

Učinak medicinskoga Manuka meda u liječenju parodontitisa - randomizirano kliničko istraživanje

Opšivač, David

Doctoral thesis / Doktorski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Dental Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:127:663094>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-10**



Repository / Repozitorij:

[University of Zagreb School of Dental Medicine
Repository](#)





Sveučilište u Zagrebu

Stomatološki fakultet

David Opšivač

**UČINAK MEDICINSKOGA MANUKA MEDA
U LIJEČENJU PARODONTITISA -
RANDOMIZIRANO KLINIČKO
ISTRAŽIVANJE**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2024.



Sveučilište u Zagrebu

Stomatološki fakultet

David Opšivač

**UČINAK MEDICINSKOGA MANUKA MEDA
U LIJEČENJU PARODONTITISA -
RANDOMIZIRANO KLINIČKO
ISTRAŽIVANJE**

DOKTORSKI RAD

Mentor: izv.prof.dr.sc Darko Božić

Zagreb, 2024.



Sveučilište u Zagrebu
School of dental medicine

David Opšivač

**THE EFFECT OF MEDICAL MANUKA
HONEY IN THE TREATMENT OF
PERIODONTITIS - RANDOMIZED CLINICAL
TRIAL**

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisor: Prof. Darko Božić

Zagreb, 2024

Rad je ostvaren na Zavodu za Parodontologiju Stomatološkog fakulteta, Sveučilište u Zagrebu.

Lektor hrvatskog jezika: Petra Birman, prof. hrvatskog jezika i književosti, dipl. lingvist

Lektor engleskog jezika: Zrinka Ivanišević, prof. njemačkog i engleskog jezika

Sastav Povjerenstva za ocjenu doktorskog rada:

(za svakog člana Povjerenstva naknadno se rukom na za to predviđeno mjesto upisuju ime i prezime, akademsko zvanje i ustanova)

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

Sastav Povjerenstva za obranu doktorskog rada:

(za svakog člana Povjerenstva naknadno se rukom na za to predviđeno mjesto upisuju ime i prezime, akademsko zvanje i ustanova)

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

Datum obrane rada: _____ (upisuje se naknadno rukom)

Rad sadrži: 79 stranica
12 tablica
11 slika
1 CD

Rad je vlastito autorsko djelo, koje je u potpunosti samostalno napisano uz naznaku izvora drugih autora i dokumenata korištenih u radu. Osim ako nije drukčije navedeno, sve ilustracije (tablice, slike i dr.) u radu su izvorni doprinos autora poslijediplomskog doktorskog rada. Autor je odgovoran za pribavljanje dopuštenja za korištenje ilustracija koje nisu njegov izvorni

doprinos, kao i za sve eventualne posljedice koje mogu nastati zbog nedopuštenog preuzimanja ilustracija odnosno propusta u navođenju njihovog podrijetla.

Zahvala

Zahvaljujem se roditeljima na strpljenju, podršci i ljubavi koju su mi pružili u životu.

Zahvaljujem se svojem mentoru, izv.prof.dr.sc Darku Božiću koji mi je nesebično pomagao i bio uz mene tijekom doktorskog studija.

Zahvaljujem se kolegama i sestrama Zavoda za parodontologiju.

Hvala prijateljima na podršci tijekom izrade ovog rada.

SAŽETAK

UČINAK MEDICINSKOGA MANUKA MEDA U LIJEČENJU PARODONTITISA-RANDOMIZIRANO KLINIČKO ISTRAŽIVANJE

Inicijalna nekirurška parodontna terapija prvi je korak i zlatni standard u liječenju parodontitisa. Uz inicijalnu terapiju koriste se dodatne ili alternativne metode kao što su sistemski i lokalni antibiotici, antiseptici i dezinficijensi. U posljednje vrijeme interes je usmjeren na alternativne načine liječenja na koje bakterije ne mogu razviti otpornost, a jedan od njih je Manuka med. To je endemska vrsta meda koji proizvode pčele *Apis Mellifera* u Australiji i Novom Zelandu. Posjeduje široki spektar djelovanja na bakterije, viruse i gljive. Cilj istraživanja bio je usporediti nekiruršku inicijalnu terapiju sa ili bez dodatne lokalne aplikacije pripravaka koji sadrži Manuka med. Također je istražen utjecaj parodontitisa na kvalitetu života oboljelih te promjene koje nastupaju s uzročnim liječenjem parodontitisa. Provedeno je randomizirano kliničko istraživanje u trajanju od 3 mjeseca s ciljem usporedbe ishoda liječenja parodontnih džepova standardnom nekirurškom parodontnom terapijom (kontrolna skupina) odnosno standardnom nekirurškom parodontnom terapijom uz dodatak gela na bazi Manuka meda (eksperimentalna skupina). Pedeset ispitanika kojima je dijagnosticiran parodontitis III. stadija evaluirano je na početku istraživanja s obzirom na kliničke pokazatelje parodontitisa, uzeti su mikrobiološki brisevi te je provedeno psihometrijsko ispitivanje pomoću instrumenta OHIP-14 (engl. *Oral Health Impact Profile*). Nakon provedenog nekirurškog parodontološkog liječenja, ispitanicima u eksperimentalnoj skupini u parodontne džepove apliciran je komercijalno dostupan pripravak Manuka meda, dok je u kontrolnoj skupini apliciran placebo pripravak. Parodontološki parametri, mikrobiološki nalazi te psihometrijsko ispitivanje provedeni su prije provedbe nekirurškog parodontološkog liječenja i nakon 3 mjeseca. Mikrobiološki brisevi dodatno su uzeti nakon 7 dana od inicijalne nekirurške terapije. Vrijednosti kliničkih parodontoloških parametra (dubina sondiranja, krvarenje pri sondiranju i klinička razina pričvrstka) te vrijednosti OHIP-14 značajno su smanjeni u objema skupinama nakon provedene terapije. Obje su skupine imale značajno smanjenje broja parodontopatogenih bakterija. U eksperimentalnoj skupini zabilježeno je statistički značajno smanjenje broja *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, *T. forsythia* i *F. alocis* u odnosu na kontrolnu skupinu. Statistički značajno veći postotak zatvorenih džepova i smanjeno krvarenje pri sondiranju opaženi su kod pacijenata koji su primili Manuka med. Primjena Manuka meda kao dodatka inicijalnoj nekirurškoj terapiji mogla bi pružiti dodatne koristi u smislu eliminacije parodontnih džepova i poboljšanja parodontoloških parametara.

Ključne riječi: parodontitis; *Leptospermum*; med; struganje i poliranje korijena

EXTENDED ABSTRACT

THE EFFECT OF MEDICAL MANUKA HONEY IN THE TREATMENT OF PERIODONTITIS- RANDOMIZED CLINICAL TRIAL

Introduction: Periodontitis is a chronic disease of the supporting apparatus of teeth which affects more than 700 million people. Non-surgical periodontal therapy (NSPT) is the gold standard that is effective in controlling the infection. Although NSPT significantly reduces the number of periodontal pathogens, re-establishment of the original periodontopathogen flora may occur shortly thereafter. In addition to initial therapy, additional or alternative methods are used, such as the use of systemic and local antibiotics, antiseptics, and disinfectants. Due to the increasing bacterial resistance to antibiotics and antiseptics, or due to their ineffectiveness, interest has shifted to alternative methods of treatment. One of these methods is the use of honey, which has been used in many cultures for centuries. Since 1990, there has been increased research into the effects of honey. Particular interest has been placed on its antibacterial properties and its potential to treat infections caused by antibiotic-resistant bacteria. This has led to the medicinal use of Manuka honey, which has been shown to have exceptional antibacterial properties. Manuka honey is characterized by the presence of 3-methylglyoxal, which has been shown to be a very effective bactericide, virucide, and fungicide, and is insensitive to temperature changes or enzymatic decomposition. Manuka honey is also very effective against antibiotic-resistant bacteria. There are relatively few reports in the literature on the effect of Manuka honey on bacteria in the oral cavity, with *in vivo* studies being particularly scarce. The aim of the present study was to compare NSPT with or without additional topical application of Manuka honey. The study also aimed to investigate the impact of periodontitis on the patients' quality of life and the changes associated with etiological treatment of periodontitis.

Materials and Methods: This study was designed as a randomized clinical trial comparing the effect of Manuka honey as an adjunct to NSPT versus NSPT without the use of Manuka honey. The clinical parameters, i.e., periodontal pocket depth (PPD), gingival recession (REC), clinical attachment level (CAL), bleeding on probing (BOP), and plaque index (PI) were measured at six sites on each tooth. The polymerase chain reaction method was used for microbiological detection of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Parvimonas micra*, and *Filifactor alocis*. Psychometric tests based on Oral Health Impact Profile-14 (OHIP-14) were used to conduct the analysis of the impact of periodontitis on the quality of life and to

assess well-being after the therapy. NSPT was performed according to the standardized protocol by a single operator. After NSPT, subjects were randomly divided into two groups using either a Manuka honey preparation or a placebo preparation. The adjunctive preparation was administered into the periodontal pockets using a specially designed syringe that had identical appearance for both the Manuka and the placebo groups. Periodontal parameters, microbiological findings, and psychometric tests were performed at baseline and after 3 months. Microbiological swabs were additionally taken 7 days after NSPT.

Results: No side effects were reported with the use of the Manuka honey or the placebo preparations. NSPT showed a statistically significant decrease in PPD values in both groups after 3 months. In the experimental group, the initial value was 3.63 mm, while after 3 months it decreased to 2.56 mm. In the control group, the initial value was 3.47 mm and decreased to 2.60 mm after 3 months. The proportion of deep pockets (between 5-6 mm) in the experimental group (6.4%) was significantly lower than the one in the control group (8.2%), while the proportion of very deep pockets (with probing depth of > 6 mm) in the experimental group was 0.9%, which is statistically also significantly lower than the one in the control group (2.3%). The reduction of FMBS at 3 months was significantly more pronounced in the experimental group (44.87%) than in the control group (32.66%). After 3 months, the CAL values were 3.12 mm in the experimental group, and 3.06 mm in the control group, with no statistically significant difference between the groups. After 3 months, a statistically significant difference was noted in a higher percentage of closed pockets in the experimental group (78.8%) compared with 69.0% in subjects receiving placebo. After the therapy and the improvement of periodontal status, OHIP-14 values in the experimental group decreased from 19.57 to 11.48, and in the control group from initial values from 19.41 to 14.73 in the experimental group. A statistically significant reduction of periodontopathogenic bacteria *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, and *F. alocis* was observed in the experimental group compared to the control group.

Conclusion: The use of Manuka honey as an adjunct to initial non-surgical therapy could provide additional benefits in terms of elimination of periodontal pockets, improvement of periodontal parameters, alteration of subgingival microbial composition, and the quality of life of patients.

Key words: periodontitis; *Leptospermum*; honey; periodontal debridement

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. UPALNA PARODONTNA STANJA.....	2
1.1.1. GINGIVITIS.....	3
1.1.2. PARODONTITIS.....	4
1.1.3. MIKROBIOLOŠKI UZROČNICI I POJAVA PARODONTNE BOLESTI.....	11
1.1.4. INICIJALNA NEKIRURŠKA TERAPIJA.....	13
1.2. MANUKA MED.....	17
2. CILJ I HIPOTEZA.....	20
3. MATERIJALI I METODA.....	22
3.1. PLAN ISTRAŽIVANJA.....	23
3.2. ISPITANICI.....	23
3.3. PROCJENA POTREBNE VELIČINE UZORKA.....	25
3.4. ISHODI ISTRAŽIVANJA.....	25
3.4.1. KLINIČKA MJERENJA.....	25
3.4.2. MIKROBIOLOŠKA ANALIZA.....	26
3.4.3. PSIHOMETRIČKO TESTIRANJE.....	26
3.4.4. VREMENSKI INTERVALI EVALUACIJE.....	28
3.5. UPUTE ZA ODRŽAVANJE ORALNE HIGIJENE.....	31
3.6. NEKIRURŠKA INICIJALNA TERAPIJA.....	31
3.7. PLACEBO I MANUKA.....	32
3.8. RANDOMIZACIJA ISPITANIKA.....	34
3.9. STATISTIČKA ANALIZA.....	34
4. REZULTATI.....	36
4.1. DEMOGRAFSKI PODACI ISPITANIKA.....	37
4.2. PARODONTOLOŠKI PARAMETRI.....	38
4.2.1. DUBINA SONDIRANJA (PPD).....	38
4.2.2. KATEGORIJE DUBINA DŽEPOVA.....	39
4.2.3. PLAK I UPALA GINGIVE.....	40
4.2.4. RECESIJE (REC).....	42
4.2.5. KLINIČKA RAZINA PRIČVRSTKA (CAL).....	43
4.2.6. POSTOTAK ZATVORENIH DŽEPOVA.....	44
4.2.7. OHIP-14.....	48
4.2.8. MIKROBIOLOŠKA ANALIZA.....	48

5. RASPRAVA	52
6. ZAKLJUČAK.....	62
7. LITERATURA.....	64
8. ŽIVOTOPIS.....	78

Popis kratica

AAP	Američka akademija za parodontologiju
NSPT	inicijalna ne-kirurška parodontna terapija (engl. <i>non-surgical periodontal therapy</i>)
NPA	neperoksidazna aktivnost
UMF	engl. <i>Unique Manuka Factor</i>
BOP	krvarenje pri sondiranju (engl. <i>bleeding on probing</i>)
PI	plak indeks
REC	recesija
PPD	dubina parodontnih džepova (engl. <i>periodontal probing depth</i>)
CAL	klinička razina pričvrstka (engl. <i>clinical attachment level</i>)
ANOVA	analiza varijance (eng. <i>analysis of variance</i>)
FMBS	postotak mjernih mjesta s krvarenjem pri sondiranju sulkusa/džepova (engl. <i>full mouth bleeding score</i>)
OHIP-14	ishodi koje prijavljuje pacijent (engl. <i>Oral Health Impact Profile -14</i>)

1. UVOD

1.1. UPALNA PARODONTNA STANJA

Upalna parodontna stanja odnosno parodontitis i gingivitis u današnje vrijeme spadaju među najčešće bolesti koje pogađaju svjetsku populaciju. Zastupljenost tih stanja u različitim studijama varira između 6 i 94% (1).

Upale koje pogađaju gingivu podrazumijevaju široku skupinu složenih patoloških entiteta koji, međutim, nisu zahvatili sve sastavnice parodonta, nego su isključivo prisutni u gingivi. Bitno je naglasiti da je etiologija bolesti raznolika, međutim klinička obilježja koja podrazumijevaju prisutnost upale tkiva sa ili bez plaka te reverzibilnost bolesti nakon uklanjanja etiološkog čimbenika zajednička su svim oblicima gingivnih bolesti (2, 3).

Godine 1999. Američka akademija za parodontologiju (AAP) definira zajednička obilježja gingivnih bolesti (4):

1. simptomi bolesti isključivo ograničeni na gingivu;
2. nepromijenjeni etiološki čimbenik je prisutnost zubnoga plaka;
3. klinički znakovi su crvenilo, edemi, krvarenje pri površinskoj stimulaciji i veća prisutnost sulkusne tekućine;
4. bolest je karakterizirana bez kliničkog gubitka pričvrstka;
5. bolest je reverzibilnog karaktera;
6. prekursor je parodontitisa.

Parodontitis je kronična upalna bolest potpornog sustava zuba koja uzrokuje nepovratna oštećenja parodonta, a bez liječenja naposljetku dovodi do gubitak zuba (5). Etiološki čimbenici koji dovode do pojave parodontitisa svakako su parodontopatogene bakterije, genetska predispozicija domaćina, sustavne bolesti poput dijabetesa i životne navike kao što je pušenje.

1.1.1. GINGIVITIS

Klasifikacija gingivnih bolesti iz 1999. godine definira etiološke čimbenike bolesti, i to prisutnost plaka te čimbenike koji modificiraju upalno stanje gingive (6). Prema toj klasifikaciji, bolesti gingive nastale kao rezultat djelovanja bakterija dentogingivnog plaka dijele se na one koje imaju obilježja upale gingive bez gubitka pričvrstka te na one koje su također povezane s prisutnošću plaka i dodatno modificirane sustavnim čimbenicima (2). Svakako je prije dijagnosticiranja potrebna detaljna anamneza, klinički i radiološki pregled te procjena pacijentovih znakova i simptoma bolesti (1). Prisutnost plaka kao glavni etiološki čimbenik nastanka gingivitisa potvrđen je u radu autora Löea i sur (7). On je na ljudima davne 1965. godine eksperimentalno omogućio slobodnu akumulaciju plaka i na taj način potvrdio hipotezu o etiološkoj ulozi bakterija iz plaka (6, 7). Plakom uzrokovana upala gingive javlja se u svim dobnim skupinama i zasigurno je najzastupljeniji oblik parodontne bolesti (3, 8 – 11). Naglasak stoji u činjenici da u tom stadiju bolesti parodonta nema kliničkog niti radiološkog gubitka pričvrstka odnosno kosti (6). Klinička slika početka bolesti je crvenilo i krvarenje marginalnog ruba gingive, a težina odnosno intenzitet kliničkih simptoma mijenja se od pojedinca do pojedinaca što govori o raznolikosti bolesti (9). Promjene na histološkoj razini pokazuju znatnu proliferaciju bazalnoga sloja vezivnog i epitelnog pričvrstka koji kao posljedicu ima apikalnu i lateralnu staničnu migraciju, a krvne žile epitelnog pričvrstka su upaljene. Dolazi do destrukcije kolagenskih vlakana, vidljive su stanične promjene kod fibroblasta i postupna pojava upalno-staničnog infiltrata (9, 12). Bakterijska flora kod pacijenata koji imaju gingivitis uzrokovan plakom različita je od pojedinca gdje nije prisutna bolest, no valja naglasiti da ne postoji patospecifična bakterijska flora (13).

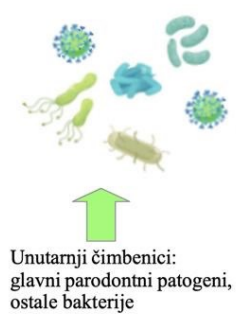
1.1.2. PARODONTITIS

Podaci *Global Burden of Severe Periodontitis Study* iz 2016. godine pokazuju da je parodontitis šesta najzastupljenija bolest u svijetu koja pogađa otprilike 11% svjetske populacije ili 740 milijuna ljudi (8).

Uočilo se da kod ljudi koji boluju od parodontitisa postoji disbioza mikroorganizama odnosno porast udjela Gram-negativnih anaerobnih bakterija s posljedičnim smanjenjem udjela Gram-pozitivnih aeroba što bi moglo objasniti pojavu parodontne bolesti (14, 15).

Klinička slika karakterizirana je upalom i destrukcijom strukture parodonta što posljedično dovodi do kliničkog i radiološkog gubitka kosti (16). Osim toga, postoje čvrsti dokazi kako parodontitis ima negativan utjecaj na kliničku sliku većeg broja sustavnih bolesti ili stanja u organizmu, poput šećerne bolesti (17), povećanog rizika za krvožilne bolesti zbog pojačanog stvaranja aterosklerotskih plakova (18, 19) i negativnog utjecaja na trudnoću (20). Etiopatogeneza parodontitisa shematski je prikazana na Slici 1.

Simbiotska mikrobiota



Vanjski čimbenici:
starenje, dijeta,
sustavne bolesti,
pušenje



Produkti
razgradnje tkiva

Disbiotična mikrobiota



Aktivacija imunološkog
odgovora

Zdravi parodont



Parodontitis



Slika 1. Patogeneza parodontitisa.

Sustav klasificiranja parodontnih i periimplantatnih stanja ključan je ne samo u kliničkom radu zbog dijagnosticiranja i provođenja plana terapije, nego i u znanosti kako bi znanstvenicima pomogao u istraživanju etiologije bolesti, patološke prirode i definiranju najboljeg postupka liječenja.

Godine 1989. Svjetska radionica za klasifikaciju parodontnih i periimplantatnih stanja i bolesti definira da parodontitis ima različite kliničke manifestacije s promjenjivim stopama progresije. Tako je parodontitis kategoriziran kao prepubertetni, juvenilni (lokalizirani i generalizirani), adultni i brzo progredirajući parodontitis (4).

Godine 1993. Europska radionica predložila je preinaku kako bi pojednostavila prethodnu kategorizaciju te je podijelila parodontitis na adultni parodontitis i parodontitis koji počinje u ranoj dobi (*early onset*) (21).

Bitnije promjene klasifikacije dogodile su se 1999. godine kada je uspostavljena klasifikacija koja je bila u upotrebi sve do 2017. godine. Tada se parodontitis klasificirao kao kronični, agresivni (lokalizirani i generalizirani), nekrotizirajući i parodontitis kao manifestacija sistemske bolesti (22, 23).

Godine 2017. razvija se nova klasifikacija na temelju zaključaka Svjetske radionice za klasifikaciju parodontnih i periimplantatnih stanja i bolesti (24). Zajednički zaključak bio je da se parodontitis dijeli u tri oblika:

1. nekrotizirajući parodontitis (25);
2. parodontitis kao manifestacija sistemske bolesti (26);
3. parodontitis (24, 27).

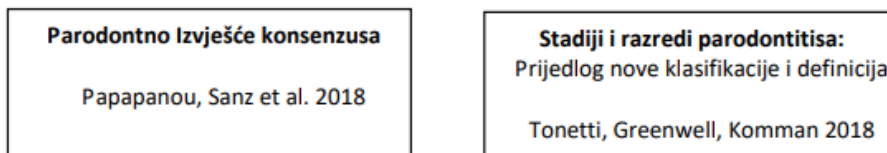
Dogovor Svjetske radionice za klasifikaciju parodontnih i periimplantatnih stanja i bolesti bio je da će se parodontitis nadalje dijeliti sustavom stadija i razreda kako bi se ubuduće lako mogle implementirati nove promjene (28). Stadiji određuju trenutnu težinu bolesti kao i složenost terapijskog postupka u liječenju, a razredi daju dodatne podatke o biološkim karakteristikama bolesti i povijesti bolesti s obzirom na razinu uznapreovalosti te rizik za daljnju progresiju bolesti (21, 24, 28).

Postoje četiri kategorije za stadij (od 1 do 4) i određuju se tako da se uzima u obzir dubina sondiranja, gubitak pričvrstka, postotak gubitka kosti, pojava anguliranih koštanih defekata i zahvaćenost furkacija te mobilnost ili gubitak zuba zbog razloga povezanih s parodontitisom.

Podjela u razrede temelji se na trima kategorijama:

- razred A – niski rizik;
- razred B – umjereni rizik;
- razred C – visoki rizik za napredovanje bolesti.

Ta kategorizacija uzima u obzir sve aspekte koji su povezani s napredovanjem parodontitisa, dakle opće zdravstveno stanje pacijenta koje uključuje i rizične čimbenike, poglavito pušenje i dijabetes. Kategorizacija razreda omogućava kliničaru povezati individualne čimbenike pacijenta u sveopću kliničku sliku što je jedino i ispravno u izradi terapijskog plana odnosno skrbi (16, 24, 28 – 30). Pregledni prikaz nove klasifikacije parodontitisa iz 2017. godine predstavljen je na Slici 2, a kriteriji za određivanje stadija i razreda parodontitisa prikazani su u Tablicama 1 i 2.



OBLICI PARODONTITISA

1. Nekrotizirajuće parodontne bolesti

Herrera et al. 2018

- a. Nekrotizirajući gingivitis
- b. Nekrotizirajući parodontitis
- c. Nekrotizirajući stomatitis

2. Parodontitis kao manifestacija sistemskih bolesti

Jepsen, Caton et al. 2018, Consensus Rept

Albandar et al. 2018

Klasifikacija ovakvih stanja treba biti zasnovana na primarnoj sistemskoj bolesti prema Međunarodnoj statističkoj klasifikaciji bolesti i udruženih zdravstvenih tegoba.

3. Parodontitis

Fine et al. 2018

Needleman et al. 2018

Billings et al. 2018

- a. **Stadiji:** Zasnovani na težini bolesti i kompleksnosti liječenja
Stadij I: Inicijalni parodontitis
Stadij II: Umjereni parodontitis
Stadij III: Uznapredovali parodontitis s vjerojatnošću dodatnog gubitka zuba
Stadij IV: Uznapredovali parodontitis s vjerojatnošću gubitka denticije
- b. **Opseg i rasprostranjenost:** lokalizirani; generalizirani; zahvaćenost molar-sjekutić
- c. **Razredi:** Dokazi ili rizik za brzu progresiju, očekivani odgovor na terapiju
 - i. Razred A: Spora stopa progresije
 - ii. Razred B: Umjerena stopa progresije
 - iii. Razred C: Ubrzana stopa progresije

Slika 2. Nova klasifikacija parodontitisa iz 2017. godine (prilagođeno prema 24).

Tablica 1. Stadiji parodontitisa.

Stadij parodontitisa		Stadij I	Stadij II	Stadij III	Stadij IV
Težina	Interdentalni CAL na mjestu najvećeg gubitka	1 do 2 mm	3 do 4 mm	≥5 mm	≥5 mm
	Radiološki gubitak kosti	Koronalna trećina (<15 %)	Koronalna trećina (15% do 33 %)	Proteže se do srednje ili apikalne trećine korijena	Proteže se do srednje ili apikalne trećine korijena
	Gubitak zuba	Nema gubitka zuba uslijed parodontitisa		Gubitak zuba uslijed parodontitisa ≤4 zuba	Gubitak zuba uslijed parodontitisa ≥5 zuba
Složenost	Lokalno	Maksimalna dubina sondiranja ≤4 mm. Uglavnom horizontalan gubitak kosti	Maksimalna dubina sondiranja ≤5 mm. Uglavnom horizontalan gubitak kosti	Uz složenost stadija II: <ul style="list-style-type: none"> dubina sondiranja ≥6 mm; vertikalni gubitak kosti ≥3 mm; prisutnost furkacije 2. ili 3. stupnja; umjereni defekt grebena. 	Uz složenost stadija III: potreba za kompleksnom rehabilitacijom zbog: <ul style="list-style-type: none"> žvačne disfunkcije; sekundarne okluzalne traume (stupanj mobilnosti zuba ≥2); ozbiljnog defekta grebena; kolapsa zagriža, pomicanja zuba, lepezastog širenja zuba; manje od 20 preostalih zuba (10 nasuprotnih parova).
Opseg i distribucija	Dodati stadiju bolesti kao opis	Za svaki stadij opisati opseg bolesti kao lokaliziran (<30% zuba zahvaćeno), generaliziran ili kutnjak/sjekutić tip			

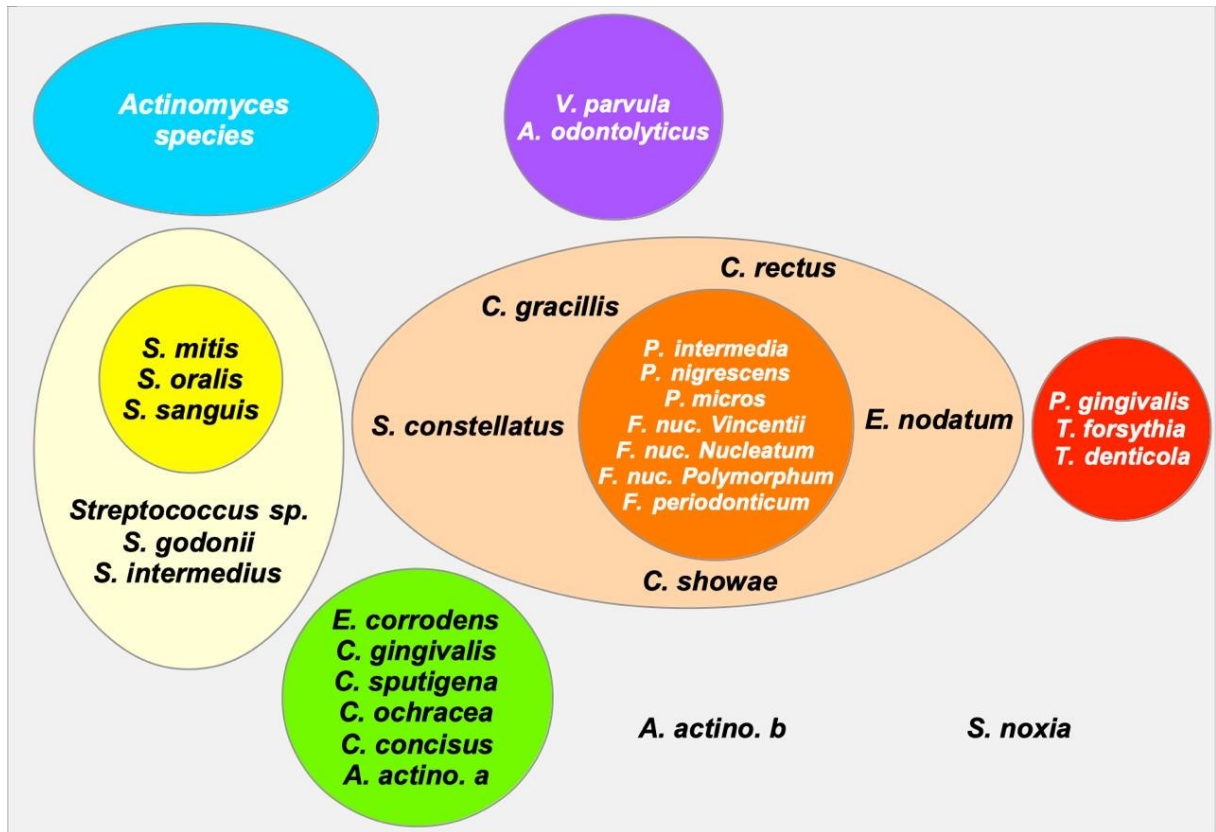
Tablica 2. Razredi parodontitisa.

Razred parodontitisa			Razred A: sporo napredovanje	Razred B: umjereno napredovanje	Razred C: brzo napredovanje
Glavni kriterij	Izravan dokaz napredovanja	Longitudinalni podaci (radiološki gubitak kosti ili CAL)	Dokaz da nema gubitka tijekom 5 godina	<2 mm tijekom 5 godina	≥2 mm tijekom 5 godina
	Neizravan dokaz napredovanja	% gubitka kosti/dob	<0,25	0,25 do 1,00	>1,0
		Tip fenotipa	Velike količine biofilma s niskom razinom destrukcije	Destrukcija proporcionalna s količinom biofilma	Nerazmjer između destrukcije i količine biofilma; specifična klinička slika koja upućuje na periode brzog napredovanja (npr. kutnjak/sjekutić tip; izostanak očekivanog odgovora na standardnu terapiju kontrole bakterija)
Modifikatori razreda	Faktori rizika	Pušenje	Nepušač	< 10 cigareta dnevno	≥10 cigareta dnevno
		Dijabetes	Normoglikemija / nema dijagnoze dijabetesa	HbA1c <7,0 % kod pacijenata s dijabetesom	HbA1c ≥7, % kod pacijenata s dijabetesom

1.1.3. MIKROBIOLOŠKI UZROČNICI I POJAVA PARODONTNE BOLESTI

U usnoj šupljini nalazi se velik broj bakterija koje pripadaju oko 700 različitih bakterijskih vrsta ili filotipova. Mnoge od ovih vrsta nije moguće uzgojiti u staničnoj kulturi, stoga su otkrivene molekularnim tehnikama neovisnim o kultivaciji. Bakterije usne šupljine pretežito nalazimo u nakupinama i to u obliku biofilma koji se sastoji od više bakterija uloženi u matriksu od polisaharida i vode (31). Zubni plak jedan je od najsloženijih oblika biofilma u prirodi. Specifičnost biofilma sastoji se u tome da omogućuje složenoj organizaciji bakterija međusobnu komunikaciju putem tzv. *quorum sensinga* te naposljetku dovodi do sve veće otpornosti na antibiotike (31 – 35). U zdrave osobe postoji prirodna ravnoteža između oralne mikrobiote i imunološkog sustava domaćina. Nalazi se tipična iako raznolika bakterijska flora u zdravoj usnoj šupljini, a to su vrste *Gemella*, *Granulicatella*, *Streptococcus* i *Veillonella*. Međutim, ona je posve različita kada se uspoređuje s florom oralnih bolesti kao što su karijes i parodontitis (15, 36, 37). Socransky i sur. definirali su bakterijske komplekse koji sudjeluju u parodontnoj bolesti (38). Podjela se temelji na zajedničkim patogenetskim osobinama određenih bakterija koje su svrstane u šest skupina po bojama (Slika 3). U plavom kompleksu nalazi se rod *Actinomyces*, u žuti kompleks spadaju bakterije roda *Streptococcus*, zeleni kompleks uključuje vrstu *Capnocytophaga*, *A. actinomycetemcomitans* tipa A, *E. corrodens* i *Campylobacter concius*, dok ljubičasti kompleks čine *V. parvula* i *Actinomyces odontolyticus*. Bakterije iz tih kompleksa spadaju u rane kolonizatore te omogućavaju rast i razmnožavanje pretežno Gram-negativnih narančastih i crvenih kompleksa. Narančasti kompleks sastoji se od *C. rectus*, *Campylobacter gracilis*, *E. nodatum*, *F. nucleatum*, *C. showae*, *F. periodonticum*, *P. nigrescens*, *S. constellatus*, *P. micra* i *P. intermedia*, dok se crveni kompleks sastoji od *T. forsythia*, *P. gingivalis* i *T. denticola*. Te bakterije glavni su uzročnici parodontitisa i nalaze se u subgingivalnim uzorcima kod pacijenata koji boluju od parodontitisa (24, 38 – 40).

Parodontitis je multifaktorijalna bolest te osim bakterija odlučujuću ulogu u egzacerbaciji bolesti svakako imaju osjetljivost domaćina koja utječe na intenzitet upalne reakcije u tkivima parodonta te životne navike pojedinca (41, 42).



Slika 3. Bakterijski kompleksi koji sudjeluju u parodontnoj bolesti prema autorima Socransky i sur. (prilagođeno prema 38).

1.1.4. INICIJALNA NEKIRURŠKA TERAPIJA

Cilj liječenja kod pacijenata koji boluju od parodontitisa je kontrola upale odnosno smanjenje ukupnog broja parodontopatogenih bakterija u usnoj šupljini, uspostava zdravih životnih navika kao što je prestanak pušenja te motivacija za redovito i pravilno održavanje oralne higijene (43). Pravilna oralna higijena podrazumijeva adekvatno uklanjanje supragingivalnih naslaga tijekom svakodnevnih kućnih oralne higijene i redovite kontrole kod doktora dentalne medicine (44). Osim toga, kod pacijenta s parodontitisom potrebna je parodontološka terapija koja uvijek počinje sa subgingivalnom instrumentacijom struganjem i poliranjem korjenova kako bi se uklonile naslage i plak te time smanjila upala (16, 23, 42, 45, 46). Nekirurška parodontna terapija (NSPT, od engl. *non-surgical periodontal therapy*) zlatni je standard koji se pokazao učinkovitim u kontroli infekcije i sastoji se od triju točno definiranih postupaka: debridman, struganje i poliranje korjenova (16, 40, 47). Najnoviji sustavni pregledni članak autora Suvan i sur. o subgingivnoj instrumentaciji za liječenje parodontitisa procjenjuje ponderirani raspon smanjenja dubine džepa od 1,0 do 1,7 mm i udio zatvaranja džepa od 57 do 74% u 3 do 4 odnosno 6 do 8 mjeseci postignuto samo putem NSPT (48). Literatura pokazuje kako je NSPT izuzetno učinkovit postupak u kontroli kliničkih znakova upale, smanjenju dubine sondiranja i dobitku pričvrstka (24, 49 – 51). Međutim, sam postupak može biti zahtjevan i kompliciran jer potpuno odstranjivanje naslaga i kamenca s površine korjenova nije moguće (52, 53).

Odstranjivanjem plaka i subgingivnih naslaga smanjuju se klinički znakovi upale odnosno krvarenje pri sondiranju na 45% površina zuba (54). Literatura sugerira da se nakon NSPT dubina sondiranja smanjuje za 1,29 mm za džepove s početnom dubinom sondiranja od 5 do 6 mm odnosno do 2,2 mm za dublje džepove, dok dobitak kliničkog pričvrstka iznosi od 0,5 do 2,2 mm (50, 54, 55). Također, literatura sugerira da struganje i poliranje korjenova kod džepova s početnom dubinom sondiranja manjom od 4 mm dovodi do gubitka pričvrstka (56).

Primarni cilj NSPT svakako predstavlja zatvaranje džepova (engl. *pocket closure*) bez kliničkih znakova upale odnosno bez krvarenja pri sondiranju ili edema (16, 29, 48). Taj se pojam u suvremenoj literaturi koristi kao bitan prognostički pokazatelj uspješnosti parodontološke terapije i definira se kao željeni ishod NSPT, a podrazumijeva džep od 4 mm ili manje bez kliničkih znakova upale (40, 57, 58).

Postoje različiti protokoli provedbe NSPT kao što je terapija po kvadrantima gdje se u svakoj posjeti instrumentira jedan kvadrant usne šupljine ili tzv. *full-mouth protocol* što podrazumijeva

da se cijela nekirurška terapija obavi unutar 24 sata. Međutim, općeniti je zaključak da nema klinički bitnih razlika u ishodu među protokolima te da je NSPT i dalje zlatni standard u liječenju parodontitisa bez obzira na protokol (24, 48, 59).

Iako NSPT značajno smanjuje broj parodontnih patogena, može se dogoditi ponovno uspostavljanje početne parodontopatogene flore ubrzo nakon provedbe terapije. Manje patogene bakterije mogu se rekolonizirati u roku od nekoliko tjedana, a patogene bakterije u roku od nekoliko mjeseci (36, 60).

Rekolonizacija parodontopatogenih bakterija javlja se i kada se uz NSPT koriste različiti sistemski i lokalni pripravci uključujući sistemske i lokalne antibiotike, antiseptike, probiotike, laser, statine, omega-6 i omega-3 masne kiseline, ozon i epigenetsku terapiju (24, 61 – 63). Najnovije upute o liječenju parodontitisa u stadijima 1 – 3 ne opravdavaju korištenje dodataka NSPT, osim za sistemske antibiotike i lokalne pripravke s klorheksidinom (29).

Upotreba sistemskih antibiotika ima značajnu kliničku vrijednost kada se koristi kao dodatak NSPT. Međutim, poteškoće uzrokuje sve veća otpornost bakterija čija pojava nije ograničena na parodontologiju i dentalnu medicinu, već predstavlja opće zdravstveni problem u širem smislu (64 – 66). Osim toga, dugotrajno korištenje sistemskih antibiotika negativno utječe i na druge organske sustave u tijelu te se javljaju nuspojave kao što su mučnina, promjena okusa te bubrežne ili jetrene disfunkcije što ograničava indikaciju za korištenje antibiotika (67). Meta-analize pokazuju kako dolazi do dodatnog smanjenja dubine sondiranja od 0,52 mm i dodatnog dobitka kliničkog pričvrstka od 0,48 mm kod pacijenata koji su uz NSPT uzimali i kombinaciju antibiotika amoksicilina i metronidazola (68, 69).

Jentsch i sur. u svojem *split-mouth* istraživanju ispitivali su utjecaj derivata caklinskog matriksa kao dodatka koji se nakon reevaluacije uštrcavao u rezidualne džepove. Mjesta koja su primila derivate caklinskog matriksa pokazala su statistički značajno veći postotak zatvorenih džepova u odnosu na kontrolnu skupinu koja je primila placebo (69% u eksperimentalnoj skupini i 34% u kontrolnoj skupini nakon 6 mjeseci) (70).

Također, literatura pokazuje da derivati caklinskog matriksa kao dodatka NSPT ne pokazuju statistički značajno poboljšanje ishoda NSPT što je u skladu s velikom heterogenošću podataka o ishodima parodontološke terapije s primjenom dodataka (71 – 73).

Podaci koji se navode u literaturi o upotrebi antiseptika kao dodatka NSPT nedvosmisleno ukazuju kako nema statističkih značajnih razlika u odnosu na NSPT bez dodataka (40). Upotreba pripravaka na bazi klorheksidina nije pokazala dodatno poboljšanje u ishodima NSPT (51) ili su poboljšanja bila minimalna. Pri tome se učestalo javljaju nuspojave primjene klorheksidina poput promjene okusa ili diskoloracije površine zubi i protetskih radova (74).

Upotreba lokalnih antibiotika pokazala se učinkovitim kod rezidualnih džepova koji ne reagiraju na NSPT (75). Lokalni pripravci pokazuju manji stupanj nuspojava u odnosu na sistemske lijekove i mogu se koristiti kao zamjena za kiruršku terapiju (76, 77). Lokalni antibiotici kao što su doksiciklin ili minociklin statistički značajno poboljšavaju ishod NSPT u vidu dobitka kliničkog pričvrstka za 0,3 mm (78, 79). Randomizirano kliničko istraživanje pokazalo je kako lokalni pripravci na bazi klorheksidina poboljšavaju ishod NSPT u vidu dobitka kliničkog pričvrstka za 0,4 mm, dok je dobitak kliničkog pričvrstka kod antibiotika iznosio 0,64 mm za pripravke na bazi doksiciklina i 0,24 mm za pripravke na bazi minociklina (50).

Meta-analiza randomiziranih kliničkih istraživanja (59, 80) koja su ispitivala utjecaj probiotika kao dodatka NSPT pokazala su statistički značajnu razliku u poboljšanju kliničkog dobitka pričvrstka od 0,42 mm i u dodatnom smanjenju dubine sondiranja za 0,18 mm za džepove do 5 – 6 mm odnosno 0,67 mm za dublje džepove u odnosu na NSPT bez dodatka probiotika (56).

Istraživanje autora Eick i sur. koje je ispitivalo utjecaj hijaluronske kiseline kao dodatka NSPT pokazuje kako je nakon 3 mjeseca došlo da poboljšanja svih parodontoloških parametara u eksperimentalnoj skupini koja je primila preparat hijaluronske kiseline (73). Nakon 3 mjeseca, smanjenje dubine sondiranja u eksperimentalnoj skupini bilo je 1,08 mm, a u kontrolnoj skupini 0,74 mm (73).

Također, pregledni rad autora Eliezer i sur. koji je analizirao utjecaj hijaluronske kiseline kao dodatka NSPT pokazuje da postoji statistički značajna razlika u poboljšanom smanjenju dubine sondiranja za 0,36 mm i dodatnom dobitku kliničkog pričvrstka za 0,73 mm kod pacijenata koji su primili dodatak (81).

Zbog sve veće otpornosti bakterija na antibiotike i antiseptike ili zbog njihove neučinkovitosti, interes liječnika prebacio se na alternativne metode liječenja. Jedna od tih metoda je upotreba meda koji se već stoljećima koristi u mnogim kulturama (82, 83). Od 1990. godine intenzivirala su se istraživanja usmjerena na djelovanje meda pri čemu je osobiti interes bio usmjeren na

njegova antibakterijska svojstva i potencijal za liječenje infekcija uzrokovanih bakterijama otpornim na antibiotike (84). To je dovelo do medicinske upotrebe Manuka meda za koji se pokazalo da ima iznimna antibakterijska svojstva (82, 83, 85, 86).

Bitno je naglasiti da unatoč iznimnoj učinkovitosti NSPT postoje određena ograničenja terapije koja su ovisna o mjestima u usnoj šupljini (jednokorijenski ili višekorijenski zubi) te o bolestima i navikama pojedinca (87). Kod pušača su ishodi NSPT značajno lošiji, literatura pokazuje da postotak zatvorenih džepova opada za 30% (88). Štoviše, nakon NSPT značajno će više pušača (42,8%) u odnosu na nepušače (11,5%) imati potrebu za dodatnim terapijskim postupcima vezanim uz terapiju zaostatnih džepova dubljih od 6 mm nakon reevaluacije (89). Vjerojatnost zatvaranja džepova kod zuba s određenim stupnjem zahvaćenosti furkacije tri puta je veća kod nepušača (90). Stoga je iznimno bitno u terapiji parodontitisa naglasiti važnost prestanka pušenja (91, 92). Očekuje se potpuno zatvaranje džepova kod početne dubine sondiranja do 5 mm i taj postotak opada što je početna dubina sondiranja veća (93).

1.2. MANUKA MED

Med se koristi stoljećima. Ljudi su uvidjeli njegova blagotvorna svojstva osobito kada se nanosio na rane, opekline i ulkuse. Od 60-ih godina prošlog stoljeća upotreba meda pala je u drugi plan zbog široke upotrebe antibiotika (94, 95). Kako se počela javljati sve veća otpornost bakterija na antibiotike, interes za alternativne metode liječenja postajao je sve veći. Med je prirodna tvar koja potječe od biljnog nektara i peludi, a proizvode ga pčele vrsta *Apis mellifera*. Kompleks je 70 različitih spojeva, od čega su najzastupljeniji ugljikohidrati odnosno fruktoza i glukoza te voda. Ovi sastojci sačinjavaju više od 99% sastava meda. Ostale sastavnice koje čine 1% sastava su aminokiseline, fenoli, enzimi, mineralne tvari, vitamini i derivati klorofila. Med ima iznimnu antibakterijsku, virucidnu i fungicidnu aktivnost (96, 97). Današnja istraživanja koja ispituju djelovanje meda pretežito se fokusiraju na jednu specifičnu vrstu, Manuka med (98). To je endemska vrsta meda koju proizvode pčele (*Apis mellifera*) u Australiji i Novom Zelandu iz cvjeta biljke *Leptospermum scoparium* (99, 100).

Peter Molan sa Sveučilišta Waikato iz Novog Zelanda bio je prvi koji je počeo istraživati svojstva Manuka meda i uvidio je njegovo antibakterijsko djelovanje. Pokazao je da čak i mala koncentracija meda djeluje baktericidno (85, 95, 100, 101). Literatura navodi da sve vrste meda imaju u određenoj mjeri antimikrobnu aktivnost koja se temelji na visokoj koncentraciji šećera, niskoj pH vrijednosti i na vodikovom peroksidu koji nastaje nakon enzimske razgradnje glukoze djelovanjem enzima glukoze oksidaze (99). Međutim, sam vodikov peroksid izuzetno je osjetljiv na temperaturne promjene i na enzimsku aktivnost katalaze. Uz to, koncentracija vodikovog peroksida kod Manuka meda niža je u usporedbi s ostalim vrstama meda te zbog toga nije bio očigledan mehanizam kojim Manuka med djeluje antibakterijski (102). Godine 2008. dva neovisna laboratorija otkrila su specifičnu antibakterijsku aktivnost kod Manuka meda tj. neperoksidaznu aktivnost (NPA) koja se temelji na komponenti zvanj metilglioksal (102). Jedino je kod Manuka meda prisutna molekula metilglioksala koja se pokazala kao vrlo efikasni baktericid, virucid te fungicid i nije osjetljiva na promjenu temperature niti na enzimsku aktivnost (99, 101, 103). Manuka med posebno se istaknuo jer se pokazao iznimno efikasnim protiv bakterija otpornih na antibiotike (103). Aktivna supstanca Manuka meda, metilglioksal, nastaje nakon kemijske reakcije dehidratacije dihidroksiacetona, molekule prisutne u nektaru biljke *Leptospermum scoparium* (104, 105). Metilglioksal reagira nespecifično prema molekulama DNA, RNA ili proteinima što bi sugeriralo da je toksičan prema stanicama domaćina; međutim, istraživanja nisu to pokazala (105). Naprotiv,

metilglioksal je pokazao vrlo jak protuupalni i regenerativni učinak na stanice domaćina (84). Upravo antibakterijski učinak Manuka meda korelira s gore spomenutom NPA za koju je definirana klasifikacija odnosno patentirana mjerna skala naziva *Unique Manuka Factor* (UMF) (95, 98). Klasifikacija se temelji na usporedbi antibakterijske aktivnosti Manuka meda i otopine fenola (% *w/v*) za određenu antibakterijsku aktivnost (95, 106). Vrijednost UMF uobičajeno se navodi na pakiranjima komercijalnih pripravaka Manuka meda (Slika 4).



Slika 4. Komercijalni Manuka med.

Primarni cilj istraživanja bio je procijeniti učinkovitost medicinskog Manuka meda kao nadopune NSPT izraženu kao postotak zatvorenih džepova.

Sekundarni ciljevi bili su procijeniti učinak dopunske terapije Manuka medom na kliničke parametre parodontne bolesti (recesija gingive, krvarenje pri sondiranju, dubina sondiranja, plak indeks) te analizirati zastupljenost specifičnih parodontopatogena kao što su *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Parvimonas micra* te *Filifactor alocis*.

Nul hipoteza glasi da upotreba medicinskoga Manuka meda kao dodatka inicijalnoj parodontnoj terapiji ne utječe na sljedeće ishode liječenja parodontnih džepova:

- postotak zatvorenih džepova;
- recesija gingive;
- krvarenje pri sondiranju;
- dubina sondiranja;
- plak indeks;
- zastupljenost parodontopatogenih bakterija.

3. MATERIJALI I METODA

3.1. PLAN ISTRAŽIVANJA

Ovo istraživanje osmišljeno je kao unicentrično, trostruko slijepo randomizirano kliničko istraživanje koje uspoređuje djelovanje Manuka meda kao dodatka NSPT naspram NSPT bez uporabe Manuka meda. Ispitanici su bili praćeni 3 mjeseca.

Istraživanje se provodilo na Zavodu za parodontologiju Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Istraživanje je odobreno od Etičkog povjerenstva Stomatološkog fakulteta dana 13.9.2019. (05-PA-30-IX-9/2019).

Istraživanje je provedeno poštujući etičke standarde Helsinške deklaracije.

Proizvodi potrebni da bi se istraživanje obavilo, Manuka med (Pocket Protect, CleverCool B.V., Lijnden, Nizozemska) i placebo proizvod (Pocket protect, Clevercool, Nizozemska), donirani su od proizvođača, međutim sam proizvođač nije bio uključen u planiranje istraživanja, prikupljanje niti u analizu podataka. Istraživači nisu imali sukob interesa.

3.2. ISPITANICI

Ispitanici su bili pacijenti upućeni na Zavod za parodontologiju Stomatološkog fakulteta u Zagrebu u svrhu parodontnog liječenja. Nakon što su preliminarno pregledani uz uzimanje opće medicinske anamneze proširene na podatke relevantne za istraživanje, obaviješteni su o planu i ciljevima istraživanja. Nakon razgovora s istraživačem i potpisivanja informiranog pristanka pristupilo se kliničkom parodontnom pregledu. Ukoliko je ispitanik zadovoljavao kriterije za uključivanje, započinjalo se s protokolom; ako je pak bio prisutan neki od čimbenika za isključivanje, podaci su se spremili u ispitanikov parodontološki karton, a ispitanik nije regrutiran za istraživanje.

Ispitanike su činili pacijenti Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu koji su zaprimljeni na Zavod za parodontologiju i kojima je dijagnosticiran parodontitis stadija III te im je bila potrebna parodontološka inicijalna terapija.

Kriteriji za uključivanje bili su sljedeći:

- starost iznad 18 godina;
- dijagnoza parodontitisa stadija III;
- džepovi dubine 6 i više mm na više od 30% zuba;
- muški ili ženski rod;
- bilo koja rasa ili nacionalnost;
- prisutnost najmanje 20 zuba.

Kriteriji za isključivanje bili su sljedeći:

- nekrotizirajuća parodontna bolest;
- parodontitis povezan sa sustavnim bolestima;
- pacijenti na antibioticima i/ili protuupalnim lijekovima koji bi mogli interferirati s tkivnim odgovorom gingive;
- pacijenti koji su uzeli antibiotike manje od 6 mjeseci prije početka terapije;
- prisutnost sustavnih bolesti ili uzimanje lijekova koji utječu na cijeljenje rane;
- pušači koji konzumiraju >10 cigareta dnevno, uzimanje droga i/ili alkoholizam;
- dijabetes, trudnoća, dojenje;
- terapija antikoagulansima;
- virusne infekcije usne šupljine;
- mobilnost zuba;
- uzimanje bisfosfonata (Actonel, Fosamax, Boniva, Aredia, Zometa);
- pacijenti koji su prethodno bili podvrgnuti radioterapiji zbog tumora glave i vrata;
- pacijenti u ortodontskoj terapiji;
- pacijenti koji nisu sposobni shvatiti ili pridržavati se uputa ispitivača;
- pacijenti s alergijom na pelud ili med.

3.3. PROCJENA POTREBNE VELIČINE UZORKA

Na temelju sličnih istraživanja autora Graziani i sur. te Wennstrom i sur., procijenjena je potrebna veličina uzorka od 19 ispitanika po skupini. Uz uračunavanje očekivanog gubitka pacijenata od 10%, određena je veličina uzorka od $n=21$ po skupini. Analiza snage temeljila se na očekivanoj detekciji razlike klinički relevantnog prosječnog smanjenja dubine sondiranja od 0,5 mm između skupina pod pretpostavkom da zajednička standardna devijacija iznosi 0,6 mm. Veličina uzorka procijenjena je kako bi se na razini značajnosti od 0,05 ostvarila statistička snaga od minimalno 80% (107, 108).

3.4. ISHODI ISTRAŽIVANJA

3.4.1. KLINIČKA MJERENJA

Dijagnozu parodontitisa odredio je kalibrirani ispitivač nakon kliničkog i radiološkog pregleda pacijenta. Sva klinička mjerenja provedena su ravnom parodontološkom sondom (UNC-15, Hu-Friedy, Chicago, IL, SAD).

Izmjereni klinički parametri bili su dubina parodontnog džepa (PPD, od engl. *periodontal probing depth*), recesija gingive (REC), klinički razina pričvrstka (CAL, od engl. *clinical attachment level*), krvarenje pri sondiranju (BOP, od engl. *bleeding on probing*) i plak indeks (PI). Mjerilo se na šest mjesta na svakom zubu (distobukalno, bukalno, meziobukalno, distolingvalno, lingvalno i meziolingvalno).

Dubina parodontnih džepova (PPD) je mjerenje razmaka između marginalne gingive i dna sulkusa korištenjem parodontnih sondi pri pritisku od 0,25 N, a izražava se u milimetrima.

Krvarenje pri sondiranju (BOP) je indeks upale te dihotomno mjerilo prisutnosti ili odsutnosti krvarenja nakon sondiranja. Postotak mjernih mjesta s krvarenjem pri sondiranju sulkusa/džepova (FMBS od engl. *full mouth bleeding score*) izračunao se ovisno o vrijednostima BOP prema formuli $FMBS = (\text{broj pozitivnih mjesta} / \text{broj svih mjernih mjesta}) \times 100$ (109).

Recesija gingive (REC) je razmak između marginalne gingive i caklinsko-cementne granice u milimetrima mjerenjem parodontnom sondom.

Indeks plaka (PI) je indikator higijene pacijenta te je dihotomno mjerilo prisutnosti ili odsutnosti plaka. Postotak površina zahvaćenih plakom na svim zubima (FMPS, od engl. *full mouth plaque score*) izračunao se ovisno o plak indeksu prema formuli $FMPS = (\text{broj pozitivnih mjesta} / \text{broj svih mjernih mjesta}) \times 100$ (110).

3.4.2. MIKROBIOLOŠKA ANALIZA

Za mikrobiološku detekciju osam bakterija (*Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Parvimonas micra*, *Filifactor alocis*) korištena je metoda lančane reakcije polimeraze (engl. *polymerase chain reaction*, PCR) (LabOral Diagnostics, Nizozemska). Brisevi su uzeti s četiriju najdubljih mjesta svakog kvadranta prema preporuci proizvođača i to u sljedeća tri vremenska intervala: (I) neposredno prije subgingivne instrumentacije te s istih mjesta (II) nakon 7 dana i (III) nakon 3 mjeseca. Mjesto uzorka očišćeno je od supragingivalnih naslaga, osušeno te se uz pomoć papirnato štapića iz sterilnog pakiranja uzeo uzorak. Sterilni štapić uveo se u sulkus 10 sekundi te se nakon toga uskladištio u sterilnu epruvetu. Svi uzorci uzeti iz četiriju kvadranta stavljeni su u istu epruvetu te poslani isti dan na mikrobiološku analizu.

3.4.3. PSIHOMETRIČKO TESTIRANJE

Analiza utjecaja parodontitisa odnosno statusa parodontne bolesti na kvalitetu života ispitanika i procjena dobrobiti nakon terapije provedena je pomoću psihometričkih testiranja upitnikom. Upitnik koji se koristio bio je *Oral Health Impact Profile-14* (OHIP-14) na hrvatskom jeziku (Tablica 3). Ispitanici su autonomno ispunjavali anketu u zasebnoj prostoriji nakon što su dobili upute od ispitivača. Upitnik se sastojao od 14 pitanja i ispitanik je zaokružio brojke prema Likertovoj skali od 0 do 4 (0-nikada, 1-gotovo nikada, 2-povremeno, 3- često, 4-jako često) (111).

Tablica 3. OHIP-14 upitnik

Molimo zaokružite odgovarajući broj na ljestvici 0-4 za sljedeća pitanja:

0-nikada; 1-gotovo nikada; 2-povremeno; 3-često; 4-jako često

1.	Jeste li imali ili imate poteškoća pri izgovaranju riječi zbog problema sa zubima, ustima, čeljustima ili protetskim radom?	0 1 2 3 4
2.	Jeste li osjetili ili osjećate neugodan okus zbog problema sa zubima, ustima, čeljustima ili protetskim radom?	0 1 2 3 4
3.	Jeste li imali ili imate jake bolove u ustima?	0 1 2 3 4
4.	Je li vam bilo ili vam je nelagodno jesti pojedinu vrstu hrane zbog problema sa zubima, ustima, čeljustima ili protetskim radom?	0 1 2 3 4
5.	Jeste li razmišljali o vašim zubima, ustima, čeljustima ili vašim protetskim radovima?	0 1 2 3 4
6.	Osjećate li tjeskobu zbog problema sa zubima, ustima, čeljustima ili zbog protetskog rada?	0 1 2 3 4
7.	Smatrate li da vam je prehrana nezadovoljavajuća zbog problema sa zubima, ustima, čeljustima ili zbog protetskog rada?	0 1 2 3 4
8.	Jeste li morali prekidati obrok zbog problema sa zubima, ustima, čeljustima ili zbog protetskog rada?	0 1 2 3 4
9.	Je li vam se teže opustiti zbog problema sa zubima, ustima, čeljustima ili zbog protetskog rada?	0 1 2 3 4
10.	Jeste li se osjećali imalo neugodno zbog problema sa zubima, ustima, čeljustima ili zbog protetskog rada?	0 1 2 3 4
11.	Jeste li bili razdražljivi prema drugima zbog problema sa zubima, ustima, čeljustima ili zbog protetskog rada?	0 1 2 3 4
12.	Jeste li imali problema u obavljanju svakodnevnih poslova zbog problema sa zubima, ustima, čeljustima ili zbog protetskog rada?	0 1 2 3 4
13.	Smatrate li da vam život pruža manje zadovoljstva zbog problema sa zubima, ustima, čeljustima ili zbog protetskog rada?	0 1 2 3 4
14.	Je li vam se dogodilo da uopće ne funkcionirate zbog problema sa zubima, ustima, čeljustima ili zbog protetskog rada?	0 1 2 3 4

3.4.4. VREMENSKI INTERVALI EVALUACIJE

Mjerenje kliničkih parametara i uzimanje uzorka za mikrobiološku analizu provedeno u sljedeće tri vremenske točke:

(T0) – Početna evaluacija, prije terapije:

- uzimanje mikrobioloških briseva;
- mjerenje parodontoloških indeksa (PPD, REC, CAL, BOP, PI);
- ispitanik ispunjava OHIP-14 anketu.

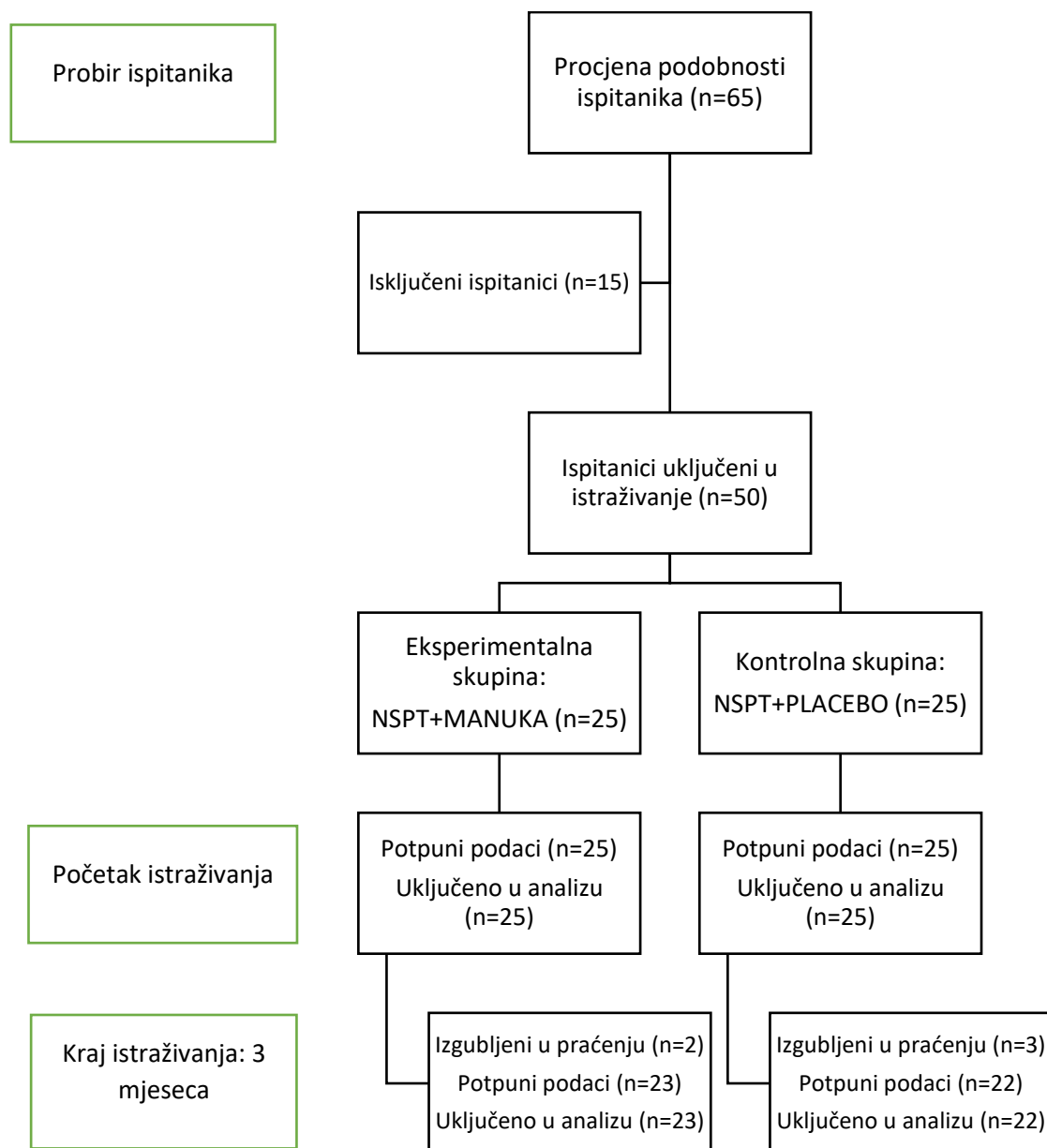
(T1) – 7 dana nakon terapije:

- uzimanje mikrobioloških briseva.

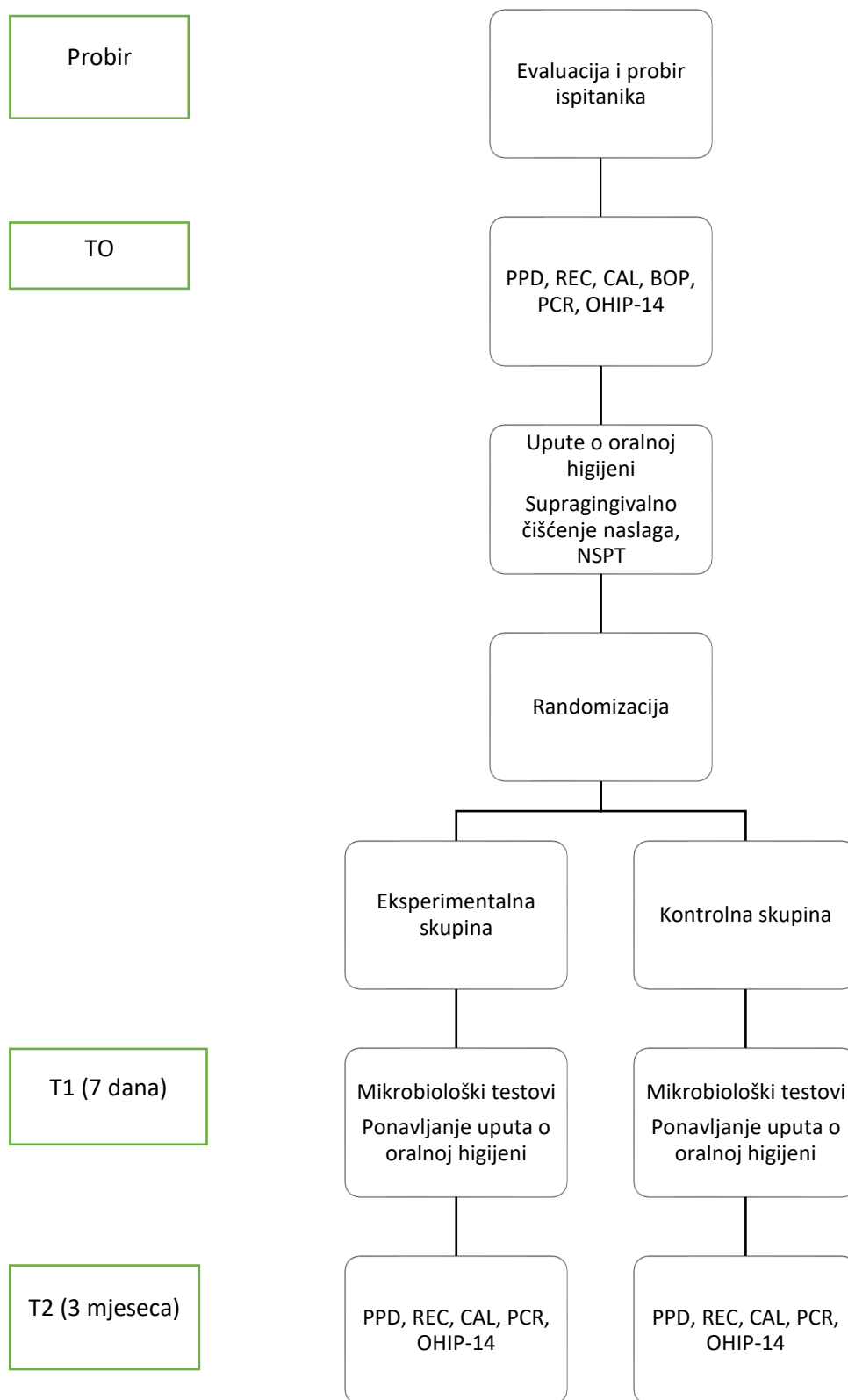
(T2) – 3 mjeseca nakon terapije:

- uzimanje mikrobioloških briseva;
- mjerenje parodontoloških indeksa (PPD, REC, CAL, BOP, PI);
- ispitanik ispunjava OHIP-14 anketu.

Raspodjela ispitanika prema skupinama prikazana je na Slici 5, a postupci provođenja parodontološke terapije i mjerenja prikazani su na Slici 6.



Slika 5. Raspodjela ispitanika prema skupinama.



Slika 6. Dijagram tijeka za eksperimentalni protokol.

3.5. UPUTE ZA ODRŽAVANJE ORALNE HIGIJENE

Nakon prvog pregleda ispitanici koji su uključeni u istraživanje prošli su temeljitu evaluaciju početnog stanja svoje oralne higijene i supragingivalno poliranje površine zuba.

Nakon toga terapeut je ispitanicima verbalno pojasnio na koji je način potrebno održavati oralnu higijenu. Detaljno su objašnjene tehnika četkanja te upotreba interdentalnih četkica. Pacijentima je zabranjeno korištenje vodica za ispiranje tijekom trajanja istraživanja. Nakon verbalnog objašnjenja, ispitanici su reproducirali tehnike četkanja i upotrebe interdentalne četkice. Ispitanici su morali koristiti interdentalnu četkicu jedanput dnevno (navečer) te zubnu četkicu srednje tvrdoće dvaput na dan (ujutro/navečer).

Tek kada je ispitanik savladao sve upute, provedeno je subgingivalno čišćenje.

3.6. NEKIRURŠKA INICIJALNA TERAPIJA

NSPT je proveden prema standardiziranom protokolu od strane jednog operatera. Svi ispitanici dobili su jednake upute o održavanju oralne higijene. Subgingivalno struganje i poliranje provedeno je pomoću ultrazvučnog skidača kamenca (Piezon, E.M.S. Electro Medical Systems S.A., Nyon, Švicarska) s uskim nastavkom (PS) i Gracey kiretama (BioGent, Hu-Friedy, Chicago, IL, SAD). Svim ispitanicima administrirana je lokalna anestezija (Ubistesin 40 mg/mL + 0,005 mg/L, 3M, Seefeld, Njemačka) zbog kontrole boli. Instrumentirana su sva mjesta s dubinom sondiranja od ≥ 5 mm.

Cjelokupna instrumentacija završavala se u razdoblju od 5 dana.

3.7. PLACEBO I MANUKA

Po završetku NSPT, u džepove se aplicirao pripravak Manuka meda (Pocket Protect, CleverCool B.V., Lijnden, Nizozemska; Slika 7) ili placebo preparat (Pocket protect, Clevercool, Nizozemska). Način apliciranja pripravka bio je pomoću posebno dizajnirane štrcaljke koja je imala identičan izgled za Manuka i placebo skupinu. Pripravak se aplicirao u sve džepove (dubina ≥ 4 mm) kako je preporučeno od proizvođača tako da se posebnom kanilom istiskivala dovoljna količina pripravka do trenutka kada je izlazila iz sulkusa. Ispitanicima nije bilo dopušteno konzumirati hranu niti piće 30 minuta nakon aplikacije. Ispitanici su imali obavezu prijaviti bilo kakvu nuspojavu.



Slika 7. Komercijalni pripravak Manuka meda za primjenu u parodontologiji.

3.8. RANDOMIZACIJA ISPITANIKA

Svaki ispitanik koji je u skladu s uključnim i isključnim kriterijima regrutiran za istraživanje dobio je računalno generirani kod. Nakon inicijalne nekirurške parodontološke terapije, neovisni suradnik u istraživanju otvorao je zapečaćene omotnice u kojima je pisalo Manuka ili placebo čime su ispitanici randomizirani u eksperimentalnu i kontrolnu skupinu. Podatak o pripadnosti skupini naveden je pod šifrom pacijenta. Ispitivači i statističar nisu bili upoznati s podacima o razvrstavanju pacijenata u eksperimentalnu i kontrolnu skupinu do samog kraja istraživanja odnosno završetka statističke analize.

Od početnih 65 ispitanika za koje je procijenjeno da bi mogli biti kandidati, 15 ispitanika nije bilo uključeno jer nisu ispunjavali ključne kriterije. Istraživanje je započeto s 50 ispitanika, a uslijed gubitka 5 ispitanika u praćenju, završeno je s 45 ispitanika od koji su 23 razvrstana u skupinu tretiranu Manuka medom (eksperimentalna skupina), a 22 u placebo skupinu (kontrolna skupina). Tijekom istraživanja nije bilo prijavljenih nuspojava na upotrebu Manuka meda ili placebo preparata.

3.9. STATISTIČKA ANALIZA

Normalnost distribucije podataka ispitana je procjenom normalnih Q-Q dijagrama. Ukoliko su podaci zadovoljavali pretpostavku normalnosti distribucije, učinjene su parametrijske statističke analize. U suprotnom su provedeni neparametrijski ekvivalenti.

Udjeli ispitanika prema spolu uspoređeni su između eksperimentalne i kontrolne skupine hi-kvadrat testom. Dob ispitanika i broj prisutnih zuba uspoređeni su između eksperimentalne i kontrolne skupine pomoću t-testa za nezavisna opažanja.

Usporedbe između eksperimentalne i kontrolne skupine za parodontološke parametre (PPD, FMPS, FMBS, REC, CAL) učinjene su pomoću mješovitog modela analize varijance (ANOVA) pri čemu su usporedbe među vremenskim točkama unutar svake od skupina tretirane kao ponavljana mjerenja, a usporedbe među skupinama u određenoj vremenskoj točki smatrane su nezavisnim mjerenjima. Varijable promjene parodontoloških parametara između vremenskih točaka također su tretirane kao nezavisna opažanja.

Udjeli parodontnih džepova koji su prema dubini razvrstani u kategorije „plitki“ (≤ 4 mm), „umjereno duboki“ (5 i 6 mm) i „jako duboki“ (> 6 mm) uspoređeni su između kategorija hi-kvadrat testom uz z-test i Bonferroni prilagodbu za višestruke usporedbe.

Udjeli zatvorenih džepova nakon 3 mjeseca uspoređeni su hi-kvadrat testom između eksperimentalne i kontrolne skupine za sve džepove zajedno, a zatim su provedene analize podskupina u kojima su usporedbe provedene s obzirom na početne vrijednosti PPD od 5, 6, 7 i 8 mm. Dodatna analiza podskupina provedena je uz podjelu na jednokorijenske/višekorijenske zube, uz podjelu džepova s obzirom na početne vrijednosti PPD od 5, 6, 7 i 8 mm.

OHIP-14 vrijednosti uspoređene su između eksperimentalne i kontrolne skupine pomoću mješovitog modela ANOVA-e kao što je prethodno opisano za parodontološke parametre. Usporedbe među vremenskim točkama unutar pojedine skupine predstavljale su ponavljana mjerenja, a usporedbe među skupinama u određenoj vremenskoj točki analizirane su kao nezavisna opažanja.

Rezultati mikrobiološke analize (brojevi parodontopatogenih bakterija) su log-transformirani i uspoređeni između eksperimentalne i kontrolne skupine mješovitim modelom ANOVA-e. Usporedbe među skupinama predstavljale su nezavisna opažanja, a usporedbe između vremenskih točaka unutar svake skupine tretirane su kao ponavljana mjerenja.

Za statističku analizu korišten je softverski paket SPSS, verzija 25 (IBM, Armonk, NY, SAD). Sve analize provedene su na razini značajnosti od 0,05.

4. REZULTATI

4.1. DEMOGRAFSKI PODACI ISPITANIKA

Demografski podaci ispitanika koji su uključeni u istraživanje prikazani su u Tablici 4.

Nije bilo statistički značajnih razlika u demografskim karakteristikama kod ispitanika (spol, dob i broj zuba). U skladu s prethodno definiranim kriterijima, pušači nisu bili uključeni u istraživanje.

Tablica 4. Demografski podaci (spol, dob i broj zubi). Kvantitativni podaci izraženi su kao aritmetička sredina \pm 1 standardna devijacija.

	NSPT+MANUKA	NSPT+PLACEBO	p-vrijednosti
Spol (broj muški/ženski) [udio]	9/14 [40%/60%]	11/11 [50%/50%]	0,463
Dob (godine)	44.6 \pm 8.4	44.5 \pm 10,3	0,982
Broj zuba	28,4 \pm 2,1	28,1 \pm 2,4	0,653

NSPT: inicijalna ne-kirurška terapija

4.2. PARODONTOLOŠKI PARAMETRI

4.2.1. DUBINA SONDIRANJA (PPD)

Vrijednost PPD na početku i nakon 3 mjeseca te rezultati usporedbi među skupinama (kontrolna, eksperimentalna) prikazani su u Tablici 5. Nije bilo statistički značajnih razlika u početnim vrijednostima među skupinama.

Terapija je pokazala statistički značajno smanjenje vrijednosti PPD u objema skupinama nakon 3 mjeseca ($p < 0,001$). U eksperimentalnoj skupini početna vrijednost bila je 3,63 mm, a nakon 3 mjeseca smanjena je na 2,56 mm. U kontrolnoj skupini početna vrijednost bila je 3,47 mm, a nakon 3 mjeseca smanjena je na 2,60 mm.

Statistički značajna razlika između skupina opažena je za smanjenja dubine sondiranja nakon 3 mjeseca ($p < 0,001$). U eksperimentalnoj skupini izmjereno je smanjenje PPD nakon 3 mjeseca od 1,07 mm, a u kontrolnoj skupini smanjenje PPD iznosilo je 0,87 mm.

Tablica 5. PPD na početku istraživanja i nakon 3 mjeseca. Sve vrijednosti izražene su kao aritmetička sredina \pm 1 standardna devijacija.

	Vrijeme	NSPT+MANUKA	NSPT+PLACEBO	p-vrijednosti
PPD (mm)	Početak	3,63 \pm 2,11	3,47 \pm 2,11	< 0,001
	3 mjeseca	2,56 \pm 1,41	2,60 \pm 1,67	0,188
	Δ 0–3 mjeseca	1,07 \pm 1,4	0,87 \pm 1,28	< 0,001

NSPT: inicijalna ne-kirurška terapija; PPD: dubina sondiranja

4.2.2. KATEGORIJE DUBINA DŽEPOVA

Postoci umjerenom dubokih ($\leq 4, 5$ i 6 mm) i jako dubokih džepova (> 6 mm) prikazani su u Tablici 6. Nije bilo statistički značajne razlike između eksperimentalne i kontrolne skupine niti za jednu početnu vrijednost.

Početni udio mjesta s dubinom sondiranja od ≤ 4 mm u eksperimentalnoj skupini iznosio je 68,0%, a u kontrolnoj skupini 69,7%. Udio mjesta s dubinom sondiranja između 5-6 mm u eksperimentalnoj skupini bio je 23,2%, a u kontrolnoj skupini 21,1%, dok je postotak mjesta s početnom dubinom sondiranja od > 6 mm u eksperimentalnoj skupini iznosio 8,8%, a u kontrolnoj 9,2%.

Nakon 3 mjeseca, udjeli mjesta s dubinom sondiranja od ≤ 4 mm povećali su se u objema skupinama, ali bez statistički značajne razlike među skupinama (92,7% u eksperimentalnoj skupini naspram 89,5% u kontrolnoj skupini). S druge strane, statistički značajne razlike opažene su između eksperimentalne i kontrolne skupine za udjele dubokih ($p=0,021$) i jako dubokih džepova ($p<0,001$). Udio dubokih džepova (između 5 – 6 mm) u eksperimentalnoj skupini (6,4%) bio je statistički značajno niži od udjela u kontrolnoj skupini (8,2%), dok je za jako duboke džepove (s dubinom sondiranja od > 6 mm) kod eksperimentalne skupine udio iznosio 0,9% što je također bilo statistički značajno manje nego u kontrolnoj skupini (2,3%).

Tablica 6. Postoci džepova ovisno o dubini na početku istraživanja i nakon 3 mjeseca.

	Vrijeme	NSPT+MANUKA	NSPT+PLACEBO	p-vrijednosti
% mjesta s PPD ≤ 4 mm	Početak	68,0	69,7	0,483
	3 mjeseca	92,7	89,5	0,271
% mjesta s PPD [5-6] mm	Početak	23,2	21,1	0,133
	3 mjeseca	6,4	8,2	0,021
% mjesta s PPD > 6 mm	Početak	8,8	9,2	0,689
	3 mjeseca	0,9	2,3	$<0,001$

NSPT: inicijalna ne-kirurška terapija; PPD: dubina sondiranja

4.2.3. PLAK I UPALA GINGIVE

Vrijednosti plaka i upale gingive (u nastavku FMPS i FMBS) na početku i nakon 3 mjeseca te rezultati usporedbi među skupinama prikazani su u Tablici 7.

FMBS se statistički značajno smanjio nakon 3 mjeseca u objema skupinama. Nakon NSPT i detaljnih uputa o načinu održavanja oralne higijene značajno se smanjilo krvarenje odnosno upala nakon sondiranja. U eksperimentalnoj skupini početne vrijednosti FMBS bile su 76,1%, a nakon 3 mjeseca smanjene su na 31,27% ($p < 0,001$). U kontrolnoj skupini početne vrijednosti FMBS bile su 69,64%, a nakon 3 mjeseca smanjene su na 36,98%.

FMPS se također statistički značajno smanjio nakon parodontološke obrade i uputa o oralnoj higijeni. Ispitanici su značajno smanjili razinu plaka od početnih vrijednosti u eksperimentalnoj skupini s 83,10% na 45,17%. U kontrolnoj skupini početne vrijednosti bile su 76,82%, a nakon 3 mjeseca iznosile su 38,37%.

Smanjenje FMBS nakon 3 mjeseca bilo je statistički značajno izraženije ($p = 0,040$) kod eksperimentalne skupine (44,87%) nego kod kontrolne skupine (32,66%), dok se promjena FMPS nakon 3 mjeseca nije statistički značajno razlikovala između eksperimentalne i placebo skupine ($p = 0,946$).

Tablica 7. Vrijednosti plaka i krvarenja pri sondiranju na početku i nakon 3 mjeseca. Sve vrijednosti izražene su kao aritmetička sredina \pm 1 standardna devijacija.

	Vrijeme	NSPT+MANUKA	NSPT+PLACEBO	p-vrijednosti
FMPS (%)	Početak	83,10 \pm 22,48	76,81 \pm 22,47	0,353
	3 mjeseca	45,17 \pm 20,27	38,37 \pm 15,73	0,217
	Δ 0–3 mjeseca	37,94 \pm 30,49	38,44 \pm 16,43	0,946
FMBS (%)	Početak	76,14 \pm 14,37	69,64 \pm 22,84	0,257
	3 mjeseca	31,27 \pm 15,24	36,98 \pm 19,97	0,286
	Δ 0–3 mjeseca	44,87 \pm 17,28	32,66 \pm 21,36	0,040

NSPT: inicijalna ne-kirurška terapija; FMPS: postotak mjernih mjesta s pristnosti plaka; FMBS: postotak mjernih mjesta s krvarenjem pri sondiranju sulkusa/džepova

4.2.4. RECESIJE (REC)

Vrijednosti recesija na početku istraživanja i nakon 3 mjeseca te rezultati usporedbi među skupinama prikazane su u Tablici 8. Iako su se vrijednosti recesija statistički značajno razlikovale između eksperimentalne i kontrolne skupine u objema vremenskim točkama, razlike su bile reda veličine 0,1 mm i kao takve klinički zanemarive.

Nakon 3 mjeseca došlo je do očekivanog povećanja vrijednosti recesije u objema skupinama (0,20 mm u eksperimentalnoj i 0,19 mm u kontrolnoj skupini), međutim bez statistički značajne razlike među skupinama ($p=0,695$).

Tablica 8. Vrijednosti recesija na početku istraživanja i nakon 3 mjeseca. Sve vrijednosti izražene su kao aritmetička sredina \pm 1 standardna devijacija.

	Vrijeme	NSPT+MANUKA	NSPT+PLACEBO	p-vrijednosti
REC (mm)	Početak	0,36 \pm 0,88	0,26 \pm 0,82	<0,001
	3 mjeseca	0,56 \pm 1,13	0,46 \pm 1,03	<0,001
	Δ 0–3 mjeseca	0,20 \pm 0,79	0,19 \pm 0,62	0,695

NSPT: inicijalna ne-kirurška terapija; REC: recesija

4.2.5. KLINIČKA RAZINA PRIČVRSTKA (CAL)

Vrijednosti CAL na početku istraživanja i nakon 3 mjeseca prikazane su u Tablici 9. Početne vrijednosti CAL između eksperimentalne i kontrolne skupine (3,99 mm naspram 3,72 mm) statistički su se značajno razlikovale ($p < 0,001$), međutim takva razlika bila je od niskog kliničkog značaja s obzirom na nisku apsolutnu vrijednost (0,27 mm).

Nakon 3 mjeseca CAL vrijednosti u eksperimentalnoj skupini iznosile su 3,12 mm, a u kontrolnoj skupini 3,06 mm, bez statistički značajne razlike među skupinama ($p = 0,181$).

Statistička značajna razlika između skupina opažena je za dobitak pričvrstka nakon 3 mjeseca ($p < 0,001$) pri čemu je eksperimentalna skupina imala značajno veći dobitak pričvrstka (0,87 mm) od kontrolne skupine (0,67 mm).

Tablica 9. Vrijednosti kliničke razine pričvrstka na početku i nakon 3 mjeseca. Sve vrijednosti izražene su kao aritmetička sredina \pm 1 standardna devijacija.

	Vrijeme	NSPT+MANUKA	NSPT+PLACEBO	p-vrijednosti
CAL (mm)	Početak	3,99 \pm 2,37	3,72 \pm 2,37	<0,001
	3 mjeseca	3,12 \pm 1,89	3,06 \pm 2,11	0,181
	Δ 0–3 mjeseca	0,87 \pm 1,47	0,67 \pm 1,35	<0,001

NSPT: inicijalna ne-kirurška terapija; CAL: klinička razina pričvrstka

4.2.6. POSTOTAK ZATVORENIH DŽEPOVA

Postoci zatvorenih džepova nakon 3 mjeseca te rezultati usporedbi između eksperimentalne i kontrolne skupine prikazani su u Tablici 10.

Nakon 3 mjeseca opažena je statistički značajna razlika ($p < 0,001$) u većem postotku zatvorenih džepova u eksperimentalnoj skupini (78,8%) u usporedbi sa 69,0% kod ispitanika koji su primili placebo.

Pri podjeli džepova s obzirom na početnu dubinu sondiranja, statistički značajna razlika u postotku zatvorenih džepova između eksperimentalne i kontrolne skupine opažena je za džepove dubine 6 - 8 mm, dok za džepove dubine 5 mm nije bilo statistički značajne razlike. Pri tome je eksperimentalna skupina imala značajno veće udjele zatvorenih džepova od kontrolne, kako slijedi:

- kod početne PPD od 6 mm: eksperimentalna skupina imala je 82,6% zatvorenih džepova naspram kontrolne skupine s 72,8% zatvorenih džepova ($p < 0,001$);
- kod početne PPD od 7 mm: eksperimentalna skupina imala je 68,2% zatvorenih džepova naspram kontrolne skupine s 54,4% ($p = 0,003$);
- kod početne PPD od 8 mm: eksperimentalna skupina imala je 62,0% zatvorenih džepova naspram kontrolne skupine s 33,9% ($p < 0,001$).

Također, u analizi u kojoj su jednokorijenski zubi promatrani odvojeno od višekorijenskih, statistički značajno veći udio u postotku zatvorenih džepova u eksperimentalnoj skupini opažen je za jednokorijenske zube s džepovima dubine od 6 – 8 mm, kako slijedi:

- kod jednokorijenskih zuba s početnom PPD od 6 mm: eksperimentalna skupina imala je 91,1% zatvorenih džepova, a kontrolna 76,6% ($p < 0,001$);
- kod jednokorijenskih zuba s početnom PPD od 7 mm: eksperimentalna skupina imala je 88,5% zatvorenih džepova, a kontrolna 63,7% ($p < 0,001$);
- kod jednokorijenskih zuba s početnom PPD od 8 mm: eksperimentalna skupina imala je 78,4% zatvorenih džepova, a kontrolna 34,7% ($p < 0,001$).

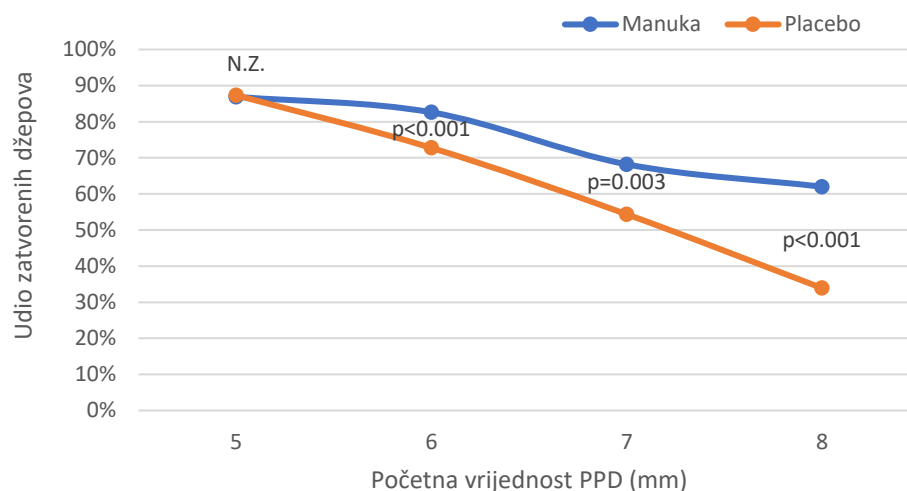
Analiza zatvaranja džepova kod višekorijenskih zuba nije pokazala statistički značajne razlike između eksperimentalne i kontrolne skupine ni za jednu početnu PPD ($p = 0,113 - 0,574$).

Tablica 10. Postotak zatvorenih džepova nakon 3 mjeseca.

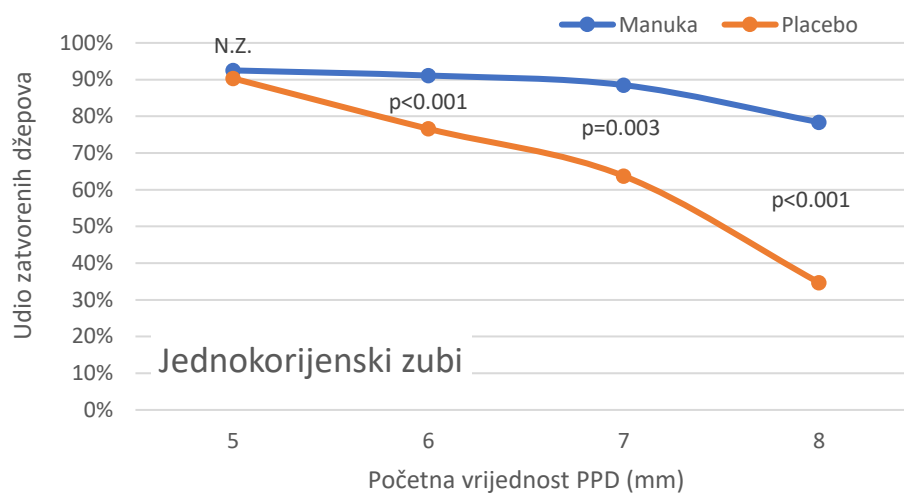
	Početna dubina džepa	NSPT+MANUKA	NSPT+PLACEBO	p-vrijednosti
% zatvorenih džepova	sve dubine	78,8	69,0	<0,001
	5 mm	86,9	87,3	0,619
	6 mm	82,6	72,8	<0,001
	7 mm	68,2	54,4	0,003
	8 mm	62,0	33,9	<0,001
% zatvorenih džepova jednokorijenskih zuba	5 mm	92,5	90,3	0,550
	6 mm	91,1	76,6	<0,001
	7 mm	88,5	63,7	<0,001
	8 mm	78,4	34,7	<0,001
% zatvorenih džepova višekorijenskih zuba	5 mm	78,1	82,8	0,252
	6 mm	70,5	68,2	0,553
	7 mm	50,0	46,2	0,574
	8 mm	47,4	33,3	0,113

NSPT: inicijalna ne-kirurška terapija

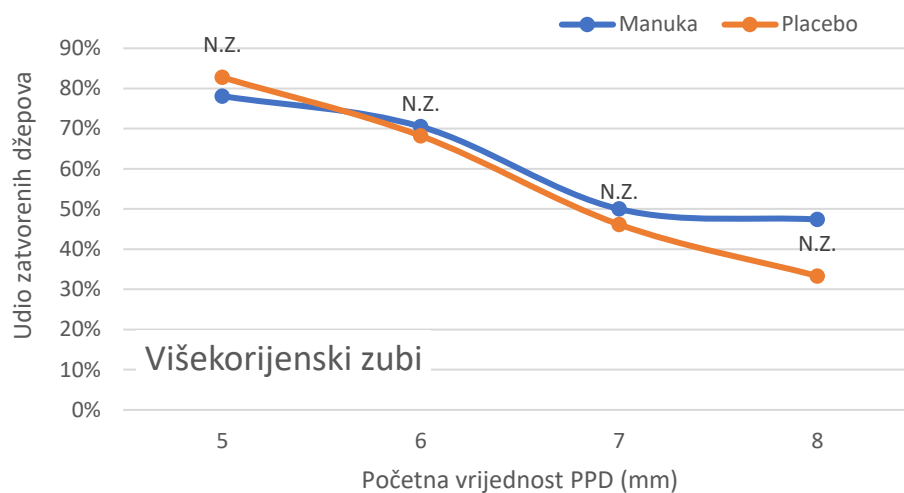
Usporedbe udjela zatvorenih džepova između eksperimentalne i kontrolne skupine s obzirom na početnu dubinu džepa grafički su prikazane na Slici 8. Na analogan način su na Slikama 9 i 10 prikazani rezultati analize u kojoj su jednokorijenski i višekorijenski zubi analizirani kao zasebne podskupine.



Slika 8. Usporedba udjela zatvorenih džepova između eksperimentalne i kontrolne skupine s obzirom na početnu dubinu sondiranja. Prikazane p-vrijednosti odnose se na usporedbe na razini pojedine početne dubine sondiranja. N.Z. = nije značajno na razini značajnosti od 0,05.



Slika 9. Analiza podskupine jednokorijenskih zuba. Usporedba udjela zatvorenih džepova između eksperimentalne i kontrolne skupine s obzirom na početnu dubinu sondiranja. Prikazane p-vrijednosti odnose se na usporedbe na razini pojedine početne dubine sondiranja. N.Z. = nije značajno na razini značajnosti od 0,05.



Slika 10. Analiza podskupine višekorijenskih zuba. Usporedba udjela zatvorenih džepova između eksperimentalne i kontrolne skupine s obzirom na početnu dubinu sondiranja. Prikazane p-vrijednosti odnose se na usporedbe na razini pojedine početne dubine sondiranja. N.Z. = nije značajno na razini značajnosti od 0,05.

4.2.7. OHIP-14

Vrijednosti OHIP-14 upitnika na početku i nakon 3 mjeseca te rezultati usporedbi među skupinama prikazani su u Tablici 11.

Nije bilo statistički značajne razlike među skupinama ni za jednu vremensku točku, međutim opaženo je statistički značajno smanjenje OHIP-14 vrijednosti izmjerenih nakon 3 mjeseca u usporedbi s početnim vrijednostima. Nakon terapije i poboljšanja parodontološkog statusa, OHIP-14 vrijednosti u eksperimentalnoj skupini smanjile su se od 19,57 na 11,48, a u kontrolnoj skupini s početnih vrijednosti od 19,41 na 14,73. Pri tome se iznosi smanjenja nisu statistički značajno razlikovali između eksperimentalne i kontrolne skupine ($p=0,251$).

Tablica 11. OHIP-14 vrijednosti.

OHIP-14	Vrijeme	NSPT+MANUKA	NSPT+PLACEBO	p-vrijednosti
	3 mjeseca	11,48±6,49	14,73±9,76	0,194
	Δ 0–3 mjeseca	8,09±11,13	4,68±8,23	0,251

NSPT: inicijalna ne-kirurška terapija

4.2.8. MIKROBIOLOŠKA ANALIZA

Primjer rezultata mikrobiološke analize prikazan je na Slici 11, a rezultati mikrobiološke analize provedene prije početka istraživanja te nakon tjedan dana i nakon tri mjeseca prikazani su u Tablici 12.

Our reference: PDT287625-en
Customer number: 50033

Stomatoloski fakultet, Zavod za parodontologiju
T.a.v. Prof. Darko Bozic
Gunduliceva 5
10000 Zagreb
Kroatië

007 (00-00-1984)

Periodontitis Dna Test	287625
Date definite	12-06-2019
Sampling date	24-05-2019

Results

Species	Count	Significance
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	-	-
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	2.8×10^4	+/-
<i>Prevotella intermedia</i>	6.7×10^6	++
<i>Tannerella forsythia</i>	4.8×10^6	++
<i>Parvimonas micra</i>	3.3×10^5	+
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	2.6×10^6	++
<i>Treponema denticola</i>	9.4×10^1	+/-
<i>Fillifactor alocis</i>	7.0×10^6	++

Microbiologic advice

compiled by Prof. Dr. A.J. van Winkelhoff / Prof. Dr. E.G. Winkel

Advies:

Microbiological findings:

We found *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* and *Treponema denticola* (red complex bacteria) as the major pathogens in the sample of this patient.

Diagnosis:

Advanced P. gingivalis/T.forsythia-associated periodontitis. The high supragingival plaque level causes elevated levels of *Prevotella intermedia* and/or *Fusobacterium nucleatum*.

Therapy advice:

A complete initial periodontal treatment, including supra- and subgingival debridement and improvement of the oral hygiene level, are necessary. After completion of the initial therapy and when the oral hygiene level is optimal, a metronidazole therapy (500 mg, 3x day, 7 days) may be considered, preferably after periodontal surgery on residual deep molar sites. Rinsing with chlorhexidine (2x/ day) during the antibiotic therapy to keep the supragingival plaque level low is advised.

Contra-indications for metronidazole prescription

1. pregnancy
2. lactation
3. neurological disorders
4. hypersensitivity towards nitro-imidazole compounds
5. alcohol use: note that alcohol consumption should be avoided during a metronidazole therapy

Antibiotica kunnen darmklachten veroorzaken, met name diarree. Plusbiotics is ontwikkeld om deze bijwerkingen te reduceren.

Meer informatie? www.plusbiotics.nl

Vleugelboot 2a
3991 CL Houten
Tel : 030-6361674
E-mail : info@labora.nl
Site : www.labora.nl

Slika 11. Primjer rezultata mikrobiološke analize.

Tablica 12. Rezultati mikrobiološke analize na početku istraživanja i nakon 3 mjeseca. Sve vrijednosti su log-transformirani brojevi bakterija \pm 1 standardna devijacija.

Vrsta bakterije	Vrijeme	NSPT+MANUKA	NSPT+PLACEBO	p-vrijednosti
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	Početak	6,16 \pm 0,39	4,14 \pm 1,88	0,047
	1 tjedan	4,02 \pm 0,97	4,14 \pm 1,56	0,915
	3 mjeseca	4,95 \pm 1,16	5,24 \pm 1,79	0,790
	Δ 0–1 tjedan	6,15 \pm 0,39	2,50 \pm 4,28	0,092
	Δ 0–3 mjeseca	6,06 \pm 0,41	1,02 \pm 5,26	0,016
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Početak	6,46 \pm 2,31	6,76 \pm 1,46	0,644
	1 tjedan	3,2 \pm 1,82	4,06 \pm 2,11	0,216
	3 mjeseca	3,42 \pm 1,28	4,48 \pm 2,27	0,092
	Δ 0–1 tjedan	5,85 \pm 3,42	4,53 \pm 4,94	0,335
	Δ 0–3 mjeseca	5,15 \pm 4,27	3,66 \pm 5,70	0,358
<i>Prevotella intermedia</i>	Početak	5,59 \pm 1,63	5,34 \pm 1,54	0,645
	1 tjedan	3,68 \pm 1,29	3,6 \pm 1,97	0,902
	3 mjeseca	3,51 \pm 1,03	5,23 \pm 0,86	<0,001
	Δ 0–1 tjedan	5,56 \pm 1,63	3,54 \pm 4,34	0,057
	Δ 0–3 mjeseca	5,58 \pm 1,62	1,76 \pm 5,52	0,005
<i>Tannerella forsythia</i>	Početak	6,79 \pm 0,62	6,15 \pm 0,90	0,011
	1 tjedan	3,55 \pm 1,49	3,23 \pm 1,27	0,473
	3 mjeseca	4,06 \pm 1,15	4,52 \pm 1,11	0,194
	Δ 0–1 tjedan	6,23 \pm 2,70	5,59 \pm 2,87	0,445
	Δ 0–3 mjeseca	6,75 \pm 0,64	4,74 \pm 4,06	0,023
<i>Parvimonas micra</i>	Početak	4,89 \pm 0,77	4,46 \pm 1,10	0,140
	1 tjedan	3,52 \pm 0,78	2,77 \pm 1,52	0,067
	3 mjeseca	3,38 \pm 1,08	3,55 \pm 1,46	0,678
	Δ 0–1 tjedan	4,83 \pm 0,86	3,67 \pm 2,89	0,069
	Δ 0–3 mjeseca	3,90 \pm 3,05	2,85 \pm 3,94	0,320
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Početak	5,67 \pm 0,81	5,37 \pm 1,29	0,353
	1 tjedan	3,89 \pm 0,85	3,6 \pm 1,19	0,356
	3 mjeseca	4,13 \pm 0,67	3,94 \pm 0,93	0,429
	Δ 0–1 tjedan	4,83 \pm 3,06	4,55 \pm 3,20	0,770
	Δ 0–3 mjeseca	4,86 \pm 2,94	3,85 \pm 4,07	0,343
<i>Treponema denticola</i>	Početak	4,31 \pm 1,91	3,77 \pm 1,97	0,603
	1 tjedan	1,82 \pm 0,49	0,59 \pm 0,69	0,020
	3 mjeseca	3,49 \pm 1,59	3,15 \pm 1,23	0,743
	Δ 0–1 tjedan	4,31 \pm 1,91	3,24 \pm 2,30	0,312
	Δ 0–3 mjeseca	3,87 \pm 2,86	3,35 \pm 2,77	0,726
<i>Filifactor alocis</i>	Početak	6,50 \pm 0,76	5,53 \pm 1,21	0,005
	1 tjedan	3,56 \pm 1,23	2,94 \pm 1,50	0,227
	3 mjeseca	3,63 \pm 1,04	3,69 \pm 1,63	0,907
	Δ 0–1 tjedan	6,49 \pm 0,77	4,89 \pm 3,02	0,025
	Δ 0–3 mjeseca	6,49 \pm 0,77	4,62 \pm 3,17	0,013

NSPT: inicijalna ne-kirurška terapija

Statistički značajno smanjenje broja bakterija u eksperimentalnoj skupini u odnosu na kontrolnu skupinu opaženo je za sljedeće bakterijske vrste (log-transformirani brojevi bakterija):

- *A. actinomycetemcomitans*: smanjenje od 6,06 u eksperimentalnoj skupini naspram smanjenja od 1,02 u kontrolnoj skupini nakon 3 mjeseca ($p=0,016$);
- *P. intermedia*: smanjenje od 5,58 u eksperimentalnoj skupini naspram smanjenja od 1,76 u kontrolnoj skupini nakon 3 mjeseca ($p=0,005$);
- *T. forsythia*: smanjenje od 6,75 u eksperimentalnoj skupini naspram smanjenja od 4,74 u kontrolnoj skupini nakon 3 mjeseca ($p=0,023$);
- *F. alocis*: smanjenje od 6,49 u eksperimentalnoj skupini naspram smanjenja od 4,89 u kontrolnoj skupini nakon 1 tjedna ($p=0,025$) i smanjenje od 6,49 u eksperimentalnoj skupini naspram smanjenja od 4,62 u kontrolnoj skupini nakon 3 mjeseca ($p=0,013$).

Za smanjenje broja ostalih bakterija nije bilo statistički značajne razlike između eksperimentalne i kontrolne skupine ni u jednom vremenskom razmaku.

5. RASPRAVA

Ovo istraživanje potaknuto je činjenicom da literatura pokazuje mnogobrojne pozitivne učinke Manuka meda u različite medicinske svrhe. Podaci sugeriraju da nakon topikalne primjene Manuka meda dolazi do ubrzanog cijeljenja rana kod liječenja ulkusa, opekotina i drugih kožnih infekcija (98). Dodatno, Manuka med utječe i na cijeljenje rana koje ne reagiraju na standardnu terapiju (npr. antibiotici i antiseptici) te se pokazao osobito učinkovitim kod zaraze meticilinotpornim *S. aureus* (112). Ubrzava regeneraciju oštećene sluznice crijeva, stimulira rast novog tkiva i djeluje protuupalno (112). Klinički rezultati pokazali su smanjenje simptoma upale kada se Manuka med aplicirao na rane (113); osobito primjena zavoja s Manuka medom pokazala se iznimno korisnom u kontroli rane zbog smanjenja upalnog eksudata (98).

Gore navedene činjenice sugeriraju da Manuka med ima povoljno antiseptičko i protuupalno djelovanje što je motiviralo ovo istraživanje u kojem je ispitan utjecaj Manuka meda kao dodatka NSPT. Rezultati su pokazali obećavajuće djelovanje kombinacije NSPT i Manuka meda u usporedbi s placebo skupinom u kojoj je parodontološka terapija bila provedena bez dodatka meda. Pokazalo se značajno izraženije poboljšanje parodontoloških parametara u usporedbi s placebom, smanjenje broja bakterija i, kao najbitniji podatak, veći postotak zatvorenih džepova u skupini koja je primila Manuka med te pozitivni utjecaj na kvalitetu života. U dostupnoj literaturi nije pronađeno niti jedno kliničko istraživanje u kojem se uspoređuje djelovanje Manuka meda kao dodatka u liječenju parodontitisa što ovo istraživanje čini prvim te vrste.

U istraživanju se koristio komercijalni pripravak Manuka meda koji sadrži kombinaciju meda i vodikovog peroksida kao nosača te ima ulogu razrjeđivanja meda. Iako bi se antibakterijski učinak pripravka mogao pripisati i vodikovom peroksidu, za sada ne postoje podatci koji bi to potvrdili. Naprotiv, rad autora Schmidlin i sur. pokazuje kako Manuka med ima veći antibakterijski učinak u odnosu na druge vrste meda koje svoju antibakterijsku aktivnost temelje na djelovanju peroksida (113), pogotovo Manuka med koji ima NPA vrijednost iznad 15. Nadalje, rad autora Wennstrom i sur. potvrdio je kako vodikov peroksid kao dodatak NSPT ne poboljšava ishode NSPT (108).

U literaturi postoji razmjerno malo radova u kojima se istražuje djelovanje Manuka meda na bakterije u usnoj šupljini, a posebice su malobrojna *in vivo* istraživanja. U jednom od relevantnih *in vitro* istraživanja provedenom od autora Safii i sur. ispitana je antimikrobna aktivnost Manuka meda na bakterije usne šupljine i demineralizirajuće djelovanje na površinu zuba (114). Analiza se temeljila na pronalaženju minimalne količine Manuka meda koja je

potrebna za baktericidno odnosno inhibitorno djelovanje na krvnom agaru, tj. minimalnu inhibitornu koncentraciju (MIC) odnosno minimalnu baktericidnu koncentraciju (MBC). Rad je pokazao kako postoji veliki antibakterijski potencijal Manuka meda, osobito prema Gram-negativnim anaerobnim bakterijama (48). Slični rezultati objavljeni su u radu autora Schmidlin i sur. u kojem je *in vitro* antimikrobni učinak Manuka meda uspoređen s ostalim vrstama meda protiv triju bakterija prisutnih u usnoj šupljini (*S. mutans*, *P. gingivalis* te *A. actinomycetemcomitans*) (113). Analizirala se antibakterijska aktivnost na krvnom agaru te su rezultati pokazali kako Manuka med ima jače antibakterijsko djelovanje u usporedbi s ostalim vrstama meda zahvaljujući neperoksidaznoj aktivnosti odnosno djelovanju metilglioksala, pri čemu je antibakterijsko djelovanje bilo osobito izraženo protiv *P. gingivalis* (113). Almasaudi i sur. ispitivali su efikasnost raznih vrsta meda protiv meticilin-rezistentnog soja bakterije *S. aureus* (MRSA) te je upravo Manuka med imao najjaču baktericidnu aktivnost, a opaženo je i povećanje baktericidnog djelovanja s porastom UMF (115). Pilot istraživanje autora Molan i sur. pokazalo je kako Manuka med ima pozitivan utjecaj na smanjenje količine plaka i pojavu gingivitisa u odnosu na kontrolnu grupu (koja nije koristila Manuka med) (116). Istraživanje autora Badet i Quero analiziralo je *in vitro* adheziju bakterija usne šupljine uz upotrebu Manuka meda različitih koncentracija na staklenoj površini te na površini od hidroksilapatita umočenoj u slinu (117). Rezultati su pokazali da Manuka med veće koncentracije metilglioksala ima mogućnost inhibiranja adhezije bakterija *S. mutans* (117). Sigrun i sur. usporedili su učinak Manuka meda i običnog meda na bakteriju *P. gingivalis* koja je jedna od važnijih parodontopatogenih bakterija (118). Istraživanje je pokazalo izuzetnu osjetljivost planktonskog oblika bakterije i potvrđena su antibakterijska svojstva Manuka meda (118). Jedino *in vivo* istraživanje o upotrebi Manuka meda u usnoj šupljini rad je autora Al-Khanatija i sur. koji su istražili učinak aplikacije Manuka meda u postekstrakcijsku alveolu nakon vađenja impaktiranog trećeg kutnjaka po pitanju postoperativne boli (119). Randomizirano *split-mouth* istraživanje pokazalo je kako se statistički značajno smanjila postkirurška bol na strani na kojoj se koristio Manuka med. To sugerira potencijalnu protuupalnu aktivnost meda (119).

Pregledom dosadašnje literature, unatoč njezinom ograničenom opsegu, uvidio se ogroman potencijal upotrebe Manuka meda u dentalnoj medicini zbog svoje iznimne antibakterijske i protuupalne učinkovitosti.

Rezultati preglednih radova i meta-analiza o utjecaju lokalnih antibiotičkih pripravaka kao dodatka NSPT koji su usporedivi s rezultatima ove disertacije u razdoblju praćenja od 6 do 9 mjeseci pokazali su statistički značajnu razliku u vidu smanjenja PPD (0,365 mm) i dobitka

pričvrstka (0,260 mm) (62). U vremenskom razdoblju od 12 do 60 mjeseci statistički značajna razlika opažena je jedino u vidu smanjenja PPD (0,190 mm).

Autori spomenutih preglednih radova naglašavaju da je heterogenost rezultata posljedica raznovrsnosti korištenih pripravaka i različitih metoda istraživanja. Naglašavaju da su najveće benefite pokazali pripravci s doksiciklinom ili tetraciklinom (42). Rezultati ove disertacije nakon 3 mjeseca pokazuju naglašenije povoljne ishode u smanjenju PPD (1,07 mm u eksperimentalnoj skupini odnosno 0,87 mm u kontrolnoj skupini) te dobitka pričvrstka (0,86 mm u eksperimentalnoj skupini i 0,67 mm u kontrolnoj skupini). Unatoč kratkotrajnom razdoblju praćenja od samo 3 mjeseca, rezultati ove disertacije pokazuju da Manuka med ima jednake ili bolje ishode parodontološke terapije u odnosu na lokalne antibiotike, a pri tome nema registriranih nuspojava.

Multicentrično kliničko *split-mouth* istraživanje autora Schallhorn i sur. koje je ispitivalo utjecaj derivata caklinskog matriksa kao dodatka NSPT na promjene razine pričvrstka, PPD i postotka zatvorenih džepova nakon 3, 6, 9 i 12 mjeseci pokazao je statistički značajnu razliku u poboljšanju svih navedenih parametra za eksperimentalnu i kontrolnu skupinu (120). Rezultati tog rada nakon 12 mjeseci pokazuju sljedeće promjene za sve džepove u eksperimentalnoj/kontrolnoj skupini: promjena razine pričvrstka 0,9 mm / 0,8 mm i smanjenje PPD 2,2 mm / 2,0 mm (120). Rezultati navedeni u prethodnom članku pokazuju da je statistički značajna razlika opažena nakon 3 mjeseca, dok ista nije bilo vidljiva između eksperimentalne i kontrolne skupine. Promjene razine pričvrstka nakon 3 mjeseca usporedive su s rezultatima ove disertacije, međutim smanjenje PPD veće je u rezultatima istraživanja autora Schallhorn i sur. To objašnjavamo uzimanjem u obzir samo džepova dubljih od 5 mm što je rezultiralo većim vrijednostima smanjenja PPD.

Poboljšanje parametra PPD i dobitka razine pričvrstka opaženo je i u istraživanju autora Eick i sur. koje je ispitivalo utjecaj hijaluronske kiseline kao dodatka NSPT (73). Poboljšanje je izmjereno nakon 3 mjeseca kod pacijenata koji su primili preparat hijaluronske kiseline.

Nakon 3 mjeseca smanjenje PPD u eksperimentalnoj skupini bilo je 1,08 mm, a u kontrolnoj skupini 0,74 mm. Rezultati su usporedivi s rezultatima ove disertacije. Dobitak pričvrstka nakon 3 mjeseca bio je 1,27 mm za eksperimentalnu skupinu i 1,00 mm za kontrolnu skupinu. Također su rezultati usporedivi s rezultatima ove disertacije što ide u prilog velikom potencijalu Manuka meda kao antibakterijskom, ali i regeneracijskom pripravku koji bi se mogao koristiti kao dodatak NSPT (73). Rezultati preglednog rada Eliezer i sur. o utjecaju hijaluronske kiseline

kao dodatka NSPT također su usporedivi s rezultatima ove disertacije kada se uspoređuje dodatno smanjenje dubine sondiranja (0,36 mm kod upotrebe hijaluronske kiseline odnosno 0,20 mm kod upotrebe Manuka meda) (81).

Kao bitan pokazatelj učinka Manuka meda analiziran je postotak zatvorenih džepova u razdoblju od 3 mjeseca. Pojam zatvoreni džep (engl. *pocket closure*) označava onaj džep koji nakon NSPT mjeri PPD od 4 mm ili manje, ali bez znakova upale odnosno krvarenja (70, 88, 121). Pregledni rad autora Citterio i sur. iz 2021. godine koji je imao kao cilj istražiti utjecaj NSPT na postotak zatvorenih džepova pokazuje da se nakon 12 mjeseci postotak džepova s dubinom sondiranja od ≤ 3 mm povećao s 39,06% na 64,11% (122). U istraživanju u okviru ove disertacije uzelo se u obzir vrijednosti od ≤ 4 mm te su se postoci mijenjali sa 68,0% na početku istraživanja do 92,7% nakon 3 mjeseca. Tu razliku objašnjavamo upravo dodatnim jednim milimetrom razlike.

Tu tezu potvrđuje još i podatak da je skupina koja je primila placebo pripravak imala postotak rezidualnih džepova nakon 3 mjeseca od ≥ 5 mm u vrijednosti od 11% što je potpuno isto podatku koji se navodi u radu (122), međutim u eksperimentalnoj skupini ta vrijednost iznosi 7,3% (122).

Rezultati ove disertacije pokazuju kako postoji razlika u ishodu terapije kada su se uzeli u obzir postoci zatvorenih džepova nakon 3 mjeseca ovisno o početnom PPD. U radu autora Tommasi i sur. također je uspoređen postotak zatvorenih džepova ovisno o početnoj dubini sondiranja te se njihove vrijednosti podudaraju s vrijednostima ove disertacije : 87% za početni PPD 5 mm, 85% za početni PPD 6 mm, 63% za početni PPD 7 mm i 36% za početni PPD 8 mm (88). Međutim, potrebno je istaknuti kako je skupina koja je primila Manuka med imala veći postotak zatvorenih džepova kod dubljih početnih PPD (68% za početni PPD od 7 mm odnosno 62% za početni PPD od 8 mm).

Sustavni pregled literature autora Suvan i sur. pokazuje kako nakon 6 do 8 mjeseci dolazi do 74% zatvorenih džepova (16). Podaci ove disertacije pokazuju kako je u kontrolnoj skupini nakon 3 mjeseca došlo do nešto manjeg postotka zatvorenih džepova (68%), međutim eksperimentalna skupina imala je 79% zatvorenih džepova.

Literatura oskudijeva kliničkim podacima o učinku Manuka meda, pogotovo u dentalnoj medicini te smatramo da podaci ove disertacije realno prikazuju mogućnosti koje pruža ta prirodna tvar. Zasiurno veliki broj ispitanika te zaslijepljenost istraživača u protokolu

istraživanja doprinose vjerodostojnosti podataka. Smatramo također da su potrebna još istraživanja koja bi potvrdila tu tezu, međutim Manuka med, zbog svojih svojstava, a uzevši u obzir da je prirodna tvar, trebao bi zauzeti mjesto u standardnoj primjeni tijekom NSPT.

Statistička analiza provedena je na razini pojedinih parodontnih mjesta što znači da je statističku jedinicu u svim analizama predstavljalo mjesto, a ne pacijent. Kada se pojedinačna mjesta smatraju statističkim jedinicama, stvarna veličina uzorka iznosi 7588 (45 ispitanika \times 28,104 zuba po ispitaniku u prosjeku \times 6 mjesta po zubu = ukupno 7588 mjesta). Izračunavanje vrijednosti promjene PPD i CAL te analiza dobivenih „vrijednosti promjena“ umjesto izvornih vrijednosti PPD i CAL izmjerenih u pojedinačnim vremenskim točkama omogućilo je postizanje veće statističke snage u usporedbama između eksperimentalne (NSPT + Manuka) i kontrolne (samo NSPT) skupine. Izračunavanjem razlika u vrijednostima PPD i CAL na razini pojedinačnog mjesta smanjuje se utjecaj heterogenosti među mjestima na statističku analizu, s obzirom da se „neto“ učinak izolira za svako mjesto i koristi za statističke usporedbe umjesto objedinjavanja izvornih PPD i CAL vrijednosti izmjerenih u pojedinačnim vremenskim točkama. Na taj se način može objasniti zašto su značajni učinci Manuka meda opaženi većinom za Δ PPD i Δ CAL varijable, a ne za izvorne PPD i CAL varijable.

Parodontitis ima veliki utjecaj na psihosocijalne aspekte života pojedinca. Pomičnost zubi, krvarenje, loš zadah, nelagoda tijekom interakcije s drugim pojedincima ili tijekom hranjenja te bol samo su neki od simptoma parodontitisa koji drastično smanjuju kvalitetu života (123, 124). Parodontološko zdravlje smatra se neizostavnim dijelom općeg zdravlja pojedinca. U dijagnozi i praćenju parodontoloških pacijenata koriste se mjerenja kao što su PI, BOP, PPD, REC i CAL (109, 125). Ta mjerenja neizostavni su dio kako svakodnevnog kliničkog rada tako i tijekom znanstvenih istraživanja. Ishodi koje prijavljuje pacijent također se koriste da bi se ispitala pacijentova percepcija i/ili mišljenje o vlastitoj bolesti i terapiji te načini na koje bolest i liječenje utječu na pacijenta (40, 126).

Svjetska zdravstvena organizacija kvalitetu života definira kao „osobno shvaćanje čovjekove pozicije u svakodnevici života, glede sadržaja kulture, glede odrednica zakona i prava, posebno glede mogućnosti realizacije svojih ciljeva i želja“. Ona je dinamična, može se vremenom mijenjati kao posljedica promjene zdravlja, socijalnih ili okolišnih čimbenika (127). Parametar *Oral health-related quality of life* (OHRQoL) spada u ishode koje prijavljuje pacijent. Ispituje se najčešće anketama ili upitnicima o općem stanju. Primjeri upitnika su *Oral Health Impact Profile-49 and -14* (OHIP-49 and OHIP-14), *Oral Impact on Daily Performance* (OIDP) i

Geriatric/General Oral Health Assessment Index (GOHAI). Dokazano je kako parodontitis ima velik utjecaj na kvalitetu života (14). Needleman i sur. također su naglasili kako postoji pozitivna sprega između vrijednosti OHRQoL te nastupa bolesti (128). NSPT značajno unapređuje OHRQoL, neovisno o pristupu liječenja (129). Pozitivan učinak parodontološke terapije (neovisno o primjeni Manuka meda) potvrđen je i u ovom istraživanju statistički značajnim smanjenjem OHIP-14 vrijednosti s 19,41 na 14,73 u kontrolnoj skupini odnosno s 19,57 na 11,48 u skupini dodatno tretiranoj Manuka medom. Unatoč većem smanjenju OHIP-14 vrijednosti u eksperimentalnoj skupini nego u kontrolnoj skupini, dobivene razlike nisu bile statistički značajne. Takav rezultat pokazuje da je sama parodontološka terapija imala izraženiji učinak na smanjenje OHIP-14 nego dodatna primjena Manuka meda. Međutim, nije isključena mogućnost opažanja statistički značajnih razlika ukoliko bi se slično istraživanje provelo na većem broju ispitanika čime bi se povećala statistička snaga.

Jedan od nedostataka ovog istraživanja, koji je karakterističan za sva klinička istraživanja, odnosi se na heterogenost biološkog odgovora pojedinih ispitanika zbog čega je bilo potrebno osigurati što veći uzorak kako bi se različitosti među ispitanicima barem djelomično poništile. Stoga je kao realističan uzorak odabrano ukupno 50 ispitanika ravnomjerno raspodijeljenih u kontrolnu ($n = 25$) i eksperimentalnu ($n = 25$) skupinu. Unatoč provođenju istraživanja za vrijeme pandemije uzrokovane COVID-19, u praćenju je izgubljeno samo 5 ispitanika, pri čemu je gubitak bio razmjerno ujednačen između kontrolne skupine (2 ispitanika) i eksperimentalne skupine (3 ispitanika). Takav gubitak predstavlja 8% od ukupnog broja ispitanika u kontrolnoj skupini odnosno 12% od ukupnog broja u eksperimentalnoj skupini i može se smatrati prihvatljivim za randomizirano kliničko istraživanje. S druge strane, istraživanja su pokazala kako se tijekom pandemije COVID-19 drastično smanjila briga za oralno zdravlje (130) pa je moguće da bi ishodi parodontološke terapije u objema skupinama bili još i bolji od opaženih u slučaju da su ispitanici provodili oralnu higijenu u optimalnijim uvjetima.

Potrebno je spomenuti i ograničenje mikrobiološke analize povezano s načinom uzorkovanja sadržaja džepova. Naime, prema uputi proizvođača mikrobiološkog testa, uzorci su uzeti iz četiriju najdubljih džepova svakog kvadranta, a zatim su sva četiri uzorka pohranjena u istu epruvetu i u tom obliku poslana na analizu. Miješanjem uzoraka iz četiriju džepova bakterijski sastav je uprosječen na razini kvadranta. Moguće je da su pojedini dublji džepovi sadržavali kvalitativno i kvantitativno drukčiju bakterijsku floru što je moglo doprinijeti sveukupno lošijem rezultatu kod pojedinog kvadranta unatoč manjem broju parodontopatogenih bakterija u ostalim džepovima. Miješanjem mikrobioloških uzoraka na razini kvadranta, džepovi s

najvećim brojem bakterija mogli su prikriti relativno manji broj bakterija u preostalim džepovima čime se u određenoj mjeri smanjuje specifičnost mikrobiološkog ispitivanja. Na taj se način mogu objasniti razlike u rezultatima mikrobiološke analize i parodontoloških parametara s obzirom na to da je mikrobiološka analiza provedena na razini kvadranta, a parodontološki su parametri mjereni na razini pojedinog mjesta.

S obzirom na stroge isključne kriterije, rezultati ovog istraživanja ne mogu se izravno generalizirati na opću populaciju. Isključivanjem pušača, trudnica i pacijenata sa sustavnim bolestima, izostavljen je značajan dio populacije s visokom pojavnošću parodontnih bolesti. Primjena isključnih kriterija bila je nužna kako bi se ostvarila bolja kontrola nad varijabilnošću ishoda kod pojedinih pacijenata i time bolje izolirao učinak Manuka meda kao dodatka NSPT, međutim u kontekstu nereprezentativnosti uzorka za opću populaciju potrebno je istaknuti kako povoljan učinak Manuka meda, koji je opažen kod razmjerno zdravih ispitanika izabranih temeljem strogih isključnih kriterija, ne mora nužno odražavati učinke koji bi se postigli u općoj populaciji. Osobito se drukčiji ishodi mogu očekivati kod pacijenata koji uz sustavne bolesti boluju i od parodontitisa bez obzira na to je li parodontitis povezan sa sustavnom bolešću ili se samo radi o komorbiditetu. S obzirom na rastući udio osoba starije životne dobi sa sustavnim bolestima u općoj populaciji, bilo bi poželjno u budućim istraživanjima ispitati učinke Manuka meda na ishode parodontološke terapije u ovoj zdravstveno ugroženoj skupini.

Iako su svi ispitanici dobili jasne upute o provođenju oralne higijene kod kuće, vrsta proizvoda za provođenje svakodnevne oralne higijene (npr. robne marke zubne paste i četkice) nije bila precizno definirana. Zajedno s neizbježnim razlikama u mehanici četkanja između pacijenata, razlike u sastavu proizvoda za oralnu higijenu mogle su doprinijeti varijabilnosti u ishodima parodontološke terapije.

Neočekivani rezultat dobiven je za početne vrijednosti parametra PPD pri čemu je placebo skupina imala statistički niže vrijednosti (3,47 mm) nego skupina koja je tek trebala biti tretirana Manuka medom (3,63 mm). S obzirom na to da su spomenute vrijednosti izmjerene nakon randomizacije, a prije provedbe bilo kakve terapije, statistički značajna razlika vjerojatno je posljedica vrlo velikog uzorka (7588 mjesta) što je povećalo statističku snagu do te mjere da se klinički neznčajna razlika od 0,16 mm između placebo i Manuka skupine pokazala statistički značajnom. Takve pojave uobičajene su kod vrlo velikih uzoraka i, unatoč naočigled kontradiktornom nalazu, ne uzrokuju poteškoće u interpretaciji rezultata. Statistički testovi hipoteze često pokazuju „lažno pozitivan“ nalaz u slučaju vrlo velikih uzoraka i stoga

je uz statističku značajnost uvijek potrebno sagledati i kliničku značajnost dobivenog rezultata. S obzirom na to da je opažena razlika u srednjim vrijednostima placebo i Manuka skupine od 0,16 mm razmjerno beznačajna s kliničkog aspekta, unatoč dobivenoj statističkoj značajnosti može se smatrati kako su obje skupine imale iste početne uvjete. Štoviše, placebo skupina, formalno gledano, imala je čak povoljnije početne uvjete s obzirom na 0,16 mm plīće džepove. Rezultati promjene PPD nakon 3 mjeseca pokazuju kako ta mala razlika u početnim uvjetima nije utjecala na opažanje statistički značajnog poboljšanja u Manuka skupini.

Dodatnu perspektivu za buduću primjenu Manuka meda, kao dodatka nekirurškoj parodontološkoj terapiji, daju rezultati istraživanja o sinergističkom učinku Manuka meda i antibiotika u terapiji rana inficiranih bakterijama s višestrukom antibiotskom rezistencijom (131). Autori spomenutog članka kao posebno zanimljiv nalaz ističu sinergističko djelovanje Manuka meda s antibioticima iz različitih skupina odnosno s različitim mehanizmima djelovanja (inhibicija sinteze proteina, inhibicija RNA polimeraze i djelovanje na staničnu membranu) što bi značilo da Manuka med sadržava više aktivnih sastojaka pomoću kojih istovremeno djeluje na više ciljnih mjesta u bakterijskoj stanici (101).

U meta-analizi o učincima derivata caklinskog matriksa kao dodatka nekirurškoj parodontološkoj terapiji u koju su uključena četiri randomizirana klinička istraživanja navodi se prosječni dobitak CAL od 0,14 mm odnosno smanjenje PPD od 0,46 mm (132), međutim zbog visoke heterogenosti podataka navedena poboljšanja nisu bila statistički značajna. Autori meta-analize stoga ističu kako su za višu razinu dokaza o mogućim povoljnim učincima derivata caklinskog matriksa potrebna dodatna randomizirana klinička istraživanja s većim brojem ispitanika. S druge strane, rezultati pilot-studije koja je provedena preliminarno ovom istraživanju (95), kao i rezultati ovog istraživanja, pokazali su statistički značajan učinak Manuka meda kao dodatka nekirurškoj parodontološkoj terapiji. S obzirom na to da se radi samo o dvama istraživanjima koja su provedena od iste skupine, potrebna je neovisna potvrda povoljnih učinaka Manuka meda u randomiziranim kliničkim istraživanjima provedenim na drukčijem uzorku pacijenata od strane drugih istraživačkih skupina. Unatoč razmjerno maloj količini trenutno dostupnih dokaza u prilog povoljnom učinku Manuka meda u parodontološkoj terapiji, a s obzirom na statistički značajna poboljšanja opažena u pilot-studiji (95) i ovom istraživanju naspram nedostatku statistički značajnih učinaka derivata caklinskog matriksa u prethodno spomenutoj meta-analizi (132), trenutno dostupni dokazi daju relativnu prednost Manuka medu u odnosu na derivate caklinskog matriksa. Uz to, Manuka med za parodontološku primjenu ima manju cijenu u usporedbi s preparatima caklinskog matriksa. Uz

neposrednu isplativost zbog razmjerno niske cijene inicijalne terapije, može se očekivati i dugoročno smanjenje troškova pacijenta ukoliko se primjenom Manuka meda poboljša ishod parodontološke terapije i na taj način utječe na dugoročnu prognozu parodontitisa što dugoročno dovodi do manje potrebe za dodatnim kirurškim intervencijama i manjeg broja izgubljenih zuba.

6. ZAKLJUČAK

1. NSPT kao zlatni standard u liječenju parodontitisa pokazao je kako značajno smanjuje odnosno poboljšava kliničke znakove upale kao što su dubina sondiranja, plak indeks i krvarenje pri sondiranju.
2. Manuka med kao dodatak NSPT ima potencijal dodatnog poboljšanja ishoda NSPT u vidu kliničkih znakova upale i većeg postotka zatvorenih džepova u odnosu na samu NSPT.
3. NSPT kao zlatni standard u liječenju parodontitisa pokazao je da nakon 3 mjeseca dolazi do smanjenja broja parodontopatogenih bakterija.
4. Dodatak Manuka meda NSPT dodatno i statistički značajno smanjuje broj određenih parodontopatogenih bakterija u odnosu na samu NSPT (*A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia* i *F. alocis*).
5. NSPT statistički značajno poboljšava kvalitetu života pacijenta koja se procijenila kroz upitnik OHIP-14.

7. LITERATURA

1. Chapple ILC, Mealey BL, Van Dyke TE, Bartold PM, Dommisch H, Eickholz P, et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol.* 2018;89:S74–84.
2. Mariotti A. Dental Plaque-Induced Gingival Diseases. *Ann Periodontol.* 1999;4(1):7–17.
3. Page RC. Oral health status in the United States: prevalence of inflammatory periodontal diseases. *J Dent Educ.* 1985;49(6):354–67.
4. Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Clin Periodontol.* 2018;45:S1–8.
5. Ramseier CA, Anerud A, Dulac M, Lulic M, Cullinan MP, Seymour GJ, et al. Natural history of periodontitis: Disease progression and tooth loss over 40 years. *J Clin Periodontol.* 2017;44(12):1182–91.
6. Lang NP, Schätzle MA, Loe H. Gingivitis as a risk factor in periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2009;36:3–8.
7. Loe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental Gingivitis in Man. *J Periodontol.* 1965;36(3):177–87.
8. Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJL, Marcenes W. Global Burden of Severe Periodontitis in 1990-2010: A Systematic Review and Meta-regression. *J Dent Res.* 2014;93(11):1045–53.
9. Trombelli L, Tatakis DN, Scapoli C, Bottega S, Orlandini E, Tosi M. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis. II. Identification of “high-responder” and “low-responder” subjects. *J Clin Periodontol.* 2004;31(4):239–52.

10. Chapple ILC, Van der Weijden F, Doerfer C, Herrera D, Shapira L, Polak D, et al. Primary prevention of periodontitis: managing gingivitis. *J Clin Periodontol.* 2015;42:S71–6.
11. Kumar S. Evidence-Based Update on Diagnosis and Management of Gingivitis and Periodontitis. *Dent Clin North Am.* 2019;63(1):69–81.
12. Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest.* 1976;34(3):235–49.
13. Ranney RR. Diagnosis of Periodontal Diseases. *Adv Dent Res.* 1991;5(1):21–36.
14. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Primers.* 2017; 22;3(1):17038.
15. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity. *J Clin Microbiol.* 2005;43(11):5721–32.
16. Suvan J, Leira Y, Moreno Sancho FM, Graziani F, Derks J, Tomasi C. Subgingival instrumentation for treatment of periodontitis. A systematic review. *J Clin Periodontol.* 2020;47(S22):155–75.
17. Demmer RT, Desvarieux M, Holtfreter B, Jacobs DR, Wallaschofski H, Nauck M, et al. Periodontal Status and A1C Change. *Diabetes Care.* 2010;1;33(5):1037–43.
18. Humphrey LL, Fu R, Buckley DI, Freeman M, Helfand M. Periodontal Disease and Coronary Heart Disease Incidence: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Gen Intern Med.* 2008;23(12):2079–86.
19. Janket SJ, Baird AE, Chuang SK, Jones JA. Meta-analysis of periodontal disease and risk of coronary heart disease and stroke. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003;95(5):559–69.
20. Chambrone L, Guglielmetti MR, Pannuti CM, Chambrone LA. Evidence grade associating periodontitis to preterm birth and/or low birth weight: I. A systematic review of prospective cohort studies: Periodontitis and adverse pregnancy outcomes. *J Clin Periodontol.* 2011;38(9):795–808.

21. Papapanou PN. Periodontal Diseases: Epidemiology. *Ann Periodontol.* 1996;1(1):1–36.
22. Lindhe J, Meyle J, on behalf of Group D of the European Workshop on Periodontology. Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol.* 2008;35:282–5.
23. Lang NP, Bartold PM. Periodontal health. *J Periodontol.* 2018;89:S9–16.
24. Sanz M, Herrera D, Kebschull M, Chapple I, Jepsen S, Berglundh T, et al. Treatment of stage I–III periodontitis—The EFP S3 level clinical practice guideline. *J Clin Periodontol.* 2020;47(S22):4–60.
25. Herrera D, Retamal-Valdes B, Alonso B, Feres M. Acute periodontal lesions (periodontal abscesses and necrotizing periodontal diseases) and endo-periodontal lesions: Dd56II Joint EFP-AAP Workshop. *J Periodontol.* 2018;89:S85–102.
26. Albandar JM, Susin C, Hughes FJ. Manifestations of systemic diseases and conditions that affect the periodontal attachment apparatus: Case definitions and diagnostic considerations. *J Periodontol.* 2018;89:S183–203.
27. Needleman I, Garcia R, Gkranias N, Kirkwood KL, Kocher T, Iorio AD, et al. Mean annual attachment, bone level, and tooth loss: A systematic review. *J Periodontol.* 2018;89:S120–39.
28. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Clin Periodontol.* 2018;45:S149–61.
29. Herrera D, Sanz M, Kebschull M, Jepsen S, Sculean A, Berglundh T, et al. Treatment of stage IV periodontitis: The EFP S3 level clinical practice guideline. *J Clin Periodontol.* 2022;49(S24):4–71.
30. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions: Classification and case definitions for periodontitis. *J Periodontol.* 2018;89:S173–82.

31. Dental plaque revisited--oral biofilms in health and disease. *J Ir Dent Assoc.* 2000;46(3):105.
32. Chopp DL, Kirisits MJ, Moran B, Parsek MR. A mathematical model of quorum sensing in a growing bacterial biofilm. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 2002;1;29(6):339–46.
33. Mukherjee S, Bassler BL. Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments. *Nat Rev Microbiol.* 2019;17(6):371–82.
34. Yada S, Kamalesh B, Sonwane S, Guptha I, Swetha RK. Quorum sensing inhibition, relevance to periodontics. *J Int Oral Health.* 2015;7(1):67–9.
35. Vaughan BL, Smith BG, Chopp DL. The Influence of Fluid Flow on Modeling Quorum Sensing in Bacterial Biofilms. *Bull Math Biol.* 2010;72(5):1143–65.
36. Mombelli A. Microbial colonization of the periodontal pocket and its significance for periodontal therapy. *Periodontol 2000.* 2018;76(1):85–96.
37. Brook I. Microbiology and management of periodontal infections. *Gen Dent.* 2003;51(5):424–8.
38. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol.* 1998;25(2):134–44.
39. Kwon T, Lamster IB, Levin L. Current Concepts in the Management of Periodontitis. *Int Dent J.* 2021;71(6):462–76.
40. Graziani F, Music L, Bozic D, Tsakos G. Is periodontitis and its treatment capable of changing the quality of life of a patient? *Br Dent J.* 2019;227(7):621–5.
41. Darveau RP. The Oral Microbial Consortium's Interaction with the Periodontal Innate Defense System. *DNA Cell Biol.* 2009;28(8):389–95.
42. Herrera D, Matesanz P, Martín C, Oud V, Feres M, Teughels W. Adjunctive effect of locally delivered antimicrobials in periodontitis therapy: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol.* 2020;47(S22):239–56.
43. Suvan JE, Sabalic M, Araújo MR, Ramseier CA. Behavioral strategies for periodontal health. *Periodontol 2000.* 2022;90(1):247–61.

44. Loos B, Claffey N, Crigger M. Effects of oral hygiene measures on clinical and microbiological parameters of periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1988;15(4):211–6.
45. Heitz-Mayfield LJA, Lang NP. Surgical and nonsurgical periodontal therapy. Learned and unlearned concepts: *Periodontal therapy.* *Periodontol 2000.* 2013;62(1):218–31.
46. Eberhard J, Jepsen S, Jervøe-Storm PM, Needleman I, Worthington HV. Full-mouth treatment modalities (within 24 hours) for chronic periodontitis in adults. Cochrane Oral Health Group, editor. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015;17.
47. Badersten A, Nilveus R, Egelberg J. Effect of nonsurgical periodontal therapy. II. Severely advanced periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1984;11(1):63–76.
48. Suvan J, Leira Y, Moreno Sancho FM, Graziani F, Derks J, Tomasi C. Subgingival instrumentation for treatment of periodontitis. A systematic review. *J Clin Periodontol.* 2020;47(S22):155–75.
49. Timmerman MF, Weijden GA, Steenbergen TJM, Mantel MS, Graaff J, Velden U. Evaluation of the long-term efficacy and safety of locally-applied minocycline in adult periodontitis patients. *J Clin Periodontol.* 1996;23(8):707–16.
50. Smiley CJ, Tracy SL, Abt E, Michalowicz BS, John MT, Gunsolley J, 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(7):525–35.
51. Hallmon WW, Rees TD. Local Anti-Infective Therapy: Mechanical and Physical Approaches. A Systematic Review. *Ann Periodontol.* 2003;8(1):99–114.
52. Zafar F, Romano F, Citterio F, Ferrarotti F, Dellavia C, Chang M, et al. Chemical cleansing as an adjunct to subgingival instrumentation with ultrasonic and hand devices in deep periodontal pockets: a randomized controlled study. *J Periodontal Implant Sci.* 2021;51(4):276.

53. Rateitschak-Pluss EM, Schwarz JP, Guggenheim R, Duggelin M, Rateitschak KH. Non-surgical periodontal treatment: where are the limits? An SEM study. *J Clin Periodontol.* 1992;19(4):240–4.
54. Cobb CM. Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: an evidence-based perspective of scaling and root planing. *J Clin Periodontol.* 2002;29 Suppl 2:6–16.
55. Van der Weijden GA, Timmerman MF. A systematic review on the clinical efficacy of subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis: Effect of non-surgical debridement. *J Clin Periodontol.* 2002;29:55–71.
56. Martin-Cabezas R, Davideau JL, Tenenbaum H, Huck O. Clinical efficacy of probiotics as an adjunctive therapy to non-surgical periodontal treatment of chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol.* 2016;43(6):520–30.
57. Muñoz Aguilera E, Suvan J, Buti J, Czesnikiewicz-Guzik M, Barbosa Ribeiro A, Orlandi M, et al. Periodontitis is associated with hypertension: a systematic review and meta-analysis. *Cardiovasc Res.* 2020;116(1):28–39.
58. Kolakovic M, Held U, Schmidlin PR, Sahrman P. An estimate of pocket closure and avoided needs of surgery after scaling and root planing with systemic antibiotics: a systematic review. *BMC Oral Health.* 2014;14(1):159.
59. Laleman I, Cortellini S, De Winter S, Rodriguez Herrero E, Dekeyser C, Quirynen M, et al. Subgingival debridement: end point, methods and how often? *Periodontol 2000.* 2017;75(1):189–204.
60. Teughels W, Newman MG, Coucke W, Haffajee AD, Van Der Mei HC, Haake SK, et al. Guiding Periodontal Pocket Recolonization: a Proof of Concept. *J Dent Res.* 2007;86(11):1078–82.
61. Cheng Y, Chen JW, Ge MK, Zhou ZY, Yin X, Zou SJ. Efficacy of adjunctive laser in non-surgical periodontal treatment: a systematic review and meta-analysis. *Lasers Med Sci.* 2016;31(1):151–63.

62. Pretzl B, Sälzer S, Ehmke B, Schlagenhaut U, Dannewitz B, Dommisch H, et al. Administration of systemic antibiotics during non-surgical periodontal therapy—a consensus report. *Clin Oral Invest.* 2019;23(7):3073–85.
63. Haffajee AD, Socransky SS, Gunsolley JC. Systemic Anti-Infective Periodontal Therapy. A Systematic Review. *Ann Periodontol.* 2003;8(1):115–81.
64. Fritoli A, Gonçalves C, Faveri M, Figueiredo LC, Pérez-Chaparro PJ, Fermiano D, et al. The effect of systemic antibiotics administered during the active phase of non-surgical periodontal therapy or after the healing phase: a systematic review. *J Appl Oral Sci.* 2015;23(3):249–54.
65. Zandbergen D, Slot DE, Niederman R, Van der Weijden FA. The concomitant administration of systemic amoxicillin and metronidazole compared to scaling and root planing alone in treating periodontitis: =a systematic review=. *BMC Oral Health.* 2016;16(1):27.
66. Herrera D, Sanz M, Jepsen S, Needleman I, Roldán S. A systematic review on the effect of systemic antimicrobials as an adjunct to scaling and root planing in periodontitis patients: Effect of systemic antimicrobials. *J Clin Periodontol.* 2002;29:136–59.
67. Ventola CL. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *P T.* 2015;40(4):277–83.
68. Sgolastra F, Petrucci A, Severino M, Graziani F, Gatto R, Monaco A. Adjunctive photodynamic therapy to non-surgical treatment of chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol.* 2013;40(5):514–26.
69. Sgolastra F, Severino M, Petrucci A, Gatto R, Monaco A. Effectiveness of metronidazole as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Periodont Res.* 2014;49(1):10–9.
70. Jentsch HFR, Rocuzzo M, Pilloni A, Kasaj A, Fimmers R, Jepsen S. Flapless application of enamel matrix derivative in periodontal retreatment: A multicentre randomized feasibility trial. *J Clin Periodontol.* 2021;48(5):659–67.

71. Mombelli A, Brochut P, Plagnat D, Casagni F, Giannopoulou C. Enamel matrix proteins and systemic antibiotics as adjuncts to non-surgical periodontal treatment: clinical effects. *J Clin Periodontol.* 2005;32(3):225–30.
72. Gutierrez MA, Mellonig JT, Cochran DL. Evaluation of enamel matrix derivative as an adjunct to non-surgical periodontal therapy: EMD as an adjunct to scaling. *J Clin Periodontol.* 2003;30(8):739–45.
73. Eick S, Renatus A, Heinicke M, Pfister W, Stratul SI, Jentsch H. Hyaluronic Acid as an Adjunct After Scaling and Root Planing: A Prospective Randomized Clinical Trial. *J Periodontol.* 2013;84(7):941–9.
74. Loue H, Rindom Schiott C, Glavind L, Karring T. Two years oral use of chlorhexidine in man.: I. General design and clinical effects. *J Periodontal Res.* 1976;11(3):135–44.
75. Kerry GJ, Morrison EC, Ramfjord SP, Hill RW, Caffesse RG, Nissle RR, et al. Effect of Periodontal Treatment on Tooth Mobility. *J Periodontol.* 1982;53(10):635–8.
76. Killoy WJ. The clinical significance of local chemotherapies. *J Clin Periodontol.* 2002;29 Suppl 2:22–9.
77. Lang NP, Tan WC, Krähenmann MA, Zwahlen M. A systematic review of the effects of full-mouth debridement with and without antiseptics in patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2008;35:8–21.
78. Hanes PJ, Purvis JP. Local Anti-Infective Therapy: Pharmacological Agents. A Systematic Review. *Ann Periodontol.* 2003;8(1):79–98.
79. Bonito AJ, Lux L, Lohr KN. Impact of Local Adjuncts to Scaling and Root Planing in Periodontal Disease Therapy: A Systematic Review. *J Periodontol.* 2005;76(8):1227–36.
80. İnce G, Gürsoy H, İpçi ŞD, Cakar G, Emekli-Alturfan E, Yılmaz S. Clinical and Biochemical Evaluation of Lozenges Containing *Lactobacillus reuteri* as an Adjunct to Non-Surgical Periodontal Therapy in Chronic Periodontitis. *J Periodontol.* 2015;86(6):746–54.

81. Eliezer M, Imber JC, Sculean A, Pandis N, Teich S. Hyaluronic acid as adjunctive to non-surgical and surgical periodontal therapy: a systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Invest.* 2019;23(9):3423–35.
82. Vandamme L, Heyneman A, Hoeksema H, Verbelen J, Monstrey S. Honey in modern wound care: A systematic review. *Burns.* 2013;39(8):1514–25.
83. Israili ZH. Antimicrobial Properties of Honey. *Am J Ther.* 2014;21(4):304–23.
84. Schneider M, Coyle S, Warnock M, Gow I, Fyfe L. Anti-Microbial Activity and Composition of Manuka and Portobello Honey: ANTI-MICROBIAL ACTIVITY AND COMPOSITION OF MANUKA AND PORTOBELLO HONEY. *Phytother Res.* 2013;27(8):1162–8.
85. Molan P, Betts JA. Clinical usage of honey as a wound dressing: an update. *J Wound Care.* 2004;13(9):353–6.
86. Al-Waili N, Salom K, Al-Ghamdi AA. Honey for Wound Healing, Ulcers, and Burns; Data Supporting Its Use in Clinical Practice. *ScientificWorldJournal.* 2011;11:766–87.
87. Genco RJ, Borgnakke WS. Risk factors for periodontal disease. *Periodontol 2000.* 2013;62(1):59–94.
88. Tomasi C, Leyland AH, Wennström JL. Factors influencing the outcome of non-surgical periodontal treatment: a multilevel approach. *J Clin Periodontol.* 2007;34(8):682–90.
89. Papantonopoulos GH. Smoking Influences Decision Making in Periodontal Therapy: A Retrospective Clinical Study. *J Periodontol.* 1999;70(10):1166–73.
90. Tomasi C, Koutouzis T, Wennström JL. Locally Delivered Doxycycline as an Adjunct to Mechanical Debridement at Retreatment of Periodontal Pockets. *J Periodontol.* 2008;79(3):431–9.
91. Labriola A, Needleman I, Moles DR. Systematic review of the effect of smoking on nonsurgical periodontal therapy. *Periodontol 2000.* 2005;37(1):124–37.

92. Ramseier CA, Suvan JE. Behaviour change counselling for tobacco use cessation and promotion of healthy lifestyles: a systematic review. *J Clin Periodontol.* 2015;42:S47–58.
93. Polimeni G, Koo KT, Qahash M, Xiropaidis AV, Albandar JM, Wikesjo UME. Prognostic factors for alveolar regeneration: effect of a space-providing biomaterial on guided tissue regeneration. *J Clin Periodontol.* 2004;31(9):725–9.
94. Soffer A. Editorial: Chihuahuas and laetrile, chelation therapy, and honey from Boulder, Colo. *Arch Intern Med.* 1976;136(8):865–6.
95. Opšivač D, Musić L, Badovinac A, Šekelja A, Božić D. Therapeutic Manuka Honey as an Adjunct to Non-Surgical Periodontal Therapy: A 12-Month Follow-Up, Split-Mouth Pilot Study. *Materials.* 2023;16(3):1248.
96. Allen KL, Molan PC, Reid GM. A Survey of the Antibacterial Activity of Some New Zealand Honeys. *J Pharm Pharmacol.* 2011;43(12):817–22.
97. Irish J, Blair S, Carter DA. The Antibacterial Activity of Honey Derived from Australian Flora. Otto M, editor. *PLoS ONE.* 2011;6(3):e18229.
98. Carter DA, Blair SE, Cokcetin NN, Bouzo D, Brooks P, Schothauer R, et al. Therapeutic Manuka Honey: No Longer So Alternative. *Front Microbiol [Internet].* 2016;20
99. Mandal MD, Mandal S. Honey: its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2011;1(2):154–60.
100. Johnston M, McBride M, Dahiya D, Owusu-Apenten R, Singh Nigam P, 1 Biomedical Sciences Research Institute, Ulster University, Coleraine BT52 1SA, Northern Ireland, UK, et al. Antibacterial activity of Manuka honey and its components: An overview. *AIMS Microbiology.* 2018;4(4):655–64.
101. Alvarez-Suarez J, Gasparrini M, Forbes-Hernández T, Mazzoni L, Giampieri F. The Composition and Biological Activity of Honey: A Focus on Manuka Honey. *Foods.* 2014;3(3):420–32.
102. Adams CJ, Manley-Harris M, Molan PC. The origin of methylglyoxal in New Zealand manuka (*Leptospermum scoparium*) honey. *Carbohydr Res.* 2009;344(8):1050–3.

103. Maddocks SE, Jenkins RE. Honey: a sweet solution to the growing problem of antimicrobial resistance? *Future Microbiol.* 2013;8(11):1419–29.
104. Norton AM, McKenzie LN, Brooks PR, Pappalardo LJ. Quantitation of Dihydroxyacetone in Australian *Leptospermum* Nectar via High-Performance Liquid Chromatography. *J Agric Food Chem.* 2015;63(29):6513–7.
105. Hayes G, Wright N, Gardner SL, Telzrow CL, Wommack AJ, Vigueira PA. Manuka honey and methylglyoxal increase the sensitivity of *Staphylococcus aureus* to linezolid. *Lett Appl Microbiol.* 2018;66(6):491–5.
106. Girma A, Seo W, She RC. Antibacterial activity of varying UMF-graded Manuka honeys. Giarratana F, editor. *PLoS ONE.* 2019;14(10):e0224495.
107. Graziani F, Gennai S, Petrini M, Bettini L, Tonetti M. Enamel matrix derivative stabilizes blood clot and improves clinical healing in deep pockets after flapless periodontal therapy: A Randomized Clinical Trial. *J Clin Periodontol.* 2019;46(2):231–40.
108. Wennstrom JL, Tomasi C, Bertelle A, Dellasega E. Full-mouth ultrasonic debridement versus quadrant scaling and root planing as an initial approach in the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2005;32(8):851–9.
109. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J.* 1975;25(4):229–35.
110. Rosenberg M, Septon I, Eli I, Bar-Ness R, Gelernter I, Brenner S, et al. Halitosis Measurement by an Industrial Sulphide Monitor. *J Periodontol.* 1991;62(8):487–9.
111. Slade GD, Spencer AJ. Development and evaluation of the Oral Health Impact Profile. *Community Dent Health.* 1994;11(1):3–11.
112. Niaz K, Maqbool F, Bahadar H, Abdollahi M. Health Benefits of Manuka Honey as an Essential Constituent for Tissue Regeneration. *CDM.* 2018;18(10).
113. Schmidlin PR, English H, Duncan W, Belibasakis GN, Thurnheer T. Antibacterial potential of Manuka honey against three oral bacteria in vitro. *Swiss Dent J.* 2014;124(9):922–4.

114. Safii SH, Tompkins GR, Duncan WJ. Periodontal Application of Manuka Honey: Antimicrobial and Demineralising Effects In Vitro. *Int J Dent*. 2017;2017:1–8.
115. Almasaudi SB, Al-Nahari AAM, Abd El-Ghany ESM, Barbour E, Al Muhayawi SM, Al-Jaouni S, et al. Antimicrobial effect of different types of honey on *Staphylococcus aureus*. *Saudi J Biol Sci*. 2017;24(6):1255–61.
116. English HKP, Pack ARC, Molan PC. The effects of manuka honey on plaque and gingivitis: a pilot study. *J Int Acad Periodontol*. 2004;6(2):63–7.
117. Badet C, Quero F. The in vitro effect of manuka honeys on growth and adherence of oral bacteria. *Anaerobe*. 2011;17(1):19–22.
118. Eick S, Schäfer G, Kwieciński J, Atrott J, Henle T, Pfister W. Honey – a potential agent against *Porphyromonas gingivalis*: an in vitro study. *BMC Oral Health*. 2014;14(1):24.
119. Al-Khanati NM, Al-Moudallal Y. Effect of Intra-socket Application of Manuka Honey on Postsurgical Pain of Impacted Mandibular Third Molars Surgery: Split-Mouth Randomized Controlled Trial. *J Maxillofac Oral Surg*. 2019;18(1):147–52.
120. Schallhorn RA, McClain PK, Benhamou V, Doobrow JH, Grandin HM, Kasaj A. Application of enamel matrix derivative in conjunction with non-surgical therapy for treatment of moderate to severe periodontitis: A 12-month, randomized prospective, multicenter study. *J Periodontol*. 2021;92(5):619–28.
121. Loos BG, Needleman I. Endpoints of active periodontal therapy. *J Clin Periodontol*. 2020;47(S22):61–71.
122. Citterio F, Gualini G, Chang M, Piccoli GM, Giraudi M, Manavella V, et al. Pocket closure and residual pockets after non-surgical periodontal therapy: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2022;49(1):2–14.
123. John MT, Hujoel P, Miglioretti DL, LeResche L, Koepsell TD, Micheelis W. Dimensions of Oral-health-related Quality of Life. *J Dent Res*. 2004;83(12):956–60.
124. Ng SKS, Leung WK. Oral health-related quality of life and periodontal status. *Commun Dent Oral Epidemiol*. 2006;34(2):114–22.

125. Newbrun E. Indices to Measure Gingival Bleeding. *J Periodontol.* 1996;67(6):555–61.
126. Graziani F, Tsakos G. Patient-based outcomes and quality of life. *Periodontol 2000.* 2020;83(1):277–94.
127. Saracci R. The world health organisation needs to reconsider its definition of health. *BMJ.* 1997;314(7091):1409–1409.
128. Needleman I, McGrath C, Floyd P, Biddle A. Impact of oral health on the life quality of periodontal patients. *J Clin Periodontol.* 2004;31(6):454–7.
129. Shanbhag S, Dahiya M, Croucher R. The impact of periodontal therapy on oral health-related quality of life in adults: a systematic review. *J Clin Periodontol.* 2012;39(8):725–35.
130. Rusu LC, Ardelean LC, Tigmeanu CV, Matichescu A, Sauciur I, Bratu EA. COVID-19 and Its Repercussions on Oral Health: A Review. *Medicina.* 2021;57(11):1189.
131. Jenkins R, Cooper R. Improving Antibiotic Activity against Wound Pathogens with Manuka Honey In Vitro. Vadivelu J, editor. *PLoS ONE.* 2012;7(9):e45600.
132. Roccuzzo A, Imber JC, Stähli A, Kloukos D, Salvi GE, Sculean A. Enamel matrix derivative as adjunctive to non-surgical periodontal therapy: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Oral Invest.* 2022;26(6):4263–80.

8. ŽIVOTOPIS

David Opšivač rođen je 13. srpnja 1991. godine u Puli. Pohađao Osnovnu školu „Bernardo Benussi“ te Opću gimnaziju „Zvane Črnje“ u Rovinju koju je završio školske godine 2009./2010. Akademske godine 2011./2012. upisao je Stomatološki fakultet na Sveučilištu u Zagrebu. Zadnji ispit položio je u lipnju 2017. godine. Govori engleski i talijanski jezik. Doktorski studij upisuje 2017. godine pod mentorstvom izv.prof.dr.sc Darko Božić na Zavodu za parodontologiju Stomatološkog fakulteta Sveučilište u Zagrebu. Specijalizaciju iz stomatološke protetike završava 2022. godine.

POPIS RADOVA

1. Opšivač D, Musić L, Badovinac A, Šekelja A, Božić D. Therapeutic Manuka Honey as an Adjunct to Non-Surgical Periodontal Therapy: A 12-Month Follow-Up, Split-Mouth Pilot Study. *Materials*. 2023 Feb 1;16(3):1248. Q1 (WoS), 2023 - **Rad proizašao iz doktorata**