

## بررسی اثر ضد میکروبی چند روش آماده سازی هیدروکسید کلسیم بر میکروارگانیزم‌های کانال ریشه (مطالعه آزمایشگاهی)

دکتر مهدی تبریزی زاده<sup>۱</sup>، دکتر سمیه یاری<sup>۲</sup>، دکتر عاطفه ابراهیمی<sup>۳\*</sup>

۱- دانشیار گروه اندودنتیکس دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

۲- دندانپزشک

۳- دستیار تخصصی گروه اندودنتیکس، دانشکده دندانپزشکی شاهد، تهران، ایران

### خلاصه:

**سابقه و هدف:** مطالعات، میزان موفقیت بالاتر معالجات ریشه دندان را در صورت عدم وجود میکروب هنگام پر کردن کانال نشان داده اند. تحقیقات *In vitro* هیدروکسید کلسیم را یکی از موثرترین داروهای ضد میکروبی مورد استفاده در داخل کانال معرفی می کنند. هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر ضد میکروبی چند روش آماده سازی هیدروکسید کلسیم با یک روش جدید است.

**مواد و روش ها:** جهت انجام این مطالعه تجربی، تعداد ۶۲ ریشه دندان مورد استفاده قرار گرفت. قطعاتی با طول ۵ میلی‌متر و قطر تقریبی ۵ میلی‌متر از ریشه ها تهیه شد. نمونه ها بسته به نوع داروی داخل کانال مورد استفاده، به ۵ گروه هیدروکسید کلسیم همراه با (سالین نرمال، لیدوکائین، کلر هگزیدین ۰.۲٪، کلر هگزیدین ۰.۲٪، یدید پتاسیم ۰.۲٪) تقسیم شدند. ترکیبات مختلف هیدروکسید کلسیم به صورت خمیری، در داخل کانال ها قرار گرفتند. نمونه ها در ظرف های حاوی میکروب انتروکوک فکالیس کشت داده شده در محیط آگار، قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت قطر هاله عدم رشد میکروبی در مورد هر نمونه اندازه گیری گردید. نتایج به دست آمده با آزمونهای آماری ANOVA و Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

**یافته ها:** کلیه خمیرهای هیدروکسید کلسیم مورد استفاده پس از ۲۴ ساعت، مقادیری اثر ضد میکروبی از خود نشان دادند ولی میزان اثر ضد میکروبی مخلوط هیدروکسید کلسیم با کلر هگزیدین ۰.۲٪ نسبت به تمام مواد دیگر به جز لیدوکائین ۰.۲٪ به نحو معنی داری بیشتر بود. ( $P < 0.05$ )

**نتیجه گیری:** به نظر می‌رسد که با افزودن کلر هگزیدین ۰.۲٪ به هیدروکسید کلسیم اثرات ضد میکروبی آن افزایش می یابد.

**کلید واژه ها:** ضد میکروبی، هیدروکسید کلسیم، عاج

وصول مقاله: ۹۳/۷/۱۳ اصلاح نهایی: ۹۳/۱۲/۱۰ پذیرش مقاله: ۹۴/۱/۲۴

### مقدمه:

است<sup>(۵)</sup>. از آنجایی که این میکروب دارای مقاومت ذاتی در مقابل بسیاری از مواد ضد میکروبی و توانایی ایجاد تغییر ژنتیکی و بروز مقاومت در مقابل آنها را دارد، مطالعات بسیاری در جهت ارزیابی تاثیر مواد ضد میکروبی مختلف بر روی این باکتری انجام شده است. (۶-۸)

هیدروکسید کلسیم از سال ۱۹۲۰ به عنوان یکی از مواد ضد میکروبی داخل کانال کاربرد یافته و هم اکنون از مرسوم ترین آنها می باشد. فعالیت ضد میکروبی هیدروکسید کلسیم به رهاسازی و انتشار یونهای هیدروکسید و ایجاد محیط قلیایی

عامل اصلی التهاب پالپ و پری اپیکال، باکتریها بوده و درمان ریشه موفق منوط به کاهش یا ریشه کنی آنها می باشد.<sup>(۱)</sup> آماده سازی بیومکانیکال و شکل دهی کانال باعث حذف کامل میکروب ها نمی‌شود. لذا استفاده از داروهای داخل کانال برای کاهش باکتریها و ضد عفونی نمودن کانال ریشه توصیه می‌شود. (۲-۴)

وجود باکتری انتروکوکوس فکالیس در دندانهای دارای ضایعه پری اپیکال و موارد شکست درمان ریشه به اثبات رسیده

# نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر عاطفه ابراهیمی، دستیار تخصصی اندودنتیکس، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شاهد - تلفن: ۴۴۴۸۱۴۷۴  
پست الکترونیک: atefeebrahimi@gmail.com

باشد و طبیعتاً در صورت وجود عاج اسکروزه، نفوذ پذیری عاج به شدت کاهش می یابد.<sup>(۱۸)</sup>

مسئله دیگری که در مطالعات انجام شده بر روی عاج وجود دارد این است که پس از تهیه براده های عاجی و کشت دادن آنها در صورت عدم مشاهده تغییر رنگ در محیط های کشت چنین استنتاج می شود که میکروب های موجود در عاج توسط هیدروکسید کلسیم نابود شده اند، در صورتی که امکان دارد به علت کم بودن نفوذ پذیری عاج مورد استفاده اصلاً از ابتدا میکروبی به داخل عاج نفوذ نکرده یا تعداد آنها بسیار کم باشد و این مسئله به اشتباه به اثر ضد میکروبی هیدروکسید کلسیم نسبت داده شود. از طرف دیگر، بر عکس، ممکن است موقع تراشیدن عاج توسط فرز برای تهیه براده های عاجی آلودگی از یک قسمت عاج به قسمت های دیگر منتقل شده و در نتیجه تحقیق تاثیرگذار باشد. نحوه نمونه گیری انتقال و تکنیک های تشخیص میکروب ها نیز از دیگر عواملی هستند که در ارزیابی نتایج این گونه مطالعات تأثیر گذار خواهند بود.<sup>(۱۶،۱۱)</sup>

هریک از روشهای مذکور دارای نقاط ضعف و مشکلاتی می باشند. در روش انتشار در آگار محدوده اثر ضد میکروبی به میزان فعالیت و قابلیت انتشار ماده در محیط آگار بستگی داشته و بنابراین تأثیر و توانایی کامل ماده را نشان نمی دهد.<sup>(۹)</sup> در بررسی بلوکهای عاجی فاکتورهای مختلفی از جمله امکان اختفای میکروب ها از دسترس مواد ضد عفونی کننده، تفاوت میزان نفوذ پذیری مواد ضد عفونی کننده به داخل عاج و اثر بافرینگ عاج روی مواد مختلف بر نتایج مطالعه تاثیر خواهند گذاشت. روش نامس مستقیم نیز علیرغم سادگی، شباهت چندانی با شرایط واقعی بالینی ندارد.<sup>(۷)</sup>

با توجه به مشکلات موجود در هر یک از روشهای رایج مورد استفاده برای ارزیابی خاصیت ضد میکروبی هیدروکسید کلسیم، هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر ضد میکروبی ترکیب چند ماده مختلف با هیدروکسید کلسیم با یک روش جدید بود.

نسبت داده میشود. یون هیدروکسیل باعث تخریب غشا سیتوپلاسمی، مهار همانندسازی DNA، اختلال در فعالیت آنزیمی و متابولیسم سلولی میکروب ها می گردد.<sup>(۸)</sup>

مواد مورد استفاده برای آماده سازی هیدروکسید کلسیم جهت قرارگیری در داخل کانال، باید علاوه بر خاصیت قلیایی باعث تقویت اثر ضد میکروبی و توانایی انتشار آن در توبوهای عاجی شوند.<sup>(۷،۹،۱۰)</sup> رایج ترین مواد مورد استفاده برای اینکار سالین نرمال، لیدوکائین، کامفور منوکلرو فنول (CMCP)، یدید پتاسیم یدین (IKI) و کلرهگزیدین هستند<sup>(۱۱)</sup> تا کنون مطالعات زیادی برای مقایسه اثر ضد میکروبی، میزان انتشار و PH هیدروکسید کلسیم با مواد آماده کننده مذکور انجام گرفته است که بسته به روش انجام مطالعه (انتشار مستقیم در آگار، بررسی بلوک عاجی و یا تست تماس مستقیم) نتایج مختلفی بدست آمده است.<sup>(۱۲-۱۷)</sup>

رایج ترین روش های بررسی اثر ضد میکروبی داروهای داخل کانال، روش های تماس مستقیم هستند که در آن ها ماده ضد میکروبی در تماس مستقیم با میکروب مورد نظر قرار می گیرد. مطالعات مختلف نشان داده اند که باکتری ها معمولاً در اثر تماس با داروهای مختلف، حتی در مقادیر رقیق شده به سرعت کشته می شوند ولی اطلاعات موجود در مورد تأثیر داروهای اندودنتیک بر روی گونه های خاص باکتری ها در محیط بدن محدود می باشد.<sup>(۱۶)</sup>

با توجه به دشواری انجام این گونه مطالعات به صورت *In vivo* هر چه نحوه انجام مطالعات *Invitro* به شرایط بدن نزدیک تر باشد، امکان تعمیم نتایج آن به موارد کلینیکی واقعی بیشتر خواهد بود. برای شبیه سازی حالت کلینیکی که در آن میکروب ها بتوانند از دسترس مواد ضد عفونی کننده مخفی شوند استفاده از بلوکهای عاجی با روش

Haapasalo & Qrstavik رایج است<sup>(۱۸)</sup> مسئله مهمی که در مطالعات انجام شده با استفاده از بلوک های عاجی غالباً نادیده گرفته می شود میزان نفوذ پذیری عاج دندان های مورد استفاده و تاثیر آن بر روی نتایج به دست آمده می باشد. نفوذ پذیری عاج در ارتباط با تعداد توبول های عاجی و قطر آنها می

**مواد و روش ها:**

در این مطالعه که به روش تجربی- آزمایشگاهی انجام گردید فعالیت ضد میکروبی مخلوط هیدروکسید کلسیم با پنج ماده سالین نرمال، لیدوکائین ۰/۲٪، کلر هگزیدین ۰/۲٪، کلر هگزیدین ۰/۲٪ و یدید پتاسیم یدین ۲٪ (IKI) که به شکل خامه ای تهیه شده بودند، بر روی باکتری *Enterococcus Faecalis* در شرایط *in vitro* مورد بررسی قرار گرفت.

سوش استاندارد *E. faecalis* در بخش میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد تهیه و جهت اطمینان از خلوص به محیط کشت *Blood agar* تلقیح گردید و سپس توسط آزمایشات بیوشیمیایی ATCC 29212 مورد تأیید قرار گرفت. جهت آزمایش، کلنی های باکتری از کشت ۲۴ ساعته در محیط *Blood agar* به وسیله لوپ استریل به محیط کشت *Tripticase Soy Broth (TSB)* منتقل شدند تا سوسپانسیون باکتریایی با غلظت معادل کدورت محلول استاندارد سولفات باریم در لوله شماره ۰/۵ مک فارلند ایجاد گردید.

جهت تهیه خمیرهای مورد استفاده در این مطالعه پودر هیدروکسید کلسیم (شرکت پیشرو دندان- ایران) بر روی اسلپ شیشه ای استریل قرار گرفت و پس از اضافه کردن هر یک از مواد مورد بررسی (سالین نرمال، لیدوکائین ۰/۲٪، کلر هگزیدین ۰/۲٪، کلر هگزیدین ۰/۲٪ و ۲٪ IKI) توسط اسپاتول همزن استریل، مخلوطی با قوام خامه ای از آنها تهیه گردید.

جهت بررسی اثر ضد میکروبی خمیرهای تهیه شده تعداد ۶۲ ریشه دندان کشیده شده انسان شامل ریشه دندان های قدامی فک بالا، ریشه دیستال دندان های مولر فک پایین و ریشه پالاتال مولر فک بالا مورد استفاده قرار گرفت. همگی ریشه های انتخاب شده تک کاناله، مستقیم، فاقد پوسیدگی و ترک خوردگی بودند.

ریشه ها با کورت پرپودنتال به منظور برداشتن بافت های پرپودنتال و استخوان به جا مانده تمیز شده و سپس در محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵٪ به مدت ۷ روز نگهداری شدند. قسمت های کروئالی و آپیکالی ریشه ها با توربین و فرز الماسی به

نحوی قطع شدند که نهایتاً قطعه ای از ریشه با طول ۵ میلیمتر و قطر تقریبی ۵ میلیمتر باقی بماند. به منظور استاندارد کردن فضای داخلی ریشه ها با استفاده از توربین و یک فرز الماسی با قطر ۱/۴ میلیمتر (تیز کاوان-ایران) کانال ریشه ها گشاد گردید. در مرحله بعد جهت باز شدن مسیر توبول های عاجی به سمت بیرون ریشه، سمنتوم و عاج ریشه به میزان ۱ میلیمتر تراشیده شد.

نمونه ها در فاصله مراحل آزمایش به منظور جلوگیری از دهیدراته شدن در آب نگهداری شدند. به منظور حذف نمودن لایه اسمیر، نمونه ها به مدت ۱۰ دقیقه در بشر حاوی EDTA ۰/۱۷٪ با (pH = ۷/۲) گذاشته شده و پس از خارج کردن، به وسیله آب به مدت ۱ ساعت شستشو داده شدند. نمونه ها در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار ۱۵ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شدند.

نمونه ها جهت استفاده از داروهای داخل کانال به صورت تصادفی به ۵ گروه آزمایش (هر کدام شامل ۱۲ نمونه) و گروه کنترل مثبت شامل ۲ نمونه تقسیم شدند.

مخلوط های هیدروکسید کلسیم با قوام خمیری با استفاده از سرنگ تزریق پلاستیکی ۵ سی سی به داخل کانال ها تزریق شدند. جهت بهتر پر شدن کانال ها و حذف حباب های هوا پس از تزریق هیدروکسید کلسیم، یک عدد فایل شماره ۸۰ در هر کانال وارد شده و در خلاف جهت عقربه های ساعت چرخانده شد. پس از آماده سازی گروه ها، به منظور جلوگیری از خروج مواد هر دو انتهای ریشه ها توسط دو لایه لاک ناخن پوشانده شد.

در این مرحله ریشه ها به صورت عمودی در ظرف های حاوی میکروب انتروکوک فکالین کشت داده شده و در محیط آگار قرار گرفتند به نحوی که سطوح باکال، لینگوال، مزیال و دیستال ریشه ها در تماس با آگار قرار داشت. دو ریشه آماده سازی شده بدون قرار دادن ماده ای در داخل کانال به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شدند. به عنوان کنترل منفی در یک ظرف آگار دیسک حاوی آنتی بیوتیک پنی سیلین قرار داده شد.

عدم مشاهده فعالیت ضد میکروبی در گروه کنترل مثبت نشان دهنده عدم فعالیت ضد میکروبی عاج دندان و یا لاک ناخن و در نتیجه درستی روش کار بود. در گروه کنترل منفی هاله عدم رشد میکروبی وسیع در اطراف دیسک آنتی بیوتیک مشاهده گردید.

#### بحث:

در مطالعه حاضر برای بررسی اثر ضد میکروبی داروهای داخل کانال از روشی که برای اولین بار از روش خاص استفاده شد. به این صورت که میکروب ها در محیط آگار کشت داده شده و داخل دندان فقط هیدروکسید کلسیم قرار داده می شود در نتیجه هیدروکسید کلسیم جهت اثر گذاشتن بر روی میکروب ها باید ابتدا در عاج دندان نفوذ کرده و موانع نفوذ پذیری عاج و خاصیت بافری آن را پشت سر گذارد. به این ترتیب نقاط ضعف موجود در مطالعات قبلی برطرف می شود. از طرف دیگر چون در این روش پس از پایان کار دندان های مورد استفاده سالم هستند و مانند روش های قبلی قسمتی از آنها تراشیده نشده است می توان با تزریق رنگ و بررسی نفوذ آن در توبول های عاجی، میزان نفوذ پذیری تک تک دندان ها را نیز مشخص نمود.

در مطالعه Ballal و همکاران از روشی تقریباً مشابه مطالعه حاضر استفاده شده است، بدین ترتیب که در این مطالعه نفوذ مواد ضد میکروبی از قبیل کلر هگزیدین، هیپوکلریت سدیم و گلو تار آلدئید از دیسک های عاجی به ضخامت ۲۰۰ تا ۵۰۰ میکرومتر استفاده شد که روی سطح محیط آگار قرار گرفته بودند.<sup>(۱۹)</sup>

در اغلب مطالعات از میکروب انتروکوک فکالیس به علت مقاوم بودن آن در مقابل هیدروکسید کلسیم و همچنین شیوع آن در عفونت های پایدار اندودانتیک استفاده شده است.<sup>(۲۰،۱۷،۱۵)</sup> حداکثر نفوذ میکروب ها ۰/۲۵ میلیمتر بود. پس نتیجه گیری می شود که در اغلب مواقع مواد ضد عفونی کننده باید در بیش از ۵۰٪ عاج نفوذ کنند تا میکروب ها به طور کامل حذف شوند.<sup>(۲۱-۲۷)</sup>

کلیه ظرف های آگار در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفته و بعد از ۲۴ ساعت از انکوباتور خارج شده و قطر هاله عدم رشد میکروبی ایجاد شده در مورد هر یک از نمونه در محوری که بیشترین اندازه را داشت توسط خط کش میلی متری اندازه گیری گردید.<sup>(۱۴)</sup> نهایتاً اندازه های به دست آمده برای هر کدام از موارد توسط آزمونهای آماری ANOVA و Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

#### یافته ها:

نتایج مطالعه نشان داد که تمامی مواد مورد آزمایش از اثر ضد میکروبی مناسبی برخوردار بودند. هر چند که مقایسه گروههای مختلف با آزمون ANOVA نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین میانگین قطر هاله عدم رشد میکروبی در آنها بود. ( $P < 0.001$ ) بیشترین اثر ضد میکروبی متعلق به مخلوط هیدروکسید کلسیم با کلر هگزیدین ۰/۲٪ با میانگین قطر هاله عدم رشد میکروبی ۸/۱ میلیمتر و کمترین اثر ضد میکروبی مربوط به هیدروکسید کلسیم با سالین نرمال به میزان ۴/۴ میلیمتر بود (جدول ۱).

#### جدول ۱- میزان قطر هاله رشد میکروبی در گروه های

##### مورد بررسی

Pvalue	میزان قطر هاله عدم رشد	گروه های مورد بررسی
	۴/۴۱±۰/۹	سالین نرمال
	۶/۱۶±۱/۵۲	یدید پتاسیم یدین ۰/۲٪
( $P < 0.05$ )	۸/۱۶±۱/۵۲	کلر هگزیدین ۰/۲٪
	۶/۴۱±۱/۹۲	کلر هگزیدین ۰/۲٪
	۶/۷۵±۱/۱۳	لیدوکائین

مقایسه دو به دو گروه ها با آزمون Tukey نشان داد که بین فعالیت ضد میکروبی مخلوط هیدروکسید کلسیم با کلر هگزیدین ۰/۲٪ نسبت به همه مواد دیگر به جز لیدوکائین اختلاف معنی دار آماری وجود دارد. بین اثر ضد میکروبی تمامی مواد مورد بررسی با سالین نرمال اختلاف معنی دار آماری دیده شد. ( $P < 0.05$ )

کاربرد این مواد نیاز به انجام مطالعات *In vivo* می باشد.

### سیاسگزاری

این مقاله بر اساس پایان نامه دانشجویی که به شماره ۳۰۳ در شورای پژوهشی دانشکده دندانپزشکی یزد به ثبت رسیده تهیه گردیده است که بدین وسیله تشکر و قدردانی می گردد.

### References:

- 1-Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965;20(2):340-9.
- 2- Beus C, Safavi K, Stratton J, Kaufman B. Comparison of the Effect of Two Endodontic Irrigation Protocols on the Elimination of Bacteria from Root Canal System: A Prospective, Randomized Clinical Trial. *J Endod* 2012; 38(11): 1479-83.
- 3- Paredes-Vieyra J, Jimenez Enriquez FJ. Success Rate of Single- versus Two-visit Root Canal Treatment of Teeth with Apical Periodontitis: A Randomized Controlled Trial. *J Endod* 2012;38(9):1164-69.
- 4- Vera J, Siqueira JF Jr, Ricucci D, Loghin S, Fernández N, Flores B, Cruz AG. One- versus Two-visit Endodontic Treatment of Teeth with Apical Periodontitis: A Histobacteriologic Stud. *J Endod* 2012;38(8):1040-52
- 5- Siqueira JF Jr, Rôças 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.
6. Portenier I, Haapasalo H, Rye A, Waltimo T, Orstavik D, Haapasalo M. Inactivation of root canal medicaments by dentine, hydroxyapatite and bovine serum albumin. *Int Endod J* 2001;34(5):184-8.
- 7- Safavi K, Nakayama TA. Influence of mixing vehicle on dissociation of calcium hydroxide in solution. *J Endod* 2000;26(11):649-51.
- 8-Mohammadi Z, Dummer PM. Properties and applications of calcium hydroxide in endodontics and dental traumatology. *Int Endod J* 2011; 44(8):697-730.

نتایج به دست آمده از این مطالعه همانند بسیاری از مطالعات قبلی نشان دهنده تفاوت معنی دار اثر ضد میکروبی مخلوط هیدروکسید کلسیم با کلر هگزیدین ۲٪ نسبت به مواد دیگر بود که علاوه بر تایید روش جدید مجدداً کاربرد مناسب مخلوط هیدروکسید کلسیم با کلر هگزیدین ۲٪ را مورد تاکید قرار می دهد. (۲۰،۲۱،۱۷)

حفظ شرایط قلیایی بالا برای مدت طولانی یکی از مزایای هیدروکساید کلسیم است و مطالعات نشان دهنده عدم تغییر خاصیت قلیایی هیدروکساید کلسیم با کلر هگزیدین و یدید پتاسیم یداین (IKI) می باشد. بنابراین مخلوط آن ها با هیدروکساید کلسیم برای مدت طولانی قابل استفاده در کانال ریشه دندان است. (۲۸،۲۷)

با توجه به عدم اطمینان از چگونگی واکنش ایجاد شده و محصولات آزاد شده در طی مخلوط کردن هیدروکساید کلسیم با موادی مثل کلر هگزیدین، ضرورت انجام مطالعاتی در مورد سمیت مواد افزایش می یابد.

به طور کلی مخلوط کردن هیدروکساید کلسیم با موادی مانند کلر هگزیدین سبب دستیابی به مزایای بیشتری نسبت به کاربرد هر یک از آن ها به تنهایی می شود. هیدروکساید کلسیم به علت برخورداری از خاصیت قلیایی پایدار و سد کردن راه مواد غذایی به سمت میکروب ها اثر می کند و قادر است این اثرات را تا مدت طولانی حفظ کند. کلر هگزیدین نه تنها اثر منفی روی این خواص ندارد بلکه خاصیت ضد میکروبی هیدروکسید کلسیم را بدون تغییر سمیت آن، افزایش می دهد. (۲۸)

### نتیجه گیری:

با توجه به نتایج این مطالعه می توان نتیجه گرفت که با افزودن کلر هگزیدین ۲٪ به هیدروکسید کلسیم اثرات ضد میکروبی آن افزایش می یابد. برای بررسی ارزش کلینیکی

- 9- Lima RKP, Guerreiro-Tanomaru JM, Faria-Júnior NB, Tanomaru-Filho M. Effectiveness of calcium hydroxide-based intracanal medicaments against *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 2012;45(4):311-6
- 10- Delgado RJ, Gasparoto TH, Sipert CR, Pinheiro CR, Moraes IG, Garcia RB, et al. Antimicrobial effects of calcium hydroxide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2010;36(8):1389-93
- 11- Chai W.L, Hammiah H, Abdullah M. Evaluation of antimicrobial efficacy of antibiotics & calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* biofilm in dentin. *Sains Malaysiana* 2013;42(4):73-80.
- 12- Ganesh MR, Chuarasia VR, Masamatti VKS, Mujeeb A, Jhamp A, Agarwal JH. In vitro evaluation of antibacterial efficacy of calcium hydroxide in different vehicle. *J Int Soc Prev Community Dent* 2014;4(1):56-60.
- 13- Ordinola-Zapata R, Bramante CM, Minotti PG, Cavenago BC, Garcia RB, Bernardineli N, et al. Antimicrobial Activity of Triantibiotic Paste, 2% Chlorhexidine Gel, and Calcium Hydroxide on an Intraoral-infected Dentin Biofilm Model. *J Endod* 2013;39(1):115-8.
- 14- Alagarsamy V, Rajesh Ebenezer AV, Srinivasan MR, Mohan AG, Kumar S. Effectiveness of calcium hydroxide plus points and chlorhexidine activ points against *Enterococcus faecalis* by agar diffusion test: An in-vitro study. *Dent Res J* 2013;1(1):18-21.
- 15- Pacios MG, Silva C, Lopez ME, Cecilia M. Antibacterial action of calcium hydroxide vehicles and calcium hydroxide pastes. *J Invest Clin Dent* 2012;3(4):264-70.
- 16- Mohammadi Z, Shalavi S, Yazdizadeh M. Antimicrobial Activity of Calcium Hydroxide in Endodontics: A Review. *Chonnam Med J* 2012;48(3):133-140.
- 17- Prabhakar AR, Hadakar SG, Raju OS. Comparative evaluation of PH and antibacterial effect of various calcium hydroxide combination on *E. faecalis* and its effect on root strength: An in vitro study. *Contemp Clin Dent* 2012;3(1):42-47.
- 18- Haapasalo M, Orstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res* 1987;66(8):1375-9.
- 19- Ballal V, Kundabala M, Acharya S, Ballal M. Antibacterial action of calcium hydroxide, chlorhexidine and their combination on endodontic pathogens. *Aust Dent J* 2007;52(2):118-21.
- 20- Mohammadi Z, Shalavi S. Is chlorhexidine an ideal vehicle for calcium hydroxide? A microbiologic review. *Iran Endod J* 2012;7(3):115-22.
- 21- Schafer EL, Bussmann K. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine and two calcium hydroxide formulations against *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2005;31(1):35-6.
- 22- Zerella JA, Fouad AF, Spangberg LS. Effectiveness of a calcium hydroxide and chlorhexidine gluconate mixture as disinfection during retreatment of failed endodontic cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005;100(6):756-61
- 23- Silveira CF, Cunha RS, Fontana CE, de Martin AS, Gomes BP, Motta RH, et al. Assessment of antibacterial activity of calcium hydroxide combined with chlorhexidine paste and other intracanal medicaments against bacterial pathogens. *Eur J Dent* 2011;5(1):1-7.
- 24- Ganesh MR. Comparative evaluation of the antibacterial effect of calcium hydroxide paste using four different vehicle. *J Evol Med Dent Sci* 2012;4(5):601-606.
- 25- Agrafioti A, Tzimpoulas NE, Kontakiotis EG. Influence of Dentin from the Root Canal Walls and the Pulp Chamber Floor on the pH of Intracanal Medicaments. *J Endod* 2013;39(5):701-3.
- 26- Delgado RJ, Gasparoto TH, Sipert CR, Pinheiro CR, de Moraes IG, Garcia RB, et al. Antimicrobial activity of calcium hydroxide and chlorhexidine on intratubular *Candida albicans*. *Int J Oral Sci* 2013;5(1):32-6.
- 27- Basrani B, Ghanem A, Tjaderhane L. Physical and chemical properties of chlorhexidine and calcium hydroxide-containing medicaments. *J Endod* 2004;30(6):413-7.
- 28- Farhad AR, Barekatian B, Allameh M, Narimani T. Evaluation of antibacterial effect of calcium hydroxide in combination with three different vehicles: an in vitro study. *Dent Res J* 2012;9(2):167-72