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]*

[۱]استادیار گروه پریودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زنجان، زنجان، ایران

[۲]دندانپزشک، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زنجان، زنجان، ایران

[۳]دانشیار گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زنجان، زنجان، ایران

[۴]استادیار 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 Ariamanesh[1], Fatemeh Malimir[2], Maryam Babaei[1], Nima Motamed[3], Saeid Amanloo[4]*

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

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

[3]Associate Professor, Department of Social Medicine, Zanjan University of Medical ScienceZanjanIran

[4]Assistant Professor, Department of Parasitology and Mycology, Zanjan University of Medical ScienceZanjanIran

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 ازن‌دار در پاکسازی پلاک کاندیدا آلبیکنس بر روی قطعات اکریلی می باشد

مواد و روشها: در این مطالعه تعداد ۴۵ قطعه آکریلی 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 ازن‌دار، 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 شستشوی قطعات آکریلی بر روی محیط SDA کشت داده شد و مقایسه بین گروهها با استفاده از آزمون کروسکال-والیس و مقایسه دوبه 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

E-mail: amanloo@zums.ac.ir

یافته ها: میانگین تعداد کلونیهای بدست آمده در غلظتهای ۰/۲ ، ۰/۵، ۱ و ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر محلول آبی ازن به ترتیب ۲۴، 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 ازن‌دار اثر مهارکنندگی بهتری نسبت به محلول آبی ازن نشان داد، به طوری که روغن ازن‌دار با غلظت ۱۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر (P=1) و غلظت ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر (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 آلبیکنس 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 آلبیکنس، پروتز کامل دندانی، دنچر استوماتیت، ضدقارچی.

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۷ دوره ۴۲ / شماره ۲ : ۱۰۴-۹۵ .

مقدمه

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 می‌یابد، به طوری که طبق گزارش یکی از مطالعات تنها ۱۱/۹ درصد این افراد به تمیز کردن دندانهای خود مبادرت می‌کنند.[۱] تشکیل پلاک بر روی پروتزهای دندانی محیط مناسبی را برای رشد کاندیدا آلبیکنس فراهم می‌کند.[۲] این پلاکها می‌توانند 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.[٤] و استوماتیت دندانی یکی از شایعترین مشکلات التهابی در افراد استفاده‌کننده از دندان مصنوعی به شمار می رود.[۸-۵] 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 فرصت‌طلب را در افراد مستعد ایجاد می کند. کاندیدا آلبیکنس به عنوان مهمترین گونه بیماریزا از این جنس 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 ویرولانس کاندیدا آلبیکنس در ایجاد استوماتیت دندانی محسوب می‌شوند. همچنین از فاکتورهای میزبانی می‌توان 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 آلبیکنس در بیماران استفاده کننده از پروتزهای دندانی کامل، کنترل بهداشت است که با روشهای مکانیکی و شیمیایی به انجام می‌رسد. 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 می‌کنند. در این روش از انواع محلولهای تمیزکننده تجاری یا خانگی استفاده می‌شود، که برخی از این محلولها گران بوده و تعدادی نیز به پروتز دندانی آسیب می‌رسانند و یا ممکن است عوارض جانبی از جمله حساسیتهای مخاط دهان ایجاد کنند[۱۰و۲] یافتن روشهای جدید و موثر برای حذف یا کاهش کلونیزاسیون

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

امروزه با توجه به خواص متعدد ضدمیکروبی و ضدالتهابی ازن،[۱۲] کاربردهای زیادی برای آن در پزشکی و دندانپزشکی تعریف شده است.[۱۳و۱۴] 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.[۲،۱۵-۱۷] همچنین ازن قادر به تهاجم به بسیاری از بیومولکولها از جمله سیستئین، متیونین و هیستیدین موجود در پروتئینها می باشد.[۱۷]

مواد و روشها

جهت انجام این مطالعه تجربی، ابتدا بایستی برای شبیه‌سازی شرایط پروتز کامل، قطعات آکریلی ساخته می شد. برای این منظور یک لایه موم نازک به ضخامت حدود ۱/۵ میلیمتر مفل‌گذاری شد و پس از مرحله حذف موم، توسط آکریل گرماپخت (Bayer-Liechtenstein) جایگزین گردید. پس از خارج کردن آکریل گرماپخت از مفل، با استفاده از دیسک فلزی و هندپیس به قطعات یک شکل و یک اندازه با ابعاد ۱۰×۱۰×۱/۵ میلیمتر تقسیم گردید. برای جلوگیری از دهیدراته شدن، قطعات آکریلی درون آب مقطر غوطه‌ور 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 ۲±۳۵ درجه، برای

در سالهای اخیر مطالعات فراوانی بر روی خواص ضدعفونی‌کنندگی ازن به انجام رسیده است.[۲،۱۲،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 بی‌ضرر 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 پروتز های دندانی طراحی و اجرا گردید.

استفاده در مراحل بعدی آزمایشها به دمای ٤ درجه سانتیگراد یخچال انتقال یافت. به منظور تهیه سوسپانسیون میکروبی، تک‌کلونیهای کشت خالص سویه استاندارد کاندیدا آلبیکنس در محیط کشت سابورود دکستروز براث (Pronadisa,Spain) تلقیح شد و با استفاده از لام هموسیتومتری شمارش سلولی انجام گرفت و سوسپانسیون میکروبی با تعداد 2×10^7 CFU/ml تهیه گردید. کلیه قطعات آکریلی داخل محیط کشت حاوی سوسپانسیون کاندیدا غوطه‌ور شد و در انکوباتور شیکردار (Heidolph-Germany) با دور 100 rpm در دمای ۲±۳۵ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت نگهداری شد، تا کاندیدا بر روی قطعات آکریلی 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.

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 میلی‌لیتر 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 ٤٥ 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 میلی‌لیتر بود. دو گروه بعدی شامل روغن زیتون حاوی ازن (O3LIFE-Iran) با غلظتهای ۱۲/۵ و ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. گروه هفتم حاوی ۲ میلی‌لیتر محلول ۱۰۰۰۰۰ واحدی نیستاتین (کنترل مثبت) و گروه هشتم حاوی ۲ میلی لیتر آب مقطر استریل (کنترل منفی) و گروه نهم حاوی ۲ میلی‌لیتر 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 میلی‌لیتر سالین استریل افزوده و با دستگاه سونیکاسیون (Heilscher,Germany) به مدت ۵ دقیقه اولتراسونیک نموده (٤٥ کیلوهرتز) تا سلولهای مخمری متصل به 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 ٤٨ ساعت در دمای ۲±۳۵ 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 کلوموگروف 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. (α=۰/۰۵)

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.

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

گروه (µg/ml)	میانگین سلول مخمری (CFU/ml)	انحراف معیار	نتیجه آزمون
نیستاتین (کنترل مثبت)	۰	۰	
آب مقطر (کنترل منفی)	۱٤۱/٦	۸/۳۸	
محلول آب ازن (۰/۲)	۲٤	۵/۱۹	
محلول آب ازن (۰/۵)	۲٤/٦	۳/۹۷	
محلول آب ازن (۱)	۲۳/٦	۲/۱۹	
محلول آب ازن (۲)	۱٤/٤	۳/۳٦	P<۰/۰۰۱
محلول روغن ازن (۲۵)	۰	۰	
محلول روغن ازن (۱۲/۵)	٦/۲	۲/۳۸	
روغن زیتون (کنترل منفی)	۹۸/۸	۷/۵۹	

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 µg/ml) اثری مشابه نیستاتین داشته و موجب حذف کامل مخمر کاندیدا از روی قطعات آکریلی گردید. نتایج آزمون Mann-Whitney تفاوت معنی‌داری 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 معنی‌داری داشت (p=0.000)، بطوری که روغن ازن‌دار و محلولهای آب ازن‌دار 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 معنی‌داری بین گروههای آزمون مشاهده نگردید، اما با افزایش غلظت ازن، تعداد مخمرهای متصل به قطعات بطور قابل توجهی کاهش یافت.

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 معنی‌دار نبود. این یافته ها با نتایج برخی از مطالعات همخوانی دارد.

Huth و همکاران[۱۹] گزارش کردند که آب ازن دار با غلظت (5 µg/ml) موجب حذف کامل کاندیدا آلبیکنس شده و در غلظتهای پایینتر (1.25, 2.5 µg/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 µg/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 (≤2 µg/ml) برای حذف کامل مخمر کاندیدا از روی سطوح آکریلی کافی نمی باشد.

Arita و همکاران[۲] نشان دادند که با ۱ دقیقه شستشوی قطعات آکریلی با جریان ۲ لیتر بر دقیقه با غلظتهای µg/ml ۲ و ٤ آب ازن‌دار تقریباً هیچ مخمری زنده نمی‌نماند، در حالی که در این مطالعه بالاترین غلظت مورد استفاده (2 µg/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 ٦۰ 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 µg/ml ٤ آب ازن‌دار میکروارگانیسمهای حفره دهانی و پلاکهای دندانی را بطور کامل از بین می‌برد. Oizumi و همکاران[۲۳] تأثیر گاز ازن و محلول آبی ازن را بر روی سه استرین استاندارد استرپتوکوکوس موتانس، استافیلوکوکوس اورئوس و کاندیدا البیکنس مقایسه کرده و نشان دادند 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 می‌شود. همچنین گزارش کردند که مواجهه مستقیم با گاز ازن موثرتر از مواجهه با محلول آبی ازن می‌باشد. در مطالعه Cardoso و همکاران[۲۰] براساس 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[۲٤] نشان دادند که آب ازن دار با غلظت ۳/۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر 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.[۲٦] البته مسواک به تنهایی قادر به پاکسازی کامل پلاکهای میکروبی نمی باشد.[۲۵] همچنین استفاده از مسواک و خمیردندان می‌تواند بر بافت پروتز آسیب رسانده و تشکیل پلاک را بر روی این سطوح افزایش دهد،[۲۷] زیرا زبری سطوح آکریلی فاکتور کلیدی در به دام افتادن و اتصال میکروارگانیسمها بر روی پروتزهای دندانی می‌باشد. [۲۸]در مقابل غوطه‌ور کردن پروتز دندانی در محلولهای ضدعفونی کننده روشی

موثر در کاهش تعداد میکروارگانیسمها می‌باشد،[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. [۲،۲۳،۲۹]

مطالعات متعددی خاصیت ضدعفونی کنندگی ازن را بر روی انواع باکتریها، قارچها و ویروسها گزارش کرده اند.[۲،۱۵،۳۰] به دلیل خاصیت ضدمیکروبی 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 می‌تواند به عنوان میکروب‌کش وسیع الطیف در عفونتهای توأم ناشی از چندین میکروارگانیسم بسیار ایده‌آل 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، کلرهگزیدین دی گلوکونات، هیپوکلریت سدیم و پراکسید هیدروژن دارد، همچنین در مقایسه با بسیاری از ترکیبات تجاری ارزانتر می باشد.[۱۹،۳۳] حتی تأثیر روغن ازن‌دار در التیام زخمهای جلدی توسط Kim و همکاران[۳٤] گزارش شده است. بنابراین آب ازن در غلظت مناسب و در مدت زمان بسیار کوتاهتر نسبت به سایر ترکیبات شیمیایی، اثر ضدمیکروبی قابل قبولی بر طیف وسیعی از میکروارگانیسمها داشته و برای مصارف دندانپزشکی یک ترکیب ایده‌آل با خواص زیست سازگاری مناسب محسوب می شود. [۲۳]

در این مطالعه نشان داده شد که اختلاف معنی‌داری در فعالیت ضدمیکروبی آب ازن‌دار و محلول تجاری روغن ازن وجود دارد، که البته با توجه به غلظت بالای روغن ازن‌دار 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 ازن‌دار 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 می‌تواند متغیر باشد. گاز ازن در دمای ۲۰ درجه نیمه عمر ٤۰ دقیقه ای و در دمای صفر درجه ۱٤۰ دقیقه می باشد، در مقابل پایداری روغن ازن‌دار در دمای ۱۰- تا ۸+ به مدت یک سال و در دمای اتاق (۲۷ تا ۳۰ درجه) به مدت ٦ ماه تعیین شده است و بعد از آن خواص ضدمیکروبی 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 میکروب‌کشی روغن ازن‌دار با مقدار ترکیبات پراکسیدازی محلول در ارتباط است.[۳٦] واکنش ازن با اسیدهای چرب غیراشباع روغن زیتون، ترکیبات توکسیک متعددی از جمله Hydroperoxides, ozonides, aldehydes, diperoxides , polyperoxides تولید می‌کند که می توانند مسئول اثرات ضدمیکروبی 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

اکسیداسیون اسیدهای آمینه و اسید نوکلئیک و در نهایت موجب لیز سلولی می شود.[۲۰،۲۳]

نتیجه گیری

با وجود اینکه مطالعات آزمایشگاهی آینده امیدبخشی را برای ازن‌درمانی در دندانپزشکی نوید می دهد، شواهد بالینی اندکی در این رابطه وجود دارد، بنابراین توصیه می‌شود 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 علوم‌پزشکی زنجان جهت تصویب پایان‌نامه و حمایتهای مالی آن کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

منابع

1. Dikbas I, Koksal T, Calıkkocaoglu 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, Ohrui 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. Gerodontol 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, Zahraeii 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. albiacans, 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.