تحقیقی

بررسی اثرخمیر calcipex II به عنوان شستشو دهنده در حین آماده سازی کانال بر روی انتروکوکوس فکالیس

شراره موسوی زاهد*، کمال امینی، قاسم انصاری*****

* دستیار تخصصی اندودنتیکس، گروه اندودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان، اصفهان، ایران.

** استادیار گروه اندودنتیکس، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان، اصفهان، ایران.

*** استاد گروه دندانپزشکی کودکان، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: نقش میکروارگانیسم ها و محصولات ویرانگر آنها، به عنوان عامل اصلی بیماریهای پالپ و پری اپیکال، به طور کامل شناخته شده است. مهم ترین هدف درمان های اندو، حذف این میکروارگانیسم ها از فضای کانال ریشه است. برای دستیابی به این منظور، پاکسازی کامل مکانیکی و شیمیایی کانال لازم و ضروری میباشد. اما در بررسی های گوناگون به اثبات رسیده است که شستشوی مکانیکی کانال به تنهایی برای حذف میکروارگانیسم ها کافی نبوده، لذا توجه به خاصیت ضدمیکروبی این محلول ها روز به روز افزایش یافته است. هدف کلی این تحقیق تعیین اثر ضدمیکروبیCalcipex II به عنوان شستشودهنده در طی آماده سازی کانال در دندانهای نکروزه و عفونی می باشد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی-آزمایشگاهی ٦٠ دندان قدامی تک کاناله طبق شرایط ورود به مطالعه جمع آوری شده و دبری های سطحی آنها حذف گردید. پس از قطع تاج دندان ها توسط دیسک الماسی برای ایجاد طول یکسان ١٤ میلی متر در نمونه ها، پاکسازی اولیهٔ کانال ها برای ایجاد قطر یکسان انجام شد و انتهای ریشهٔ دندان ها توسط کامپوزیت فلو سیل و در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار ۱۵پوند بر اینچ مربع استریل شدند .

سپس دندان ها به میکروارگانیسم انتروکوکوس فکالیس آغشته شده و به چهار گروه ۱۵ تایی تقسیم و پاکسازی نهایی و شستشو با هر یک از شوینده ها (Calcipex II، هیپوکلریت سدیم، کلرهگزیدین) انجام گرفت. پس از گذشت زمان انکوباسیون، تعداد کلونی های رشد یافته توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر شمارش شد و از آزمون واریانس یک طرفه برای آنالیز داده های خام استفاده شد.

یافته ها: کلسیم هیدروکساید خمیری شکل Calcipex II اثر بارز و مهمی بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس نداشته و تأثیر آن بر روی این باکتری کمتر از هیپوکلریت سدیم و کلرهگزیدین بود. (P> ۰/۰۵)

نتیجه‌گیری: یافته های این بررسی، اثر ضدمیکروبی قوی کلروهگزیدین را پس از هیپوکلریت سدیم نشان داد. بنابراین با توجه به سایر مطالعات انجام شده که خواص ماندگار میکروب کشی این ماده در کانال ریشه و فقدان هر گونه حساسیت و التهاب درهنگام برخورد کلرهگزیدین با نسوج پری اپیکال را نشان می دهد، می توان از این ماده به عنوان یک انتخاب آلترناتیو در شستشوی کانال های عفونی بهره جست.

واژگان کلیدی: اثرات ضدمیکروبی، دهان شویهٔ کلرهگزیدین، Calcipex II، محلول شستشو دهندهٔ کانال، هیپوکلریت سدیم.

وصول مقاله: ۹۲/۰٦/۰۱ پذیرش مقاله: ۹۲/۱۲/۱۵

نویسنده مسوول: دکتر کمال امینی، Email: shmosavi62@yahoo.com

مقدمه:

بعد از درمان کانال ریشه احتمال شکست درمان درنتیجه عفونت های پایداروجوددارد. ازبین تمام باکتری هائی که در زمان پرکردن ریشه ازکانال جدا شده اند انتروکوکوس فکالیس شایع ترین باکتری جداسازی شده می باشد (۱و ۲). انتروکوکوس فکالیس میکروارگانیسمی است که معمولاً در عفونت های اندودنتیک بدون علامت پایدار یافت می شود.شیوع این میکروارگانیسم در چنین عفونت هایی ۲٤ تا ۷۷ درصد می باشد (۳).

این یافته با فاکتورهای مختلفی که این باکتری از نظر عفونت زایی و تداوم بقا دارد توجیه می شود که عبارتند از :

- توانایی رقابت با سایر میکروارگانیسم ها
- توانایی تهاجم به توبول های عاجی
- مقاومت آن در محرومیت های غذایی

یکی ازروش هائی که خطر شکست ناشی ازعفونت را کاهش می دهدضدعفونی شیمیائی کانال ریشه است که بوسیله عوامل آنتی باکتریال نظیر هیدروکسیدکلسیم، هیپوکلریت سدیم، کلرهگزیدین و...انجام میشود (۲).

لیپوتیکوئیک اسید (LTA) یکی از اصلی ترین فاکتور های ویرولانس انتروکوکوس فکالیس می باشد که ارتباط نزدیکی با پریودنتیت اپیکال مقاوم دارد .نشان داده شده که کلسیم هیدروکساید فعالیت التهابی لیپوتیکوئیک اسید انتروکوکوس فکالیس را توسط deacylation لیپوتیکوئیک اسید ضعیف میکند.(٤).هیدروکسیدکلسیم به خاطرخواص بیولوزیک متنوع مثل فعالیت ضد میکروبی، انحلال بافتی، ممانعت ازتحلیل ریشه والقا تشکیل بافت سخت استفاده می شود (۲).

کلرهگزیدین نیز به خاطر خاصیت پایداری ذاتی اش به عنوان یک ضدعفونی کننده کانال ریشه شناخته شده است (٥).

هم هیدروکسیدکلسیم و هم کلرهگزیدین اثر آنتی میکروبیال بر روی انتروکوکوس فکالیس دارند (٦). کلرهگزیدین در مقایسه با هیدروکسیدکلسیم اثر آنتی میکروبیال بیشتری دارد (٦و۲).

امروزه هیپوکلریت سدیم یکی از شایعترین مواد شستشو دهنده در درمان اندودنتیک است. خاصیت آنتی میکروبیال و حلالیت بافتی آن بسیار گزارش شده است. بعلاوه این ماده ارزان و در دسترس است ولی Naocl بعلت خاصیت سیتوتوکسیتی زمانی که ورای اپکس ریشه تزریق شود باعث التهاب بافتی شدید و بدنبال آن درد فراوان و ادم و هماتوم می شود (۷).

هدف از این مطالعه بررسی تأثیر شستشو دهندگی خمیر آماده کلسیم هیدروکساید (calcipex II) به منظور حذف فاکتورهای مخدوش کننده در حین آماده سازی کانال در مقایسه با هیپوکلریت سدیم ، کلرهگزیدین و ترکیب هیپوکلریت سدیم و کلسیم هیدروکساید به صورت آزمایشگاهی می باشد.

روش بررسی:

دراین پژوهش تجربی ٦۰ دندان دائمی قدامی تک کاناله بالغ با آپکس بسته جمع آوری شد .جهت برداشت دبریهای سطحی ریشه به مدت ۲۰ دقیقه داخل محلول هیپوکلریت سدیم ٥/۲٥٪ قرار گرفته وبعد از آن در سرم فیزیولوژی قرار داده شدند.سپس از دندانها رادیوگرافی به عمل می آید تا عدم وجود انحنای شدید و کلسیفیکاسیون آنها تأیید گردد. با هدف سهولت دسترسی

و تمیز کردن کانال ها تاج دندان ها به وسیله دیسک الماسی در ناحیه مینا- سمان قطع شد تا طول یکنواخت ۱٤ میلی متر در همهٔ نمونه ها حاصل شود .

کلیه کانال ها توسط فایل های نوع – کا (K) و با تکنیک استپ بک تا فایل شماره ۲۵ و فایل های روتاری گیتز گلیدن شماره ۱ ، ۲ ، ۳ تا طول کارکرد ۱ میلی متری آپکس پاکسازی و شکل دهی شدند به طوری که در همهٔ نمونه ها قطر یکسان ایجاد شود . پس از آن انتهای ریشه توسط اسید فسفریک ۱۰٪ ساخت کارخانه کریستالین آلمان آماده سازی شد و توسط باندینگ و کامپوزیت فلو برای جلوگیری از خروج محیط کشت مایع از آپکس ریشه سیل گردید. هر دندان توسط۱۰سی سی نرمال سالین به وسیلهٔ سرنگ شستشو داده شد، پس از آن نمونه ها با۱۰سی سی محلول هیپوکلریت سدیم با میزان کلر فعال ۵/۲۵٪ و۱۰سی سی EDTA 17% هر کدام به مدت ٤ دقیقه شستشو داده شدند تا لایه اسمیر آنها حذف شود .

در نهایت هر دندان توسط ۱۰ سی سی نرمال سالین شستشو داده شد و دندان ها در فویل آلومینیوم پیچیده شدند . سپس کلیه نمونه ها در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع به مدت ۳۰ دقیقه برای ۲ بار استریل شدند.

پس از انجام مراحل فوق محیط کشت BHI توسط دستگاه سانتریفیوژ با فرکانس ٦۰ هرتز به داخل توبول های عاجی نفوذ داده شد (نگاره۱) . آنگاه انتروکوکوس فکالیس ATCC29212در محیط کشت BHI به مدت ۲٤ ساعت کشت داده شد و لوله مک فارلند ۰/۵ از نمونه میکروبی که میزان باکتری در هر میلی لیتر آن برابر ۱/۵×۱۰۸ CFU است تهیه شد .

دندان های استریل در مجاورت نمونه میکروبی با کدورتی معادل ۰/۵ مک فارلند به مدت ۱ هفته در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. (نگاره۳ و۲)

برای زنده بودن باکتری ها هر ۳ روز یک بار نمونه میکروبی با کدورت ۰/۵ مک فارلند جدید تهیه شد و دندانها در مجاورت آن قرار گرفتند و مجدداً در ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شد. بعد از گذشت یک هفته از آلوده سازی نمونه ها هر کدام با ۱۰ سی سی نرمال سالین شسته شده و نمونه ها به ٦ گروه (F,E,D,C,B,A) تقسیم شدند .

بعد از این مرحله شکل دهی و پاکسازی نهایی و کامل کانال انجام گرفت و نمونه ها در هر گروه به ترتیب زیر شستشو داده شدند .

گروه A : شستشو با caclipex II با حجم ثابت ۲ سی سی

گروه B : مخلوط caclipex II و سدیم هیپوکلریت با حجم ۲ سی سی و شستشوی نهایی توسط تیوسولفات تا از ادامه فعالیت سدیم هیپوکلریت جلوگیری شود .

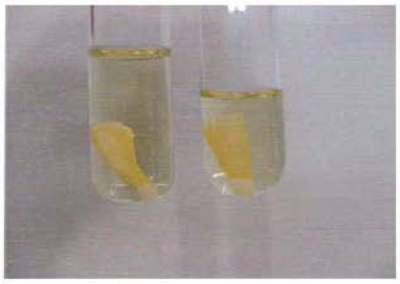
گروه C : کانال آلوده شده با انتروکوکوس فکالیس توسط ۲ سی سی از محلول هیپوکلریت سدیم ۱/۳٪ و سپس با محلول تیوسولفات شستشو داده شد. محلول تیوسولفات به مدت یک دقیقه درون کانال باقی ماند تا از ادامه فعالیت هیپوکلریت سدیم باقیمانده جلوگیری شود .

گروه D: کانال با کلرهگزیدین ۰/۲٪ با حجم ثابت ۲ سی سی و سپس با محلول تیوسولفات شستشو داده شد. تیوسولفات ۱ دقیقه در کانال باقی ماند تا از ادامه فعالیت باقیمانده کلر هگزیدین جلوگیری کند. گروه : E در گروه کنترل مثبت ۵ دندان که با انتروکوکوس فکالیس آلوده

شده بودند توسط ۲ سی سی محلول تیوسولفات ۵٪ شستشو داده شدند .

گروه F : در گروه کنترل منفی ۵ دندان که با انتروکوکوس فکالیس آلوده نشده ولی به BHI آغشته شده بودند توسط ۲ سی سی محلول تیوسولفات شستشو داده شدند. پس از پاکسازی و اینسترومنت کردن کانال ها در شرایط آسپتیک نمونه ها با ۱۰ میلی لیتر نرمال سالین کاملاً شسته و خشک می شوند. سپس یک کن کاغذی استریل وارد کانال کرده و اجازه داده شد به مدت یک دقیقه درون کانال باقی بماند به طوری که رطوبت را به خود جذب کند تا حدی که دیگر هیچ رطوبتی را جذب نکند . از هر دندان توسط ۳ کن کاغذی به همین روش نمونه برداری شد و هر کن به درون یک لوله آزمایش حاوی ۵۰۰۱ آبگوشت BHI منتقل شد و به مدت ۷۲ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه انجام گرفت و نتایج نهایی در حضور دو مشاهده گر به روش اسپکتروفتومتری خوانده شد . از تمام محیط های فوق مجدداً روی BHI آگار کشت تهیه شد تا از نظر آلودگی بررسی گردد که هیچ موردی حذف نشد . ابتدا کدورت در هر گروه و سپس میانگین تعداد کلنی ها در هر گروه محاسبه گردید . پس از آن میانگین تعداد کلنی ها در هر ٦ گروه با استفاده از تحلیل واریانس مورد سنجش قرار گرفت.

(نگاره ۱)



(نگاره ۲)

(نگاره ۳)

یافته ها:

میانگین وانحراف معیار کلونی های رشد یافته در هر گروه که توسط دستگاه اسپکتروفوتومتراندازه گیری شده است، در جدول ۱ ونمودار ۱ آمده است. با توجه به این که در آنالیز واریانس یک طرفه اختلافات معنی دار (۰/۰۴۲ >۰/۰۵) بدست آمده است لذا بایستی گروهها به صورت جداگانه و ۲به ۲ مورد بررسی واقع شوند. بنابراین از آزمون Least square difference (LSD) برای بررسی این مورد استفاده شده است. (جدول۲)

در نهایت آزمون t برای مقایسه مواد شوینده انجام گرفت که بین میزان شستشو دهندگی calcipex II و هیپوکلریت سدیم اختلاف آماری معنی دار وجود داشت (P value < ۰/۰۵) ولی میانگین اثر شستشو دهندگی calcipex II وکلر هگزیدین همچنین میانگین اثر شستشو دهندگی calcipex II و ترکیب calcipex II و هیپوکلریت سدیم اختلاف آماری معنی داری نداشتند (P value > ۰/۰۵).

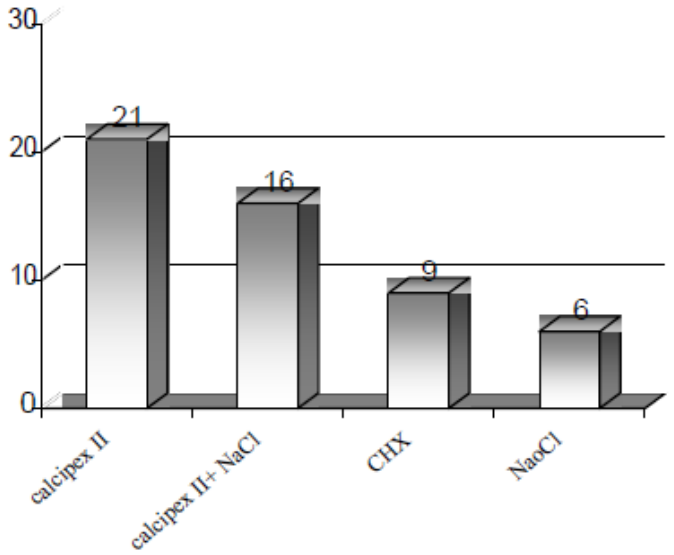
جدول(۱): جدول آمار توصیفی چهار نوع محلول شستشو دهنده

گروه	تعداد نمونه ها	میانگین	انحراف معیار	واریانس	P value
کلسیم هیدروکساید (calcipex II)	۱۵	۲۰/۷۳۳	۲۲/۳۹۷	۵۰۱/۶۳۸	۰/۶۹۲
هیپوکلریت سدیم	۱۵	۶/۲۰۰	۷/۲۳۲	۵۲/۳۱۴	۰/۵۵۸
caclipex II + هیپوکلریت سدیم	۱۵	۱۵/۹۰۰	۱۷/۸۰۵	۳۱۷/۰۴۲	۰/۳۵۱
کلر هگزیدین	۱۵	۸/۵۰۰	۵/۳۹۲	۲۹/۰۷۶	۰/۹۶۸

جدول(۲): مقایسه احتمال معنی داری گروهها

		P value
calcipex II	هیپوکلریت سدیم	۰/۰۱۱
	calcipexII+ هیپوکلریت سدیم	۰/۳۸۵
	کلر هگزیدین	۰/۰۳۴
هیپوکلریت سدیم	calcipex II	۰/۰۱۱
	calcipexII+ هیپوکلریت سدیم	۰/۰۸۴
	کلر هگزیدین	۰/۶۸۴
calcipexII+ هیپوکلریت سدیم	calcipex II	۰/۳۸۵
	هیپوکلریت سدیم	۰/۰۸۴
	کلر هگزیدین	۰/۱۹۳
کلر هگزیدین	calcipex II	۰/۰۳۴
	هیپوکلریت سدیم	۰/۶۸۴
	calcipexII+ هیپوکلریت سدیم	۰/۱۹۳

نمودار۱: مقایسه میانگین کلونی های رشد یافته پس ازکاربرد شوینده ها



بحث:

انتروکوکوس فکالیس به علت ارتباط باشکست درمان ریشه به عنوان ارگانیسم موردآزمایش انتخاب شد.این ارگانیسم به سرعت توبول های عاجی راعفونی می کند و در داخل توبول ها حداقل به مدت ۱۰ روز بدون منابع غذائی زنده می ماند. انتروکوکوس فکالیس به PH بالاوداروهای داخل کانال مقاوم است و فاکتورهای ویرولانس مختلفی مثل آنزیم های لیتیک ,سیتوزین ودارد (۲).

در بررسی های گوناگون به اثبات رسیده است که شستشوی مکانیکی کانال، به تنهایی قادر به حذف میکروارگانیسم ها از داخل کانال نبوده و از این رو توجه به خاصیت ضدمیکروبی این محلول ها روز به روز بیشتر شده است (۸). لذا با توجه به اهمیت موضوع به طراحی و انجام تحقیق آزمایشگاهی و تجربی پرداختیم تا میزان فعالیت ضدمیکروبی محلول های مورد نظر شامل calcipex II، هیپوکلریت سدیم، ترکیب calcipex II و هیپوکلریت سدیم و در نهایت کلرهگزیدین را بیازماییم و اهمیت این بخش از درمان ریشه را مورد تأکید قرار دهیم . سؤال مهمی که در رابطه با کلسیم هیدروکساید مطرح می شود این است که آیا این ماده می تواند به عنوان یک مادهٔ شستشو دهنده نیز استفاده شود. در مطالعهٔ حاضر اثر شستشو دهندگی کلسیم هیدروکساید بر روی باکتری مقاوم به درمان انتروکوکوس فکالیس بررسی و تأثیر آن با مواد شستشو دهندهٔ هیپوکلریت سدیم و کلرهگزیدین مقایسه شد .

ماده ی اصلی که در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت خمیر آمادهٔ کلسیم هیدروکساید calcipex II بود. از جمله اثرات مطلوب کلسیم هیدروکساید می توان به خاصیت ضدمیکروبی، PH قلیایی، وجود یون کلسیم و خنثی سازی لیپوپلی ساکارید باکتری به وسیله این ماده اشاره کرد (۲).

مطالعهٔ حاضر نشان داد که کلسیم هیدروکساید خمیری شکل calcipex II اثر بارز و مهمی بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس نداشته و تأثیر آن بر روی این گونه از باکتری های کانال معنی دار نبود ($P>۰/۰۵$) که نتیجهٔ این مطالعه مشابه مطالعهٔ ویواکواگومز و همکاران در سال ۲۰۰۵(۹) ومطالعهٔ جامب و همکاران در سال ۲۰۱۰ بود (۲).

همچنین در این مطالعه مشخص شد که calcipex II همراه با هیپوکلریت سدیم تأثیر بیشتری بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس داشته که مشابه نتایج مطالعهٔ هاسلگرین و همکارانش در سال ۱۹۹۸ و زندر و همکارانش در سال ۲۰۰۳ بود (۱۰) و (۱۱).

در مطالعات انجام شده توسط صفوی نشان داده شد که کلسیم هیدروکساید پس از گذشت ۱۵ دقیقه ۹۵٪ باکتری انتروکوکوس فکالیس را نابود کرد و می توان از این ماده برای شستشوی کانال در درمان های اندودنتیکس بهره جست که شاید دلیل اختلاف این نتایج با مطالعه حاضر تفاوت درنوع دندان ،روش اماده سازی کانال ،دمای ازمایش ونمونه گیری باشد (۱۲).

در مطالعهٔ حاضر هیپوکلریت سدیم بالاترین اثر ضدباکتریائی را بر انتروکوکوس فکالیس داشت که تأییدی بر نتایج مطالعات سیکوئیرا (۱۳)، کارسن (۱٤) و بربر (۱۵) می باشد.

گرنهارت و همکاران در سال ۲۰۰٤ در مطالعه ای به بررسی هیپوکلریت سدیم به عنوان شویندهٔ کانال پرداختند. در این مطالعه بعد از استفاده از هیپوکلریت

سدیم به عنوان محلول شستشودهندهٔ کانال، تورم، هماتوم، کوفتگی وسیع و نکروز مخاط آلوئول مشاهده شد. با توجه به این مطالب، همیشه تلاش در جهت یافتن ماده ای جدید برای استفاده در درمان های اندو وجود داشته تا علاوه بر خواص مطلوب هیپوکلریت سدیم، مشکلات کمتری را در بر داشته باشد .

مادهٔ دیگری که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت، دهان شویهٔ کلرهگزیدین گلوکونات می باشد. بررسی های گوناگون بر روی خاصیت ضدمیکروبی این ماده انجام گرفته، که همگی مؤید اثر آشکار ضدمیکروبی این ماده می باشد .

تحقیق حاضر نیز تأییدی بر دیگر تحقیقات انجام شده توسط اوهارا (۱٦)، کوموروسکی (۵)، سیکوریا (۱۷)، گومز(۱۸) و شیفر(۱۹) می باشد. به طوری که کلرهگزیدین تأثیر معنی داری بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس داشته و پس از هیپوکلریت سدیم بیشترین تأثیر را بر روی این باکتری گذاشت .

در مطالعه ای که توسط بلال وهمکاران درسال۲۰۰۷ برای مقایسه تاثیرآنتی باکتریال کلسیم هیدروکسایدو کلرهگزیدین وترکیب آنها روی انتروکوکوس فکالیس وکاندیدا آلبیکانس انجام شدبه این نتیجه رسیدند که در درمان کانال ریشه شکست خورده رل کلرهگزیدین ۲٪ داروی داخل کانال موثرتری در مقایسه با خمیر کلسیم هیدروکساید یا ترکیب این دو دارو با هم است(۲۰).

نتیجه گیری:

در این مطالعه نشان داده شد که calcipex II به تنهایی نتوانسته است به عنوان شوینده اثر معنی داری بر رشد انتروکوکوس فکالیس داشته باشد و همانطور که در مطالعات پیشین هم به اثبات رسیده است پانسمان یک هفته ای داخل کانال ریشه توسط کلسیم هیدروکساید اثرات ضدعفونی کنندگی قابل اطمینانی را در سیستم کانال ریشه به همراه دارد.

منابع:

1. McHugh CP, Zhang P, Michalek S, Eleazer PD. pH required to kill Enterococcus faecalis in vivo. J Endod 2004; 30:218-9. PMID: 15085049.
2. Jhamb S, Nikhil V, Singh V. An in vitro study of antibacterial effect of calcium hydroxide and chlorhexidine on Enterococcus faecalis. Indian J Dent Res. 2010; 21(4):512-4. PMID: 21187615.
3. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. Enterococcus faecalis: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment .J Endod; 2006:32(2), 93-8. PMID: 16427453.
4. Baik JE, Jang KS, Kang SS, Yun CH, Lee K, Kim BG, Kum KY, Han SH. Calcium hydroxide inactivates lipoteichoic acid from Enterococcus faecalis through deacylation of the lipid moiety. J Endod. 2011; 37(2):191-6. PMID: 21238801.
5. Komorowski R, Grad H, Wu XY, Friedman S. Antimicrobial substantivity of chlorhexidine treated bovin root dentin. J Endod. 2000 Jun; 26(6):315-7. PMID: 11199744.

6. Delgado RJ, Gasparoto TH, Sipert CR, Pinheiro CR, Moraes IG, Garcia RB, Bramante CM, Campanelli AP, Bernardineli N. Antimicrobial effects of calcium hydroxide and chlorhexidine on Enterococcus faecalis. J Endod. 2010; 36(8):1389-93. PMID:20647103.
7. Karale R, Thakore A, Shetty V. An evaluation of antibacterial efficacy of 3% sodium hypochlorite, high-frequency alternating current and 2% chlorhexidine on Enterococcus faecalis: An in vitro study. J Conserv Dent. 2011; 14(1):2-5. PMID: 21691496.
8. Bystrom A, Sundquist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. Int Endod J; 1985:18: 35-40. PMID: 3922900.
9. Vivacqtua Gomes N, Gurgel Filho ED, Gomes BP, Ferraz CC , Zaia AA, Souza Filho FJ. Recovery of enterococcus faecalis after single or multiple visit root canal treatments carried out in infected teeth ex vivo. Int Endod J ;2005:38(10): 697-704. PMID: 16164683.
10. Hasselgren G, Olson B, Cvek M. Effects of calcium hydroxide and sodium hypochlorite on the dissolution of necrotic porcine muscle tissue. J Endod: 1998: 14: 125-7. PMID: 3268627.
11. Zehnder M, Grawehr M, Hasselgremn G, Waltimo T.Tissue-dissolution capacity and dentin-disinfecting potential of calcium hydroxide mixed with irrigating solutions. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2003; 96(5):608-13. PMID: 14600697.
12. Safavi KE, Nichols FC. Effects of calcium hydroxide on bacterial lipopolysaccharide. J Endod; 1993:19: 76-78. PMID: 8509740.
13. Siqueira JF Jr, Rôças IN, Favieri A, Lima KC.Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. J Endod:2000: 29:331-334. PMID: 11199749.
14. Carson KR, Goodell GG. McClanahan SB. Comparison of the antimicrobia.l activity of six irrigants on primary endodontic pathogens. J Endod;2005: 31 (6): 471-3. PMID: 15917691.
15. Berber VB, Gomes BP, Sena NT, Vianna ME, Ferraz CC, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing Enterococcus Faecalis within root canal and dental tubules. Int Endod J. 2006;39(1):10-7. PMID: 16409323.
16. Ohara P, Torabinejad M, Kettering JD. Antibacterial effects of various endodontic irrigants on selected anaerobic bacteria. Endod Dent Traumatol. 1993 ;9(3):95-100. PMID: 8243347.
17. Siqueira JF Jr, de Uzeda M. Intra canal medicaments evaluation of the antimicrobial effect of chlorhexidine, metronidazol and calcium hydroxide associated with three vehicles. J Endod. 1997; 23(3):167-9. PMID: 9594757.
18. Gomes BP, Souza SF, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, Souza-Filho FJ. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against Enterococcus faecalis in bovine root dentine in vitro. Int Endod J. 2003 Apr;36(4):267-75. PMID: 12702121.
19. Schafer E, Bossmann K . Antimicrobial efficacy of chlorhexidine and two calcium hydroxide formulations against Enterococcus faecalis. J Endod; 2005: 31(1):53-6. PMID: 15614008.
20. Ballal V, Kundabala M, Acharya S, Ballal M. Antimicrobial action of calcium hydroxide, chlorhexidine and their combination on endodontic pathogens. Aust Dent J. 2007; 52(2):118-21. PMID: 17687957.