

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.11.014

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220209.1340.016.html\(2022-02-09\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220209.1340.016.html(2022-02-09))

不同条件下臭氧溶液对牙周致病菌的体外抑制作用*

陈 岚¹, 杨 洋², 刘兴容¹, 徐 皑^{1△}

(1. 西南医科大学口腔医学院/西南医科大学附属口腔医院牙体牙髓科, 四川泸州 646000;

2. 汉中市口腔医院牙周黏膜科, 陕西汉中 723000)

[摘要] **目的** 探讨小型电解式臭氧机制备的臭氧溶液在不同条件下对 3 种牙周致病菌的体外抑制作用。**方法** 以碘量法检测臭氧机产生的臭氧溶液浓度, 通过定量悬液杀菌法测定其在不同浓度(1.12、1.96、2.85 mg/L)、不同温度(10、15、20 °C)下对牙龈卟啉单胞菌(*P. g*)、黏性放线菌(*A. v*)和具核梭杆菌(*F. n*)处理不同时间(30、60 s)后的菌落总数, 分析其抑菌效果。**结果** 1.12、1.96、2.85 mg/L 3 种浓度的臭氧溶液在不同温度及作用时间下对 *P. g*、*A. v* 和 *F. n* 均有不同程度的抑制作用 ($P < 0.05$); 当温度相同时, 作用浓度越高, 抑菌效果越强。当温度为 20 °C、浓度为 2.85 mg/L, 作用 30 s 时对 *P. g* 抑制作用最强(82.35%), 作用 60 s 时对 *F. n* 作用最强(86.36%); 当温度为 15 °C、浓度为 2.85 mg/L, 作用 60 s 时对 *A. v* 抑菌作用最强(81.25%)。**结论** 小型电解式臭氧机所制备的 3 种不同浓度的臭氧溶液在不同温度下对 3 种牙周致病菌均有明显的抑菌效果, 但抑菌敏感性不一致。

[关键词] 臭氧溶液; 牙周致病菌; 牙龈卟啉单胞菌; 黏性放线菌; 具核梭杆菌; 细菌培养**[中图分类号]** R781**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2022)11-1871-05**In vitro inhibitory effect of ozone solution on periodontal pathogenic bacteria under different conditions***CHEN Lan¹, YANG Yang², LIU Xingrong¹, XU Ai^{1△}

(1. School of Stomatology, Southwest Medical University/Department of Endodontics, Affiliated Stomatological Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China; 2. Department of Periodontology, Hanzhong Municipal Stomatological Hospital, Hanzhong, Shaanxi 723000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the in vitro inhibitory effect of ozone solution prepared by small electrolytic ozone machine on three kinds of periodontal pathogenic bacteria under different conditions. **Methods** The concentration of ozone solution produced by the ozone machine was detected by iodometry. The total bacterial colony numbers of porphyromonas gingivalis (*P. g*), actinomyces viscosus (*A. V*) and fusobacterium nucleatum (*F. n*) treated with different time (30, 60 s) under different concentrations (1.12, 1.96, 2.85 mg/L) and temperatures (10, 15, 20 °C) were determined by the quantitative suspension method. Its antibacterial effect was analyzed. **Results** The three concentrations 1.12, 1.96, 2.85 mg/L of ozone solution had different degrees of inhibition effect on *P. g*, *A. V* and *F. n* at different temperatures and time ($P < 0.05$); under the same temperature, the higher the action concentration was, the stronger the antibacterial effect was. When the temperature was 20 °C and the concentration was 2.85 mg/L, the inhibitory effect on *P. g* was the strongest (82.35%) when the action for 30 s, and which was the strongest (86.36%) on *F. N* when the action for 60 s; when the temperature was 15 °C and the concentration was 2.85 mg/L, the antibacterial effect on *A. V* was the strongest (81.25%) when the action for 60 s. **Conclusion** The three kinds of different concentrations of ozone solution prepared by small electrolytic ozone machine have the obvious antibacterial effect on the three kinds of periodontal pathogenic bacteria at different temperatures, but the antibacterial sensitivity is not consistent.

[Key words] ozone solution; periodontal pathogens; porphyromonas gingivalis; actinomyces viscosus; fusobacterium nucleatum; bacterial culture

* 基金项目: 四川省科技厅-泸州市人民政府-泸州医学院 2014 年联合科研项目(LY53); 四川省卫生厅科研基金(100247); 四川省教育厅科研基金(13ZA0235)。 作者简介: 陈岚(1995-), 在读硕士研究生, 主要从事牙体牙髓疾病研究。 △ 通信作者, E-mail: xuai426@163.com。

牙周病是混合细菌感染性疾病,由牙菌斑中的可疑致病菌通过多种机制干扰宿主防御能力而引发的牙周破坏^[1]。基础治疗是牙周病治疗的基本方法^[2],包括机械措施和化学方法,单纯依靠机械方式无法彻底清除菌斑,而牙周辅助应用氯己定等抗菌药物又会造成牙齿变色和短暂的味觉障碍等不良反应^[3],因此,需要新的抗菌药物用以辅助治疗牙周病。具有抗菌作用的臭氧毒副作用小,已经被应用于皮肤病^[4]、骨关节炎的治疗^[5]中,近年来,也以气体、水溶液、植物油的形式应用于根管消毒、口臭、下颌骨坏死、龋齿及牙周炎等的治疗中^[6]。臭氧作为辅助治疗的应用代表了治疗慢性牙周炎的一种新方法^[7]。本研究在前期已申请的臭氧溶液洁牙机的基础上,设计并探讨其作为牙周病辅助治疗新方法的可能性。

1 材料与方法

1.1 主要材料和仪器

标准菌株:牙龈卟啉单胞菌(*porphyromonas gingivalis*, P. g) ATCC33277、具核梭杆菌(*fusobacterium nucleatum*, F. n) ATCC10957、黏性放线菌(*actinomyces viscosus*, A. v) ATCC 19246 冻干菌株均购自四川大学重点微生物实验室。小型电解式臭氧机百特 M-8600D 购自百特科技环保有限公司;体视显微镜购自英国 Alpha 公司;显微镜购自日本 OLYMPUS 公司;厌氧生化培养箱厌氧培养箱购自上海跃进医疗器械厂;离心沉淀机购自广东省医疗器械厂;微量移液器购自北方同正生物技术发展有限公司;比浊仪购自上海器械厂。

1.2 方法

1.2.1 臭氧溶液的制备、浓度及半衰期的测定

将臭氧机产生的臭氧以多孔砂球棒连续通入洁牙机上的无菌蒸馏水中,分别在 10、15、20 °C 制备臭氧溶液,并于臭氧溶液产生后的 5、10、15、20、25 min 以碘量法测定溶液中的臭氧浓度及最大实验室浓度。操作重复 3 次,取平均值。根据回归性分析计算出各温度下臭氧溶液的半衰期。

1.2.2 细菌的复苏、培养和鉴定

菌株冻存管复苏后各取 50 μ L 划线接种于 CDC 血琼脂平板上,置于厌氧箱(80% N₂、10% H₂、10% CO₂)中 37 °C 厌氧培养 72 h。经革兰染色镜检为纯培养后,于 CDC 液体培养基增菌至对数期,用比浊仪调节菌悬液密度至 1.5×10^8 cfu/mL 备用。

1.2.3 不同浓度、温度及作用时间下臭氧溶液的抑菌实验

实验分为 3 组:(1)实验组。分别于 10、15、20 °C 取 2.85、1.96、1.12 mg/L 臭氧溶液各 9 mL,共 9 个亚组,加入装有 1 mL 菌悬液的离心管中,震荡混匀,控制作用时间分别为 30、60 s,取 0.5 mL 菌悬液,加入 5 mL 磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS),1 000 \times g 离心 5 min,弃上清液,再加入 5 mL

PBS,震荡混匀,取菌悬液 0.1 mL,接种于 CDC 血琼脂平皿中,均匀涂布后置于 37 °C 恒温培养箱培养 72 h。(2)阳性对照组。取 3% H₂O₂ 溶液 9 mL,加入装有 1 mL 菌悬液的离心管中,震荡混匀,控制作用时间分别为 30、60 s,取菌悬液 0.5 mL,加入 5 mL PBS,1 000 \times g 离心 5 min,弃上清液,再加入 5 mL PBS,震荡混匀,取菌悬液 0.1 mL,接种于 CDC 血琼脂平皿中,相同条件培养 72 h。(3)阴性对照组。取无菌蒸馏水 9 mL,加入装有 1 mL 菌悬液的离心管中,震荡混匀,控制作用时间分别为 30、60 s,取菌悬液 0.5 mL,加入 5 mL PBS,1 000 \times g 离心 5 min,弃上清液,再加入 5 mL PBS,震荡混匀,取菌悬液 0.1 mL,接种于 CDC 血琼脂平皿中,培养相同时间。

1.2.4 菌落计数

72 h 时观察菌落形态,对各组菌落计数,结果取对数,记为 Lgcfu/mL。实验重复 3 次,结果取平均值。计算各组抑菌率,抑菌率=(阴性对照组-实验组)/阴性对照组 \times 100%。

1.3 统计学处理

数据采用 SPSS19.0 统计软件进行分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用单因素方差分析,方差齐时采用 L-S-D 分析;方差不齐时采用 Dunnett's 分析;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 臭氧溶液的浓度及半衰期

在不同浓度,不同温度下的臭氧溶液均随放置时间延长浓度有不同程度的下降,水温越高分解速度越快,半衰期越短。在水温为 10、15、20 °C 时臭氧溶液初始浓度分别为 2.85、1.96、1.12mg/L,半衰期分别为 69.00、40.20、30.00 min。不同温度下的臭氧溶液浓度,见表 1。

温度(°C)	5 min	10 min	15 min	20 min	25 min
10	2.85	2.64	2.48	2.26	1.93
15	1.96	1.49	1.26	1.02	0.81
20	1.12	1.07	0.69	0.54	0.36

2.2 细菌革兰染色结果

3 株菌株经革兰染色后,镜下观察可见 P. g ATCC 33277 为革兰阴性球菌;F. n ATCC 10957 为革兰阴性梭形杆菌,两端尖锐,中间膨大;A. v ATCC 19246 为革兰阳性杆菌,多形性,不规则。形态特点均符合 3 种菌株的理论形态,见图 1。

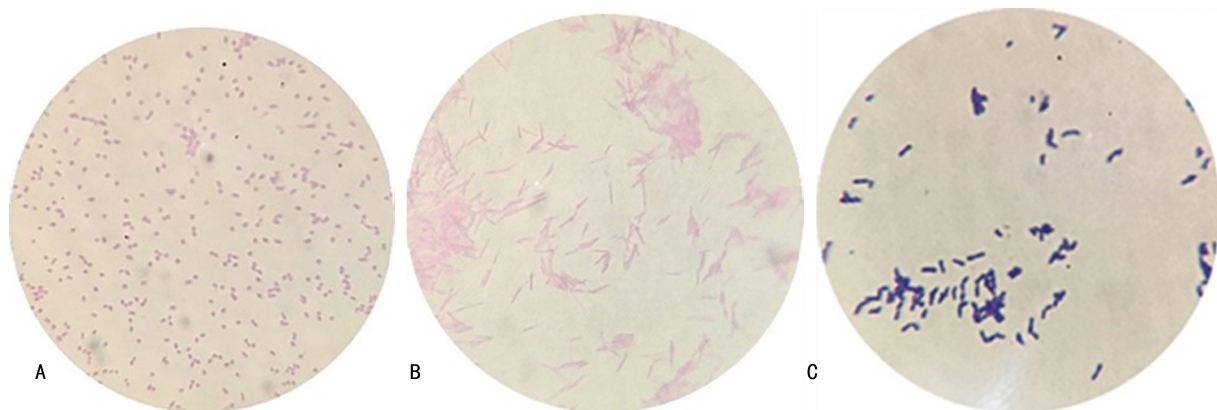
2.3 臭氧溶液的体外抑菌实验结果

2.3.1 臭氧溶液在不同温度、浓度、作用时间下对 P. g 的作用

与阴性对照组比较,各实验组臭氧溶液对 P. g 均具有明显的抑菌效果,臭氧溶液的浓度越高,温度越高,抑菌效果越强。臭氧溶液浓度为 2.85 mg/L,温

度 20 ℃, 作用 30 s 时对 P. g 的抑菌率最高 (82.35%), 抑菌效果与 3% H₂O₂ 效果相当; 而浓度为 1.12 mg/L, 温度 10 ℃, 作用 30 s 时抑菌效果最低 (23.53%), 见图 2。3 种浓度的臭氧溶液对 P. g 的抑菌结果经单因素方差分析, 各组间比较差异均有统计学差异 ($F = 28.165, P < 0.01$)。作用时间相同时 (30、60 s), 与阴性对照组比较, 9 组臭氧溶液对 P. g 的抑菌效果抑菌整体趋势均存在明显差异 ($P <$

0.01)。与阳性对照组比较, 作用 30 s 时, 只有 2.85 mg/L (15、20 ℃) 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 作用 60 s 时, 除 2.85 mg/L (20 ℃) 差异无统计学意义 ($P > 0.05$) 外, 其余各组差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。作用浓度、温度相同, 作用时间不同时, 除 1.96 mg/L (10 ℃) 组差异有统计学差异外 ($P < 0.05$), 其余各组均差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2。



A: P. g ATCC33277; B: F. n ATCC10957; C: A. v ATCC19246。

图 1 3 种细菌的革兰染色结果 (×1 600)

表 2 各组溶液对 P. g 作用 30、60 s 后平均菌落计数比较 (Lgcfu/mL)

组别	30 s	60 s	P1	P2	P3	P4	P5
阴性对照组	5.67±0.52	5.50±0.55		<0.01		<0.01	0.64
阳性对照组	1.00±0.00	1.00±0.00	<0.01		<0.01		1.00
1.12 mg/L (10 ℃)	4.33±0.52	4.17±0.75	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.64
1.12 mg/L (15 ℃)	3.33±0.52	3.00±0.63	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.34
1.12 mg/L (20 ℃)	3.00±0.63	2.67±0.52	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.34
1.96 mg/L (10 ℃)	3.18±0.75	2.33±0.52	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.02
1.96 mg/L (15 ℃)	2.83±0.98	2.50±0.55	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.34
1.96 mg/L (20 ℃)	2.33±0.52	2.17±0.41	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.64
2.85 mg/L (10 ℃)	1.83±0.75	2.00±0.90	<0.01	0.02	<0.01	0.01	0.64
2.85 mg/L (15 ℃)	1.67±0.82	1.83±0.75	<0.01	0.06	<0.01	0.02	0.64
2.85 mg/L (20 ℃)	1.00±0.00	1.33±0.52	<0.01	1.00	<0.01	0.34	0.34

P1: 各实验组与阴性对照组作用 30 s 比较; P2: 与阳性对照组作用 30 s 比较; P3: 与阴性对照组作用 60 s 比较; P4: 与阳性对照组作用 60 s 比较; P5: 作用 30 s 与 60 s 比较。

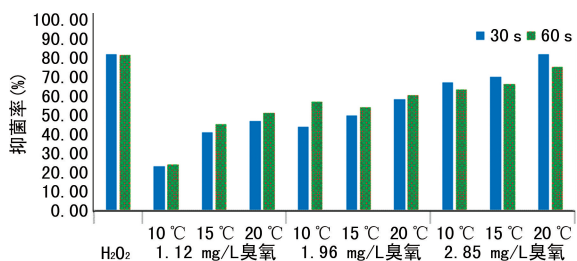


图 2 各组溶液对 P. g 不同作用时间及温度下的抑菌效果

2.3.2 臭氧溶液在不同温度、浓度、作用时间下对 F. n 的作用

与阴性对照组比较, 3 种浓度的臭氧溶液对 F. n

均有生长抑制作用, 浓度越高, 抑菌效果越明显。臭氧浓度为 2.85 mg/L, 温度为 20 ℃, 作用 60 s 时, 抑菌率可达 86.36%, 抑制效果最强; 1.12 mg/L (10 ℃) 组作用 30 s 时抑菌率最低 (42.22%), 见图 3。3 种浓度的臭氧对 F. n 的抑菌结果经单因素方差分析, 各组间差异有统计学意义 ($F = 62.22, P < 0.01$)。作用时间相同时, 3 种浓度的臭氧溶液作用 30、60 s 与阴性对照组比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$); 与阳性对照组比较, 作用 30、60 s, 除 2.85 mg/L 组差异无统计学意义 ($P > 0.05$) 外, 其余各组均差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。不同作用时间下, 除 1.12 mg/L (10

℃)组差异有统计学意义($P < 0.05$)外,其余各组均差异无统计学意义($P > 0.05$),见表3。

表3 各组溶液对 F. n 作用 30、60 s 后平均菌落计数比较(Lgcfu/mL)

组别	30 s	60 s	P1	P2	P3	P4	P5
阴性对照组	7.50±0.84	7.33±0.52		<0.01		<0.01	0.61
阳性对照组	1.00±0.00	1.00±0.00	<0.01		<0.01		1.00
1.12 mg/L(10℃)	4.33±0.82	3.67±0.82	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.04
1.12 mg/L(15℃)	3.67±0.82	3.33±0.52	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.31
1.12 mg/L(20℃)	2.83±0.41	2.67±0.52	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.61
1.96 mg/L(10℃)	3.00±0.63	2.67±0.82	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.31
1.96 mg/L(15℃)	3.00±0.63	2.83±0.41	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.61
1.96 mg/L(20℃)	1.83±0.75	1.67±0.52	<0.01	0.01	<0.01	0.04	0.61
2.85 mg/L(10℃)	1.33±0.52	1.33±0.52	<0.01	0.31	<0.01	0.31	1.00
2.85 mg/L(15℃)	1.17±0.41	1.17±0.41	<0.01	0.61	<0.01	0.61	1.00
2.85 mg/L(20℃)	1.17±0.41	1.00±0.00	<0.01	0.61	<0.01	1.00	0.61

P1:各实验组与阴性对照组作用 30 s 比较;P2:与阳性对照组作用 30 s 比较;P3:与阴性对照组作用 60 s 比较;P4:与阳性对照组作用 60 s 比较;P5:作用 30 s 与 60 s 比较。

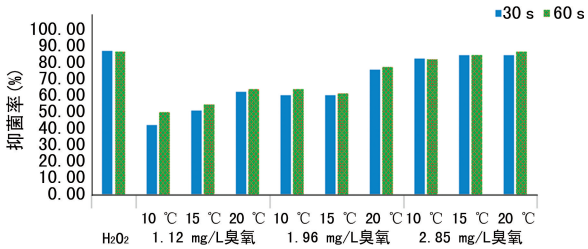


图3 各组溶液对 F. n 不同作用时间及温度下的抑菌效果

2.3.3 臭氧溶液在不同温度、浓度、作用时间下对 A. v 的作用

与阴性对照组比较,不同浓度的臭氧溶液对 A. v 的生长均具有抑制作用,浓度越高,抑制作用越强。当作用浓度为 2.85 mg/L,作用温度为 15℃作用 60 s 时抑制作用最大,抑菌率为 81.25%;浓度为 1.12 mg/L,温度为 10℃,作用 30、60 s 的效果一样,抑菌率最低(28.13%),见图4。3种浓度的臭氧溶液对 A. v 的抑菌结果经单因素方差分析,各组间差异有统计学意义($F = 19.899, P < 0.01$)。作用时间相同时,

3种浓度的臭氧溶液作用 30、60 s 与阴性对照组比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$);与阳性对照组比较,作用 30 s 时,各组均差异有统计学意义($P < 0.05$),作用 60 s 时,除 2.85 mg/L(15、20℃)组差异无统计学意义($P > 0.05$)外,余各组均差异有统计学意义($P < 0.05$)。当作用浓度、温度相同,作用时间为 30、60 s 时,只有 2.85 mg/L(15℃、20℃)组差异有统计学意义($P < 0.05$),其余差异无统计学意义($P > 0.05$),见表4。

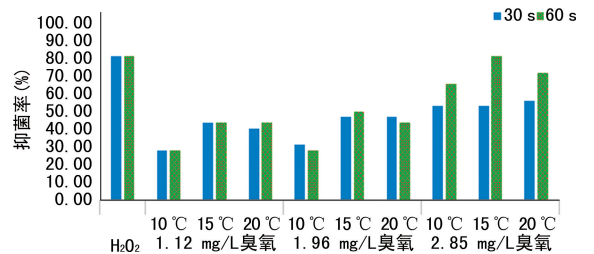


图4 各组溶液对 A. v 不同作用时间及温度下的抑菌效果

表4 各组溶液对 A. v 作用 30、60 s 后平均菌落计数比较(Lgcfu/mL)

组别	30 s	60 s	P1	P2	P3	P4	P5
阴性对照组	5.33±0.52	5.33±0.82		<0.01		<0.01	1.00
阳性对照组	1.00±0.00	1.00±0.00	<0.01		<0.01		1.00
1.12 mg/L(10℃)	3.83±0.75	3.83±0.98	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	1.00
1.12 mg/L(15℃)	3.00±0.63	3.00±0.63	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	1.00
1.12 mg/L(20℃)	3.17±0.41	3.00±0.63	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.66
1.96 mg/L(10℃)	3.67±0.82	3.83±0.98	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.66
1.96 mg/L(15℃)	2.83±0.75	2.67±0.52	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.66
1.96 mg/L(20℃)	2.83±0.75	3.00±0.63	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.66
2.85 mg/L(10℃)	2.50±0.84	1.83±0.75	<0.01	<0.01	<0.01	0.03	0.08
2.85 mg/L(15℃)	2.50±0.55	1.00±0.00	<0.01	<0.01	<0.01	1.00	<0.01
2.85 mg/L(20℃)	2.33±0.52	1.50±0.55	<0.01	<0.01	<0.01	0.19	0.03

P1:各实验组与阴性对照组作用 30 s 比较;P2:与阳性对照组作用 30 s 比较;P3:与阴性对照组作用 60 s 比较;P4:与阳性对照组作用 60 s 比较;P5:作用 30 s 与 60 s 比较。

3 讨 论

牙周病是常见的口腔感染性疾病之一,不仅损害患者的咀嚼功能,影响生活质量,还是低体重早产儿、糖尿病等^[8]的重要危险因素。P. g 是牙周病变区的“关键菌”,自身的菌毛促进细菌黏附和生物膜的形成,脂多糖引发炎症,干扰宿主的免疫反应^[9];F. n 是菌斑生物膜中最丰富的物种,也是作为口腔早期和晚期定植细菌之间的桥梁细菌,促进了牙菌斑的形成^[10]。A. v 是与根面龋和牙周病相关的一种常见的革兰阳性菌,通过黏附素在牙齿表面上黏附和定植,加速菌斑的形成和沉积^[11],加重牙周病的进展。这 3 种牙周致病菌均参与牙龈炎和牙周炎的发生、发展,导致牙周组织的破坏,因此,选取此 3 种菌作为本研究的实验对象。

臭氧具有强大的氧化性,低浓度臭氧就可以通过氧化磷脂和脂蛋白破坏细菌包膜的完整性,破坏葡萄糖氧化酶、RNA、蛋白质等^[12],从而干扰细菌代谢,阻碍细菌的生长繁殖,发挥杀菌抑菌的作用。臭氧相较于其他抗菌药物,具有无耐药性产生,无局部刺激等特性,有学者将臭氧应用于牙周病治疗并取得一定的疗效。NARDI 等^[13]将确诊为牙周炎的 96 例患者,随机分为实验组和对照组,实验组刮治后使用臭氧化橄榄油漱口水,对照组仅完成刮治,3 个月后发现实验组患者的探诊出血和唾液金属蛋白酶-8 得到了更明显的改善。在 25 例完成龈下刮治的中度至重度慢性牙周炎病例中,以臭氧橄榄油和氯己定作为辅助冲洗治疗,结果臭氧橄榄油组改善牙周病的菌斑效果与氯己定相当^[14]。但也有研究在牙周治疗期间,以气态臭氧作用于牙周袋内,2 周后发现臭氧相比于对照组无明显的促进作用^[15]。随着研究的深入,不同形式的臭氧应用于牙周病的辅助治疗,然而气态臭氧的使用需要密闭空间,长时间的吸入可能会引起鼻炎、咳嗽、头痛甚至恶心、呕吐^[6],臭氧化油作为一种抗菌缓释剂,发挥广泛的抗菌作用的同时会产生难闻的气味,再加上其黏性高^[16],不适合作为冲洗液。相比之下,液态臭氧具有使用方便,稳定性高和毒副作用少等优点。本研究证实了在不同条件下臭氧溶液对几种牙周致病菌均有抑制作用,只是最适抑菌条件不一样,针对不同细菌,选择适宜的温度,作用时间适当的延长,可以增强臭氧溶液的抑菌效果。临床上如果能将臭氧发生器与洁牙机结合使用,通过时间模块,温度模块,浓度模块的设定,可达到制备出不同浓度、温度、作用时间的臭氧溶液的目的,针对牙周袋内特定的优势菌采用特定臭氧溶液辅助治疗,以取得更好的杀菌效果,并省去了牙周袋内辅助给药的治疗步骤。然而臭氧溶液作为临床洁牙的冲洗液达到牙周病的辅助治疗效果究竟如何,还需要更多高质量的临床实验研究来证明。

本实验通过臭氧溶液对 3 种牙周致病菌在体外

不同条件下的抑菌效果研究,得出以下结论:(1)在温度设定为 10、15、20 °C 时臭氧溶液初始浓度分别为 2.85、1.96、1.12 mg/L,半衰期分别为 69.00、40.20、30.00 min;(2)3 种浓度的臭氧溶液在 3 种温度下对 3 种牙周致病菌作用 30、60 s 均有抑制作用;(3)当温度设定在 20 °C、浓度 2.85 mg/L,作用 30 s 时对 P. g 生长抑制作用最强;(4)当温度设定在 20 °C、浓度 2.85 mg/L,作用 60 s 时对 F. n 的抑制作用最强;(5)当温度设定在 15 °C、浓度为 2.85 mg/L,作用 60 s 时对 A. v 抑菌性最强。

参考文献

- [1] BARTOLD P M, VAN DYKE T E. Host modulation:controlling the inflammation to control the infection [J]. *Periodontol*, 2000, 2017, 75 (1):317-329.
- [2] FISCHER R G, LIRA J R, RETAMAL-VALDES B, et al. Periodontal disease and its impact on general health in Latin America. Section V: Treatment of periodontitis [J]. *Braz Oral Res*, 2020, 34(Suppl 1):e026.
- [3] JAMES P, WORTHINGTON H V, PARNELL C, et al. Chlorhexidine mouthrinse as an adjunctive treatment for gingival health [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2017, 3(3):CD008676.
- [4] ZENG J, LU J. Mechanisms of action involved in ozone-therapy in skin diseases [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 56:235-241.
- [5] NOORI-ZADEH A, BAKHTIYARI S, KHOOZ R, et al. Intra-articular ozone therapy efficiently attenuates pain in knee osteoarthritic subjects: A systematic review and meta-analysis [J]. *Complement Ther Med*, 2019, 42:240-247.
- [6] SUH Y, PATEL S, KAITLYN R, et al. Clinical utility of ozone therapy in dental and oral medicine [J]. *Med Gas Res*, 2019, 9(3):163-167.
- [7] URAZ A, KARADUMAN B, ISLER S, et al. Ozone application as adjunctive therapy in chronic periodontitis: Clinical, microbiological and biochemical aspects [J]. *J Dent Sci*, 2019, 14(1):27-37.
- [8] HEGDE R, AWAN K H. Effects of periodontal disease on systemic health [J]. *Dis Mon*, 2019, 65(6):185-192.
- [9] XU W, ZHOU W, WANG H, et al. Roles of porphyromonas gingivalis and its virulence factors in periodontitis [J]. *Adv Protein Chem Struct Biol*, 2020, 120:45-84.

- 诊疗指南(2018年版)[J]. 中华骨科杂志, 2018, 38(12):705-715.
- [7] 中华医学会骨科学分会. 骨关节炎诊治指南(2007年版)[J]. 中华骨科杂志, 2007, 27(10):793-796.
- [8] 范续, 庄汝杰, 王雨婷. 佩戴肢具膝关节骨性关节炎患者VAS疼痛评分的临床研究[J]. 浙江临床医学, 2016, 18(5):832-833.
- [9] 彭杰威, 黄子奇, 黄伟彦, 等. 金天格胶囊对膝关节骨性关节炎患者关节软骨及膝关节功能的作用及机制[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(2):393-395.
- [10] 林璐璐, 孙宁, 王雪蕊, 等. 膝关节骨性关节炎常用评价量表的比较与分析[J]. 中国疼痛医学杂志, 2018, 24(2):135-139.
- [11] 林基勇, 庞宇舟, 方刚, 等. 玻璃酸钠联合氨基葡萄糖治疗膝关节骨性关节炎临床疗效的 meta 分析[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(16):3913-3916.
- [12] 臧晓鹭, 桂文, 王江. 不同药物关节腔给药治疗膝关节骨性关节炎的疗效[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(9):2264-2265.
- [13] 孟涛, 苏晨. 玻璃酸钠联合臭氧治疗膝关节骨性关节炎的近期临床疗效观察[J]. 重庆医学, 2018, 47(24):3184-3187.
- [14] 包先昌, 谢伟青. 玻璃酸钠联合复方倍他米松治疗膝关节骨性关节炎疗效评价[J]. 中国药业, 2018, 27(11):61-63.
- [15] 李雪寒, 葛站勇, 张秀丽. 跌打七厘片联合吡罗美辛巴布膏治疗急性软组织损伤的临床研究[J]. 现代药物与临床, 2019, 34(7):2123-2126.
- [16] 李敏, 郑晓, 李婷婷, 等. 吡罗美辛辣椒巴布膏治疗膝骨关节炎的疗效观察[J]. 中国药物与临床, 2016, 16(8):1174-1176.
- [17] 范世闻, 邬波, 柳椰, 等. 艾叶散熏洗联合吡罗美辛巴布膏治疗急性期肱骨外上髁炎临床研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2017, 19(2):182-185.
- [18] DEL GIUDICE M, GANGESTAD S W. Rethinking IL-6 and CRP: Why they are more than inflammatory biomarkers, and why it matters [J]. Brain Behav Immun, 2018, 70(3):61-75.
- [19] 曾惠琼, 黄新民, 伍少霞, 等. 膝骨关节炎与外周血 IL-4、IL-6、IL-17A 的相关性分析[J]. 风湿病与关节炎, 2019, 8(6):17-19, 23.
- (收稿日期:2021-08-12 修回日期:2022-01-26)
- (上接第 1875 页)
- [10] CARROUEL F, VIENNOT S, SANTAMARIA J, et al. Quantitative molecular detection of 19 major pathogens in the interdental biofilm of periodontally healthy young adults [J]. Front Microbiol, 2016, 7:840.
- [11] ILIE O, VAN TURNHOUT A G, VAN L M, et al. Numerical modelling of tooth enamel sub-surface lesion formation induced by dental plaque [J]. Caries Res, 2014, 48(1):73-89.
- [12] AMIN L. Biological assessment of ozone therapy on experimental oral candidiasis in immunosuppressed rats [J]. Biochem Biophys Rep, 2018, 15:57-60.
- [13] NARDI G M, CESARANO F, PAPA G, et al. Evaluation of salivary matrix metalloproteinase (MMP-8) in periodontal patients undergoing non-surgical periodontal therapy and mouth-wash based on ozonated olive oil: a randomized clinical trial [J]. Int J Environ Res Public Health, 2020, 17(18):6619.
- [14] GANDHI K K, CAPPETTA E G, PAVASKAR R. Effectiveness of the adjunctive use of ozone and chlorhexidine in patients with chronic periodontitis [J]. BDJ Open, 2019, 5:17.
- [15] TASDEMIR Z, OSKAYBAS M N, ALKAN A B, et al. The effects of ozone therapy on periodontal therapy: a randomized placebo-controlled clinical trial [J]. Oral Dis, 2019, 25(4):1195-1202.
- [16] UGAZIO E, TULLIO V, BINELLO A, et al. Ozonated oils as antimicrobial systems in topical applications. their characterization, current applications, and advances in improved delivery techniques [J]. Molecules, 2020, 25(2):334.
- (收稿日期:2021-10-28 修回日期:2022-02-08)