

مقایسه اثر ضد قارچ زینک اکساید اوژنول، Sealapex و Metapex بر روی کاندیداآلبیکانس

* سمية خرمیان طوسی

* استادیار گروه دندانپزشکی کودکان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز

چکیده

زمینه و هدف: اثر ضد میکروبی مواد پرکننده کanal در طی درمان پالپکتومی به منظور حذف پاتوژنهای باقی مانده در کanal ریشه مهم و ضروری به نظر می‌رسد. هدف از این مطالعه آزمایشگاهی مقایسه فعالیت ضد قارچ زینک اکساید اوژنول (ZOE) با ترکیبات حاوی کلسیم هیدروکساید (Sealapex و Metapex) بود.

روش بررسی: یک مطالعه آزمایشگاهی، جهت ارزیابی فعالیت ضد قارچ طراحی و از تست مهاری انتشار در آگار استفاده گردید. برای این منظور از ۳۰ پلیت به قطر ۱۰ سانتیمتر که محتوی آگاری به ضخامت چهار میلیمتر و حاوی قارچ کاندیداآلبیکانس بود استفاده شد. در هر ظرف، چهار حفره با فواصل یکسان از هم و به قطر پنج میلیمتر در آگار ایجاد گردید. در سه حفره، مواد مورد آزمایش (ZOE و Sealapex و Metapex) و در یک حفره، آب مقطر به عنوان کنترل منفی ریخته شد. پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند. سپس قطر هاله عدم رشد توسط کولیس بر حسب میلیمتر اندازه گیری شد. از تست کروسکال_والیس جهت آنالیزهای آماری استفاده شد و حد معنی داری کمتر از ۰.۰۵ برای تعیین معناداری اختلاف، در نظر گرفته شد. یافته‌ها: تست کروسکال_والیس اختلاف معنی داری را بین میانه قطر هاله عدم رشد سه ماده مورد بررسی نشان داد ($p < 0.001$). میانگین قطر منطقه ممانعت از رشد قارچ به طور معناداری در ZOE بیشتر از Sealapex و Metapex بود.

نتیجه گیری: براساس یافته‌های این مطالعه، ZOE از خاصیت ضد قارچ بیشتری نسبت به Sealapex و Metapex برخوردار می‌باشد.

کلید واژه‌ها: پالپکتومی، کاندیداآلبیکانس، مواد پرکننده کanal ریشه

وصول مقاله: ۱۳۹۴/۰۵/۱۲ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۵/۱۵

نویسنده مسؤول: دکتر سمية خرمیان طوسی so_khoramian@yahoo.com

مقدمه

ایفای نقش زیبایی، تکلمی و عملکردی، مسئولیت حفظ

فضای دندان‌های دائمی را نیز بر عهده دارند ولذا گرچه درک اهمیت نگهداری دندانهای شیری افزایش ضروری بنظر می‌رسد تا جهت جلوگیری از یافته است، اما هنوز بسیاری از دندانها ی شیری، زودتر اکلوزن، تا پایان دوره خود، در دهان باقی بمانند. اما از هنگام از دست میروند. دندانهای شیری علاوه بر

ضد میکروبی مواد پرکننده کanal بسیار مهم و ضروری
بنظر می‌رسد.^۳

به منظور ارزیابی ویژگی ضد میکروبی سیلرهای کanal
از تست تماس مستقیم (Direct Contact Test)، تست
(Agar Diffusion Inhibitory Mهاری انتشار در آگار
(Dentalin Test)، و تست نفوذ در توبول عاجی

tubule penetrating test)
تست مهاری انتشار در آگار دارای محدودیت هایی
امی باشد، اما این روش ساده بوده، و کاربرد وسیعی
دارد.^{۹-۱۱}

از جمله موادی که در پرکردن کanal ریشه دندان‌های
شیری مورد استفاده قرار می‌گیرد، می‌توان به خمیر
زینک اکساید اوژنول (ZOE)، خمیرهای با بیس یدوفرم
و خمیرهای با بیس کلسیم هیدروکساید اشاره کرد. در
این میان خمیر زینک اکساید اوژنول، کاربرد وسیعتری
دارد.^{۱۲} زینک اکساید اوژنول اثر ضد میکروبی کمی داشته
ونسبت به تحلیل ریشه دندان‌های شیری، سرعت جذب
کننده دارد.^{۱۳} بدین سبب مطلوب بودن این ماده سیلر
در پالپکومی دندان‌های شیری مورد بحث قرار گرفته

است و مطالعاتی برای دستیابی به ماده‌ای مناسبتر و با
ویژگی‌های ضد میکروبی بیشتر انجام شده است.^۱

مواد با بیس کلسیم هیدروکساید جهت ایجاد خاصیت
ضد میکروبی به دو یون هیدروکسیل و کلسیم تجزیه
امی شوند و محیط قلیایی در اطراف خود ایجاد می‌کنند.
هر چه این مواد حلالیت بیشتری در آب داشته باشند.

متاسفانه به دلیل بالا بودن میزان پوسیدگی و وضعیت
آناتومیک، پالپ آنها سریعاً درگیر شده و خدمات درمان
پالپ را می‌طلبند. در صورت وجود شواهد التهاب پالپی
غیرقابل برگشت یا نکروز پالپ ریشه‌ای در شرایطی که
دندان دارای ساپورت استخوانی مناسب باشد، درمان
پالپکومی تجویز می‌شود.^{۱۴}

تحقیقات زیادی ارتباط بین حضور انواع باکتری و
بیماریهای پالپ و پری اپیکال را تایید کردند.^{۳-۵} علاوه بر
باکتریها، نمونه‌هایی از قارچ‌ها از جمله کاندیدا، پاتوژن -
های فرصت طلب هستند که توانایی کلونیزه شدن و
عفونت در کanalهای ریشه را دارا هستند.^۶
با استفاده از PCR (Polymerase Chain Reaction) کاندیدا آلبیکانس در ۲۱ درصد از کanalهای ریشه عفونی
ردیابی شد.^۷

همچنین در مطالعات متعدد کاندیدا آلبیکانس یکی از
 مقاومترین میکروارگانیسمهای بعد از درمان اندودانتیک
 و از دلایل احتمالی شکست درمان ریشه می‌باشد.^۷
 موفقیت درمان اندودانتیک، علاوه بر حذف یا کاهش
 تعداد میکروارگانیسمهای موجود در کanal ریشه، به
 ممانعت از آلدگی مجدد سیستم کanal ریشه پس از
 درمان نیز بستگی دارد و از آنجایی که میکروارگانیسمها
 ممکن است حتی پس از آماده‌سازی بیومکانیکی کanalها
 و کاربرد مواد شوینده، داخل کanalها باقی بمانند، مواد
 پرکننده کanal باید توانایی حذف پاتوژنهای باقیمانده و
 خنثی کردن محصولات سمی آنها و جلوگیری از عفونت
 مجدد کanal را داشته باشند؛ بنابراین فعالیت

گردید. سپس ۴۸ ساعت برای ایجاد کلونی بر روی محیط جامد Triptic Soy Agar (Merck) کشت داده شد. از کلونیها سوسپانسیونی با غلظت تقریبی ۰/۵ واحد مک فارلند (cells/mL^{1/5}) تهیه شد و غلظت آن با اسپکتروفوتومتر (Sartoriuste, Goettingen, Germany) مورد تایید قرار گرفت. سپس محیط MullerHinton Agar (Merck) حرارت داده شد و زمانی که دمای آن به ۴۵-۵۰ درجه سانتیگراد رسیده و مایع گردید به آن ۱cc از سوسپانسیون حاوی قارچ اضافه گردید. ترکیب حاصل در ۳۰ پلیت یک بار مصرف استریل به قطر ۱۰ سانتیمتر ریخته شد تا حدی که ضخامت آگار چهار میلیمتر گردید. پس از سرد شدن مخلوط، چهار حفره به قطر پنج میلیمتر بوسیله پیپت پاستور (Isolab, Darmstadt, Germany) در آگار ایجاد گردید. در هر کدام از حفرات هر پلیت Sultan, (Zinc oxide eugenol (ZOE) بترتیب Metapex(Metabiomed, Englewood, NJ, USA Sealapex و Choongchong Buk-do, Korea) (Kerr, Salerno, Italy) با وزن یکسان که با استفاده از ترازوی دیجیتال (Genova Diagnostics, New Malden, UK) بدست آمده بود، ریخته شد. برای تهیه خمیر ZOE و Sealapex مطابق دستورالعمل کارخانه سازنده عمل گردید. در حفره چهارم پلیت آب مقطر(کنترل منفی) ریخته شد. سپس پلیتها در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در انکوباتور (Gallenkamp, درجه سانتیگراد

راحتer تجزیه می‌شوند.^{۱۵} Sealapex که بیس کلسیم هیدروکساید دارد، در آب نامحلول است و اثر ضد میکروبی متفاوتی برای آن گزارش شده است.^{۱۶-۱۸} یک خمیر از پیش آماده با بیس کلسیم Metapex هیدروکساید است که جدیداً وارد بازار گردیده و احتمال می‌رود که بواسطه خاصیت محلول در آب بودنش بتواند اثر ضد میکروبی بهتری از خود به نمایش بگذارد.^{۱۹} از آن جایی که بیشتر مطالعاتی که در زمینه بررسی خاصیت ضد میکروبی سیلرها انجام شده است بر روی سیلرهای دندانهای دائمی میباشد، بنابراین بر آن شدید تا میزان فعالیت ضد میکروبی مواد مختلفی که در پُرکردن کانالهای ریشه دندانهای شیری کاربرد دارد را بر روی کاندیدا آلبیکانس بررسی نماییم تا مشخص شود کدام دارو اثر ضد میکروبی قویتری دارد و بهتر میتواند میکروگانیسم های موجود در کanal دندان پس از آماده سازی دندان را از بین برد و احتمال موفقیت درمان را افزایش دهد.

روش بررسی

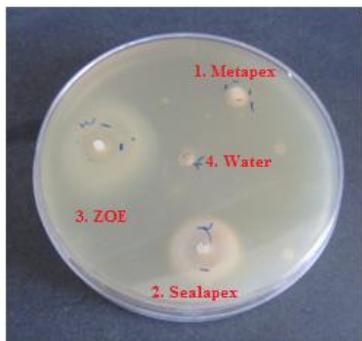
در این مطالعه آزمایشگاهی، سوش استاندارد قارچ کاندیدا آلبیکانس شماره PTCC:۵۰۷۵ تهیه شد. محتويات ویال در محیط مایع (Germany) Muller hinton agar (Merck Darmstadt) شد و ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه

مورد بررسی اختلاف معنی داری با یکدیگر دارند
(جدول ۲).

Kruskall-Wallis با استفاده از آزمون ناپارامتری میانه مواد پرکننده کانال مورد بررسی اختلاف معنی داری با یکدیگر نشان دادند (جدول ۳).

Mann-Whitney U test همچنین با استفاده از آزمون مشخص گردید که میانه قطر هاله عدم رشد در تمام زوج سیلرهای مورد بررسی از نظر آماری اختلاف معنی داری داشتند (جدول ۴).

شکل ۱: هاله عدم رشد قارچ در مواد مورد آزمایش



Loughborough, UK (انکوبه شده و پس از ۴۸ ساعت با استفاده از کولیس، قطر منطقه مهار رشد مربوط به هر ماده بر حسب میلی متر اندازه‌گیری شد. نمونه‌ای از هاله‌های عدم رشد در اطراف مواد مورد آزمایش در یک پلیت در شکل ۱ نشان داده شده است. یافته‌های حاصل از هر نمونه در چک لیست مربوطه ثبت و با آزمونهای Mann-Whitney U و Kruskal-wallis test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها

منطقه عدم رشد قارچ کاندیدا آلبیکانس در همه گروههای مورد بررسی، مشاهده شد؛ اما هاله عدم رشد در گروه کنترل منفی (آب مقطر) دیده نشد.

مشخصات توصیفی از جمله میانگین، انحراف معیار و میانه مربوط به هر سه ماده پرکننده کانال مورد بررسی در جدول ۱ آمده است. بیشترین میانگین قطر هاله عدم رشد مربوط به ZOE (۴۹/۷۷ میلی متر) و کمترین قطر هاله عدم رشد مربوط به Sealapex (۳۰/۵۴ میلی متر) بود.

Kolmogorov-Smirnov با استفاده از آزمون ناپارامتری مشخص گردید داده‌ها دارای توزیع نرمال می‌باشند (جدول ۱).

Levene-Statistic همچنین نتایج حاصل از آزمون نشان داد که واریانس قطر هاله عدم رشد در سیلرهای

جدول ۱: مشخصات توصیفی منطقه عدم رشد قارچ کاندیدا آلبیکانس سیلرهای مورد بررسی و وضعیت نرمال بودن توزیع
داده های هر یک از سیلرهای مورد بررسی، با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov

P-value	Kolmogorov-Smirnov D	(چارک سوم - چارک اول) میانه (mm)	انحراف معیار \pm میانگین (mm)	حداکثر (mm)	حداقل (mm)	تعداد	نام سیلر
۰/۹۷۶	۰/۴۷۸	(۴۸/۷۳ - ۵۰/۹۳) ۴۹/۶۵	۴۹/۷۷ \pm ۱/۳۹	۵۲/۸	۴۷/۲	۳۰	ZOE
۰/۳۱۳	۰/۹۶۲	(۳۰/۱۸ - ۳۲/۳۰) ۳۱/۸۰	۳۱/۳۷ \pm ۱/۱۸	۳۳/۲	۲۹/۴	۳۰	Metapex
۰/۶۱۱	۰/۷۵۹	(۲۹/۸۰ - ۳۱/۲۳) ۳۰/۷۵	۳۰/۵۴ \pm ۰/۸۰	۳۱/۸	۲۸/۹	۳۰	Sealapex

جدول ۲: ارزیابی تساوی واریانس‌های قطر هاله عدم رشد در سیلرهای مورد بررسی، با استفاده از آزمون Levene

نتیجه	P-value	df2	df1	Levene Statistic
واریانس قطر هاله عدم رشد در سیلرهای مورد بررسی اختلاف معنی داری با یکدیگر دارند.	۰/۰۱۲	۸۷	۲	۴/۶۸۹

جدول ۳. مقایسه میانه قطر هاله عدم رشد در سیلرهای مورد بررسی، با استفاده از آزمون Kruskall-Wallis

نتیجه	P-value	df	H	(چارک سوم- چارک اول) میانه	تعداد	نوع سیلر
اختلاف میانهها در سه گروه مورد بررسی معنی دار است.	<۰/۰۰۱	۲	۶۳/۳۹۹			
				۴۹/۶۵ (۴۸/۷۳ - ۵۰/۹۳)	۳۰	ZOE
				۳۱/۸۰ (۳۰/۱۸ - ۳۲/۳۰)	۳۰	Metapex
				۳۰/۷۵ (۲۹/۸۰ - ۳۱/۲۳)	۳۰	Sealapex

جدول ۴. مقایسه زوجی میانه قطر هاله عدم رشد در سیلرهای مورد بررسی، با استفاده از آزمون Mann-Whitney

نوع سیلر	تعداد	(چارک سوم- چارک اول) میانه	Z	P-value	نتیجه
ZOE Metapex	۲۰	۴۹/۶۵ (۴۸/۷۳ - ۵۰/۹۳) ۲۱/۸۰ (۳۰/۱۸ - ۳۲/۳۰)	-۶/۶۵۵	<۰/۰۰۱	اختلاف میانهها معنی دار است.
ZOE Sealapex	۳۰	۴۹/۶۵ (۴۸/۷۳ - ۵۰/۹۳) ۳۰/۷۵ (۲۹/۸۰ - ۳۱/۲۳)	-۶/۶۵۵	<۰/۰۰۱	اختلاف میانهها معنی دار است.
Metapex Sealapex	۳۰	۳۱/۸۰ (۳۰/۱۸ - ۳۲/۳۰) ۳۰/۷۵ (۲۹/۸۰ - ۳۱/۲۳)	-۳/۰۰۴	<۰/۰۰۳	اختلاف میانهها معنی دار است.

بحث

مواد مختلفی جهت پرکردن کanal ریشه در دندان های شیری وجود دارد که اکثریت مواد خاصیت ضد میکروبی ثابت شده ای دارند. اغلب مواد پرکننده کanal ریشه حاوی ترکیبات اوژنول یا کلسیم هیدروکساید Sealapex یا ZOE حاوی ترکیبات اوژنول و Metapex هستند. هر دو حاوی کلسیم هیدروکساید می باشند. یافته های حاصل از این مطالعه نشان داد که خاصیت ضد قارچ ZOE از دو ترکیب دیگر بیشتر است ZOE و بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به Kaplan نیز مانند نتایج مطالعه حاضر بود و نشان داد ZOE بیشترین اثر ضد قارچ را بین انواع سیلرهای کanal ریشه دارا است.

حذف میکروارگانیسم ها از کanal ریشه و پیشگیری از عفونت مجدد کanal ریشه درمان شده هدف اصلی درمان اندودانتیک میباشد.^{۲۰} پاکسازی کامل کanal به روش مکانیکی در دندانهای شیری به علت شکل پیچیده کanal، ممکن نمی باشد. همچنین باقی ماندن باکتری ها در کanal ریشه موجب شکست درمان می شود. به همین سبب جهت افزایش موفقیت درمان، از مواد با خاصیت ضد میکروبی جهت پرکردن کanalها استفاده می شود.^{۲۱ و ۲۲} در این مطالعه قارچ کاندیدا آلبیکانس مورد بررسی قرار گرفت. انتخاب این قارچ به دلیل نقش اثبات شده آن در عفونت های اولیه کanal ریشه و دندان های با درمان قبلی شکست خورده بوده است.^{۲۰ و ۲۳}

منجر به صرفه جویی زمانی در پروسه پالپکتومی می‌گردد. همچنین از لحاظ قیمت به صرفه می‌باشد.^{۱۷}

در مطالعه Siqueira و همکاران نیز ZOE خاصیت ضد میکروبی بیشتری نسبت به Sealapex داشت که با یافته مطالعه حاضر همخوانی دارد.^{۲۵} در مطالعه Reddy و همکاران نیز اثر ضد میکروبی ZOE از ترکیبات حاوی کلسیم هیدروکساید بیشتر بود.^۱ همکاران نیز به این نتیجه رسیدند که ZOE خاصیت ضد میکروبی بیشتری نسبت به ترکیبات حاوی کلسیم هیدروکساید دارد.^{۲۶} Rafiei و همکاران به این نتیجه رسیدند که کلسیم هیدروکساید اثر مهاری کمی بر روی کاندیدا آلبیکانس دارد.^{۲۰} Miyagak و همکاران در مطالعه خود دریافتند که میکروبی علیه کاندیدا آلبیکانس ندارد. شاید بتوان علت تفاوت در نتایج را به محدودیتهای روش Agar Diffusion نسبت داد.^{۲۷}

در این مطالعه از روش سنجش Agar Diffusion بررسی قابلیت ضد قارچ مواد مورد آزمایش استفاده شد که شایعترین روش آزمایشگاهی مورد استفاده برای بررسی این قابلیت مواد است. نتایج ADT تحت تأثیر توانایی انتشار مواد در داخل آگار بوده علاوه بر این نحوه انتشار و تلقیح گونه میکروبی بر روی محیط آگار، استانداردسازی غلظت گونه میکروبی مورد بررسی، انتخاب کنترل مناسب، انکوباسیون، نحوه اندازه گیری

ویژگی ضدمیکروبی مواد پرکننده کanal با بیس کلسیم هیدروکساید، با آزادسازی یون هیدروکسیل ایجاد می‌شود. یون هیدروکسیل، پروتئین‌ها را دناتوره می‌کند و موجب تخریب DNA میکروب می‌گردد.

همچنین pH قلیایی این مواد آنزیمهای غشاء سلولی میکروبها را غیرفعال کرده و موجب مرگ میکروب‌ها می‌شود.^{۲۳} از آنجایی که خمیر Metapex و سمان Sealapex هر دو بیس کلسیم هیدروکساید دارند، شاید بتوان بالاتر بودن خاصیت ضدمیکروبی Metapex را به ترکیبات یدید موجود در ساختار آن نسبت داد. ترکیبات یدید مشابه کلسیم هیدروکساید، خاصیت ضد میکروبی دارند. همچنین بالاتر بودن ویژگی ضد میکروبی Metapex ممکن است به دلیل حلالیت بالاتر این ماده در آب باشد که با سهولت بیشتری در محیط آگار حرکت نموده و تاثیر ضدمیکروبی خود را ایفا می‌نماید.^{۱۷} بدلیل باقیماندن رطوبت بهدنیال آماده سازی و شستشوی کانالها در داخل کanal ریشه، توبولهای عاجی و کانالهای فرعی شاید بتوان گفت که حلال بودن ماده پرکننده کanal در آب در شرایط طبیعی دندانها هم به لحاظ ایفای اثر ضدمیکروبی آن مفید باشد. اگرچه در شرایط محیط دهان شاید این حلالیت به پاک شدن زودتر از موعد این خمیر از کanal ریشه منجر گردد. Metapex که خمیر از پیش آماده شده ای می‌باشد، با توجه به عدم نیاز به مخلوط نمودن نیز

نمی شود و برای بهدست آوردن نتایج دقیق، نیاز به

استاندارد کردن و کنترل فاکتورهای بسیاری است.^{۱۰}

مهار رشد، همگی بر نتایج گزارش شده تأثیر می گذارند.

از مزیتهای این روش آسان بودن اجرا و امكان مقایسه

مستقیم خاصیت ضد میکروبی مواد بر روی یک پلیت

می باشد.^{۱۱}

نتیجه گیری

براساس یافته های این مطالعه، خاصیت ضد قارچ

بیشتر از Metapex Sealapex ZOE است.

اگرچه روش Agar diffusion به دلیل سهولت کاربرد

شایعترین روش مورد استفاده می باشد، جهت تعیین

نتایج آن به شرایط کلینیکی باید محدودیتهای این تکنیک

را مدنظر قرار داد. به طور مثال در این تکنیک قابلیت

زیست و حیات میکروارگانیسمها بررسی و مقایسه

References

1. Reddy S, Ramakrishna Y. Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Various Root Canal Filling Materials Used in Primary Teeth: A Microbiological Study. J Clin Pediatr Dent 2007; 31(3): 195-9.
2. Fuks AB. Pulp therapy in primary teeth. In: Pinkham JR, Casamassimo PS, Mc Tigue DJ, Fields HW, Nowak AJ. Pediatric dentistry: Infancy through adolescence. 4th ed, St. Louis, Elsevier Saunders 2005; 375-93.
3. Siqueira JF, Rocas IN. Endodontic microbiology. In: Torabinejad M, Walton RE. Endodontics: principles and practice. 4th ed, St. Louis, Saunders Elsevier 2009; 38-48.
4. Siqueira JF, Rocas IN. Microbiology and treatment of endodontic infections. In: Hargreaves KM, Cohen S. Cohen's pathways of the pulp. 10th ed, Philadelphia, Mosby Elsevier, 2011; 559-600.
5. Baumgartner CJ, Siqueria JF, Dedgley CM, Kishen A. Microbiology of endodontic disease. In: Ingle JI, Bakland LK, Baumgartner JC. Ingle's endodontics6. 6th ed, Hamilton, BC Decker Inc, 2008; 221-308.

6. Siqueira JF, Sen BH. Fungi in endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 97(5): 632-41.
7. Baumgartner JC, Watts CM, Xia T. Occurrence of *Candida albicans* in infections of endodontic origin. *J Endod* 2000; 26(12): 695-8.
8. Siqueira JF, Rocas IN. Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 97(1): 85-94.
9. Al-shwaimi E. Evaluation of antimicrobial effect of root canal sealers. *Pakistan oral & Dent J* 2011; 31(2): 432-5.
10. Saha S, Samadi F, Jaiswal JN, Ghoshal U. Antimicrobial activity of different endodontic sealers: An in vitro evaluation. *J Indian Society Pedod Prev Dent* 2010; 28(4): 251-7.
11. Lai CC, Huang FM, Yang HW, Chan Y, Huang MS, Chou MY, et al. Antimicrobial activity of four root canal sealers against endodontic pathogens. *Clin Oral Invest* 2001; 5(4): 236-9.
12. Praveen P, Anantharaj A, Venkataraghavan K, Prathibha S, Sudhir R, Jaya AR. A review of obturating materials for primary teeth. *Streamdent* 2011; 2(1): 42-4.
13. Ozalp N, Saroglu I, Sonmez H. Evaluation of various root canal filling materials in primary molar pulpectomies: an in vivo study. *Am J Dent* 2005; 18(6): 347-50.
14. Mortazavi M, Mesbahi M. Comparison of zinc oxide and eugenol, and Vitapex for root canal treatment of necrotic primary teeth. *Int J Paed Dent* 2004; 14(6): 417-24.
15. Desai SH, Chandler N. Calcium Hydroxide-Based Root Canal Sealers: A Review. *J Endod* 2009; 35(4): 475-80.
16. Sipert CR, Hussne RP, Nishiyama CK, Torres SA. In vitro antimicrobial activity of Fill Canal, Sealapex, Mineral Trioxide Aggregate, Portland cement and EndoRez. *Int Endod J* 2005; 38(8): 539-43.
17. Mickel A, Nguyen T, Chogle S. Antimicrobial activity of endodontic sealers on *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2003; 29(4): 257-8.

18. Fuss Z, Weiss E, Shalhav M. Antimicrobial activity of calcium hydroxide containing endodontic sealers on *Enterococcus faecalis* in vitro. *Int Endod J* 1997; 30(6): 397–402.
19. Gautam, S, and B Rajkumar. Antimicrobial efficacy of Metapex (Calcium hydroxide with Iodoform formulation) at different concentrations against selected microorganisms-An in vitro study. *Nepal Med Coll* 2011; 13(4); 297-300.
20. Rafiei N, Eftekhar B, Rafiei A, Pourmahdi Borujeni M, Zarrin M. Evaluating the Effectiveness of Iranian and Korean Injectable Intracanal Calcium Hydroxide on *Candida albicans*, In vitro. *Jundishapur J Microbiol* 2012; 5(3): 470-3.(persian)
21. Kayaoglu G, Erten H, Alacam T, Ørstavik D. Short-term antibacterial activity of root canal sealers towards *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 2005; 38(10): 483-88.
22. Himel VT, McSpadden JT, Goodis HE. Instruments, materials, and devices. In: Cohen S, Hargreaves KM. Cohen's pathways of the pulp. 10th ed, Philadelphia, Elsevier Saunders, 2011; 269-82.
23. Al-Nazhan S, Al-Obaida M. Effectiveness of a 2 % chlorhexidine solution mixed with calcium hydroxide against *Candida albicans*. *Aust Endod J*, 2008; 34(3):133-5.
24. Kaplan AE, Picca M, Gonzalez MI, Macchi RL, Molgatini SL. Antimicrobial effect of six endodontic sealers: an in vitro evaluation. *Endod Dent Traumatol* 1999; 15(1): 42-5.
25. Siqueira JF, Goncalves R. Antibacterial activities of root canal sealers against selected anaerobic bacteria. *J Endod* 1996; 22(2): 79-80.
26. Harini Priya M, Sham SB, Sundeep Hegde K. Comparative evaluation of bactericidal potential of four root canal filling materials against microflora of infected non vital primary teeth. *J Clin Pediatr Dent* 2010; 35(1): 23–30.
27. Miyagak DC, de Carvalho EM, Robazza CR, Chavasco JK, Levorato GL. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of endodontic sealers. *Braz Oral Res* 2006; 20(4): 303-6.