonka policzków; lizozym ogranicza wzrost i metabolizm mikroorganizmów oraz produkcję kwasu mlekowego przez bakterie; α -amylaza bierze udział we wstępnym trawieniu pokarmów i jest odpowiedzialna za tworzenie się kompleksu glikoproteinowego błonki nabytej na zębach, która odpowiada za większość chorób jamy ustnej. Dzięki układowi peroksydazy ślinowej zawierającej białka redukowana jest aktywność bakterii i redukowane jest H_2O_2 .

1.6.3. Tłuszcze

Tłuszcze są istotnym źródłem energii, substratem do syntezy wielu hormonów i są niezbędne do wchłaniania witamin rozpuszczalnych w tłuszczach. Istnieje kilka podziałów tłuszczu, jeden z nich dzieli tę grupę na związki zbudowane z nasyconych, bądź nienasyconych kwasów tłuszczowych. Kwasy tłuszczowe nasycone odpowiadają za wzrost stężenia cholesterolu i występują w produktach pochodzenia zwierzęcego, tj. mięso, wędliny, produkty mleczne, masło, sery oraz w niektórych tłuszczach roślinnych np. tłuszczu kokosowym. Wzrost stężenia cholesterolu – szczególnie cholesterolu o niskiej gęstości (LDL) inicjuje powstanie blaszki miażdżycowej w naczyniach, która z kolei inicjuje uszkodzenie śródbłonka wyścielającego światło naczyń, co aktywuje stan zapalny i prowadzi do uwalniania mediatorów zapalenia. Badania naukowe wykazały, że

powyższe stężenie lipidów we krwi ma wpływ na rozwój chorób przyzębia [125]. Kwasy tłuszczowe jednonasycone występują w oleju rzepakowym, oliwie i wytwarzanych z niej margarynach. Wielonasycone kwasy tłuszczowe: omega-3 i omega-6 nie są syntetyzowane w organizmie, dlatego ich poziom zależy jest wyłącznie od diety. Pełnią funkcję ochronną dla tkanek w jamie ustnej. Omega-3 obecne są w olejach roślinnych, orzechach i nasionach (np. siemieniu lnianym). Omega-6 w morskich rybach (np. makreli, śledziach), w olejach ostropestu, soi, słonecznika i w mięsie [6,14,15]. Pozostałe tłuszcze wytwarzają reaktywne formy tlenu w procesie utleniania kwasów tłuszczowych (peroksydacji lipidów) i indukują stres oksydacyjny sprzyjający chorobom przyzębia.

1.6.4. Witaminy

Witaminy uczestniczą w wielu procesach przemiany materii. Ich długotrwały niedobór istotnie wpływa na stan zdrowia błony śluzowej jamy ustnej. Silnymi antyoksydantami są witaminy: A, E, D, K, C i grupa witamin typu B: witamina B1 – tiamina, witamina B3 (lub inaczej witamina PP) – niacyna, witamina B5 – kwas pantotenowy, witamina B6 – pirydoksyna, witamina B9 – kwas foliowy i witamina B12 - kobalamina., flawonoidy i koenzym Q10. Wyróżniamy witaminy rozpuszczalne w tłuszczach i w wodzie.

Witaminy rozpuszczalne w tłuszczach:

Witamina A (retinol) - jest antyoksydantem, wpływa korzystnie na rozwój komórek kostnych, nabłonkowych, na strukturę błony śluzowej, rozwój szkliwa, na gojenie dziąseł oraz sprawny przepływ śliny. Jej nadmiar zwiększa podatność na urazy, infekcje błony śluzowej, spowalnia gojenie się zmian na błonie śluzowej w jamie ustnej i przyczynia się do dolegliwości bólowych ze strony kości. Źródłem jej są głównie warzywa i owoce tj. marchew, szpinak, kapusta, sałata, brokuły, jarmuż, zielona fasola, jarzyny żółte, czerwona papryka, agrest, morele, czarne porzeczki, melon, mango, ale również jaja, wątroba zwierząt i ryb, przetwory mleczne, oleje.

Witamina D (ergo- lub cholekalcyferol) - jest prekursorem hormonów np. kalcytriolu (niezbędnego do wchłaniania wapnia z jelit i jego wbudowywanie do kości), uczestniczy w reakcjach odpornościowych. Niedobór wit. D zwiększa podatność na infekcje, zwiększa demineralizację kości (co sprzyja paradontozie), w okresie ciąży jest czynnikiem: ryzyka rozwoju hipoplazji szkliwa i atrofii gruczołów ślinowych u płodu, powoduje nieodwracalne zaburzenia formowania

tkanek zębów mlecznych i stałych, ponadto wpływa na zniekształcenie kości szczęk i żuchwy, wyrostka zębodołowego, przyczynia się do zaburzeń zgryzu, nieprawidłowości wyrzynania się zębów np. opóźnione wyrzynanie się lub zatrzymania ich wyrzynania się, zaburzeń w funkcjonowaniu ameloblastów z niedostateczną mineralizacją szkliwa, zębiny i cementu korzeniowego oraz zmniejszenie wielkości zębów trzonowych. Nadmiar witaminy D przyczynia się do zwiększonego wchłaniania wapnia z jelit, uwalniania wapń z tkanki kostnej - co powoduje zmiany w budowie zębów, np. ścięczenie szkliwa oraz zwapnienie tkanek miękkich. Znajduje się w tłustych rybach (tj. śledź, makrela), żółtku jaj, produktach mlecznych, kakao, kukurydzy i w tranie.

Witamina E (tokoferole lub tokotrienole) jest bardzo silnym antyoksydantem redukującym wolne rodniki, uszczelnia i rozszerza naczynia krwionośne, bierze udział w reakcjach odpornościowych (jest pomocna w terapii zapaleń przyzębia). Jej niedobór zaburza przemianę materii w mięśniach i układzie nerwowym oraz sprzyja chorobom przyzębia. Znajduje się w olejach roślinnych (rzepakowym, z kiełków pszenicy, kukurydzy, soi), w margarynie, orzechach, zbożach pełnoziarnistych, fasoli, grochu, marchwi, szpinaku, brukselce, liściach sałaty, w ziemniakach, mleku, pestkach słonecznika i dyni, suszonych śliwkach.

Witamina K (filochinon) bierze udział w krzepnięciu krwi i bierze udział w metabolizmie tkanki kostnej. Jej niedobór wzmaga krwawienie błony śluzowej i sprzyja demineralizacji szkliwa. Witamina K występuje w warzywach liściastych zielonych (np. w białej kapuście, szpinaku, kalafiorze, produktach mlecznych, mięsie, wątrobie, jajach, zbożach, oleju słonecznikowym i winogronowym).

Witaminy rozpuszczalne w wodzie:

Witamina B₁ (tiamina) jest przeciwutleniaczem i stymuluje procesy wzrostu w organizmie. Jej niedobór powoduje nadwrażliwość błony śluzowej, bóle języka, zmiany zapalne ślinianek, upośledzenie w wytwarzaniu witaminy C i protrombiny. Jej źródłem są: wieprzowina, ryby, zboża pełnoziarniste, rośliny strączkowe, ziemniaki, nasiona, suszone śliwki, kasza jaglana i gryczana, jarmuż, kiełki, kalafior.

Witamina B₂ (ryboflawina) jest substratem do syntezy niektórych koenzymów katalizujących reakcje utleniania, jest przeciwutleniaczem. Jej niedobór wpływa na zaburzenia wzrostu, zapalenie błony śluzowej jamy ustnej (pęknięcie kącików ust), zapalenie warg i ich wysychanie, zapalenie języka (obrzęk, suchość, barwę

purpurowo - czerwoną) oraz zanik brodawek nitkowatych. Znajduje się w produktach mlecznych, mięsie, jajach, rybach, produktach pełnoziarnistych, brokułach, brukselce, w awokado, szparagach, szpinaku, kaszy jaglanej i gryczanej.

Witamina B₆ (pirydoksyna) jest składnikiem koenzymów, enzymów przemian aminokwasów, przez co ułatwia rozwój próchnicy u dzieci. Niedobór witaminy B₆ prowadzi do zaburzenia odporności organizmu, zapalenie języka, zapalenia kątów ust. Źródłem witaminy B₆ są prawie wszystkie produkty żywnościowe szczególnie: mięso drobiowe i ryb, kapusta, soczewica, roszponka, kabaczki, ziemniaki, banany, produkty, zbożowe pełnoziarniste, drożdże, kukurydza, jaja, orzechy, rodzynki, suszone śliwki, melon.

Witamina B₃ (PP, niacyna) jest składnikiem koenzymów, enzymów do przemian węglowodanów, białek, tłuszczów. Awitaminozą witaminy PP są zmiany na błonach śluzowych, tj. przekrwienie błony śluzowej, obrzęk języka, rozrost brodawek nitkowatych, zaburzenia czucia (pieczenie i palenie języka), pęknięcie kącików ust oraz demineralizacja tkanki kostnej.

Witamina H (biotyna) jest składnikiem koenzymów, enzymów przemian węglowodanów, tłuszczów i aminokwasów. Niedobór biotyny przejawia się w zmianach krwotocznych języka, zaniku brodawek języka, nadmiernym rogowaceniu błony śluzowej jamy ustnej. Biotyna znajduje się w nasionach soi, orzechach, płatkach owsianych, szpinaku, pieczarkach, marchwi, soczewicy.

Witamina B₅ (kwas pantotenowy) jest składnikiem koenzymów, enzymów do przemian metabolicznych węglowodanów, tłuszczów i aminokwasów, wzmacnia układ odpornościowy, wspiera regenerację tkanek, określana jest mianem "witaminy antystresowej". Jej niedobór sprzyja nadmiernemu rogowaceniu, nabłonka, zmianom martwiczym dziąseł, zmianom krwotocznym języka, owrzodzeniu jamy ustnej, skłonnością do krwawień i infekcji jamy ustnej.

Witamina B₅ znajduje się w prawie wszystkich produktach spożywczych: mięsie, rybach, mleku, produktach pełnoziarnistych, nasionach roślin strączkowych, drożdżach, otrębach, kielkach pszenicy, płatkach owsianych, ryżu, grysiku, zielonych warzywach, orzechach, fasoli, figach, w awokado.

Witamina B₁₂ (kobalamina) jest składnikiem koenzymów, enzymów metabolizmu tłuszczów. Niedobór wit. B₁₂ w organizmie objawia się zanikowym zapaleniem języka i błony śluzowej jamy ustnej. Jest składnikiem mięs, ryb, jaj, mleka, serów, płatków kukurydzianych.

Witamina B₉ lub B₁₁ (kwas foliowy i foliany) biorą udział w odbudowie komórek. Niedobór tej witaminy przyczynia się do zmian zapalnych błony śluzowej całego przewodu pokarmowego, może powodować u płodu rozszerzenie podniebienia pierwotnego i wtórnego. Jej źródłem są zielone warzywa, pomidory, nasiona soi, pomarańcze, winogrona, soki, produkty zbożowe pełnoziarniste, mięso, produkty mleczne, jaja, buraki, rośliny strączkowe, szparagi, orzechy, morele, dynia, awokado.

Witamina B₈ (inozytol) współuczestniczy w przemianach aminokwasów i tłuszczów. Niedobór powoduje suchość błony śluzowej. Znajduje się w przetworach mlecznych, warzywach, mięsie i przetworach mięsnych i jajach. Witamina C (kwas askrobinowy) jest antyoksydantem, wzmacnia układ odpornościowy, uczestniczy w syntezie włókien kolagenowych tworzących szkielet dla kryształów fosforanu, wapnia w tkance kostnej, aktywności odontoblastów, fibroblastów, chondroblastów. Ponieważ wit. C jest koenzymem hydrolazy prolinowej i lizynowej, które katalizują powstanie poprzecznych wiązań kowalencyjnych pomiędzy cząstkami tropokolagenu, objawem jej niedoboru jest brak dojrzewania kolagenu (dotyczy wielu narządów i układów). W obrębie jamy ustnej niedobór witaminy C powoduje zwiększoną podatność na infekcje, wpływa na słabe gojenie zranień, zwolnione tworzenie blizn, krwawienie dziąseł i wylewy krwawe spowodowane krwotocznym zapaleniem dziąseł (szkorbut, gnilec), zaburzenia rozwoju tkanki kostnej, kruchość tkanki kostnej, u dzieci zaburzenia wzrostu zębów i wytwarzania szkliwa.

1.6.5. Antyoksydanty

Antyoksydantami nazywa się substancje, które w niskich stężeniach w porównaniu do utlenionego substratu hamują lub opóźniają jego utlenianie. Występują one w trzech kategoriach jako: antyoksydanty prewencyjne, antyoksydanty interwencyjne i enzymy reparacyjne. Antyoksydanty prewencyjne mają za zadanie powstrzymanie powstawania reaktywnych form tlenu, a szczególnie rodników wodorotlenkowych. Są nimi: albuminy, laktoferryina, katalaza, dysmutaza ponadtlenkowa, peroksydaza glutationowa, transferryina, celuroplazmina, haptoglobina i hemopeksyna. Powyższe substancje wchodzą w skład śliny, wpływają na rozkład drobnoustrojów i ochraniają jamę ustną - przeciwdziałają stanom zapalnym, hamują namnażanie się biofilmów bakteryjnych indukowanych pod wpływem określonego pH. Zaburzenie

homeostazy enzymów antyoksydacyjnych zwiększa występowanie chorób przyzębia. Zadaniem antyoksydantów interwencyjnych jest przerywanie reakcji wolnorodnikowych przez wchodzenie w reakcje z nimi lub ukierunkowanie na kończenie tych reakcji. Za te działania odpowiedzialne są glutation, askorbinian, kreatynina, kwas moczowy, bilirubina, tokoferole, karotenoidy, ubihydrichinon - koenzymu Q, pochodne estronu, estradiolu oraz witaniny C, A, E. Za usuwanie skutków i reakcji reaktywnych form tlenu z DNA i z białkami są odpowiedzialne enzymy reparacyjne. Do nich należą: glikozylazy, ligazy, tioredoksyna i proteazy. Rozkładają tłuszcze i białka, a zaburzenie ich aktywności wywiera podobny wpływ jak w przypadku enzymów antyoksydacyjnych. Dieta człowieka może zawierać substancje (np. witaminy C, A, E, B), które mogą wspierać i wspomagać systemy antyoksydacyjne. Może też zawierać substancje pogłębiające stres oksydacyjny w jamie ustnej np. cukry lub nikotyna.

1.6.6. Składniki mineralne

Składniki mineralne odgrywają istotną rolę w rozwoju kości trzewioczaszki, zębów i pozostałych struktur budujących jamę ustną. Dzielone są na makropierwiastki (makroelementy), czyli pierwiastki, których zapotrzebowanie dobowe przekracza 100 mg i mikropierwiastki (mikroelementy), których dobowe zapotrzebowanie wynosi mniej niż 100 mg. W przeciwieństwie do witamin, w większości nie są one wrażliwe na metody obróbki żywności, nie niszczy je wysoka temperatura i powietrze [6,14,15,25]. Mikroelementami ważnymi dla zdrowia jamy ustnej są żelazo, jod, fluor, cynk i mangan. Żelazo wpływa na prawidłowy przebieg odontogenezy i jest kofaktorem wielu reakcji enzymatycznych. Jego niedobór powoduje zaburzenia smaku, a w okresie życia płodowego może zaburzyć integralność tkanek zęba, opóźnić wzrost, rozwój i być przyczyną dysfunkcji gruczołów ślinowych. Nadmiar natomiast nasila produkcję wolnych rodników i zwiększa ryzyko chorób nowotworowych. Bogate w żelazo jest mięso, pełnoziarniste zboża, nasiona roślin strączkowych, szpinak, koper włoski i buraki czerwone.

Jod jest składnikiem hormonów tarczycy regulujących wzrost tkanki kostnej, wpływa na prawidłowy przebieg odontogenezy. Niedobór przyczynia się do opóźnionego wyrzynania się zębów i powstawania nieprawidłowości zgryzu. Nadmiar sprzyja rozwojowi wad wrodzonych. Jego źródłem są ryby morskie, produkty mleczne, jodowana sól kuchenna i algi.

Fluor jest składnikiem kości, zębów, jest ważny w profilaktyce próchnicy, bierze udział w procesach metabolicznych związanych z prawidłową budową tkanek twardych, w hamowaniu reakcji enzymatycznych, przemianie węglowodanów i tłuszczu oraz w syntezie niektórych hormonów. Jego niedobór zwiększa ryzyko próchnicy i zmniejsza wytrzymałość kości. Nadmiar powoduje fluorozę. Źródłem fluoru są sól fluorowana, woda mineralna, orzechy, ryby, herbata, produkty zbożowe, warzywa liściaste i ziemniaki.

Cynk jest składnikiem licznych enzymów, hormonów i białek biorących udział w reakcjach układu odpornościowego. Niedobór osłabia odczuwanie smaku, spowalnia gojenie ran, zwiększa podatność na infekcje jamy ustnej. Zawierają go mięso, jaja, produkty mleczne, ostrygi, produkty zbożowe pełnoziarniste. Mangan jest antyoksydantem. Zawierają go goździki, produkty zbożowe pełnoziarniste, suche nasiona strączkowe, owoce morza, kasza gryczana, orzechy, korzeń pietruszki, szpinak, jarmuż i kakao [6,14,15,25].

Istotnymi makropierwiastkami dla zdrowia jamy ustnej są wapń, fosfor i magnez. Wapń wzmacnia osteoblasty w procesie tworzenia kości - jest budulcem kości i zębów, jest potrzebny do stabilizacji błon komórkowych, odpowiada za krzepnięcie krwi, szczelność naczyń krwionośnych. Niedobór przyczynia się do łamliwości i zaniku tkanki kostnej, osteoporozy, osłabienia dziąseł i aparatu więzadłowego zęba w zębodole i zapalenie stawów. Znajduje się w produktach mlecznych, rybach, brokułach, jarmużu, szczypiorku, migdałach, wodzie mineralnej bogatej w wapń i w nasionach maku.

Fosfor bierze udział w procesie tworzenia kości. Jego niedobór powoduje zmniejszenie gęstości kości, a nadmiar przyczynia się do zwapnienia tkanek miękkich, utrudnia wchłanianie wapnia, miedzi, żelaza, magnezu i cynku. Magnez jest składnikiem tkanki kostnej i mięśniowej, a znajduje się w produktach pełnoziarnistych, mlecznych, w drobiu, rybach, ziemniakach, nasionach soi, owocach jagodowych, pomarańczach, bananach, kawie i w herbacie [6,14,15,25].

1.6.7. Suplementy diety

W ostatnich latach notuje się istotne zmiany nawyków żywieniowych w krajach wysokorozwiniętych, polegające na upowszechnianiu indywidualnie planowanej diety, żywności funkcjonalnej i suplementów diety[14,15,10]. Te trzy ważne elementy określono filarami zdrowego żywienia [106-107].

Pierwszy filar, to indywidualnie planowana dieta która uwzględnia zawartość węglowodanów, białka, tłuszczów witamin, mikro- i makroelementów, w zależności od wieku, płci, wagi ciała, stanu zdrowia czy wykonywanej pracy konkretnej osoby. Dobieranie odpowiednich produktów żywnościowych i dodatków witaminowo - mineralnych, powinno się wiązać z wcześniejszym wykonaniem rozszerzonych badań analitycznych wraz z oznaczeniem poziomu makro- i mikropierwiastków w organizmie, witamin (najlepiej z pełnym profilem antyoksydantów) w surowicy krwi.

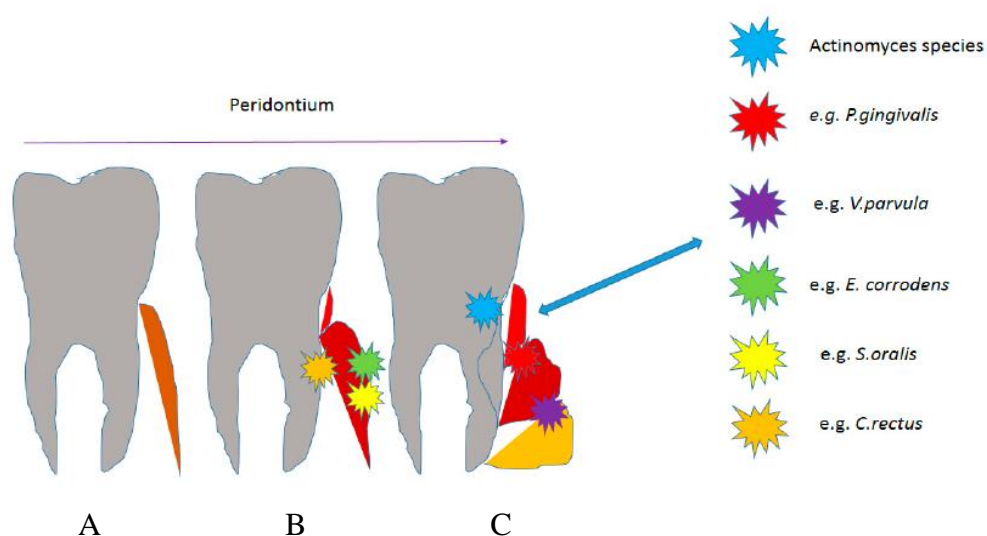
Drugi filar stanowi tzw. żywność funkcjonalna. Żywnością funkcjonalną, określa się produkty, które mają udokumentowane korzystny wpływ na organizm. Żywność ta, poprawia zdrowie, samopoczucie i/lub zmniejsza ryzyko zachorowania. Musi ona przypominać żywność konwencjonalną i wywierać wyżej opisane działanie gdy jest spożywana w ilościach które są normalne spożywane przez człowieka. Może być wzbogacona o naturalne składniki tj. błonnik, probiotyki, (bakterie *Lactobacillus*), składniki mineralne (np. wapń, żelazo, magnez, cynk), wielonasycone kwasy tłuszczowe, witaminy i związki o działaniu antyoksydacyjnym [25-45,75,76].

Suplementy diety stanowią trzeci filar zdrowego odżywiania. Zgodnie z ustawą o bezpieczeństwie żywności i żywienia oraz przepisami prawa farmaceutycznego są to, środki spożywcze uzupełniające codzienną dietę będące skoncentrowanym źródłem witamin, składników mineralnych lub innych substancji wykazujących efekt odżywczy lub inny efekt fizjologiczny [75,76, 106-107]. Są to produkty wytworzone i wprowadzone do obrotu w formie umożliwiającej dawkowanie (w kapsułkach, tabletkach, proszku lub płynie), z wyłączeniem produktów posiadających właściwości lecznicze. Definicja ta wyraźnie rozróżnia suplementy i produkty lecznicze. Prawo farmaceutyczne określa produkt leczniczy, jako substancję lub mieszaninę substancji o właściwościach zapobiegania lub leczenia chorób, oraz poprawienia lub modyfikacji fizjologicznych funkcji organizmu poprzez działanie farmakologiczne, immunologiczne lub metaboliczne. Suplement diety jest natomiast formą wsparcia codziennej diety, o ile dieta nie jest w stanie dostarczyć wszystkich niezbędnych składników odżywczych [80].

Suplementy dzieli się na trzy podstawowe grupy: nutraceutyki, parafarmaceutyki i probiotyki.

Do nutraceutyków zaliczane są witaminy lub ich bliskie prekursorsy, wielonasycone kwasy tłuszczowe, makro- i mikroelementy, aminokwasy, niektóre mono- i disacharydy oraz błonniki spożywcze. Stosowanie ich pozwala szybko uzupełnić deficyt ważnych substancji odżywczych, indywidualizować pożywienie w zależności od potrzeb z uwzględnieniem genetycznych cech biochemicznych danej osoby, wieku, wysiłku fizycznego, biorytmami, stanu fizjologicznego (np. ciąża, laktacja - gdy zwiększa się ubytek wapnia), a także z warunkami ekologicznymi panującymi w miejscu zamieszkania. Dodatkowo można zaspokoić zmieniające się zapotrzebowanie fizjologiczne na substancje spożywcze w przypadku choroby (z ominięciem ogniwa łańcucha metabolicznego uszkodzonego przez proces patologiczny). Nutraceutyki pozwalają podnieść niespecyficzną odporność organizmu na działanie niekorzystnych czynników środowiska zewnętrznego, u osób żyjących w ekologicznie niesprzyjających regionach, np. przyspieszyć wiązanie toksycznych substancji. Parafarmaceutyki są składnikami występującymi w znikomych ilościach w żywności. Są nimi kwasy organiczne, flawonoidy, kofeina, biogenne aminy, regulacyjne di- i oligopeptydy i niektóre oligosacharydy. Ich stosowanie otwiera bezpieczną i bezlekową drogę wspomaganie i regulacji funkcji poszczególnych narządów i układów. Probiotyki są żywymi mikroorganizmami i/lub ich metabolitami, wpływającymi normalizująco na skład i aktywność biologiczną mikroflory jamy ustnej.

1.6.8. Wpływ diety na rozwój chorób przyzębia



Ryc. 10. Proces powstawania choroby przyzębia. A) okres początkowy inicjujący zasiedlanie przez bakterie, B) pełne zasiedlenie przez bakterie, C) rozwinięta parodontoza [54,55].

Niedostateczna higiena jamy ustnej prowadzi do zapalenia przyzębia (paradontoza, *periodontitis*), co wiąże się z dyskomfortem, obniżeniem jakości życia, utratą zębów i predysponuje do powstawania np. chorób sercowo - naczyniowych, cukrzycy i chorób układu oddechowego (Ryc.10). Leczenie paradontozy można wspierać odpowiednim żywieniem np. ochronnie działa czosnek, cebula, chrzan, bazylia, goździki, cynamon, kolendra, jałowiec i melisa, witamina C oraz koenzym Q. Chorobie sprzyja niski poziom wapnia w surowicy krwi wyraźnie koreluje z wzrostem ryzyka zapalenia przyzębia w początkowym jego stadium [14-16] (Tab.2).

Warzywa
Sałata rzymska, brokuły, kiełki brokułów, kiełki brukselki, kapusta, kalafior, boćwina, papryka, czosnek, cebula, koper włoski, zielona fasolka szparagowa, pora, jarmuż, oliwki, szpinak, rabarbar, pomidory, słodkie ziemniaki
Owoce
Jabłka, awokado, czarna porzeczka, gujawa, świeże ananasy, wiśnia acerola, borówka, kumkwat, kiwi, limonki, cytryny, pomarańcze, jeżyny, papaja, truskawki, maliny
Oleje
Oleje z awokado, oliwa z oliwek extra virgin, olej lniany
Orzechy i nasiona
Migdały, siemię lniane, orzechy włoskie, orzechy laskowe, nasiona słonecznika
Napoje
Zielona herbata
Ryby i owoce morza
Halibut, dorsz, śledź, ostrygi, łosoś, pstrąg tęczowy, sardynki, tuńczyk, białoryb

Tab.2. Produkty spożywcze o działaniu przeciwbakteryjnym wspomagające leczenie w zapaleniach przyzębia.

Zioła wspomagają leczenie chorób przyzębia i błony śluzowej jamy ustnej poprzez redukcję stanów zapalnych, płytki bakteryjnej (redukcji liczby bakterii patogennych) w jamie ustnej oraz zmniejszają krwawienie dziąseł. Działają przeciwzapalnie, ściągająco i osłaniająco na dziąsła. Do dobroczynnych ziół dla jamy ustnej należą: rumianek, szalwia, liście i korzeń prawoślazu lekarskiego,

róża, nagietek, tymianek, kłącze pięciornika, kurze ziele, babka lancetowata, korzeń krwawnika, ekstrakt z eukaliptusa, miódla indyjska, siemię lniane i kora dębu. Niektóre popularne przyprawy również wspomagają leczenie paradontozy: pieprz cayenne, papryczki chilli, goździki korzenne, cynamon, kakao, lukrecja, mięta, oregano, natka pietruszki, rozmaryn, bazylia kurkuma, tymianek. Działanie ziół i przypraw może być wielokierunkowe i z tego powodu nie zawsze korzystne np. szałwia nie będzie właściwa dla osób z mniejszym wydzielaniem śliny, gdyż będzie problem suchości w jamie ustnej pogłębiać [15].

Badania japońskich naukowców wykazały, że kwas mlekowy redukuje liczne patogenne szczepy bakteryjne bytujące w jamie ustnej [105-106]. Nie zaleca się spożywania żywności, która wymaga żucia i przykleja się do zębów, a także pokarmów chrupiących, twardych, które drażnią i kaleczą dziąsła [15,16,105,106].

1.6.9. Wpływ higieny jamy ustnej na rozwój chorób przyzębia

Higiena jamy ustnej ma podstawowe znaczenia dla zdrowia jamy ustnej poprzez ograniczenie rozwoju flory bakteryjnej i zmniejszenie potencjału oksydoredukcyjnego. Podstawą higieny jamy ustnej jest usuwanie płytki nazębnej poprzez codziennie zabiegi higieniczne, wykonywane co najmniej 2 razy dziennie (najlepiej po każdym posiłku). Istotą zabiegów higienicznych jest szczotkowanie zębów właściwą dla danej jamy ustnej metodą szczotkowania i stosowanie odpowiednich narzędzi do jej przeprowadzenia (szczoteczek, nitki). Ponadto oczyszczania przestrzeni międzyzębowych, oczyszczanie języka oraz stosowania adekwatnych do potrzeb past do zębów i płukanek do higieny jamy ustnej. Nieskutecznie usuwana płytka nazębna przyczynia się do zniszczenia dziąseł, aparatu zawieszeniowego zęba i kości wyrostka zębodołowego co w konsekwencji prowadzi do utraty zębów. Patogenne drobnoustroje z jamy ustnej drogą krwi przedostają się do innych organów i generują w nich procesy patologiczne tj. miażdżyca, czy zapalenie wsierdza. Dlatego dla utrzymania zdrowia jamy ustnej oprócz codziennych zabiegów higienicznych ważne są regularne wizyty kontrolne w gabinecie stomatologicznym i usuwanie kamienia nazębnego z częstotliwością indywidualnie dobraną dla pacjenta.

2. Cele pracy

Wyznaczono cztery główne cele pracy

- I. Oszacowanie wpływu różnych typów diet w indukcji stanów zapalnych tkanek miękkich w jamie ustnej w obecności zalegającej płytki bakteryjnej i przy braku zalegającej płytki bakteryjnej nad- i poddziąsłowej.
- II. Ocena wpływu różnych rodzajów diet na obecność stanów zapalnych tkanek miękkich w jamie ustnej oraz obecność płytki bakteryjnej nad- i poddziąsłowej, u osób nie posiadających zwierząt i właścicieli zwierząt domowych
- III. Oszacowanie jaka dieta w największym stopniu wpływa na mikrobiom bakteryjny w jamie ustnej ssaków.
- IV. Porównanie biofilmów bakteryjnych ludzi i zwierząt.

3. Materiały i metody

3.1. Regulacje prawne

Badania przeprowadzono zgodnie z regulacjami prawnymi prawa polskiego i Unii Europejskiej - przytoczonymi poniżej, za dobrowolną zgodą ochotników biorących w nich udział.

- Ustawa z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodzie lekarza i lekarza dentysty (Dz.U. 1997 nr. 28, poz. 152) (obwieszczenie Marszałka Sejmu RP z dnia 22 lutego, 2019 w sprawie publikacji tekstu jednolitego ustawy o zawodach lekarza i lekarza dentysty, Dz.U.2019, poz. 537).

- Ustawa z dnia 6 września 2001 r. Prawo farmaceutyczne Dz.U. 2001 nr 2001 nr 126 poz. 1381 (obwieszczenie Marszałka Sejmu RP z dnia 22 lutego 2019 r. opublikowanie tekstu jednolitego ustawy Prawo farmaceutyczne, Dz.U.2019, poz. 499)

- Ustawa z dnia 6 września 2001 r. Prawo farmaceutyczne (Dz. U. z 2017 r. poz. 2211 z późn. zm.) oraz Ustawa z dnia 20 maja 2010 r. o wyrobach medycznych (Dz. U. z 2017 r. poz. 211) z późn. zm.)

- Ustawa z dnia 1 lipca 2005 r. o pobieraniu, przechowywaniu i przeszczepianiu komórek, tkanek i narządów (Dz. U. z 2005 r. Nr 169, poz. 1411);

- Ustawa z dnia 20 maja 2010 r. o wyrobach medycznych, Dz.U.2010 nr 2010 Nr 107, poz. 679 (obwieszczenie Marszałka Sejmu RP z dnia 13 grudnia 2019 r. w sprawie publikacja tekstu jednolitego ustawy o wyrobach medycznych, Dz.U.2020 poz. 186)

- Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012 r. w sprawie dobrej praktyki klinicznej (Dz. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012 r. w sprawie dobrej praktyki klinicznej (Dz. 2012, poz. 489);
- Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 16 lutego 2016 r. w sprawie szczegółowych wymagań dotyczących planowania, prowadzenia, monitorowania i dokumentowania badania klinicznego wyrobu medycznego, Dz.U.2016 poz. 209.
- Zalecenie (2006) 4 Komitetu Ministrów Rady Europy dla członków stwierdza w sprawie badań nad materiałami biologicznymi pochodzenia ludzkiego (Rekomendacja Rec. (2006) cztery z Komitetu Ministrów do 13 państw członkowskich ds. badań materiałów biologicznych pochodzenia ludzkiego), dnia 15 marca 2006 r.;
- Dyrektywa UE 2004/23/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 31 marca 2004 r. w sprawie ustalanie standardów jakości i bezpieczeństwa darowizny, pozyskiwania, testowania, przetwarzania, konserwacji, przechowywanie i dystrybucja tkanek i komórek ludzkich (OJ L102 z 7.4.2004, s. 48).
- Deklaracja Helsińska Światowego Stowarzyszenia Lekarzy (WMA) Zasady etyczne w prowadzeniu badań medycznych z udziałem człowieka – październik 2013.

Badania przeprowadzono nieinwazyjne, a zastosowane metody nie wykraczały poza standardowe procedury wykorzystywane przy analizie wskaźników jamy ustnej, więc zgody Komisji Bioetycznej nie były potrzebne, a między badającym i badanymi została sporządzona jedynie umowa o zachowaniu poufności i zobowiązań między stronami na czas badania.

3.2. Pacjenci

W badaniach udział wzięło sześćdziesiąt dorosłych osób z różnym stanem zdrowia jamy ustnej i zdrowiem ogólnym, w różnym wieku, obojga płci [55,56], (Ryc. 11).

Osoby te podzielono losowo na trzy dwudziestoosobowe grupy. Do pierwszej grupy zakwalifikowano osoby nie mające na co dzień kontaktu ze zwierzętami domowymi i gospodarskimi. Drugą grupę stanowią osoby posiadające zwierzęta domowe (psy) i przebywające z nimi co najmniej przez kilka godzin dziennie (min. 2 godziny dziennie) . Trzecią grupę tworzyły osoby mające kontakt ze

zwierzętami gospodarskimi (świniami) przez kilka godzin dziennie (min. 2 godziny dziennie).

Grupę osób nie posiadających zwierząt i grupę osób posiadających psy podzielono na 4 podgrupy po 5 osób, którym przydzielono określoną dietę. Wszystkie osoby zobowiązały się do spożywania określonej diety na czas badań. Dopuszczalne było spożywanie innych pokarmów, ale posiłek należało zawsze kończyć produktami z określonej diety. Zalecenie to wynikało z wyników wcześniejszych badań, które wykazały, że zakończenie posiłku pokarmem bogatym w wapń i fosfor, spowolnia proces demineralizacji zębów, ponieważ ostatnie produkty wprowadzone do jamy ustnej podczas posiłku mają na nią największy wpływ [47]. Każda badana osoba oprócz wskazań dietetycznych otrzymała informację, że nie ma zmieniać nawyków higienicznych podczas badania. Każdą podgrupę dietetyczną oznaczono dużą literą alfabetu:

B - dieta białkowa opierająca się głównie na produktach bogatych w białko. Dopuszczająca spożywanie również innych pokarmów, ale każdy posiłek należało zakończyć produktem białkowym bez cukru, np. kefirem, jogurtem, serem żółtym lub białym itp.

W - dieta warzywna ukierunkowana głównie na warzywa. Dopuszczająca spożywanie również innych pokarmów, ale każdy posiłek należało zakończyć warzywem/ami, np. rzodkiewką, rzeżuchą, kapustą, jarmużem, brokułami, kalarepą, itp.

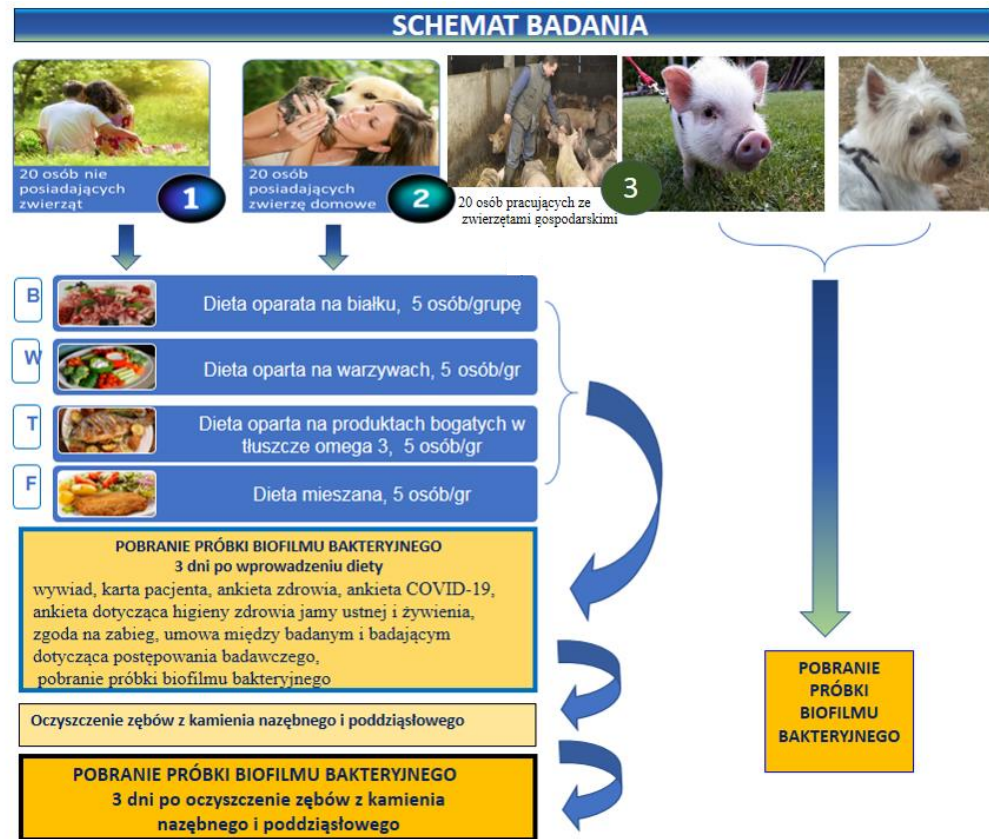
T - dieta bogata w tłuszcze omega-3. Dopuszczająca spożywanie również innych pokarmów, ale każdy posiłek należało zakończyć pokarmem bogatym w tłuszcze omega-3, np. ryby takie jak: łosoś, śledź, makrela, sardynki, olej rzepakowy, siemię lniane, olej sojowy, produkty sojowe, orzechy, migdały, pestki dyni itp.

F - dieta mieszana - dieta bez ograniczeń, dowolna, składająca się z tradycyjnych posiłków, zawierających białka, węglowodany, tłuszczone i warzywa.

Na czas badań wszystkie osoby zobowiązały się do spożywania określonej diety i nie zmieniać nawyków higienicznych.

Po trzech dniach diety, w której każdy posiłek kończył się zaleconym produktem dokonano oceny obecności i lokalizacji biofilmu bakteryjnego w jamie ustnej w gabinecie stomatologicznym w Medyczno-Społecznym Centrum Kształcenia Zawodowego i Ustawicznego w Toruniu. Następnie wykonano zabieg oczyszczenia zębów z kamienia nazębnego nad- i poddziąsłowego. Po kolejnych

trzech dniach stosowania zalecanej diety pobierano po raz drugi materiał biologiczny do badań. Schemat badań został przedstawiony na (Ryc.11).



Rys.11.Schemat analizy biofilmu pobranego z płytki nazębnej .

Od wszystkich osób przed przystąpieniem do programu badawczego zbierana była następująca dokumentacja:

1. Ankieta potrzeb żywieniowych i higienicznych w jamie ustnej.
2. Ankieta wirusowa na Covid-19
3. Oświadczenie pacjenta 1 (zgoda na badania)
4. Umowa z badanym
5. Oświadczenie pacjenta 2 (dotyczące uzyskania dokumentacji medycznej)
6. Oświadczenie pacjenta 3 (dotyczące uzyskania informacji o zdrowiu i udzielonym świadczeniu)
7. Ankieta zdrowia (dotyczy stanu zdrowia pacjenta)
8. Karta zdrowia pacjenta
9. Wskazania dla uczestnika programu badań
10. Wskaźniki higieniczne i periodontologiczne

Zwierzęta domowe i hodowlane włączone do badania były żywione standardową karmą właściwą dla danego gatunku i wieku. Psy otrzymywały zbilansowaną dietę zawierającą około 40% białka, 10% węglowodanów, 25%

warzyw oraz nieprzetwarzane tłuszcze, kwasy tłuszczowe i wapń. Do badania włączono 20 psów różnych ras, wieku i płci. Zwierzęta gospodarskie tj. świnie karmiono komercyjną paszą dla świń, w skład której wchodzi: śruta zbożowa, śruta poekstrakcyjna sojowa i śruta poekstrakcyjna rzepakowa. Paszę dodatkowo uzupełniał premiks mineralno-witaminowy oraz tłuszcz w postaci oleju rzepakowego (w ilości ok. 4-5%) dla zachowania proporcji aminokwasów egzogennych. Zwierzęta były karmione do woli, aby nie ograniczać ilości składników odżywczych i ich tempa wzrostu. Do badania włączono 20 świń domowych (*suis scrofa*), w wieku 4-10 miesięcy, płci żeńskiej lub kastrowane samce.

Materiał biologiczny pobierano od zwierząt jednokrotnie i badano wg. tego samego schematu jak u ich właścicieli.

Aby sprawdzić na ile biofilmy ludzkie i zwierzęce są podobne, jak również czy przebywanie ze zwierzętami rzutuje w jakiś sposób na skład mikrobiomu ludzkiego i czy możliwe jest przenoszenie drobnoustrojów z płytki bakteryjnej z obu badanych gatunków zwierząt na ludzi poszukiwano periopatogenów wszystkich kompleksów bakteryjnych.

W tym celu wykonano analizę sekwencyjną biofilmów bakteryjnych w badanych grupach. Pobrane biofilmy bakteryjne naddziąsłowe i ze szczeliny dziąsłowej w postaci inokulum ze wszystkich badanych grup (60 osób, 20 psów, 20 świń). Następnie z uzyskanych kolonii bakteryjnych analizowanych biofilmów wyizolowano bakteryjny DNA i sekwencjonowano przy zastosowaniu metody Sangera i uniwersalnych starterów (primerów), [118].

3.3. Techniki badawcze

Do badań w niniejszej rozprawie wykorzystano techniki stomatologiczne i biomedyczne.

3.3.1. Techniki stomatologiczne - wskaźniki

Wskaźniki stomatologiczne wykorzystano do oceny obecności i lokalizacji płytki bakteryjnej i kamienia nazębnego w jamie ustnej oraz określenia potrzeb leczenia specjalistycznego.

- **Wskaźnik Fuksynowy.** Wykonany został z użyciem preparatu Red-Cote wg zaleceń producenta. Barwnik D&C Red 28 (CI 45410) zawarty w Red-Cote

wybarwia i uwidacznia płytkę bakteryjną twardą i miękką oraz osady na tkankach w jamie ustnej, w miejscach, w których po nieprawidłowym szczotkowaniu został osad płytki bakteryjnej (Ryc. 12).



Ryc.12. Wskaźnik fuksynowy. www.oralanswers.com/plaque-disclosing-tablets-dental-plaque

Badać można całe uzębienie lub 6 zębów (tzw. skrócony wskaźnik) - po jednym z każdej grupy zębów położonych przeciwstawnie. Zastosowano wskaźnik skrócony i badano zęby: 16, 14, 11, 36, 34, 31 (siekiacze, przedtrzonowce i trzonowce), po stronie zewnętrznej i wewnętrznej.

Zastosowano następujące kryteria oceny:

0	brak osadu
1	osad pokrywa ząb do 1/3
2	osad pokrywa ząb od 1/3 do 2/3
3	osad pokrywa ząb powyżej 2/3

Wskaźnik obliczano z wzoru: $F = (x + y) : n$

F = wskaźnik fuksynowy

x = suma wartości po stronie policzkowej

y = suma wartości po stronie wewnętrznej

n = liczba badanych zębów





Interpretacja testu fuksynowego:

0 - 2	dobry
2 - 3	dostateczny
4 - 6	zły

- Wskaźnik API (Aproximal Plaque Index) służy do uwidocznienia i oszacowania obecności płytki bakteryjnej w przestrzeniach międzyzębowych. Do jego określenia można użyć preparat wybarwiający (zawierający np. fuksynę) lub sondę periodontologiczną. Bada się przestrzenie między zębowe w kwadrantach 1 i 3 od strony wewnętrznej, a w kwadrantach 2 i 4 od strony zewnętrznej. Obecność płytki bakteryjnej określa się jako (+), a jej brak jako (-). Wskaźnik obliczono z wzoru:

API = (suma przestrzeni z płytką x 100) : suma przestrzeni badanych

Interpretacja wyniku:

do 25%	optymalna	
25 - 39%	w miarę dobra	
40 - 69%	Przeciętna	
70 - 100%	Zła	

- Wskaźnik Pl.I (Plaque Index) - służy do oceny grubości płytki bakteryjnej w okolicy szyjki zęba. Obecność płytki bakteryjnej ocenia się na wszystkich powierzchniach: policzkowej/wargowej, językowej/podniebiennej oraz na dwóch powierzchniach stycznych bliższej mezialnej (zwróconej do środka łuku zębowego) i dalszej – dystalnej (zwróconej w kierunku przeciwnym do środka łuku zębowego). Oceny dokonywano wg. schematu zaproponowanego przez prof. J. Banach [4]. Oceniano zęby: 16, 12, 24, 36, 32, 44.

Kryteria oceny:

0	brak płytki
1	cienka warstwa płytki niewidoczna gołym okiem, ale możliwa do zbadania zgłębnikiem
2	płytką na brzegu dziąsłowym lub na powierzchni zęba oraz w szczelinie dziąsłowej
3	obfite nagromadzenie złogów na brzegu dziąsłowym i zębie

Wskaźnik obliczono z wzoru:

Pl.I = (suma wartości powierzchni : 4) : liczba badanych zębów

Interpretacja wyniku:

0	dziąsła zdrowe, bladuróżowe
1	łagodny stan zapalny
2	umiarkowane zapalenie, zaczerwieniony obrębek dziąsłowy, krwawienie przy ucisku
3	ciężkie zapalenie, zaczerwienione, krwawiące dziąsła

- Wskaźnik OHI (Oral Hygiene Index) - wskaźnik higieny jamy ustnej, określający obecność nalotu i kamienia nazębnego. Najczęściej stosuje się uproszczony wskaźnik, gdzie badacz ogranicza się do wykonania pomiarów na sześciu zębach. Oceny dokonywano wg. schematu zaproponowanego przez prof. J. Banach [4]. Oceniano zęby: 16, 11, 26, 46, 31, 36. Na górnych trzonowcach oceniano powierzchnie policzkowe, na dolnych trzonowcach powierzchnie językowe, a na siekaczach powierzchnie wargowe wg Greena i Vermilliona [4].

Kryteria oceny:

0	brak płytki/kamienia	
1	miękki nalot lub kamień do 1/3	
2	miękki osad lub kamień do 2/3	
3	miękki osad lub kamień powyżej 2/3	

Wskaźnik obliczano z wzoru:

$OHI = (suma\ wartości\ DI\ i\ CI) : wszystkie\ badane\ zęby$

DI= ocena obecności miękkiej płytki bakteryjnej

CI = ocena obecności stwardniałej (uwapnionej, skalcyfikowanej) płytki bakteryjnej

Kryteria oceny:


0-1	bardzo dobra higiena
1-2	dobra higiena
2-3	dostateczna higiena
powyżej 3	niedostateczna higiena

- Wskaźnik PBI (Papilla Bleeding Index) - służy do kontroli krwawienia brodawek międzyzębowych. Ocenia się przestrzenie międzyzębowe w kwadrantach 1 i 3 od strony zewnętrznej, a w kwadrantach 2 i 4 od strony wewnętrznej. Badanie wykonuje się sondą periodontologiczną. Polega ono na delikatnym ucisku sondą brodawek dziąsłowych. Krwawiącą brodawkę dziąsłową oznacza się (+), a nie krwawiącą brodawkę (-).

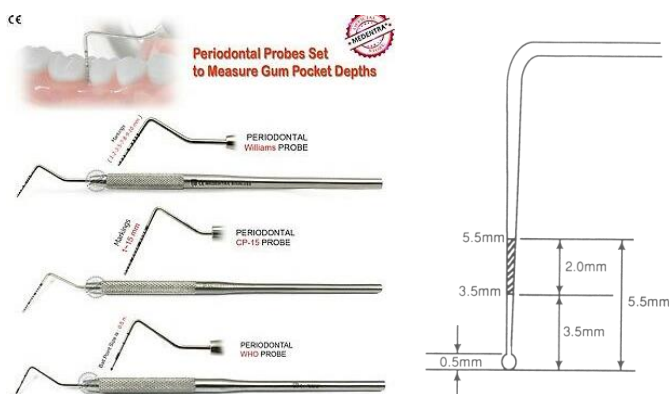
Wskaźnik oblicza się wg wzoru:

$$\text{PBI} = (\text{suma przestrzeni krwawiących} \times 100) : \text{suma przestrzeni badanych}$$

Interpretacja wyniku:

Poniżej 10%	przyzębie klinicznie zdrowe	
10 - 20%	łagodne zapalenie dziąseł, stan wymagający poprawy higieny jamy ustnej	
20 - 50%	umiarkowane zapalenie dziąseł;	
50 - 100%	ciężkie i przewlekłe zapalenie dziąseł	

- Wskaźnik CPITN (Community Periodontal Index for Treatment Needs) - jest wskaźnikiem przesiewowym, który określa potrzebę leczenia chorób przyzębia za pomocą oceny klinicznej obecności lub braku kieszonek przyzębnych, kamienia nazębnego i krwawienia dziąseł. Zaleca się dokonywanie oceny przy użyciu specjalnej sondy periodontologicznej CPITN lub jej odpowiednika (Ryc.13).



Ryc.13. Sonda peridontologiczna WHO, Wiliams i CP-15 z kalibracją służąca do oceny obecności i głębokości kieszonek przyzębnych. Materiały reklamowe firmy Medentra.

Do określenia obecności złogów i krwawienia stosuje się oznaczenia (+) lub (-). Podczas badania bierze się pod uwagę 6 punktów pomiarowych na każdym zębie, w każdym z sześciu sekstantów: od strony zewnętrznej wykonuje się na zębie 3 pomiary (bliższy, pośrodkowy i dalszy) i na stronie wewnętrznej zęba 3 pomiary (bliższy, pośrodkowy, dalszy). U dzieci i młodzieży bada się siekacze środkowe i pierwsze trzonowce. Odnotowuje się tylko najniższy punkt pomiaru w danym sekstancie. Odnotowanie oceny „4” w sekstancie, skutkuje przejściem do kolejnego sekstantu, bez badania pozostałych zębów w jego obrębie.

Kryteria oceny:

1	czarny odcinek sondy WHO jest widoczny w całości (+), pojawia się krwawienie (+), brak złogów (-)
2	czarny odcinek sondy WHO jest widoczny w całości (+), pojawia się krwawienie (+), brak złogów (-)
3	czarny odcinek sondy WHO jest widoczny częściowo (+/-), pojawia się krwawienie (+), pojawiają się złogi (+/-)
4	czarny odcinek sondy WHO nie jest widoczny (+/-), pojawia się krwawienie (+), pojawiają się złogi (+/-)

Interpretacja wyniku:

0	dalsza terapia nie jest potrzebna
2	zalecane jest profesjonalne usunięcie złogów podziąsłowych, korekta wypełnień i prac protetycznych
3 i 4	oceny te w jakimkolwiek sekstancie, wskazują na konieczność zastosowania metod leczenia periodontologicznego, po przeprowadzeniu terapii wstępnej

3.3.2. Techniki biomedyczne

Powstawanie mikrobiomu pod wpływem diety w jamie ustnej było określane na podstawie analizy biofilmów bakteryjnych metodami mikrobiologicznymi z wykorzystaniem metody posiewu redukcyjnego i analizy sekwencyjnej metodą Sanger [66]. Materiał do badania (płytki bakteryjne) został pobrany z jamy ustnej od wszystkich badanych osób jałową wykałaczką z powierzchni zęba i ze szczeliny dziąsłowej. W dwóch pierwszych grupach materiał pobrano trzy dni po stosowaniu odpowiedniej diety (przy zalegającej twardej i miękkiej płytce bakteryjnej) i po kolejnych 3 dniach kontynuowania diety, ponownie pobrano materiał do badania jałową wykałaczką z powierzchni

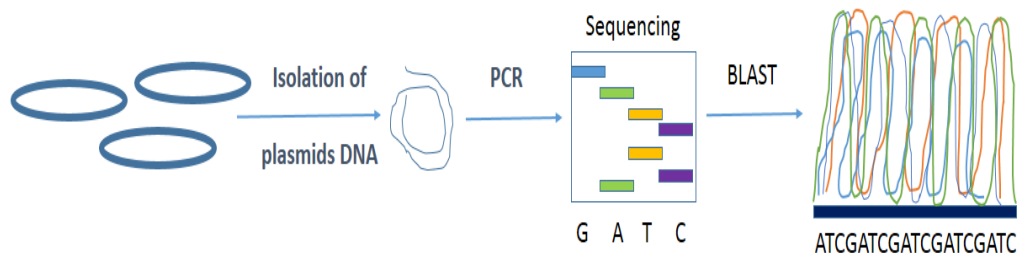
zęba i ze szczeliny dziąsłowej. Cały pobrany materiał wysiano na płytkach Petriego na odpowiedniej pożywce względem wymagań pokarmowych określonych szczepów bakteryjnych [60,61].

3.4. Hodowla inoculum bakteryjnego

Pobrane inoculum bakteryjne (biofilm bakteryjny płytki nazębnej), zostało wysiane na specyficzne podłoża (pożywki) do hodowli wszystkich kompleksów bakterii: pożywka *Bacteroides bile esculin* (BBE; BTL Company) i Columbia agar (BTL Company) [55,56].

3.5. Analiza biofilmów bakteryjnych

Badany materiał poddano analizie metodologią opisaną w publikacji Rowińskiej [55,56] oraz Kucia i wsp., 2020 [45]. Uzyskane sekwencje analizowano za pomocą oprogramowania Blast wg. schematu przedstawionego na rycinie (Ryc. 14).



Ryc.14. Schemat sekwencjonowania biofilmu bakteryjnego [22,66,102].

- Porównano badany biofilm bakteryjny do wzrostowych szczepów kontrolnych kompleksu czerwonego: *P. gingivalis* ATCC 33277, *T. forsythia* ATCC 43037, *T. denticola* 35405 ATCC dostarczonych z LGC Standards UK zgodnie z zaleceniem ISO 11133: 2014.
- z pobranego inoculum bakteryjnego, z wykorzystaniem komercyjnie dostępnych zestawów New England Biolabs (T1010S). Uzyskane DNA plazmidowe analizowano pod kątem przynależności do określonego szczepu lub gatunku z wykorzystaniem sekwencjonowania odpowiednich uniwersalnych starterów (primerów) stosowanych w metodzie Sangera, które umożliwiają odczyt pomiędzy 500-800 nukleotydów [119].
- Wykonano następnie analizę molekularną, aby sprawdzić na ile są one do siebie podobne.

Wszystkie badania elektroforetyczne wykonano z użyciem długich kapilar co pozwalało (w przypadku dobrej jakości matryc) na odczyt ponad 1000 nukleotydów w sekwenatorze ABI Prism™ BigDye™ Terminator Cycle. Uzyskane sekwencje patogenów bakteryjnych przeanalizowano za pomocą specjalistycznego oprogramowania heurystycznego algorytmu Basic Local Alignment Search Tool 2.0 (Blast 2.0) i porównano go z sekwencjami już istniejącymi w bazach danych w celu obliczenia podobieństwa sekwencji. Uwzględniono tylko sekwencje z 99,99-100% prawdopodobieństwem dopasowania podobieństwa [22,67,103].

3.5.1. Test aktywności przeciwdrobnoustrojowej

Referencyjne szczepy bakteryjne i pożywki wzrostowe zastosowano zgodnie z zaleceniami normy ISO 11133: 2014. Wykorzystana przeze mnie metodyka została wcześniej opisane przez Kucia [41].

3.5.2. Analiza statystyczna

Analizy statystyczne przeprowadzono za pomocą oprogramowania Statistica (wersja 12, StatSoft, Tulsa, OK, USA). Zbadano wpływ różnych diet w analizowanych grupach jako wartości średnie, z błędami statystycznymi połączonymi jako błąd standardowy. Wyniki analizowano za pomocą jednokierunkowej analizy wariancji ANOVA z testem wielokrotnego porównania post hoc LSD dla uzyskanych danych. Zależności między różnymi parametrami oceniano za pomocą regresji liniowej (R), chyba że zależność nie była liniowa. W tym drugim przypadku zależności określono za pomocą średnich korelacji Spearmana (Rs) [45]. Gdy współczynnik F był istotny, do określenia różnic między grupami stosowano test Tukeya. Za statystycznie istotną uznano wartość $p \leq 0,05$.

4. Wyniki

4.1 Analiza wskaźników stomatologicznych

4.1.1. Wskaźnik fuksynowy

Analiza wyników wskaźnika wybarwienia złogów nazębnych w pierwszym badaniu wykazała u wszystkich badanych osób wartości higieny jamy ustnej na poziomie dostatecznym. Wskaźniki fuksynowy, OHI, Pl.I w badanych grupach wykazały podobne wartości. U wszystkich badanych osób stwierdzono

obecność miękkiej i twardej płytki nazębnej niezależnie od stosowanej diety. Po uśrednieniu wyników okazało się, że higiena jamy ustnej była na podobnym poziomie u wszystkich badanych osób we wszystkich grupach

4.1.2. Wskaźnik Pl.I

Wskaźnik Pl.I - w sześciu na osiem przypadków (w analizowanych podgrupach) wskazywał na łagodny stan zapalny (na podstawie ilości płytki bakteryjnej), a w dwóch przypadkach na umiarkowany stan zapalny w każdej z 2 grup (patrz Tabela 4 i 5).

4.1.3. Wskaźnik OHI - w grupie osób będących na dietach B, T, F higiena była oceniana na poziomie dobrym, a w grupie będącej na diecie W na poziomie dostatecznym (patrz Tabela 4 i 5).

4.1.4. Wskaźnik API

Wskaźnik API - w grupie badanych (u osób nie posiadających zwierząt) określał higienę w przestrzeniach międzyzębowych na poziomie najniższym, określaną jako "zła"; w drugiej grupie (osoby posiadające zwierzęta) jako "przeciętną" w trzech przypadkach diety B, T, F, a "złą" w przypadku diety W. (patrz Tabela 4 i 5).

4.1.5. Wskaźnik PBI

Wskaźnik PBI - diagnozujący krwawienie jako objaw stanu zapalnego, w pierwszej grupie u w przypadku diety B i T określono jako „łagodny stan zapalny/ stan wymagający poprawy higieny jamy ustnej”, w przypadku diety W wyniósł "0", co interpretuje się jako "przyzębie klinicznie zdrowe". W grupie drugiej u osób z dietą F stwierdzono umiarkowane zapalenie dziąseł, w podgrupach z dietą W i B wskaźnik wskazał na "przyzębie klinicznie zdrowe", w podgrupie z dietą F na "łagodny stan zapalny/ stan wymagający poprawy higieny jamy ustnej", w podgrupie z dietą T stwierdzono umiarkowane zapalenie dziąseł. W obu badanych grupach zauważa się przy przeciętnej, a nawet złej higienie w przestrzeniach międzyzębowych z dietą W, przy higienie "złej" wskaźnik PBI równy "0"; podobnie w drugiej grupie w podgrupie z tą samą dietą pomiar uśredniony wyniósł 8,57%, co określane jest w kryteriach wskaźnika jako "przyzębie klinicznie zdrowe". Warto nadmienić, że w tej podgrupie były aż 3

osoby kwalifikujące się do leczenia periodontologicznego, z zaawansowaną chorobą przyzębia.

4.1.6. Wskaźnik CPITN

Wskaźnik CPITN określa potrzeby leczenia periodontologicznego, pomiar wynoszący 3 i 4 świadczy o chorobie przyzębia i potrzebie leczenia specjalistycznego periodontologicznego. W pierwszej grupie badanych osób, z dietą B nie było osób potrzebujących leczenia periodontologicznego, z dietą W była 1 osoba, z dietą T, F były po 2 osoby w grupie. Stan ten nie rzutował w szczególny sposób na interpretację wyników (patrz Tabela 4). W drugiej grupie były po 2 osoby wymagające leczenia periodontologicznego w podgrupach z dietą B, T, F i 3 osoby w podgrupie z dietą W (patrz Tabela 5).

Wyniki badań zostały zebrane w tabeli nr 3.

Tab.3. 1-20 grupa osób nie posiadających zwierząt, 21-40 grupa osób posiadających zwierzęta domowe i spędzająca z nimi co najmniej dwie godziny dziennie. kod - kod osoby badanej, kolejny numer badanej osoby w grupie F (dieta mieszana) lub B (dieta białkowa) lub T (dieta bogata w tłuszcze omega-3) lub W (dieta warzywna); A - płytki bakteryjny pobrany z korony zęba przed profesjonalnym oczyszczeniem zębów), B - płytki bakteryjny pobrany ze szczeliny dziąsłowej przed oczyszczeniem zębów, C - płytki bakteryjny pobrany z korony zęba po 3 dniach po oczyszczeniu zębów, D - płytki bakteryjny pobrany ze szczeliny dziąsłowej po 3 dniach po oczyszczeniu zębów.

L.p.	kod	Fuksynowy	PLI	OHI	API	PBI	CPITN	dieta
1	03.F.(A,B,C,D)	2	1,25	1,75	91,6 %	66,6%	3	F
2	05.F.(A,B,C,D)	2,5	1,69	3,66	94%	23,53%	0	F
3	19.F.(A,B,C,D)	2	1,79	1,17	90,47%	0%	2	F
4	30.F.(A,B,C,D)	2,8	1,9	1,75	55%	35%	2	F
5	27.F.(A,B,C,D)	2,75	2,06 e	3,67	91,67%	8,33%	3	F
6	06.T.(A,B,C,D)	2,83	1,5	1	57,14%	10,71	0	T
7	12.T.(A,B,C,D)	3,83	2,08	1,67 y	90,48%	0%	3	T
8	22.T.(A,B,,C,D)	3	1,54	3,5	100%	10,71%	2	T
9	37.T.(A,B,C,D)	3,5	2,25	4	100%	0%	4	T
10	34.T.(A,B,C,D)	3,25	2,2	2,25	96%	40%	3	T
11	04.W.(A,B,C,D)	3,3	2,66	3,25	100%	0%	0	W

12	14.W.(A,B,C,D)	3,5	1,83	1,25	52%	0%	3	W
13	16.W.(A,B,C,D)	3	2	1,58	89,29%	0%	2	W
14	17.W.(A,B,C,D)	2,17	1,46	1	16%	0%	1	W
15	04.W.(A,B,C,D)	3,3	2,66	3,25	100%	0%	0	W
16	09.B.(A,B,C,D)	2	1,33	1,83	28%	8%	0	B
17	02.B.(A,B,C,D)	3	1,2	2	84%	0%	0	B
18	21.B.(A,B,C,D)	2,5	1,75	1,5	92,3% z	3,84%	2	B
19	29.B.(A,B,C,D)	2,33	1,5	2,33	83,33 %	29,17%	2	B
20	39.B.(A,B,C,D)	3,67	2,42	2,83	80,77%	15,38	2	B
L.P.	kod	Fuksynowy	PLI	OHI	API	PBI	CPITN	dieta
21	20.F.(A,B,C,D)	3,5	2,13	2	51,85%	11,11	2	F
22	15.F.(A,B,C,D)	4	2,38	1,25	84,21%	5,26%	2	F
23	25.F.(A,B,C,D)	2,5	1,81	2	80%	50%	3	F
24	24.F.(A,B,C,D)	2,67	1,54	1,67	45,83%	8,33 %	2	F
25	23.F.(A,B,C,D)	2,17	1,63	2,83	43,48	21,74	3	F
26	13.T.(A,B,C,D)	2,5	1,83	1,08	65,38%	3,85%	1	T
27	07.T.(A,B,C,D)	1,83	0,63	0,5	18,18%	0%	0	T
28	11.T.(A,B,C,D)	1,67	1,17	1,08	35,71%	10,71%	4	T
29	35.T.(A,B,C,D)	2,83	2,13	2,83	100%	43,48%	2	T
30	40.T.(A,B,C,D)	2,8	1,88	3,2	85,71%	52,38%	3	T
31	18.W.(A,B,C,D)	2	1,63	0,83	91,3%	0,43%	2	W
32	31.W.(A,B,C,D)	3	2,06	2,25	85,71%	0%	3	W
33	32.W.(A,B,C,D)	2,6	2,2	2,75	100%	5%	3	W
34	38.W.(A,B,C,D)	2	1,88	2,33	63,16 %	26,32	3	W
35	33.W.(A,B,C,D)	1,4	1,6	2	94,44%	11,11	2	W
36	01.B.(A,B,C,D)	2,2	1,75	1,1	60%	15%)	0	B
37	08.B.(A,B,C,D)	1,5	1,79	0,9	83,33%	0%	3	B
38	10.B.(A,B,C,D)	2,6	1,55	1,25	59,09%	0%	3	B
39	26.B.(A,B,C,D)	2	1,8	2	20,85%	8,33%	2	B
40	28.B.(A,B,C,D)	2,6	1,67	2,5	42,85%	0%	2	B

Preparat służący do kontroli higieny w teście fuksynowym wybarwia mięką i twardą płytkę bakteryjną oraz osady nazębne, będące konsekwencją picia kolorowych napojów. Kolejne dwa wskaźniki determinowały tylko obecność oraz ilość twardej i miękkiej płytki nazębnej. Pierwszy wskaźnik był wyższy, ponieważ był powiązany dodatkowo z przebarwieniami osadów po spożyciu napojów z barwnikami – higiena w tym przypadku była gorsza, niż w przypadku

wskaźników Pl.I, OHI. Kolejne dwa wskaźniki określały obecność kamienia nazębnego (twardej płytki nazębnej) i miękkich złogów nazębnych. Pomiary były wykonane sondą dentystyczną (periodontometrem) i były na dobrym poziomie zgodnie z kryteriami właściwymi dla powyższych wskaźników. Płytki bakteryjne i kamień nazębny determinują pojawienie się stanu zapalnego dziąseł i utrzymywanie się tego stanu w jamie ustnej. W takich sytuacjach dochodzi najczęściej do przewlekłego stanu zapalnego, którego badana osoba jest zwykle nieświadoma. Zjawisko powyższe determinuje powstawanie stanów zapalnych dziąseł. Uśrednione wyniki w podgrupach z dietą B, T, W mieściły się w zakresie 53,38– 69,72%, co wskazywało na średnią higienę. W podgrupie z dietą F średnia wyniku wyniosła 82,42%, co oznaczało higienę złą. Wskaźnik PBI określający krwawienie dziąseł, które jest jednym z objawów zapalenia tkanek miękkich u badanych wykazał następujące wartości: z dietą W wykazał 0,09%, z dietą B 4,6%, a z dietą T 5,05%, co wskazywało na przyzębie klinicznie zdrowe. W przypadku diety F liczba ta wyniosła 21,3%, co interpretuje się jako umiarkowane zapalenie dziąseł. Wystąpiła zauważalna różnica między podgrupą kontrolną z dietą F i podgrupami z dietami W, B, T. Należy zauważyć, iż w podgrupach z dietami B i T były dwie osoby kwalifikujące się do leczenia periodontologicznego, które mogły mieć wpływ na średni wynik, a w podgrupach z dietami W i F, po jednej osobie. Uzyskane wyniki in vitro wykazały, że składniki diety T, B i W miały silne działanie przeciwbakteryjne na wybrane bakterie chorobotwórcze odpowiedzialne za zapalenie przyzębia.

4.1.7. Techniki stomatologiczne

Analiza wskaźników:

- według wskaźnika API (płytki bakteryjnej w przestrzeniach międzyzębowych) higiena była na poziomie 2 niedostatecznym
- wskaźnik PBI najniżej kształtuje się w podgrupie F; w podgrupach z dietą określoną B i T jest na poziomie 4 dobrym, a w podgrupie W jest na poziomie 5 bardzo dobrym
- wskaźniki API i PBI sprawdzają te same okolice w jamie ustnej, wyniki tych dwóch wskaźników są rozbieżne, szczególnie przy diecie W, gdzie API = ocena 2 niedostateczna, a PBI = ocena 5 bardzo dobra przy wartości obliczonego wskaźnika "0", zaznaczyć należy, że w tej grupie

badanych była 1 osoba wymagająca leczenia specjalistycznego periodontologicznego (Tab.4).

Dieta	Wskaźnik fuksynowy	Wskaźnik P.I.I	Wskaźnik OHI	Wskaźnik API	Wskaźnik PBI	Wskaźnik CPITN
B	13,5 : 5 = 2,7 dostateczna	8,2 : 5 = 1,64 łagodny stan zapalny (dobry)	10,49 : 5 = 2,1 dostateczna	368,4 : 5 = 73,68% (zła)	60,23 : 5 = 12,05% łagodne/ stan wymagający poprawy higieny jamy ustnej (dobry)	0 badanych kwalifikuje się do leczenia specjalistycznego
T	16,41 : 5 = 3,28 dostateczna	9,57 : 5 = 1,91 łagodny stan zapalny (dobry)	12,43 : 5 = 2,49 dostateczna	443,62 : 5 = 88,72% zła	61,42 : 5 = 12,28 % łagodne/ stan wymagający poprawy higieny jamy ustnej (dobry)	2 badanych kwalifikuje się do leczenia specjalistycznego
W	15,27 : 5 = 3,05 dostateczna	10,61 : 5 = 2,12 umiarkowane zapalenie (dostateczna.)	10,33 : 5 = 2,07 dostateczna	357,29 : 5 = 71,46% zła	0 : 5 = 0% przyzębie klinicznie zdrowe (bardzo dobry)	1 badanych kwalifikuje się do leczenia specjalistycznego
F	12,05 : 5 = 2,41 dostateczna	8,69 : 5 = 1,74 łagodny stan zapalny (dobry)	12 : 5 = 2,4 dostateczna	422,74 : 5 = 84,55% zła	133,46 : 5 = 26,69% umiarkowane zapalenie dziąseł (dostateczny)	2 badanych kwalifikuje się do leczenia specjalistycznego

Tab.4. Wyniki uśrednionych wskaźników stomatologicznych dla osób nie przebywających ze zwierzętami w ciągu dnia.

- w grupie osób przebywających ze zwierzętami przez kilka godzin w ciągu dnia, według wskaźników: fuksynowego, P.I.I, OHI higiena była na poziomie dostatecznym (Tab.5), (wskaźnik fuksynowy dodatkowo określa przebarwienia zębów osadami z pokarmów i płynów z barwnikami)
- według wskaźnika API (płytki bakteryjnej w przestrzeniach międzyzębowych) higiena była na poziomie dostatecznym w trzech

badanych podgrupach (B, T, F), a podgrupie W była na poziomie złym (niedostatecznym)

- wskaźnik PBI najlepiej wypadł w podgrupie z dietą W - na poziomie bardzo dobrym (przy wartości równej 8,57%), zaznaczyć należy, że w tej podgrupie badani mieli wartość wskaźnika API na poziomie niedostatecznym i dodatkowo znalazły się w tej podgrupie 3 osoby kwalifikujące się do leczenia specjalistycznego periodontologicznego (Tab.5).

Dieta	Wskaźnik fuksynowy	Wskaźnik P.I	Wskaźnik OHI	Wskaźnik API	Wskaźnik PBI	Wskaźnik CPITN
B	10,9 : 5 = 2,18 dostateczna	8,56 : 5 = 1,71 łagodny stan zapalny (dobry)	7,75 : 5 = 1,55 dobry	266,12 : 5 = 53,22% przeciętna (dostateczny)	23,33 : 5 = 4,67% przyzębie klinicznie zdrowe (bardzo dobry)	2 badanych kwalifikuje się do leczenia specjalistycznego
T	11,63 : 5 = 2,33 dostateczna	10,14 : 5 = 2,03 umiarkowane zapalenie (dostateczny)	8,69 : 5 = 1,74 dobry	304,98 : 5 = 61% przeciętna (dostateczny)	110,42:5=22,08 % umiarkowane zapalenie dziąseł (dostateczny)	2 badanych kwalifikuje się do leczenia specjalistycznego
W	11 : 5 = 2,2 dostateczna	9,37 : 5 = 1,87 łagodny stan zapalny (dobry)	10,16 : 5 = 2,03 dostateczna	434,34 : 5 = 86,87% zła	42,86 : 5 = 8,57% przyzębie klinicznie zdrowe (bardzo dobry)	3 badanych kwalifikuje się do leczenia specjalistycznego
F	14,84 : 5 = 2,97 dostateczna	9,49 : 5 = 1,9 łagodny stan zapalny (dobry)	9,75 : 5 = 1,95 dobry	305,37 : 5 = 61,07% przeciętna (dostateczna)	96,44 : 5 = 19,29% łagodne/ stan wymagający poprawy higieny jamy ustnej (dobry)	2 badanych kwalifikuje się do leczenia specjalistycznego

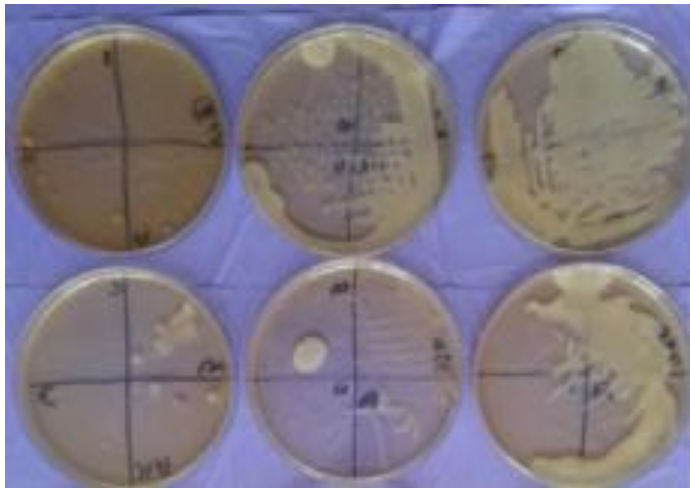
Tab.5. Wyniki uśrednionych wskaźników stomatologicznych dla osób przebywających ze zwierzętami kilka godzin dziennie w ciągu dnia.

4.1.8. Analiza podobieństw w występowaniu drobnoustrojów i porównanie składu płytki bakteryjnej ludzi przebywających ze zwierzętami gospodarskimi lub domowymi co najmniej kilka godzin dziennie, a osobami nie mającymi takiego kontaktu

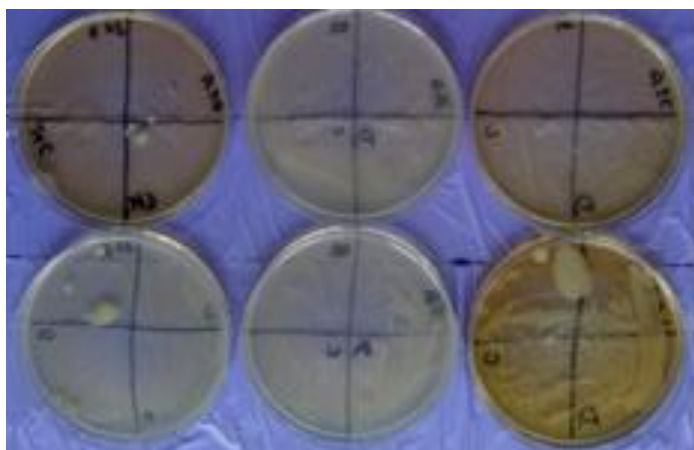
Posiewy inoculum bakteryjnego wykazały, że pacjenci z zaawansowaną chorobą przyzębia mają w swojej mikrobiocie więcej bakterii kompleksu czerwonego (Ryc. 15).



Panel A



Panel B



Panel C



Panel D

Ryc.15. Przykłady rozwoju bakterii chorobotwórczych na pożywce po pobraniu innokulum bakteryjnego z tkanek przyzębia z każdej z analizowanych grup ludzi/zwierząt. Panel A - innokulum pobrane od świń. Panel B - innokulum pobrane od osób pracujących ze świniami na diecie oznaczonej jako F, B, W, T. Panel C - innokulum pobrane od właścicieli psów Panel D - innokulum pobrane od psów. Wyniki te zostały opublikowane [54,55].

W pracy przeanalizowano biofilmy bakteryjne u osób pracujących zawodowo ze świniami (Tab.6) oraz ludzi, którzy mają psy jako zwierzęta domowe (Tab.7) w poszukiwaniu periopatogenów wszystkich kompleksów bakteryjnych.

lp	Type	lp	Type	lp	Type	lp	Type
1a	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1b	<i>Lactobacillus buchmeri</i>	1c	<i>Lactobacillus fermentum</i>	1d	<i>Lactobacillus salivarius</i>
2a	<i>Rothia dentocariosa</i>	2b	<i>Rothia dentocariosa</i>	2c	<i>Trichomonas tenax</i>	2d	<i>Capnocytophaga ochracea</i>
3a	<i>Lactobacillus casei</i>	3b	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	3c	<i>Bifidobacterium dentium</i>	3d	<i>Bifidobacterium dentium</i>

4a	<i>Propionibacterium acnes</i>	4b	<i>Arachnia propionica (Actinomyces propionicus) sputigena</i>	4c	<i>Peptostreptococcus micros</i>	4d	<i>Desulfococcus oleovorans Hxd3</i>
5a	<i>Capnocytophaga ochracea</i>	5a	<i>Actinomyces meyeri</i>	5c	<i>Bifidobacterium dentium</i>	5d	<i>Streptococcus gordonii</i>
6a	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	6b	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	6c	<i>Streptococcus mitis</i>	6d	<i>Eubacterium nodatum</i>
7a	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	7b	<i>Streptococcus mutans</i>	18c	<i>Tanarella forsythia</i>	7d	<i>Treponema denticola</i>
8a	<i>Thermospiro melanesiensis</i> BI429	8b	<i>Propionibacterium acnes</i>	8c	<i>Bifidobacterium dentium</i>	8d	<i>Peptostreptococcus micros</i>
9a	<i>Tanarella forsythia</i>	9b	<i>Capnocytophaga</i>	9c	<i>Treponema denticola</i>	9d	<i>Treponema denticola</i>
10a	<i>Actinomyces odontolyticus</i>	10b	<i>Actinomyces odontolyticus</i>	10c	<i>Capylobacter concisus</i>	10d	<i>Actinomyces meyeri</i>
11a	<i>E. coli R4</i>	11b	<i>E.coli R4</i>	11c	<i>Escherichia. coli R2</i>	11d	<i>Tanarella forsythia</i>
12a	<i>Pyrococcus sp. OT3</i>	12b	<i>Tanarella forsythia</i>	12c	<i>Streptococcus sanguinis</i>	12d	<i>Pyrococcus sp. OT3</i>
13a	<i>Escherichia. coli R2</i>	13b	<i>Peptostreptococcus micros</i>	13c	<i>Pyrococcus sp. OT3</i>	13d	<i>Eubacterium nodarum</i>
14a	<i>Streptococcus pyogenes E</i>	14b	<i>Streptococcus oralis</i>	14c	<i>Peptostreptococcus micros</i>	14d	<i>Streptococcus gordonii</i>
15a	<i>Escherichia. coli R3</i>	15b	<i>Pyrococcus sp. OT3</i>	15c	<i>Fusobacterium polymorphum</i>	15d	<i>Fusobacterium polymorphum</i>
16a	<i>E. coli R2</i>	16b	<i>Lactobacillus buchmeri</i>	16c	<i>Bifidobacterium dentium</i>	16d	<i>Lactobacillus casei</i>
17a	<i>E. coli R3</i>	17b	<i>Lactobacillus plantarum</i>	17c	<i>Bifidobacterium dentium</i>	17d	<i>Lactobacillus plantarum</i>
18a	<i>Streptococcus sanguinis</i>	18b	<i>Escherichia. coli R2</i>		<i>Propionibacterium acnes</i>	18d	<i>Actinomyces gerencseriae</i>
19a	<i>E. coli R3</i>	19b	<i>Lactobacillus buchmeri</i>	19c	<i>Escherichia. coli R2</i>	19d	<i>Escherichia. coli R2</i>
20a	<i>Streptococcus constellatus</i>	20b	<i>Thermanaerovibrio acidaminovorans DSM 6589</i>	20c	<i>Lactobacillus casei</i>	20d	<i>Streptococcus mitis</i>

Tab.6. Sekwencjonowanie Sangera inokulum bakteryjnego z określonych szalek pobranych jako A, B, C i D (kontakt ludzi ze zwierzętami hodowlanymi)

lp	Type	lp	Type	lp	Type	lp	Type
21a	<i>Streptococcus pyogenes</i>	21b	<i>Rothia dentocariosa</i>	21c	<i>Capylobacter concisus</i>	21d	<i>Streptococcus gordonii</i>

22a	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	22b	<i>Tanarella forsythia</i>	22c	<i>Prevotella nigrescens</i>	22d	<i>A. meyeri</i>
23a	<i>Rothia dentocariosa</i>	23b	<i>Arachnia propionica</i> (<i>Actinomyces propionicus</i>)	23c	<i>Peptostreptococcus micros</i>	23d	<i>Streptococcus mutans</i>
24a	<i>Streptococcus sanguinis</i>	24b	<i>Capnocytophaga sputigena</i>	24c	<i>Capnocytophaga ochracea</i>	24d	<i>Streptococcus sanguinis</i>
25a	<i>Capnocytophaga ochracea</i>	25a	<i>Peptostreptococcus micros</i>	25c	<i>Bifidobacterium dentium</i>	25d	<i>Bifidobacterium dentium</i>
26a	<i>Escherichia. coli</i> R2	26b	<i>Escherichia. coli</i> R2	26c	<i>Eubacterium nodatum</i>	26d	<i>Trichomonas tenax</i>
27a	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	27b	<i>Lactobacillus buchmeri</i>	27c	<i>Lactobacillus fermentum</i>	27d	<i>Lactobacillus salivarius</i>
28a	<i>Lactobacillus casei</i>	28b	<i>Lactobacillus plantarum</i>	28c	<i>Bifidobacterium dentium</i>	28d	<i>Lactobacillus casei</i>
29a	<i>Pyrococcus sp.</i> OT3	29b	<i>Streptococcus oralis</i>	29c	<i>Streptococcus gordonii</i>	29d	<i>Peptostreptococcus micros</i>
30a	<i>Streptococcus constellatus</i>	30b	<i>E.coli</i> R4	30c	<i>Escherichia. coli</i> R3	30d	<i>E. coli</i> R3
31a	<i>Thermospiro melanesiensis</i> BI429	31b	<i>Thermanaerovibrio acidaminovorans</i> DSM 6589	31c	<i>Propionibacterium acnes</i>	31d	<i>Lactobacillus plantarum</i>
32a	<i>Actinomyces. israeli,</i>	32b	<i>Actinomyces odontolyticus</i>	32c	<i>Actinomyces. israeli,</i>	32d	<i>Actinomyces. naeslundii</i>
33a	<i>Actinomyces odontolyticus</i>	33b	<i>A. gerencseriae</i>	33c	<i>Eubacterium timidum</i>	33d	<i>Lactobacillus casei</i>
34a	<i>Propionibacterium acnes</i>	34b	<i>Actinomyces odontolyticus</i>	34c	<i>Bifidobacterium dentium</i>	34d	<i>Lactobacillus buchmeri</i>
35a	<i>Lactobacillus buchmeri</i>	35b	<i>Lactobacillus buchmeri</i>	35c	<i>Bifidobacterium dentium</i>	35d	<i>Bifidobacterium dentium</i>
36a	<i>Lactobacillus plantarum</i>	36b	<i>Lactobacillus fermentum</i>	36c	<i>Lactobacillus fermentum</i>	36d	<i>Lactobacillus salivarius</i>
37a	<i>Bifidobacterium dentium</i>	37b	<i>Peptostreptococcus micros</i>	37c	<i>Arachnia propionica</i>	37d	<i>Desulfonatronospira thiodismutans</i> Aso3-1
38a	<i>Fusobacterium polymo</i>	38b	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	38c	<i>A. viscosus rphum</i>	38d	<i>A. odontolyticus,</i>
39a	<i>Lactobacillus casei</i>	39b	<i>Actinomyces meyeri</i>	39c	<i>Actinomyces meyeri</i>	39d	<i>Eubacterium nodarum</i>
40a	<i>Bifidobacterium dentium</i>	40b	<i>Bifidobacterium dentium</i>	40c	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	40d	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>

Tab.7. Sekwencjonowanie Sangera inokulum bakteryjnego z określonych szalek pobranych jako A, B, C i D (kontakt ludzi ze zwierzętami domowymi).

Wyniki uzyskane z sekwencjonowania metodą Sanger'a wskazują na identyfikację na poziomie 99,99 - 100% analizowanych gatunków i szczepów bakterii chorobotwórczych sześciu kompleksów wyszczególnionych przez Socransky`ego u ludzi w obu grupach (właściciele zwierząt gospodarskich i domowych), jak i u zwierząt. Największą liczebność w jamie ustnej miały udział bakterie kompleksu czerwonego, następnie pomarańczowego > żółtego > zielonego i fioletowego > niebieskiego, (Tab. 6 i 7). Uzyskane wyniki jednoznacznie wskazują, że wpływ określonego rodzaju diety może stymulować rozwój tzw. pożytecznych bakterii, takich jak np. *L. salivarius*, lub szkodliwych bakterii, takich jak np. *P. gingivalis*.

Wyniki sekwencjonowania przedstawiono w Tabelach 6, 7, 8 oraz Ryc.15.

lp	Type	lp	Type	lp	Type	lp	Type
1a	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1b	<i>Lactobacillus buchmeri</i>	1c	<i>Lactobacillus fermentum</i>	1d	<i>Lactobacillus salivarius</i>
2a	<i>Rothia dentocariosa</i>	2b	<i>Rothia dentocariosa</i>	2c	<i>Trichomonas tenax</i>	2d	<i>Capnocytophaga ochracea</i>
3a	<i>Lactobacillus casei</i>	3b	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	3c	<i>Bifidobacterium dentium</i>	3d	<i>Bifidobacterium dentium</i>
4a	<i>Propionibacterium acnes</i>	4b	<i>Arachnia propionica (Actinomyces propionicus) sputigena</i>	4c	<i>Peptostreptococcus micros</i>	4d	<i>Desulfococcus oleovorans Hxd3</i>
5a	<i>Capnocytophaga ochracea</i>	5a	<i>Actinomyces meyeri</i>	5c	<i>Bifidobacterium dentium</i>	5d	<i>Streptococcus gordonii</i>
6a	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	6b	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	6c	<i>Streptococcus mitis</i>	6d	<i>Eubacterium nodatum</i>
7a	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	7b	<i>Streptococcus mutans</i>	18c	<i>Tanarella forsythia</i>	7d	<i>Treponema denticola</i>
8a	<i>Thermospiro melanesiensis BI429</i>	8b	<i>Propionibacterium acnes</i>	8c	<i>Bifidobacterium dentium</i>	8d	<i>Peptostreptococcus micros</i>
9a	<i>Tanarella forsythia</i>	9b	<i>Capnocytophaga</i>	9c	<i>Treponema denticola</i>	9d	<i>Treponema denticola</i>
10a	<i>Actinomyces odontolyticus</i>	10b	<i>Actinomyces odontolyticus</i>	10c	<i>Capylobacter concisus</i>	10d	<i>Actinomyces meyeri</i>
11a	<i>E. coli R4</i>	11b	<i>E.coli R4</i>	11c	<i>Escherichia. coli R2</i>	11d	<i>Tanarella forsythia</i>
12a	<i>Pyrococcus sp. OT3</i>	12b	<i>Tanarella forsythia</i>	12c	<i>Streptococcus sanguinis</i>	12d	<i>Pyrococcus sp. OT3</i>
13a	<i>Escherichia. coli R2</i>	13b	<i>Peptostreptococcus micros</i>	13c	<i>Pyrococcus sp. OT3</i>	13d	<i>Eubacterium nodarum</i>

14a	<i>Streptococcus pyogenes</i> E	14b	<i>Streptococcus oralis</i>	14c	<i>Peptostreptococcus micros</i>	14d	<i>Streptococcus gordonii</i>
15a	<i>Escherichia. coli</i> R3	15b	<i>Pyrococcus sp.</i> OT3	15c	<i>Fusobacterium polymorphum</i>	15d	<i>Fusobacterium polymorphum</i>
16a	<i>E. coli</i> R2	16b	<i>Lactobacillus buchmeri</i>	16c	<i>Bifidobacterium dentium</i>	16d	<i>Lactobacillus casei</i>
17a	<i>E. coli</i> R3	17b	<i>Lactobacillus plantarum</i>	17c	<i>Bifidobacterium dentium</i>	17d	<i>Lactobacillus plantarum</i>
18a	<i>Streptococcus sanguinis</i>	18b	<i>Escherichia. coli</i> R2	18c	<i>Propionibacterium acnes</i>	18d	<i>Actinomyces gerencseriae</i>
19a	<i>E. coli</i> R3	19b	<i>Lactobacillus buchmeri</i>	19c	<i>Escherichia. coli</i> R2	19d	<i>Escherichia. coli</i> R2
20a	<i>Streptococcus constellatus</i>	20b	<i>Thermanaerovibrio acidaminovorans</i> DSM 6589	20c	<i>Lactobacillus casei</i>	20d	<i>Streptococcus mitis</i>

Tab.6a. Sekwencjonowanie metodą Sangera pobranego inokulum bakteryjnego z jamy ustnej ludzi pracujących przy zwierzętach hodowlanych i hodowanych zwierzętach (świnie) na określonych typach pożywek. Do dalszych badań pobierano materiał oznaczony jako A, B, C i D.

lp	Type	lp	Type	Lp	Type	lp	Type
21a	<i>Streptococcus pyogenes</i>	21b	<i>Rothia dentocariosa</i>	21c	<i>Capylobacter concisus</i>	21d	<i>Streptococcus gordonii</i>
22a	<i>Porhyromonas gingivalis</i>	22b	<i>Tanarella forsythia</i>	22c	<i>Prevotella nigrescens</i>	22d	<i>A. meyeri</i>
23a	<i>Rothia dentocariosa</i>	23b	<i>Arachnia propionica</i> (<i>Actinomyces propionicus</i>)	23c	<i>Peptostreptococcus micros</i>	23d	<i>Streptococcus mutans</i>
24a	<i>Streptococcus sanguinis</i>	24b	<i>Capnocytophaga sputigena</i>	24c	<i>Capnocytophaga ochracea</i>	24d	<i>Streptococcus sanguinis</i>
25a	<i>Capnocytophaga ochracea</i>	25a	<i>Peptostreptococcus micros</i>	25c	<i>Bifidobacterium dentium</i>	25d	<i>Bifidobacterium dentium</i>
26a	<i>Escherichia. coli</i> R2	26b	<i>Escherichia. coli</i> R2	26c	<i>Eubacterium nodatum</i>	26d	<i>Trichomonas tenax</i>
27a	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	27b	<i>Lactobacillus buchmeri</i>	27c	<i>Lactobacillus fermentum</i>	27d	<i>Lactobacillus salivarius</i>
28a	<i>Lactobacillus casei</i>	28b	<i>Lactobacillus plantarum</i>	28c	<i>Bifidobacterium dentium</i>	28d	<i>Lactobacillus casei</i>
29a	<i>Pyrococcus sp.</i> OT3	29b	<i>Streptococcus oralis</i>	29c	<i>Streptococcus gordonii</i>	29d	<i>Peptostreptococcus micros</i>
30a	<i>Streptococcus constellatus</i>	30b	<i>E.coli</i> R4	30c	<i>Escherichia. coli</i> R3	30d	<i>E. coli</i> R3

31a	<i>Thermospiro melanesiensis</i> BI429	31b	<i>Thermanaerovibrio acidaminovorans</i> DSM 6589	31c	<i>Propionibacterium acnes</i>	31d	<i>Lactobacillus plantarum</i>
32a	<i>Actinomyces israeli</i>	32b	<i>Actinomyces odontolyticus</i>	32c	<i>Actinomyces israeli</i>	32d	<i>Actinomyces naeslundii</i>
33a	<i>Actinomyces odontolyticus</i>	33b	<i>A. gerencseriae</i>	33c	<i>Eubacterium timidum</i>	33d	<i>Lactobacillus casei</i>
34a	<i>Propionibacterium acnes</i>	34b	<i>Actinomyces odontolyticus</i>	34c	<i>Bifidobacterium dentium</i>	34d	<i>Lactobacillus buchmeri</i>
35a	<i>Lactobacillus buchmeri</i>	35b	<i>Lactobacillus buchmeri</i>	35c	<i>Bifidobacterium dentium</i>	35d	<i>Bifidobacterium dentium</i>
36a	<i>Lactobacillus plantarum</i>	36b	<i>Lactobacillus fermentum</i>	36c	<i>Lactobacillus fermentum</i>	36d	<i>Lactobacillus salivarius</i>
37a	<i>Bifidobacterium dentium</i>	37b	<i>Peptostreptococcus micros</i>	37c	<i>Arachnia propionica</i>	37d	<i>Desulfonatronospira thiodismutans</i> Aso3-1
38a	<i>Fusobacterium polymo</i>	38b	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	38c	<i>A. viscosus rphum</i>	38d	<i>A. odontolyticus</i>
39a	<i>Lactobacillus casei</i>	39b	<i>Actinomyces meyeri</i>	39c	<i>Actinomyces meyeri</i>	39d	<i>Eubacterium nodarum</i>
40a	<i>Bifidobacterium dentium</i>	40b	<i>Bifidobacterium dentium</i>	40c	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	40d	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>

Tab.7a. Sekwencjonowanie metodą Sangera pobranego inokulum bakteryjnego z jamy ustnej ludzi posiadających zwierzęta hodowlane i hodowanych zwierząt domowych (psów) na określonych typach pożywek. Do dalszych badań pobierano materiał oznaczony jako A, B, C i D.

Lp	Pigs (Panel A)	Lp	Dog (Panel B)
1	<i>Streptococcus mutans</i>	1	<i>E. coli</i> R2
2	<i>Streptococcus constellatus</i>	2	<i>Pyrococcus</i> sp. OT3
3	<i>Streptococcus pyogenes</i>	3	<i>Rothia dentocariosa</i>
4	<i>Streptococcus oralis</i>	4	<i>Capnocytophaga sputigena</i>
5	<i>Actinomyces naeslundii</i>	5	<i>A. hordeovulneris</i>
6	<i>Streptococcus mitis</i>	6	<i>Capnocytophaga ochracea</i>
7	<i>Streptococcus sanguinis</i>	7	<i>A. canis</i>
8	<i>A. bovis</i>	8	<i>Peptostreptococcus micros</i>

9	<i>Pyrococcus sp. OT3</i>	9	<i>Arachnia propionica (Actinomyces propionicus)</i>
10	<i>Streptococcus gordonii</i>	10	<i>E.coli R4</i>
11	<i>A.israeli</i>	11	<i>Propionibacterium acnes</i>
12	<i>Desulfococcus oleovorans Hxd3</i>	12	<i>Tanarella forsythia</i>
13	<i>Escherichia. coli R2</i>	13	<i>A. bowdenii pies</i>
14	<i>Pyrococcus sp. OT3</i>	14	<i>A. viscosus</i>
15	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	15	<i>Actinomyces odontolyticus</i>
16	<i>Peptostreptococcus micros</i>	16	<i>Peptostreptococcus micros</i>
17	<i>E. coli R3</i>	17	<i>Treponema denticola</i>
18	<i>Peptostreptococcus micros</i>	18	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
19	<i>Actinomyces odontolyticus</i>	19	<i>Actinomyces meyeri</i>
20	<i>Actinobaculum suis</i>	20	<i>Fusobacterium polymorphum</i>

Tab.8. Sekwencjonowanie metodą Sangera pobranego inokulum bakteryjnego z jamy ustnej zwierząt hodowlanych (świnie) i hodowanych zwierząt domowych (psy) na określonych typach pożywek.

Analizowane biofilmy bakteryjne u osób pracujących ze zwierzętami hodowlanymi i posiadających zwierzęta domowe różniły się dość istotnie składem mikroflory bakteryjnej (Tab. 6 i 7 oraz 6a i 7a). U tych osób skład mikroflory jamy ustnej przesunął się w kierunku kompleksów żółtych, niebieskich i pomarańczowych. Z drugiej strony udział biofilmu tworzącego kompleks czerwony był jednolity. Inaczej było w przypadku osób pracujących ze zwierzętami hodowlanymi. Na podstawie wyników sekwencjonowania metodą Sangera zaobserwowano przewagę gatunków bakterii kompleksów: pomarańczowego, żółtego i czerwonego w równych ilościach. Podobne wyniki uzyskano z porównania grupy zwierząt gospodarskich - świń (Tab. 8 panel A) i zwierząt domowych - psów (Tab. 8 panel B). W obu grupach sekwencjonowanie metodą Sangera wykazało obecność bakterii charakterystycznych dla danego gatunku zwierząt, ale z wyraźną tendencją tych bytujących w jamie ustnej człowieka, gdzie można zaobserwować obecność bakterii z każdego z 6 kompleksów bakteryjnych, z których największy udział stanowią bakterie

występujące w kompleksach: pomarańczowy> czerwony> żółty> zielony> niebieski> fioletowy. Stwierdzono obecność bakterii charakterystycznych dla danego gatunku zwierząt. Wykazano, że u ludzi kontaktujących się co najmniej kilka godzin dziennie z tymi zwierzętami następuje zmiana biofilmu bakteryjnego.

4.1.9. Oszacowanie jakie pokarmy w największym stopniu wywołują stres oksydacyjny w jamie ustnej ludzi i zwierząt.

Na podstawie wywiadów i analizy treści dokumentów wypełnionych przez pacjentów (Tab.9) oszacowano pokarmy, które w największym stopniu wywołują stres oksydacyjny w jamie ustnej ludzi i zwierząt. W oparciu o literaturę i przeprowadzone badania można określić zalecenia do zmodyfikowania nawyków żywieniowych, w celu zmniejszenia wystąpienia ryzyka stresu oksydacyjnego i stanów zapalnych, które przyczyniają się do powstawania patogennej mikroflory w jamie ustnej. Zdecydowanie należy ograniczyć spożywanie węglowodanów, zwłaszcza tych o lepkiej konsystencji, napojów słodzonych, kwaśnych, gazowanych i soków. W sytuacji kiedy nie można umyć zębów, można zalecić żucie gumy do żucia bez cukru 5-10 min. (osobom ze zdrowymi stawami skroniowo-żuchwowymi) albo kończyć posiłek warzywem bogatym w witaminy i minerały. Szczególnie witaminy A, C, E, z grupy B, koenzym Q są silnymi antyoksydantami i doskonale radzą sobie ze stresem oksydacyjnym w jamie ustnej (Tabela 9).

L.P.	KOD	WIEK	PRZEBYŁ COVID-19	TESTY-COVID-19	CZUJE SIĘ ZDROWY	CHOROBY PRZEWLEKŁE
1	01.B.(A,B,C,D)	53	N	N	T	układ kostno-stawowy, układ krążenia i naczyń krwionośnych, układ pokarmowy, niedoczynność tarczycy
2	02.B.(A,B,C,D)	54	N	N	T	N
3	03.F.(A,B,C,D)	82	N	N	N	choroby serca, układ krążenia, układ krzepnięcia, naczyń krwionośnych, cukrzyca
4	04.W.(A,B,C,D)	68	N	N	N	układ kostno-stawowy
5	05.F.(A,B,C,D)	65	N	N	T	N

6	06.T.(A,B,C,D)	30	N	N	T	N
7	07.T.(A,B,C,D)	50	N	N	T	układ krążenia, serce, niedoczynność tarczycy, depresja
8	08.B.(A,B,C,D)	50	N	N	T	N
9	09.B.(A,B,C,D)	46	N	N	T	N
10	10.B.(A,B,C,D)	42	N	N	T	N
11	11.T.(A,B,C,D)	44	N	N	T	N
12	12.T.(A,B,C,D)	67	N	N	T	układ krążenia, cukrzyca
13	13.T.(A,B,C,D)	44	N	N	T	N
14	14.W.(A,B,C,D)	37	N	N	T	tarczyca
15	15.F.(A,B,C,D)	48	N	N	T	cukrzyca,
16	16.W.(A,B,C,D)	60	N	N	T	układ krążenia
17	17.W.(A,B,C,D)	38	N	T	T	N
18	18.W.(A,B,C,D)	51	N	N	T	N
19	19.F.(A,B,C,D)	53	N	N	T	układ kostno-stawowy
20	20.F.(A,B,C,D)	42	N	N	T	N
21	21.B.(A,B,C,D)	39	N	N	T	N
22	22.T.(A,B,,C,D)	30	N	N	T	N
23	23.F.(A,B,C,D)	54	N	N	T	N
24	24.F.(A,B,C,D)	50	N	N	T	N
25	25.F.(A,B,C,D)	82	N	N	N	choroby serca, układ krążenia, układ krzepnięcia, naczyń krwionośnych, cukrzyca
26	26.B.(A,B,C,D)	54	N	N	T	N
27	27.F.(A,B,C,D)	66	N	N	T	N
28	28.B.(A,B,C,D)	54	T	T	T	układ kostno-stawowy
29	29.B.(A,B,C,D)	30	N	N	T	N
30	30.F.(A,B,C,D)	42	N	N	T	N
31	31.W.(A,B,C,D)	58	N	N	T	N
32	32.W.(A,B,C,D)	57	N	N	T	układ kostno-stawowy
33	33.W.(A,B,C,D)	53	N	N	T	układ kostno-stawowy, układ krążenia i naczyń krwionośny, układ pokarmowy, niedoczynność tarczycy
34	34.T.(A,B,C,D)	57	N	N	T	układ krążenia
35	35.T.(A,B,C,D)	21	T	T	T	N
36	36.W.(A,B,C,D)	68	N	N	N	układ kostno-stawowy
37	37.T.(A,B,C,D)	60	N	N	T	układ kostno-stawowy
38	38.W.(A,B,C,D)	48	N	N	T	N
39	39.B.(A,B,C,D)	40	N	N	T	N
40	40.T.(A,B,C,D)	30	N	N	T	N
	średni wiek	54,9	2 (chorowało)	3 (były)	4 (nie czuje)	24 nie choruje na choroby przewlekłe

				badane)	się zdrowo)	
	Przedział wiekowy	21-82	5%	7,5%	10%	60%

Tab.9. Analiza stanu zdrowia badanych osób na podstawie wypełnionych dokumentów.

Badane osoby były w wieku od 21 - 82 lat, średnia wieku badanych wyniosła 54,9 lat. 72,5% badanych osób stanowiły kobiety, 27,5% mężczyźni. 10% badanych osób nie czuło się zdrowo ze względu na obecność chorób ogólnoustrojowych. 90% badanych osób czuło się zdrowo, mimo tego, że u 50% z nich zdiagnozowano choroby przewlekłe. Na choroby przewlekłe cierpiało 60% badanych. Były to choroby: serca 7,5% badanej populacji, układu krążenia 17,5%, układu krępinęcia 5%, układu naczyniowego 7,5%, układu pokarmowego 5%, układu kostno-stawowego 22,5%, niedoczynnnością tarczycy 10%, cukrzycą 10% i 2,5% badanych cierpiało na depresję.

Grupa badana, uśredniając wyniki, była na podobnym poziomie higieny jamy ustnej. Różnice pojawiają się przy wyznaczaniu wskaźnika API - niższe wartości obserwuje się tylko w diecie F, co pozwala przyjąć, że dieta nie jest bez znaczenia jeśli chodzi o odkładanie się płytki bakteryjnej w przestrzeniach międzyzębowych.

Wykazano, że dieta wpływa na stan zapalny tkanek miękkich. Najkorzystniejsze efekty obserwuje się u osób na diecie W. Nieznacznie mniejszy efekt uzyskano u osób na diecie B i T. Należy jednak zaznaczyć, że w ostatnich dwóch podgrupach były 2 osoby kwalifikujące się do leczenia periodontologicznego. W powyższych podgrupach osoby z dostateczną/dobłą higieną według analizowanych wskaźników miały klinicznie zdrowe przyzębie.

Różnica między osobami na ściśle określonej diecie (B, W, T), a osobami będącymi na diecie F (na podstawie oznaczenia wskaźnika PBI) różni się o dwa poziomy w skali interpretacji wyników i stan ten w stomatologii określa się jako umiarkowany - dla tej podgrupy.

- Analiza wskaźnika PBI wskazuje, że dieta węglowodanowa wpływa negatywnie na stan tkanek miękkich. Inne diety niż węglowodanowa, wpływały korzystnie na stan przyzębia nawet przy obecności płytki bakteryjnej.

Najlepsze wyniki uzyskali pacjenci będący na diecie W, gdzie średni wynik dla wskaźnika PBI jest mniejszy niż 10%.

5. Dyskusja

5.1. Oszacowanie wpływu różnych typów diet w indukcji stanów zapalnych tkanek miękkich w jamie ustnej w obecności zalegającej płytki bakteryjnej i przy braku zalegającej płytki bakteryjnej nad- i poddziąsłowej

Wcześniejsze wyniki badań wskazują, że przy pomocy odpowiedniej diety można wpłynąć na stan zdrowia przyzębia i rozwój lub ograniczenie rozwoju stanu zapalnego przyzębia [9,133]. Obecne badanie miało na celu pogłębienie wiedzy z tego zakresu. Do badania zostały wykorzystane cztery najbardziej popularne rodzaje diet: białkowa, warzywna, tłuszczowa (bogata w tłuszcze Omega-3) i mieszana.

Badane osoby miały kończyć każdy posiłek produktami z diety do której się zobowiązali na czas badania. Wcześniejsze badania wskazują, że dominujący wpływ na stan jamy ustnej ma ten składnik diety, który kończy posiłek [48], gdyż jest on niezbędny w tworzeniu odpowiedniego środowiska bytowania dla określonych kompleksów opisanych przez Socranskiego bakterii patogennych [48, 89,90].

Z przeprowadzonych badań wynika, iż wszyscy badani ochotnicy mieli na zębach płytkę nazębną miękką i twardą. Obecność zalegającej na zębach płytki bakteryjnej nad- i poddziąsłowej sprzyja powstaniu i podtrzymywaniu stanów zapalnych tkanek miękkich. Potwierdzeniem obecności stanu zapalnego tkanek miękkich wokół zębów były uśrednione wyniki wskaźników stomatologicznych higienicznych; (fuksynowy, PII, OHI, API), które wykazały że wszystkie badane osoby miały higienę jamy ustnej na poziomie dostatecznym. U wszystkich badanych osób określano skład taksonomiczny zbiorowisk bakteryjnych bytujących w jamie ustnej za pomocą analizy molekularnej wykorzystując metodę Sangera. Biofilm bakteryjny pobierano dwukrotnie. Po raz pierwszy po trzech dniach stosowania diety, przy zalegającej płytce bakteryjnej miękkiej i twardej, a następnie po jej usunięciu i kontynuowaniu spożywania określonej diety przez kolejne trzy dni. Biofilm pobierano z zębów i ze szczeliny dziąsłowej. Wcześniejsze badania wskazywały, że obecność zalegającej na zębach płytki bakteryjnej nad- i poddziąsłowej sprzyja powstaniu i podtrzymywaniu stanów zapalnych tkanek miękkich wokół zębów [48]. Wcześniejsze prace wykazały, że

usunięcie płytki bakteryjnej powoduje, że stan zapalny ustępuje. Spodziewaliśmy się więc, że wynik badania przed oczyszczeniem i po oczyszczeniu płytki nazębnej może nie być identyczny. Badane osoby podczas trwania doświadczenia nie miały zmieniać nawyków higienicznych, choć ich domowe działania higieniczne były mało efektywne. Uważa się, że do trzech dni od profesjonalnego oczyszczenia zębów, przy dostatecznej higienie jamy ustnej drobnoustroje bytujące w jamie ustnej (w płytce bakteryjnej), nie oddziałują na tkanki dziąseł toksycznie i nie wywołują stanu zapalnego [2-5,11,13]. Dlatego badano ponownie efekt diety w trzecim dniu po oczyszczeniu zębów. Co ciekawe - uzyskane wyniki oznaczenia patogenów bakteryjnych za pomocą sekwencjonowania metodą Sangera [67], nie wykazały istotnych różnic pomiędzy grupami z oczyszczoną i nieoczyszczoną płytką. We wszystkich badanych grupach były one na bardzo podobnym poziomie namnażania się określonego składu patogenów. Ten brak różnic może wynikać z osiedlenia się wszystkich typów kompleksów bakteryjnych w przestrzeniach międzyzębowych zależnych od określonego pH śliny. Pomimo braku różnic w składzie mikroflory bakteryjnej obserwowano wyraźny wpływ diety na stan przyzębia, co było zgodne z wcześniejszymi obserwacjami. Wykazano, że najkorzystniejszy wpływ na stan przyzębia ma dieta warzywna. Interesujące było, że w badaniu przed oczyszczeniem płytki nazębnej wykazano, że pomimo jej obecności, spożywanie diety warzywnej zdecydowanie zmniejsza stan zapalny dziąseł, a nawet, że dieta warzywna niekiedy mu zapobiega. Przeprowadzone badania wykazały, że efekty 4 różnych rodzajów diet, różnią się pomiędzy sobą, ale również różnią się w zależności od wrażliwości gospodarza. Wskaźniki stomatologiczne wyraźnie wykazały, że badani mający nawet złą higienę jamy ustnej (na dziesięć osób z badanych z dietą warzywną aż 4 osoby kwalifikowały się do leczenia periodontologicznego) mieli "przyzębie klinicznie zdrowe" wg. wskaźników periodontologicznych. Takiego wyniku nie otrzymano przy innych dietach.

Przewlekły stan zapalny w jamie ustnej może doprowadzić do zniszczenia wyrostka zębodołowego kości, co w konsekwencji może prowadzić do utraty zębów. Ten proces może wiązać się z bezpośrednim uszkodzeniem tkanek przez toksyny wydzielane przez bakterie chorobotwórcze. Stąd stosowanie dobroczynnej diety – a szczególnie diety hamującej wzrostu bakterii wszystkich kompleksów ma ogromne znaczenie. Ponieważ bakterie te mogą sprzyjać rozwojowi stanów zapalny przyzębia, który to może pośrednio wpływać na

choroby nowotworowe trzustki i choroby sercowo-naczyniowe [67,104,126-129]. Najnowsze dane literaturowe wskazują wpływ biofilmu bakteryjnego na układ nerwowy, przyczyniający się do powstawania chorób neurodegeneracyjnych [132]. Dlatego trwają poszukiwania terapii innej niż antybiotykoterapia, która ograniczałaby wzrost szkodliwych bakterii. Obecnie oporność na antybiotyki wśród bakterii chorobotwórczych staje się coraz większa i coraz bardziej powszechna, co prowadzi do ich nadodporności. Zalecenia wydane przez Amerykańskie Stowarzyszenia Dentystyczne wskazują, że ogólnoustrojowe leki przeciwbakteryjne powinny być stosowane wyłącznie w stanach, w których są niezbędne, w racjonalnych dawkach, aby uniknąć skutków ubocznych w całym organizmie [53].

Należy wziąć pod uwagę fakt, że wskaźniki API i PBI badają te same okolice, więc wyniki powinny być zbieżne tzn. zła higiena = stan zapalny dziąseł. Wskaźnik API w przestrzeniach międzyzębowych przy diecie W określony został jako „zły”, i nie powinien przy porównaniu ze wskaźnikiem PBI wynosić poniżej 10%, co interpretuje się jako przyzębie klinicznie zdrowe. Tymczasem badani ochotnicy, którzy stosowali dietę W, lub kończyli każdy posiłek tą dietą, uzyskali wynik „klinicznie zdrowego przyzębia”. W przypadku diet B i T również przy wynikach API interpretowanych jako "zła higiena", badani osiągnęli wyniki PBI lepsze niż wskazywała na to ich higiena (a właściwie jej brak w tych okolicach) - wynik zinterpretowany został jako "łagodny stan zapalny". W stomatologii zła higiena jamy ustnej = stan zapalny. Jest to uważane od wielu lat za paradygmat. Moje badania wykazały że przy diecie warzywnej nie jest to równoważne, co jest novum w tego typu badaniach.

II. Ocena wpływu różnych rodzajów diet na obecność stanów zapalnych tkanek miękkich w jamie ustnej oraz obecność płytki bakteryjnej nad- i poddziąsłowej, u osób nie posiadających zwierząt i właścicieli zwierząt domowych

Zebrane wyniki poddano analizie w celu określenia, czy posiadanie zwierząt i codzienny kilkugodzinny kontakt z nimi może istotnie wpływać na mikroflorę jamy ustnej. Podobnie jak poprzednio analizowano jednocześnie wpływ diety u właścicieli zwierząt.

U wszystkich badanych osób, bez względu na to czy nie posiadali zwierząt, czy też posiadali zwierzęta domowe (psa), czy zwierzę gospodarskie (świnie) stwierdzono obecność płytki bakteryjnej i kamienia nazębnego, a stan higieny jamy ustnej oceniona na dostateczny.

Ze względów organizacyjnych u właścicieli świń nie wykonano badania wpływu diety. Wykonano ją w grupie osób nie posiadających zwierząt i posiadających psy. Po przeanalizowaniu wyników wykonanych wskaźników, okazało się, że posiadanie psa bez względu na rodzaj diety wpływa na stan jamy ustnej. Różnice pomiędzy osobami posiadającymi psy i ich nie posiadającymi były największe u osób spożywających dietę mieszaną, tłuszczową i białkową, a najmniejsze u osób spożywających dietę warzywną.

Higiena w przestrzeniach międzyzębowych u osób nie posiadających zwierząt domowych przy wszystkich dietach była zła. W grupie badanych osób posiadających zwierzęta domowe, badani z dietą białkową, tłuszczową i mieszaną mieli higienę w przestrzeniach międzyzębowych na poziomie dostatecznym. Stan przyzębia różnił się u każdej z wyżej wymienionych grup. Przy diecie białkowej był bardzo dobry, co interpretuje się jako "przyzębie klinicznie zdrowe".

Wydaje się, że te różnice mogą być związane z występowaniem specyficznej flory bakteryjnej kompleksów bakteryjnych czerwonego i żółtego, które namnażają się w przestrzeniach międzyzębowych pod wpływem składników zawartych w diecie warzywnej. Ponieważ warzywa stosowane w diecie "W" są często dodawane do pożywienia psów jako składnik wzbogacający ich dietę. Podczas opłukiwania warzyw przed spożyciem pod ciepłą, bieżącą wodą nie zawsze dochodzi do ich domycia, co może powodować pozostawienie części bakterii związanych z obiegiem azotu w glebie. Ich obecność w przestrzeniach międzyzębowych jamy ustnej przy określonej wysokości pH śliny, może przyczynić się do rozwoju bakterii wcześniej wymienionych kompleksów. Uzyskane wyniki *in vitro* wykazały, że składniki diety T, B i W miały silne działanie przeciwbakteryjne na wybrane bakterie chorobotwórcze odpowiedzialne za zapalenie przyzębia. Dieta warzywna zawiera witaminy oraz makro i mikroelementy, które są naturalnymi antyoksydantami likwidującymi stres oksydacyjny, przez co zmniejszają stan zapalny tkanek miękkich. Wcześniejsze badania wskazują również, że istnieje zależność między

wskaźnikami API i PBI, ponieważ oba wskaźniki badają te same okolice [5,8,9,14]. Zalegająca płytki bakteryjna inicjuje stany zapalne tkanek miękkich. Wskaźnik API w przestrzeniach międzyzębowych przy diecie W określany jako „zły”, nie powinien przy analizie wskaźnika PBI osiągać wartości poniżej 10%-, co interpretuje się jako przyzębie klinicznie zdrowe. Tymczasem właściciele zwierząt, którzy stosowali dietę warzywną (lub kończyli każdy posiłek spożyciem warzywa), uzyskali wynik „przyzębie klinicznie zdrowe”. W przypadku diet białkowej i tłuszczowej również przy wynikach API interpretowanych jako "zła higiena", badani osiągnęli wyniki PBI lepsze niż wskazywała na to ich higiena (a właściwie jej brak w tych okolicach) – był to wynik "łagodny stan zapalny". U osób nie posiadających zwierząt domowych higiena w przestrzeniach międzyzębowych była zła, a przy diecie białkowej i tłuszczowej przyzębie było na poziomie dobrym co interpretuje się jako "łagodny stan zapalny wymagający poprawy higieny jamy ustnej". W tej samej grupie badanych przy diecie mieszanej (F), stan przyzębia był na poziomie dostatecznym, co interpretuje się jako "umiarkowane zapalenie dziąseł". Przy diecie tłuszczowej był na poziomie dostatecznym, co oznacza "umiarkowane zapalenie dziąseł", a przy diecie mieszanej na poziomie dobrym, co z kolei interpretuje się jako "łagodny stan zapalny, wymagający poprawy higieny jamy ustnej". Tylko przy diecie warzywnej w obu grupach badanych przy złej higienie w przestrzeniach międzyzębowych stan przyzębia był na poziomie bardzo dobrym - interpretowanym jako "przyzębie klinicznie zdrowe". Na podstawie moich badań dokonałam ważnej obserwacji polegającej na tym iż analizowane wskaźniki takie jak API, PBI określające te same obszary w jamie ustnej (przestrzenie międzyzębowe), nie muszą wbrew powszechnej opinii ze sobą ściśle korelować - co jest novum w tego typu badaniach. Ta obserwacja wymaga dalszych badań.

Otrzymane wyniki wykazały, że dieta oznaczona jako „W” (warzywna) może stymulować wzrost i rozwój pożytecznych mikroorganizmów, takich jak: *Bifidobacterium* lub *L. salivarius* lub *L. debruecki*, które skutecznie konkurują z bakteriami chorobotwórczymi. Konkurują one o źródła zredukowanego węgla (są reduktorami), a podczas niedoboru węgla *L. debruecki*, ulegają autolizie, uwalniając oksydazę pirogronianową i inne składniki wewnątrzkomórkowe, przez co jest hamowany wzrost bakterii piątego kompleksu.

III. Oszacowanie jaka dieta w największym stopniu wywołuje stres oksydacyjny w jamie ustnej ssaków.

Z uzyskanych wyników można wnioskować, że dieta istotnie wpływa na nasilenie stresu oksydacyjnego w obrębie przyzębia. Najsilniejszy stres oksydacyjny zaobserwowano po spożywaniu diety mieszanej „F”. Natomiast obie zastosowane diety: białkowa „B” i tłuszczowa „T” powodują mniejszy poziom stresu oksydacyjnego a tym samym obniżenie stanu zapalnego w jamie ustnej ssaków. Dieta „W” zawierająca znaczne ilości antyoksydantów powszechnie występujących w warzywach w największym stopniu wpływa na redukcję stresu oksydacyjnego w jamie ustnej, co poprawia stan zdrowia tkanek miękkich, nawet przy zalegającej płytce bakteryjnej. Stosując dietę warzywną, względnie kończąc posiłek warzywami, można zapobiegać powstawaniu stanów zapalnych dziąseł.

IV. Porównanie biofilmów bakteryjnych ludzi i zwierząt

Analiza biofilmów bakteryjnych metodą Sangera wykazała, że w jamach ustnych ludzi i zwierząt bytują bakterie tych samych sześciu kompleksów bakteryjnych, które są izolowane u ludzi. W analizowanym materiale biologicznym pobranym od świń i psów po analizie sekwencyjnej metodą Sangera, zaobserwowano typy biofilmów bakteryjnych charakterystycznych dla każdego gatunku zwierząt, przynależne do każdego z 6 kompleksów bakteryjnych wg. następującej kolejności: kompleks pomarańczowy > czerwony > żółty > zielony > niebieski > fioletowy. Różnią się one jednak między sobą ilościowo. U psów przeważają kompleksy bakteryjne pomarańczowy i żółty co jest charakterystyczne dla tego gatunku zwierząt. U świń natomiast obserwowano kompleks czerwony i fioletowy - co również jest typowe dla tego gatunku. W każdej z badanych grup zaobserwowano wzrost patogennych szczepów bakterii; do sekwencjonowania wykorzystano tylko wyrosłe kolonie bakteryjne. Analiza sekwencji biofilmów bakteryjnych wyhodowanych na płytkach, wykazała obecność wszystkich kompleksów bakteryjnych w obu grupach posiadaczy zwierząt (zarówno u osób pracujących zawodowo ze świniami jak i u właścicieli psów). W analizowanych grupach odnotowano najwięcej bakterii kompleksów: pomarańczowego, żółtego i czerwonego. Wyniki analizy wykazały istotne różnice w składzie mikroflory bakteryjnej

obecnej w jamie ustnej osób posiadających psy, u których odnotowano największą ilość bakterii reprezentujących kompleks żółty, niebieski i pomarańczowy. Otrzymane wyniki jednoznacznie pokazały, że określona dieta może stymulować rozwój pożytecznych bakterii u osób posiadających psy. Skład mikroflory bakteryjnej ludzi opiekujących się świniami zdecydowanie przesunął się w kierunku kompleksu czerwonego, Zwiększyła się w podobny sposób również liczba bakterii z kompleksów: pomarańczowego i żółtego. Wzrost liczbowy bakterii w tych kompleksach był na podobnym poziomie. Dalszych badań wymaga ocena, czy wpływ diety będzie równie silny u osób przebywających ze świniami, jak to ma miejsce u właścicieli psów. W przeanalizowanych wynikach, w obu grupach badanych osób, nie wykryto żadnego gatunku bakterii mogącego wywołać choroby odzwierzęce u ludzi.

U ludzi opiekujących się zwierzętami zauważa się przewagę kompleksów bakteryjnych charakterystycznych dla danej populacji zwierząt, co potwierdziło opinię, iż na florę bakteryjną ludzi ma wpływ flora bakteryjna zwierząt z którymi obcuje/ przebywa człowiek.

Analiza wyników nie pozwala na stwierdzenie, że wpływ ten może mieć charakter patogeny. Ponieważ mikroflora bakteryjna osób pracujących przy zwierzętach hodowlanych (świnie) i posiadających zwierzęta domowe (psy) przesuwała się w kierunku bakterii kompleksów: żółtych, pomarańczowych i czerwonych, które zdominowały inne analizowane kompleksy. Normalnie, w jamie ustnej człowieka znajdują się bakterie zawierające główne szczepy *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium* i inne (patrz Tab.1). Obecność wspomnianych kompleksów bakterii patogennych występujących w jamie ustnej obu grup ludzi posiadających zwierzęta lub pracujących przy nich, może świadczyć o potencjalnie dużej możliwości powstawania chorób zapalnych przyzębia i dużym stresie oksydacyjnym. Ze względu na specyficzną budowę i etiologię szczepów patogennych wspomnianych kompleksów, mogą one być przenoszone na inne organizmy, w tym człowieka poprzez przez dotyk lub drogą kropelkową (w powietrzu) co może w przyszłości indukować potencjalne zoonozy (choroby odzwierzęce człowieka). Dlatego też, badania związane z zastosowaniem różnych typów diet, miały na celu porównanie biofilmów bakteryjnych ludzi i zwierząt. Wiedząc jakie gatunki bakterii zasiedlają jamę ustną zwierząt indukowanych określoną dietą można zdiagnozować stres oksydacyjny i stany zapalne w jamie ustnej człowieka.

6. Wnioski

1. Opracowany schemat diagnostyczny pozwala na ocenę stopnia nasilenia stanu zapalnego tkanek przyzębia i identyfikacji bakterii zaangażowanych w ten proces.
2. Wykazano, że dieta istotnie wpływa na zdrowie tkanek miękkich w obrębie przyzębia człowieka, nawet przy obecnej płytce nazębnej.
3. Najsilniejsze efekty ograniczające stres oksydacyjny i stan zapalny przyzębia wykazywała dieta warzywna.
4. Wykazano, że posiadanie zwierząt istotnie wpływa na skład mikroflory jamy ustnej. Nie wykazano, aby zmiany te miały jakikolwiek negatywny wpływ na stan przyzębia ludzi.

7. Literatura

1. M. Pietruska, E. Dolińska, A. Skurska-Czelej, *Zapobieganie chorobom przyzębia i ich leczenie*. ISBN: 978-83-7563-274-3. Lublin 2018, wyd. pierwsze, 28 stron,
2. P. Harsman., red. wydania polskiego, U. Kaczmarek, *Master Dentistry Stomatologia zachowawcza, stomatologia dziecięca, ortodoncja, periodontologia, protetyka*, ISBN 978-83-7609-200-3, wyd. pierwsze. Elsevier Urban &Partner, Wrocław 2010.
3. P. Coulthard, K. Horner, P. Sloan, E. Theaker, *Choroby błony śluzowej jamy ustnej, radiologia, chirurgia stomatologiczna*, ISBN 978-83-7609-291-1, wyd. Elsevier Urban &Partner, Wrocław 2008.
4. R. Górska red., *Diagnostyka i leczenie chorób błony śluzowej jamy ustnej*, ISBN 978-83-7609-200-3, wyd. Med Tur Press International, Otwock 2011.
5. Z. Jańczuk red., *Praktyczna periodontologia kliniczna*, ISBN 83-85700-42-0, wyd. Kwintesencja, Warszawa 2004.
6. Z. Jańczuk red., *Profilaktyka profesjonalna w stomatologii*, ISBN 83-200-2536-2, wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa 2001.
7. A. Felton, A. Chapman, S. Felton, red. naukowa tłumaczenia U. Kaczmarek, *Zdrowie jamy ustnej*, ISBN 978-83-200-4118-7, wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa 2009.
8. Z. Jańczuk red., *Podręcznik dla asystentek i higienistek stomatologicznych*, ISBN 978-83-200-4371-6, wyd. PZWL, Warszawa 2011.
9. A. Mielczarek, R. Kowalik, M. Najman red., *Podręcznik dla asystentek i higienistek stomatologicznych*, ISBN 978-83-200-5388-3, wyd. PZWL, Warszawa 2018.
10. W. Krajewski, *Podstawy profilaktyki stomatologicznej*, ISBN 978-83-87717-27-8, wyd. Med Tour Press International, Otwock 2019.
11. M. A. O. Lewis, R. C. K. Jordan, *Medycyna jamy ustnej*, ISBN 978-83-200-4490-4, wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa 2013.
12. B. Kukuliński, A. Schemionek, *Medycyna mitochondrialna*, ISBN 978-83-64278-87-7, wyd. Vital, Białystok 2015.

13. M. Łuczak, E. Swoboda - Kopec red., *Wybrane zagadnienia z mikrobiologii jamy ustnej*, ISBN 83-89309-33-5, wyd. Czelej, Lublin 2004.
14. Z. Knychalska - Karwan, *Zbiór wskaźników stomatologicznych, klasyfikacji i testów*, ISBN978-83-7563-031-2, wyd. Czelej, Lublin 2010.
15. M. Jarosz, *Żywność osób w wieku starszym*, ISBN 978-83-200-4407-2, Warszawa 2019
16. M. Jarosz, *Praktyczny poradnik dietetyki*, ISBN 9788386060771, wyd. Instytut Żywności i żywienia, Warszawa 2010.
17. H. K. Biesalski, P. Grimm, red. wyd. polskiego D. Gajewska, *Żywność atlas i podręcznik*, ISBN 978-83-65195-27-2, wyd. Edra Urban & Partner, Wrocław 2015.
18. T. Pilch, *Zasady badań pedagogicznych*, ISBN 83-86770-00-7, wyd. Żak, Warszawa 1998
19. A. Ukleja, B. Szczygieł, *Rola diety w patogenezie i leczeniu nieswoistych chorób zapalnych jelit*, *Żywność Człowieka* 2018: 45 (4), 181-191.
20. J. Nuszkiewicz, A. Kwiatkowska, K. Majko, R. Wesołowski, K. Szewczyk-Golec, *Stres oksydacyjny i stan zapalny a rozwój otyłości: protekcyjne działanie melatoniny*, *Probl. Hig. Epidemiol.* 2017: 98 (3), 226-232.
21. D. Skrypnik, P. Bogdański, E. Mądry, D. Pupek-Musialik, J. Walkowiak, *Wpływ wysiłku fizycznego na funkcje śródbłonka, wskaźniki stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego*, *Pol. Merkuriusz Lek.* 2014: 36 (212), 117-121.
22. M. Borakowska-Siennicka, *Wpływ diety na stan tkanek przyzębia - na podstawie piśmiennictwa*, *Nowa Stomatol.* 2012: 17 (3), 130-133.
23. R. Słomski red., *Przykłady analiz DNA*, ISBN 83-7160-346-0, wyd. Wydawnictwo Akademii Rolniczej, Poznań 2004.
24. R. Górka, *Choroby przyzębia Klasyfikacja 2017*, ISBN 978-83-200-5646-4, wyd. PZWL, Warszawa 2018.
25. M. Jelińska, A. Tokarz, *Nowe oblicza starych znajomych - przeciwzapalne metabolity n-3 WNK*, *Bromatol. Chem. Toksykol.* 2011: 44 (3), 313-318.

26. M. H. Borawska, J. Soroczyńska, K. Socha, B. Łazarczyk, *Diet and the content of calcium and magnesium in serum of patients with salivary gland tumors and inflammations*, Probl. Hig. Epidemiol. 2010: 91 (4), 572-575.
27. A. Zajdel, A. Wilczok, B. Parfiniewicz, *Wpływ diety na procesy wolnorodnikowe w jelicie grubym*, Bromatol. Chem. Toksykol. 2009: 42 (4) s.1121-1128,
28. T. Konopka, H. Gerber, *Stan kliniczny przyzębia pacjentów badanych w kierunku stresu oksydacyjnego związanego z zapaleniem przyzębia*, Dent. Med. Probl. 2008: 45 (1), 42-49.
29. R. Chyrek, P. Bogdański, M. Cymerys, D. Pupek-Musialik, A. Jabłecka, *Wpływ redukcji masy ciała na wybrane parametry procesu zapalnego u chorych z nadciśnieniem tętniczym i otyłością*, Farm. Współcz. 2008: 1 (3) s.123-128.
30. R. Rutkowski, S. A. Pancewicz, K. Rutkowski, J. Rutkowska, *Znaczenie reaktywnych form tlenu i azotu w patomechanizmie procesu zapalnego*, Pol. Merkuriusz Lek. 2007: 23 (134), 131-136.
31. T. Konopka, K. Król, W. Kopeć, *Wpływ nikotynizmu i zapaleń przyzębia na wybrane parametry stresu oksydacyjnego*, Wiad. Lek. 2006: 59 (7/8), 463-470.
32. G. Nowicka, *Składniki diety jako czynniki modulujące odpowiedź zapalną*, Żyw. Człow. 2005: 32 (4), 358-365.
33. D. Włodarek, *Postępowanie dietetyczne w nieswoistych chorobach zapalnych jelit*, Med. Dypl. 2004: 13 (8), 137, 140-144.
34. J. Karolkiewicz, *Wpływ stresu oksydacyjnego na strukturę i funkcję komórek oraz konsekwencje wynikające z uszkodzeń wolnorodnikowych - związek z procesami starzenia*, Gerontol. Pol. 2011: 19 (2), 59-67.
35. E. A. Kamecka-Białowarczuk, E. Dąbrowska, *Równowaga oksydoredukcyjna w środowisku jamy ustnej possibilities in oral cavity*. e-Dentico 2009 (2) s.58-68.
36. E. A. Kamecka-Białowarczuk, E. Dąbrowska, *Równowaga oksydoredukcyjna w środowisku jamy ustnej*. e-Dentico 2008 (2) s.42-51,

37. T. Wielkoszyński, M. Zawadzki, A. Lebek-Ordon, J. Olek, I. Korzonek-Szlacheta, *Enzymatyczne układy antyoksydacyjne - właściwości, występowanie i rola biologiczna*, Diagn. Lab. 2007: 43 (2), 283-294.
38. A. Łuszczewski, E. Matyska-Piekarska, J. Trefler, I. Wawer, J. Łącki, P. Śliwińska-Stańczyk, *Reaktywne formy tlenu - znaczenie w fizjologii i stanach patologii organizmu*, Reumatologia 2007: 45 (5), 284-289.
39. R. Olędzki, K. Kędziora-Kornatowska, *Mechanizmy antyoksydacyjne w organizmie człowieka*, Valetudinaria - Post. Med. Klin. Wojsk. 2006: 11 (1) s.15-20.
40. M. Zielińska, J. Buczkowska-Radlińska, *Wpływ diety niskowęglowodanowej na stan zdrowia człowieka*, Pom. J. Life Sci. 2017: 63 (4), 56-61.
41. A. Waniecka, *Wpływ diety i suplementów diety na proces starzenia się skóry*, Post.Diet.Geriatr.Gerontol. 2016: 2 (4), 30-35
42. R. Wierzejska, *Kofeina - powszechny składnik diety i jej wpływ na zdrowie*, Roczn. Państw. Zakł. Hig. 2012: 63 (2), 141-147.
43. M. A. Twardoch, M. Lodwich, B. Mazur, *Alergia a stres oksydacyjny*, Ann. Acad. Med. Siles. (online) 2016: 70, 15–23.
44. K. Król, K. Grocholewicz., *Wybrane białka śliny jako biomarkery miejscowych i ogólnych procesów chorobowych. Przegląd piśmiennictwa*, Zakład Stomatologii Ogólnej Pomorskiej Akademii w Szczecinie 2007: 53, 1, 78–82.
45. M. Skiba, M. Kusa-Podkańska, J. Wysokińska-Miszczuk, *Wpływ stanu jamy ustnej na jakość życia osób w starszym wieku*, Katedra i Zakład Periodontologii Akademii Medycznej w Lublinie, 2005 tom 13, nr 4, 250–254. ISSN 1425–4956.
46. M. Kucia, E. Wietrak, M. Szymczak, P. Kowalczyk, *Preliminary in vitro study on effect of Lactobacillus salivarius and other natural components against anaerobic periodontal bacteria*, Molecules 2020, 25, 4519.
47. J. G. Caton, G. Armitage, T. Berglundh, I. L. C. Chapple, S. Jepsen, K. S. Kornman, B. L. Mealey, P. N. Papapanou, M. Sanz, M. S. A. Tonetti, *New classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions—Introduction and key changes from the 1999 classification*. J. Clin. Periodontol. 2018: 45 (Suppl. S20), S1–S8.

48. D. Olczak-Kowalczyk, T. Jackowska, M. Czerwionka-Szaflarska, J. Książyk, D. Szostak-Węgierek, U. Kaczmarek, *Stanowisko polskich ekspertów dotyczące zasad żywienia dzieci i młodzieży w aspekcie zapobiegania chorobie próchnicowej*, Polskie Towarzystwo Stomatologii Dziecięcej, Nowa Stomatol 2015: 20(2), 81-91.
49. Y. Chen, Y. C. Yang, B. L. Zhu, C. C. Wu, R. F. Lin, X. Zhang, *Association between periodontal disease, tooth loss and liver diseases risk*. J Clin Periodontol. 2020: 47(9), 1053-1063.
50. E. F. Carrizales-Sepúlveda, A. Ordaz-Farías, R. Vera-Pineda, R. Flores-Ramírez, *Periodontal Disease, Systemic Inflammation and the Risk of Cardiovascular Disease*. Heart Lung Circ. 2018: 27(11), 1327-1334.
51. H. Y. Sroussi, J. B. Epstein, R. J. Bensadoun, D. P. Saunders, R. V. Lalla, C. A. Migliorati, N. Heavilin, Z. S. Zumsteg, *Common oral complications of head and neck cancer radiation therapy: mucositis, infections, saliva change, fibrosis, sensory dysfunctions, dental caries, periodontal disease, and osteoradionecrosis*. Cancer Med. 2017 Dec;6(12):2918-2931.
52. F. D. Güll, H. Deppe, M. Kesting, C. Schwarzer, *Periodontal disease-like bone loss after adjuvant radiotherapy in the head and neck region: A case report and review of the literature*. Quintessence Int. 2017; 48(6):451-457.
53. M. S. Irie, E. M. Mendes, J. S. Borges, L. G. Osuna, G. D. Rabelo, P. B. Soares, *Periodontal therapy for patients before and after radiotherapy: A review of the literature and topics of interest for clinicians*. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2018 Sep 1;23(5):e524-e530.
54. H. O. Sohn, E. Y. Park, Y. S. Jung, E. K. Lee, E. K. Kim, *Effects of professional oral hygiene care in patients with head-and-neck cancer during radiotherapy: A randomized clinical trial*. Indian J Dent Res. 2018 Nov-Dec;29(6):700-704.
55. I. Rowińska, A. Szyperska-Ślaska, P. Zariczny, R. Paślowski, K. Kramkowski, P. Kowalczyk, *Impact of the Diet on the Formation of Oxidative Stress and Inflammation Induced by Bacterial Biofilm in the Oral Cavity*. Materials 2021, 14, 1372.
56. I. Rowińska, A. Szyperska-Ślaska, P. Zariczny, R. Paślowski, K. Kramkowski, P. Kowalczyk, *The Influence of Diet on Oxidative Stress*

- and Inflammation Induced by Bacterial Biofilms in the Human Oral Cavity*. *Materials* 2021, 14, 1444.
57. A. J. Smith, V. Hall, B. Thakker, C. G. Gemmell, *Antimicrobial susceptibility testing of Actinomyces species with 12 antimicrobial agents*. *J. Antimicrob. Chemother* 2005, 56, 407–409.
 58. J. M. Hansen, H. Fjeldsoe-Nielsen, A. Sulim, M. Kemp, J. J. Christensen, *Actinomyces species: A Danish survey on human infections and microbial characteristics*. *Open Microbiol. J.* 2009, 3, 113–113.
 59. I. Brook, *Actinomycosis: diagnosis and management*. *South Med. J.* 2008, 101, 1019–1023.
 60. V. Hall, *Actinomyces gathering evidence of human colonization and infection*. *Anaerobe* 2008, 14, 1–7.
 61. *The Act of 5.XII. 2008 on preventing and combating human infections and infectious diseases*. *Journal of Laws* No. 234, item 1570, 2009.
 62. M. Sanz, D. Beighton, M. A. Curtis, J.A. Cury, I. Dige, H. Dommisch, R. Ellwood, R. A. Giacaman, D. Herrera, M.C. Herzberg, E. Könönen, P.D. Marsh, J. Meyle, A. Mira, A. Molina, A. Mombelli, M. Quirynen, E.C. Reynolds, L. Shapira, E. Zaura, *Role of microbial biofilms in the maintenance of oral health and in the development of dental caries and periodontal diseases. Consensus report of group 1 of the Joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal disease*. *J Clin Periodontol.* 2017 Mar;44 Suppl 18:S5-S11.
 63. J. Gomes, T. Pereira, A. Carvalho, C. Brito, *Primary cutaneous actinomycosis caused by Actinomyces meyeri as first manifestation of HIV infection*. *Dermatology On-line J.* 2011, 17, 5–8.
 64. C. Binda, L. R. Lopetuso, G. Rizzatti, G. Gibiino, V. Cennamo, A. Gasbarrini, *Actinobacteria: A relevant minority for the maintenance of gut homeostasis*. *Dig Liver Dis.* 2018 May;50(5):421-428.
 65. S. S. Socransky, A. D. Haffajee, M. A. Cugini, C. Smith, R. L. Kent, Jr. *Microbial complexes in sub-gingival plaque*. *J. Clin. Periodontol.* 1998, 25, 134–144.
 66. S. S. Socransky, A. D. Haffajee, *Periodontal microbial ecology*. *Periodontology* 2005, 38, 135–187.
 67. F. Sanger, S. Nicklen, A. R. Coulson, *DNA sequencing with chain-terminating inhibitors*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1977, 74, 5463–5467.

68. R. J. Gibbons, *Role of adhesion in microbial colonization of host tissues: A contribution of oral microbiology*. J. Dent. Res. 1996, 75, 866–870.
69. M. C. Ammons, V. Copié, *Lactoferrin: A bioinspired, anti-biofilm therapeutic*. Biofouling 2013, 29, 443–455.
70. H. Jenssen, R. E. Hancock, *Antimicrobial properties of lactoferrin*. Biochimie 2009, 91, 19–29.
71. H. M. Baker, E. N. Baker, *Lactoferrin and iron: Structural and dynamic aspects of binding and release*. Biometals 2004, 17, 209–216.
72. F. Berlutti, A. Pilloni, M. Pietropaoli, A. Polimeni, P. Valenti, *Lactoferrin and oral diseases: Current status and perspective in periodontitis*. Ann. Stomatol. (Roma) 2011, 2, 10–18.
73. B. D. Chaves, M. M. Brashears, K. K. Nightingale, *Applications and safety considerations of Lactobacillus salivarius as a probiotic in animal and human health*. J. Appl. Microbiol. 2017, 123, 18–28,
74. R. P. Darveau, G. Hajishengallis, M. A. Curtis, *Porphyromonas gingivalis as a potential community activist for disease*. J. Dent. Res. 2012, 91, 816–820.
75. P. D. Marsh, *Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style*. J Clin Periodontol. 2005;32(Suppl 6):7–15.
76. P. Jayaram, A. Chatterjee, V. Raghunathan, *Probiotics in the treatment of periodontal disease: A systematic review*. J. Indian Soc. Periodontol. 2016, 20, 488–495.
77. D. Grenier, S. Roy, F. Chandad, P. Plamondon, M. Yoshioka, K. Nakayama, D. Mayrand, *Effect of inactivation of the Arg- and/or Lys-gingipain gene on selected virulence and physiological properties of Porphyromonas gingivalis*. Infect. Immun. 2003, 71, 4742–4748.
78. Jagiellonian Innovation Center. In vitro test report: *Antibacterial action of the Salistat diet supplement containing Lactobacillus salivarius SGL 03, lactoferrin, GOS and lemon and rosemary oils on Streptococcus pyogenes, Streptococcus sanguinis and Streptococcus mutans*. 2017, Available online: <https://en.uj.edu.pl/research/innovation>. (accessed on 26 September 2020).
79. T. Kadowaki, A. Baba, N. Abe, R. Takii, M. Hashimoto, T Tsukuba, S. Okazaki, Y. Suda, T. Asao, K. Yamamoto, *Suppression of pathogenicity*

- of Porphyromonas gingivalis* by newly developed gingipain inhibitors. *Mol. Pharmacol.* 2004, 66, 1599–1606.
80. Food and Agriculture Organization; *World Health Organization. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food—Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food; Food and Agriculture Organization: Rome, Italy; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2002.*
81. M. Jimenez, E. Giovannucci, E. Krall Kaye, K. J. Joshipura, T. Dietrich, *Predicted vitamin D status and incidence of tooth loss and periodontitis.* *Public Health Nutr.* 2014, 17, 844–852.
82. J. Katz, N. Chegini, K. T. Shiverick, R. J. Lamont, *Localization of P. gingivalis in preterm delivery placenta.* *J. Dent. Res.* 2009, 88, 575–578.
83. A. V. Colombo, C. M. Silva, A. Haffajee, A. P. V. Colombo, *Identification of oral bacteria as-associated with crevicular epithelial cells from chronic periodontitis lesions.* *J. Med. Microbiol.* 2006, 55, 609–615.
84. A. D. Haffajee, S. S. Socransky, M. R. Patel, X Song, *Microbial complexes in suprag-ingival plaque.* *Oral Microbiol. Immunol.* 2008, 23, 196–205.
85. M. Nędzi-Góra, J. Kowalski, J. Krajewski, R. Górska, *Microbiological analysis of deep periodontal pockets in people with chronic periodontitis by PCR.* *Stomatol. J.* 2007, 11, 717–725.
86. C. J. Smiley, S. L. Tracy, E. Abt, B. S. Michalowicz, M. T. John, J. Gunsolley, C. M. Cobb, J. Rossmann, S. K. Harrel, J. L. Forrest, et al. *Evidence-based clinical practice guideline on the nonsurgical treatment of chronic periodontitis by means of scaling and root planing with or without adjuncts.* *J. Am. Dent. Assoc.* 2015, 146, 525–535.
87. S. Paik, L. Senty, S. Das, J. C. Noe, C. L. Munro, T. Kitten, *Identification of Virulence Determinants for Endocarditis in Streptococcus sanguinis by Signature-Tagged Mutagenesis.* *Infect. Immun.* 2005, 73, 6064–6074.
88. E. K. Kaye, A. Valencia, N. Baba, A. Spiro, T. Dietrich, R. I. Garcia, *Tooth loss and periodontal disease predict poor cognitive function in older men.* *J. Am. Geriatr. Soc.* 2010, 58, 713–718.

89. S. S. Socransky, A. D. Haffajee, M. A. Cugini, C. Smith, R. L. Kent, Jr. *Microbial complexes in sub-gingival plaque*. J. Clin. Periodontol. 1998, 25, 134–144.
90. S. S. Socransky, A. D. Haffajee, *Periodontal microbial ecology*. Periodontology 2005, 38, 135–187.
91. A. L. Servin, *Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against micro-bial pathogens*. FEMS Microbiol. Rev. 2004, 28, 405–440.
92. M. N. Sela, *Role of Treponema denticola in periodontal diseases*. Crit. Rev. Oral Biol. Med. 2001, 12, 399–413.
93. A. D. Haffajee, R. P. Teles, S. S. Socransky, *The effect of periodontal therapy on the composition of the subgingival microbiota*. Periodontology 2000, 42, 219–258.
94. C. W. Cutler, J. R. Kalmar, C. A. Genco, *Pathogenic strategies of the oral anaerobe Porhyromonas gingivalis*. Trends Microbiol. 1995, 3, 45–51.
95. B. A. Neville, P. W. O’Toole, *Probiotic properties of Lactobacillus salivarius and closely related Lactobacillus species*. Future Microbiol. 2010, 5, 759–774.
96. P. Pidutti, F. Federici, J. Brandi, L. Manna, E. Rizzi, U. Marini, D. Cecconi, *Purification and characterization of ribosomal proteins L27 and L30 having antimicrobial activity produced by the Lactobacillus salivarius SGL 03*. J. Appl. Microbiol. 2018, 124, 398–407.
97. L. Sbordone, M. DiGenio, C. Bortolaia, *Bacterial virulence in the etiology of peri-odontal diseases*. Minerva Stomatol. 2000, 49, 485–500.
98. H. Shimauchi, G. Mayanagi, S. Nakaya, M. Minamibuchi, Y. Ito, K. Yamaki, H. Hirata, *Improvement of periodontal condition by probiotics with Lactobacillus salivarius WB21: A randomized, double-blind, placebo-controlled study*. J Clin Periodontol. 2008 Oct;35(10):897-905.
99. Z. Jańczuk, *Practical clinical periodontology*, ISBN 83-85700-42-0, ed. Kwintesencja, Warsaw 2004.
100. Z. Jańczuk, *Manual for dental assistants and hygienists*, ISBN 978-83-200-4371-6, ed. PZWL, Warsaw 2011.

101. A. Mielczarek, R. Kowalik, M. Najman, eds., *Manual for dental assistants and hygienists*, ISBN 978-83-200-5388-3, ed. PZWL, Warsaw 2018.
102. M. Kucia, E. Wietrak, M. Szymczak, P. Kowalczyk, *Efect of LigiLactobacillus salivarius and Other Natural Components against Anaerobic Periodontal Bacteria*. *Molecules* 2020, 25, 4519.
103. F. Sanger, S. Nicklen, A. R. Coulson, AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1977, 74. 12, s. 5463–5467.
104. G. Mayanagi, M. Kimura, S. Nakaya, H. Hirata, M. Sakamoto, Y. Benno, H. Shimauchi, *Probiotic effects of orally administered Lactobacillus salivarius WB21-containing tablets on periodontopathic bacteria: A double-blinded, placebo-controlled, randomized clinical trial*. *J. Clin. Peridontol.* 2009, 36, 506–513.
105. B. Lubecka, M. Lubecki, R. Pudlo, K. Czuma „Dopalacze” — co wiemy o nowych substancjach psychoaktywnych? Katedra i Oddział Kliniczny Psychiatrii, Wielospecjalistyczny Szpital Powiatowy w Tarnowskich Górach
106. Z. Sroka, A. Gamian, W. Cisowski: *Niskocząsteczkowe związki przeciwutleniające pochodzenia naturalnego*. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2005.
107. J. Kopcewicz, S. Lewak: *Fizjologia roślin*. PWN, W-wa, 2002.
108. I. Rowińska-Bojanowska, *Skaling, ręczne usuwanie kamienia, narzędzia i sposoby*, *Asystentka i higienistka stomatologiczna, AS Media nr 2 (10) 2008, ISSN 1895-6920, str.8-13.*
109. I. Rowińska-Bojanowska, *Jak wyedukować pacjenta w zakresie higieny jamy ustnej cz. I*, *Asystentka i higienistka stomatologiczna, AS Media nr 3 (11) 2008, ISSN 1895-6920, str.24-29*
110. I. Rowińska-Bojanowska, *Jak wyedukować pacjenta w zakresie higieny jamy ustnej cz. II*, *Asystentka i higienistka stomatologiczna, AS Media nr 4 (12) 2008, ISSN 1895-6920, str.2018 -2*
111. I. Rowińska-Bojanowska, *Jak wyedukować pacjenta w zakresie higieny jamy ustnej cz. III*, *Asystentka i higienistka stomatologiczna, AS Media nr 2 (14) 2009, ISSN 1895-6920, str.20 -27*

112. I. Rowińska-Bojanowska, *Jak wyedukować pacjenta w zakresie higieny jamy ustnej cz. IV*, Asystentka i higienistka stomatologiczna, AS Media nr 3 (15) 2009, ISSN 1895-6920, str.26 -31
113. I. Rowińska-Bojanowska, *Oczyszczanie przestrzeni międzyzębowych nitką dentystyczną*, Asystentka i higienistka stomatologiczna, AS Media nr 3 (19) 2010, ISSN 1895-6920, str.112-116
114. I. Rowińska-Bojanowska, *Oczyszczanie przestrzeni międzyzębowych szczoteczką międzyzębową*, Asystentka i higienistka stomatologiczna, AS Media nr 2 (22) 2011, ISSN 1895-6920, str.12 -16
115. I. Rowińska-Bojanowska, *Oczyszczanie przestrzeni międzyzębowych nitką dentystyczną*, Asystentka i higienistka stomatologiczna, AS Media nr 4 (24) 2011, ISSN 1895-6920, str.22 -26
116. I. Rowińska-Bojanowska, *Dlaczego warto prowadzić gabinet profilaktyki dentystycznej*, Medical Maestro nr 4/2014, ISSN 2353-3560, str. 505-508.
117. I. Rowińska-Bojanowska, *Fizjologia a senior w gabinecie dentystycznym* ., Medical Maestro, nr 10/2015, ISSN 2353-3560, str. 1428-1430.
118. J. E. Brandle, A. N. Starratt, M. Gijzen, *Stevia rebaudiana: Its agricultural, biological, and chemical properties. Canadian Journal of Plant Science*” 78 (4), s. 527–536, 1998.
119. F. Sanger, A. R. Coulson, B. J. Barell, A. J. H. Smith, B. A. Roe, B.A. (1980) *Cloning in single stranded bacteriophage as an aid to rapid DNA sequencing*. J.Mol. Biol. 143: 161-178.
120. A. Borkowski, M. Szala, P. Kowalczyk, T. Cłapa, D. Narożna, M. Selwet, *Oxidative stress in bacteria (Pseudomonas putida) exposed to nanostructures of silicon carbide*. Chemosphere 135 (2015) 233–239.
121. J.Kowalski, *Pathogenicity of Aggregatibacter actinomycetemcomitans in the light of recent research*. Med. Dośw. Mikrobiol., 2018, 70: 129 – 137.
122. H. Witschi, I. Espiritu, D. Uyeminami, M. Suffia, K. E. Pinkerton, *Lung tumor response in strain A mice exposed to tobacco smoke: some dose-effect relationships*. Inhalation Toxicology. 2004;16(1):27–32.
123. B. Pawka, P. Dreher, J. Herda, i in. *Próchnica zębów u dzieci problemem społecznym*. Probl Hig Epidemiol 2010; 91, (1):5-7.

124. V. Machiulskiene, G. Campus, J. C. Carvalho, I. Dige, K. R. Ekstrand, A. Jablonski-Momeni, M. Maltz, D. J. Manton, S. Martignon, E. A. I. Martinez-Mier, N. B. Pitts, A. G. Schulte, C. H. Splieth, L. M. A. Tenuta, A. Ferreira Zandona, B. Nyvad, *Terminology of Dental Caries and Dental Caries Management: Consensus Report of a Workshop Organized by ORCA and Cariology Research Group of IADR*.
125. S. Fagarasan, T. Honjo, Intestinal IgA synthesis: *Regulation of front-line body defences*. Nat. Rev. Immunol. 2003, 3, 63–72.
126. G.R. Persson, R.E. Persson, Cardiovascular disease and periodontitis: *An update on the associations and risk*. J. Clin. Periodontol. 2008, 35 (Suppl. 8), 362–379.
127. M.D. Collins, S. Wallbanks, D.J. Lane, J. Shah, R. Nietupski, J. Smida, M. Dorsch, E. Stackebrandt, *Phylogenetic analysis of the genus Listeria based on reverse transcriptase sequencing of 16S rRNA*. Int. J. Syst. Bacteriol. 1991, 41, 240–246.
128. L. Fiorillo, G. Cervino, L. Laino, C. D'Amico, R. Mauceri, T.F. Tozum, M. Gaeta, M. Cicciù, Porphyromonas gingivalis, periodontal and systemic implications: *A systematic review*. Dent. J. 2019, 7, 114.
129. C. Luca, L.F. Laino, A.S. Herford, F. Lauritano, G.L. Giudice, F. Famà, R. Santoro, G. Troiano, G. Iannello, M. Cicciù, Oral health impact profile in celiac patients: *Analysis of recent findings in a literature review*. Gastroenterol. Res. Pract. 2018, 7848735.
130. Y. Guo, K.A. Nguyen, J. Potempa, Dichotomy of gingipains action as virulence factors: *From cleaving substrates with the precision of a surgeon's knife to a meat chopper-like brutal degradation of proteins*. Periodontology 2010, 54, 15–44.
131. R.P. Allaker, A.S. Stephen, *Use of Probiotics and Oral Health*. Curr. Oral Heal. Rep. 2017, 4, 309–318.
132. S. Yeo, S. Lee, H. Park, H. Shin, W. Holzapel, C.S. Huh, Development of putative probiotics as feed additives: *Validation in a porcine-specific gastrointestinal tract model*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 2016, 100, 10043–10054.
133. J. Banach, E. Dembowska, R. Górska, Z. Jańczuk, *Practical Clinical Periodontology*; Kwintesencja, Warsaw, Poland, 2004; ISBN83-85700-42-0.

134. L. Samaranayake, *Mikrobiologia dla stomatologów*, Elsevier, Wrocław,
2014, ISBN 978-83-7609-798-5.

8. Załączniki

Dokumentacja badań - spis

1. Ankieta potrzeb żywieniowych i higienicznych w jamie ustnej.
2. Ankieta wirusowa na Covid-19
3. Oświadczenie pacjenta 1 (zgoda na badania)
4. Umowa z badanym
5. Oświadczenie pacjenta 2 (dotyczące uzyskania dokumentacji medycznej)
6. Oświadczenie pacjenta 3 (dotyczące uzyskania informacji o zdrowiu i udzielonym świadczeniu)
7. Ankieta zdrowia (dotyczy stanu zdrowia pacjenta)
8. Karta zdrowia pacjenta
9. Wskazania dla uczestnika programu badań
10. Wskaźniki higieniczne i periodontologiczne

Załącznik.1. Ankieta potrzeb żywieniowych i higienicznych w jamie ustnej.

ANKIETA - anonimowa

POTRZEB ŻYWIENIOWYCH I HIGIENICZNYCH W JAMIE USTNEJ

1. Ile razy dziennie spożywasz posiłki?
 - a. 3x dziennie.
 - b. 4x dziennie.
 - c. 5x dziennie.
 - d. Częściej.
1. Ile razy dziennie spożywasz posiłki ciepłe?
 - a. 1x dziennie.
 - b. 2x dziennie.
 - c. 3x dziennie.
 - d. Częściej.
2. Ile razy dziennie spożywasz węglowodany?
 - a. 1x dziennie.
 - b. 2x dziennie.
 - c. 3x dziennie.
 - d. Częściej.
3. Ile razy dziennie spożywasz białka?
 - a. 1x dziennie.
 - b. 2x dziennie.
 - c. 3x dziennie.
 - d. Częściej.
4. Ile razy dziennie spożywasz tłuszcze?
 - a. 1x dziennie.
 - b. 2x dziennie.
 - c. 3x dziennie.
 - d. Częściej.
5. Ile razy dziennie spożywasz warzywa?
 - a. 1x dziennie.
 - b. 2x dziennie.
 - c. 3x dziennie.
 - d. Częściej.
6. Ile razy dziennie spożywasz owoce?
 - a. 1x dziennie.
 - b. 2x dziennie.
 - c. 3x dziennie.
 - d. Częściej.
7. Ile razy dziennie spożywasz słodkie przekąski?
 - a. 1x dziennie.
 - b. 2x dziennie.

- c. 3x dziennie.
 - d. Częściej.
8. Ile wody wypijasz dziennie?
- a. 1 litr dziennie.
 - b. 1,5 litra dziennie.
 - c. 2 litry dziennie.
 - d. Więcej.
9. Ile płynów spożywasz dziennie?
- e. 1 litr dziennie.
 - f. 1,5 litra dziennie.
 - g. 2 litry dziennie.
 - a. Więcej.
10. Ile razy w tygodniu myjesz zęby?
- a. Codziennie.
 - b. 4 - 5x w tygodniu.
 - c. 2 - 3x w tygodniu.
 - d. Rzadziej.
11. Ile razy dziennie myjesz zęby?
- a. 1x dziennie.
 - b. 2x dziennie.
 - c. 3x dziennie.
 - d. Częściej.
12. Jakiej szczoteczki używasz do domowej higieny jamy ustnej?
- a. sonicznej.
 - b. manualnej.
 - c. obrotowej - pulsacyjno-rotacyjnej.
13. Które dodatkowe akcesoria używasz do domowej higieny jamy ustnej?
- a. szczoteczki międzyzębowe.
 - b. szczoteczkę pęczkową.
 - c. nitkę dentystyczną.
 - d. irygator.
14. Ile razy dziennie używasz do domowej/codziennnej higieny jamy ustnej płukanek?
- a. 1x dziennie.
 - b. 2x dziennie.
 - c. 3x dziennie.
 - d. Nie używam.
15. Po jakim czasie po posiłku myjesz zęby?
- a. Do 15 min.
 - b. Od 15 - 30 min.
 - c. Od 30 -60 min.
 - d. Różnie.

Uwaga

Zaznacz wybraną przez Ciebie odpowiedź kółeczkiem/krzyżykiem, w pyt.14 może być więcej niż jedna odpowiedź.

DZIĘKUJĘ za wypełnienie ankiety.

Załącznik 2. Ankieta wirusowa na Covid-19.

ABY ZMNIJSZYĆ RYZYKO ROZPRZESTRZENIANIA SIĘ KORONAWIRUSA, PROSIMY O ZAZNACZENIE ODPOWIEDZI ZGODNIE ZE STANEM FAKTYCZNYM				
IMIĘ I NAZWISKO:	DATA:			
PESEL:	NR TEL.:			
Czy w przeciągu kilku ostatnich dni wystąpiły u Pana/Pani:	Prosimy wstawić znak X			
Gorączka powyżej 38°C	TAK	<input type="checkbox"/>	NIE	<input type="checkbox"/>
Kaszel	TAK	<input type="checkbox"/>	NIE	<input type="checkbox"/>
Katar	TAK	<input type="checkbox"/>	NIE	<input type="checkbox"/>
Uczucie duszności – trudności w nabraniu powietrza	TAK	<input type="checkbox"/>	NIE	<input type="checkbox"/>
Czy miał/a Pan/i bliski kontakt z osobą, u której stwierdzono zakażenie koronawirusem (kontakt z przypadkiem potwierdzonym lub przypadkiem prawdopodobnym)?	TAK	<input type="checkbox"/>	NIE	<input type="checkbox"/>
Czy w okresie ostatnich dwóch tygodni przebywał/a Pan/i w rejonach transmisji koronowirusa?	TAK	<input type="checkbox"/>	NIE	<input type="checkbox"/>
Czy miał/a Pan/i bliski kontakt z osobą, która w przeciągu dwóch ostatnich tygodni podróżowała/przebywała w regionie, w którym potwierdzono przypadki koronowirusa?	TAK	<input type="checkbox"/>	NIE	<input type="checkbox"/>
Czy pracował/a Pan/i lub przebywał/a jako odwiedzający w jednostce opieki zdrowotnej, w której leczono pacjentów zakażonych koronawirusem?	TAK	<input type="checkbox"/>	NIE	<input type="checkbox"/>
Czy miał/a Pan/i w ciągu ostatnich dwóch tygodni bezpośredni kontakt z osobami mającymi objawy przeziębienia, grypy lub duszności?	TAK	<input type="checkbox"/>	NIE	<input type="checkbox"/>
Czy stwierdzono u Pana/i zarażenie koronawirusem	TAK	<input type="checkbox"/>	NIE	<input type="checkbox"/>
Czy został/a na Pana/Panią nałożona kwarantanna?	TAK	<input type="checkbox"/>	NIE	<input type="checkbox"/>
Czy przechodził/a Pan/i badanie genetyczne RealTime PCR (wymaz z gardła) wynik do 48h	TAK	<input type="checkbox"/>	NIE	<input type="checkbox"/>
Czy przechodził/a Pan/i badanie przesiewowe jakościowe (krew włośniczkowa) wynik w 15	TAK	<input type="checkbox"/>	NIE	<input type="checkbox"/>

min				
Czy przechodził/a Pan/i badanie ilościowe na przeciwciała klasy IgA lub IgG (krew obwodowa) wynik do 72h	TAK		NIE	
Czy przechodził/a Pan/i badanie ilościowe na przeciwciała klasy IgA lub IgG (krew obwodowa) wynik do 72h	TAK		NIE	
PO ZAPOZNANIU SIĘ Z POWYŻSZĄ ANKIETĄ PRZEZ LBADAJĄCEGO, DZISIEJSZA WIZYTA MOŻE ZOSTAĆ ODRO CZONA, Z UWAGI NA BEZPIECZEŃSTWO INNYCH PACJENTÓW I PERSONELU MEDYCZNEGO				
Czytelny podpis Pacjenta:				
Podpis Badającego:				

Załącznik 3. Oświadczenie pacjenta 1. (zgoda na badania)

Data,

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że wyrażam zgodę na przeprowadzenie badania, o którym mowa w § 1 umowy z dnia oraz poddanie moich wyników pod analizę.

.....

Załącznik 4. Umowa z badanym.

UMOWA

Umowa zawarta w dniu w

..... pomiędzy:

1.
legitymującą się dowodem osobistym nr, PESEL
....., zamieszkałą:
.....
.....
....., zwaną w dalszej części umowy „Badającą”, a
2.
legitymującą/ym się dowodem osobistym nr, PESEL
.....,
zamieszkałą/ym:.....
.....
....., zwaną/ym w dalszej części umowy
„Pacjentem”.

§ 1.

1. Przedmiotem niniejszej umowy jest wykonanie przez Badającą, po uprzednim uzyskaniu stosownej zgody (stanowiącej załącznik numer 1 do umowy), badań diagnostycznych na dwudziestoosobowej grupie Pacjentów (przedział - lat), które to polegać będą na poddaniu się przez każdego z Pacjentów, w ciągu sześciu następujących po sobie dni, jednej z czterech diet opisanych w ust. 2., a następnie umożliwienie Badającej przeprowadzenie pomiarów diagnostycznych w zakresie higieny jamy ustnej i przyzębia oraz nieinwazyjnego pobrania śliny do badania mikrobiologicznego celem dokonania późniejszej ich analizy i wykorzystania w pracy naukowej pt.: „Wpływ diety tradycyjnej na tworzenie się stresu oksydacyjnego i stanów zapalnych indukowanych biofilmem bakteryjnym w jamie ustnej”.

2. Dwudziestoosobową grupę Pacjentów, o których mowa w ust. 1, Badająca podzieli w sposób dowolny na kolejne cztery podgrupy, a następnie każdej z podgrup przypisana zostanie jedna z następujących diet:

- a. Dieta składająca się głównie z produktów typu fast food
- b. Dieta polegająca na zakończeniu każdego z posiłków produktem białkowym
- c. Dieta polegająca na zakończeniu każdego z posiłków warzywami
- d. Dieta polegająca na zakończeniu każdego z posiłków produktami zawierającymi kwasy omega-3

3. W zamian za wyrażenie zgody na poddanie się diecie oraz późniejszym badaniom, Badająca oferuje każdemu z Pacjentów darmową usługę polegającą na usunięciu kamienia nazębnego.

4. Badania, o których mowa w ust. 1., odbędą się w Medyczo-Społecznym Centrum Kształcenia Zawodowego i Ustawicznego w Toruniu.

§ 2.

1. Badająca oświadcza, że dysponuje potrzebną wiedzą, doświadczeniem, zapleczem naukowym oraz należyтыми instrumentami do przeprowadzenia badań objętych niniejszą umową w warunkach bezpiecznych i sterylnych.

2. Badająca zobowiązuje się do udostępnienia wszelkich niezbędnych, do należytego wykonania umowy, dokumentów znajdujących się w jej posiadaniu oraz do udzielenia Pacjentom wszelkich niezbędnych wyjaśnień dotyczących przeprowadzanych badań.

3. Badająca oświadcza, iż opisane powyżej badania będą przeprowadzone nieodpłatnie, a ich wyniki wykorzystane zostaną jedynie do opracowania materiału naukowego.

§ 3.

1. Do Badającej należy dostarczenie do laboratorium niezbędnych próbek oraz ich zabezpieczenie w sposób zgodny z obowiązującymi przepisami.

2. Badająca oświadcza, iż każda z wykorzystanych próbek (tj. każda próbka zawierająca pobrany materiał diagnostyczny) zostanie w prawidłowy sposób opisana (tzn. zawierać będzie

.....
.....) oraz wykorzystana zostanie jedynie do celów naukowych.

§ 4.

Badająca zobowiązuje się do przeprowadzenia badań w terminie

§ 5.

1. Badająca oświadcza, iż badania i wyniki nie będą udostępniane osobom trzecim, a służyć jej będą tylko do celów naukowych.
2. Badająca wyraża zgodę na udostępnienie i wydanie dokumentacji Pacjentowi, który poddał się danej diecie i badaniom.
3. Badająca zapewnia Pacjentowi pełną anonimowość, w pracy naukowej nie będzie posługiwała się danymi osobowymi zaś wyniki opíše w grupach wiekowych.
4. Po wykonaniu badań Badająca zastrzega sobie prawo do pozostawienia materiału w celach naukowo-badawczych oraz wykorzystywania wyników badań do anonimowych opracowań naukowych, a Pacjent wyraża na to zgodę.
5. Badająca zobowiązuje się do niedokonywania żadnych zmian w otrzymanych wynikach oraz do ich powielania.

§ 6.

1. Pacjenci wyrażają zgodę na założenie, przed przystąpieniem do wykonywania niniejszej umowy, karty oraz ankiety zdrowia, które to dokumenty stworzone zostaną wyłącznie na potrzeby Badającej, zaś osoby nie będące stronami niniejszej umowy nie będą miały do niej wglądu.
2. Pacjent wyraża zgodę na wykonanie pomiarów diagnostycznych w zakresie higieny jamy ustnej i przyzębia oraz na nieinwazyjne pobranie śliny do badania mikrobiologicznego.
3. Ponadto Pacjent wyraża zgodę na stosowanie diety i zgłaszanie się na wizyty w wyznaczonym przez Badającą i uzgodnionym z Pacjentem, terminie.

§ 7.

1. Pacjent ma prawo odstąpić od umowy w sytuacji pogorszenia stanu zdrowia lub samopoczucia z powodu przypisanej mu diety po uprzednim zgłoszeniu i opisanu powstałych dolegliwości Badającej.
2. Pacjent ma prawo odstąpienia od umowy w przypadku gdy poweźmie informację, że Badająca, bez wcześniejszego poinformowania i uzyskania zgody Pacjenta, udostępniła lub udostępniła jego dane osobowe lub wyniki przeprowadzonych badań osobom trzecim.

§ 8.

Badająca ma prawo odstąpić od umowy gdy straci kontakt z Pacjentem bądź poweźmie informację, że Pacjent przekazuje fałszywe dane dotyczące się przydzielonej mu diety i stanu zdrowia, samopoczucia, albo, gdy po przejściu diety odmówi pobrania od niego materiału.

§ 9.

1. Administratorem danych osobowych Pacjenta w zakresie związanym z realizacją niniejszej umowy jest zgodnie z ustawą z dnia 10 maja 2018 roku o ochronie danych osobowych (Dz. U. z 2019, poz. 1781) oraz zgodnie z Rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE (RODO), zamieszkała:

.....
.....
.....
.....

2. Dane osobowe Pacjenta będą przetwarzane zgodnie z obowiązującymi przepisami prawa w celu realizacji niniejszej umowy.

3. Dane osobowe Pacjenta będą przechowywane przez okres niezbędny do realizacji niniejszej umowy, a po tym czasie przez okres oraz w zakresie wymaganym przez przepisy powszechnie obowiązującego prawa.

4. Dane osobowe Pacjenta będą udostępniane wyłącznie podmiotom upoważnionym na podstawie przepisów prawa.

5. Pacjent posiada prawo dostępu do swoich danych osobowych oraz ich poprawienia.

6. Podanie danych w zakresie niezbędnym do realizacji umowy jest dobrowolne lecz niezbędne do wykonania umowy i jej zawarcia zgodnie z obowiązującymi przepisami prawa.

§ 10.

W sprawach nie uregulowanych niniejszą umową zastosowanie mają przepisy Kodeksu cywilnego.

§ 11.

Zmiana niniejszej umowy wymaga formy pisemnej pod rygorem nieważności.

§ 12.

Umowę sporządzono w dwóch jednobrzmiących egzemplarzach, po jednym dla każdej ze stron.

Załączniki do umowy:

1. Oświadczenie Pacjenta o wyrażeniu zgody na badanie i poddanie wyników pod analizę.

BADAJĄCY

.....

PACJENT

.....

Załącznik 8. Karta zdrowia pacjenta

KARTA CHOROBY PORADNI STOMATOLOGICZNEJ

Imię i nazwisko
Data zarejestr.
Nr dokumentu uprawnionego
do świadczeń

pieczęćka poradni

Nazwisko	Imię	Płeć M. 2. ♀
Data urodzenia	Adres	
Miejsce pracy	Zawód wykonywany	
<input type="checkbox"/> Ubezpieczony*)	<input type="checkbox"/> Nieubezpieczony*)	Symbol grupy produkcji i usług <input type="text"/>

Stan jamy ustnej

Błona śluzowa

Przyzębie

Higiena

Informacje uzupełniające (dot. Stanu szkliva, zaburzeń ortodontycznych
i inne)

8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8
8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8

V	IV	III	II	I	I	II	III	IV	V
V	IV	III	II	I	I	II	III	IV	V

Znakowanie zębów

0 - brak zębów
1 - brak zęba
2 - korona protetyczna
3 - korona metalowa
4 - zęby

5 - przesłonięty
6 - zęby nieleczone
7 - zęby ortodont.
8 - wyschnięte

Podczas leczenia na diagramie nie wolno dokonywać żadnych zmian. Jeżeli pacjent zgłasza się po przerwie i stwierdzono nowe ubytki, należy wypełnić nowy diagram zębowy.

Pięczętkę diagramu zębowego należy przyłożyć w rubrykach stanowiących dalszy ciąg diagramu.

*) niepotrzebne skreślić

Pieczęćka poradni

Data	Ząb	Rozpoznanie	Zabiegi, leki, zalecenia i skierowania do poradni specjalistycznych, niezdolność do pracy*	Podpis lekarza
1	2	3	4	5

*) W przypadku stwierdzenia niezdolności do pracy należy dodać w rubryce 3 dokładne objawy chorego, wyniki badań fizykalnych i badań dodatkowych.

WSKAZANIA DLA UCZESTNIKA

BADANIA NAUKOWEGO

Wprowadzenie do programu badań

- proszę przez 3 dni przed wizytą:
 - stosować standardową dla siebie higienę jamy ustnej - nie zmieniać nawyków higienicznych
 - spożywać posiłki złożone głównie z produktów z zalecanej diety, a przynajmniej każdy posiłek zakończyć produktem z zalecanej diety
- w trzecim dniu diety spotykamy się w gabinecie w MSCKZiU w Toruniu
 - wypełnienie dokumentacji
 - pobranie śliny na szalki stazą (pobranie nieinwazyjne - bez naruszenia ciągłości tkanek)
 - wykonanie pomiarów higienicznych i periodontologicznych
 - usunięcie kamienia nazębnego
- proszę kontynuować zaleconą dietę przez kolejne 3 dni (tj. wcześniej)
- po 3 dniach pobranie śliny na szalki stazą (pobranie nieinwazyjne - bez naruszenia ciągłości tkanek)

Dieta **F**

Tradycyjne posiłki, zawierające białka, węglowodany - cukry, tłuszcze, warzywa

WSKAZANIA DLA UCZESTNIKA

BADANIA NAUKOWEGO

Wprowadzenie do programu badań

- proszę przez 3 dni przed wizytą:
 - stosować standardową dla siebie higienę jamy ustnej - nie zmieniać nawyków higienicznych
 - spożywać posiłki złożone głównie z produktów z zalecanej diety, a przynajmniej każdy posiłek zakończyć produktem z zalecanej diety
- w trzecim dniu diety spotykamy się w gabinecie w MSCKZiU w Toruniu
 - wypełnienie dokumentacji

- pobranie śliny na szalki stazą (pobranie nieinwazyjne - bez naruszenia ciągłości tkanek)
- wykonanie pomiarów higienicznych i periodontologicznych
- usunięcie kamienia nazębnego
- proszę kontynuować zaleconą dietę przez kolejne 3 dni (tj. wcześniej)
- po 3 dniach pobranie śliny na szalki stazą (pobranie nieinwazyjne - bez naruszenia ciągłości tkanek)

Dieta B

- Ukierunkowana głównie na produkty białkowe
- można spożywać również inne pokarmy, ale każdy posiłek należy kończyć produktem białkowym bez cukru, np. kefirem, jogurtem, serem żółtym lub białym itp...

WSKAZANIA DLA UCZESTNIKA

BADANIA NAUKOWEGO

Wprowadzenie do programu badań

- proszę przez 3 dni przed wizytą:
 - stosować standardową dla siebie higienę jamy ustnej - nie zmieniać nawyków higienicznych
 - spożywać posiłki złożone głównie z produktów z zaleconej diety, a przynajmniej każdy posiłek zakończyć produktem z zaleconej diety
- w trzecim dniu diety spotykamy się w gabinecie w MSCKZiU w Toruniu
 - wypełnienie dokumentacji
 - pobranie śliny na szalki stazą (pobranie nieinwazyjne - bez naruszenia ciągłości tkanek)
 - wykonanie pomiarów higienicznych i periodontologicznych
 - usunięcie kamienia nazębnego
- proszę kontynuować zaleconą dietę przez kolejne 3 dni (tj. wcześniej)
- po 3 dniach pobranie śliny na szalki stazą (pobranie nieinwazyjne - bez naruszenia ciągłości tkanek)

Dieta W

- Ukierunkowana głównie na warzywa
- można spożywać również inne pokarmy, ale każdy posiłek należy kończyć warzywami, np. rzodkiewka, rzeżucha, kapusta jarmuż, brokuły, kalarepa, itp....

WSKAZANIA DLA UCZESTNIKA

BADANIA NAUKOWEGO

Wprowadzenie do programu badań

- proszę przez 3 dni przed wizytą:
 - stosować standardową dla siebie higienę jamy ustnej - nie zmieniać nawyków higienicznych
 - spożywać posiłki złożone głównie z produktów z zalecanej diety, a przynajmniej każdy posiłek zakończyć produktem z zalecanej diety
- w trzecim dniu diety spotykamy się w gabinecie w MSCKZiU w Toruniu
 - wypełnienie dokumentacji
 - pobranie śliny na szalki stazą (pobranie nieinwazyjne - bez naruszenia ciągłości tkanek)
 - wykonanie pomiarów higienicznych i periodontologicznych
 - usunięcie kamienia nazębnego
- proszę kontynuować zaleconą dietę przez kolejne 3 dni (tj. wcześniej)
- po 3 dniach pobranie śliny na szalki stazą (pobranie nieinwazyjne - bez naruszenia ciągłości tkanek)

Dieta **T**

- Ukierunkowana głównie na pokarmy zawierające tłuszcze Omega-3
- można spożywać również inne pokarmy, ale każdy posiłek należy kończyć pokarmem zawierającym tłuszcze Omega-3, np. ryby – szczególnie łosoś, śledź, makreła, sardynki, owoce morza, sushi, olej rzepakowy, siemię lniane, olej sojowy, produkty sojowe, orzechy, migdały, pestki dyni

Załącznik 10. Wskaźniki higieniczne i periodontologiczne

Wskaźniki tabel:

fuksynowy

powierzchnia	zęby						suma	wskaźnik
	11	14	16	31	34	36		
	ocena							
Powierzchnie policzkowe (p)							p =	
Powierzchnie językowe (j)							j =	

PLI

powierzchnia	Badanie dotyczy sześciu zębów					
	16	12	24	36	32	44
Policzkowa						
Językowa						
Mezjalna						
Dystalna						
Suma						

OHI

powierzchnia	Badanie dotyczy sześciu zębów						suma
	16	11	26	36	31	46	
	ocena						
Wskaźnik nalotu (DI)							
Wskaźnik kamienia (KI)							

