

بررسی اثرات ضد میکروبی کلرگزیدین و دو غلظت اسانس آویشن در پالپ تراپی دندانهای شیری

دکتر احمد جعفری^۱، دکتر علیرضا حیدری^۲، دکتر مسعود کیانی^۲، دکتر یحیی برادران نخجوانی^۲، روناک بختیاری^۳

۱: گروه آموزشی دندانپزشکی کودکان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز

۲: گروه آموزشی دندانپزشکی کودکان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- بخش میکروبیولوژی، گروه آموزشی پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

زمینه و هدف: پوسیدگی دندانهای شیری بصورت تهاجمی میتواند پالپ را درگیر سازد. آنچه در درمان پالپکتومی دندانها اتفاق می افتد، همانا از بین بردن هرچه کامل میکروارگانیسمها و فرآورده‌هایشان میباشد. هدف از این مطالعه مقایسه اثرات ضد میکروبی محلول اسانس آویشن در مقابل کلرگزیدین می باشد.

روش اجرا: در یک مطالعه آزمایشگاهی ۴۰ دندان که تحلیل ماکروسکوپی بیش از یک-سوم طول ریشه نداشتند، پالپکتومی و با اتروکوکوس فکالیس عفونی شدند. دندانها در چهار گروه با محلولهای نرمال سالین، کلرگزیدین ۲٪، اسانس آویشن ۲٪ و ۵٪/۰/۵ مورد شستشوی کانال قرار گرفتند. در پایان کشت میکروبی انجام و ویژگی ضد عفونی کنندگی آنها بررسی شد. ۴ دندان هم برای تایید انجام آزمایشها اختصاص داده شد. از آزمونهای آماری Mann-Whitney test، Kruskal-Wallis test و Kolmogorov-Smirnov test و همچنین برای مقایسه دو به دوی اثر ضد میکروبی محلولها از Mann-Whitney استفاده شد. سطح معناداری، کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که آویشن ۲٪ بیشترین میزان ضد عفونی کنندگی را در میان چهار محلول داشته است. آویشن ۵٪/۰/۵ نسبت به کلرگزیدین ۲٪/۰/۲ خاصیت ضد عفونی کنندگی بیشتری داشت، اما این اختلاف معنادار نبود. اما آویشن ۲٪ اختلاف معناداری را نسبت به کلرگزیدین ۲٪/۰/۲ نشان داد. **نتیجه گیری:** حذف باکتری‌ها به عنوان عامل مهم ایجاد بیماری‌های پالپ از اهداف پالپ تراپی می باشند. بکارگیری شستشودهنده‌های شیمیایی در حذف آنها اهمیت دارد. روی آوردن به محصولات مشابه طبیعیرو به گسترش است. محلول اسانس آویشن ۲٪ با اثربخشی بیشتر و معنادار نسبت به کلرگزیدین می تواند به عنوان یک شستشودهنده و ضد عفونی کننده در دندانپزشکی مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: شستشو دهنده کانال، دندان شیری، پالپ تراپی، آویشن، کلرگزیدین

وصول مقاله: ۱۳۹۲/۰۴/۲۵ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۰۹/۰۶

نویسنده مسئول: دکتر مسعود کیانی: masoud.kiany@gmail.com

مقدمه:

پوسیدگی دندانهای شیری سریعا میتواند پالپ را درگیر وضعیت نامناسب یا مناسب شاخص پوسیدگی دندانهای سازد. این درگیری اعم از اینکه فرد در منطقه دارای شیرینی (DMFT) باشد، اتفاق می افتد. در مطالعه ای در

و نهایتاً عفونت در فضای پری اپیکال خواهد بود و موفقیت کار را کاهش می دهد (۸، ۹).

چنانچه پیش از پرکردن کانال، کشت میکروبی کانال منفی باشد، میزان موفقیت بالاتری در مقابل کشت مثبت گزارش نموده اند (۱۰). دندانهای شیری مورفولوژی و بیولوژی سیستم کانال ریشه خاص خود را دارد و این موضوع خود را بیشتر نشان می دهد (۱۱، ۱۲). تنوعات آناتومیک و نقاط غیرقابل دسترسی شانس موفقیت درمان را کاهش می دهند، چرا که پس از پاکسازی کماکان حاوی مواد نکروتیک و باکتری ها هستند. مواد نکروتیک به عنوان سوبسترایی برای رشد و متابولسیم باکتری ها عمل کرده و آنها نیز به نوبه خود می توانند کلونیزه شده و باعث شکست درمان در طولانی مدت شوند (۶).

با توجه به موارد مذکور دبریدمان کانال ریشه تنها از طریق اینسترومنتیشن مکانیکی میسر نخواهد شد (۱۳، ۱۴) و اهمیت شستشودهنده های کانال که بتوانند با دسترسی به محدودیت های آناتومیک مذکور در دندان های شیری باعث ضد عفونی هرچه بیشتر و کاهش (و در صورت امکان حذف) میکروارگانیسم ها طی درمان ریشه این دندان ها شود بیش از پیش باز می گردد. به عبارت دیگر کاهش باکتری از درون کانال ریشه اساسا و به طور عمده به دلیل اثرات flushing و ضد میکروبی مواد شستشو دهنده و به طور جزئی به دلیل آماده سازی مکانیکی خواهد

فیلیپین در جایکه DMFT کودکان ۳ تا ۵ ساله مساوی ۸/۸۶ بود، شاخص PUFA که درگیری و شدت آن را در پالپ دندان بصورت کاملا واضح و کلینیکی بررسی میکند، سه دندان را به خود اختصاص داده بود (۱). در مطالعه ای در آلمان که میزان DMFT کودکان پنج ساله، کمتر از یک بود نیز بیش یک سوم دندانهایی که پوسیده باقیمانده بودند، دارای درجاتی از درگیری واضح پالپ بودند (۲). نوع، مقدار و مدت زمان حضور میکروارگانیسم ها در کانال ریشه ارتباط مستقیم با شدت التهاب پالپ و پری اپیکال دارد. بطوریکه مشخص شده است التهاب در عفونت های مختلط از شدت بیشتری برخوردار است. سمپتوم های حاد نیز معمولا در ارتباط با حضور بی هوازی ها می باشند (۳). میکروارگانیسم های پاتوژن در پالپ، همان میکروبیهای هستند که در شرایط عادی در دهان بوده، چون به پالپ می رسند به دلیل تغییرات محیطی بیماریزایی آنان نمود پیدا می کند (۴، ۵). لذا بیشترین شکستها در اثر وجود و باقی ماندن میکرو ارگانیسمها بوده و انجام موفقیت آمیز آن نیز، موفقیت درمان را در پی دارد (۶، ۷).

با اینکه ابزارها و روش های جدید آماده سازی کانال معرفی شده اند، اما مطالعات نمایانگر این است که علیرغم پاکسازی و شکل دهی مکانیکی کانال دندان، باز هم برخی نواحی از فضای درون سیستم کانال ریشه دست نخورده باقی مانده و به عنوان منشا آنتی ژنیک قادر به ایجاد التهاب

بود (۱۵). به دلیل اینکه مواد شستشودهنده می‌توانند در تماس با انساج پری‌رادیولار قرار گیرند لذا علاوه بر اثر ضد میکروبی قوی باید سازگاری نسجی نیز داشته باشند. به عبارتی در انتخاب یک ماده شستشودهنده باید اثرات مفید درمانی آن نسبت به اثرات سایتوتوکسیک آن سنجیده شود (۱۶). کلرگزیدین (CHX) نیز به دلایلی چون سمیت کم و طعم و بوی قابل تحمل‌تر انتخاب شده است. از مزایای دیگر آن می‌توان به طیف ضد میکروبی وسیع و دوام اثر ضد میکروبی آن اشاره کرد (۱۴). آویشن (*Zataria Multiflora*) از جمله گیاهان دارویی است که اسانس آن در تلاش برای یافتن محلولی با خواص ضد میکروبی همانند یا مطلوب‌تر و اثرات جانبی کمتر نسبت به موادی چون هیپوکلریت سدیم مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۷).

روش بررسی

یک مطالعه تجربی طراحی شد و در آن از تعداد ۴۴ دندان مولر شیری کشیده شده که تحلیل ماکروسکوپی بیش از یک-سوم طول ریشه نداشتند، انتخاب شدند. از این تعداد، ۴۰ دندان به صورت تصادفی به گروه‌های مورد آزمایش اختصاص یافت، تا در چهار گروه (۱) محلول نرمال سالین (فرآورده‌های تزریقی و دارویی ایران)، (۲) محلول کلرگزیدین ۰/۲٪ (شهر دارو) (۳) محلول اسانس آویشن

۲٪ (داروسازی ابن ماسویه) و (۴) محلول اسانس آویشن ۰/۵٪ (داروسازی ابن ماسویه) قرار داده شوند. دو دندان به عنوان شاهد مثبت و دو دندان نیز به عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شدند. بافت پرئودنتال دندانها با برس پاک شده و به منظور ضد عفونی شدن اولیه به مدت بیسین و چهار ساعت در هیپوکلریت سدیم نیم درصد قرار گرفتند (۱۸). سپس دندانها تا زمان آزمایش در نرمال سالین استریل در حرارت اتاق نگهداشته شدند (۱۹). جهت آماده سازی دندانها، ابتدا تاج آنها با یک فرز فیشور توربین بلند از ناحیه سرویکال به طور عمود بر محور طولی دندان قطع شد. پس از آن بقایای پالپی تمامی کانالها با یک باربد بروچ پاکسازی شدند. جهت تعیین طول کارکرد از یک فایل ۱۵ که پس از ورود به کانالها نوک آن در اپکس ریشه دیده می‌شد، استفاده و یک میلی متر از آن کسر گردید. برای کانالها تا شماره ۳۵ فایلینگ انجام شد. در میان پاکسازی با هر شماره از ۲ میلیلیتر نرمال سالین برای شستشو استفاده شد و در پایان همکانال با ۵ میلی لیتر نرمال سالین شستشو داده شد (۲۰). جهت جلوگیری از ریزش باکتریایی، اطراف و انتهای ریشه‌های نمونه‌ها با چسب سیانوآکریلات پوشانده شدند (۲۱). دندانها برای کارکرد راحت و شناسایی آسان، درون بلوک اکریلی مانته شدند. دندانها به صورت تصادفی چهار دسته شده، درون فویل

شود. سپس برای گرفتن نمونه میکروبی، کن کاغذی شماره ۳۰ به داخل یک کانال برده و پس از ۱ دقیقه کن بر روی پلیت حاوی blood Agar کشیده می‌شد و پلیت‌ها بسته می‌شد (۲۲).

تمامی نمونه‌ها در انکوباتور قرار گرفته، پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در حرارت 37° ، تعداد کلونی‌های رشد کرده توسط دستگاه colony counter (Funke-gerber, Germany) شمارش گردید.

از آزمون‌های آماری اسمیرنوف-کلموگروف، کروسکال والیس و همچنین برای مقایسه دوبهدوی اثر ضد میکروبی محلول‌ها از آزمون مان-ویتنی با خطای نوع اول تعدیل شده استفاده شد. حد معنی داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها نتایج نمونه‌های مثبت و منفی بیانگر صحت روند آزمایش بود. نمونه‌های شاهد مثبت بیانگر رشد عدم رشد بودند. نتایج آزمون اسمیرنوف - کلموگروف درباره درون هریک از متغیرها (نوع محلول‌های شستشودهنده) نشان داد که به غیر از نرمال سالین، به صورت نرمال است (جدول ۱) ($P\text{-value} > 0.05$).

آلومینیومی قرار داده شده و به همراه چهار نمونه دیگر، به وسیله اتوکلاو در حرارت 121° و فشار 15 psi به مدت ۲۰ دقیقه استریل شدند. باز این مرحله به بعد، جابجایی نمونه‌ها تحت شرایط آسپتیک و با استفاده از وسایل و ابزار استریل صورت گرفت (۲۰).

به منظور عفونی سازی نمونه‌ها از گونه مقاوم و شناخته شده انتروکوکوس فکالیس (ATTC 29212) با غلظت ۱ مک فارلند استفاده، بوسیله سرنگ انسولین استریل به درون کانال‌های دندانی برده شد.

دو عدد از دندانها به عنوان کنترل منفی، بدون تزریق باکتری کنار گذاشته شد تا پس از گرفتن نمونه کشت، در صورت منفی بودن صحت استریلیزاسیون را تأیید نماید. سپس نمونه‌ها در انکوباتور در دمای 37° سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شدند (۱۴). دو نمونه دیگر نیز بدون بکارگیری محلول شستشودهنده به عنوان کنترل مثبت، برای تایید صحت آلوده‌سازی در نظر گرفته شد.

کانال‌های نمونه‌های مورد آزمایش در هر گروه با ۲ میلی لیتر از محلول مورد نظر با سرنگ با سرسوزن ۲۸ گیج شستشو داده شدند. پس از ۱۵ دقیقه کانال‌ها با ۲ میلی‌لیتر نرمال سالین شستشو داده شده تا محلول شوینده خارج

جدول ۱ - نتایج آزمون اسمیرنوف - کلموگروف درباره متغیر مورد نظر در تحقیق

متغیر مورد نظر (لگاریتم تعداد کلونی‌ها در محیط کشت)					
نام محلول	mean \pm SD	فاصله اطمینان میانگین متغیر		Z آماره	p-value
		حد پائین	حد بالا		
Salin	8.1233 \pm 0.08506	8.0624	8.2933	1.368	0.047
CHX	3.159 \pm 0.53421	2.7768	3.5411	0.709	0.696
Thyme 0.5%	2.8501 \pm 0.60230	2.4192	3.2809	0.592	0.875
Thyme 2%	1.8136 \pm 0.31859	1.5857	2.0415	0.698	0.715

جدول ۲: گروه‌های دوتایی محلول‌های شستشودهنده‌ای که از نظر ویژگی ضد میکروبی با یکدیگر تفاوت معنی‌داری دارند.

(P-value<0.05)

دو گروه مورد نظر	آمار آزمون	خطای استاندارد	آماره آزمون استاندارد شده	Adj P-value
Thyme 2% -Salin	56.100	10.359	5.42	0.0001
Thyme 2% -CHX	24.450	10.359	2.360	0.018
Thyme 0.5%-Salin	37.400	10.359	3.61	0.009
Salin-CHX	31.650	10.359	3.055	0.002

چهار محلول داشته است. بعد از آن، آویشن ۰/۵٪ و سپس کلرهگزیدین ۰/۲٪ قرار داشته و همانگونه که انتظار می‌رفت، نرمال سالین کمترین تاثیر را داشت. در مقایسه دو به دو میان محلول‌ها دیده شد که همه محلولها به طور معناداری نسبت به نرمال سالین اثربخش ترند. آویشن ۰/۵٪ نسبت به کلرهگزیدین ۰/۲٪ خاصیت ضدعفونی‌کنندگی بیشتری داشت، اما این اختلاف معنادار نبود. اما

نتایج آزمون من-ویتنی با محاسبه P-value تعدیل شده برای مقایسه دوجه‌دوی گروه‌های مورد مطالعه نشان داد که آویشن نیم درصد تفاوت معناداری نسبت به کلرهگزیدین ندارد. گرچه همانگونه که از جدول ۱ بر می‌آید، این محلول دارای ویژگی آنتی میکروبیال بیشتری نسبت به کلرهگزیدین می‌باشد. همچنین نتایج نشان داد که آویشن ۰/۲٪ بیشترین میزان ضدعفونی‌کنندگی را در میان

آویشن ۲٪ که بیشترین تاثیر بر روی انتروکوکوس فکالیس داشت، اختلاف معناداری را نسبت به کلرهگزیدین ۰/۲٪ نشان داد. جدول ۲ جزئیات بیشتر را نشان می دهد.

بحث

حذف باکتری‌ها به عنوان عامل مهم ایجاد بیماری‌های پالپ از اهداف پالپ تراپی می باشند (۶). فایلینگ کانالها می تواند حجم باکتریایی را کاهش بدهد. اما وجود اشکال مختلف و پیچیده آناتومیکی کانال ریشه همچون تیغه‌ها، کانال‌های جانبی باز و بسته، و اتصالات ناکامل کانال‌های ریشه، که بویژه در دندانهای شیری بخصوص مولرهای شیری بارزتر است موجب می‌شود تا انجام فایلینگ، به تنهایی نتواند در پکسازی کانال از باکتری‌ها کاملا موثر عمل کند (۱۲، ۱۳). لذا بکارگیری شستشودهنده‌های شیمیایی به عنوان عامل دوم در حذف آنها اهمیت دارد (۲۳). بدیهی است یک شستشودهنده ایده‌ال باید خاصیت ضد میکروبی و انحلال بافتی بالایی داشته و همچنین تاثیر ضد میکروبی خود را تا مدتی پس از مصرف حفظ کند (۱۰، ۲۴).

کلرهگزیدین (CHX) سمیت کمتر و طعم و بوی قابل تحمل‌تری داشته، طیف ضد میکروبی وسیع و دوام اثر ضد میکروبی خوبی دارد (۱۴). غلظت ۲٪ آن نسبت به غلظت ۰/۲٪ دارای اثر ضد میکروبی بیشتری است (۲۵) اما این ماده در غلظت ۲٪ برای پوست محرک و سوزش‌آور است (۲۶)، از سوی دیگر کلرهگزیدین ۰/۲٪ محلولی است که به

طور معمول در دسترس قرار دارد. در کنار مواد شیمیایی، استفاده از داروهای گیاهی با توجه به طبیعی بودنشان و اثرات جانبی کمتر امروزه توجه بسیاری از محققین علوم پزشکی را به خود جلب کرده است (۲۷). روی آوردن به محصولات مشابه طبیعی موجب شد تا ما به بررسی و مقایسه ویژگی‌های آنتی باکتریال آویشن با کلرهگزیدین بپردازیم. گیاه آویشن دارای خواص دارویی، خوراکی و درمانی گوناگون همچون خاصیت ضد میکروبی است (۱۷) ویژگی‌های آنتی باکتریال آویشن ثبت شده و استفاده آن در آدامس‌ها به عنوان ضد پلاک و درمانی برای التهاب لثه از دو دهه پیش آغاز شده است (۲۸). به همین دلیل، از آنجایی که بخاطر بو و طعم مطلوب‌تر و ایمن‌تر بودن نسبت به مواد شیمیایی می‌تواند پذیرش آن برای کودکان و والدین بهتر باشد، در این بررسی از آویشن در غلظت‌های ۰/۵٪ و ۲٪ استفاده گردید.

در شبیه‌سازی عفونت‌های اندودنتیک برای بررسی اثر ضد میکروبی محلول‌های شستشودهنده، گرچه این عفونت‌ها پلی‌میکروبیال هستند (۲۹) اما مطالعه حاضر به صورت تک میکروبی انجام شد، تا با حذف دخالت سایر میروارگان‌ها دقت مطالعه افزایش یابد (۶). تک گونه میکروبی به کار رفته برای آلوده‌سازی نمونه‌ها انتروکوکوس فکالیس بود. این باکتری یک گرم مثبت بی‌هوازی اختیاری بوده و در مطالعات حضور آن را در دندان‌های درمان ریشه شده شکست خورده گزارش

شستشودهنده گیاهی آویشن ۰/۵٪ اختلاف معناداری نشان نمی‌دهد ($p>0.05$).

در ارتباط با آویشن می‌توان به مطالعه روانشاد و همکاران (۲۲) که غلظت‌های ۱٪ و ۲٪ آویشن را با هیپوکلریت ۲/۵٪ و نرمال سالین مقایسه کرده‌اند اشاره کرد. در این مطالعه هر دو غلظت بررسی شده آویشن و هیپوکلریت ۲/۵٪ نسبت به هم اختلاف معناداری نداشته و هر سه به میزان معناداری موثرتر از نرمال سالین بوده‌اند. این نتایج با مطالعه ما همخوانی دارد.

در مجموع اینگونه می‌توان نتیجه گرفت که محلول‌های شستشودهنده گیاهی بررسی شده در این مطالعه از لحاظ خاصیت ضد میکروبی تأثیر مطلوبی داشته و چنانچه از غلظت ۲٪ آویشن استفاده کنیم، اثرات آنتی‌باکتریال آن در مواجهه با انتروکوکوس فکالیس به طور معناداری نسبت به کلرهگزیدین ۲٪/۰/۲ بیشتر می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی شماره 92-01-69-21600 دانشگاه علوم پزشکی تهران بوده و از این روی، از معاونت پژوهشی آن دانشگاه تقدیر و سپاسگزاری می‌گردد.

کرده اند (۳۰). این باکتری قادر به تحمل شرایط نامطلوب محیطی بوده و به تنهایی بدون نیاز به اثر کمکی دیگر باکتری‌ها موجب عفونت کانال ریشه می‌گردد. دلیل انتخاب این گونه در مطالعه حاضر مقاومت بسیار زیاد آن به طیف وسیعی از مواد ضد میکروبی بود (۳۱).

رتبه‌بندی نزولی شستشودهنده‌ها در گروه‌های مورد مطالعه از نظر خاصیت ضد میکروبی با توجه به لگاریتم شمار کلونی در محیط کشت به قرار زیر است: آویشن ۲٪، آویشن ۰/۵٪، کلرهگزیدین، نرمال سالین که می‌بینیم آویشن ۲٪ قدرت ضد میکروبی خوبی نشان داده است. قدرت ضد میکروبی این محلول با کلرهگزیدین و نرمال سالین اختلاف معنادار داشته است. آویشن ۰/۵٪ در رتبه بعدی قرار گرفته است. نسبت به سالین قوی‌تر است ($p<0.05$). مطالعه خیاط در شیراز نیز بیانگر تأثیر خیلی خوب آویشن ۲٪ و حتی غلظت کمتر از آن، بر روی برخی استرپتوکوک‌ها و Black Pigmented Bacteroid بود (۲۷).

کلرهگزیدین به عنوان یک ماده ضد میکروبی شناخته شده، به طور معناداری از آویشن ۲٪ ضعیف‌تر بوده ولی نسبت به سالین به طور معناداری قوی‌تر است ($p<0.05$)، ولی با

References

- 1- Atienza, Angelina A., Dianne Angeli A. Austria, and Hannah Mae M. Navarro. Prevalence of Common Oral Diseases Among Children Aged 3-5 years in San Juan, Batangas Province, Philippines. *Philippine Journal of Health Research and Development* 19.2 (2015): 11.
- 2- Grund K, Goddon I, Schüler I M, Lehmann T, Heinrich-Weltzien R. Clinical consequences of untreated dental caries in German 5-and 8-year-olds. *BMC oral health* 15.1 (2015): 140.
- 3- Ansari G, Tabari M, Kazemi B. Assessment of pathogens microorganisms of periapical abscess in primary teeth. *Beheshti Univ. Dent. J.* 2005; 22(4):567-573 (Abstract in English)
- 4- Zehnder, Matthias, and Georgios N. Belibasakis. On the dynamics of root canal infections—what we understand and what we don't. *Virulence* 6.3 (2015): 216-222.
- 5- Punathil, Sameer, et al. Microbiological analysis of root canal flora of failed pulpectomy in primary teeth. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci* 3.9 (2014): 241-246.
- 6- Javidi M, Behravan J, Goodarzi M, Bagherpoor Z. An In Vitro Evaluation of Antimicrobial Activity of NaClO and Chlorhexidine as IntracanalIrrigants on *Streptococcus Faecalis*. *Journal of Mashhad Dental School.* Spring 2007;31(3):177-182 (Abstract in English)
- 7- Nair PN, Sjögren U, Krey G, Kahnberg KE, Sundqvist G. Intra-radicular bacteria and fungi in root filled asymptomatic human teeth with therapy resistant periapical lesions: a long term light and electron microscope follow-up study. *J Endod.* 1990 Dec;16(12):580-588.
- 8- Ahangari Z, Samiee M, Yalmeh MA, Kosedghi H. Comparison of antimicrobial effect of washing solutions of root canals on extracted teeth. *Journal of Hormozgan University of Medical Sciences.* 2009; 13(2):95-100 (Abstract in English)
- 9) Behnan MJ, West LA, leiver FR, Buxton BT. Antimicrobial activity of several calcium hydroxide preparation in root canal dentin. *J Endod* 2001; 27(12):165-7.
- 10)Sjogren U, Hagglund B, Sundqvist G, Wing K. Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. *J Endod* 1990;16(10):498-504.

- 11- Ahmed, H. M. A. Anatomical challenges, electronic working length determination and current developments in root canal preparation of primary molar teeth. *International endodontic journal* 46.11 (2013): 1011-1022.
- 12) McDonald RE, Avery DR. *Dentistry for child and adolescent*. 9th ed. Mosby, 2011.
- 13- Thomas AM, Chandra S, Chandra S, Pandey RK. Elimination of infection in pulpectomized deciduous teeth: A short-term study using iodoform paste. *J. Endod* 1994;20:233-5.
- 14- Hasheminiya S, Havaee S, Rajabi M. Antibacterial and substantivity evaluation of 2.5% sodium hypochlorite, 0.2% chlorhexidine and distilled water as root canal irrigants (In - vitro). *The Journal of Islamic Dental Association of IRAN (JIDA)*. 2005;17(5):38-45 (Abstract in English)
- 15) Haapasalo M, Endul U, Zandi H, Coil LM. Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. *Endod Topics* 2005;10:63.
- 16) Zhang W, Torabinejad M, Li Y. Evaluation of cytotoxicity of MTAD using the MTT tetrazolium. *J Endod* 2003; 29:654-657.
- 17- Shakeri MS, Shahidi F, Beiraghi-ToosiSh, Bahrami A. Antimicrobial activity of Zataria multiflora Boiss. essential oil incorporated with whey protein based films on pathogenic and probiotic bacteria. *International Journal of Food Science and Technology* 2011, 46, 549–554
- 18)Almyroudi A, Mackenzie D, Mcitugh S, Saunders WP. The Effectiveness of various Disinfectants used as endodontic intracanal medications: An in vitro study. *J Endod* 2002;28:163-167.
- 19)Lynne RE, Liewehr FR, West LA, Patton WR, Buxton TB, Mcpherson JC. In vitro antimicrobial activity of various medication preparations on *E. faecalis* in root canal dentin. *J Endod* 2003;29:187-190.
- 20) Torabinejad M, Khademi AA, Babagoli J. A new solution for the removal of the smear layer. *J Endod* 2003;29:170-175.
- 21) Oncag O, Hosgor M, Hilmioglu S, Zekioglu O, Eronet C. Comparison of antimicrobial and toxic effects of various root canal irrigants. *IntEndod J* 2003;36(6):423-432.

- 22- Ravanshad S, Basiri E, Mohammadzadeh M. In vitro Evaluation of the Antimicrobial Effectiveness of Zataria multiflora as an Irrigant in Infected Root Canals with Enterococcus faecalis. Journal of Dentistry, Shiraz University of Medical Sciences. 2009;10(2):92-98 (Abstract in English)
- 23) Leonardo MR, Silveria LAB, Tanomarufilho M, Utrilla LS. Calcium hydroxide root canal dressing, histopathological evaluation of periapical repair at different time periods. Braz Dent J 2002; 13(1):17-22.
- 24) Türkün M, Gökay N, Özdemir N. Comparative investigation of the toxic and necrotic tissue dissolving effects of different endodontic irrigants. Istanbul Univ Dishekim Fak Derg 1998;32:87-94.
- 25) Marais JT. Cleaning efficacy of a new root canal irrigation solution: a preliminary evaluation. Int Endod J 2000; 33: 320-325.
- 26) Zehnder M. Root canal irrigants. JOE 2006;32(5):389-398.
- 27- A. Khayat, S. Sahebi, F. Moazami. Antimicrobial Effect of NaOCl, Hydrated Ca(OH₂), Thyme oil and Normal Saline as Irrigating Solutions on Black Pigmented and Strep Viridance. Journal of Dentistry, Shiraz University of Medical Sciences. 2003;4(3):19-28 (Abstract in English)
- 28) Hill, Ira D. "Oral care composition coated gum." U.S. Patent No. 5,380,530. 10 Jan. 1995.
- 29) Da silva LAB, Nelson-Filho P. Bacterial profile in primary teeth with necrotic pulpand periapical lesions. Braz Dent J 2006;17(2):144-
- 30) Hancock HH, Sigurdsson A, Trope M, Moiseiwitsch J. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2001;91:579-586.
- 31) Heath CH, Blackmore TK, Gordon DL. Emerging resistance in Enterococcus spp. Med J Aust 1996;164: 116-120.