

Porównanie mikrobójczych właściwości haloamin tauryny
i chlorheksydyny wobec wybranych drobnoustrojów mikrobiomu jamy
ustnej

Efficacy of taurine haloamines and chlorhexidine against selected oral
microbiome species

Ewa Pasich¹, Anna Bialecka², Janusz Marcinkiewicz³

¹Prywatna Praktyka Stomatologiczna, Andrychów

²Centrum Badań Mikrobiologicznych i Autoszczepionek im. Jana Bobra w Krakowie

³Katedra Immunologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

Głównym celem badań było porównanie mikrobójczych właściwości chlorheksydyny (CHX), najczęściej używanego antyseptyku w stomatologii, z właściwościami chloraminy tauryny (TauCl) i bromaminy tauryny (TauBr). TauCl i TauBr są produktami reakcji tauryny i kwasu podchlorawego (HOCl) o działaniu antybakteryjnym i przeciwzapalnym. Badania przeprowadzono *in vitro* na reprezentatywnych drobnoustrojach mikrobiomu jamy ustnej (*Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Candida albicans*). Wykazano, że najlepszy efekt antybakteryjny daje CHX oraz połączenie CHX i TauBr w środowisku bez surowicy.

Słowa kluczowe: chloramina tauryny, bromamina tauryny, chlorheksydyna, *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Candida albicans*, płytka nazębna

ABSTRACT

Introduction: Uncontrolled bacteria of dental plaque generate formation of oral biofilm located on teeth and subgingival surfaces. It may induce local inflammation (gingivitis) with further development of periodontal diseases. A variety of oral bacteria such as *Streptococcus mutans* and *Porphyromonas gingivalis* are involved in pathogenesis of dental carries and periodontitis. Very often bacterial infections are associated with candidiasis (*Candida albicans*). Chlorhexidine (CHX) is the most commonly used antiseptic in dentistry due to its strong antibacterial activity and capacity to reduce the accumulation of oral biofilms. However, other antiseptics, especially endodontic irrigants, are still tested to improve their preventive and therapeutic effects in oral cavity infections. In this *in vitro* study we

have compared antimicrobial activity of CHX with that of taurine chloramine (TauCl) and taurine bromamine (TauBr), natural taurine derivatives with known antibacterial and anti-inflammatory properties.

Methods: Antimicrobial activity of CHX, TauCl and TauBr was tested by incubation of the compounds with *S. mutans*, *P. gingivalis* and *C. albicans*. The agents were incubated in low (10^5 /ml) and high (10^8 /ml) density microbe suspensions, related to early and late biofilm infections, respectively. In some experiments bacteria were incubated with a combination of CHX + NaOCl and CHX + TauBr. MIC was determined by the pour-plate method.

Results: CHX showed the strongest antimicrobial activity against all tested pathogens. On the contrary, TauCl was the weakest antiseptics used without effect on the growth of *C. albicans*. TauBr at non-cytotoxic concentrations inhibited the growth of *S. mutans* and *P. gingivalis* with slight effect on the low density *C. albicans*. All tested agents showed weaker antiseptic properties in the presence of serum. Moreover, we have shown that interactions between CHX and sodium hypochlorite (NaOCl), the main endodontic irrigant, but not between CHX and TauBr, resulted in precipitation. Therefore, it may restrict their simultaneous application in root canal treatment. However, in spite of this unwanted reaction, the mixture of CHX with NaOCl kills pathogens more effectively than CHX alone.

Conclusions: The results confirmed CHX exceptional potential as primary antiseptic in dentistry, especially in prevention and treatment of dental caries, periodontal diseases and mouth candidiasis. Moreover, our study shows that TauBr may be used alternatively or in combination with CHX in killing of oral pathogens, due to its strong antibacterial and anti-inflammatory properties.

Key words: *taurine chloramine, taurine bromamine, chlorhexidine, Streptococcus mutans, Porphyromonas gingivalis, Candida albicans, dental plaque*

WSTĘP

Chlorheksydyna (CHX) ze względu na silne właściwości bakteriobójcze i bakteriostatyczne jest jednym z najczęściej stosowanych antyseptyków w stomatologii. CHX jest „złotym środkiem” w terapii miejscowej chorób przyzębia. Znalazła zastosowanie w eliminacji bakterii tworzących płytkę nazębną (profilaktyka próchnicy), jak i w leczeniu kandydozy jamy ustnej (10,15). Jest również powszechnie używana w leczeniu endodontycznym do płukania kanałów zębowych (6). Chociaż CHX wydaje się być doskonałym antyseptykiem to jednak nadal poszukuje się substancji, które w połączeniu z CHX dałyby lepszy efekt terapeutyczny (4,8,11).

W licznych badaniach *in vitro* wykazano, że tauryna, wolny aminokwas siarkowy, reaguje z HOCl/NaOCl (OCl⁻) tworząc chloraminę tauryny (TauCl) (25). Uprzednio wykazano, że TauCl jak i również inna haloamina tauryny, bromamina tauryny (TauBr), wykazuje w stężeniach niecytotoksycznych właściwości zarówno przeciwbakteryjne i przeciwzapalne (17,18,22). Ponadto, w badaniach *in vitro* i we wstępnych próbach klinicznych wykazaliśmy, że TauBr hamuje tworzenie biofilmu bakteryjnego. Wyniki naszych badań sugerują, że TauBr może być stosowana lokalnie w zakażeniach związanych z biofilmem (16,19,20). Powstaje

pytanie, czy haloaminy tauryny mogą znaleźć zastosowanie w stomatologii, jako antyseptyki i leki przeciwzapalne wspomagające lub zastępujące działanie CHX. Konieczne jest zatem porównanie zdolności TauCl, TauBr i CHX zabijania bakterii biofilmu jamy ustnej.

Głównym celem prezentowanej pracy było porównanie mikrobójczych właściwości CHX z właściwościami TauCl i TauBr wobec *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis* i *Candida albicans*, reprezentatywnych drobnoustrojów odpowiedzialnych za tworzenie płytki nazębnej i za stany zapalne jamy ustnej. Ponadto sprawdziliśmy, czy podchloryn sodu (NaOCl/OCl⁻), antyseptyk powszechnie stosowany w endodoncji razem z CHX, można zastąpić TauBr w celu uniknięcia niepożądanych reakcji pomiędzy CHX i OCl⁻ (24).

MATERIAŁ I METODY

Przygotowanie roztworów substancji bakteriobójczych. Do badań przygotowano: 1% (10 mg/ml) roztwór glukonianu chlorheksydyny (CHX) (Sigma-Aldrich), 1% (10 mg/ml) roztwór podchlorynu sodu (NaOCl) (Sigma –Aldrich), 0,2% (11 mM) roztwór bromaminy tauryny (TauBr) oraz 0,18% (10 mM) roztwór chloraminy tauryny (TauCl). Roztwory TauCl i TauBr przygotowano według procedury stosowanej w Katedrze Immunologii UJ CM (7,17). Przeprowadzono również badania aktywności bakteriobójczej mieszaniny CHX z NaOCl, TauBr i TauCl.

Przygotowanie szczepów bakteryjnych. Do badań użyto szczepów z kolekcji wzorcowych szczepów *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, *Candida albicans* ATCC 90029. Szczepy bakteryjne przechowywane w stanie zamrożenia w temperaturze -70°C w mikrobankach, przed przystąpieniem do badań posiewano na podłoża stałe i inkubowano w odpowiednich warunkach. Szczep *Streptococcus mutans* posiewano na podłoże Tryptic Soy Agar + 5% krwi baraniej i inkubowano 72 godziny w temp. 37°C w obecności 5% CO₂. Szczep *Porphyromonas gingivalis* posiewano na podłoże Scheadler Agar z dodatkiem heminy i witaminy K3 i inkubowano w warunkach beztlenowych przez 7 dni. Szczep *Candida albicans* posiewano na podłoże Sabourauda Agar i inkubowano w temp. 37°C przez 48 godzin.

Określenie mikrobójczego działania CHX, TauBr, TauCl i NaOCl. Bezpośrednio przed rozpoczęciem badania z hodowli na podłożach stałych przygotowywano zawiesinę drobnoustrojów o gęstości 10⁵ CFU/ml i 10⁸ CFU/ml. Objętość zawiesiny wynosiła 100 µl. Szczepy *S. mutans*, *P. gingivalis* i *C. albicans* inkubowano w zamkniętych próbkach z różnymi stężeniami substancji badanych. Zakres stężeń badanych związków wynosił: 1 - 2×10⁻⁵ % dla CHX, 2×10⁻¹ – 1×10⁻⁵ % dla TauBr i TauCl oraz 1 - 1×10⁻⁵ % dla NaOCl.

Do badań wykorzystywano rozcieńczenia połówkowe (w postępie arytmetycznym) badanych substancji w 0,9 % NaCl lub w obecności 25% surowicy ludzkiej w 0,9 % NaCl. Inkubację prowadzono w temp 37°C przez 1 godzinę, po zakończeniu inkubacji bakterie posiewano na podłoża stałe, pobierając z każdej próbki po dokładnym wymieszanu 100 µl zawiesiny. Dla szczepu *S. mutans* stosowano podłoże Tryptic Soy Agar + 5 % odwłóknionej krwi baraniej, hodowle inkubowano przez 48 godziny w temp 37°C, w warunkach zwiększonego CO₂ (5%). Dla *P. gingivalis* stosowano podłoże Scheadler Agar + 5% krwi baraniej, inkubację prowadzono przez 5 dni w warunkach beztlenowych w temperaturze

37°C. Dla *C. albicans* stosowano podłoże Sabourauda Agar, inkubacje prowadzono przez 48 godzin w warunkach tlenowych w temperaturze 37°C.

Po zakończeniu inkubacji liczono liczbę kolonii, uwzględniając rozcieńczenie i porównując z kontrolą. Przygotowując kontrole wzrostu postępowano jak w przypadku próbek badanych, nie dodając substancji przeciwbakteryjnej. Badania w układzie kontrolnym i badawczym przeprowadzono 3-krotnie dla każdego modelu badawczego.

Działanie mikrobójcze badanych substancji określono jako MIC (*ang.* minimal inhibitory concentration), najmniejsze stężenie środka bakteriobójczego całkowicie hamujące wzrost drobnoustrojów, wyrażone w wagowym stężeniu procentowym (1% = 1g substancji/100 ml roztworu).

WYNIKI

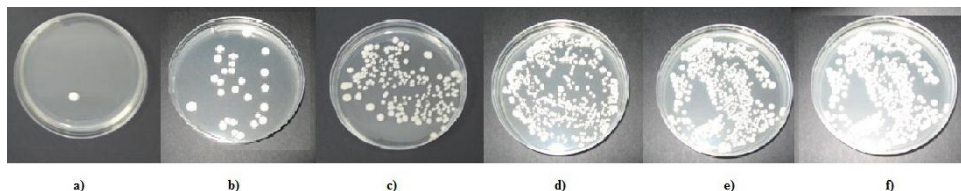
W przeprowadzonych badaniach *in vitro* porównano efekt mikrobójczego działania chlorheksydyny (CHX) z działaniem chloraminy tauryny (TauCl) i bromaminy tauryny (TauBr) wobec 3 drobnoustrojów występujących w płytce nazębnej i błonie śluzowej jamy ustnej (*S.mutans*, *P.gingivalis* i *C. albicans*). Porównano MIC badanych związków wobec niskiej (10^5 CFU/ml) i wysokiej (10^8 CFU/ml) gęstości drobnoustrojów.

CHX, jak pokazano w Tabeli I, wykazuje bardzo silne działanie mikrobójcze wobec wszystkich badanych drobnoustrojów. MIC chlorheksydyny, wyrażone w wagowym stężeniu procentowym, dla *S. mutans* (10^5 /ml) wynosi 0,00015%, a dla wysokiego stężenia bakterii wynosi 0,007%. CHX równie skutecznie hamuje wzrost *C. albicans* (Ryc.1). Jednakże, w obecności 25% surowicy mikrobójcza aktywność CHX wobec *C. albicans* i *S. mutans* spada 10-krotnie, a wobec *P. gingivalis* 100-krotnie (Tabela II).

Tabela I. Wpływ chlorheksydyny (CHX), bromaminy tauryny (TauBr) i chloraminy tauryny (TauCl) na wzrost wybranych drobnoustrojów jamy ustnej

Badany związek (%)	Gęstość zawiesiny drobnoustrojów (CFU/ml)	MIC		
		<i>Candida albicans</i> ATCC 90029	<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	<i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277
CHX	10^5	$1,5 \times 10^{-3}$	$1,5 \times 10^{-4}$	$1,5 \times 10^{-5}$
	10^8	7×10^{-3}	7×10^{-4}	3×10^{-4}
TauBr	10^5	5×10^{-2}	$1,4 \times 10^{-4}$	$1,2 \times 10^{-5}$
	10^8	ND	$1,4 \times 10^{-2}$	1×10^{-4}
TauCl	10^5	$1,8 \times 10^{-1}$	$2,2 \times 10^{-2}$	$2,7 \times 10^{-3}$
	10^8	ND	1×10^{-1}	$1,08 \times 10^{-2}$
mieszanina TauBr i TauCl	10^5	5×10^{-2}	$2,4 \times 10^{-4}$	$1,2 \times 10^{-5}$
	10^8	ND ¹	3×10^{-3}	2×10^{-4}

CHX (2×10^{-5} – 1.0%), TauBr (1×10^{-5} – 2×10^{-10} %) oraz TauCl (1×10^{-5} – $1,8 \times 10^{-1}$ %) inkubowano przez okres 1 godziny z badanymi drobnoustrojami zawieszonymi w 0.9% NaCl. MIC oznaczono jak opisano w rozdziale Materiał i Metody. Przedstawione wyniki reprezentują średnią z 3 niezależnych doświadczeń. ND- brak działania hamującego.



Ryc. 1. Oznaczenie MIC dla chlorheksydyny (CHX) wobec szczepu *Candida albicans* ATCC 90029

a) wzrost 1 CFU po inkubacji w roztworze CHX o stężeniu $1,5 \times 10^{-2}$; b) wzrost 26 CFU po inkubacji w roztworze CHX o stężeniu 7×10^{-4} ; c) wzrost 114 CFU po inkubacji w roztworze CHX o stężeniu 3×10^{-4} ; d) wzrost powyżej 300 CFU po inkubacji w roztworze CHX o stężeniu $1,5 \times 10^{-4}$; e) wzrost powyżej 300 CFU po inkubacji w roztworze CHX o stężeniu 7×10^{-5} ; f) kontrola wzrostu

TauBr skutecznie hamuje wzrost obu badanych bakterii, *S. mutans* (MIC = $1,4 \times 10^{-4}$ %) i *P. gingivalis* (MIC = $1,2 \times 10^{-5}$ %) (Tabela I). Natomiast efekt hamującego działania TauBr na wzrost *C. albicans* wykazano tylko w stężeniu powyżej 5×10^{-2} %. W obecności surowicy działanie antybakteryjne TauBr, podobnie jak CHX, było znacząco słabsze (Tabela II).

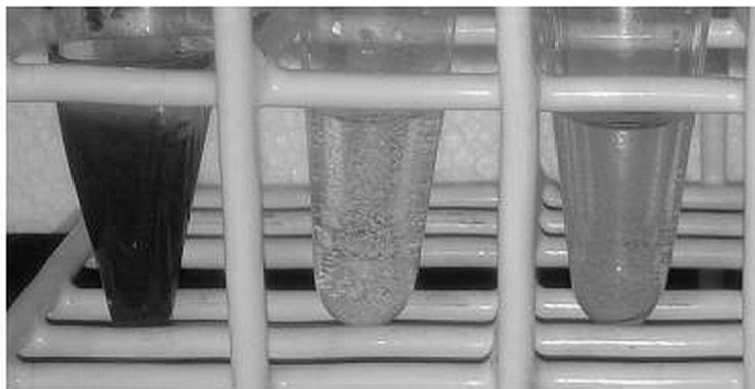
Tabela II. Wpływ surowicy na aktywność mikrobójczą chlorheksydyny (CHX), bromaminy tauryny (TauBr) i chloraminy tauryny (TauCl)

Badany związek (%)	MIC		
	<i>Candida albicans</i> ATCC 90029	<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	<i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277
CHX	$1,5 \times 10^{-2}$	$1,5 \times 10^{-4}$	$1,5 \times 10^{-3}$
TauBr	$1,1 \times 10^{-1}$	$5,5 \times 10^{-2}$	2×10^{-4}
TauCl	$1,8 \times 10^{-1}$	$4,5 \times 10^{-2}$	$2,2 \times 10^{-2}$

Badane związki (w stężeniach podanych w Tabeli I) inkubowano z drobnoustrojami (10^5 komórek/ml) w obecności 25% surowicy. MIC oznaczono jak opisano w rozdziale Materiał i Metody. Przedstawione wyniki reprezentują średnią z 3 niezależnych doświadczeń.

TauCl, w przeciwieństwie do CHX i TauBr, w przeprowadzonym modelu doświadczalnym, wykazała bardzo słabą aktywność antybakteryjną i nie hamowała wzrostu *C. albicans* (Tabela I).

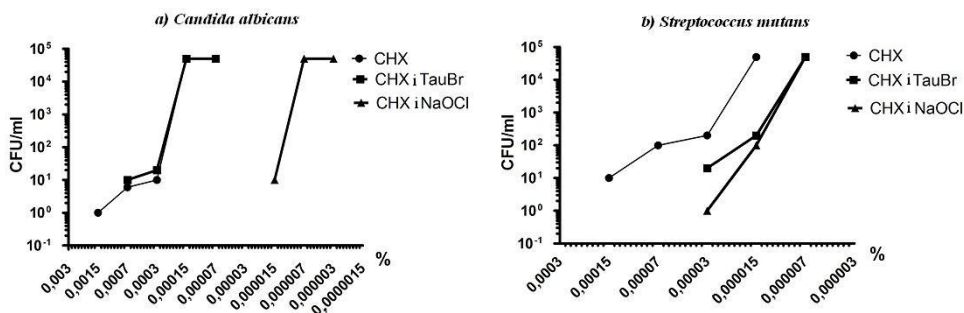
W dalszym etapie badań sprawdzono antybakteryjne właściwości chlorheksydyny w obecności TauBr i pochłorynu sodu (NaOCl), głównego antyseptyku stosowanego w endodoncji. Do badań wytypowaliśmy *S. mutans* (główna bakteria tworząca płytkę nazębną) oraz *C. albicans* (główny etiologiczny czynnik kandydozy jamy ustnej). Badania nasze wykazały, że mimo tworzenia brązowego precipitatu (Ryc.2), obecność NaOCl wzmacnia kilkakrotnie właściwości antyseptyczne CHX (Ryc. 3a). TauBr, w odróżnieniu od NaOCl, nie wchodzi w reakcję z CHX i nie zmienia jej właściwości grzybobójczych. TauBr działa natomiast synergistycznie z CHX wobec *S. mutans* (Ryc. 3b).



	a)	b)	c)
CHX 2%	+	+	+
a) NaOCl 2%	+	-	-
b) TauBr 0,2%	-	+	-
c) TauCl 0,18%	-	-	+

Po zmieszaniu w warunkach laboratoryjnych CHX i NaOCl (a) obserwowane jest wystąpienie brązowego precipitatu. W mieszaninie CHX z TauBr (b) i CHX i TauCl (c) nie obserwowano obecności osadu.

Ryc. 2. Obraz mieszania chlorheksydyny (CHX) z podchlorynem sodu (NaOCl) i haloaminami tauryny (TauBr i TauCl)



Ryc. 3. Wpływ podchlorynu sodu (NaOCl) oraz bromaminy tauryny (TauBr) na aktywność mikrobiologiczną chlorheksydyny (CHX)
 a) *Candida albicans* ($10^5/\text{ml}$) oraz b) *Streptococcus mutans* ($10^5/\text{ml}$) inkubowano z mieszaniną CHX i TauBr oraz CHX i NaOCl. Efekt działania mieszaniny porównano z działaniem CHX. MiC oznaczono dla NaOCl wobec *S. mutans* wyniosło 3×10^{-5} a dla *C. albicans* $1,5 \times 10^{-5}$. Rycina przedstawia wyniki uzyskane z 3 niezależnych doświadczeń.

DYSKUSJA

Bakterie mikrobiomu jamy ustnej kolonizują tkanki miękkie i tworzą płytkę nazębną. W warunkach prawidłowych izoluje się między innymi takie bakterie jak *S. mutans*, *P. gingi-*

valis, a nawet drożdżaki *C. albicans* (9,21). Niekontrolowany ich wzrost prowadzi do rozwoju próchnicy zębów (*S. mutans*), chorób przyzębia (*P. gingivalis*), czy też kandydozy jamy ustnej (3). Kontrola liczebności i ewentualnie eliminacja chorobotwórczych drobnoustrojów przy pomocy antyseptyków jest standardowym postępowaniem w profilaktyce i leczeniu chorób jamy ustnej. W stomatologii glukonian chlorheksydyny (CHX) jest najczęściej używanym antyseptykiem. CHX jest związkami o szerokim spektrum działania przeciwbakteryjnego i grzybiczego. Nie stwierdzono oporności drobnoustrojów na CHX i jest ona relatywnie dobrze tolerowana przy podawaniu miejscowym, z bardzo rzadko występującymi reakcjami alergicznymi (15). CHX stosowana jest powszechnie w profilaktyce i leczeniu próchnicy zębów oraz chorób przyzębia, w endodoncji, a także w leczeniu kandydozy jamy ustnej (6). Ten idealny antyseptyk posiada jednak pewne ograniczenia w stosowaniu długoterminowym i skojarzonym z innymi preparatami stosowanymi w stomatologii. Długotrwałe używanie CHX powoduje brązowe przebarwienie zębów i języka oraz zaburzenia smaku (6,15). CHX w wysokich stosowanych stężeniach (2%) jest cytotoksyczna dla komórek nabłonka i odontoblastów (12). Szczególnie istotną niezgodnością farmaceutyczną jest reakcja CHX z podchlorynem sodu (NaOCl), głównym antyseptykiem stosowanym w irygacji kanałów zębowych (10,13). CHX w kontakcie z NaOCl daje precypitat zawierający toksyczny i karcinogeny związek parachloroanilinę, co ogranicza ich jednoczesne podawanie w leczeniu kanałowym (2,24). W leczeniu oboma preparatami konieczne jest zatem dokładne wypłukanie NaOCl z kanału zębowego przed podaniem CHX.

Powyższe ograniczenia i niepożądane objawy uzasadniają poszukiwanie alternatywnych antyseptyków dla CHX. Jednym z takich leków jest taurolidyna (TRD), syntetyczna pochodna tauryny o właściwościach przeciwbakteryjnych i przeciwzapalnych, hamująca rozwój biofilmu płytki nazębnej (1,5). W naszych wieloletnich badaniach wykazaliśmy też przeciwbakteryjne i przeciwzapalne właściwości naturalnych pochodnych tauryny, chloraminy i bromaminy tauryny (TauCl i TauBr) (16,26). Ostatnio stwierdziliśmy, że TauBr może być dobrym kandydatem do miejscowego leczenia zakażeń związanych z tworzeniem biofilmu bakteryjnego, na przykład w chorobach przyzębia (19). Podobny pogląd na zastosowanie chloraminy tauryny w stomatologii wyrazili *Mainnemare* i wsp. (14).

W obecnej pracy porównaliśmy właściwości antyseptyczne CHX z właściwościami TauCl i TauBr. Badania nasze potwierdziły dużą skuteczność CHX w hamowaniu wzrostu zarówno bakterii (*S. mutans*, *P. gingivalis*), jak i grzybów (*C. albicans*) (4,23). Bardzo ważne dla skutecznego stosowania CHX w likwidacji zaawansowanej płytki nazębnej było wykazanie jej aktywności wobec bakterii o wysokim stężeniu (10^8 /ml). W porównaniu z CHX haloaminy tauryny, a szczególnie TauCl, słabiej hamowały wzrost badanych bakterii. TauCl, w naszych warunkach doświadczalnych nie działała na grzyby *C. albicans*, co jest sprzeczne z pracami *Nagla* (22). Jednakże w jego pracach TauCl była stosowana w wyższych stężeniach (1%) i okres inkubacji wynosił kilka godzin. W związku z zastosowaniem glukonianu chlorheksydyny w miejscowej terapii chorób przyzębia (LDD-locally drug delivery), która polega na poddążłowym podaniu leku, sprawdziliśmy jej aktywność przeciwbakteryjną w obecności surowicy stwarzając warunki *in vitro* zbliżone do warunków panujących w kieszonce dziąsłowej. Inni badacze wykazali, że w obecności surowicy CHX zamiennie traci zdolność do zabijania bakterii (5). Nasze badania potwierdziły te obserwacje, podobnie zachowały się obie haloaminy tauryny. Największy spadek wrażliwości na CHX w obecności surowicy stwierdzono wobec *P. gingivalis*.

Wyniki naszych badań potwierdziły tworzenie precipitatu w wyniku reakcji CHX z NaOCl, który według doniesień literaturowych nie tylko jest przyczyną przebarwień, ale również zawiera toksyczny związek parachloroanilinę (23,24). Interesującą obserwacją było wykazanie wzmożonej aktywności mikrobójczej mieszaniny CHX i NaOCl pomimo wytworzenia precipitatu. Obiecujące wyniki uzyskano zastępując NaOCl bromaminą tauryny. Mieszanina NaOCl + TauBr nie tworzyła brązowego precipitatu i wykazywała silne właściwości mikrobójcze. Wyniki te potwierdzają wcześniejsze nasze badania, które jednoznacznie wykazały, że TauBr jest dobrym kandydatem do miejscowego leczenia przewlekłych stanów zapalnych wywołanych zakażeniem bakteryjnym (16,20). Odpowiedź na pytanie czy TauBr jest również dobrym antyseptykiem i konkurentem dla CHX w leczeniu i profilaktyce zakażeń jamy ustnej, wymaga dalszych badań. Na przykład wspólne działanie TauBr z NaOCl w leczeniu kanałowym pozwoliłoby uniknąć niepożądanego efektu reakcji podchlorynu z chlorheksydyną. TauBr mogłaby być również antyseptykiem z wyboru u pacjentów uczulonych na CHX.

PODSUMOWANIE

1. Chlorheksydyna (CHX) hamuje *in vitro* wzrost drobnoustrojów mikrobiomu jamy ustnej w stężeniach znamienne niższych od stężeń stosowanych w stomatologii.
2. CHX hamuje skutecznie wzrost bakterii i grzybów o gęstości występującej w biofilmie lub przewlekłym odczynie zapalnym.
3. TauBr, w stężeniach niecytotoksycznych, podobnie jak CHX hamuje wzrost *S. mutans* i *P. gingivalis*, ale słabo działa na wzrost *C. albicans*.
4. W obecności surowicy zarówno CHX jak i TauBr traci znacząco właściwości mikrobójcze.
5. NaOCl wzmacnia właściwości antyseptyczne CHX ale w wyniku ich reakcji wytrąca się brązowy precipitat zawierający toksyczną parachloroanilinę.
6. Mieszanina TauBr z CHX wykazuje synergistyczne działanie antibakteryjne.
7. Dalsze badania są konieczne w celu wykazania skutecznego *in vivo* działania TauBr w eliminacji patogenów jamy ustnej odpowiedzialnych za próchnicę i choroby przyzębia.

Autorzy pracy dziękują serdecznie mgr Marii Walczewskiej, inż. Angelice Peruń, dr. Andrzejowi Kasprończowi za pomoc w wykonaniu badań.

PIŚMIENNICTWO

1. Arweiler NB, Auschill TM, Sculean A. Antibacterial effect of taurolidine (2%) on established dental plaque biofilm. Clin Oral Investig 2012; 16: 489-94.
2. Basrani BR, Manek S, Sodhi RN i inni. Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. J Endod 2007; 33: 966-9.
3. Cugini C, Klepac-Ceral V, Rackaityte E i inni. *Porphyromonas gingivalis*: keeping the pathos out of the biont. J Oral Microbiol 2013; 5.
4. Delgado RJ, Gasparoto TH, Sipert CR i inni. Antimicrobial activity of calcium hydroxide and chlorhexidine on intratubular *Candida albicans*. Int J Oral Sci 2013; 5: 32-6.

5. Eick S, Radakovic S, Pfister W i inni. Efficacy of taurolidine against periodontopathic species--an in vitro study. *Clin Oral Investig* 2012; 16: 735-44.
6. Gomes BP, Vianna ME, Zaia AA i inni. Chlorhexidine in endodontics. *Braz Dent J* 2013; 24.
7. Gottardi W, Nagl M. Chemical properties of N-chlorotaurine sodium, a key compound in the human defence system. *Arch Pharm* 2002; 335: 411-21.
8. Guggenheim B, Meier A. In vitro effect of chlorhexidine mouth rinses on polyspecies biofilms. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 2011; 121: 432-41.
9. He XS, Shi WY. Oral microbiology: past, present and future. *Int J Oral Sci* 2009; 1: 46-58.
10. Karale R, Thakore A, Shetty V. An evaluation of antibacterial efficacy of 3% sodium hypochlorite, high-frequency altering current and 2% chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*: An in vitro study. *J Conserv Dent* 2011; 14: 2-5.
11. Law V, Seow WK. A longitudinal study of 0.2% chlorhexidine gel for removal of mutans streptococci infection in preschool children. *Aust Dent J* 2007; 52: 26-32.
12. Lessa FC, Aranha AM, Nogueira I i inni. Toxicity of chlorhexidine on odontoblast -like cells. *J Appl Oral Sci* 2010; 18(1): 50-8.
13. Luddin N, Ahmed HM. The antibacterial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against *Enterococcus faecalis*: A review on agar diffusion and direct contact methods. *J Conserv Dent* 2013; 16: 9-16.
14. Mainnemaire A, Mégarbane B, Soueidan A i inni. Hypochlorous acid and taurine-N-monochloramine in periodontal diseases. *J Dent Res* 2004; 83: 823-31.
15. Malicka B, Ziętek M, Grzebieluch W. Zastosowanie chlorheksydyny w stomatologii. *Dent Med Probl* 2005; 42: 3: 497-505.
16. Marcinkiewicz J. Taurine bromamine: a new therapeutic option in inflammatory skin diseases. *Polish Arch Internal Med* 2009; 119: 673-5.
17. Marcinkiewicz J, Biedroń R, Bialecka A i inni. Susceptibility of *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis* to killing by MPO-halide system products. Implication for taurine bromamine as a new candidate for topical therapy in treating acne vulgaris. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2006; 54: 61-8.
18. Marcinkiewicz J, Kurnyta M, Biedroń R i inni. Anti-inflammatory effects of taurine derivatives (taurine chloramine, taurine bromamine, and taurolidine) are mediated by different mechanisms. *Adv Exp Med Biol* 2006; 583: 471-92.
19. Marcinkiewicz J, Strus M, Walczewska M i inni. Influence of taurine haloamines (TauCl and TauBr) on the development of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm - A preliminary study. *Adv Exp Med Biol* 2013; 775: 269-83.
20. Marcinkiewicz J, Wojas-Pelc A, Walczewska M i inni. Topical taurine bromamine, a new candidate in the treatment of moderate inflammatory acne vulgaris: a pilot study. *Eur J Dermatol* 2008; 18: 433-9.
21. Marsh PD, Moter A, Devine DA. Dental plaque biofilms: communities, conflict and control. *Periodontol* 2000 2011; 55: 16-35.
22. Nagl M, Hess MW, Pfaller K i inni. Bactericidal activity of micromolar N -chlorotaurine: evidence for its antimicrobial function in the human defense system. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 43(9): 2497-13.
23. Resmiye-Ebru T, Haluk B, Gulden E. In vitro antimicrobial activity of Sodium hypochlorite, Chlorhexidine gluconate and Octenidine Dihydrochloride in elimination of microorganisms within dental tubules of primary and permanent teeth. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2012; 17: 517-22.
24. Rossi-Fedele G, Doğramaci EJ, Guastalli AR i inni. Antagonistic interactions between sodium hypochlorite, chlorhexidine, EDTA, and Citric Acid. *J Endod* 2012; 38: 426-31.
25. Thomas EL, Grisham MB, Jeffrson MM. Preparation and characterization of chloramines. *Meth Enzymol* 1986; 132: 569-571.

26. *Walczevska M, Marcinkiewicz J.* Taurine chloramine and its potential therapeutical application. *Przeegl Lek* 2011; 68: 334-8.

Otrzymano: 29 VII 2013 r.

Adres Autora: 31-016 Kraków, ul Sławkowska 17, Centrum Badań Mikrobiologicznych
i Autoszczepionek im. dra Jana Bobra