

Research Paper

Comparison of Antimicrobial Activity of Sodium Hypochlorite (NaOCl) 2.5%, Microemulsion of Myrtus 10%, Microemulsion of Thyme 0.6% on the Enterococcus Faecalis After Root Canal Filling



Forough Khodadadnejad¹, Majid Akbari², Fateme Abdolalian³, Mahboube Daneshvar⁴, Behzad Ahmadi⁵, *Zahra Zahraei⁶

1. Department of Endodontic, School of Dentistry, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.
2. Department of Microbiology and Immunology, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.
3. Department of Periodontic, School of Dentistry, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.
4. Department of Pedodontic, School of Dentistry, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.
5. Department of Prosthodontic, School of Dentistry, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.
6. Department of Dentistry, School of Dentistry, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.



Citation: Khodadadnejad F, Akbari M, Abdolalian F, Daneshvar M, Ahmadi B, Zahraei Z. [Comparison of Antimicrobial Activity of Sodium Hypochlorite (NaOCl) 2.5%, Microemulsion of Myrtus 10%, Microemulsion of Thyme 0.6% on the Enterococcus Faecalis After Root Canal Filling (Persian)]. Journal of Arak University of Medical Sciences (JAMS). 2021; 24(3):424-437. <https://doi.org/10.32598/JAMS.24.3.6321.1>

 <https://doi.org/10.32598/JAMS.24.3.6321.1>



Article Info:

Received: 31 Oct 2020

Accepted: 15 May 2021

Available Online: 01 Aug 2021

Key words:

Thyme, Myrtus,
Enterococcus faecalis,
Sodium hypochlorite

ABSTRACT

Background and Aim The success of endodontic treatment depends on the complete elimination of pathogenic bacteria inside the root canal. Enterococcus faecalis, a gram-positive, pathogenic, and anaerobic cocci, are the primary etiology of root canal infection in treated and untreated teeth and are highly associated with endodontic treatment failure. This study aimed to compare the antimicrobial activity of Sodium hypochlorite 2.5%, microemulsion of Myrtus 10%, and microemulsion of Thyme 0.6% on the E. faecalis after root canal filling.

Methods & Materials In this experimental study, 25 extracted single canal human anterior teeth were collected, and their crowns were cut. Then after washing and cleaning, and filling, the sterilization was done using an autoclave. Then, except 5 teeth (negative control group), the teeth were smeared with E. faecalis and then divided into 5 groups randomly represented the irrigation by Sodium hypochlorite 2.5%, microemulsion of Myrtus 10%, and microemulsion of Thyme 0.6%, with a positive control group and negative control group. The teeth were filled with gutta-percha and then incubated in an incubator for 90 days at a temperature of 37°C. Finally, the comparison of CFU in the groups due to abnormal data distribution was performed using the Kruskal-Wallis test.

Ethical Considerations The Ethics Committee of Arak University of Medical Sciences approved this study (Code: IR.ARAKMU.REC.1398.297).

Results According to the results of this study, the correlation between the groups of cultured teeth was not significant ($P > 0.05$). The specimens washed with microemulsion of the Thyme 0.6% had the highest positive number of cultures; the specimens washed by Sodium hypochlorite 2.5% had the lowest number of cultures.

Conclusion This study showed that no statistically significant difference exists in their antimicrobial activity after root canal therapy after the use of different wash solutions.

* Corresponding Author:

Zahra Zahraei, MD.

Address: Department of Dentistry, School of Dentistry, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

Tel: +98 (910) 9695036

E-mail: dr.zahrazahraei@yahoo.com

Extended Abstract

1. Introduction

The success of endodontic treatment depends on the complete elimination of pathogenic bacteria inside the root canal [2]. Washing is a required endodontic method for removing microorganisms from the root canal system [6]. Recently, the use of natural products as root canal disinfectants has been extensively studied due to their efficiency, safety, availability [9], and the inability of microorganisms to develop resistance to the materials [10]. The Thyme inhibits the growth of bacteria in the oral cavity. It can prevent dental infections due to compounds such as flavonoids, saponins, and bitter substances [12, 13]. The outstanding Myrtus had acceptable antimicrobial properties due to its polyphenolic compounds and essential oils against endodontic pathogens, especially *Enterococcus faecalis* [19]. Limited studies have been done on Myrtus microemulsion or Thyme microemulsion as a root canal rinse, and no comparison between them.

2. Materials and Methods

In this laboratory study, 25 extracted root canals in human anterior teeth, randomly divided into 5 groups (in equal numbers), were used. Next, they were rinsed with sodium hypochlorite (NaOCl) 2.5%, Myrtus 10% microemulsion, Thyme 0.6% microemulsion, with positive group control (impregnation with *E. faecalis* suspension and rinsing with normal saline) and negative control group (non-impregnation with *E. faecalis* suspension and rinsing with normal saline). The teeth were then filled with gutta-percha and incubated at 37°C for 90 days. Then sampling was performed, and samples were examined for colony count. Finally, the comparison of bacterial colony count in the groups due to abnormal data distribution was performed using the Kruskal-Wallis test.

3. Results

The results showed that the highest positive culture belonged to the Thyme 0.6% microemulsion group; the lowest belonged to the Sodium hypochlorite (NaOCl) 2.5% group.

The antimicrobial effect of Thyme 0.6% cleanser on *E. faecalis* was 20%, and 80% did not affect the growth of this bacterium. The antimicrobial effect of Myrtus 10% cleanser on *E. faecalis* was 88%, and 12% did not affect the growth of this bacterium. The antimicrobial effect of Sodium hypochlorite (NaOCl) 2.5% cleanser on *E. faecalis* was 93%, and 7% did not affect the growth of this bacterium. The

mean number of colonies between groups was not statistically significant.

4. Discussion and Conclusion

A successful root canal treatment consists of three stages of clearing and shaping the canal, disinfecting, and filling its three-dimensional space [33, 34]. Due to the resistance of bacteria to synthetic chemical drugs and the need to produce various plant antimicrobials in this study, the antimicrobial effect of Thyme 0.6% microemulsion, Myrtus 10% microemulsion, and NaOCl 2.5% against *E. faecalis* after filling the root canal was examined. The present study results showed that the highest mean colony was in the Thyme microemulsion group, and the lowest was in the NaOCl group. The mean number of settlements between groups was not statistically significant.

According to the results, it can be said NaOCl 2.5% had the highest antimicrobial properties against *E. faecalis* and showed the lowest colony growth rate, while Myrtus 10% microemulsion and Thyme 0.6% microemulsion in the second and third ranks.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

The Ethics Committee of Arak University of Medical Sciences approved this study (Code: IR.ARAKMU.REC.2019.297).

Funding

This research did not receive any grant from funding agencies in the public, commercial, or non-profit sectors.

Authors' contributions

All authors equally contributed to preparing this article.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgements

The collaborators of Arak University of Medical Sciences in conducting this research are thanked and appreciated.

This Page Intentionally Left Blank

مقاله پژوهشی

مقایسه اثر ضد میکروبی هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد، میکروامولسیون مورد ۱۰ درصد و میکروامولسیون آویشن ۰/۶ درصد، علیه باکتری انتروکوکوس فکالیس پس از پر کردن کانال ریشه دندان

فروغ خدادادنژاد^۱، مجید اکبری^۲، فاطمه عبدالعلیان^۳، محبوبه دانشور^۴، بهزاد احمدی^۵، *زهرا زهرائی^۶

۱. گروه اندودانتیکس، دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.
۲. گروه میکروبی شناسی و ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.
۳. گروه پرودانتیکس، دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.
۴. گروه دندان پزشکی کودکان، دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.
۵. گروه پروتزهای دندان، دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.
۶. گروه دندان پزشکی، دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: موفقیت درمان ریشه به حذف کامل باکتری‌های بیماری‌زای داخل کانال ریشه بستگی دارد. انتروکوکوس فکالیس یک باکتری گرم مثبت بی‌هوازی اختیاری بیماری‌زاست که نقش اصلی را در اتیولوژی عفونت کانال ریشه دندان‌های درمان‌شده و درمان نشده ایفا می‌کند و در موارد بسیاری با شکست درمان مرتبط است. هدف از این مطالعه مقایسه اثر ضد میکروبی سدیم هیپوکلریت ۲/۵ درصد، میکروامولسیون مورد ۱۰ درصد و میکروامولسیون آویشن ۰/۶ درصد علیه باکتری انتروکوکوس فکالیس پس از پر کردن کانال ریشه دندان بود.

مواد و روش‌ها: مطالعه حاضر به صورت آزمایشگاهی بوده که در آن تعداد ۲۵ دندان تک کانال قدامی کشیده شده انسان جمع‌آوری و تاج آن‌ها قطع شد. دندان‌ها پس از شست‌وشو، فایلینگ و پاک‌سازی در اتوکلاو قرار داده شدند. سپس به جز ۵ عدد (گروه کنترل منفی) ما بقی به سوسپانسیون باکتری انتروکوکوس فکالیس آغشته و به صورت تصادفی به ۵ گروه با تعداد مساوی تقسیم شدند و با استفاده از شست‌وشو دهنده‌های هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد، میکروامولسیون مورد ۱۰ درصد، میکروامولسیون آویشن ۰/۶ درصد به همراه گروه کنترل مثبت و گروه کنترل منفی شست‌وشو داده شدند. دندان‌ها با گوتا‌پرکا پر شدند و به مدت ۹۰ روز در آنکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس نمونه‌گیری انجام شد و نمونه‌ها برای شمارش کلونی بررسی شدند. در نهایت مقایسه میزان شمارش کلونی باکتری در گروه‌ها با توجه به غیرنرمال بودن توزیع داده‌ها، با استفاده از آزمون کروسکال والیس انجام شد.

ملاحظات اخلاقی: این مطالعه با کد اخلاق R.ARAKMU.REC.1398.297 به تصویب کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک رسید.

یافته‌ها: میانگین میزان تعداد کلونی بین گروه‌ها دارای اختلاف معنادار نبود ($P > 0.05$). بیشترین میزان کشت مثبت مربوط به گروه میکروامولسیون آویشن ۰/۶ درصد و کمترین مقدار مربوط به گروه هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد بود.

نتیجه‌گیری: به دنبال پر کردن کانال‌ها از نظر حذف انتروکوکوس فکالیس، بین شست‌وشو دهنده‌های گوناگون از نظر آماری تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

اطلاعات مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۰ آبان ۱۳۹۹

تاریخ پذیرش: ۲۵ اردیبهشت ۱۴۰۰

تاریخ انتشار: ۱۰ مرداد ۱۴۰۰

کلیدواژه‌ها:

انتروکوکوس فکالیس، مورد، آویشن، سدیم هیپوکلریت

مقدمه

انتروکوکوس فکالیس یک باکتری گرم مثبت بی‌هوازی اختیاری بیماری‌زاست [۲] که نقش اصلی را در اتیولوژی عفونت کانال ریشه دندان‌های درمان‌شده و درمان‌نشده ایفا می‌کند و در موارد بسیاری با شکست درمان مرتبط است [۴]. انتروکوکوس فکالیس کاملاً به داروهای داخل کانال مقاوم است و می‌تواند داخل

باکتری‌ها معمولاً داخل توپول‌های عاجی کانال‌های ریشه عفونی یافت می‌شوند [۱]. موفقیت درمان اندودنتیک به حذف کامل باکتری‌های بیماری‌زای داخل کانال ریشه بستگی دارد [۲].

* نویسنده مسئول:

دکتر زهرا زهرائی

نشانی: اراک، دانشگاه علوم پزشکی اراک، دانشکده دندان پزشکی، گروه دندان پزشکی.

تلفن: ۹۶۹۵۰۳۶ (۹۱۰) ۹۸+

پست الکترونیکی: dr.zahrazahraei@yahoo.com



کانال‌های ریشه بدون اثر متقابل باکتری‌های دیگر زنده بماند. هدف از این مطالعه مقایسه اثر ضد میکروبی سدیم هیپوکلریت ۲/۵ درصد، میکروامولسیون مورد ۱۰ درصد و میکروامولسیون آویشن ۰/۶ درصد علیه باکتری انتروکوکوس فکالیس پس از پر کردن کانال ریشه دندان بود.

شست‌وشو یک روش اندودنتیک حیاتی برای حذف میکروارگانیسم‌های سیستم کانال ریشه است [۵]. شست‌وشو دهنده‌های متفاوتی هنگام آماده‌سازی کانال ریشه دندان برای کاهش و حذف دبری‌های باقی‌مانده، بافت‌های نکروزه و باکتری‌ها و همین‌طور حذف لایه اسمیر عاجی که طی آماده‌سازی مکانیکی تشکیل می‌شود، استفاده می‌شود. توصیه می‌شود ماده شیمیایی استفاده‌شده برای شست‌وشوی کانال ریشه خاصیت ضد میکروبی داشته و حل‌کننده بافت‌های ارگانیک باشد و برای بافت‌های پری اپیکال سمی نباشد [۶، ۷].

اخیراً استفاده از محصولات گیاهی برای ضد عفونی کردن کانال ریشه به علت بهره‌وری، ایمنی، در دسترس بودن [۸] و توانایی نداشتن میکروارگانیسم‌ها در گسترش مقاومت علیه مواد به کاررفته، به طور گسترده بررسی شده است [۹]. روغن آویشن به علت خاصیت ضدباکتریایی پتانسیل استفاده در دندان پزشکی را دارد [۱۰]. آویشن مانع رشد باکتری‌ها در حفره دهان می‌شود و توانایی جلوگیری از عفونت دندانی را نیز دارد؛ دلیل این امر دارا بودن ترکیباتی مانند فلاونوئید، ساپونین و مواد تلخ است [۱۱، ۱۲]. هرچه مقادیر مواد فنولیک در اسانس بالاتر باشد، خواص ضد میکروبی آن بیشتر خواهد بود. این مواد همچون کارواکرول، اوژنول و تیمول هستند [۱۳، ۱۴]. همچنین ثابت شده است که واکنش اجزای اسانس با یکدیگر نقش مهمی در تعیین اثر ضد میکروبی گیاه بازی می‌کند. تیمول و کارواکرول دارای اثرات سینرژیک هستند. پژوهشگران گوناگون اثر قوی ضد میکروبی کارواکرول را نشان داده‌اند [۱۵]. کارواکرول با غشای سلولی از طریق تغییر در نفوذپذیری کانال‌های H^+/K^+ واکنش نشان می‌دهد و باعث ایجاد ناهنجاری در کارکرد غشای سلولی می‌شود [۱۶]. در اغلب تحقیقاتی که روی مکانیسم عمل ترکیبات فنولیک انجام شده، صحبت از تأثیر عصاره‌ها بر غشای سلولی است. متابولیت‌های فنولی موجود در گیاه توانایی این را دارند که یک هیدروژن از گروه هیدروکسیل موجود در حلقه آروماتیک خود رها کرده و باعث تخریب غشای سلولی شوند و به این صورت خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد التهابی خود را اعمال کنند [۱۷]. در مطالعه نورزاده و همکاران، گیاه مورد خاصیت ضد میکروبی قابل قبولی داشت؛ دلیل این امر داشتن ترکیبات پلی‌فنولیک و اسانس علیه پاتوژن‌های اندودنتیک، به‌خصوص باکتری انتروکوکوس فکالیس است [۱۸].

هیپوکلریت سدیم یکی از شست‌وشو دهنده‌هایی رایج است، زیرا توانایی تخریب طیف گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها را دارد و مواد آلی را حل می‌کند [۱۹]. خاصیت ضدباکتریایی

هیپوکلریت سدیم به علت تشکیل اسید هیپوکلرو هنگام تماس با مواد آلی است [۲۰، ۲۱]. این ماده ارزان و در دسترس است و ماندگاری بالایی دارد [۲۲، ۲۳]. اگرچه هیپوکلریت سدیم معایبی از جمله خوردگی وسایل، کاهش مدولوس الاستیسیته و قدرت خمشی عاج را دارد [۲۴] و همچنین برای بافت‌های اطراف اثر سمی و طعم ناخوشایندی دارد [۲۵]. طبق مطالعات اخیر، بیوفیلم میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا به غلظت‌های معمول شست‌وشو دهنده‌ها مقاوم‌تر است و تأثیر شوینده‌ها با رشد بیوفیلم، کاهش می‌یابد [۲۶]. در نتیجه به یک پروتکل ضد عفونی جدید برای بهبود نتایج درمان اندودنتیک نیاز است [۲۷]. اخیراً استفاده از محصولات گیاهی به منزله ضد عفونی‌کننده کانال ریشه دندان بررسی شده است. در حال حاضر هیچ محلول شست‌وشو دهنده‌ای را نمی‌توان ایده‌آل در نظر گرفت، در نتیجه نیاز به یک پروتکل ضد عفونی جدید برای بهبود نتایج درمان اندودنتیک مرسوم احساس می‌شود. با توجه به محدود بودن مطالعات انجام شده در خصوص استفاده از میکروامولسیون مورد ۱۰ درصد یا میکروامولسیون آویشن به عنوان شست‌وشو دهنده کانال ریشه دندان و عدم مقایسه آن‌ها باهم، ضرورت انجام مطالعه حاضر احساس شد.

مواد و روش‌ها

حجم نمونه

در این مطالعه تعداد ۲۵ دندان تک کانال قدامی کشیده‌شده انسان استفاده شد که به صورت تصادفی به ۵ گروه (با تعداد مساوی) شست‌وشو داده‌شده با هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد، میکروامولسیون مورد ۱۰ درصد، میکروامولسیون آویشن ۰/۶ درصد به همراه گروه کنترل مثبت (آغشته‌سازی به سوسپانسیون باکتری انتروکوکوس فکالیس و شست‌وشو با نرمال سالین) و گروه کنترل منفی (آغشته‌نشده به سوسپانسیون باکتری انتروکوکوس فکالیس و شست‌وشو با نرمال سالین) تقسیم شدند.

معیارهای ورود و خروج از مطالعه

در این مطالعه از دندان‌های تک کانال قدامی استفاده شد که بدون ترک یا شکستگی، فاقد تحلیل داخلی و خارجی و عاری از پوسیدگی بودند و دندان‌هایی که دارای این معیارها نبودند از مطالعه خارج شدند.

روش کار

دندان‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵ درصد قرار داده شدند و سپس با برس، آلودگی بافتی از آن‌ها زدوده شد. تاج دندان‌ها قطع [۲۸] و مراحل کار تحقیقاتی، فایلینگ و پاک‌سازی روی آن‌ها انجام شد؛ بدین‌گونه که طول کانال با استفاده از فایل ۱۵ (Mani, Tochigi, Japan) اندازه‌گیری شد و از اپکس ریشه عبور کرد. سپس ۱ میلی‌متر از طول ریشه کم

شمارش کلونی‌های میکروبی (CFU) بررسی شدند [۳۲] (تصاویر شماره ۲ و ۳).

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

نتایج مطالعه با استفاده از روش‌های آمار توصیفی (میانگین ± انحراف معیار) گزارش شد. مقایسه میزان رشد باکتری در گروه‌ها با توجه به غیرنرمال بودن توزیع داده‌ها، با استفاده از آزمون کروسکال والیس انجام شد. نرمالیتی داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنوف بررسی شد. آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار Spss نسخه ۲۵ انجام و سطح معنی‌داری $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

مطالعه حاضر از نوع in-vitro بوده و روی ۲۵ دندان قدامی کشیده‌شده انسان با فالوآپ ۹۰ روزه انجام شد. بررسی اثر ضد میکروبی شست‌وشو دهنده‌های گوناگون بعد از پر کردن کانال ریشه علیه باکتری انتروکوکوس فکالیس، از طریق کشت براده‌های عاجی ۱/۳ میلی‌متری ریشه دندان در محیط کشت TSA و سپس کشت روی محیط TSA و در نهایت بررسی محیط‌های کشت TSA برای شمارش کلونی (CFU) انجام شد.

نتایج آمار توصیفی برای گروه‌های گوناگون در جداول شماره ۱ تا ۴ ارائه شده است که نشان‌دهنده میانگین تعداد کلونی باکتری در ۵ پلیت مربوط به هر شست‌وشو دهنده، انحراف معیار، کمترین و بیشترین تعداد کلونی موجود بین ۵ پلیت هر گروه مورد مطالعه است (در صورت کشت کامل باکتری در پلیت، تعداد ۱۰۰ هزار کلونی باکتری در نظر گرفته شده است).

نتایج مربوط به میکروامولسیون آویشن ۰/۶ درصد در جدول شماره ۱ ارائه شده است. میانگین تعداد کلونی در این گروه ۸۰ هزار با انحراف معیار ۴۴۷۲۱ گزارش شد. بیشترین میزان تعداد کلونی در گروه میکروامولسیون آویشن ۰/۶ درصد تعداد ۱۰۰ هزار کلونی بود که در ۴ پلیت مشاهده شد. همچنین در یکی از پلیت‌ها کلونی باکتری رشد نکرده بود. تأثیر ضد میکروبی این شوینده روی باکتری انتروکوکوس فکالیس ۲۰ درصد بوده و ۸۰ درصد تأثیر روی رشد این باکتری نداشت.

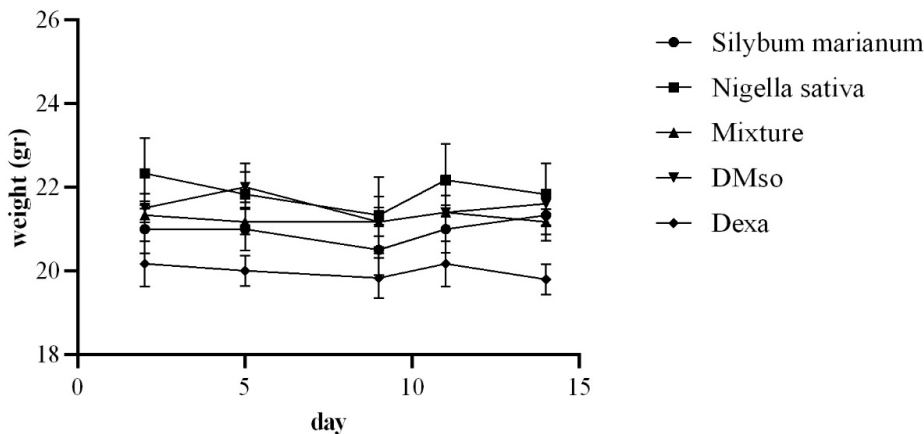
نتایج مربوط به میکروامولسیون مورد ۱۰ درصد در جدول شماره ۲ ارائه شده است. میانگین تعداد کلونی در این گروه ۱۱۳۷۶ با انحراف معیار ۱۸۵۶۸ گزارش شد. بیشترین تعداد کلونی باکتری در این گروه ۴۳۲۰۰ بود؛ همچنین در دو پلیت دیگر تعداد ۱۲۶۰۰ و ۱۰۸۰۰ کلونی مشاهده شد و در ۲ پلیت، کلونی باکتری مشاهده نشد. تأثیر ضد میکروبی این شوینده روی باکتری انتروکوکوس فکالیس ۸۸ درصد بوده و ۱۲ درصد تأثیر روی رشد این باکتری نداشت.

شد و به عنوان طول کارکرد ثبت شد. پاک‌سازی و شکل‌دهی کانال به روش استپ یک بود؛ بدین‌گونه که ۱/۳ اپیکالی تا فایل ۳۵ (Mani, Tochigi, Japan) فایل شد و ۱/۳ میلی و تاجی به وسیله گیتس گلیدن سایز ۲ و ۳ (Mani, Tochigi, Japan) آماده‌سازی شد. برای حذف لایه اسمیر از ۳ میلی‌لیتر محلول هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵ درصد به مدت ۳ دقیقه و سپس از ۳ میلی‌لیتر محلول EDTA ۱۷ درصد (Meta Biomed Co, Ltd, Chungbuk, Korea) به مدت ۳ دقیقه [۲۹] و در نهایت از نرمال سالین برای حذف رسوب حاصل از واکنش استفاده شد. برای استریل کردن، دندان‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد [۳۰]. سپس دندان‌ها به سوسپانسیون باکتری انتروکوکوس فکالیس [۳۱] (استفاده از محیط کشت نوترینت برات و گلوکز به نسبت ۱ مک فارلند) آغشته شده (به جز در گروه کنترل منفی) و به مدت ۲ روز در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

دندان‌ها به روش انتخاب تصادفی، به ۵ گروه (هر گروه شامل ۵ دندان) تقسیم شدند: گروه اول با ماده سدیم هیپوکلریت ۲/۵ درصد، گروه دوم با میکروامولسیون مورد ۱۰ درصد و گروه سوم با میکروامولسیون آویشن ۰/۶ درصد شست‌وشو داده شدند، به همراه گروه کنترل مثبت (آغشته‌سازی به سوسپانسیون باکتری انتروکوکوس فکالیس و شست‌وشو با نرمال سالین) و گروه کنترل منفی (آغشته نشدن به سوسپانسیون باکتری انتروکوکوس فکالیس و شست‌وشو با نرمال سالین) [۱۹] (تصویر شماره ۱).

در تمام گروه‌ها کانال دندان با استفاده از سرنگ و سوزن استریل گیج ۲۷، به صورت غیرفعال و به مدت ۳۰ ثانیه با محلول موردنظر شست‌وشو شد. دندان‌ها با گوتاپرکا (Meta Biomed AH26 (Dentsply Ma Co, Ltd, Chungbuk, Korea) و سیلر illerfer, Ballaigues, Switzerland) به روش تراکم جانبی پر شدند و به مدت ۹۰ روز در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. در ادامه ۱/۳ تاجی و اپیکالی ریشه قطع شد و از ۱/۳ میلی براده‌های عاجی به میزان ۲ میلی‌گرم نمونه گرفته شد [۲۹]. سپس نمونه‌ها در ۲ سی‌سی از محیط کشت TSB (Trypticase Soy Broth) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) داخل لوله پلاستیکی استریل درب‌دار کشت داده شدند و به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس لوله‌های آزمایش برای یک‌دست شدن محیط کشت، ورتکس شد. با استفاده از لوپ استاندارد به میزان ۰/۱ سی‌سی از محیط کشت TSB برداشته و در سه زاویه متفاوت و از بالا به پایین روی محیط کشت TSA (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) کشت داده شد. پس از آن پلیت‌های حاوی محیط کشت TSA کشت داده شده به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در پایان محیط‌های کشت با استفاده از دستگاه Colony Counter برای

1. Trypticase Soy Agar



تصویر ۱. آغشته‌سازی دندان‌ها به سوسپانسیون باکتری انتروکوکوس فکالیس

نتایج مربوط به هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد در جدول شماره ۳ ارائه شده است. میانگین تعداد کلونی در این گروه ۶۷۲۰ با انحراف معیار ۱۰۹۵۲ گزارش شد. این گروه کمترین درصد کشت مثبت را داشت به طوری که تنها دو نمونه دارای کلونی با مقادیر ۲۵۲۰۰ و ۸۴۰۰ مشاهده شد و در ۳ پلیت دیگر کلونی باکتری یافت نشد. تأثیر ضد میکروبی این شوینده روی باکتری انتروکوکوس فکالیس ۹۳ درصد بوده و ۷ درصد تأثیری روی رشد این باکتری نداشت.

نتایج مربوط به گروه کنترل منفی و مثبت نیز در جدول شماره ۴ ارائه شده است. میانگین تعداد کلونی در گروه کنترل مثبت ۴۵۲۵۶ با انحراف معیار ۵۰۸۴۴ و در گروه کنترل منفی با میانگین ۴۸۰۰ و انحراف معیار ۱۰۷۳۳ گزارش شد. در گروه کنترل مثبت، میکروب در تمام نمونه‌ها کشت داده شد، اما به دلیل بروز خطا، در گروه کنترل منفی یک نمونه دارای ۲۴ هزار کلونی مشاهده شد.

مقایسه بین میانگین واحد تشکیل کلونی (CFU) بین گروه‌ها با آزمون کروسکال والیس به دلیل غیرنرمال بودن داده‌ها انجام گرفت. نتایج نشان داد میانگین این میزان بین گروه‌ها دارای اختلاف معنادار نبود ($P=0/075$).

بحث

یک درمان ریشه موفق از سه مرحله پاک‌سازی و شکل‌دهی کانال، ضد عفونی کردن و پر کردن فضای سه‌بعدی آن تشکیل شده است [۳۳، ۳۴]. پس از پاک‌سازی و شکل‌دهی کانال برای جلوگیری از کلونیزاسیون میکروارگانیسم‌های دهان و آلودگی مجدد بافت‌های پری آپیکال و فضای داخل ریشه، سیل کامل کانال ریشه ضروری است [۳۵]. انتروکوکوس فکالیس یک میکروارگانیسم گرم مثبت بی‌هوازی اختیاری است که به علت



دارا بودن فاکتورهای ویرولاکس گوناگون، از مقاوم‌ترین گونه‌های داخل کانال ریشه است و گونه میکروبی غالب در اکثر موارد شکست درمان ریشه است [۳۶، ۳۷]. با توجه به مقاوم شدن باکتری‌ها نسبت به داروهای ساختگی شیمیایی و نیاز به تولید انواع مواد ضد میکروبی گیاهی، در این مطالعه اثر ضد میکروبی میکروامولسیون آویشن ۰/۶ درصد، میکروامولسیون مورد ۱۰ درصد و هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد علیه باکتری انتروکوکوس فکالیس پس از پر کردن کانال ریشه بررسی شد.

آویشن به علت دارا بودن ترکیباتی مانند فلاونوئید، ساپونین و مواد تلخ خاصیت ضدباکتریایی دارد [۳۸، ۳۹]. همچنین مانع رشد باکتری‌ها در حفره دهان می‌شود و توانایی جلوگیری از عفونت‌های دندانی را دارد [۱۲، ۱۳]. همچنین گیاه مورد به علت دارا بودن ترکیبات پلی فنولیک و اسانس، خاصیت ضدباکتریایی علیه پاتوژن‌های اندودنتیک دارد [۱۹]. بنابراین این دو گیاه برای بررسی خاصیت ضدباکتریایی در این مطالعه انتخاب شدند. هیپوکلریت سدیم یک ماده مرسوم برای شست‌وشو داخل کانال است و خواص ضدباکتریایی آن به واسطه وجود اسیدهیپوکلرو است [۲۰، ۲۱] و به علت قیمت ارزان، در دسترس بودن و ماندگاری بالای آن [۲۲، ۲۳] در این مطالعه انتخاب شد. هیپوکلریت سدیم در غلظت‌های بالا مثل ۵/۲۵ درصد قادر به حل کردن بافت‌های زنده نیز است که امکان تحریک بافتی آن بیشتر می‌شود. در غلظت‌های ۲/۵ درصد از قابلیت تجزیه بافتی آن کم شده ولی اثر ضد میکروبی آن تفاوتی نمی‌کند. استفاده از حجم وسیع آن باعث جبران خاصیت حل‌کنندگی‌اش می‌شود [۳۶].

نتایج مطالعه حاضر نشان داد بیشترین میانگین تعداد کلونی در گروه میکروامولسیون آویشن ۰/۶ درصد و کمترین میزان در گروه هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد است. میانگین میزان تعداد کلونی بین گروه‌ها از نظر آماری دارای اختلاف معنادار نبود.



تصویر ۲. کلونی‌های باکتری کشت‌شده



بیشترین تأثیر ضد میکروبی (هیپوکلریت سدیم) با مطالعه حاضر همسو بوده، ولی از نظر معناداری نتایج در یک راستا نبود، دلیل غیر همسو بودن نتایج این دو مطالعه را می‌توان در نظر گرفتن غلظت‌های متفاوت (۲/۵ و ۵/۲۵ درصد) برای هیپوکلریت سدیم، حجم نمونه زیاد (۱۲۰ دندان) و تهیه نمونه توسط مخروطی کاغذی از فضای لومن و به وسیله گیتس گلیدن از توبول‌های عاجی در مطالعه نورزاده دانست.

نورزاده و همکاران به مقایسه اثر ضد میکروبی اکالیپتوس، مورد، کلرهگزیدین و هیپوکلریت سدیم پرداختند. مطالعه آن‌ها تأثیر ضد میکروبی هیپوکلریت سدیم در دو غلظت ۲/۵ درصد و ۵/۲۵ درصد و مورد را قابل قبول گزارش کرد، به طوری که بیش از ۹۹ درصد باکتری‌های داخل کانال ریشه را کاهش داده بود. همچنین نشان داد هیپوکلریت سدیم با غلظت ۵/۲۵ درصد بیشترین تأثیر ضد میکروبی را داشت ($P < 0/05$) [۱۹]. نتایج این مطالعه از نظر

جدول ۱. آمار توصیفی میکرومولسیون آویشن ۰/۶ درصد

گروه	میانگین \pm انحراف معیار	کمترین	بیشترین
میکرومولسیون آویشن ۰/۶ درصد	۸۰۰۰۰ \pm ۴۴۷۲۱	۰	۱۰۰۰۰۰



جدول ۲. آمار توصیفی میکرومولسیون مورد ۰۱ درصد

گروه	میانگین \pm انحراف معیار	کمترین	بیشترین
میکرومولسیون مورد ۱۰ درصد	۱۱۳۷۶ \pm ۱۸۵۶۸	۰	۳۳۲۰۰



شوینده داخل کانال ریشه دندان پرداخت. آن‌ها گزارش کردند میانگین تعداد باکتری‌های زنده (انتروکوکوس فکالیس) پس از ۵ دقیقه مواجهه با محلول‌های اسطوخودوس به طور معناداری کاهش یافت. تفاوت معنی‌داری بین زمان‌های گوناگون در گروه هیپوکلریت سدیم ملاحظه شد که این تفاوت بین ۵ و ۱۵ دقیقه معنی‌دار بود اما بین زمان‌های گوناگون در گروه کلرهگزیدین گلوکونات تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. مقایسه میانگین تعداد باکتری‌های زنده بین گروه‌های متفاوت در زمان‌های متفاوت، حاکی از تفاوت معنی‌دار محلول‌های اسطوخودوس و هیپوکلریت سدیم پس از ۵ و ۱۰ دقیقه بود [۴۰]. در زمان‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه پس از مواجهه با محلول شست‌وشودهنده، هیپوکلریت سدیم بیشترین خاصیت ضد میکروبی را داشت که با نتایج مطالعه حاضر در یک راستاست.

مختاری و همکاران در مطالعه‌ای به مقایسه اثر ضد میکروبی شوینده‌های یدور پتاسیم یدید ۲ درصد، کلرهگزیدین ۲ درصد و هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد علیه باکتری انتروکوکوس فکالیس، پس از پر کردن کانال ریشه پرداختند و گزارش کردند در بررسی

یاقوتی خراسانی و همکاران اثرات ضد میکروبی پرسیکا و کلرهگزیدین با هیپوکلریت سدیم علیه باکتری انتروکوکوس فکالیس و کاندیدا آلبیکانس را مطالعه کردند. آن‌ها گزارش کردند، تأثیر هیپوکلریت سدیم نسبت به غلظت‌های به کار رفته از کلرهگزیدین و پرسیکا به طور معنی‌داری در مهار رشد میکروارگانیسم‌های مطالعه شده بیشتر بود ($P < 0/001$). به طور کلی میکروارگانیسم‌های مطالعه شده نسبت به هیپوکلریت سدیم بسیار حساس بودند و با کاهش غلظت کلرهگزیدین از حساسیت میکروارگانیسم‌ها کاسته شد. درباره پرسیکا نیز حساسیتی وجود نداشت [۳۹]. این مطالعه از نظر بیشترین خاصیت ضد میکروبی (هیپوکلریت سدیم) با مطالعه حاضر همسوست ولی از نظر معناداری نتایج با آن در یک راستا نبود که دلیل آن می‌تواند استفاده از میکروارگانیسم‌های انتروکوکوس فکالیس و کاندیدا آلبیکانس و روش تست انتشار دیسک (تست کربی) در مطالعه یاقوتی خراسانی باشد.

مطالعه مهماندوست و همکاران به مقایسه اثر ضد باکتریایی عصاره اسطوخودوس، هیپوکلریت سدیم و کلرهگزیدین به عنوان

جدول ۳. آمار توصیفی هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد

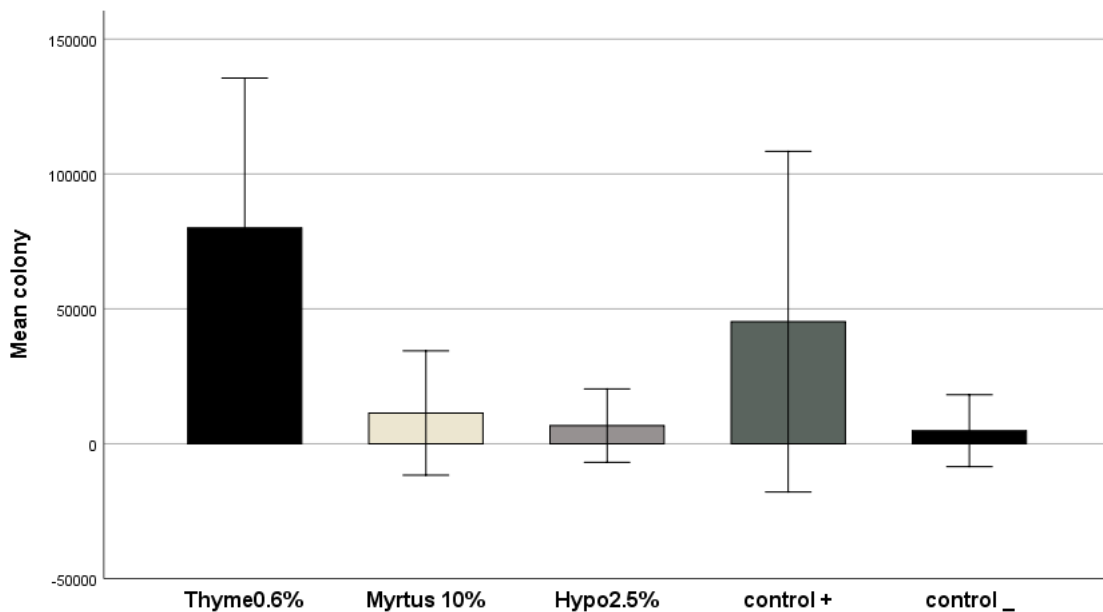
گروه	میانگین \pm انحراف معیار	کمترین	بیشترین
هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد	۶۷۲۰ \pm ۱۰۹۵۲	۰	۲۵۲۰۰



جدول ۴. آمار توصیفی گروه کنترل مثبت و منفی

گروه	میانگین \pm انحراف معیار	کمترین	بیشترین
کنترل +	۴۵۲۵۶ \pm ۵۰۸۴۴	۲۲۸۰	۱۰۰۰۰۰
کنترل -	۴۸۰۰ \pm ۱۰۷۳۳	۰	۲۴۰۰۰





تصویر ۳. میانگین میزان کلونی در گروه‌های مختلف

صاحبی و همکاران به مقایسه اثر ضدباکتریایی هیپوکلریت سدیم و محلول آلوئه‌ورا که شست‌وشو دهنده کانال ریشه در دندان‌های کشیده شده انسان علیه باکتری انتروکوکوس فکالیس است پرداختند و گزارش کردند که اثر ضدباکتریایی هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد خیلی بیشتر از آلوئه‌ورا و نرمال سالین بود، همچنین بین اثر ضدباکتریایی آلوئه‌ورا و نرمال سالین اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. آن‌ها آلوئه‌ورا را به عنوان شوینده کانال ریشه پیشنهاد نکردند [۴۲، ۳۶] که با نتایج مطالعه حاضر در یک راستاست.

نیلیما آر توسار و همکاران در یک مطالعه آزمایشگاهی خاصیت ضد میکروبی دو سیلر اندودنتیک زینک اکساید اوزنول و زینک اکساید به همراه روغن آویشن را علیه میکروارگانیسم‌های داخل کانال ریشه بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که زینک اکساید به همراه روغن آویشن در کاهش باکتری‌ها مؤثرتر است [۴۳]. گزارش آن‌ها با مطالعه حاضر در یک راستا نیست؛ علت این غیرهمسو بودن می‌تواند استفاده از انواع گوناگون باکتری‌ها (باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلاسی، انتروکوکوس فکالیس و سودوموناس آئروژنوزا) در بررسی اثر ضدباکتریایی روغن آویشن و روش کار متفاوت باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج می‌توان گفت هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد بیشترین خاصیت ضد میکروبی علیه انتروکوکوس فکالیس را داشته و کمترین میزان رشد کلونی را نشان داد؛ در حالی که میکروامولسیون مورد ۱۰ درصد و میکروامولسیون آویشن ۰/۶ درصد پس از آن در رتبه‌های دوم و سوم قرار گرفتند.

و مقایسه توزیع فراوانی نتیجه کشت در بین ۳ گروه اختلاف معنی‌داری دیده نشد. بیشترین مقدار کشت مثبت مربوط به گروه شست‌وشو داده شده با یدور پتاسیم یدید (۲۳/۳ درصد) و کمترین مقدار کشت مثبت مربوط به گروه شست‌وشو داده شده با کلرهگزیدین (۱۶/۷ درصد) بود [۲۹]. نتایج آماری این مطالعه همسو با نتایج مطالعه حاضر گزارش شد.

قهرمانی و همکاران به مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره باریجه و مورد با هیپوکلریت سدیم و محلول کلرهگزیدین در برابر میکروارگانیسم‌های مقاوم به درمان ریشه پرداختند و گزارش کردند که در غلظت‌های کم، عصاره مورد در برابر هر دو باکتری مؤثرتر از هیپوکلریت سدیم و کلرهگزیدین بود اما در برابر کاندیدا آلبیکنس تأثیر کمتری نشان داد. همچنین عصاره باریجه در غلظت‌های پایین‌تر، نسبت به کلرهگزیدین و هیپوکلریت سدیم مؤثرتر بود و فعالیت ضد میکروبی عصاره باریجه بیشتر از مورد نشان داده شد [۴۱]. نتایج مطالعه آن‌ها با مطالعه حاضر در یک راستا نبود. دلیل این تناقض می‌تواند استفاده از میکروارگانیسم‌های انتروکوکوس فکالیس، استافیلوکوکوس اورئوس و کاندیدا آلبیکنس در مطالعه قهرمانی باشد.

عباس‌زادگان و همکاران اثر ضد میکروبی یدور پتاسیم یدید و هیپوکلریت سدیم که ماده شست‌وشو دهنده در کانال‌های ریشه عفونی است را با هم مقایسه کردند و گزارش دادند هیپوکلریت سدیم قادر به کاهش ۹۰ درصدی کلونی باکتری تا پایان درمان بود، در حالی که یدور پتاسیم یدید کاهش ۱۵ درصدی را نشان داد [۴۲]. نتایج این مطالعه نیز از نظر کاهش کلونی‌ها در گروه هیپوکلریت سدیم همسو با مطالعه حاضر گزارش شد.

پیشنهاد می‌شود در مطالعاتی که در آینده پیرامون همین موضوع صورت خواهد گرفت از انواع متفاوت میکروارگانسیم‌ها برای انجام این مطالعه استفاده شود؛ از غلظت‌های گوناگون (رقیق‌تر و غلیظ‌تر) هیپوکلریت سدیم، آویشن و مورد استفاده شود. تأمین تعداد نمونه، دشواری دسترسی به تجهیزات لازم برای اجرای مطالعه، حساس بودن انجام مراحل تکنیکی و آنالیز میکروبی آن‌ها و کمبود امکانات مالی از جمله محدودیت‌های پژوهش حاضر بودند.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مطالعه با کد اخلاق IR.ARAKMU.REC.1398.297 به تصویب کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک رسید.

حامی مالی

این تحقیق هیچ کمک مالی خاصی از سازمان‌های تأمین مالی در بخش‌های دولتی، تجاری یا غیرانتفاعی دریافت نکرده است.

مشارکت نویسندگان

تمامی نویسندگان به یک اندازه در نگارش مقاله مشارکت داشتند.

تعارض منافع

نویسندگان تصریح می‌کنند هیچ‌گونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

از همکاری‌های دانشگاه علوم پزشکی اراک در انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

References

- [1] Siren E, Haapasalo M, Ranta K, Salmi P, Kerosuo E. Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. *Int Endod J*. 1997; 30(2):91-5. [DOI:10.1111/j.1365-2591.1997.tb00680.x] [PMID]
- [2] Plotino G, Cortese T, Grande NM, Leonardi DP, Di Giorgio G, Testarelli L, et al. New technologies to improve root canal disinfection. *Braz Dent J*. 2016; 27(1):3-8. [DOI:10.1590/0103-6440201600726] [PMID]
- [3] Kayaoglu G, Ørstavik D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2004; 15(5):308-20. [DOI:10.1177/154411130401500506] [PMID]
- [4] 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. [DOI:10.1016/j.joen.2005.10.049] [PMID]
- [5] Kishen A, Sum C-P, Mathew S, Lim C-T. Influence of irrigation regimens on the adherence of *Enterococcus faecalis* to root canal dentin. *J Endod*. 2008; 34(7):850-4. [DOI:10.1016/j.joen.2008.04.006] [PMID]
- [6] Basrani BR, Manek S, Sodhi RN, Fillery E, Manzur A. Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. *J Endod*. 2007; 33(8):966-9. [DOI:10.1016/j.joen.2007.04.001] [PMID]
- [7] Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod*. 2006; 32(5):389-98. [DOI:10.1016/j.joen.2005.09.014] [PMID]
- [8] Palombo EA. Traditional medicinal plant extracts and natural products with activity against oral bacteria: Potential application in the prevention and treatment of oral diseases. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2011; 2011:680354. [DOI:10.1093/ecam/nep067] [PMID] [PMCID]
- [9] Ambareen Z, Chinappa A. Go green-keep the root canal clean. *Int J Dent Sci Res*. 2014; 2(6B):21-5. [DOI:10.12691/ijdsr-2-6B-7]
- [10] Meeker HG, Linke HA. The antibacterial action of eugenol, thyme oil, and related essential oils used in dentistry. *Compendium*. 1988; 9(1): 32, 34-35, 38 passim. [PMID]
- [11] Shapiro S, Guggenheim B. The action of thymol on oral bacteria. *Oral Microbiol Immunol*. 1995; 10(4):241-6. [DOI:10.1111/j.1399-302X.1995.tb00149.x] [PMID]
- [12] Yu D, Pearson SK, Bowen WH, Luo D, Kohut BE, Harper DS. Caries inhibition efficacy of an antiplaque/antigingivitis dentifrice. *Am J Dent*. 2000; 13(Spec No):14C-7. [PMID]
- [13] Burt S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *Int J Food Microbiol*. 2004; 94(3):223-53. [DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022] [PMID]
- [14] Bagamboula C, Uyttendaele M, Debevere J. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiol*. 2004; 21(1):33-42. [DOI:10.1016/S0740-0020(03)00046-7]
- [15] Didry N, Dubreuil L, Pinkas M. Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyde and eugenol on oral bacteria. *Pharm Acta Helv*. 1994; 69(1):25-8. [DOI:10.1016/0031-6865(94)90027-2]
- [16] Ultee A, Kets EP, Smid EJ. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl Environ Microbiol*. 1999; 65(10):4606-10. [DOI:10.1128/AEM.65.10.4606-4610.1999] [PMID] [PMCID]
- [17] Yassini Ardakani SA. [Antimicrobial and antioxidant effects of Polypropylene films containing Myrtle and Rosemary extract on mayonnaise packaging (Persian)]. *Food Sci Technol*. 2020; 16(97):113-26. [DOI:10.29252/fsct.16.97.113]
- [18] Nourzadeh M, Amini A, Fakoor F, Roof M, Shariffar F. Comparative antimicrobial efficacy of *Eucalyptus galbica* and *Myrtus communis* L. extracts, chlorhexidine and sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis*. *Iran Endod J*. 2017; 12(2):205-10. [DOI: 10.22037/iej.2017.40]
- [19] Siqueira Jr J, Machado A, Silveira R, Lopes H, De Uzeda M. Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal, in vitro. *Int Endod J*. 1997; 30(4):279-82. [DOI:10.1046/j.1365-2591.1997.00096.x] [PMID]
- [20] Mohammadi Z, Shalavi S, Giardino L, Palazzi F, Asgary S. Impact of ultrasonic activation on the effectiveness of sodium hypochlorite: A review. *Iran Endod J*. 2015; 10(4):216-20. [DOI: 10.7508/iej.2015.04.001]
- [21] Sabala CL, Powell SE. Sodium hypochlorite injection into periapical tissues. *J Endod*. 1989; 15(10):490-2. [DOI:10.1016/S0099-2399(89)80031-7]
- [22] Becking AG. Complications in the use of sodium hypochlorite during endodontic treatment: Report of three cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1991; 71(3):346-8. [DOI:10.1016/0030-4220(91)90313-2]
- [23] Sim T, Knowles J, Ng YL, Shelton J, Gulabivala K. Effect of sodium hypochlorite on mechanical properties of dentine and tooth surface strain. *Int Endod J*. 2001; 34(2):120-32. [DOI:10.1046/j.1365-2591.2001.00357.x] [PMID]
- [24] Kleier DJ, Averbach RE, Mehdipour O. The sodium hypochlorite accident: experience of diplomates of the American Board of Endodontics. *J Endod*. 2008; 34(11):1346-50. [DOI:10.1016/j.joen.2008.07.021] [PMID]
- [25] Frough-Reyhani M, Ghasemi N, Soroush-Barhaghi M, Amini M, Gholizadeh Y. Antimicrobial efficacy of different concentration of sodium hypochlorite on the biofilm of *Enterococcus faecalis* at different stages of development. *J Clin Exp Dent*. 2016; 8(5):e480-4. [DOI:10.4317/jced.53158] [PMID] [PMCID]
- [26] Pourhajibagher M, Chiniforush N, Shahabi S, Palizvani M, Bahador A. Antibacterial and antibiofilm efficacy of antimicrobial photodynamic therapy against intracanal *Enterococcus faecalis*: An in vitro comparative study with traditional endodontic irrigation solutions. *J Dent (Tehran)*. 2018; 15(4):197-204. [PMCID]
- [27] Mohamed E, Fathieh S, Farzaneh T, Homeira B. Effect of different irrigation solutions on the apical sealing ability of different single-cone obturation systems: An in vitro study. *J Contemp Dent Pract*. 2019; 20(2):158-65. [DOI:10.5005/jp-journals-10024-2491] [PMID]
- [28] Mokhtari F, Abadi AHM, Jahromi AG, Anvar E, Hengame Z, Mehdi TZ, et al. [Comparison of antimicrobial activity of sodium hypochlorite 2.5%, iodine potassium iodide 2%, and chlorhexidine 2% on the enterococcus faecalis after root canal filling (Persian)]. *J Dent Med*. 2015; 28(3):200-6. https://jdm.tums.ac.ir/browse.php?a_id=5406&sid=1&slc_lang=en
- [29] Janani M, Jafari F, Samiei M, Lotfipour F, Nakhband A, Ghasemi N, et al. Evaluation of antibacterial efficacy of photodynamic therapy vs. 2.5% NaOCl against *E. faecalis*-infected root canals using real-time PCR technique. *J Clin Exp Dent*. 2017; 9(4):e539-44. [DOI:10.4317/jced.53526] [PMID] [PMCID]
- [30] Gambin DJ, Leal LO, Farina AP, Souza MA, Cecchin D. Antimicrobial activity of glycolic acid as a final irrigant solution for root canal preparation. *Gen Dent*. 2020; 68(1):41-4. [PMID]
- [31] Eneide C, Castagnola R, Martini C, Grande NM, Bugli F, Patini R, et al. Antibiofilm activity of three different irrigation techniques: An in vitro study. *Antibiotics (Basel)*. 2019; 8(3):112. [DOI:10.3390/antibiotics8030112] [PMID] [PMCID]

- [32] Saunders WP, Saunders EM. Comparison of three instruments in the preparation of the curved root canal using the modified double-flared technique. *J Endod.* 1994; 20(9):440-4. [DOI:10.1016/S0099-2399(06)80034-8]
- [33] Tanomaru-Filho M, Bier CAS, Tanomaru JMG, Barros DB. Evaluation of the thermoplasticity of different gutta-percha cones and the TC system. *J Appl Oral Sci.* 2007; 15(2):131-4. [DOI:10.1590/S1678-77572007000200011] [PMID] [PMCID]
- [34] Bouillaguet S, Shaw L, Barthelemy J, Krejci I, Wataha J. Long-term sealing ability of pulp canal sealer, AH-Plus, GuttaFlow and epiphany. *Int Endod J.* 2008; 41(3):219-26. [DOI:10.1111/j.1365-2591.2007.01343.x] [PMID]
- [35] Frough Reyhani M, Rahimi S, Fathi Z, Shakouie S, Salem Milani A, Soroush Barhaghi MH, et al. Evaluation of Antimicrobial Effects of Different Concentrations of Triple Antibiotic Paste on Mature Biofilm of *Enterococcus faecalis*. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects.* 2015; 9(3):138-43. [DOI:10.15171/joddd.2015.027] [PMID] [PMCID]
- [36] YaghootiKhorasani M, Assar S, RezaHoseini O. [Comparison of antimicrobial effects of persica® and chlorhexidine with sodium hypochlorite on *enterococcus faecalis* and *Candida Albicans*: an in vitro study (Persian)]. *J Mashhad Dent School.* 2010; 34(2):153-60. https://jmds.mums.ac.ir/?_action=articleInfo&article=1200&lang=en
- [37] Burnie D. *Wild flowers of the mediterranean.* London: Dorling Kindersley; 1995. <https://vpl.bibliocommons.com/v2/record/S38C576412>
- [38] Gomes B, Ferraz C, ME V, Berber V, Teixeira F, Souza-Filho F. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J.* 2001; 34(6):424-8. [DOI:10.1046/j.1365-2591.2001.00410.x] [PMID]
- [39] YaghootiKhorasani M, Assar S, RezaHoseini O. [Comparison of antimicrobial effects of persica® and chlorhexidine with sodium hypochlorite on *enterococcus faecalis* and *Candida Albicans*: An in vitro study (Persian)]. *J Mashhad Dent Sch.* 2010; 34(2):153-60. [DOI:10.22038/JMDS.2010.1200]
- [40] Mehmandoust P, Farhadmollashahi N, Ghasemi A. Antibacterial efficacy of *lavandula officinalis* extract, sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate solutions as root canal irrigations: A comparative analysis. *Caspian J Dent Res.* 2016; 5(1):14-20. [DOI:10.22088/cjdr.5.1.14]
- [41] Ghahremani Y, Abbaszadegan SA, Gholami A, Nabavizadeh M. [Comparison of antimicrobial effect of Barijeh and case plant extracts with sodium hypochlorite and chlorhexidine solution against root-resistant microorganisms (Persian)]. 16th International Conference of the Iranian Endodontists Association, 2014 August 13, 14, Esfahan, Iran. <https://www.sid.ir/fa/seminar/ViewPaper.aspx?ID=43058>
- [42] Abbaszadegan A, Khayat A, Motamedifar M. Comparison of antimicrobial efficacy of IKI and NaOCl irrigants in infected root canals: An in vitro study. *Iran Endod J.* 2010; 5(3):101-6. [PMCID]
- [43] Sahebi S, Khosravifar N, SedighShamsi M, Motamedifar M. Comparison of the antibacterial effect of sodium hypochlorite and aloe vera solutions as root canal irrigants in human extracted teeth contaminated with *enterococcus faecalis*. *J Dent (Shiraz).* 2014; 15(1):39-43. [PMCID]
- [44] Thosar NR, Chandak M, Bhat M, Basak S. Evaluation of antimicrobial activity of two endodontic sealers: Zinc oxide with thyme oil and zinc oxide eugenol against root canal microorganisms-An in vitro study. *Int J Clin Pediatr Dent.* 2018; 11(2):79. [DOI:10.5005/jp-journals-10005-1489] [PMID] [PMCID]

This Page Intentionally Left Blank