

ارزیابی اثر غلظتهای مختلف آب ازن دار در ممانعت از کلونیزاسیون کاندیدا آلبیکنس و تشکیل پلاک بر روی قطعات اکریلی پروتزهای دندانی

حافظ آریامنش^۱، فاطمه مالمیر^۲، مریم بابایی^۱، نیما معتمد^۳، سعید امانلو^{۴*}

^۱استادیار گروه پرپودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زنجان، زنجان، ایران
^۲دندانپزشک، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زنجان، زنجان، ایران
^۳دانشیار گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زنجان، زنجان، ایران
^۴استادیار گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زنجان، زنجان، ایران
 تاریخ ارائه مقاله: ۹۶/۱۰/۲۸ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۲۷

Evaluation of the Effects of the Concentration of Ozonated Water on the Inhibition of *Candida albicans* Colonization and Plaque Formation on Acrylic Dental Plates

Hafez Ariamanesh¹, Fatemeh Malimir², Maryam Babaei¹, Nima Motamed³, Saeid Amanloo^{4*}

¹Assistant Professor, Department of Prosthodontics, School of Dentistry, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

²Dentist, School of Dentistry, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

³Associate Professor, Department of Social Medicine, Zanjan University of Medical Science ZanjanIran

⁴Assistant Professor, Department of Parasitology and Mycology, Zanjan University of Medical Science ZanjanIran

Received: 18 January 2018; Accepted: 18 March 2018

Introduction: The formation of dental plaques is one of the underlying causes of denture-related stomatitis. This study was conducted to evaluate the effect of the concentration of ozonated water on the inhibition of the formation of *Candida albicans* plaque on the acrylic resin pieces.

Materials and Methods: In this study, 45 resin acrylic plates were contaminated by *Candida albicans* suspension, which were randomly divided into nine groups. They were treated with 0.2, 0.5, 1, and 2 µg/ml of ozonated water, 25 and 12.5 µg/ml of ozonized oil, 100,000 units of nystatin (positive control), distilled water, and olive oil (negative control). Thereafter, the solution obtained from rinsing the pieces was cultured in Sabouraud Dextrose Agar and the mean number of the colonies was Mann-Whitney U and kruskal-wallis tests were for statistical analysis.

Results: The mean number of the colonies obtained at the concentrations of 0.2, 0.5, 1, and 2 µg/ml of ozonated water was 24, 24.6, 23.6, and 14.4 colonies, respectively. Additionally, the mean number of the colonies obtained at the concentrations of 12.5 and 25 µg/ml of ozonized oil was 0 and 2 colonies, respectively. There was a significant difference between the solutions cultured in distilled water (146.6) and olive oil (98.8) in terms of the number of colonies (P<0.001). In all the groups, the number of the yeast colonies decreased by increasing the concentration of ozone. However, ozonized oil had more inhibitory effect than ozonated water. There was no significant difference between the solutions cultured in two concentrations of ozonized oil (25 µg/ml [P=1] and 12.5 µg/ml [P=0.477]) and nystatin.

Conclusion: Appropriate concentrations of ozonated water had an antifungal effect on *Candida albicans*. Therefore, further clinical studies are recommended to standardize and elaborate the guidelines for using ozone therapy.

Keywords: Ozone, *Candida albicans*, complete denture, Denture-related stomatitis, Antifungal.

*Corresponding Author: amanloo@zums.ac.ir

J Mash Dent Sch 2018; 42(2): 95-104.

چکیده

مقدمه: یکی از فاکتورهای زمینه‌ای استوماتیت دندانی، تشکیل پلاک بر روی پروتزهای دندانی می‌باشد. هدف از این مطالعه ارزیابی اثر غلظتهای مختلف آب ازن دار در پاکسازی پلاک کاندیدا آلبیکنس بر روی قطعات اکریلی می‌باشد.

مواد و روشها: در این مطالعه تعداد ۴۵ قطعه اکریلی با سوسپانسیون کاندیدا آلبیکنس آلوده گردید. سپس قطعات بطور تصادفی به ۹ گروه تقسیم شد و با غلظتهای ۰/۲، ۰/۵، ۱ و ۲ آب ازن دار، غلظتهای ۲۵ و ۱۲/۵ روغن ازن دار، محلول نیستاتین ۱۰۰۰۰۰ واحد (کنترل مثبت)، آب مقطر استریل و روغن زیتون (کنترل منفی) تیمار شد. سپس محلول حاصل از سستشوی قطعات اکریلی بر روی محیط SDA کشت داده شد و مقایسه بین گروهها با استفاده از آزمون کروسکال-والیس و مقایسه دوجه دوی گروهها با من ویتنی انجام شد.

* مولف مسؤول، نشانی: زنجان، شهرک کارمندان، انتهای بلوار حاج احمد مهدوی، دانشکده پزشکی، بخش انگل شناسی و قارچ شناسی،

تلفن: ۰۲۴-۳۳۱۴۰۲۴۵

یافته ها: میانگین تعداد کلونیهای بدست آمده در غلظتهای ۰/۲، ۰/۵، ۱ و ۲ میکروگرم بر میلی لیتر محلول آبی ازن به ترتیب ۲۴/۶، ۲۳/۶ و ۱۴/۴ کلونی و در غلظتهای ۱۲/۵ و ۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر محلول روغنی ازن، صفر و ۶/۲ کلنی بود که در مقایسه با آب مقطر و روغن زیتون خالص (کنترل منفی) با ۱۴۶/۶ و ۹۸/۸ کلونی تفاوت آماری معنی داری مشاهده گردید ($P < 0/001$). در همه گروهها با افزایش غلظت ازن تعداد کلونیهای مخمری کاهش یافت، هرچند روغن ازن دار اثر مهارکنندگی بهتری نسبت به محلول آبی ازن نشان داد، به طوری که روغن ازن دار با غلظت ۱۲/۵ میکروگرم بر میلی لیتر ($P=1$) و غلظت ۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر ($P=0/477$) در مقایسه با گروه نیستاتین تفاوت معنی داری نداشت.

نتیجه گیری: محلول آبی ازن در غلظت مناسب اثر ضدقارچی بر روی کاندیدا آلیکسس دارد، بنابراین توصیه می شود مطالعات بالینی بیشتری در راستای استانداردسازی و تدوین دقیق راهنمای استفاده از ازن درمانی انجام شود.

کلمات کلیدی: ازن، کاندیدا آلیکسس، پروتز کامل دندانی، دنجر استوماتیت، ضدقارچی. مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۷ دوره ۴۲ / شماره ۲: ۹۵-۱۰۴.

مقدمه

شناخته شده است.^(۹) این مخمر نقش مهمی در بروز کاندیدیازیس دهانی ناشی از دندان مصنوعی دارد.^(۱۰) توانایی چسبندگی و تشکیل پلاک بر سطح پروتزهای دندانی، تولید آنزیمهای پروتئولیتیک و تغییر فنوتیپی از جمله فاکتورهای ویرولانسی کاندیدا آلیکسس در ایجاد استوماتیت دندانی محسوب می شوند. همچنین از فاکتورهای میزبانی می توان به کاهش جریان بزاق، سطوح متخلخل و ناصاف پروتز دندانی، ترومای ناشی از پروتزهای بدساخت یا قدیمی و نقص سیستم ایمنی اشاره نمود.^(۱۱) موثرترین راه پیشگیری از بروز عفونتهای کاندیدا آلیکسس در بیماران استفاده کننده از پروتزهای دندانی کامل، کنترل بهداشت است که با روشهای مکانیکی و شیمیایی به انجام می رسد. روشهای فیزیکی به تنهایی قابلیت حذف کامل پلاکهای موجود در سطح پروتزهای دندانی را ندارند.^(۲) بنابراین روشهای شیمیایی را برای استفاده روزمره در پاکسازی دندانهای مصنوعی توصیه می کنند. در این روش از انواع محلولهای تمیزکننده تجاری یا خانگی استفاده می شود، که برخی از این محلولها گران بوده و تعدادی نیز به پروتز دندانی آسیب می رسانند و یا ممکن است عوارض جانبی از جمله حساسیتهای مخاط دهان ایجاد کنند^(۳،۱۰) یافتن روشهای جدید و موثر برای حذف یا کاهش کلونیزاسیون

امروزه همگام با افزایش جمعیت مسن جامعه، درخواست برای پروتزهای کامل متحرک نیز افزایش یافته است. در سالمندان با کاهش مهارتهای حرکتی، رعایت بهداشت دهان و دندان تنزل می یابد، به طوری که طبق گزارش یکی از مطالعات تنها ۱۱/۹ درصد این افراد به تمیز کردن دندانهای خود مبادرت می کنند.^(۱) تشکیل پلاک بر روی پروتزهای دندانی محیط مناسبی را برای رشد کاندیدا آلیکسس فراهم می کند.^(۲) این پلاکها می توانند عامل استوماتیت دندانی و همچنین منابع بالقوه کلونیزاسیون میکروبی و ایجاد عفونتهای تنفسی در سالمندان باشند.^(۳) ارتباط آشکاری بین افزایش سن سالمندان و کلونیزاسیون دهانی کاندیدا وجود دارد.^(۴) و استوماتیت دندانی یکی از شایعترین مشکلات انتهایی در افراد استفاده کننده از دندان مصنوعی به شمار می رود.^(۵-۸) بنابراین نگهداری صحیح و تمیز کردن مرتب دندانهای مصنوعی برای حفظ بهداشت دهان و دندان به ویژه در سالمندان ضروری می باشد.

مخمر کاندیدا فلور طبیعی پوست و سطوح مخاطی از جمله دهان بوده و طیف وسیعی از عفونتهای فرصت طلب را در افراد مستعد ایجاد می کند. کاندیدا آلیکسس به عنوان مهمترین گونه بیماریزا از این جنس

در سالهای اخیر مطالعات فراوانی بر روی خواص ضد عفونی کنندگی ازن به انجام رسیده است. (۲۰۱۲، ۱۳، ۱۵) استفاده طولانی مدت آب ازن دار و همچنین استفاده از غلظتهای بالای ترکیبات حاوی ازن عوارض جانبی دارد. (۱۸) به همین دلیل تعیین غلظت موثر و در عین حال بی ضرر محلول آب ازن دار برای مصارف دندانپزشکی به ویژه به عنوان تمیزکننده دندان مصنوعی ضروری است. بنابراین با توجه به اثرات ثابت شده ازن بر روی میکروارگانیسمها، این مطالعه با هدف ارزیابی اثر غلظتهای مختلف آب ازن دار در ممانعت از کلونیزاسیون کاندیدا آلبیکنس و تشکیل پلاک بر روی قطعات اکریلی پروتزهای دندان طراحی و اجرا گردید.

استفاده در مراحل بعدی آزمایشها به دمای ۴ درجه سانتیگراد یخچال انتقال یافت. به منظور تهیه سوسپانسیون میکروبی، تک کلونیهای کشت خالص سویه استاندارد کاندیدا آلبیکنس در محیط کشت سابورود دکستروز برات (Pronadisa, Spain) تلقیح شد و با استفاده از لام هموستومتری شمارش سلولی انجام گرفت و سوسپانسیون میکروبی با تعداد 2×10^7 CFU/ml تهیه گردید. کلیه قطعات اکریلی داخل محیط کشت حاوی سوسپانسیون کاندیدا غوطه ور شد و در انکوباتور شیکردار (Heidolph-Germany) با دور 100 rpm در دمای 35 ± 2 درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت نگهداری شد، تا کاندیدا بر روی قطعات اکریلی بیوفیلم تجربی تشکیل شود. سپس تمام قطعات با استفاده از آب مقطر استریل و به مدت ۵ دقیقه بر روی شیکر با دور 100 rpm با سه بار تکرار شستشو گردید، تا مخمرهای اتصال نیافته به قطعات حذف شوند.

میکروارگانیسمهای حفره دهانی که بطور بالقوه توانایی تشکیل پلاک دندانی و ایجاد عفونتهای مخاطره آمیز در سالمندان را دارند، از جنبه های مورد بحث در علوم وابسته به دندانپزشکی است.

امروزه با توجه به خواص متعدد ضد میکروبی و ضد التهابی ازن، (۱۲) کاربردهای زیادی برای آن در پزشکی و دندانپزشکی تعریف شده است. (۱۳، ۱۴) اجماع عمومی وجود دارد که ازن با تخریب دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی و اختلال در نفوذپذیری غشای سلول، موجب توقف فعالیتهای سلولی و مرگ می شود. (۱۷-۲۰، ۲۱) همچنین ازن قادر به تهاجم به بسیاری از بیومولکولها از جمله سیستمین، متیونین و هیستیدین موجود در پروتئینها می باشد. (۱۷)

مواد و روشها

جهت انجام این مطالعه تجربی، ابتدا بایستی برای شبیه سازی شرایط پروتز کامل، قطعات اکریلی ساخته می شد. برای این منظور یک لایه موم نازک به ضخامت حدود ۱/۵ میلیمتر مفل گذاری شد و پس از مرحله حذف موم، توسط اکریل گرماپخت (Bayer-Liechtenstein) جایگزین گردید. پس از خارج کردن اکریل گرماپخت از مفل، با استفاده از دیسک فلزی و هندپیس به قطعات یک شکل و یک اندازه با ابعاد $10 \times 10 \times 1/5$ میلیمتر تقسیم گردید. برای جلوگیری از دهیدراته شدن، قطعات اکریلی درون آب مقطر غوطه ور شده و اتوکلاو گردید و تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد.

کلیه آزمایشهای میکروبی تحت شرایط استریل و در زیر هود میکروبی کلاس II به انجام رسید. کشت اولیه سویه استاندارد کاندیدا آلبیکنس ATCC 10231 در محیط دکستروز آگار (Pronadisa-Spain) تلقیح شد و پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت نگهداری در دمای 35 ± 2 درجه، برای

قطعات آکریلی جدا شوند. سپس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محلول شستشوی هر قطعه به روش کشت سطحی بر روی محیط سابورود دکستروز آگار انتقال داده شد و پلیتها به مدت ۴۸ ساعت در دمای 35 ± 2 درجه سانتیگراد نگهداری شدند. در پایان دوره انکوباسیون با شمارش تعداد کلونیهای جدا شده از هر قطعه آکریلی، میانگین تعداد مخمرهای متصل به قطعات بعد از تیمار ضدعفونی برآورد گردید.

پس از شمارش تعداد کلونیهای باقیمانده، ابتدا توزیع داده‌های کل و همچنین تک تک گروهها با استفاده از آزمون کلموگروف اسمیرنوف مورد ارزیابی قرار گرفت. باتوجه به عدم توزیع برخی از گروهها، از آزمون ناپارامتری کروسکال والیس جهت مقایسه تعداد کلونی قارچیها در بین گروههای مختلف استفاده گردید. از آنجا که تفاوت مقادیر کلونیهای قارچی در بین گروهها معنی دار بود، به منظور مقایسه دو به دو گروهها آزمون Mann-Whitney بکار گرفته شد. ($\alpha=0/05$)

یافته ها

در این مطالعه تأثیر غلظت‌های مختلف آب ازن دار بر مهار اتصال مخمر کاندیدا آلبیکنس بر روی قطعات رزین آکریلی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصله با تأثیر روغن ازن‌دار و داروی نیستاتین مقایسه شد. نتایج حاصل از تأثیر مواجهه با غلظت‌های مختلف محلول آبی ازن در ممانعت از اتصال مخمر کاندیدا بر روی قطعات آکریلی و همچنین مقایسه آن با نتایج گروه کنترل مثبت و کنترل منفی در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

با استفاده از دستگاه ژنراتور ازن خانگی (Gardina,Iran) و آب مقطر استریل و کیت سنجش ازن، غلظت‌های ۰/۲، ۰/۵، ۱ و ۲ میکروگرم بر میلی لیتر محلول آبی ازن تهیه گردید. همچنین در این مطالعه از غلظت‌های ۱۲/۵ و ۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر محلول تجاری روغن ازن محصول مرکز تحقیقات ازن پزشکی و خانگی (O3LIFE-Iran) با پایه روغن زیتون تهیه و با محلول‌های آب ازن‌دار مورد مقایسه و ارزیابی قرار گرفت. کلیه قطعات آکریلی سه بار با آب مقطر استریل و به مدت ۵ دقیقه بر روی شیکر (100rpm) شستشو داده شدند، سپس تعداد ۴۵ قطعه رزین آلوده به کاندیدا به طور تصادفی به ۹ گروه ۵ تایی تقسیم گردید. چهار گروه اول شامل محلول‌های آب ازن‌دار با غلظت‌های ۰/۲، ۰/۵، ۱ و ۲ میکروگرم بر میلی لیتر بود. دو گروه بعدی شامل روغن زیتون حاوی ازن (O3LIFE-Iran) با غلظت‌های ۱۲/۵ و ۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر بود. گروه هفتم حاوی ۲ میلی لیتر محلول ۱۰۰۰۰۰ واحدی نیستاتین (کنترل مثبت) و گروه هشتم حاوی ۲ میلی لیتر آب مقطر استریل (کنترل منفی) و گروه نهم حاوی ۲ میلی لیتر روغن زیتون (کنترل منفی) بود. به دلیل نیمه عمر محدود محلول ازن‌دار، قطعات به مدت ۱ ساعت درون این محلولها قرار داده شد. در پایان دوره انکوباسیون، تمامی قطعات مجدداً سه بار با آب مقطر استریل و به مدت ۵ دقیقه بر روی شیکر (100rpm) شستشو داده شدند. سپس به طور جداگانه به هر یک از قطعات ۲ میلی لیتر سالین استریل افزوده و با دستگاه سونیکاسیون (Heilscher,Germany) به مدت ۵ دقیقه اولتراسونیک نموده (۴۵ کیلوهرتز) تا سلول‌های مخمری متصل به

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار تعداد کلونی قارچی در هر گروه

نتیجه آزمون	انحراف معیار	میانگین سلول مخمری (CFU/ml)	گروه ($\mu\text{g/ml}$)
	۰	۰	نیستاتین (کنترل مثبت)
	۸/۳۸	۱۴۱/۶	آب مقطر (کنترل منفی)
	۵/۱۹	۲۴	محلول آب ازن (۰/۲)
	۳/۹۷	۲۴/۶	محلول آب ازن (۰/۵)
	۲/۱۹	۲۳/۶	محلول آب ازن (۱)
$P < ۰/۰۰۱$	۳/۳۶	۱۴/۴	محلول آب ازن (۲)
	۰	۰	محلول روغن ازن (۲۵)
	۲/۳۸	۶/۲	محلول روغن ازن (۱۲/۵)
	۷/۵۹	۹۸/۸	روغن زیتون (کنترل منفی)

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که با افزایش غلظت ازن، تعداد مخمرهای متصل به قطعات آکریلی بطور قابل توجهی کاهش می یابد، هرچند این تفاوت از لحاظ آماری معنی دار نبود. این یافته ها با نتایج برخی از مطالعات همخوانی دارد.

Huth و همکاران^(۱۹) گزارش کردند که آب ازن دار با غلظت (5 $\mu\text{g/ml}$) موجب حذف کامل کاندیدا آلیکنس شده و در غلظتهای پایتتر (1.25, 2.5 $\mu\text{g/ml}$) با کاهش تعداد مخمر همراه بوده است. همچنین Arita و همکاران^(۲) نشان دادند که شستشو با آب ازن دار حتی با غلظت 0.5 $\mu\text{g/ml}$ و با جریان ۲ لیتر بر دقیقه به مدت ۱ دقیقه در مقایسه با شستشو با جریان آب بطور قابل توجهی تعداد مخمرهای کاندیدا را کاهش می دهد، که با نتایج تحقیق اخیر همخوانی دارد. بنابراین استفاده از محلول آبی ازن در غلظتهای پایین ($\leq 2 \mu\text{g/ml}$) برای حذف کامل مخمر کاندیدا از روی سطوح آکریلی کافی نمی باشد.

محلول نیستاتین به طور کاملاً موثری سبب از بین رفتن قارچهای موجود بر روی قطعات آکریلی گردید، به طوری که به دنبال مواجهه با نیستاتین، کلنی باقیمانده بر روی قطعات آکریلی به صفر رسید. بالاترین غلظت روغن ازن دار (25 $\mu\text{g/ml}$) اثری مشابه نیستاتین داشته و موجب حذف کامل مخمر کاندیدا از روی قطعات آکریلی گردید. نتایج آزمون Mann-Whitney تفاوت معنی داری را برای نیستاتین و روغن ازن دار نسبت به سایر گروهها نشان داد ($P=0.008$). همچنین گروه آب مقطر و روغن زیتون (کنترل منفی) با تمام گروهها اختلاف معنی داری داشت ($p=0.000$)، بطوری که روغن ازن دار و محلولهای آب ازن دار در غلظتهای مختلف اثرات بهتری نسبت به روغن زیتون و آب مقطر (کنترل منفی) نشان دادند. همچنین در مقایسه غلظتهای مختلف محلول آبی ازن تفاوت معنی داری بین گروههای آزمون مشاهده نگردید، اما با افزایش غلظت ازن، تعداد مخمرهای متصل به قطعات بطور قابل توجهی کاهش یافت.

که با ۱ دقیقه مواجهه با گاز ازن، تعداد سلولهای میکروبی به یک دهم کاهش می یابد و در مدت ۳ دقیقه نزدیک به صفر می شود. همچنین گزارش کردند که مواجهه مستقیم با گاز ازن موثرتر از مواجهه با محلول آبی ازن می باشد. در مطالعه Cardoso و همکاران^(۲۰) بر اساس مطالعات پایلوت، دوره تیمار با آب ازن دار ۲۰ دقیقه منظور گردید و تأثیر ضدقارچی آب ازن دار بر روی کاندیدا آلبیکنس ۱۰ دقیقه نشان داده شد. همچنین da Silva Faria و همکاران^(۲۴) نشان دادند که آب ازن دار با غلظت ۳/۳ میلی گرم بر میلی لیتر در مدت ۵ دقیقه موجب مرگ سلولهای مخمری کاندیدا می شود. در این مطالعه به استناد گزارشات قبلی و با توجه به نیمه عمر کوتاه محلول آبی ازن، حداکثر زمان ممکن برای مجاورت با آب ازن دار یک ساعت در نظر گرفته شد.

برای تمیز کردن دندانهای مصنوعی و حذف پلاکهای میکروبی از روشهای فیزیکی و شیمیایی استفاده می شود. در مطالعه Lee و همکاران^(۲۵) شش روش پاکسازی دندان مصنوعی در کاهش تعداد کاندیدا آلبیکنس بر روی پروتزهای دندانی مورد مقایسه قرار گرفت و نشان داده شد که استفاده از روش ترکیبی مسواک و مواد شیمیایی موثرترین روش در کاهش جمعیت کاندیدا آلبیکنس می باشد. استفاده از آب و مسواک متداولترین روش تمیز کردن دندان مصنوعی است.^(۲۶) البته مسواک به تنهایی قادر به پاکسازی کامل پلاکهای میکروبی نمی باشد.^(۲۵) همچنین استفاده از مسواک و خمیردندان می تواند بر بافت پروتز آسیب رسانده و تشکیل پلاک را بر روی این سطوح افزایش دهد،^(۲۷) زیرا زبری سطوح آکرلیکی فاکتور کلیدی در به دام افتادن و اتصال میکروارگانیسمها بر روی پروتزهای دندانی می باشد.^(۲۸) در مقابل غوطه ور کردن پروتز دندانی در محلولهای ضدعفونی کننده روشی

Arita و همکاران^(۲) نشان دادند که با ۱ دقیقه شستشوی قطعات آکرلیکی با جریان ۲ لیتر بر دقیقه با غلظتهای ۲ و ۴ $\mu\text{g/ml}$ آب ازن دار تقریباً هیچ مخمری زنده نمی ماند، در حالی که در این مطالعه بالاترین غلظت مورد استفاده (۲ $\mu\text{g/ml}$) نیز قادر به حذف کامل مخمر نگردید. اختلاف در غلظت و مدت زمان تأثیر محلول ازن بر روی مخمر کاندیدا احتمالاً به سایر فاکتورها از جمله تعداد اولیه سلول و یا میزان حساسیت میکروارگانیسم بستگی دارد.^(۲۰) در این مطالعه سویه استاندارد C. albicans ATCC 10231 و در مطالعه Arita و همکاران^(۲) سویه استاندارد C. albicans ATCC 18804 مورد استفاده قرار گرفته بود. همان گونه که در مطالعات قبلی اشاره شده است، اثر ضدقارچی ازن به فاکتورهای متعددی از جمله غلظت ازن، مدت زمان مواجهه و نوع میکروارگانیسم بستگی دارد.^(۲۰،۲۱)

در مورد مدت زمان مفید مواجهه با ازن گزارشات متنوعی وجود دارد. در مطالعه Arita و همکاران،^(۲) مدت زمان مواجهه با محلول آبی ازن بررسی شد و بیشترین اثربخشی در زمان ۶۰ دقیقه مواجهه با محلول ازن گزارش گردید. Bezirtzoglou و همکاران^(۲۲) ۳۰ دقیقه مجاورت با ازن را بر روی میکروارگانیسمهای جداسازی شده از مسواک از جمله کاندیدا آلبیکنس موثر دانسته و زمان کوتاهتر از آن را برای ضدعفونی، ناکافی قلمداد کردند. در مقابل nagayoshi و همکاران^(۱۵) گزارش کردند که ۱۰ دقیقه مجاورت با غلظت ۴ $\mu\text{g/ml}$ آب ازن دار میکروارگانیسمهای حفره دهانی و پلاکهای دندانی را بطور کامل از بین می برد. Oizumi و همکاران^(۲۳) تأثیر گاز ازن و محلول آبی ازن را بر روی سه استرین استاندارد استرپتوکوکوس موتانس، استافیلوکوکوس اورئوس و کاندیدا آلبیکنس مقایسه کرده و نشان دادند

در این مطالعه نشان داده شد که اختلاف معنی داری در فعالیت ضد میکروبی آب ازن دار و محلول تجاری روغن ازن وجود دارد، که البته با توجه به غلظت بالای روغن ازن دار این نتیجه قابل پیش بینی بود. در مطالعه برنجی و همکاران^(۱۳) اثر مهاری محلول روغنی ازن بر روی سه گونه کاندیدا گزارش شده است، روغن ازن دار پایداری بیشتری نسبت به محلول آبی ازن دارد، ولی با توجه به ماهیت روغنی این محلول، استفاده از آن به عنوان محلول تمیزکننده دندان مصنوعی مناسب نمی باشد. نیمه عمر ازن با توجه به دمای محیط می تواند متغیر باشد. گاز ازن در دمای ۲۰ درجه نیمه عمر ۴۰ دقیقه ای و در دمای صفر درجه ۱۴۰ دقیقه می باشد، در مقابل پایداری روغن ازن دار در دمای ۱۰- تا ۸+ به مدت یک سال و در دمای اتاق (۲۷ تا ۳۰ درجه) به مدت ۶ ماه تعیین شده است و بعد از آن خواص ضد میکروبی آن کاهش می یابد.^(۳۵) روغن ازن بر پایه روغن زیتون، روغن آفتابگردان و روغن بادام زمینی تهیه می شود. این ترکیب در شستشوی کانال دندان نسبت به سدیم هیپوکلریت و سدیم پراکسید موثرتر و سریعتر عمل می کند. Diaz و همکاران گزارش کردند که قدرت میکروب کشی روغن ازن دار با مقدار ترکیبات پراکسیدازی محلول در ارتباط است.^(۳۶) واکنش ازن با اسیدهای چرب غیراشباع روغن زیتون، ترکیبات توکسیک متعددی از جمله Hydroperoxides, ozonides, aldehydes, diperoxides, polyperoxides تولید می کند که می توانند مسئول اثرات ضد میکروبی روغن زیتون ازن دار باشند.^(۳۷) همچنین ازن در محیط آبی رادیکالهای اکسیده تشکیل داده و با نفوذ به غشای سیتوپلاسمی تعادل اسمزی سلول را برهم زده و همچنین موجب

موثر در کاهش تعداد میکروارگانیسمها می باشد،^(۲۵) هرچند برخی از عوامل شیمیایی بر روی رزین آکریلی و آلیاژهای فلزی دندان مصنوعی آسیب می رساند.^(۲۷) اما ازن اثرات مخرب ناچیزی بر سطح پروتز دارد، شواهد خوبی وجود دارد که استفاده از ازن به عنوان تمیزکننده دندان مصنوعی تأثیر اندکی بر کیفیت پروتزهای دندانی وارد می کند.^(۲۰،۲۳،۲۹)

مطالعات متعددی خاصیت ضد عفونی کنندگی ازن را بر روی انواع باکتریها، قارچها و ویروسها گزارش کرده اند.^(۲،۱۵،۳۰) به دلیل خاصیت ضد میکروبی مناسب و عدم وجود مقاومتهای دارویی، استفاده از ازن در پاکسازی آب و نگهداری مواد غذایی مورد توجه قرار گرفته است.^(۳۱،۳۲) همچنین این ترکیب به دلیل خواص قوی اکسیداتیو می تواند به عنوان میکروب کش وسیع الطیف در عفونتهای توأم ناشی از چندین میکروارگانیسم بسیار ایده آل عمل کند.^(۲) تماس مستقیم با گاز ازن اثر میکروب کشی بیشتری نسبت به محلول آبی ازن دارد، در مقابل آب ازن دار به عنوان یک ماده آنتی سپتیک خصوصیات سیتوتوکسیک کمتری نسبت به گاز ازن، کلرگزیدین دی گلوکونات، هیپوکلریت سدیم و پراکسید هیدروژن دارد، همچنین در مقایسه با بسیاری از ترکیبات تجاری ارزاتر می باشد.^(۳۳،۱۹) حتی تأثیر روغن ازن دار در التیام زخمهای جلدی توسط Kim و همکاران^(۳۴) گزارش شده است. بنابراین آب ازن در غلظت مناسب و در مدت زمان بسیار کوتاهتر نسبت به سایر ترکیبات شیمیایی، اثر ضد میکروبی قابل قبولی بر طیف وسیعی از میکروارگانیسمها داشته و برای مصارف دندانپزشکی یک ترکیب ایده آل با خواص زیست سازگاری مناسب محسوب می شود.^(۲۳)

اکسیداسیون اسیدهای آمینه و اسید نوکلئیک و در نهایت موجب لیز سلولی می شود. (۲۰۰۳)

نتیجه گیری

با وجود اینکه مطالعات آزمایشگاهی آینده امیدبخشی را برای ازن درمانی در دندانپزشکی نوید می دهد، شواهد بالینی اندکی در این رابطه وجود دارد، بنابراین توصیه می شود مطالعات بالینی بیشتری در

راستای استانداردسازی و تدوین دقیق اندیکاتورها و راهنمای استفاده از ازن درمانی انجام شود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی زنجان جهت تصویب پایان نامه و حمایت‌های مالی آن کمال تشکر و قدردانی به عمل می آید.

منابع

1. Dikbas I, Koksall T, Calikkocaoglu S. Investigation of the cleanliness of dentures in a university hospital. *Int J Prosthodont* 2006; 19(3):294-8.
2. Arita M, Nagayoshi M, Fukuizumi T, Okinaga T, Masumi S, Morikawa M, et al. Microbicidal efficacy of ozonated water against *Candida albicans* adhering to acrylic denture plates. *Mol Oral Microbiol* 2005; 20(4):206-10.
3. Yoneyama T, Yoshida M, Ohru T, Mukaiyama H, Okamoto H, Hoshiba K, et al. Oral care reduces pneumonia in older patients in nursing homes. *J Am Geriatr Soc* 2002; 50(3):430-3.
4. He XY, Meurman JH, Kari K, Rautemaa R, Samaranayake LP. In vitro adhesion of *Candida* species to denture base materials. *Mycoses* 2006; 49(2):80-4.
5. Kossioni AE. The prevalence of denture stomatitis and its predisposing conditions in an older Greek population. *Gerodontology* 2011; 28(2):85-90.
6. Nett JE, Marchillo K, Spiegel CA, Andes DR. Development and validation of an in vivo *Candida albicans* biofilm denture model. *Infect Immun* 2010; 78(9):3650-9.
7. Salim N, Moore C, Silikas N, Satterthwaite J, Rautemaa R. Candidacidal effect of fluconazole and chlorhexidine released from acrylic polymer. *J Antimicrob Chemother* 2012; 68(3):587-92.
8. A Jafari AA, Falah-Tafti A, Lotfi-Kamran MH, Zahraei A, Kazemi A. Vinegar as a removing agent of *Candida albicans* from acrylic resin plates. *Jundishapur J Microb* 2012; 5(2):388-92.
9. Coronado-Castellote L, Jiménez-Soriano Y. Clinical and microbiological diagnosis of oral candidiasis. *J Clin Exp Dent* 2013; 5(5):e279-86.
10. Dangi YS, Soni ML, Namdeo KP. Oral candidiasis: a review. *Int J Pharm Pharm Sci* 2010; 2(4):36-41.
11. Höfs S, Mogavero S, Hube B. Interaction of *Candida albicans* with host cells: virulence factors, host defense, escape strategies, and the microbiota. *J Microbiol* 2016; 54(3):149-69.
12. Borges GÁ, Elias ST, da Silva SM, Magalhães PO, Macedo SB, Ribeiro AP, et al. In vitro evaluation of wound healing and antimicrobial potential of ozone therapy. *J Craniomaxillofac Surg* 2017; 45(3):364-70.

13. Berenji F, Rajabi O, Azish M, Minoochehr N. Comparing the effect of ozonized olive oil with clotrimazole on three *Candida* species *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*. *J Microbiol Res* 2014; 2(1):9-13.
14. Nogales CG, Ferrari PH, Kantorovich EO, Lage-Marques JL. Ozone therapy in medicine and dentistry. *J Contemp Dent Pract* 2008; 9(4):75-84.
15. Nagayoshi M, Fukuizumi T, Kitamura C, Yano J, Terashita M, Nishihara T. Efficacy of ozone on survival and permeability of oral microorganisms. *Mol Oral Microbiol* 2004; 19(4):240-6.
16. Celiberti P, Pazera P, Lussi A. The impact of ozone treatment on enamel physical properties. *Am J Dent* 2006; 19(1):67-72.
17. Holmes J. Clinical reversal of root caries using ozone, double-blind, randomised, controlled 18-month trial. *Gerodontology* 2003; 20(2):106-14.
18. Bocci V, Borrelli E, Travagli V, Zanardi I. The ozone paradox: ozone is a strong oxidant as well as a medical drug. *Med Res Rev* 2009; 29(4):646-82.
19. Huth KC, Quirling M, Maier S, Kamereck K, Alkhayer M, Paschos E, et al. Effectiveness of ozone against endodontopathogenic microorganisms in a root canal biofilm model. *Int Endod J* 2009; 42(1):3-13.
20. Cardoso MG, de Oliveira LD, Koga-Ito CY, Jorge AO. Effectiveness of ozonated water on *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, and endotoxins in root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008; 105(3):e85-91.
21. Vianna ME, Gomes BP, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza-Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 97(1):79-84.
22. Bezirtzoglou E, Cretoiu SM, Moldoveanu M, Alexopoulos A, Lazar V, Nakou M. A quantitative approach to the effectiveness of ozone against microbiota organisms colonizing toothbrushes. *J Dent* 2008; 36(8):600-5.
23. Oizumi M, Suzuki T, Uchida M, Furuya J, Okamoto Y. In vitro testing of a denture cleaning method using ozone. *J Med Dent Sci* 1998; 45:135-9.
24. da Silva Faria I, Ueno M, Koga-Ito CY, Urruchi WI, Balducci I, Jorge AO. Effects of ozonated water on *Candida albicans* oral isolates. *Braz J Oral Sci* 2005; 4(14):783-6.
25. Lee HE, Li CY, Chang HW, Yang YH, Wu JH. Effects of different denture cleaning methods to remove *Candida albicans* from acrylic resin denture based material. *J Dent Sci* 2011; 6(4):216-20.
26. Peracini A, Andrade IM, Paranhos Hde F, Silva CH, Souza RF. Behaviors and hygiene habits of complete denture wearers. *Braz Dent J* 2010; 21(3):247-52.
27. Oliveira LV, Mesquita MF, Henriques GE, Consani RL. The effect of brushing on surface roughness of denture lining materials. *J Prosthodont* 2007; 16(3):179-84.
28. Sadeghpour Shahab M, Falahati M, Ashrafi Khozani M, Shirian AA. The comparison of the bayer acryl and acropars acryl effect on the adhesion of *Candida albicans*. *Razi J Med Sci* 2011; 18(89):20-6.
29. Gopalakrishnan S, Parthiban S. Ozone-a new revolution in dentistry. *J Bio Innov* 2012; 1(3):58-69.

30. Hems R, Gulabivala K, Ng YL, Ready D, Spratt D. An in vitro evaluation of the ability of ozone to kill a strain of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 2005; 38(1):22-9.
31. Cullen P, Valdramidis V, Tiwari B, Patil S, Bourke P, O'donnell C. Ozone processing for food preservation: an overview on fruit juice treatments. *Ozone Sci Eng* 2010; 32(3):166-79.
32. Margot J, Kienle C, Magnet A, Weil M, Rossi L, de Alencastro LF, et al. Treatment of micropollutants in municipal wastewater: ozone or powdered activated carbon? *Sci Total Environ* 2013; 461-462:480-98.
33. Huth KC, Jakob FM, Saugel B, Cappello C, Paschos E, Hollweck R, et al. Effect of ozone on oral cells compared with established antimicrobials. *Eur J Oral Sci* 2006; 114(5):435-40.
34. Kim HS, Noh SU, Han YW, Kim KM, Kang H, Kim HO, et al. Therapeutic effects of topical application of ozone on acute cutaneous wound healing. *J Korean Med Sci* 2009; 24(3):368-74.
35. Mandhare M, Jagdale D, Gaikwad P, Gandhi P, Kadam V. Miracle of ozone therapy as an alternative medicine. *Int J Pharm Chem Biol Sci* 2012; 2(1):63-71.
36. Díaz MF, Hernández R, Martínez G, Vidal G, Gómez M, Fernández H, et al. Comparative study of ozonized olive oil and ozonized sunflower oil. *J Brazil Chem Soc* 2006; 17(2):403-7.
37. Geweely NS. Antifungal activity of ozonized olive oil (Oleozone). *Int J Agri Biol* 2006; 8(5):671-8.