

Farklı Kök Kanal Medikamanlarının Antimikrobiyal Etkinliğinin Agar Difüzyon Test Yöntemi ile Değerlendirilmesi

Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Different Root Canal Medicaments by Agar Diffusion Method

Taha ÖZYÜREK,^a
Ebru ÖZSEZER DEMİRYÜREK^a

^aEndodonti AD,
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi, Samsun

Geliş Tarihi/Received: 02.10.2015
Kabul Tarihi/Accepted: 26.11.2015

Yazışma Adresi/Correspondence:
Taha ÖZYÜREK
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi,
Endodonti AD, Samsun,
TÜRKİYE/TURKEY
tahaozyurek@hotmail.com

ÖZET Amaç: Kalsiyum hidroksit, %2 klorheksidin jel ve ikisinin karıştırılmasıyla elde edilen kanal medikamanlarının agar difüzyon test yöntemi ile 24, 48 ve 72. saat dilimlerinde antimikrobiyal etkinliğinin değerlendirilerek karşılaştırılmasıdır. **Gereç ve Yöntemler:** Çalışmamız agar difüzyon test yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Klorheksidin jel, kalsiyum hidroksit ve ikisinin karşımı olarak hazırlanan kök kanal medikamanları kullanıldı. *Enterococcus faecalis* ve *Candida albicans* mikroorganizmaları kullanıldı. Her bir mikroorganizma için üç adet olacak şekilde toplam altı adet petri kutusu hazırlandı. Her petri kutusu içinde bulunan besiyeri üzerinde 5 mm çapında ve 2 mm derinliğinde olacak şekilde üç adet çukur oluşturuldu. Taze olarak hazırlanmış kök kanal medikamanları agar besiyeri üzerine yerleştirildi ve inoküle edildi. 24, 48 ve 72. saat'in sonunda test edilen medikamanlar etrafında oluşan inhibisyon zonları ölçülerek kaydedildi. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi. **Bulgular:** İncelenen kök kanal medikamanlarının *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı gösterdiği antimikrobiyal etkinliğinin gruplar arasında ve incelenen zaman periyotları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği bulundu ($p<0,05$). *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı en fazla inhibisyon zonunun 48 saat sonunda klorheksidin jel grubunda oluştuğu ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($p<0,001$). **Sonuç:** Çalışmamızın sınırları dâhilinde, kök kanal medikamanı olarak kullanılan klorheksidin jelin antimikrobiyal etkinliğinin kalsiyum hidroksit (KH)'den daha iyi olduğu bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Klorheksidin glukonat; kalsiyum hidroksit; endodonti

ABSTRACT Objective: To compare the antimicrobial efficacy of different root canal medicaments by agar diffusion method in 24, 48, and 72 hour time periods. **Material and Methods:** The study was conducted using the agar diffusion test. The medicaments used were chlorhexidine gel, calcium hydroxide, and a mixture of chlorhexidine and calcium hydroxide. *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* microorganisms were used. A total of six petri dishes were prepared for each microorganism to be three units. Three wells were prepared on each petri dish, 5 mm in diameter and 2 mm deep, with the agar medium. The freshly prepared medicaments were placed on the agar plates, which were inoculated with the test microorganisms. After incubation periods of 24, 48, and 72-hours, the zones of the growth inhibition were observed and measured. Data were statistically evaluated. **Results:** The results differed significantly among the tested materials groups ($p<0.05$). The chlorhexidin (CHX) gel group showed significantly larger inhibition zones for both *E. faecalis* and *C. albicans* in the 48-hours time period, when compared to the other experimental groups ($p<0.001$). **Conclusion:** Within the limitations of this study, chlorhexidin (CHX) gel has more antimicrobial effect than calcium hydroxide when used as an intracanal medicament.

Key Words: Chlorhexidine gluconate; calcium hydroxide; endodontics

Türkiye Klinikleri J Dental Sci 2016;22(2):92-6

doi: 10.5336/dentalsci.2015-48173

Copyright © 2016 by Türkiye Klinikleri

G ünümüzde tek seansta uygulanan kök kanal tedavileri, zaman tasarrufu sağlaması ve hastalar tarafından daha kabul edilir olması gibi özelliklerinden dolayı popülerlik kazanmıştır.^{1,2} Ayrıca, nikel-ti-

tanyum döner aletlerin sağladığı hız ve yeni irri-gasyon dinamikleri sayesinde tek seansta yapılan kök kanal tedavileri seanslar arası oluşabilen enfeksiyon riskini azaltmış ve kabul edilebilir bir tedavi hâline gelmiştir.¹ Kök kanal sisteminin biyomekanik olarak şekillendirilmesi sırasında kullanılan mekanik ve kimyasal yöntemlere rağmen, özellikle devital dişlerin dentin tübüllerinde uzaklaştırılmayan bakterilerin varlığı bildirilmiştir.^{3,4} Bu nedenle özellikle devital dişlere uygulanan kök kanal tedavilerinde, birden fazla yapılan tedaviler hâlen geçerliliğini koruyan bir yöntemdir.

Birden fazla uygulanan kök kanal tedavilerinde seanslar arasında kanal medikamanı olarak en çok kullanılan materyal kalsiyum hidroksittir.⁵⁻⁸ Kalsiyum hidroksit, pH'si yaklaşık 12,5 olan güçlü bir alkalın materyaldir. Sudaki çözeltilisinde kalsiyum ve hidroksil iyonlarına ayrılır. Antimikrobiyal aktivitesi, doku çözebilme yeteneği, diş rezorpsiyonlarını önleyebilmesi ve sert doku yapımını uyarması gibi birçok biyolojik özelliğe sahiptir.⁹⁻¹² Bu özelliklerinden dolayı kalsiyum hidroksit, klinikte sıklıkla tercih edilen kök kanal medikamanı olmuştur.¹³ Klorheksidin glukonatin en önemli dezavantajı doku çözücü etkisinin olmamasıdır.¹⁴ Klorheksidin glukonatin dentin tübüllerinin içerisine nüfuz etmesi ve gösterdiği kalıcı etki bu bölgede mikroorganizma üremesini önleyici etki gösterir.¹⁵ White ve ark. klorheksidin glukonat ile yapılan kök kanal irrigasyonunun, dentin tübüllerinin 72 saate kadar tekrar enfekte olmasını önlediğini bildirmişlerdir.¹³

Enterococcus faecalis ve *Candida albicans* gibi fakültatif anaerobik mikroorganizmalar, ağız ortamına karşı dirençli olmaları nedeni ile, başarısız kök kanal tedavilerinin potansiyel sorumlularıdır.¹⁶ Ayrıca, yapılan birçok çalışmada *E. faecalis* ve *C. albicans*'ın kalsiyum hidroksite karşı dirençli olduğu, ancak klorheksidin glukonata karşı duyarlılığı olduğu bildirilmiştir.¹⁷⁻¹⁹

Çalışmamızın amacı kalsiyum hidroksit, %2 klorheksidin jel ve ikisinin karıştırılmasıyla elde edilen kanal medikamanlarının agar difüzyon test yöntemi ile 24, 48 ve 72. saat dilimlerinde antimikrobiyal etkinliğinin değerlendirilerek karşılaştırılmasıdır. Çalışmamızın sıfır hipotezi; farklı kök

kanal medikamanlarının antimikrobiyal etkinliğinin mikroorganizmaya ve zaman dilimine göre değişiklik göstermeyeceği yönündedir.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamızda kalsiyum hidroksit (Sultan; Sultan Chemists, Englewood, NJ, ABD), %2 klorheksidin jel (CHEX; Spot Diş Deposu, İzmir, Türkiye) ve ikisinin ağırlıksal olarak eşit karıştırılmasıyla elde edilen kanal medikamanlarının antimikrobiyal etkinliğini agar difüzyon test yöntemi ile belirlemek için Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalından temin edilen *E. faecalis* ATCC 29212 ve *C. albicans* ATCC 10231 standart bakteri suşları kullanıldı.

Bakteriler Brusella sıvı besi yerinde ekilerek 37°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresinin sonunda sıvı kültür yoğunluğu McFarland dansitometre ile 0,5 McFarland standardına ayarlandı. *E. faecalis*' in sıvı kültürlerinden 100 µL alınarak Mueller-Hinton agara, *C. albicans* ise aynı miktarda Sabouraud Dekstroze agara yayma yöntemiyle ekildi. Cam petri kutuları oda ısısında kurutuldu. Her bir mikroorganizma için üç adet olacak şekilde toplam altı adet petri kutusu hazırlandı. Her petri kutusu içinde bulunan besiyeri üzerinde 5 mm çapında ve 2 mm derinliğinde olacak şekilde üç adet çukur oluşturuldu. Daha sonra üretici firma talimatına uygun olarak hazırlanan kalsiyum hidroksit, %2 klorheksidin jel ve ikisinin karıştırılmasıyla elde edilen kanal medikamanları açılan çukurlara aseptik bir şekilde dolduruldu. Bu işlemi takiben besiyerleri 37°C'de 24, 48 ve 72 saat etüvde bekletildi ve bu zaman dilimleri sonunda çukurlar etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çapları dijital kumpas yardımıyla ölçüldü. Her bir mikroorganizma için üç adet ölçüm yapıldı ve veriler ayrı ayrı kaydedildi.

Çalışmamızda elde edilen verilerin normal dağılım kontrolü Kolmogorov-Smirnov testi ile grup varyanslarının homojenlik kontrolü ise Levene testi ile yapıldı. Daha sonra verilerin istatistiksel analizi için tek yönlü varyans analizinden ve gruplar içi karşılaştırmalarda da Duncan çoklu karşılaştırma testinden yararlanıldı. Çalışmanın istatistik önem düzeyi (α) %5 olarak ayarlandı.

BULGULAR

Test edilen kök kanal medikamanlarının 24, 48 ve 72. saatlerde *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı oluşturdukları inhibisyon zonlarının milimetrik ölçümlerinin ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 1 ve Tablo 2'de görülmektedir.

İncelenen kök kanal medikamanlarının *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı gösterdiği antimikrobiyal etkinliğin gruplar arasında ve incelenen zaman periyotları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği bulundu ($p < 0,05$).

E. faecalis'e karşı en fazla inhibisyonun zonunun 48 saat sonunda klorheksidin jel grubunda olduğu ($12,65 \pm 0,32$) ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($p < 0,001$). *C. albicans*'a karşı ise en fazla inhibisyonun zonunun yine 48 saat sonunda klorheksidinjel grubunda olduğu ($14,67 \pm 0,2$) ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($p < 0,001$).

Kök kanal medikamanlarının 48 saat içinde *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı oluşturdukları inhibisyon zonları incelendiğinde klorheksidin jel grubu hariç diğer gruplarda zamanla birlikte oluşan inhibisyon zonunun azaldığı saptandı. Bu azal-

manın, 24-72. saat dilimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($p < 0,05$).

TARTIŞMA

Kök rezorpsiyonu, travma, perforasyon, hemoraji vb. klinik koşullar nedeni ile kök kanal tedavisini her zaman tek seansta bitirmek mümkün olabilmektedir. Bu durumda seanslar arasında kök kanallarının antimikrobiyal etkinliğe sahip bir kök kanal medikamanı ile kapatılması gerekmektedir.

Kök kanal tedavisinde kullanılan çeşitli materyallerin antimikrobiyal etkinliklerinin değerlendirilmesinde birçok yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemler içerisinde sıklıkla kullanılan metot agar difüzyon yöntemidir.^{20,21} Ancak, agar difüzyon yönteminin uygun besiyerinin seçilmesi, agar viskozitesi, petrideki örneklerin sayısı ve boyutu ile inkübasyon zamanı ve ısı gibi bir takım sınırlamaları olduğu belirtilmiştir.^{22,23} Çalışmamızda test edilen materyallerin antimikrobiyal etkinliklerinin doğrudan karşılaştırmasına olanak sağladığı için agar difüzyon yöntemi tercih edilmiştir.

Kök kanallarında ve periapikal bölgede hastalıkların gelişmesinde aerop, fakültatif aerop ve zorunlu aerop bakteriler rol oynamaktadır.²⁴ Ayrıca,

TABLO 1: Kalsiyum Hidroksit, Klorheksidin jel ve Kalsiyum Hidroksit+ Klorheksidin jel materyallerinin *Enterococcus. faecalis* üzerinde 24, 48 ve 72. saatlerde oluşturdukları inhibisyon zonlarının milimetrik ölçümlerinin ortalama ve standart sapma değerleri.

	24. saat	48. saat	72. saat	P
Kalsiyum Hidroksit	9,35±0,25 ^{ax}	9,25±0,13 ^{ax}	8,25±0,19 ^{ay}	0,013
Klorheksidin Jel	11,06±0,17 ^{bx}	12,65±0,32 ^{by}	10,07±0,39 ^{bx}	0,003
Kalsiyum hidroksit+ Klorheksidin Jel	8,24±0,18 ^{cx}	7,54±0,2 ^{cx}	6,36±0,23 ^{cy}	0,002
P	<0,001	<0,001	<0,001	

^{a, b, c:} Aynı sütunda aynı harfle gösterilen veriler arasında istatistiksel fark yoktur.

^{x, y:} Aynı satırda aynı harfle gösterilen veriler arasında istatistiksel fark yoktur.

TABLO 2: Kalsiyum Hidroksit, Klorheksidin jel ve Kalsiyum Hidroksit+ Klorheksidin jel materyallerinin *Condidio albicans* üzerinde 24, 48 ve 72. saatlerde oluşturdukları inhibisyon zonlarının milimetrik ölçümlerinin ortalama ve standart sapma değerleri.

	24. saat	48. saat	72. saat	P
Kalsiyum Hidroksit	10,34 ± 0,28 ^{ax}	10,24 ± 0,22 ^{ax}	6,44 ± 0,22 ^{ay}	<0,001
Klorheksidin Jel	13,32 ± 0,24 ^{bx}	14,67 ± 0,2 ^{by}	10,05 ± 0,29 ^{bz}	<0,001
Kalsiyum hidroksit+ Klorheksidin Jel	9,68 ± 0,23 ^{cx}	8,44 ± 0,13 ^{cy}	5,87 ± 0,35 ^{cz}	<0,001
P	<0,001	<0,001	<0,001	

^{a, b, c:} Aynı sütunda aynı harfle gösterilen veriler arasında istatistiksel fark yoktur.

^{x, y, z:} Aynı satırda aynı harfle gösterilen veriler arasında istatistiksel fark yoktur.

bu bakteriyel flora içerisinde bulunan *E. faecalis* ve *C. albicans*, başarısız kök kanal tedavilerinde sıklıkla izole edilen ve kök kanal tedavisi sırasında kullanılan birçok antimikrobiyal ajana karşı dayanıklı oldukları yapılan çalışmalarca gösterilmiş olan mikroorganizmalardır.^{24,25} Bu nedenle çalışmamızda kök kanal medikamanlarının antimikrobiyal etkinliğinin karşılaştırılması amacıyla *E. faecalis* ve *C. albicans* mikroorganizmaları seçilmiştir.

Çalışmamızın sonuçlarına göre Kalsiyum hidroksit'in antimikrobiyal etkinliği ilk 24 saatin sonunda yüksek iken, bu etkinliğin 72 saat sonunda her iki mikroorganizmaya karşı istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı belirlenmiştir ($p<0,05$). Yapılan çalışmalarda, çalışmamızı destekler şekilde zamanla birlikte Kalsiyum hidroksit'in antimikrobiyal etkinliğinin azaldığı rapor edilmiştir.^{26,27} Bunun nedeni Kalsiyum hidroksit'in zamanla dilüe olması olabilir.

Literatürde klorheksidin jelin antimikrobiyal etkinliğinin Kalsiyum hidroksitten yüksek olduğu yapılan in vitro çalışmalarda gösterilmiştir.²⁷⁻³¹ Ancak klorheksidin jel ile Kalsiyum hidroksit arasında antimikrobiyal etkinlik açısından fark olmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur.²⁶ Çalışmamızda, klorheksidin jelin her iki mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal etkinliğinin ilk 24 saat sonunda Kalsiyum hidroksit grubundan yüksek olduğu, bu etkinin artarak 48 saat sonunda en yüksek değere ulaştığı ve aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p<0,05$). Zamanla CHX jelin etkinliğinin artmasının, klorheksidin'in rezidüel etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir.³² Delgado ve ark. yaptıkları bir in vitro çalışmada, tek köklü dişlerin kök kanallarını *C. albicans* ile enfekte etmiş ve daha sonra kalsiyum hidroksit, klorheksidin jel ve bu ikisinin karışımının 14 gün sonunda dentin tübüllerinde gösterdiği antimikrobiyal etkiyi değerlendirmişlerdir.³³ Araştırmacılar 0-100 µm tübül derinliğinde ve klorheksidin jel+ kalsiyum hidroksit karışımının kalsiyum hidroksitten istatistiksel olarak daha iyi antimikrobiyal etki gösterdiğini, ancak 100-200 µm tübül derinliğinde test edilen medikamanlar arasında istatistiksel bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda klorheksidin jel bütün zaman

periyotlarında kalsiyum hidroksit ile karışım olarak kullanımına göre daha iyi antimikrobiyal etkinlik göstermiştir. Ancak, klorheksidin jelin dentin tübüllerine difüzyonu sonucunda kök kanalında kalıcı olmayarak iyi bir fiziksel bariyer oluşturmaması nedeni ile sık aralıklarla değiştirilmesi gerekmektedir.²⁸ Gomes ve ark. yaptıkları bir in vitro çalışmada *E. faecalis* ile enfekte ettikleri sıgır dişlerinin kök kanallarını klorheksidin jel, kalsiyum hidroksit ve bu ikisinin karışımı ile 1, 2, 7, 15 ve 30 gün boyunca muamele etmişlerdir.³⁴ Daha sonra araştırmacılar 0-400 µm derinlikten elde ettikleri dentin talaşlarında *E. faecalis* varlığını araştırmışlardır. Araştırmacılar, klorheksidin jelin 1, 2, 7 ve 15. günlerin sonunda *E. faecalis*'i tamamen elimine ettiğini, klorheksidin ve kalsiyum hidroksit karışımının yedi gün sonunda antimikrobiyal etkinliğinin azaldığını, kalsiyum hidroksidin ise hiçbir antimikrobiyal etki göstermediğini rapor etmişlerdir.

Çalışmamızın sonuçlarına göre test edilen medikamanların *E. faecalis*, *C. albicans*'a karşı gösterdikleri antimikrobiyal etkinliklerinin farklı olduğu görülmektedir. Bu nedenden dolayı çalışmamızın sıfır hipotezi reddedilmiştir.

Yapılan in vitro çalışmalarda klorheksidine kalsiyum hidroksit gibi farklı materyallerinin ilavesinin klorheksidin antimikrobiyal etkinliğini düşürdüğü gösterilmiştir.^{27,31,35,36} Çalışmamızda da önceki çalışmalara benzer şekilde, kalsiyum hidroksit ve klorheksidin jel karışımının antimikrobiyal etkinliğinin, karışımı oluşturan materyallerin tek başına sahip oldukları antimikrobiyal etkinlikten daha az olduğu belirlenmiştir. Bu durum, kalsiyum hidroksit ve klorheksidin jelin farklı pH'lara sahip olması ve kalsiyum hidroksit iyonlarının klorheksidin moleküllerine bağlanarak, klorheksidin moleküllerinin serbest salınımını engellemesi sonucunda ortaya çıkmış olabilir.

SONUÇ

Çalışmamızın sınırları dâhilinde, kök kanal medikamanı olarak kullanılan klorheksidin jelin antimikrobiyal etkinliğinin kalsiyum hidroksitten daha iyi olduğu saptanmıştır.

KAYNAKLAR

- Figini L, Lodi G, Gorni F, Gagliani M. Single versus multiple visits for endodontic treatment of permanent teeth: a Cochrane systematic review. *J Endod* 2008;34(9):1041-7.
2. Inamoto K, Kojima K, Nagamatsu K, Hamaguchi A, Nakata K, Nakamura H. A survey of the incidence of single-visit endodontics. *J Endod* 2002;28(5):371-4.
3. Nair PN, Henry S, Cano V, Vera J. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005;99(2):231-52.
4. Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. *J Endod* 1992;18(9):427-30.
5. Gesi A, Hakeberg M, Warfvinge J, Bergenholtz G. Incidence of periapical lesions and clinical symptoms after pulpectomy--a clinical and radiographic evaluation of 1-versus 2-session treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101(3):379-88.
6. Peters LB, Wesselink PR. Periapical healing of endodontically treated teeth in one and two visits obturated in the presence or absence of detectable microorganisms. *Int Endod J* 2002;35(8):660-7.
7. Weiger R, Rosendahl R, Löst C. Influence of calcium hydroxide intracanal dressings on the prognosis of teeth with endodontically induced periapical lesions. *Int Endod J* 2000;33(3):219-26.
8. Yoldas O, Topuz A, Işçi AS, Oztunc H. Post-operative pain after endodontic retreatment: single-versus two-visit treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004;98(4):483-7.
9. Andersen M, Lund A, Andreassen J, Andreassen F. In vitro solubility of human pulp tissue in calcium hydroxide and sodium hypochlorite. *Dent Traumatol* 1992;8(3):104-8.
10. Bystrom A, Claesson R, Sundqvist G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Traumatol* 1985;1(5):170-5.
11. Foreman PC, Barnes IE. A review of calcium hydroxide. *Int Endod J* 1990;23(6):283-97.
12. Tronstad L. Root resorption--etiology, terminology and clinical manifestations. *Endod Dent Traumatol* 1988;4(6):241-52.
13. White RR, Janer LR, Hays GL. Residual antimicrobial activity associated with a chlorhexidine endodontic irrigant used with sodium hypochlorite. *Am J Dent* 1999;12(3):148-50.
14. Lin S, Zuckerman O, Weiss EI, Mazor Y, Fuss Z. Antibacterial efficacy of a new chlorhexidine slow release device to disinfect dentinal tubules. *J Endod* 2003;29(6):416-8.
15. Jeansonne MJ, White RR. A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. *J Endod* 1994;20(6):276-8.
16. Peciuliene V, Reynaud AH, Balciuniene I, Haapasalo M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. *Int Endod J* 2001;34(6):429-34.
17. Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *Int Endod J* 2002;35(3):221-8.
18. Helling I, Sommer M, Steinberg D, Friedman M, Sela MN. Microbiological evaluation of the efficacy of chlorhexidine in a sustained-release device for dentine sterilization. *Int Endod J* 1992;25(1):15-9.
19. White RR, Hays GL, Janer LR. Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. *J Endod* 1997;23(4):229-31.
20. Gomes BP, Pedrosa JA, Jacinto RC, Vianna ME, Ferraz CC, Zaia AA, et al. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of five root canal sealers. *Braz Dent J* 2004;15(1):30-5.
21. 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 Investig* 2001;5(4):236-9.
22. Pumarola J, Berastegui E, Brau E, Canalda C, Jiménez de Anta MT. Antimicrobial activity of seven root canal sealers. Results of agar diffusion and agar dilution tests. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1992;74(2):216-20.
23. Weiss E, Shalhav M, Fuss Z. Assessment of antibacterial activity of endodontic sealers by a direct contact test. *Dent Traumatol* 1996;12(4):179-84.
24. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;85(1):86-93.
25. Fuss Z, Weiss EI, Shalhav M. Antibacterial activity of calcium hydroxide-containing endodontic sealers on *Enterococcus faecalis* in vitro. *Int Endod J* 1997;30(6):397-402.
26. Mozayeni MA, Hadian A, Bakhshaei P, Dianat O. Comparison of antifungal activity of 2% chlorhexidine, calcium hydroxide, and nanosilver gels against *Candida albicans*. *J Dent (Tehran)* 2015;12(2):109-17.
27. Ballal V, Kundabala M, Acharya S, Ballal M. Antimicrobial action of calcium hydroxide, chlorhexidine and their combination on endodontic pathogens. *Aust Dent J* 2007;52(2):118-21.
28. Gomes BP, Sato E, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Evaluation of time required for recontamination of coronally sealed canals medicated with calcium hydroxide and chlorhexidine. *Int Endod J* 2003;36(9):604-9.
29. Gomes BP, Pinheiro ET, Sousa EL, Jacinto RC, Zaia AA, Ferraz CC, et al. *Enterococcus faecalis* in dental root canals detected by culture and by polymerase chain reaction analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;102(2):247-53.
30. Kumar H. An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of *Curcuma longa*, *Tachyspermum ammi*, chlorhexidine gluconate, and calcium hydroxide on *Enterococcus faecalis*. *J Conserv Dent* 2013;16(2):144-7.
31. de Souza-Filho FJ, Soares Ade J, Vianna ME, Zaia AA, Ferraz CC, Gomes BP. Antimicrobial effect and pH of chlorhexidine gel and calcium hydroxide alone and associated with other materials. *Braz Dent J* 2008;19(1):28-33.
32. Komorowski R, Grad H, Wu XY, Friedman S. Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treated bovine root dentin. *J Endod* 2000;26(6):315-7.
33. 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.
34. Gomes BP, Souza SF, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, et al. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. *Int Endod J* 2003;36(4):267-75.
35. Ercan E, Dalli M, Dülgergil CT. In vitro assessment of the effectiveness of chlorhexidine gel and calcium hydroxide paste with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;102(2):e27-e31.
36. Hauman CH, Love RM. Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 1. Intracanal drugs and substances. *Int Endod J* 2003;36(2):75-85.