

## مقایسه‌ی تاثیر کلسیم هیدروکساید و ژل کلرهگزیدین ۲درصد بر میزان آلودگی باکتریایی فضای پست (کارآزمایی بالینی)

دکتر هنگامه اخوان<sup>۱</sup>، دکتر جلیل وند یوسفی<sup>۲</sup>، دکتر مرتضی معطري<sup>۳</sup>، دکتر سهراب طور سوادکوهی<sup>#۱</sup>

۱- استادیار گروه اندودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- میکروبیولوژیست

۳- متخصص درمان ریشه، تهران ایران

وصول مقاله: ۹۷/۲/۲۳ ۹۷/۸/۲۷ پذیرش مقاله: ۹۷/۲/۲۳ اصلاح نهایی: ۹۷/۸/۲۷

### Comparison of the effect of calcium hydroxide and chlorhexidine 2% gel on bacterial contamination of post space

Hengameh Akhavan<sup>1</sup>, Jalil Vandusefi<sup>2</sup>, Morteza Moatari<sup>3</sup>, Sohrab Tour Savadkouhi<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Assistant Professor, Endodontic Dept, Dental faculty, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad university, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Microbiologist

<sup>3</sup>Endodontic specialist, Tehran, Iran

Received: 30 August 2018; Accepted: 22 November 2018

**Background & Aim:** One of the most important problems after post space preparation is its bacterial contamination especially before post placement and its effect on overall treatment success and incidence of dental infections. So the purpose of this study was to compare the effect of calcium hydroxide and chlorhexidine 2% gel on bacterial contamination of post space.

**Material and Methods:** This study was a clinical trial (IRCT2017041232777N1) and was performed as single blinded randomized clinical trial. 45 maxillary incisors from 23 Patients which were corresponded with inclusion criteria were selected and included. After access preparation and WL determination, canals were prepared with Mtwo rotary files till 35/0.06. Sodium hypochlorite was used as irrigant. Finally EDTA was applied to remove smear layer. Canals were obturated by lateral obturation technique with AH26. After post space preparation first sampling was taken and CFU was determined. Then sampled were randomly divided into first experimental group was calcium hydroxide and the second was chlorhexidine 2% gel. The control group had not delivered any medicament. Then teeth were temporized with Cavisol and after two weeks by discharging and neutralizing the medicaments the second sampling was done .then the change of CFU of bacteria was compared using ANOVA test, also TAMHANE test was used to compare groups two by two.

**Results:** In control group s.mutans after two weeks had increased 21%. In calcium hydroxide group these bacteies had decreased with the amount of 34 % and in chlorhexidine group this decrease was 17 % ( $p<0.001$ ). So the most effective medicament against S.mutans was calcium hydroxide. For E.faecalis in control group after two weeks had increased 400 %. In calcium hydroxide group these bacteies had decreased with the amount 35% and in chlorhexidine group this decrease was 98 % ( $p<0.001$ ).

**Conclusion:** It was seems that calcium hydroxide has better efficacy on S.mutans and Chlorhexidine has better efficacy on E.faecalis bacteria in dental post spaces.

**Key word:** Root canal medicament, Calcium hydroxide, bacterial infection, Chlorhexidine

\*Corresponding Author: [s\\_savadkouhi@yahoo.com](mailto:s_savadkouhi@yahoo.com)

J Res Dent Sci. 2019; 15 (4) :190-200.

**خلاصه:**

**سابقه و هدف:** یکی از مهمترین نگرانی‌ها پس از تهیه‌ی فضای پست امکان آلدگی باکتریال این فضا بخصوص تا زمان قرار گرفتن پست و اثر آن بر کاهش موفقیت کلی درمان و بروز عفونت‌های دندانی میباشد. لذا هدف از این مطالعه مقایسه‌ی تاثیر کلسیم هیدروکساید و ژل کلرهگزیدین ۲٪ بر میزان آلدگی باکتریایی فضای پست بود.

**مواد و روشها:** این مطالعه بصورت کارآزمایی بالینی یک سوکور انجام شد. ۴۵ دندان قدامی ماگزیلاری از ۲۳ بیمار که با معیار‌های ورود این مطالعه تطابق داشتند وارد شدند. پس از تهیه حفره دسترسی و تعیین طول، آماده سازی کanal با فایل روتاری Mtwo تا ۳۵/۰/۰/۶ انجام گردید. بین فایل‌ها از هیپوکلریت سدیم به عنوان ماده شستشو استفاده گردید. در نهایت EDTA برای برداشت لایه اسمایر بکار برده شد. کanal‌ها با تکنیک تراکم جانبی با سیلر AH26 پر گردیدند. پس از تهیه‌ی فضای پست، اولین نمونه میکروبی گرفته شد. سپس نمونه‌ها به صورت تصادفی به گروه آزمایشی اول کلسیم هیدروکساید، گروه آزمایشی دوم: ژل کلرهگزیدین ۲٪ و گروه کنترل: فاقد داروی داخل کanal تقسیم شدند. این مواد به وسیله‌ی لنتولو بداخل کanal برده شده و سپس دندان‌ها با (Cavisol) پانسمان گردیدند و پس از دو هفته بعد از خارج کردن و خنثی سازی داروهای داخل کanal، نمونه‌گیری دوم از کanal‌ها انجام پذیرفت. سپس میزان تغییرات CFU باکتری‌های E.faecalis و S.mutans برای مقایسه گردید. از آزمون کروسکال والیس برای ارزیابی بین گروه‌ها استفاده گردید. همچنین از آزمون TAMHANE برای مقایسه‌ی دو به دو گروه‌ها استفاده شد.

**یافته‌ها:** در گروه کنترل میزان باکتری S.mutans بعد از دو هفته به میزان ۲۱ درصد افزایش و در گروه کلسیم هیدروکساید میزان این باکتری ها ۳۴ درصد کاهش و در گروه کلرهگزیدین نیز به میزان ۱۷ درصد کاهش داشت. در مورد باکتری E.faecalis در گروه کنترل بعد از دو هفته به میزان ۴۰۰ درصد افزایش، در گروه کلسیم هیدروکساید ۳۵٪ کاهش و در گروه کلرهگزیدین نیز به میزان ۹۸ درصد کاهش باکتری‌ها مشاهده گردید ( $P < 0.001$ ).

**نتیجه گیری:** به نظر می‌رسد که کلسیم هیدروکساید در کنترل میزان باکتری استرپتوکوک موتانس و کلرهگزیدین در کنترل میزان باکتری انتروکوک فوکالیس در فضای پست داخل کanal دندانی اثر گذاری بیشتری دارد.

**کلید واژه‌ها:** مواد شستشو دهنده کanal دندانی، کلسیم هیدروکساید، کلرهگزیدین، عفونت باکتریایی

**مقدمه:**

قبل از درمان ریشه می‌رسند<sup>(۱)</sup> و این یافته اهمیت استفاده از داروهای بین جلسات را نشان می‌دهد.

کلسیم هیدروکساید یکی از شایعترین داروهای مورد استفاده در داخل کanal میباشد که به دلیل ماهیت پلی میکروبیال عفونت در درمان ریشه بطور شایعی استفاده می‌شود<sup>(۲)</sup> اما بر روی باکتری بی هوای اختیاری E.Faecalis که در نود درصد موارد شکست درمان های بعد از درمان اولیه ریشه یافت شده است و داخل توبول‌ها کلونیزه میشود بی اثر است. علت مقاومت آن به کلسیم هیدروکساید وجود پمپ پروتونی در غشاء E.faecalis می‌باشد. همچنین بدلیل پلی مرفیسم ژنتیکی و توانایی باند به عاج و نفوذ به توبول‌های عاجی میتواند زنده بماند.<sup>(۳)</sup> از دیگر کاستی‌های کلسیم هیدروکساید انتشار پایین

آلودگی باکتریال فضای پست یکی از علل کاهش موفقیت درمان پروتیز و درمان ریشه و بروز عفونت‌های دندانی می‌باشد<sup>(۴)</sup>. مواد پرکردگی در ۵-۶ میلی متری انتهای ریشه بعد از تهیه فضای پست برایتی توسط باکتری‌ها و اندوتوكسین‌ها قابل نفوذ خواهند بود. بخصوص این که مواد پرکردگی موقت تاجی تحت نیروهای جویدن و شرایط ترموسایکلینگ مداوم حفره دهان به بzac و باکتری‌ها نفوذ پذیر خواهند شد.<sup>(۵)</sup> لذا فضاهای خالی پست بایستی همانند کanal‌های پاکسازی شده و خالی با داروی بین جلسات پر شده تا از آلودگی کanal قبل از ترمیم دائم جلوگیری شود. همچنین؛ مطالعات نشان داده است که تعداد باکتری‌ها در کanal‌های خالی طی ۴ تا ۲۴ روز به تعداد

اخذ مجوز از کمیته‌ی پژوهشی رضایت نامه‌ی آگاهانه توسط بیماران امضا شد.

شرایط ورود به مطالعه شامل موارد زیر بود:

بیمارانی که طی ۴ هفته‌ی گذشته آنتی بیوتیک مصرف نکرده بودند. دندان‌های تک کانالهای non vital که نیازمند درمان ریشه و دریافت پست و قابل ایزولاسیون بودند. عدم وجود بیماری سیستمیک و نداشتن پاکت عمیقتراز ۴ میلی متر مدنظر قرار گرفت.<sup>(۱۴-۱۶)</sup>

شرایط خروج شامل: وجود درد و یا تورم قبل از درمان، بروز پرفوریشن حین تهیه‌ی فضای پست و یا از دست رفتن ترمیم موقت تاجی طی ۱۴ روز پیگیری.<sup>(۱۶)</sup> تعداد ۴۵ دندان تک کانال واجد شرایط ورود به مطالعه از هر دو جنس با محدوده‌ی سنی ۲۷ تا ۵۸ سال دارای شرایط فوق انتخاب گردیدند. سپس این بیماران بر اساس نرم افزار EXCEL به صورت تصادفی ساده به سه گروه کنترل، کلسیم هیدروکساید و کلرهگزیدین تقسیم شدند.

با در نظر گرفتن نتایج پایلوت از روی ۹ نمونه و با در نظر گرفتن  $\alpha = 0.05$  و  $\beta = 0.2$  و انحراف معیار متوسط برای درصد کاهش کلنجی برابر ۷ effect size برابر ۰/۵۰۵ حداقل حجم نمونه برای مقایسه‌ی تعداد کلنجی باکتری استرپتوكوک موتانس در ۳ گروه مطالعه ۱۴ نمونه بدست آمد. لازم به ذکر است حجم نمونه مورد نیاز برای مقایسه باکتری انتروکوک فوکالیس کمتر از این مقدار برآورد شد.

پس از دریافت تایید کمیته اخلاق به شماره ۸۶/۱۲۹۵۳ در روند تحقیق آغاز گردید و ثبت رسمی آن در مرکز کارآزمایی باليٽي ايران (www.irct.ir) به شماره‌ی IRCT2017041232777N1 انجام شد.

مراحل بدین صورت انجام شد که بعد از بیحسی و بستن رابردم و تهیه‌ی حفره‌ی دسترسی و ورود به پالپ بوسیله patency فایل ۱۰ (Mani inc, Toshigi ken, Japan) بدست آمد و طول کارکرد با کمک اپکس لوکیتور تعیین شد. کanal‌ها توسط فایل (VDW, Munich, Germany) M two ۳۵/۰/۰۶ تا M two (VDW, Munich, Germany) انجام شد.

یون‌های هیدروکسیل آن به داخل توبول‌های عاجی<sup>(۶)</sup> و همچنین بدلیل اثر بافری عاج اثربخشی این ماده در داخل کanal ریشه‌ی دندان مورد سوال است.<sup>(۷)</sup>

در مقابل، ماده‌ی رایج دیگر مورد استفاده‌ی دیگر داخل کanal‌های ریشه کلرهگزیدین است، که با طیف آنتی باکتریال وسیع می‌باشد. کلرهگزیدین در مقابل طیف وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی و مخمر‌ها موثر می‌باشد. همچنین بدلیل خاصیت substantivity کلرهگزیدین به بافت‌های اطراف باند می‌شود و طی زمان به آهستگی آزاد شده و اثر آن حتی تا ۱۲ هفته پس از درمان باقی می‌ماند.<sup>(۸)</sup> نشان داده شده که در دوز دو درصد انتشار آن داخل توبول‌ها بیشتر می‌شود.<sup>(۸)</sup> با این حال از معایب این ماده به عنوان داروی بین جلسات، آلرژی آن، سمیت دارویی و اثر گذاری کمتر بر باکتری‌های گرم منفی نسبت به گرم مثبت می‌باشد.<sup>(۹)</sup>

در مطالعات متعددی که بر روی خاصیت ضد میکروبی کلسیم هیدروکساید و کلرهگزیدین به عنوان داروی بین جلسات انجام شده است، نتایج ضد و نقیضی وجود دارد.<sup>(۱۰-۱۳)</sup>

با توجه به تناقصات موجود و همچنین این نکته که تاکنون مطالعه‌ای روی داروهای داخل کanal در فضای پست جهت جلوگیری از آلودگی باکتریایی فضای پست انجام نشده لذا در این مطالعه در نظر داشتیم تا اثر بخشی دو ماده‌ی کلسیم هیدروکساید و کلرهگزیدین را به عنوان داروی داخل کanal بعد از تهیه‌ی فضای پست در دندان‌های تک ریشه در مراجعین به داشکده دندانپزشکی آزاد اسلامی بخش درمان ریشه در سال تحصیلی ۹۵-۹۶ مقایسه کنیم.

## مواد و روش‌ها:

این مطالعه تجربی بر روی ۴۵ دندان‌های تک کanal قدامی ماگزیلاری بیمارانی که به بخش درمان ریشه مراجعه کرده بودند انجام گردید و در داشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی در کمیته اخلاق مطرح و با کد ۸۶/۱۲۹۵۳ مورد تایید قرار گرفت. این بیماران در جریان پروتکل قرار گرفته و پس از

که مثبت شدند انتخاب و جهت مقایسه‌ی قبیل و بعد از مداخله انتخاب گردیدند. سپس به هر کدام از نمونه‌ها یک کد داده شد و بصورت تصادفی به سه گروه تقسیم شدند. در گروه اول کلسیم هیدروکساید (سینا برتر، ایران) که با محلول سالین ترکیب شده و با قوام خامه‌ای بوسیله‌ی لنتولو به داخل کانال منتقل شد. در گروه دوم ژل کلرهاگزیدین ۰/۲٪ (Cerkamed, Nisko, Poland) بوسیله‌ی لنتولو و در گروه سوم از داروی داخل کانال استفاده نگردید. سپس با استفاده از پانسمان موقت (Cavisol, Golchai co, Iran) به ضخامت ۴ میلی‌متر همراه با پنبه دندان‌ها پانسمان شدند.<sup>(۱۴)</sup> پس از دو هفته بیماران فراخوانده شده و پس از ایزولاسیون مجدد با رابردم و برداشت پانسمان داروهای داخل کانال بوسیله‌ی ۵ میلی‌لیتر محلول سالین فعال شده بوسیله‌ی اولتراسونیک شسته شدند. برای گروه کلسیم هیدروکساید خنثی سازی بوسیله‌ی ۵ میلی‌لیتر استید سیتریک ۰/۵٪ طی ۱ دقیقه و کلرهاگزیدین بوسیله‌ی ۵ ml محلول Tween ۸۰ ۰/۵٪ lecithin ۰/۰۷ Merk, Darmstadt, Germany) ( بصورت جداگانه طی ۱ دقیقه خنثی سازی انجام شد.<sup>(۱۶)</sup> نمونه‌ی گیری نهایی طبق پروتکل ذکر شده انجام گردید. در هر گروه میزان میانگین و تغییرات باکتریایی محاسبه شد و این تغییرات بین گروه‌ها مقایسه گردید.

از با آزمون کروسکال والیس برای ارزیابی بین گروه‌ها استفاده گردید. همچنین از آزمون TAMHANE برای مقایسه‌ی دو به دو گروه‌ها استفاده گردید. P Value زیر ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

#### یافته‌ها:

تحقیق حاضر روی تعداد ۶۳ دندان تک کانال نیازمند به درمان پست و کور انجام گرفت. از بین این تعداد، ۴۵ دندانی که در آن‌ها نمونه‌های کشت هر دو باکتری S. mutans و E. faecalis مثبت گردیدند وارد مطالعه شدند.

پاکسازی شدند. بین فایل‌ها از فایل دستی شماره‌ی ۱۰ برای حفظ patency استفاده شد. بین هر شماره از سدیم هیپوکلریت ۲/۵ درصد (Kimia, Tehran, Iran) به عنوان ماده EDTA ۱۷٪ (Kimia, Tehran, Iran) شستشو دهنده استفاده گردید. از ۵ دقیقه برای از بین بردن لایه اسپیر استفاده شدو کانال‌ها با ۵ میلی‌لیتر محلول سدیم هیپوکلریت و سالین شستشو داده شدند. در نهایت سدیم هیپوکلریت توسط ۵ میلی‌لیتر سدیم تیو سولفات طی ۱ دقیقه خنثی گردید. کانال‌ها توسط تکنیک تراکم جانبی با سیلر (Dentsply, Mailifer, Switzerland) AH26 (Mani inc, Toshigi ken, Japan) پر شده<sup>(۱۴)</sup> و فضای پست با استفاده از پیزو ریمر شماره‌ی دو آماده شد بطوری که ۴ mm گوتا در انتهای کانال باقی ماند.<sup>(۱)</sup> سپس اولین نمونه‌ی کشت میکروبی بعد از تهیه‌ی فضای پست از کانال به صورت زیر تهیه شد:

برای نمونه‌ی گیری دو عدد مخروط کاغذی (Meta, Biomed, Korea) استریل داخل کانال برده شد و بمدت ۶۰ ثانیه نگه داشته شدند. به منظور تهیه‌ی نمونه‌ی بهتر، مخروط کاغذی مرطوب استفاده گردید. نمونه‌های تهیه شده در لوله‌های Eppendorf کدگذاری شده حاوی دو محیط Thioglycerol و Brain heart infusion (BHI) محیط مناسب نگهدارنده، جهت کشت طی حداقل زمان ممکن به آزمایشگاه منتقل گردیدند.<sup>(۱۹, ۲۰)</sup> جهت شناسایی میکروگانیسم‌ها نمونه روی دو سری از محیط‌های Macconkey agar حاوی ۵٪ خون دفیرینه گوسفندی کشت و در شرایط هوایی و بیهوایی در دما ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شدند. سپس با استفاده از روش‌های باکتریولوژیکی بیوشیمیایی، باکتری‌های S. mutans و E. faecalis جدا شده و با توجه به رنگ و سایز کلونی‌ها مورد شناسایی قرار گرفتند. سپس CFU تعیین گردید. به منظور امکان مقایسه‌ی بهتر، دو گروه از باکتری‌ها شامل و گونه‌ی استرپتوکوک موتانس در گروه‌های E. faecalis

مقایسه‌ی تاثیر کلسیم هیدروکساید و ژل کلرهگزیدین ۲٪ بر میزان آلودگی باکتریایی فضای پست ...

در گروه کلسیم هیدروکساید می ست. زان این باکتری ها درصد کاهش داشته و در گروه کلرهنگزیدین نیز به میزان ۹۸/۵ درصد کاهش باکتری ها مشاهده گردید. آزمون آماری ANOVA نشان داد که بین هر سه گروه اختلاف معنی داری وجود دارد ( $P < 0.01$ ) همچنین آزمون TAMHANE نشان داد که در مقایسه‌ی بین گروه‌ها بصورت دو به دو اختلاف معنی دار میباشد.

گروه کنترل نسبت به گروه کلسیم هیدروکساید باکتری بیشتری داشت ( $P < 0.001$ ) همچنین در گروه کنترل نسبت به گروه کلرهاگزیدین باکتری کمتری وجود داشت ( $P < 0.001$ ). گروه کلسیم هیدروکساید نسبت به گروه کلرهاگزیدین باکتری بیشتری داشت ( $P < 0.001$ )

در نتیجه کلرهگزیدین به طور معنی داری بهتر از گروه های کلسیم هیدروکساید و کنترل باعث کاهش باکتری E. faecalis شد.

بحث:

تحقیق نشان داد که هر دو داروی کلسیم هیدروکساید و کلرهاگزیدین به صورت معناداری منجر به کاهش باکتری های E. faecalis و S. mutans در فضای پست شدن، همچنین یافته ها نشان داد که بیشترین میزان کاهش باکتری های E. faecalis در گروه کلرهاگزیدین بود ولی بیشترین میزان کاهش باکتری های S. mutans در گروه کلسیم هیدروکساید رخ داد. بعد از درمان اندودونتیک و پر کردن کانال تهیه فضای پست معمولاً به تاخیر افتاده و توسط متخصصین پروتز صورت میگیرد که ممکن است شرایط ایزولاسیون بدقت رعایت نگردد بنابراین توصیه میگردد تهیه فضای پست در همان جلسه ی درمان ریشه که دندان زیر را بردم قرار دارد توسط متخصصین درمان، ریشه که با آناتومی، و شکاف، کانا، نیز آشنایی بیشتری،

میانگین اولیه و ثانویه CFU باکتری *s.mutans* به تفکیک گروه های مورد مطالعه در جدول ۱ ارائه گردیده است: نشان مدد که:

در گروه کنترل میزان باکتری *S. mutans* بعد از دو هفته به میزان ۲۱۲٪ افزایش داشته است.

## جدول ۱- میانگین اولیه و ثانویه CFU باکتری *s.mutans* به تفکیک گروه های مورد مطالعه

اختلاف میانگین‌ها	CFU ثانویه	CFU اولیه	
mean±SD	mean±SD	mean±SD	گروه‌ها
$1/0.7 \times 1.0.7 \pm 1/0.5 \times 1.0.3$	$1/0.8 \times 1.0.7 \pm 1/0.9 \times 1.0.3$	$5/0.6 \times 1.0.7 \pm 7/0.9$	کنترل
$-1/0.5 \times 1.0.7 \pm 1/0.4$	$2/0.8 \times 1.0.7 \pm 7/0.4 \times 1.0.3$	$4/0.4 \times 1.0.7 \pm 7/0.7$	کلسیم هیدروکساید
$-8 \pm 1/1$	$3/0.9 \times 1.0.7 \pm 5/0.2$	$4/0.72 \times 1.0.7 \pm 5/0.1$	کلرهاگریدین
P $\leq .001$	P $\leq .001$	P $\leq .001$	P Value

در گروه کلسیم هیدروکساید میزان این باکتری ها  $\frac{۳۴}{۴}$  کاهش داشته و در گروه کلرهاگزیدین نیز به میزان  $\frac{۱۷}{۳}$  درصد کاهش باکتری ها مشاهده گردید. آزمون آماری کروسکال والیس نشان داد که بین هر سه گروه اختلاف معنی داری وجود دارد. ( $P < 0.001$ ) همچنین آزمون TAMHANE نشان داد که در مقایسه ای بین گروه ها بصورت دو به دو اختلاف معنی دار میباشد بصورتی که گروه کنترل باکتری بیشتر نسبت به گروه کلسیم هیدروکساید داشت ( $P < 0.001$ ). همچنین گروه کنترل نسبت به گروه کلرهاگزیدین باکتری بیشتری داشت ( $P < 0.001$ ) و در گروه کلسیم هیدروکساید نسبت به گروه کلرهاگزیدین باکتری کمتر بود ( $P < 0.001$ ). در نتیجه کلسیم هیدروکساید به طور معنی داری بهتر از گروه های کلرهاگزیدین و کنترل باعث کاهش CFU شد. میانگین اولیه و ثانویه باکتری *S. mutans* به تفکیک گوهه ها، مهد مطالعه د.

جدول ۲ ارائه گردیده است و نشان می‌دهد که در گروه کنترل میزان باکتری *E. faecalis* بعد از دو هفته به میزان ۴۰۰ د.ص افزایش داشت.

جدول ۲ - میزان اولیه و ثانویه CFU باکتری *E.faecalis* به تفکیک گروه های مورد مطالعه

اختلاف میانگین ها	CFU ثانویه	CFU اولیه	گروه ها
	mean±SD	mean±SD	
$۳/۷۷ \times 10^۰ \pm ۱/۵ \times 10^۰$	$۴/۲۷ \times 10^۰ \pm ۴/۹$	$۹/۴ \pm ۱/۶$	کنترل
$-۳/۷ \pm ۰/۵$	$۶/۸ \pm ۲$	$۱/۰۶ \pm ۱/۹ \times 10^۰$	کلسیم هیدروکساید
$-۹/۸ \pm ۱/۴$	$۰/۱ \pm ۰/۱$	$۹/۹ \pm ۱/۵$	کلرهنگزیدین
P≤0.001	P≤0.001	P≤0.001	P Value

نتایج مطالعه kvis و همکاران نشان دادند که ۲۴٪ کانال ها بعد از تهیه فضای پست سیل نامناسبی داشته اند که متعاقباً باعث ایجاد عفونت شدن.<sup>(۲۵)</sup> همچنین در مواردی که بین پرکردگی کانال ریشه و تهیه فضای پست، فاصله زمانی وجود داشته باشد سیل اپیکالی کاهش می یابد.<sup>(۲۲)</sup> بنابراین بهتر است از عوامل

دارویی آنتی باکتریال در بین جلسات درمانی جهت حذف هر چه بیشتر میکروارگانیسم ها و ممانعت از آلوده شدن مجدد فضای پست استفاده شود.<sup>(۱)</sup>

کلسیم هیدروکساید به عنوان دارویی چند منظوره در دندانپزشکی به خصوص به عنوان Dressing کانال ریشه در درمان های درمان ریشه شده کاربرد دارد. فعالیت آنتی میکروبیال این ماده به آزاد سازی یون های هیدروکسیل مربوط میشود که به غشای سیتوپلاسمی باکتری ها و DNA آنها آسیب می رساند.<sup>(۷)</sup> این دارو جهت اثربخشی باقیستی حداقل به مدت یک هفته در داخل کانال ریشه قرار بگیرد. با این حال علیه برخی گونه های میکروبیال مانند *E.faecalis* و *C.albicans* اثربخشی کمتری دارد.<sup>(۶)</sup> در مطالعه ای دیگر که اثر کلسیم هیدروکساید بر سیل سیلر های AH PLUS بررسی شده بود، اثر منفی گزارش نگردید.<sup>(۲۶)</sup> همچنین در

دارند انجام گیرد.<sup>(۱۷-۲۱)</sup> همچنین در فاصله زمانی بین قالب گیری و چسباندن پست، باکتری ها ممکن است بداخل کانال نفوذ کرده، کانال را آلوده کنند از طرفی تهیه فضای پست باعث کوتاه تر شدن فاصله ای بین مدخل کانال تا مواد پرکردگی انتهای ریشه میگردد که زمان مورد نیاز باکتری ها برای رسیدن به اپیکال کانال را کاهش می دهد و در نهایت باعث افزایش نفوذ میگروارگانیسم ها می گردد<sup>(۱)</sup> Abramovitz و همکاران نشان دادند که مواد پر کردگی انتهای ریشه به میزان ۵ میلی متر سیل کمتری در مقایسه با پر کردگی های کامل ریشه دارند.<sup>(۲۲)</sup> از سوی دیگر Bystrom و همکاران نشان دادند.<sup>(۲۳)</sup> که حتی بعد از درمان ریشه و پاکسازی کامل کمومکانیکال طی چند جلسه، کانال ها بطور کامل استریل و عاری از باکتری نمیگردند که توجیه کننده ای کشت های مثبت بعد از پاکسازی کمومکانیکال در مطالعه حاضر و مطالعات مشابه می باشد.<sup>(۱۶,۱۴)</sup> در نتیجه باکتری هایی که بعد از دربیدمان کمومکانیکال، بین جلسات درمان در کانال باقی میمانند در صورتی که از داروی داخل کانال استفاده نشود، تکثیر یافته و قادر خواهند بود طی چند روز (۲ تا ۴ روز) به تعداد اولیه برگردند.<sup>(۱۹,۲۱)</sup> همچنین مطالعه دیگری بر غیر قابل پیش بینی بودن سیل کانال بعد از تهیه ای فضای پست تاکید کرد.<sup>(۲۴)</sup>

از درون کanal ، لحاظ کردن یکسان سازی در اندازه مخروط های کاغذی مورد استفاده و نیز کاربرد مخروط کاغذی به جای فایل برای خارج کردن بخش پلانکتونیک و نیز بیوفیلم، نسبت به روش‌هایی چون روش Moller که در برخی مطالعات مشابه استفاده شده بود<sup>(۳۱،۳۲)</sup> ، از لحاظ محافظه کارانه بودن و عدم نیاز به برداشت عاج اضافی برتری دارد. در روش Moller که Pumping Maximal Removal (PMR) استریل با سایز بزرگتر از میزان آمده سازی اپیکال در K-file طول کارکرد قرار گرفته و پنج بار حرکت Pumping به همراه حداقل میزان Reaming درون کanal انجام میشود تا محتویات کanal از دیواره ها جدا شوند . سپس با مخروطهای کاغذی تا وقتی کanal به طور کامل خشک شود از داخل کanal نمونه گیری میشود و برای بررسی های بعدی به محیط مورد نظر برای انتقال به آزمایشگاه قرار میگیرد.

در مطالعه حاضر نشان داده شد که کلره‌گزیدین به طور معناداری اثربخشی بیشتری بر روی باکتری E.faecalis نسبت کلسیم هیدروکساید دارد. نتایج مطالعه دیگری هم نشان داد که کلسیم هیدروکساید طی مدت ۴۸ ساعت به کارگیری داخل کanal (Medicament) در کاهش باکتری های E.faecalis موثر بود، ولی اثربخشی آن به طور معناداری کمتر از ژل کلره‌گزیدین بود که با یافته های تحقیق حاضر هم راستا است.<sup>(۳۳)</sup> یکی از دلایل اثر بخشی کمتر کلسیم هیدروکساید نسبت به کلره‌گزیدین، تاثیر بافرینگ عاج کanal ریشه بر کلسیم هیدروکساید و عامل مهم دیگر وجود پمپ های پروتونی در غشاء E.faecalis و مقاومت در برابر افزایش pH ایجاد شده توسط کلسیم هیدروکساید میباشد.<sup>(۳۴)</sup> نتایج مطالعه Wang<sup>(۳۵)</sup> و همکاران مطالعه Delgado و همکاران<sup>(۳۶)</sup> نیز نشان داد که ژل کلره‌گزیدین اثر آنتی باکتریال بیشتری نسبت به کلسیم هیدروکساید بر باکتری های E.faecalis دارد.

نتایج مطالعه دیگر هم راستا با یافته های مطالعه حاضر نشان داد که ژل کلره‌گزیدین ۲ درصد بر روی باکتری

مطالعات مختلف نشان داده شد که کلسیم هیدروکساید بر قدرت باند سمان های رزینی به عاج اثر محربی ندارد.<sup>(۲۷)</sup> کلر هگزیدین گلوكونات تاثیر آنتی میکروبیال قوی بر باکتری های گرم مثبت و گرم منفی دارد و به همین دلیل کاربرد فراوانی در درمان های ریشه به عنوان شستشو دهنده و داروی داخل کanal (Medicament) دارد. ما در مطالعه حاضر بعد از پر کردن کanal با سیلر 26 AH ، از ژل کلره‌گزیدین ۲ درصد به عنوان داروی داخل کanal بعد از تهیه فضای پست استفاده کردیم Wuerch و همکاران نشان دادند که ژل کلره‌گزیدین ۲ درصد اثر منفی بر سیل کanal پر شده با AH PLUS نداشت.<sup>(۲۸)</sup> همچنین در مطالعات مختلف که بر روی کلره‌گزیدین انجام گردیده است اثر منفی بر روی قدرت باند سمان های رزینی مشاهده نگردید.<sup>(۲۹)</sup>

گونه های S.mutans و E.faecalis از پاتوژن های شایع در عفونتهای کanal ریشه هستند که در مطالعه حاضر نیز مورد بررسی قرار گرفتند.<sup>(۱۰،۱۳،۱۷)</sup>

مراحل انجام مطالعه حاضر مشابه با پروتکل مطالعات In vivo و Valera و همکاران<sup>(۱۹،۲۰)</sup> و تعدادی از مطالعات<sup>(۱۶،۱۴)</sup> با این حال به دلیل تفاوت متدولوزی مطالعات، نتایج ممکن است کمی متفاوت باشد. برای مثال در مطالعه silva که به روش In vivo انجام گردید،<sup>(۱۴)</sup> بدليل عدم خشی سازی داروهای داخل کanal، ۱۰۰ درصد باکتری های S.mutans حذف شدند که می تواند به دلیل اثر Wang over carry باشد. و یا در مطالعه<sup>(۲۹)</sup> بدليل آماده سازی ناحیه اپیکالی تا سایز ۴۵ چهار درصد با فایل های روتاری و در نتیجه دسترسی بهتر مواد شستشو دهنده و دارو های داخل کanal به ناحیه اپیکالی، درصد کاهش بیشتری در CFU باکتریایی در مقایسه با مطالعه حاضر بدست آمد.

در مطالعه حاضر روش نمونه گیری میکروبی از داخل کanal مشابه مطالعه Millia و همکاران<sup>(۳۰)</sup> انجام گرفت که نسبت به روش های به کار رفته در مطالعات دیگر، جدید بود و همچنین به دلیل در نظر گرفتن عامل زمان یکسان برای جذب مایعات

حاضر نشان داده شد کلسیم هیدروکساید تاثیر بیشتری بر *S. mutans* نسبت به *E. faecalis* داشت.<sup>(۳۷)</sup>

در مطالعه Arujo و همکاران<sup>(۱۶)</sup> ۱-کلرهگزیدین و ۲-ترکیب CMCP با کلسیم هیدروکساید تاثیر یکسانی بر کاهش باکتری های *S. mutans* داشتند که به نظر میرسد با نتایج تحقیق حاضر تفاوت دارد. این در حالی است که در مطالعه Strela<sup>(۳۸)</sup> نشان داده شد که ترکیب CMCP با کلسیم هیدروکساید منجر به کاهش اثر بخشی کلسیم هیدروکساید بر باکتری های *S. mutans* می شود. در نتیجه تفاوت یافته های مطالعه فوق با مطالعه حاضر می تواند به دلیل عدم وجود ترکیب CMCP باشد که منجر به تاثیر بیشتر کلسیم هیدروکساید *S. mutans* نسبت به کلرهگزیدین در کاهش باکتری های شده است.

همچنین بر خلاف یافته ای بدست آمد در مطالعه حاضر نتایج مطالعه Kamagushi<sup>(۳۹)</sup>، Souza<sup>(۴۰)</sup> و همکاران<sup>(۴۰)</sup> نشان داد که کلرهگزیدین بر روی *S. mutans* موثر تر از کلسیم هیدروکساید بود، این تناقض می تواند به دلیل بررسی اثر آنتی باکتریال کلسیم هیدروکساید در محیط آگار به روش *in vitro* باشد که در آن حلایت و انتشار یون های هیدروکسیل نسبت به شرایط *In vivo* کمتر می باشد.

اکثر مطالعات مشابه در شرایط *in vitro* انجام شده است که شرایط متفاوتی نسبت به کانال های عفونی در مطالعات *in vivo* دارد. کانال ریشه حاوی بافت های زنده یا نکروز و مایعات بافتی می باشد که ممکن است فعالیت داروها را تحت تأثیر قرار دهد. همچنین در شرایط *in vitro* داروهای مورد استفاده فقط در مقابل یک گونه میکرووارگانیزم موردن آزمایش قرار می گیرد در حالی که کانال های عفونی معمولاً حاوی بیش از یک گونه پاتوژن می باشد.<sup>(۴۱)</sup>

اگرچه نتایج بدست آمده از مطالعات *In vitro* امکان مقایسه ای اثربخشی ضد میکروبی داروهای داخل کانال را فراهم می کنند اما بدليل محدودیت هایی که در زمینه شبیه سازی عفونت های دندانی دارند کاربرد مستقیم بالینی

موقت است،<sup>(۳۵)</sup> از طرفی در مغایرت با مطالعه حاضر مشاهده شد که کلسیم هیدروکساید اثر قابل توجهی بر روی باکتری *E. faecalis* ندارد. این تناقض میتواند به دلیل تفاوت نمونه برداری باشد که در مطالعه حاضر نمونه گیری بروش Intra luminal انجام شد، ولی در مطالعه Mozayene<sup>(۳۶)</sup> و همکاران بصورت Intra tubular صورت گرفته بود. توجه به این نکته ضروری است که کلسیم هیدروکساید بر خلاف کلرهگزیدین انتشار پایینتری به داخل توبول های عاجی دارد<sup>(۳۵)</sup>

Gomez<sup>(۳۳)</sup> و همکاران<sup>(۳۴)</sup> در مطالعه ای *In vitro* گزارش کردند که کلسیم هیدروکساید در تمام بازه های زمانی Medicament<sup>(۳۵)</sup> بر باکتری های *E. faecalis* بی تاثیر است. علت این تفاوت، نمونه برداری مطالعه Gomez از داخل توبول ها میباشد که کلسیم هیدروکساید در این قسمت اثربخشی محدودی دارد. دلیل دیگر این مغایرت بدليل مکانیزمی است که در مطالعات *In vivo* مطرح است و آن اثر آنتی باکتریال کلسیم هیدروکساید در جذب کربن دی اکسید کانال ریشه می باشد که منجر به کاهش گونه های وابسته به کربن دی اکسید (همانند گونه های انتروکوک) می شود.<sup>(۳۶)</sup>

در مطالعه almyroudi<sup>(۳۷)</sup> و همکاران<sup>(۳۷)</sup> تاثیر آنتی باکتریال کلرهگزیدین و کلسیم هیدروکساید بر روی *E. faecalis* مورد بررسی قرار گرفت. کلسیم هیدروکساید در روزهای ۳ و ۸ اثربخشی بالایی همانند کلرهگزیدین بر *E. faecalis* داشت اما این اثر بخشی در روز ۱۴ کاهش یافت و مشابه نتایج مطالعه حاضر تاثیر آنتی باکتریال کلسیم هیدروکساید بعد از دو هفته کمتر از کلرهگزیدین بود. دهیدراته شدن و کاهش pH کلسیم هیدروکساید از ۱۲/۵ به ۱۱/۵ در طی زمان میتواند باعث رشد مجدد *E. faecalis* شود.

نتیجه ای دیگر بدست آمده در مطالعه حاضر اثر بخشی بیشتر کلسیم هیدروکساید نسبت به کلرهگزیدین بر روی باکتری Basrani<sup>(۳۸)</sup> میباشد. در مطالعه *S. mutans* مشابه با مطالعه

**نتیجه گیری:**

به نظر می‌رسد که کلسیم هیدروکساید بر باکتری استرپتوکوک موتانس و کلرهگزیدین بر باکتری انتروکوک فوکالیس اثر گذاری بیشتری دارد.

ندارند.<sup>(۴۲)</sup> لذا این مطالعه بصورت *in vivo* انجام گردید. از طرفی اثر بخشی داروها در شرایط *in vivo* به دلایلی از جمله حجم نمونه پایین تر، نفوذ ضعیف به داخل سیستم اصلی کانال ریشه، غیر فعال شدن فعالیت آنتی باکتریایی داروها توسط ترکیبات شیمیایی حاضر در کانال ریشه‌ی نکروز، می‌تواند متفاوت از شرایط *in vitro* اما نزدیک تر به شرایط واقعی بالینی باشد.<sup>(۴۱)</sup>

Archive of SID

## References:

- 1-Gimbel M, Correa A, Lin LM. Calcium hydroxide as a temporary filling of the post space in root-filled teeth. *Oral Med, Oral Pathol, Oral Radio* 2002 Jul 31;94(1):98-102.
- 2-Alves J, Walton R, Drake D. Coronal leakage: endotoxin penetration from mixed bacterial communities through obturated, post-prepared root canals. *J Endod*. 1998 Sep 1;24(9):587-91.
- 3- Bystrom A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Euro J Oral Sci* 1981 Aug 1;89(4):321-8.
- 4- Krishnakadatta J, Indira R, Dorothykalyani AL. Disinfection of dentinal tubules with 2% chlorhexidine ,2% Metronidazole,Bioactive Glass when compared with calcium hydroxide as intracanal medicaments. *J Endod* 2007;33(12):1473-76.
- 5-Prabhakar A, Swapnil T, Savita H, Sugandhan S. Comparison of antimicrobial efficacy of calcium hydroxide paste,2% chlorhexidine gel and Turmeric extract as an intracanal medicament.; *Int J Clin Pediatr Dent* 2013; 6(3):171-77.
- 6-Joshua M, Maki J, Bahcall J. An invitro comparison of the antimicrobial effects of various endodontic medicaments on Enterococcus faecalis. *J Endod* 2007;33(5):567-69.
- 7-Basrani B, Santos M, Pascon E, Grad H, et al. Efficacy of chlorhexidine and calcium hydroxide containing medicaments against Enterococcus Faecalis in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2003;96(5):618-24.
- 8-Siqueira JF, Magalhães KM, Rôças IN. Bacterial reduction in infected root canals treated with 2.5 % NAOCL as an irrigant and Calcium hydroxide/Camphorated paramonochlorophenol paste as an intracanal dressing. *J Endod* 2007;33(6):667-72.
- 9- Rahimi S, Janani M, Lotfi M, Shahi Sh, Aghbali A, Vahid Pakdel M, et al. A review of antibacterial agents in edodontic treatment. *Int Endod J* 2014;9(3):161-168.
- 10-Attia D, Farag A, Afifi I, Darag A. Antimicrobial effect of different intracanal medications on various micro organisms .*Tanta dental journal* 2015;12(1):41-47.
- 11- Metgud SS, Shah HH, Hiremath HT, Agarwal D, Reddy K. Effect of post space preparation on the sealing ability of MTA and guttapercha. *J Conserv Dent* .2015;18(4):297-301.
- 12-Mozini A, Vansan L, Neto M, Pietro R. Influence of the length of the remaining root canal filling and post space preparation on the coronal leakage of the Enterococcus Faecalis. *Braz J Microbiol* 2009;40(1):174-79.
- 13-Mohammadi Z, Dummer PM. Properties and applications of calcium hydroxide in endodontics and dental traumatology. *Int Endod J* 2011;44:697-730.
- 14- Silva LA, Romualdo PC, Silva RA, Souza-Gugelmin M, Pazelli LC, De Freitas AC, et al. Antibacterial Effect of Calcium Hydroxide With or Without Chlorhexidine as Intracanal Dressing in Primary Teeth With Apical Periodontitis. *Pediatr Dent* 2017;39(1):28-33.
- 15- Asnaashari M, Ashraf H, Rahmati A, Amini N. A comparison between effect of photodynamic therapy by LED and calcium hydroxide therapy for root canal disinfection against Enterococcus faecalis. *Int Endod J*. 2017 Mar 31;17:226-32.
- 16- Arújo Lima R, de Carvalho M, Barreto C, Rodrigues Ribeiro T, Sá Roriz Fontes C. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine and calcium hydroxide/camphorated paramonochlorophenol on infected primary molars: A split-mouth randomized clinical trial. *Quintessence Int* 2013;44(2):113-22.
- 17- Atilla-Pektaş B, Yurdakul P, Gülmез D, Gördüysus Ö. Antimicrobial effects of root canal medicaments against Enterococcus faecalis and Streptococcus mutans. *Int Endod J* 2013;46(5):413-8.
- 18-Barthel C, Zimmer S, West G, Roulet J. Bacterial leakage in obturated root canals following the use of different intracanal medicaments. *Endod Dent Traumatol* 2000;16(6):282-86.
- 19- Silva AR, Pinto SC, Santos EB, Santos FA, Farago PV ,Gomes JC, et al. New intra canal formulations containing doxycycline or chlorhexidine against Enterococcus Faecalis. *J Contemp Dent Pract* 2014;15(1):61-65.
- 20- Valera MC, Silva KC, Maekawa LE, Carvalho CA, Koga-Ito CY, Camargo CH, et al. Antimicrobial activity of sodium hypochlorite associated with intracanal medication for candida albicans and Enterococcus Faecalis inoculated in root canals. *J Appl oral Sci* 2009;17(6):555-59.
- 21-CLEEN MD. The relationship between the root canal filling and post space preparation. *Int Endod J*. 1993 Jan 1;26(1):53-8.
- 22-Abramovitz I, Tagger M, Tamse A, Metzger Z. The effect of immediate vs. delayed post space preparation on the apical seal of a root canal filling: a study in an increased-sensitivity pressure-driven system. *J Endod* 2000;26(8):435-9.
- 23-Byström A, Sunqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J* 1985;18(1):35-40.
- 24-Abramovitz I, Lev R, Fuss Z, Metzger Z. The unpredictability of seal after post space preparation: a fluid transport study. *J Endod* 2001;27(4):292-5.
- 25-Kvist T, Rydin E, Reit C. The relative frequency of periapical lesions in teethwith root canal-retained posts *J Endod* 1989;15(12):578-80.

- 26-Wuerch RM, Apicella MJ, Mines P, Yancich PJ, Pashley DH. Effect of 2% chlorhexidine gel as an intracanal medication on the apical seal of the root-canal system. *J Endod* 2004;30(11):788-91.
- 27-Someya T, Kinoshita H, Harada R, Takemoto S. Effects of calcium hydroxide reagent on the bond strength of resin cements to root dentin and the retention force of FRC posts. *J Material Dent*.2017;2016-355.
- 28- Shafiei F, Memarpour M. Effect of chlorhexidine application on long-term shear bond strength of resin cements to dentin. *J Prostho Research*. 2010;54(4):153-8.
- 29-Wang CS, Arnold RR, Trope M, Teixeira FB. Clinical efficiency of 2% chlorhexidine gel in reducing intracanal bacteria. *J Endod*. 2007;33(11):1283-9.
- 30- Milla Machado ME, Sapia LA, Cai S, Martins GH, Nabeshima CK. Comparison of two rotary systems in root canal preparation regarding disinfection. *J Endod* 2010;36(7):1238-40.
- 31-Möller AJ. Microbiological examination of root canals and periapical tissues of human teeth. Methodological studies. *Odontol Tidskr* 1966;74(5):Suppl-1.
- 32-Molander A, reit C, Dahmen G, Kvist T. Microbiological status of root filled teethwith apical periodotitis. *Int Endod J*. 1998;31(1):1-7.
- 33-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.
- 34-Delgado RJ, Gasparoto TH, Sipert CR, Pinheiro CR, Moraes IG, Garcia RB, et al. Campanelli AP, Bernardineli N. Antimicrobial effects of calcium hydroxide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*. *J Endod*. 2010;36(8):1389-93.
- 35-Mozayeni MA, Haeri A, Dianat O, Jafari AR. Antimicrobial effects of four intracanal medicaments on *enterococcus faecalis*: an in vitro study. *Iran Endod J* 2014;9(3):195-8.
- 36- B. P. F. A. Gomes, E. T. Pinheiro, C. R. Gadê-Neto, E. L. R. Sousa, C. C. R. Ferraz, A. A. Zaia, et al. Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiol Immunol*.2004;19:71-76.
- 37-Almyroudi A, Mackenzie D, McHugh S, Saunders WP. The effectiveness of various disinfectants used as endodontic intracanal medications: an in vitro study. *J Endod* 2002;28(3):163-7.
- 38-Estrela C, Bammann LL, Pimenta FC, Pécora JD. Control of microorganisms in vitro by calcium hydroxide pastes. *Int Endod J* 2001;34(5):341-5.
- 39-Kamagushi A, Nakayama K, Ichiyama S, Nakamura P, Watanabe T, Ohta M, et al. Effect of porphyromonas gingivalis vesicles on coaggregation of *staphylococcus aureus* to oral microorganisms. *Curr Microbiol* 2003;47(6):485-91.
- 40- Souza-Filho FJ, Soares AD, 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.
- 41-Javidi M, Zarei M, Afkhami F. Antibacterial effect of calcium hydroxide on intraluminal and intratubular *Enterococcus faecalis*. *Iran Endod J* 2011 Jun 18;6(3):103-6.
- 42- Anand SK, Ebenezar AR, Anand N, Mary AV, Mony B. A Comparative Analysis of Antimicrobial Property of Wine and Ozone with Calcium Hydroxide and Chlorhexidine. *Diagn research J* 2015;9(6):ZC04.