

[https://www.ncbi.nlm.nih.gov.translate.goog/pmc/articles/PMC4620192/?\\_x\\_tr\\_sl=en&\\_x\\_tr\\_tl=pl&\\_x\\_tr\\_hl=pl&\\_x\\_tr\\_pto=rq](https://www.ncbi.nlm.nih.gov.translate.goog/pmc/articles/PMC4620192/?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=pl&_x_tr_hl=pl&_x_tr_pto=rq)

Jako biblioteka NLM zapewnia dostęp do literatury naukowej. Włączenie do bazy danych NLM nie oznacza poparcia ani zgody na zawartość przez NLM lub National Institutes of Health. [Dowiedz się więcej o naszym wyłączeniu odpowiedzialności.](#)



[Iran J Basic Med Sci.](#) 2015 wrzesień; 18 (9): 915–919.

PMCID: PMC4620192

PMID: [26523224](#)

# Aktywność ozonowanej oliwy z oliwek przeciwko promastigotom *Leishmania major*

[Omid Rajabi](#), <sup>1</sup> [Ameneh Sazgarnia](#), <sup>2</sup> [Fateme Abbasi](#), <sup>3</sup> i [Pouyan Layegh](#) <sup>4,\*</sup>

[Informacje o autorze Uwagi do artykułów Informacje o prawach autorskich i licencji](#)

[Zrzeczenie się odpowiedzialności](#)

[Iść do:](#)

## Abstrakcyjny

### Cel(e):

Leiszmanioza skórna jest powszechną i endemiczną chorobą występującą w prowincji Khorasan w północno-wschodnim Iranie. Antymon pięciowartościowy (Sb V) jest podstawą leczenia, które ma wiele skutków ubocznych i zgłaszano oporność na lek. Działanie bakteriobójcze ozonu zostało udowodnione na różnych mikroorganizmach. Ponieważ nie ma badań w tym zakresie oraz w celu uzyskania taniego i skutecznego leczenia, postanowiliśmy ocenić skuteczność ozonu przeciwko promastigotom *Leishmania major*, *in vitro*.

### Materiały i metody:

Ozonowaną oliwę z oliwek przygotowano po wytworzeniu ozonu przez przepuszczanie przez oliwę z oliwek gazu ozonowo-tlenowego wytwarzanego przez generator ozonu, aż do zestalenia. Promastigoty *L. major* hodowano w dwóch pożywkach fazowych. Po obliczeniu liczby promastigotów inkubowano je z ozonowaną oliwą z oliwek (0, 0,626, 0,938, 1,25, 2,5, 5, 10 mcg/ml) w temperaturze 28°C przez 24 godz. Procent przeżycia pasożytów oceniono za pomocą MTS i testu mikroskopowego, a następnie porównano z Glucantime i nieozonowaną oliwą z oliwek.

### Wyniki:

Zgodnie z wynikami, istniały znaczące różnice w odsetku przeżywalności pasożytów między ozonowaną oliwą z oliwek i nieozonowaną oliwą z oliwek, przy podobnych stężeniach ( $P < 0,001$ ). Ozonowana oliwa z oliwek była bardziej skuteczna niż Glucantime. Zgodnie z wynikami MTS, stężenia Glucantime i żelu ozonowanej oliwy z oliwek, które są wymagane do zahamowania wzrostu promastigotów *L. major* o 50% (IC50), wynosiły odpowiednio 165 i 0,002 mg/ml.

## Wniosek:

Ozonowana oliwa z oliwek działa *in vitro* na promastigoty *L. major* i efekt ten jest zależny od dawki.

**Słowa kluczowe:** *In vitro*, *Leishmania major*, Ozon, Promastigot

[Iść do:](#)

## Wstęp

Leiszmanioza to grupa chorób zakaźnych wywoływanych przez różne gatunki pasożytów należących do rodzaju *Leishmania* (1). Chociaż szacuje się, że leiszmanioza powoduje dziewiąte największe obciążenie chorobowe wśród poszczególnych chorób zakaźnych, jest ona w dużej mierze zaniebywana w rozważaniach dotyczących priorytetów chorób tropikalnych (2, 3). Leiszmanioza występuje endemicznie w 15 z 30 prowincji Iranu (4), a ostatnie badanie wykazało, że Iran znajduje się w pierwszej dziesiątce krajów o największej szacowanej liczbie przypadków, które razem odpowiadają za 70 do 75% szacowanej globalnej częstości występowania leiszmaniozy skórnej (CL). (5).

Jest to złożona choroba objawiająca się postacią skórą, śluzówkowo-skórą i trzewną. Wśród tych postaci CL jest najczęstszym typem choroby i może powodować ciężkie zakażenie skóry (6). Wybór leczenia zależy od wielkości, liczby i lokalizacji zmian, gatunku *Leishmania*, a także od dostępności metod leczenia (7).

Środki ogólnoustrojowe przeciwko leiszmaniozie są drogie i ograniczone do kilku leków o niespójnej skuteczności i niedopuszczalnych skutkach ubocznych (8-10). Jak dotąd nie ma lekarstwa na wszystkie formy choroby. Pierwszą linią leczenia CL w Iranie jest pięciowartościowy antymon (SbV). Oporność na leki zawierające SbV jest obecnie dobrze ugruntowana i stwierdzono, że występuje w niektórych regionach (11-13). Dostępnych jest niewiele alternatyw dla SbV, a odporne pasożyty wykazują oporność krzyżową na niektóre z nich (14). Tak więc skuteczny lek do stosowania miejscowego byłby cenny, gdyby zapewniał bezpieczne i nienadzorowane leczenie za rozsądną cenę. Różne formy leczenia miejscowego służą jako leki alternatywne w zwalczaniu leiszmaniozy (15).

Ozon, alotropowa forma tlenu występująca w przyrodzie, ma masę cząsteczkową 48 i gęstość półtora raza większą od tlenu i składa się z dużego nadmiaru energii w swojej cząsteczce. Od dawna jest stosowany w ludzkiej praktyce medycznej do zabijania bakterii, grzybów, niektórych pierwotniaków, inaktywacji wirusów i kontrolowania krwotoków (16-19). Powiązane badania kliniczne wykazały niewielkie skutki uboczne miejscowej terapii ozonem (20-22).

Ponieważ nie przeprowadzono wcześniej żadnych badań oceniających skuteczność terapii ozonem w przypadku leiszmaniozy, zdecydowaliśmy się określić wpływ oliwy z oliwek, ozonowanej oliwy z oliwek i antymonianu megluminy (Glucantime) na promastigoty *L. major*, in vitro, *porównać ich działanie* anty-aktywność leiszmanialną i określenie najskuteczniejszej dawki ozonowanej oliwy z oliwek na promastigoty *L. major*.

[Iść do:](#)

## Materialy i metody

To podstawowe badanie interwencyjne przeprowadzono w Centrum Badań nad Leiszmaniozą Skórną. Tutaj oceniono i porównano skuteczność ozonowanej oliwy z oliwek i Glucantime przeciwko promastigotom *L. major*.

### Przygotowanie chemikaliów

- A)

Oliwa z oliwek (spożywcza) została uzyskana z firmy przemysłowej Tarom, na północ od Iranu.

Oliwę z oliwek (150 g) ogrzano w łaźni wodnej o temperaturze 30°C. Gazowy tlen zawierający około 200 ppm ozonu przepuszczano następnie przez oliwę z oliwek z szybkością 1,0 l/min przez 50 godzin, otrzymując ozonowaną oliwę z oliwek w postaci wazeliny o charakterystycznym zapachu ozonu. Ozonowaną oliwę z oliwek przechowywano w lodówce. Następnie dodano 3-4 krople Tween 80 jako emulgatora. Produkt ten rozcieńczono przy użyciu wolnej od czerwieni fenolowej pożywki RPMI 1640 uzupełnionej 5% PBS i badano w stężeniach 0, 0,626, 0,938, 1,25, 2,5, 5, 10 mcg/ml.

- B)

Kontrola pozytywna: Glucantime (0, 45, 120, 150, 180 i 240 mg/ml) przygotowano po rozcieńczeniu ampułki Glucantime (1,5 g/5 ml, Aventis, Francja) tak samo jak ozonowaną oliwę z oliwek.

- C)

Oliwa z oliwek jako kontrola negatywna: Oliwę z oliwek zmieszano z 3-4 kroplami Tween 80 jako emulgatora. Następnie mieszaninę rozcieńczono, jak wspomniano powyżej, w celu przygotowania różnych stężeń.

### Kultura pasożytów

Szereg 3 x 10<sup>6</sup> promastigotów *L. major* (MRHO/IR/75/ER) wstrzyknięto podskórnym w ogony myszy BALB/c. Wykonano splenektomię i hodowano amastigoty w śledzionie myszy w pożywce Novy-MacNeal-Nicolle (NNN) zawierającej agar (4 mg/100 ml) i odwłóknioną krew króliczą (10%). Po transformacji z postaci amastigotów, promastigoty inkubowano w

RPMI 1640 (HIMED IA; AT 028) uzupełnionym 100 jednostkami/ml penicyliny, 100 µg/ml streptomycyny i 20% FBS w 28°C (23 ).

Siedem dni później pasożyty transformowano do kolby hodowlanej zawierającej 5-10 ml kompletnej pożywki hodowlanej. Pasożyty hodowano przez 2-3 dni i stosowano, gdy znajdowały się w stacjonarnej fazie wzrostu.

## Test przeżywalności promastigotów

Najpierw 200 µl zawiesiny promastigotów o gęstości  $1 \times 10^7$  pasożyta/ml przeniesiono do studzienek 96-studzienkowej płytki i inkubowano w temperaturze 28°C przez 24 godziny. Następnie inkubację kontynuowano w obecności różnych stężeń oliwy z oliwek, ozonowanej oliwy z oliwek lub Glucantime przez 3 godziny. Po 24 godzinach procent przeżywalności promastigotów oceniano za pomocą roztworu MTS ([4,5-dimetylotiazol-2-ilo]-5-(3-karboksymetoksyfenilo)-2H-tetrazoliowy, sól wewnętrzna). Gęstość optyczną próbek odczytywano czytnikiem ELISA Micro plate Reader (USA, STAT FAX 2100) przy 492 nm i obliczono przeżywalność pasożytów dla wszystkich próbek w porównaniu z kontrolą. Również w podobnych warunkach liczba żywych promastigotów potraktowanych oliwą z oliwek, Ozonowaną oliwą z oliwek i Glucantime oznaczono również za pomocą szkiełka hemocytometru pod mikroskopem świetlnym w oddzielnej serii doświadczeń i obliczono procent przeżywalności promastigotów w stosunku do grupy kontrolnej. Ponieważ Glucantime z MTS daje kolor podobny do koloru zredukowanego MTS wytwarzanego przez żywe pasożyty, odjęliśmy jego absorpcję optyczną od wszystkich grup eksperymentalnych traktowanych Glucantime.

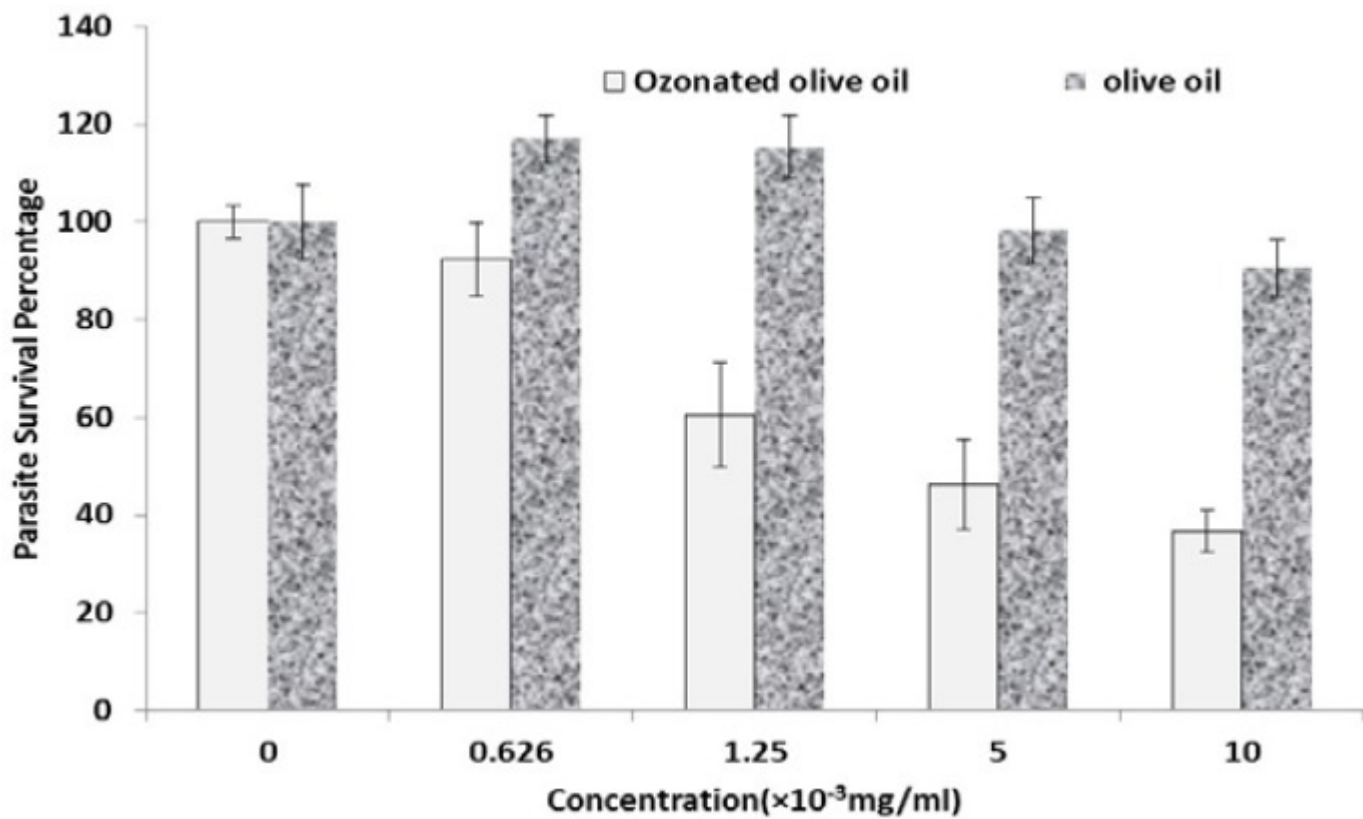
## Analiza statystyczna

Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu oprogramowania SPSS w wersji 16 autorstwa Kołmogorowa-Smirnowa, jednokierunkowych testów statystycznych ANOVA i Tukeya oraz niezależnego testu t próbki. Wartości *P* mniejsze niż 0,05 uznano za istotne. Wartość IC50 (stężenie wymagane do zahamowania wzrostu promastigotów *L. major* o 50%) obliczono stosując analizę regresji liniowej lub interpolację liniową dla Glucantime i ozonowanego żelu oliwy z oliwek.

[Iść do:](#)

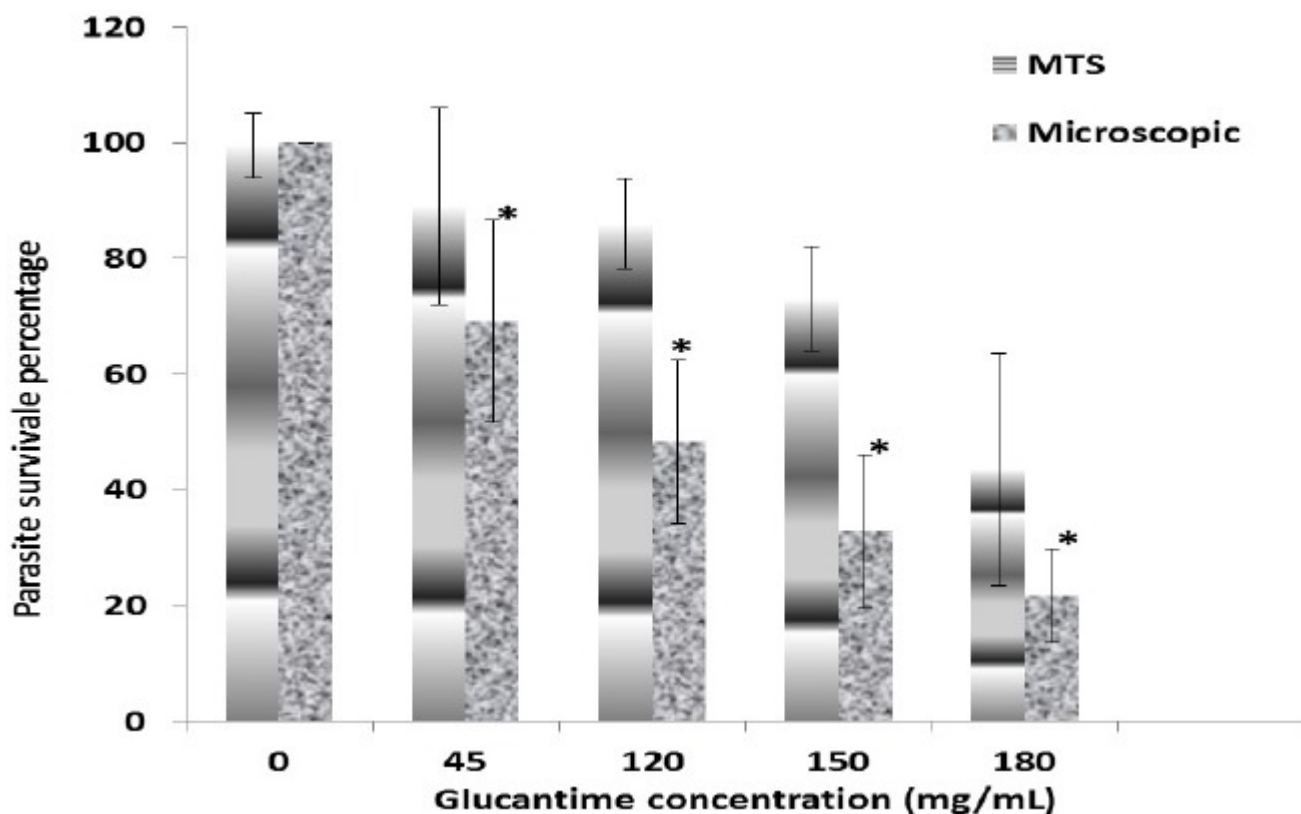
## Wyniki

Figurki [Ryciny 1 i 2](#) pokazują, że rosnące stężenia ozonowanej oliwy z oliwek i Glucantime doprowadziły do zmniejszenia przeżywalności pasożytów i miały rosnącą aktywność leiszmanobójczą przeciwko promastigotom *L. major*, która była znacząco różna między różnymi stężeniami ( $P < 0,001$ ). Sama oliwa z oliwek nie miała znaczącej aktywności leiszmanobójczej. Porównanie danych dotyczących podobnych stężeń oliwy z oliwek i ozonowanej oliwy z oliwek ujawniło istotne różnice między tymi dwiema grupami ( $P < 0,05$ ) ([Rysunek 1](#)). Aktywność przeciw Leiszmanii przy najwyższym stężeniu ozonowanej oliwy z oliwek była znacznie większa niż w przypadku Glucantime ( $P < 0,001$ ).



[Rysunek 1](#)

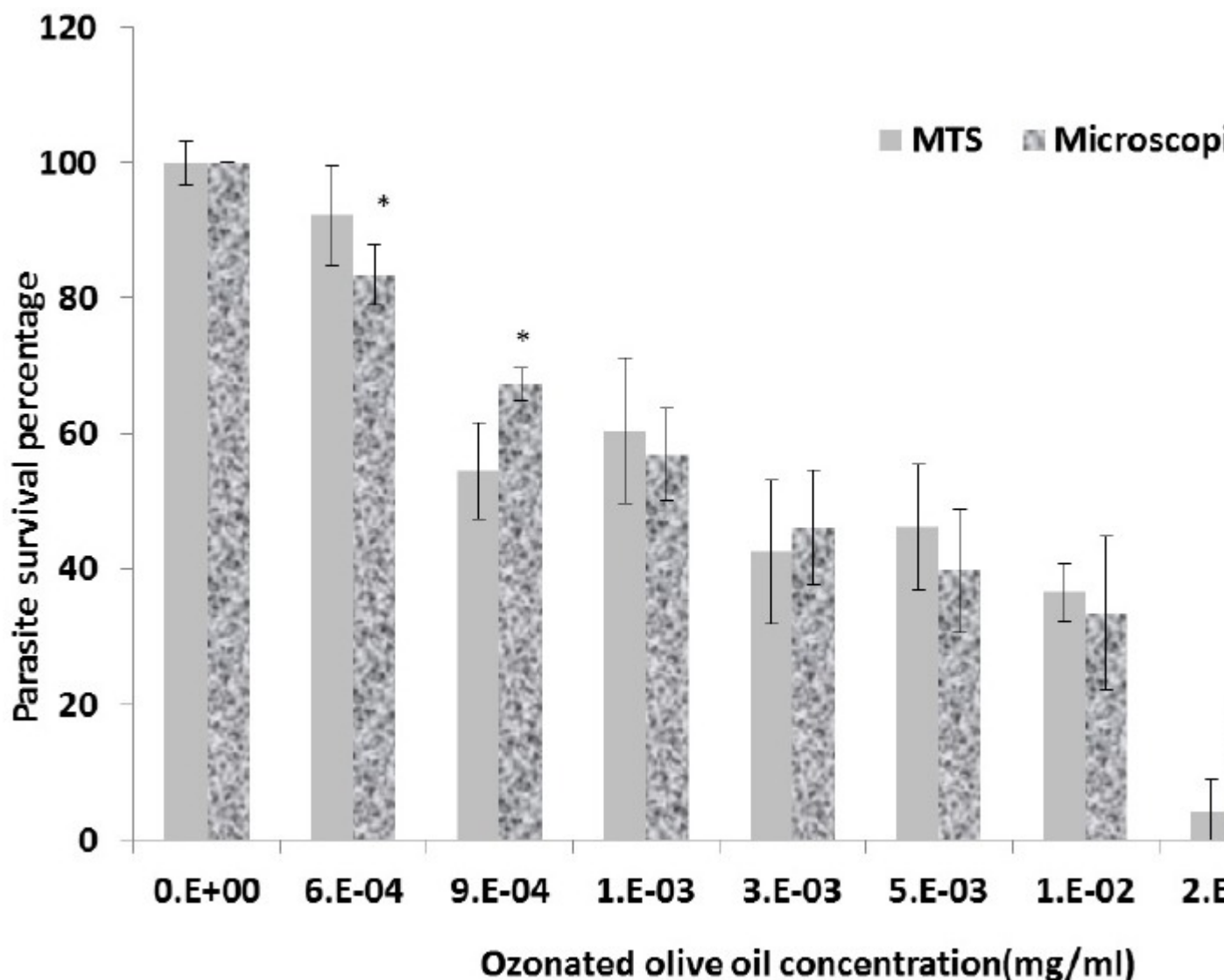
Porównanie średniej przeżywalności pasożytów w podobnych stężeniach ozonowanej oliwy z oliwek i oliwy z oliwek metodą MTS. Dane przedstawiono jako średnią  $\pm$  SD



[Rysunek 2](#)

Procent przeżywalności promastigotów po inkubacji z różnymi stężeniami Glucantime. Dane uzyskano za pomocą mikroskopii i testów MTS

Biorąc pod uwagę średnie żywe promastigoty określone metodą MTS i mikroskopem świetlnym, stwierdzono istotne różnice między różnymi stężeniami Glucantime i niektórymi stężeniami ozonowanej oliwy z oliwek ( odpowiednio  $P \leq 0,001$  i  $P = 0,01$ ). Jak pokazano na rycinach [Ryciny 2 i 3](#), na podstawie obserwacji mikroskopowych i danych z testu MTS,  $IC_{50}$  wynosiło 120 mg/ml i 165 mg/ml dla Glucantimu oraz prawie 2 i 3,5 mcg/ml dla ozonowanej oliwy z oliwek.



[Rysunek 3](#)

Przeżycie promastigotów po inkubacji z różnymi stężeniami ozonowanej oliwy z oliwek oceniane za pomocą mikroskopii i testów MTS. Dane wyrażono jako średnią  $\pm$  SD

[Iść do:](#)

## Dyskusja

Leczenie leishmaniozy jest nadal zależne od pięciwartościowych leków antymonialnych, ale pojawianie się lekoopornych pasożytów wskazuje na niepowodzenie leczenia ( 11-13 ). Tak więc poszukiwanie nowego, niedrogiego, skuteczniejszego, bezpieczniejszego leku, który najlepiej podawać miejscowo, jest logicznym celem.

Wykazano, że ozon jest silnym i niezawodnym środkiem przeciwdrobnoustrojowym przeciwko bakteriom, grzybom, pierwotniakom i wirusom. W randomizowanym badaniu wykazano, że ozonowany olej słonecznikowy jest bardziej skuteczny niż ketokonazol w leczeniu grzybicy paznokci ( 22 ). Ozonowana oliwa z oliwek ma działanie bakteriobójcze i



była stosowana w leczeniu grzybicy stóp ( [24](#) ). Inaktywacja innych patogennych grzybów, takich jak *Candida albicans* i *Aspergillus niger*, została opisana przez Coronela *i in.* ( [25](#) ). Gupta *i wsp.* badali również grzybicę wywołaną przez gatunki *Trichophyton*, *Microsporium* i *Epidermophyton* ( [26](#) ). Silne działanie bakteriobójcze ozonowanej wody przeciwko bakteriom w biofilmie płytki nazębnej było często zgłaszane w stomatologii w leczeniu chorób przyzębia, przewlekłych chorób dziąseł i higieny jamy ustnej ( [27](#) ). Ponadto Sechi *i wsp.* zauważyli interesującą aktywność przeciwdrobnoustrojową ozonowanego oleju słonecznikowego przeciwko *Mycobacterium* ( [28](#) ).

W odniesieniu do toksycznego działania ozonu i jego związków, ponieważ nie ma badań dotyczących działania przeciwleiszmaniowego, zdecydowaliśmy się ocenić skuteczność tego łatwego i taniego leku na promastigoty *L. major* . W tym badaniu ozonowaną oliwę z oliwek zastosowano przeciwko *L. major* , *in vitro* . Ozonowana woda i ozonowana oliwa z oliwek są idealnymi systemami dostarczania, ponieważ mają zdolność zatrzymywania, a następnie uwalniania tlenu/ozonu ( [27](#) ).

Zgodnie z naszymi wynikami, ozonowana oliwa z oliwek była skuteczna przeciwko promastigotom *L. major* w różnych stężeniach. Wyraźnie widać, że w porównaniu z Glucantime jako kontrolą pozytywną, średni procent żywych promastigotów po traktowaniu najwyższym stężeniem ozonowanej oliwy z oliwek był znacząco niższy.

Mechanizm wyjaśniający, w jaki sposób ozon zmniejsza liczbę pasożytów *Leishmania*, nie został jeszcze zbadany. Jednak ogólnie przyjmuje się, że potencjał oksydacyjny ozonu indukuje niszczenie ścian komórkowych i błon cytoplazmatycznych bakterii i grzybów. Reakcja ozonu z oliwą z oliwek zachodzi prawie wyłącznie z podwójnymi wiązaniami obecnymi w nienasyconych kwasach tłuszczowych i wytwarza różne toksyczne produkty, takie jak kilka związków tlenowych, wodoronadtlenek, polinadtlenki, aldehydy, ozonki i dwunadtlenki, które mogą być odpowiedzialne za szerokie działanie przeciwdrobnoustrojowe ozonowanej oliwki olej ( [29](#) - [31](#) ).

Podczas tego procesu ozon atakuje glikoproteiny, glikolipidy i inne aminokwasy oraz hamuje i blokuje enzymatyczny system kontroli komórki. Degradacja kwasu nukleinowego była równoległa do tego, co stało się z aktywnością enzymatyczną. Prowadzi to do zwiększenia przepuszczalności błony komórkowej, która odgrywa kluczową rolę w żywotności komórek, co prowadzi do szybkiego zaprzestania czynności. Pozwala cząsteczkom ozonu przenikać do komórki, powodując śmierć mikroorganizmu ( [32](#) ).

Szeroka dostępność oliwy z oliwek sprawia, że ozonowana oliwa z oliwek jest niedrogim, dostępnym środkiem przeciwbakteryjnym i, miejmy nadzieję, alternatywnym (lub wspomagającym) leczeniem skórnej leishmaniozy.

[Iść do:](#)

## Wniosek

Wyniki wykazały przeciwleiszmanialne działanie ozonowanej oliwy z oliwek. Zalecamy więcej badań na amastigotach wewnątrzkomórkowych i zakażonych modelach zwierzęcych.

[Iść do:](#)



## Potwierdzenie

Jesteśmy wdzięczni Radzie Naukowej Mashhad University of Medical Sciences za przyznanie grantu finansowego i pani Soodmand za jej życzliwość podczas tego projektu. Wyniki przedstawione w tej pracy zostały zaczerpnięte z pracy dr Fatemeh Abbasi o numerze identyfikacyjnym 6660.

[Iść do:](#)

## Bibliografia

1. Desjeux P. Leishmaniasis: Obecna sytuacja i nowe perspektywy. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2004; 27 :305–318. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
2. Hotez PJ, Molyneux DH, Fenwick A, Ottesen E, Ehrlich Sachs S, Sachs JD. Włączenie pakietu szybkiego oddziaływania na zaniedbane choroby tropikalne z programami dotyczącymi HIV / AIDS, gruźlicy i malarii. *PLoS Med.* 2006; 3 :e102. [ [Bezpłatny artykuł na PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
3. Hotez PJ, Remme JH, Buss P, Alleyne G, Morel C, Breman JG. Zwalczanie tropikalnych chorób zakaźnych: raport z projektu Priorytety kontroli chorób w krajach rozwijających się. *Clin Infect Dis.* 2004; 38 :871-888. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
4. Mohebbali M, Javadian E, Yaghoobi-Ershadi MR, Akhavan AA, Hajjaran H, Abaei MR. Charakterystyka zakażenia *Leishmania* u gryzoni z terenów endemicznych Islamskiej Republiki Iranu. *East Mediterr Health J.* 2004; 10 :591–599. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
5. Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J i in. Leiszmanioza na całym świecie i globalne szacunki jej częstości występowania. *PLoS Jeden.* 2012; 7 : e35671. [ [Bezpłatny artykuł na PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
6. Klaus SN, Frankenburg S, Ingber A. Epidemiologia skórnej leiszmaniozy. *Clin Dermatol.* 1999; 17 :257–260. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
7. Globalny Wydział Zdrowia ds. Chorób Pasożytniczych i Malarii. Zasoby dla pracowników służby zdrowia. C. 2010. [aktualizacja 2010 2 listopada; cytowany 2 grudnia 2012 r.]. Dostępne pod adresem: [http://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/health\\_professionals/index.html](http://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/health_professionals/index.html) .
8. Murray HW, Berman JD, Davies CR, Saravia NG. Postępy w leczeniu leiszmaniozy. *Lancet.* 2005; 366 :1561-1577. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
9. Coler RN, Reed SG. Szczepionki drugiej generacji przeciwko leiszmaniozie. *Trendy Parazytol.* 2005; 21 :244-249. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
10. Soto J, Toledo JT. Doustna miltefozyna w leczeniu skórnej leiszmaniozy nowego świata. *Lancet Infect Dis.* 2007; 7 :7. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
11. Rojas R, Valderrama L, Valderrama M, Varona MX, Ouellette M, Saravia NG. Odporność na antymon i niepowodzenie leczenia w zakażeniu ludzką leiszmanią (*viannia*). *J Infekcja.* 2006; 193 :1375-1383. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
12. Hadighi R, Mohebbali M, Boucher P, Hajjaran H, Khamesipour A, Ouellette M. Brak odpowiedzi na leczenie glukantymem w irańskiej leiszmaniozie skórnej z powodu lekoopornych pasożytów *Leishmania tropica* . *PLoS Med.* 2006; 3 :e162. [ [Bezpłatny artykuł na PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
13. Pourmohammadi B, Motazedian MH, Handjani F, Hatam GH, Habibi S, Sarkari B. Skuteczność glucantime w leczeniu skórnej leiszmaniozy odzwierzęcej. *Zdrowie publiczne w Azji Południowo-Wschodniej J Trop Med.* 2011; 42 :502–508. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]

14. Hadighi R, Boucher P, Khamesipour A, Meamar AR, Roy G, Ouellette M i in. *Leishmania tropica* oporna na glukantime wyizolowana od irańskich pacjentów ze skórną leiszmaniozą jest wrażliwa na alternatywne leki przeciw leiszmanii. *Parazytol Res.* 2007; 101 :1319-1322. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
15. Kivçak B, Mert T, Ertabaklar H, Balcioglu IC, Ozensoy Töz S. Aktywność *Arbutus unedo* *in vitro* przeciwko promastigotom *Leishmania tropica* . *Turkiye Parazitol Derg.* 2009; 33 :114-115. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
16. Sunnen G. Wykorzystanie ozonu do zewnętrznych zastosowań medycznych. *J Adv Med.* 1998; 1 :159-174. [ [Google Scholar](#) ]
17. Gupta AK, Brintnell WC. Dezynfekcja zanieczyszczonego obuwia pacjentów z grzybicą paznokci za pomocą ozonu: nowa terapia wspomagająca w leczeniu grzybicy paznokci i grzybicy stóp? *J Cutan Med Surg.* 2013; 17 :243–249. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
18. Lin YC, Wu SC. Wpływ ekspozycji na ozon na inaktywację wewnątrz- i zewnątrzkomórkowego enterowirusa 71. *Antiviral Res.* 2006; 70 :147–153. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
19. Skalska K, Ledakowicz S, Perkowski J, Sencio B. Bakteriobójcze właściwości ozonowanego oleju słonecznikowego. *Inżynier ozonu* 2009; 31 :232–237. [ [Google Scholar](#) ]
20. Bocci V, Aldinucci C. Modyfikacje biochemiczne indukowane w ludzkiej krwi przez utlenianie-ozonowanie. *J Biochem Mol Toxicol.* 2006; 20 :133–138. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
21. Travagli V, Zanardi I, Silvietti A, Bocci V. Fizykochemiczne badanie wpływu ozonu na krew. *Int J Biol Macromol.* 2007; 41 :504–511. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
22. Menendez S, Re L, Falcon L, Argote MB, Mendez I, Fernandez D i in. Bezpieczeństwo stosowania miejscowego Oleozonu® w leczeniu grzybicy stóp: badanie kliniczne IV fazy. *Int J Ozon Ther.* 2008; 7 :55–59. [ [Google Scholar](#) ]
23. Sazgarnia A, Zabolinejad N, Layegh P, Rajabi O, Berenji F, Javidi Z, et al. Aktywność przeciw leiszmanii liposomalnej klarytromycyny przeciwko głównym promastigotom leiszmanii. *Iran J Basic Med Sci.* 2012; 15 :1005–1014. [ [Bezpłatny artykuł na PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
24. Menéndez S, Falcón L, Simón DR, Landa N. Skuteczność ozonowanego oleju słonecznikowego w leczeniu grzybicy stóp. *grzybice.* 2002; 45 :329-332. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
25. Coronel B, Duroselle P, Behr H, Moskovtchenko JF, Freney J. Dekontaminacja odpadów medycznych in situ przy użyciu środków utleniających: 16-miesięczne badanie na wielowartościowym oddziale intensywnej terapii. *Infekcja J Hosp.* 2002; 50 :207–212. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
26. Gupta AK, Brintnell W. Gaz ozonowy skutecznie zabija laboratoryjne szczepy *Trichophyton rubrum* i *Trichophyton mentagrophytes* za pomocą systemu testowego *in vitro* . *J Dermatolog Treat.* 2014; 25 :251–255. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
27. Meena A, Trivedi HP, Gupta M, Parvez Sh, Likhyan L. Terapeutyczne zastosowania produktów ozonowanych. *Int J Dent Clin.* 2011; 3 :68–69. [ [Google Scholar](#) ]
28. Sechi LA, Lezcano I, Nunez N, Espim M, Duprè I, Pinna A, et al. Działanie przeciwbakteryjne ozonowanego oleju słonecznikowego (Oleozon) *J Appl Microbiol.* 2001; 90 :279–284. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
29. Mohammadi Z, Shalavi S, Soltani MK, Asgary S. Przegląd właściwości i zastosowań ozonu w endodoncji: aktualizacja. *Iran Endod J.* 2013; 8 :40–43. [ [Bezpłatny artykuł na PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
30. Ledwa O. Dr. Praca dyplomowa, Narodowe Centrum Badań Naukowych. Miasto Hawana: [ [Google Scholar](#) ]

31. Neveen SI, Geweel Y. Przeciwwgrzybicze działanie ozonowanej oliwy z oliwek (oleozonu) Int J Agri Biol. 2006; 8 :670–675. [ [Google Scholar](#) ]
32. Azarpazhooh A, Limeback H. Zastosowanie ozonu w stomatologii: systematyczny przegląd literatury. Dent J. 2008; 36 :104–116. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]

---

Artykuły z Iranian Journal of Basic Medical Sciences są dostępne dzięki uprzejmości  
**Mashhad University of Medical Sciences**