

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

دکتر سمیه خرمیان طوسی *

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

چکیده

زمینه و هدف: اثر ضد میکروبی مواد پرکننده کانال در طی درمان پالپکتومی به منظور حذف پاتوژن‌های باقی مانده در کانال 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 (Metapex و Sealapex) بود.

روش بررسی: یک مطالعه آزمایشگاهی، جهت ارزیابی فعالیت ضد قارچ طراحی و از تست مهارت انتشار در آگار استفاده گردید. برای این منظور از ۳۰ پلیت به قطر ۱۰ سانتی متر که محتوی آگاری به ضخامت چهار میلی متر و حاوی قارچ کاندیداآلبیکانس بود استفاده شد. در هر ظرف، چهار حفره با فواصل یکسان از هم و به قطر پنج میلی متر در آگار ایجاد گردید. در سه حفره، مواد مورد آزمایش (Metapex و Sealapex و ZOE) 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 برحسب میلی متر 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. **یافته ها:** 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 Metapex و Sealapex بود. **نتیجه گیری:** براساس یافته های این مطالعه، ZOE از خاصیت ضدقارچ بیشتری نسبت به Metapex و Sealapex برخوردار می باشد.

کلید واژه ها: پالپکتومی، کاندیداآلبیکانس، مواد پرکننده کانال ریشه

وصول مقاله: ۱۳۹۴/۰۵/۱۲ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۸/۱۵

نویسنده مسوول: دکتر سمیه خرطومیان طوسی so_khoramian@yahoo.com

از هنگام از دست می‌روند. دندان‌های شیری علاوه بر

ایفای نقش زیبایی، تکلمی و عملکردی، مسئولیت حفظ

فضای دندان های دائمی را نیز بر عهده دارند و لذا

مقدمه

گر چه درک اهمیت نگهداری دندان‌های شیری افزایش

یافته است، اما هنوز بسیاری از دندان‌های شیری، زودتر

و کاربرد مواد شوینده، داخل کانال‌ها باقی بمانند، مواد پرکننده کانال باید توانایی حذف پاتوژن‌های باقی‌مانده و خنثی کردن محصولات سمی آن‌ها و جلوگیری از عفونت مجدد کانال را داشته باشند؛ بنابراین فعالیت ضد میکروبی مواد پرکننده کانال بسیار مهم و ضروری بنظر می‌رسد.^۲

به منظور ارزیابی ویژگی ضد میکروبی سیلرهای کانال از تست تماس مستقیم (Direct Contact Test)، تست مهارتی انتشار در آگار (Agar Diffusion Inhibitory Test)، و تست نفوذ در توبول عاجی (Dentinal tubule penetrating test) استفاده می‌شود. گرچه تست مهارتی انتشار در آگار دارای محدودیت‌هایی می‌باشد، اما این روش ساده بوده، و کاربرد وسیعی دارد.^{۹-۱۱}

از جمله موادی که در پرکردن کانال 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 و نسبت به تحلیل ریشه دندان‌های شیری، سرعت جذب کندتری دارد.^{۱۳، ۱۴} بدین سبب مطلوب بودن این ماده سیلر در پالپکتومی دندان‌های شیری مورد بحث قرار گرفته

ضروری بنظر می‌رسد تا جهت جلوگیری از مال اکلوژن، تا پایان دوره خود، در دهان باقی بمانند. اما متأسفانه 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 پالپکتومی تجویز می‌شود.^{۱۵}

تحقیقات زیادی ارتباط بین حضور انواع باکتری و بیماری‌های پالپ و پری اپیکال را تایید کردند.^{۱۶-۲۰} علاوه بر باکتری‌ها، نمونه‌هایی از قارچ‌ها از جمله کاندیدا، پاتوژن‌های فرصت طلب هستند که توانایی کلونیزه شدن و عفونت در کانال‌های ریشه را دارا هستند.^{۲۱، ۲۲} با استفاده از (PCR) (Polymerase Chain Reaction).

کاندیدا آلبیکانس در ۲۱ درصد از کانال‌های ریشه عفونی ردیابی شد.^۸

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 کانال ریشه، به ممانعت از آلودگی مجدد سیستم کانال ریشه پس از درمان نیز بستگی دارد و از آنجایی که میکروارگانیسم‌ها ممکن است حتی پس از آماده‌سازی بیومکانیکی کانال‌ها

است و مطالعاتی برای دستیابی به ماده‌ای مناسبتر و با

ویژگی های ضد میکروبی بیشتر انجام شده است.^۱

مواد با بیس کلسیم هیدروکساید جهت ایجاد خاصیت

ضدمیکروبی به دو یون هیدروکسیل و کلسیم تجزیه

امی شوند و محیط قلیایی در اطراف خود ایجاد می کنند.

هر چه این مواد حلالیت بیشتری در آب داشته باشند

راحتتر تجزیه می شوند.^{۱۰} Sealapex که بیس کلسیم

هیدروکساید دارد، در آب نامحلول است و اثر ضد

میکروبی متفاوتی برای آن گزارش شده است.^{۱۶-۱۸}

Metapex یک خمیر از پیش آماده با بیس کلسیم

هیدروکساید است که جدیداً وارد بازار گردیده و احتمال

می رود 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 ضدمیکروبی سیلرها انجام شده است بر روی

سیلرهای دندان‌های دائمی می باشد، بنابراین بر آن شدیم

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 میکروارگانسیم های موجود در کانال دندان پس

از آماده‌سازی دندان را از بین ببرد و احتمال موفقیت

درمان را افزایش دهد.

روش بررسی

در این مطالعه آزمایشگاهی، سوش استاندارد قارچ

کاندیدا آلبیکانس شماره ۵۰۷۵:PTCC تهیه شد.

محتویات ویال در محیط مایع (Germany).

Muller hinton agar (Merck, Darmstadt ریخته

شد و ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه

گردید. سپس ۴۸ ساعت برای ایجاد کلونی بر روی

محیط جامد (Merck) Tryptic Soy Agar کشت داده

شد. از کلونیا سوسپانسیون با غلظت تقریبی ۰/۵ واحد

مک فارلند (1/5×10⁸ cells/mL) 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 ۵۰-۴۵ 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 برش

پیپت پاستور (Isolab, Darmstadt, Germany)، در

آگار ایجاد گردید. در هر کدام از حفرات هر پلیت

بترتیب (Zinc oxide eugenol (ZOE) (Sultan,)

Metapex (Metabiomed, (Englewood, NJ, USA

کمترین قطر هاله عدم رشد مربوط به Sealapex (۳۰/۵۴ میلی متر) بود.

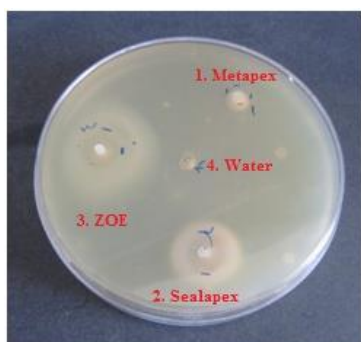
با استفاده از آزمون ناپارامتری Kolmogorov-Smirnov مشخص گردید داده‌ها دارای توزیع نرمال می‌باشند (جدول ۱).

همچنین نتایج حاصل از آزمون Levene-Statistic نشان داد که واریانس قطر هاله عدم رشد در سیلرهای مورد بررسی اختلاف معنی داری با یکدیگر دارند (جدول ۲).

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

همچنین با استفاده از آزمون Mann-Whitney U test 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



Sealapex و Choongchong Buk-do, Korea) 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, 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. نمونه ای از هاله های 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 Kruskal-wallis و Mann-Whitney U test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته ها

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

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

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

جدول ۲: ارزیابی تساوی واریانس های 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 Kruskal-Wallis

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

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	۳۰ ۳۰	۴۹/۶۵ (۴۸/۷۳ - ۵۰/۹۳) ۳۱/۸۰ (۳۰/۱۸ - ۳۲/۳۰)	-۶/۶۵۵	۰ < / ۰۰۱	اختلاف میانه‌ها معنی دار است.
ZOE Sealapex	۳۰ 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 ۳۰	۳۱/۸۰ (۳۰/۱۸ - ۳۲/۳۰) ۳۰/۷۵ (۲۹/۸۰ - ۳۱/۲۳)	-۳/۰۰۴	۰ < / ۰۰۲	اختلاف میانه‌ها معنی دار است.

بحث

مواد مختلفی جهت پرکردن کانال ریشه در دندان های شیری وجود دارد که اکثریت مواد خاصیت ضد میکروبی ثابت شده ای دارند. اغلب مواد پرکننده کانال ریشه حاوی ترکیبات اوژنول یا کلسیم هیدروکساید هستند. ZOE حاوی ترکیبات اوژنول و Sealapex و Metapex 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 و بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به ZOE می باشد. نتایج مطالعه Kaplan^{۲۴} نیز مانند نتایج مطالعه حاضر بود و نشان داد ZOE بیشترین اثر ضد قارچ را بین انواع سیلرهای کانال ریشه دارا است.

حذف میکروارگانیسم ها از کانال ریشه و پیشگیری از عفونت مجدد کانال ریشه درمان شده هدف اصلی درمان اندودانتیک میباشد.^{۲۰} پاکسازی کامل کانال به روش مکانیکی در دندان های شیری به علت شکل پیچیده کانال، ممکن نمی باشد. همچنین باقی ماندن باکتری ها در کانال ریشه موجب شکست درمان می شود. به همین سبب جهت افزایش موفقیت درمان، از مواد با خاصیت ضد میکروبی جهت پرکردن کانال ها استفاده می شود.^{۲۱،۲۲} در این مطالعه قارچ کاندیدا آلبیکانس مورد بررسی قرار گرفت. انتخاب این قارچ به دلیل نقش اثبات شده آن در عفونت های اولیه کانال ریشه و دندان های با درمان قبلی شکست خورده بوده است.^{۲۰،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.^{۲۰} در مطالعه Reddy و همکاران نیز اثر ضد میکروبی ZOE از ترکیبات حاوی کلسیم هیدروکساید بیشتر بود.^۱ Harini Priya و همکاران نیز به این نتیجه رسیدند که ZOE خاصیت ضد میکروبی بیشتری نسبت به ترکیبات حاوی کلسیم هیدروکساید از جمله Metapex دارد که با نتایج مطالعه حاضر همسو می‌باشد.^{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 Sealapex خاصیت ضد 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 برای 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، استانداردهای غلظت گونه میکروبی مورد بررسی،

ویژگی ضد میکروبی مواد پرکننده کانال 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.^{۱۳} از آنجایی که خمیر Metapex و سمان Sealapex هر دو بیس کلسیم هیدروکساید دارند، شاید بتوان بالاتر بودن خاصیت ضد میکروبی Metapex را به ترکیبات دیدی موجود در ساختار آن نسبت داد. ترکیبات دیدی مشابه کلسیم هیدروکساید، خاصیت ضد میکروبی دارند. همچنین بالاتر بودن ویژگی ضد میکروبی Metapex ممکن است به دلیل حالیت بالاتر این ماده در آب باشد که با سهولت بیشتری در محیط آگار حرکت نموده و تأثیر ضد میکروبی خود را ایفا می‌نماید.^{۱۷} بدلیل باقیماندن رطوبت به دنبال آماده سازی و شستشوی کانال‌ها در داخل کانال ریشه، توبول‌های عاجی و کانال‌های فرعی شاید بتوان گفت که حلال بودن ماده پرکننده کانال در آب در شرایط طبیعی دندان‌ها هم به لحاظ ایفای اثر ضد میکروبی آن مفید باشد. اگرچه در شرایط محیط دهان شاید این حالیت به پاک شدن زودتر از موعد این خمیر از کانال 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 به دست آوردن نتایج دقیق، نیاز به استاندارد کردن و کنترل فاکتورهای بسیاری است.^{۱۱}

انتخاب کنترل مناسب، انکوباسیون، نحوه اندازه گیری مهار رشد، همگی بر نتایج گزارش شده تأثیر می گذارند. از مزیت های این روش آسان بودن اجرا و امکان مقایسه مستقیم خاصیت ضد میکروبی مواد بر روی یک پلیت می باشد.^{۱۱}

نتیجه گیری

براساس یافته های این مطالعه، خاصیت ضد قارچ ZOE بیش تر از Sealapex و Metapex است.

اگرچه روش Agar diffusion به دلیل سهولت کاربرد شایع ترین روش مورد استفاده می باشد، جهت تعمیم نتایج آن به شرایط کلینیکی باید محدودیت های این تکنیک را مدنظر قرار داد. به طور مثال در این تکنیک قابلیت زیست و حیات میکروارگانیسم ها 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 Tighe 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, Siqueira JF, Dedgley CM, Kishen A. Microbiology of endodontic disease. In: Ingle JI, Bakland LK, Baumgartner JC. Ingle's endodontics 6. 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, Venkataragahavan 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, Eftekhari 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, Alac am 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.