

بررسی میزان اثر ضد عفونی کنندگی غلظت‌های مختلف محلول هیپوکلریت سدیم

بر روی مخروطح‌های گوتاپرکا آلوده به سوش‌های میکروبی

دکتر محمد ضرابیان* - مرضیه علیقلی** - دکتر یاشار بردکا***

* - استادیار گروه آموزشی اندودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران.

** - مربی گروه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران.

*** - دندانپزشک.

چکیده

زمینه و هدف: امروزه مخروطح‌های گوتاپرکا به وفور به عنوان ماده پرکننده کانال مورد استفاده قرار می‌گیرند. از آنجایی که این مواد توسط روش‌های معمولی حرارت مرطوب یا حرارت خشک قابل ضد عفونی کردن نیستند، حفظ روندی عاری از آلودگی به عنوان عاملی ضروری در یک درمان اندودنتیک موفق، نیازمند ضد عفونی سریع مخروطح‌های گوتاپرکا در حین کار و پیش از استفاده می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی میزان اثر ضد عفونی کنندگی غلظت‌های مختلف محلول هیپوکلریت سدیم بر روی مخروطح‌های گوتاپرکا می‌باشد که به صورت مصنوعی توسط *Enterococcus fecalis* و اسپور *Bacillus subtilis* آلوده شده‌اند.

روش بررسی: در این مطالعه از تعداد صد و شصت عدد گوتاپرکای شماره هشتاد مارک آریادنت استفاده شد. مخروطح‌های گوتاپرکا به مدت سی دقیقه در محلول‌های میکروبی غوطه‌ور شده و پس از انتقال به ظروف حاوی کاغذ استریل به مدت ده دقیقه در حرارت محیط خشک شدند، سپس کن‌ها به صورت جداگانه و در شرایط استریل به ظروف پلاستیکی استریل انتقال یافته و در زمان‌های یک، سه و پنج دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم با غلظت‌های ۰/۵٪، ۱٪ و ۲٪ و ۵/۲۵٪ غوطه‌ور شدند. پس از آن مخروطح‌های گوتاپرکا به لوله‌های حاوی سرم فیزیولوژی استریل با ۰/۶٪ تیوسولفات سدیم منتقل شدند. این محلول به مدت بیست ثانیه توسط *Vortex mixer* مخلوط شده و نمونه‌هایی از محلول رقیق نشده (۵/۲۵٪) و رقت‌های ۰/۵٪، ۱٪ و ۲٪ در محیط *Tryptic agar* کشت داده شدند، سپس تعداد کلنی‌ها شمارش و به صورت CFU/ML گزارش گردید. با توجه به اینکه کلیه غلظت‌های محلول هیپوکلریت سدیم در زمان‌های مختلف خاصیت ضد باکتریایی و ضد اسپور از خود نشان دادند. بر پایه این مطالعه، ضد عفونی مخروطح‌های گوتاپرکا به مدت یک دقیقه به وسیله محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵٪ توصیه می‌شود.

کلیدواژه‌ها: هیپوکلریت سدیم، مخروطح‌های گوتاپرکا، ضد عفونی

گذشته نقش درمان اندودنتیک در درمان‌های دندانپزشکی

بسیار توسعه پیدا کرده است و مهمترین دلیل آن موفقیت

قابل توجه این درمانها بوده است.

موفقیت یک درمان اندودنتیک تحت تأثیر کاهش و

یا حذف میکروارگانیسم‌های کانال ریشه پیش از پرکردن

مقدمه

با پیشرفت دانش دندانپزشکی و ابداع روشها و مواد

جدید جهت اعاده عملکرد دندانها، تلاش بیشتری در

نگهداری دندانهای بدون پالپ انجام می‌گیرد. در دهه

را می‌توان نام برد.

تا به امروز مواد زیادی جهت ضدعفونی کردن گوتاپرکا در هنگام استفاده کلینیکی و قراردادن در کانال به کار رفته است مانند Chloride Zephirin, Zephirin, Thimerosal، الکل، بتادین، گاز فرمالدئید و پارافرمالدئید، هیپوکلریت سدیم و گلوئوتارالدئید.

از میان مواد مختلف، هیپوکلریت سدیم به علت دارا بودن خصوصیات قابل توجه، بیشتر مورد توجه بوده و مطالعات زیادی روی خاصیت ضدعفونی‌کنندگی آن انجام گرفته است.

در سال ۱۹۷۵، Senia و همکارانش مطالعه‌ای بر روی اثر هیپوکلریت سدیم در استریلیزاسیون مخروط‌های گوتاپرکا انجام دادند. در این تحقیق گوتاپرکا توسط میکروارگانیزم‌های مختلف آلوده شده و در محلول هیپوکلریت سدیم با غلظت ۵/۲۵٪ در مدت زمان‌های مختلف قرار داده شدند. در مدت زمان سی ثانیه همه میکروارگانیزم‌های بجز باسیلوس سابتیلیس (Bacillus subtilis) از بین رفته، در مدت زمان یک دقیقه این باسیل هم از بین رفت و چنین نتیجه گرفت هیپوکلریت سدیم با غلظت ۵/۲۵٪ به مدت یک دقیقه روش قابل اعتمادی جهت ضدعفونی کردن گوتاپرکا می‌باشد (۵).

Linke و Harald در سال ۱۹۸۲ در طی مطالعه‌ای که به منظور بررسی اثر محلول‌های مختلف در استریلیزاسیون مخروط‌های گوتاپرکا به انجام رسانیدند به این نتیجه رسیدند که هیپوکلریت سدیم ۴/۵٪ و Zephirin ۵۳/۰٪، در مدت پنج دقیقه قادر به از بین بردن باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و اندوسپورها هستند و موادی مانند کلروفورم، اوژنول و بتادین در استریلیزاسیون سطحی گوتاپرکا مؤثر نیستند (۱۰).

همچنین در تحقیقی که توسط Siqueira و

کانال می‌باشد (۱). نظر به اینکه باکتری‌ها در ایجاد و جایگزینی پرپودنتیت اپیکال دخالت دارند (۲ و ۳)، کنترل و جلوگیری از آلودگی کانال ریشه در درمان اندودنتیک از اهمیت بسزایی برخوردار است. برای دستیابی به این اهداف، پاکسازی کامل کانال ریشه و کاربرد یک روش عاری از آلودگی ضروریست (۴). در طی روند درمان وسایل و موادی که در داخل کانال قرار داده می‌شوند نیز باید عاری از میکروارگانیزم‌ها باشند، زیرا به علت استفاده نامناسب از وسایل اندودنتیک استریل ممکن است به سرعت آلودگی ایجاد شود. به دلیل اینکه مواد پرکننده کانال در تماس نزدیک با بافت‌های پری‌رادیکولار قرار می‌گیرند استریل بودن آنها الزامی است (۵ و ۴).

گوتاپرکا به عنوان یک ماده پرکننده کانال می‌بایست پیش از قرار دادن در کانال ریشه عاری از هرگونه میکروارگانیزم‌ها باشد (۶). چون اتوکلاو و گرمای خشک به علت ایجاد تغییرات فیزیکی برگشت‌ناپذیر روش‌های مناسبی برای ضدعفونی کردن مخروط‌های گوتاپرکا نیستند به این منظور از ضدعفونی‌کننده‌های شیمیایی استفاده می‌شود (۷).

شماری از ضدعفونی‌کننده‌های شیمیایی برای ضدعفونی کردن گوتاپرکا مورد استفاده قرار گرفته‌اند. Crone در سال ۱۹۲۰ از روش ضدعفونی مخروط‌های گوتا با ید و سپس نگهداری آنها در الکل استفاده کرد (۷). همچنین Kantarowicz و Buchbinder نگهداری گوتا در بخار Para form powder به مدت ۲۴ ساعت را توصیه کرده‌اند (۹ و ۸).

از دیگر محلول‌های شیمیایی مورد استفاده از تننورمتافن ۵۰٪، بنزالکونیوم (زفیران)، گاز فرموکزول، گلوئوتار آلدئید قلیایی (سیدکس)، پوویدین آیدین (بتادین)، اکسید پروپیلن، پلی‌وینیل پیرولیدون و هیپوکلریت سدیم

نمونه صد و شصت عدد گوتا پرکا شماره هشتاد در گروه‌های آزمایش و شاهد قرار داده شد. همچنین جهت بررسی اثر غلظت‌های مختلف هیپوکلریت سدیم در زمانهای متفاوت تماس در استریل کردن سریع مخروط‌های گوتا پرکا مراحل زیر به انجام رسید.

استریلیزاسیون اولیه مخروط‌های گوتا پرکا: جهت حصول اطمینان از استریل بودن مخروط‌های گوتا پرکا پس از باز کردن بسته‌های حاوی گوتا، آنها را در محلول ۵/۲۵٪ سدیم غوطه‌ور ساخته و پس از طی زمان سی دقیقه در شرایط عادی از آلودگی و توسط پنس استریل به صورت جداگانه برداشته پس از آبکشی در آب مقطر استریل درون پلیت‌های شیشه حاوی کاغذ صافی استریل قرار داده شد تا در درجه حرارت اتاق خشک گردد.

جهت انتخاب حجم نمونه با استفاده از روش‌های آماری، تعداد صد و بیست مخروط گوتا پرکای شماره هشتاد آریادنت انتخاب شد که به این تعداد سی عدد جهت کنترل مثبت و ده عدد جهت کنترل منفی اضافه شد.

برای بررسی اثر هیپوکلریت سدیم در حذف باکتری *Entrococcus fecalis* و اسپور باکتری باسیلوس سابتیلیس گوتا پرکاهای استریل به طور مصنوعی با محلول‌های میکروبی فوق آلوده شدند. پس از اطمینان از آلودگی مخروط‌های گوتا پرکا در محلول هیپوکلریت به غلظت‌های ۰/۵٪، ۱٪ و ۲٪ و ۵/۲۵٪ در سه زمان یک، سه و پنج دقیقه قرار داده شد.

کنترل مثبت: جهت شمارش باکتری‌ها و حصول اطمینان از آلوده‌سازی مخروط‌های گوتا پرکا به ازای هر یک از زمانهای تماس تعداد پنج عدد گوتا پرکای آلوده به یکی از دو گونه باکتری مورد مطالعه بدون تماس با

همکارانش در سال ۱۹۹۸ انجام گرفت میزان تأثیر چهار نوع محلول شیمیایی در حذف اسپورهای باسیلوس سوبتیلیس از مخروط‌های گوتا پرکا بررسی شد. در این مطالعه از محلول‌های هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪، گلوتارآلدئید ۲٪، کلرهگزیدین دی‌گلوکونات و الکل اتیلیک ۷۰٪ استفاده شد و پس از آلوده‌سازی مخروط‌های گوتا به سوسپانسیون اسپور باسیلوس سوبتیلیس در زمانهای یک، سه، پنج و ده دقیقه با محلول‌های فوق‌الذکر در تماس قرار گرفت. نتایج این پژوهش آشکار ساخت که محلول هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ پس از یک دقیقه تماس با گوتا‌های آلوده سبب نابودی اسپورها می‌شود و همچنین بررسی‌های بیشتر نشان داد که محلول‌های گلوتارآلدئید، کلرهگزیدین و الکل اتیلیک حتی پس از ده دقیقه مواجهه هم قادر به ضد عفونی کردن گوتا‌ها نبودند (۴).

اغلب روش‌های موثر استریلیزاسیون نیازمند صرف زمان زیادی درحین کار و هنگام درمان بیمار می‌باشند و اکثر مخروط‌های گوتا پرکا در حین استفاده و در مسیر قرارگیری و انطباق با کانال آلوده می‌شوند. بنابراین برای استریلیزاسیون مخروط‌های گوتا پرکا نیاز به روش سریع، کوتاه مدت و مؤثر احساس می‌شود. هدف از این مطالعه یافتن روشی مؤثر، سریع و ارزان برای استریلیزاسیون مخروط‌های گوتا پرکا توسط محلول هیپوکلریت سدیم می‌باشد.

روش بررسی

مطالعه از نوع مطالعات تجربی (Experimental) بوده و نوع نمونه از گوتا پرکا مارک آریادنت شماره هشتاد استفاده شد. به منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف هیپوکلریت سدیم در زمانهای متفاوت پس از تعیین حجم

ضد عفونی کننده محلول هیپوکلریت سدیم با غلظت‌های متفاوت صد درصد بود و هیچ گونه رشدی در محیط‌های کشت مشاهده نشد، این بدان معنی است که هیپوکلریت سدیم همه میکروارگانیسم‌ها را از بین برده و یا تعداد آنها را به حدی کم کرده است که دیگر در محیط کشت قابلیت رشد و تکثیر ندارند. با توجه به اینکه نتایج هیچ‌گونه تفاوت واضحی را بین غلظت‌های مختلف محلول هیپوکلریت سدیم در زمان‌های متفاوت جهت ضد عفونی مخروط‌های گوتاپرکا نشان نمی‌دهد بنابراین نیازی به آنالیز آماری جهت مشخص کردن اختلاف نتایج نمی‌باشد.

بحث

یکی از مبانی اساسی درمان اندودنتیک حذف یا کاهش قابل ملاحظه میکروارگانیسم‌های کانال ریشه می‌باشد (۱۱).

جهت دستیابی به منظور فوق با استفاده از روش‌های مناسب تمیز کردن و همچنین استفاده از وسایل و مواد استریل در ضمن کار باید مورد توجه قرار گیرد. از آنجایی که نمی‌توان مخروط‌های گوتاپرکا را به روش معمول استریل کرد (تغییر ماهیت در اثر حرارت) لذا از روش‌های دیگری مانند استفاده از محلول‌های شیمیایی توصیه می‌شود (۱۲). تا به امروز شمار زیادی از ضد عفونی کننده‌های شیمیایی برای استریل کردن گوتاپرکا مورد استفاده قرار گرفته‌اند که هیپوکلریت سدیم به علت ارزانی و قابل دسترس بودن و همچنین سهولت کار بیشتر مورد توجه بوده است.

هیپوکلریت سدیم یکی از شایعترین محلول‌های شیمیایی است که در درمان اندودنتیک به عنوان شوینده یا ضد عفونی کننده مورد استفاده قرار می‌گیرد.

محلول هیپوکلریت سدیم به درون لوله آزمایش حاوی سه سی‌سی سرم فیزیولوژی استریل انتقال یافته و پس از طی هر یک از زمان‌های مورد نظر یک، سه و پنج محتوای لوله آزمایش تکان داده شده و رقت‌های ۰/۵٪ و ۱٪ و ۲٪ تهیه گردید. سپس از رقت‌های تهیه شده صد میکرولیتر به پلیت حاوی محیط کشت Tryptic Soy Agar منتقل و به مدت ۴۸ ساعت گرماگذاری شدند.

کنترل منفی: جهت حصول اطمینان در استریل بودن مخروط‌های گوتاپرکا، پنج عدد گوتاپرکای استریل را در لوله آزمایش حاوی سه سی‌سی سرم فیزیولوژی قرار داده، سپس از محلول فوق در محیط کشت (TSA) Tryptic Soy Agar کشت داده شد.

گروه آزمایش: برای هر یک از غلظت‌های محلول هیپوکلریت سدیم ۱۵ عدد گوتاپرکای آلوده را در محلول‌های مورد نظر قرار داده و پس از زمان‌های یک و سه و پنج دقیقه آنها را از محلول هیپوکلریت خارج کرده و به لوله آزمایش حاوی سه سی‌سی سرم فیزیولوژی با سدیم تیوسولفات برای انتروکوکوس فکالیس و بدون تیوسولفات برای باسیلوس سابتیلیس انتقال داده شدند، آنگاه از محلول‌های فوق رقت‌های ۰/۵٪ و ۱٪ و ۲٪ تهیه گردید و پس از اضافه کردن به محیط کشت بعد از گرماگذاری ۴۸ ساعته رشد باکتری‌ها بررسی و به صورت CFU/ML گزارش شدند.

نتایج

نتایج بدست آمده در این مطالعه در مورد اثر ضد عفونی کنندگی غلظت‌های مختلف محلول هیپوکلریت سدیم در زمان‌های متفاوت بر روی دو گونه باکتری‌های مورد آزمایش مشابه بود. در هر دو گونه باکتری درصد کاهش آلودگی در اثر

ساختارهای خاصی به نام اسپور تولید می‌کنند که با فرم Vegative تفاوت فراوانی دارد به طوری که اسپورها مقاومت بیشتری نسبت به حرارت داشته و به آسانی توسط عوامل شیمیایی تخریب نمی‌شوند. به همین جهت از باسیلوس سابتیلیس به دو فرم Vegative و اسپور استفاده شد.

مطالعات زیادی جهت بررسی اثر آنتی‌باکتریال محلول هیپوکلریت سدیم بر روی مخروطه‌های گوتاپرکا صورت گرفته است. از جمله Senia در ۱۹۷۵، Harald، Linke در ۱۹۸۳، Frank و همکاران در ۱۹۸۳، Stabholz و همکاران در ۱۹۸۷ و بالاخره Qigueira در ۱۹۹۸ از هیپوکلریت ۵/۲۵٪ استفاده کردند نتیجه مطالعات آنها نابودی باکتری‌ها در مجاورت هیپوکلریت سدیم بود (۵، ۱۰، ۱۲ و ۱۵).

بررسی مطالعات فوق مشخص می‌کند که در اکثر این مطالعات محققان از یک غلظت ثابت (۵/۲۵٪) هیپوکلریت سدیم جهت بررسی اثرات ضد عفونی کنندگی این محلول استفاده کرده‌اند.

غلظت‌های بالای محلول هیپوکلریت سدیم به علت احتمال تغییر رنگ و وسایل بیمار و عمل‌کننده و بوی نامطبوع و مزه تلخ، محلول مناسبی برای استفاده حین کار نمی‌باشد. از سوی دیگر به دلیل کاربرد این روش در حین درمان اندودنتیک صرف زمانهای طولانی جهت ضد عفونی کردن مخروطه‌های گوتاپرکا واقع بینانه به نظر نمی‌رسد. هدف از اجرای این مطالعه نیز یافتن روشی با حداقل غلظت محلول هیپوکلریت سدیم به منظور رفع معایب غلظت‌های بالا و حداقل زمان جهت صرفه‌جویی در زمان کار می‌باشد در این مطالعه میزان اثر ضد عفونی کنندگی هیپوکلریت سدیم در غلظت‌های ۰/۵٪، ۱٪، ۲٪ و ۵/۲۵٪ در زمانهای یک، سه و پنج دقیقه بر

بر خلاف اینکه هنوز مکانیسم اثر آن به طور دقیق مشخص نشده است ولی هنگامی که Naocl بر آب اضافه می‌شود اسید هیپوکلریک (HOCL) تشکیل می‌شود که حاوی کلر فعال است و از عوامل اکسید کننده قوی به شمار می‌آید. مدارک و شواهد موجود حاکی از آن است که کلرین با اکسیداسیون گروه‌های SH آنزیم‌های اصلی سلول‌های باکتریال چرخه متابولیک آنها را مختل کرده و به مرگ آنها می‌انجامد. علاوه بر این شاید کلرین با اجزای سیتوپلاسم ترکیب شده ترکیبات N-Chloro ایجاد می‌کند که این ترکیبات سمی باعث مرگ میکروارگانیسم‌ها می‌شوند. هرچند شایان توجه است که اکسیداسیون حاصله در تماس اول کلرین با باکتری حتی قبل از تشکیل ترکیبات N-chloro در سیتوپلاسم می‌تواند منجر به مرگ میکروارگانیسم شود (۱۳).

در این مطالعه جهت بررسی اثرات ضد عفونی کنندگی محلول هیپوکلریت سدیم دو سوش باکتریایی *Intrococcus Facalis* و اسپور باسیلوس سابتیلیس مورد مطالعه قرار گرفت.

Entrococcus facalis کوکوسی گرم مثبت است که به صورت تک تک یا جفت جفت یا زنجیره‌های کوتاه دیده می‌شود. این باکتری بی‌هوازی اختیاری بوده، در حرارت شصت درجه سانتی‌گراد تا مدت سی دقیقه زنده می‌ماند، این باکتری را از نواحی مختلف دهان جدا کرده‌اند (۱۴).

مقاومت در برابر طیف وسیعی از عوامل ضد میکروبی و وجود آن در عفونتهای پایدار پریدنتیت آپیکال، دلایل انتخاب این باکتری بوده است و از آنجایی که گونه‌های خاصی از باکتری مانند باسیلوس هنگامی که به واسطه اتمام مواد غذایی ضروری رشدشان متوقف می‌شود

نتیجه گیری

با توجه به نتایج این مطالعه پیشنهاد می شود جهت احتراز از معایب غلظت‌های بالای هیپوکلریت سدیم مانند بوی بد و خاصیت رنگ‌بری از غلظت ۰/۵٪ به مدت یک دقیقه جهت ضدعفونی گوتاپرکا استفاده شود. همچنین برای پیشگیری از تحریکات بافتی هیپوکلریت سدیم محلول باقی مانده بر روی مخروط‌های گوتاپرکا توسط گاز یا کاغذ فیلتر استریل پیش از قرار دادن در کانال زدوده شود، از آنجایی که هیپوکلریت سدیم محلول ناپایدار است با گذشت زمان و آزاد شدن محلول کلرین از خاصیت میکروبی آن کاسته می شود، می‌بایست به صورت روزانه تهیه شود.

روی دو گونه باکتری *Entrococcus facalis* و باسیلوس سابتیلیس مورد بررسی قرار گرفته است. پس از ارزیابی محیط‌های کشت مشخص شد که کلیه غلظت‌های مورد آزمایش هیپوکلریت سدیم در تمام زمانهای منظور شده سبب نابودی هر دو گونه باکتری‌های مورد آزمایش شدند. از آنجایی که در اکثر تحقیقاتی که بیش از این ذکر شد محققان از غلظتی ثابت (۵/۲۵٪) از محلول هیپوکلریت سدیم استفاده کرده و با تغییر زمانهای مواجهه میزان اثر ضدعفونی‌کنندگی این محلول را مورد بررسی قرار داده‌اند، نتایج این مطالعه همسو با این مطالعات بوده و به دلیل کاربرد غلظت بالای هیپوکلریت در این تحقیقات مغایرتی با نتایج این مطالعه نداشته و گویای این مطلب است که زمان یک دقیقه‌ای مدتی کافی جهت ضدعفونی سریع مخروط‌های گوتاپرکا می‌باشد.

REFERENCES

1. Seltzer S, Bender IB. Factors affecting successful repair after canal therapy. J Am Dent Assoc 1963; 67: 651-62.
2. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rates. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1965; 20: 340-9.
3. Sundquist G. Bacteriological studies of necrotic dental pulps [Dissertation]. University of U Mea 1987; 671-674.
4. Siqueira JF, Pariera de Silva CHF, Cerqueira D6 lopes HP. effectiveness of four chemical solutions in eliminating bacillus subtilis spores on Gutta Percha. Endod Dent Traumatol 1995; 14: 124-126.
5. Senia ES, Marroro RV, Michell JL, Lewis A6 Thomas L. Rapid sterilization of Gutta Percha cones with 5.25% sodium hypochlorite. J Endod 1975; 1: 136-140.
6. Moller B, Orstavik D. Influence of antiseptive storage sloution on physical properties of endodontic Gutta Percha points. Scand J Dent Res 1985; 93: 158-161.
7. Crane AB. A Practicable root canal technique, 3thed. Philadelphia: Lea of Febiger; 1920; 41-49.
8. Kantorowicz GF. Sterlization of endodontic materials and instruments in general practice. Dent Pract 1952; 373-374.
9. Buchbinder M. Sterilization of cotton points and Gutta Percha description of technique. NY. State Dent J 1970; 36(6): 200.

10. Link HA, Chohayeb KP. Effectiveness surface sterilization of Gutta Percha points. Oral Surg Oral Med Oral Patho 1983; 55(1): 73-77.
11. Ludlow MO, Harmsen KP. Rapid sterilization of Gutta Percha points after chair side contamination [SL]: Quint Int 1986; 17(7): 419-421.
12. Stabholz A, Friedman. S. Efficiency of different chemical agents in decontamination of Gutta Percha cones. Int Endod J 1987; 20: 211-216.
13. Siqueira JF marcelo B. Anti Bacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented gram-negative anaerobes and facultative bacteria. J Endod 1988; 24(6): 414-416.
14. Siqueira JF, Machad AG. Evaluation of the effectiveness of sodiumhypochorite used with three irrigation methods in the elimination of etrococcus. fecalis from the root canal, In vitro. Endod J 1997; 30: 279-289.
15. Frank R. Gluturaldehyde decontamination of Gutta Percha cones. J Endod 1983; 9(9): 386-376.