



**T.C.
GAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA
TEZİ**

**KÖK KANALLARINDA FARKLI
KONSANTRASYONLARDA KULLANILAN
ETİDRONİK ASİT, PERASETİK ASİT VE
ETİLEN DİAMİN TETRA ASETİK ASİTİN
ENTEROCOCCUS FAECALIS BİYOFİLMLERİNE ETKİSİ**

SALEV ZEYREK

ENDODONTİ ANABİLİM DALI

OCAK 2020



**KÖK KANALLARINDA FARKLI KONSANTRASYONLARDA
KULLANILAN ETİDRONİK ASİT, PERASETİK ASİT VE ETİLEN
DİAMİN TETRA ASETİK ASİTİN *ENTEROCOCCUS FAECALIS*
BİYOFİLMLERİNE ETKİSİ**

Salev ZEYREK

**DOKTORA TEZİ
ENDODONTİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2020

Salev Zeyrek tarafından hazırlanan "KÖK KANALLARINDA FARKLI KONSANTRASYONLARDA KULLANILAN ETİDRONİK ASİT, PERASETİK ASİT VE ETİLEN DİAMİN TETRA ASETİK ASİTİN *ENTEROCOCCUS FAECALIS* BİYOFİLMLERİNE ETKİSİ" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ/~~OY ÇOKLUĞU~~ ile Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Özgür İlke Atasoy Ulusoy
Endodonti Anabilim Dalı,
Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Başkan: Prof. Dr. Tayfun Alaçam
Endodonti Anabilim Dalı,
Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~.

Üye: Prof. Dr. Bahar Özçelik
Endodonti Anabilim Dalı,
Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~.

Üye: Prof. Dr. Sis Yaman
Endodonti Anabilim Dalı,
Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~.

Üye: Prof. Dr. Özgür Topuz
Endodonti Anabilim Dalı,
Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~.

Üye: Doç. Dr. Emre Altundaşar
Endodonti Anabilim Dalı,
Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~.

Tez Savunma Tarihi: 09/01/2020

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mustafa ASLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarımı kabullendiğimi beyan ederim.



Salev Zeyrek

09.01.2020

KÖK KANALLARINDA FARKLI KONSANTRASYONLARDA KULLANILAN
ETİDRONİK ASİT, PERASETİK ASİT VE ETİLEN DİAMİN TETRA ASETİK ASİTİN
ENTEROCOCCUS FAECALIS BİYOFİLMLERİNE ETKİSİ

(Doktora Tezi)

Salev ZEYREK

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2020

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, %17 etilen diamin tetra asetik asit (EDTA), %9 ve %18 etidronik asit (HEBP) ve %1 ve %2 perasetik asit (PAA)'in tek başına veya NaOCl ile birlikte kullanımının, Enterococcus faecalis biyofilmlerinin uzaklaştırılmasına etkisini lazer taramalı konfokal mikroskop (LTKM) ile değerlendirmektir. Bu çalışmada toplam 115 adet çekilmiş tek köklü insan premolar dişi kullanıldı. Tüm dişler kronlarından kök uzunlukları standart 13 mm kalacak şekilde ayrıldı. Diş köklerinin orta üçlülerinden 3 mm kalınlıkta yuvarlak kesitler elde edildi. Dentin kesitleri, Enterococcus faecalis bakterisi ile kontamine edildi ve biyofilm formasyonu için 7 günlük inkübasyon sürecine tabi tutuldu. Daha sonra enfekte edilmiş örnekler irrigasyon protokollerine göre 12 gruba ayrıldı (11 deney (n=10), 1 kontrol (n=5)): 1. Grup: %2,5 sodyum hipoklorit (NaOCl); 2. Grup: %17 etilen diamin tetra asetik asit (EDTA); 3. Grup: %1 perasetik asit (PAA); 4. Grup: %2 perasetik asit (PAA); 5. Grup: %9 etidronik asit (HEBP); 6. Grup: %18 etidronik asit (HEBP); 7. Grup: %2,5 NaOCl-3 ml %17EDTA; 8. Grup: %2,5 NaOCl-3 ml %1 PAA; 9. Grup: %2,5 NaOCl- 3 ml %2 PAA; 10. Grup: %2,5 NaOCl+%9 HEBP; 11. Grup: %2,5 NaOCl+%18 HEBP; 12. Grup: Salin(kontrol). Her grupta toplam irrigasyon hacmi 6 ml toplam irrigasyon süresi 2 dakika olarak belirlendi. İrrigasyon işlemleri sonrasında örnekler floresan Canlı/Ölü boya ile boyandı ve lazer taramalı konfokal mikroskop kullanılarak incelendi. Toplam biyohacim ve ölü, canlı bakterilerin biyohacim oranları bir yazılım programı ile hesaplandı. Elde edilen verilerin istatistiksel analizi, Saphiro-Wilk testi sonrasında Tek Yönlü Varyans Analizi (One-way ANOVA) ile birlikte Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılarak gerçekleştirildi (p<0.05). En yüksek biyofilm eliminasyon yüzdesi sırasıyla, %2,5 NaOCl-%2 PAA, %2,5 NaOCl+%18 HEBP, %2,5 NaOCl+%9 HEBP, %2,5 NaOCl-%1 PAA, %2 PAA, %2,5 NaOCl-%17 EDTA ve %1 PAA gruplarından elde edildi (p<0.001). Tüm deney grupları arasında en fazla canlı bakteri yüzdesi %17 EDTA'nın tek başına kullanıldığı örneklerde gözlenmiştir (p<0.001). %9 HEBP ve %18 HEBP gruplarındaki ölü bakteri yüzdesi, %2,5 NaOCl+%9 HEBP ve %2,5 NaOCl+%18 HEBP gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşüktür (p<0.001). Kök kanallarından, E. faecalis biyofilmlerinin uzaklaştırılmasında, NaOCl ile birlikte kullanılan şelasyon ajanı olarak perasetik ve etidronik asit, EDTA'ya alternatif olarak düşünülebilir.

Bilim kodu : 10101.04

Anahtar kelimeler : E. faecalis, etidronik asit, perasetik asit, lazer taramalı konfokal mikroskop

Sayfa Adedi : 75

Danışman : Prof. Dr. Özgür İlke Atasoy Ulusoy

THE EFFECTS OF ETIDRONIC ACID, PERACETIC ACID AND
ETHYLENEDIAMINETETRAACETIC ACID USED WITH DIFFERENT
CONCENTRATIONS ON ENTEROCOCCUS FAECALIS BIOFILMS

(Ph. D. Thesis)

Salev ZEYREK

GAZI UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

January 2020

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the effects of 17% ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), 9% and 18% etidronic acid (HEBP) and 1% and 2% peracetic acid (PAA) solutions used either alone or in combination with NaOCl on elimination of *Enterococcus faecalis* biofilms from root canals by using confocal laser scanning microscopy (CLSM). A total of 115 extracted single-rooted human premolar teeth used in this study. All teeth were separated from their crowns leaving a 13 mm standard root length. Round dentin slices with a thickness of 3 mm were obtained from the middle thirds of the roots. These discs contaminated with *Enterococcus faecalis* and incubated 7 days for biofilm formation. Then the contaminated samples were divided into 12 groups according to the irrigation regimens (11 experimental (n=10), 1 control (n=5)): Group 1: 2,5% sodium hypochlorite (NaOCl); Group 2: 17% ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA); Group 3: 1% peracetic acid (PAA); Group 4: 2% peracetic acid (PAA); Group 5: 9% etidronic acid (HEBP); Group 6: 18% etidronic acid (HEBP); Group 7: 2,5% NaOCl-17% EDTA; Group 8: 2,5% NaOCl-1% PAA; Group 9: 2,5% NaOCl- 2% PAA; Group 10: 2,5% NaOCl+9% HEBP; Group 11: 2,5% NaOCl+18% HEBP; Group 12: Saline (control). The total exposure time for the irrigation solutions was 2 minutes, and the total irrigant volume for each group was 6 ml. After irrigation procedures, the samples were stained with fluorescent Live/Dead staining kit and examined using confocal laser scanning microscopy (CLSM). Total biovolume and percentage of dead and live bacteria were calculated by a software program. Statistical analyses were performed with Saphiro-Wilk and one-way ANOVA with Tukey multiple comparison tests with a significance level of 0.05. The highest biofilm elimination percentage was obtained from 2,5% NaOCl-2% PAA, 2,5% NaOCl+18% HEBP, 2,5% NaOCl+9% HEBP, 2,5% NaOCl-1% PAA, 2% PAA, 2,5% NaOCl-17% EDTA and 1% PAA groups, respectively (p<0.001). Among all experimental groups, the highest percentage of live bacteria was observed in 17% EDTA irrigated samples (p<0.001). The percentage of dead bacteria was significantly lower in 9% HEBP and 18% HEBP groups compared to the 2,5% NaOCl + 9% HEBP, 2,5% NaOCl + 18% HEBP groups (p<0.001). Peracetic and etidronic acids should be considered as alternative chelation agents to EDTA, when used with NaOCl in removal of *E. faecalis* biofilms from root canals.

Science code : 10101.04

Keywords : *E. faecalis*, etidronic acid, peracetic acid, confocal laser scanning microscopy

Page number : 75

Supervisor : Prof. Dr. Özgür İlke Atasoy Ulusoy

TEŞEKKÜR

Öncelikle hayatım boyunca her zaman yanımda olup beni sonsuz destekleyen annem Prof. Dr. Meltem SERİN'e, babam Prof. Dr. Mehmet ZEYREK'e ve bütün aileme teşekkür etmek istiyorum.

Doktora süreci boyunca yardım ve desteklerini hiç bir zaman esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Özgür İlke ATASOY ULUSOY'a akademik ve bilimsel katkıları ayrıca da dostluğu için çok özel teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu süreçte hayatımı daha güzel, keyifli ve anlamlı kılan, ayrıca desteklerini hep hissettiğim, Uzm. Dt. İlke Gaye SAVUR, Dr. Dt. Çağman AKSOY, Dr. Dt. Mehmet KALÇAY, Dr. Dt. Mustafa SARIKAHYA, Dr. Dt. Yelda PALTUN, Dr. Dt. Sevim KEYFİALA, Uzm. Dt. Serpil SAĞIROĞLU AKSUN, Dt. İlke Doğa AYMERGEN ŞEKER ve bütün asistan arkadaşlarıma çok teşekkür ediyorum.

Tez çalışmamdaki mikrobiyoloji deneylerinde verdiği destek ve yardımlarından dolayı Sayın Doç. Dr. Gülçin AKÇA'ya minnettarlığımı sunuyorum.

Son olarak, sevgisi ve desteği ile her zaman yanımda olan çok değerli Ekinsu ÇAMUR'a sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Endodontik Enfeksiyonların Mikrobiyolojisi ve Tipleri	3
2.1.1. Kök kanalının doldurulması sırasında ortaya çıkan bakteriler (short-term survivors)	6
2.1.2. Kök kanalları doldurulduktan sonra ortaya çıkan bakteriler (long-term survivors)	7
2.1.3. Ekstraradiküler enfeksiyon	7
2.2. Biyofilm.....	8
2.2.1. Biyofilm oluşumu	8
2.2.2. Biyofilmin yapısı	9
2.2.3. Biyofilm yaşam biçimi.....	10
2.3. Quorum Sensing	11
2.4. Biyofilmin Antimikrobiyallere Dirençteki Rolü	12
2.5. <i>Enterococcus faecalis</i>	13
2.6. Kök Kanallarının İrrigasyonu.....	14
2.6.1. İrrigasyon solüsyonları.....	15
2.6.2. İrrigasyon solüsyonlarının sınıflandırılması	16
2.6.3. Sodyum hipoklorit (NaOCl)	17
2.6.4. Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA).....	18
2.6.5. 1-hydroxyethylidene-1, 1-bisphosphonate (Etidronik asit-HEBP).....	21
2.6.6. Perasetik asit (PAA).....	23

3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri	25
3.2. Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri	25
3.3. Dentin Disklerinin Hazırlanması ve <i>E. faecalis</i> Biyofilmlerinin Oluşturulması.....	25
3.4. İrrigasyon Solüsyonlarının Enfekte Dentin Kesitlerine Uygulanması	28
3.5. Lazer Taramalı Konfokal Mikroskop ile Bakteriyel Biyofilmlerin İncelemesi	31
3.5.1. Imaris 9.2.1 (BITPLANE an Oxford instruments company) yazılımı ile LTKM görüntüleri üzerinde gerçekleştirilen hacimsel biyofilm hesaplama aşamaları	34
3.6. İstatistiksel Analiz	40
4. BULGULAR.....	41
5. TARTIŞMA	51
5.1. Çalışmanın Limitasyonları	57
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	59
KAYNAKLAR	61
EKLER.....	71
Ek-1. Etik Kurul Onayı	72
Ek-1. (devam) Etik Kurul Onayı.....	73
ÖZGEÇMİŞ	74

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. İrrigasyon solüsyonlarının sınıflandırılması	17
Çizelge 4.1. Değerlendirilen irrigasyon protokollerinin uygulanması sonrasında deney gruplarındaki ölü bakteri yüzdelerinin ortalama, standart sapma, minimum-maksimum değerleri.....	41



ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil

Sayfa

Şekil 4.1. Değerlendirilen irrigasyon solüsyonlarının uygulanması sonrasında deney gruplarındaki ölü bakteri yüzdelerinin ortalamalarına ait sütun grafiği42



RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Akut apikal periodontitis görülen dişlerde, primer enfeksiyonlarda saptanan bakteri prevalansı	4
Resim 2.2. Kronik apikal periodontitis görülen dişlerde primer enfeksiyonlarda saptanan bakteri prevalansı	5
Resim 2.3. Kök kanal tedavili dişlerde tedavi sonrası görülen hastalıklarda saptanan mikroorganizma prevalansı	6
Resim 2.4. Biyofilm oluşum aşamaları	9
Resim 3.3. Örneklerin üzerine %5 sükröz çözeltisi eklenmesi	27
Resim 3.4. Live/Dead floresan boya (Live/Dead BacLight™, Kit L7012 Molecular Probes, ABD)	32
Resim 3.5. Örnekler üzerine boya karışımının steril pipet ile yerleştirilmesi	32
Resim 3.6. Lazer taramalı konfokal mikroskop, LSM 510 META (Zeiss)	33
Resim 3.7. İki boyutlu LTKM görüntülerinin bakteri biyofilmlerinin incelenebilmesi için hacimsel (3 boyutlu) hale getirilmesi	34
Resim 3.8. Canlı bakteri sayımı için yeşil kanaldan bakılarak yüzey detay boyutlarının ayarlanması	35
Resim 3.9. Arka planın dahil edilmemesi ile ilgili eşik değerinin ayarlanması	36
Resim 3.11. Yapılan düzenlemelerin görüntü üzerinde uygulanması ve hacim hesaplamalarının başlatılması	38
Resim 3.12. Hesaplama sonucu canlı bakteri biyofilm hacminin ve diğer parametrelerin ayrıntılı dökümü	39
Resim 4.1. %2,5 NaOCl - %2 PAA uygulaması sonrası elde edilen temsili LTKM görüntüsü Yeşil, canlı bakteri; Kırmızı, ölü bakteri	43
Resim 4.2. Salin (kontrol) uygulaması sonrası elde edilen temsili LTKM görüntüsü. Yeşil, canlı bakteri; Kırmızı, ölü bakteri	44
Resim 4.3. %17 EDTA uygulaması sonrası elde edilen temsili LTKM görüntüsü. Yeşil, canlı bakteri; Kırmızı, ölü bakteri	45
Resim 4.5. %9 HEBP uygulaması sonrası elde edilen temsili LTKM görüntüsü. Yeşil, canlı bakteri; Kırmızı, ölü bakteri	47
Resim 4.6. %1 PAA (A) uygulaması sonrası, %2 PAA (B) uygulaması sonrası elde edilen temsili LTKM görüntüsü. Yeşil, canlı bakteri; Kırmızı, ölü bakteri	48

Resim**Sayfa**

Resim 4.7. %9 HEBP (A) ve %18 HEBP (B) uygulaması sonrası elde edilen temsili LTKM görüntüsü. Yeşil, canlı bakteri; Kırmızı, ölü bakteri.....	49
Resim 4.8. %18 HEBP uygulaması sonrası elde edilen temsili LTKM görüntüsü. Yeşil, canlı bakteri; Kırmızı, ölü bakteri	50



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
°C	Santigrat derece
Gram (-)	Gram negatif
Gram (+)	Gram pozitif
ml	Mililitre
mm	Milimetre
μL	Mikrolitre
μm	Mikrometre
Kısaltmalar	Açıklama
AHL	Acyl-homoserine lactam
AI-2	Autoinducer-2
AIP	Autoinducer peptides
BHI	Brain Heart Infusion
Ca(OH)₂	Calcium hydroxide
CFU	Colony forming unit
CHX	Chlorhexidine gluconate
<i>E.faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
G	Gauge
H₂O₂	Hidrojen peroksit
HClO	Hipoklorik asit
HEBP	Etidronik asit

Kısaltmalar**Açıklama****LTKM**

Lazer taramalı konfokal mikroskop

MTAD

Mixture of tetracycline acid detergent

NaOCl

Sodyum hipoklorit

OCl

Hipoklorit

PAA

Perasetik asit

SEM

Scanning Electron Microscope

SPSS

Statistical Package for Social Sciences

TSA

Tryptic soy agar

TSB

Tryptic soy broth

1. GİRİŞ

Pulpa ve periradiküler doku hastalıklarının en önemli etkeni mikroorganizmalardır (Kakehashi, Stanley ve Fitzgerald, 1965). Bu nedenle, endodontik tedavinin hedefi, enfekte kök kanal sisteminin mikroorganizmalardan arındırılması, yeniden mikrobiyal çoğalmaya izin vermeyecek şartların oluşturulması ve periradiküler doku iyileşmesi için uygun koşulların sağlanmasıdır (Hargreaves ve Berman, 2015: 599).

Enfekte kök kanalında yer alan bakteriler, planktonik şekilde ya da birbirlerine veya kök kanal duvarlarına yapışık biyofilm halinde bulunurlar (Lin, Shen ve Haapasalo, 2013). Kök kanal tedavisi işlemlerine direnç gösteren bakteriler çoğunlukla kök kanal sisteminde kolonize olmuş biyofilm yapıları içerisinde yer almaktadır (Sonja, Shen ve Haapasalo, 2013). Bu nedenle apikal periodontitisi artık biyofilm kaynaklı bir hastalık olarak tanımlamak yerinde olacaktır. Lateral kanallar, apikal ramifikasyonlar, istmuslar gibi düzensiz alanlar, bakteri biyofilmleri açısından ideal bölgelerdir (Nair, Henry, Cano ve Vera, 2005).

Biyofilm içerisinde bulunan mikroorganizmalar, kök kanal tedavisi sırasındaki dezenfeksiyon ve irrigasyon protokollerine direnç göstermekte ve tedavi sonrasında da bazen hayatta kalabilmektedir. Tüm bu özelliklere sahip, biyofilm oluşturan bakteriler arasında en sık izole edileni *E. faecalis*'tir. Bu nedenle farklı irrigasyon ve dezenfeksiyon protokollerinin değerlendirildiği çalışmalarda genellikle *E. faecalis* biyofilm modeli kullanılmaktadır (Kishen ve Haapasalo, 2010).

Sodyum hipoklorit (NaOCl), üstün antimikrobiyal etki ve organik doku çözme yeteneği nedeniyle endodontide en yaygın kullanılan irrigasyon solüsyonudur (Mohammadi, 2008). Ancak, NaOCl'nin inorganik dokulara, dolayısıyla smear tabakaya etkisi zayıftır. Bu nedenle ek olarak dekalsifiye edici bir ajan ile birlikte kullanılması önerilmektedir (Haapasalo, Shen Qian ve Gao, 2010). Bu amaçla kök kanal tedavisinde en sık etilen diammin tetra asetik asit (EDTA) kullanılmaktadır. Ancak EDTA'nın kök kanalının apikal bölgesinde yeterli etkinlik sağlayamaması ve NaOCl ile etkileşime girerek onun doku çözücü ve antimikrobiyal etkisini baskılaması gibi nedenler, alternatif şelasyon ajanların araştırılmasına yol açmıştır (Park, Haapasalo ve Shen, 2012). Tıpta farklı alanlarında

kullanılan etidronik asit (HEBP) ve perasetik asit (PAA) gibi biyoyumlu ve asidik özellikleri düşük solüsyonların son yıllarda kök kanal tedavisinde kullanımı gündeme gelmiştir.

Bu çalışmanın amacı, %17 etilen diamin tetra asetik asit (EDTA), %9 ve %18 etidronik asit (HEBP) ve %1 ve %2 perasetik asit (PAA)'in tek başına veya NaOCl ile birlikte kullanımının, *Enterococcus faecalis* biyofilmlerinin uzaklaştırılmasına etkisini lazer taramalı konfokal mikroskop (LTKM) ile değerlendirmektir.



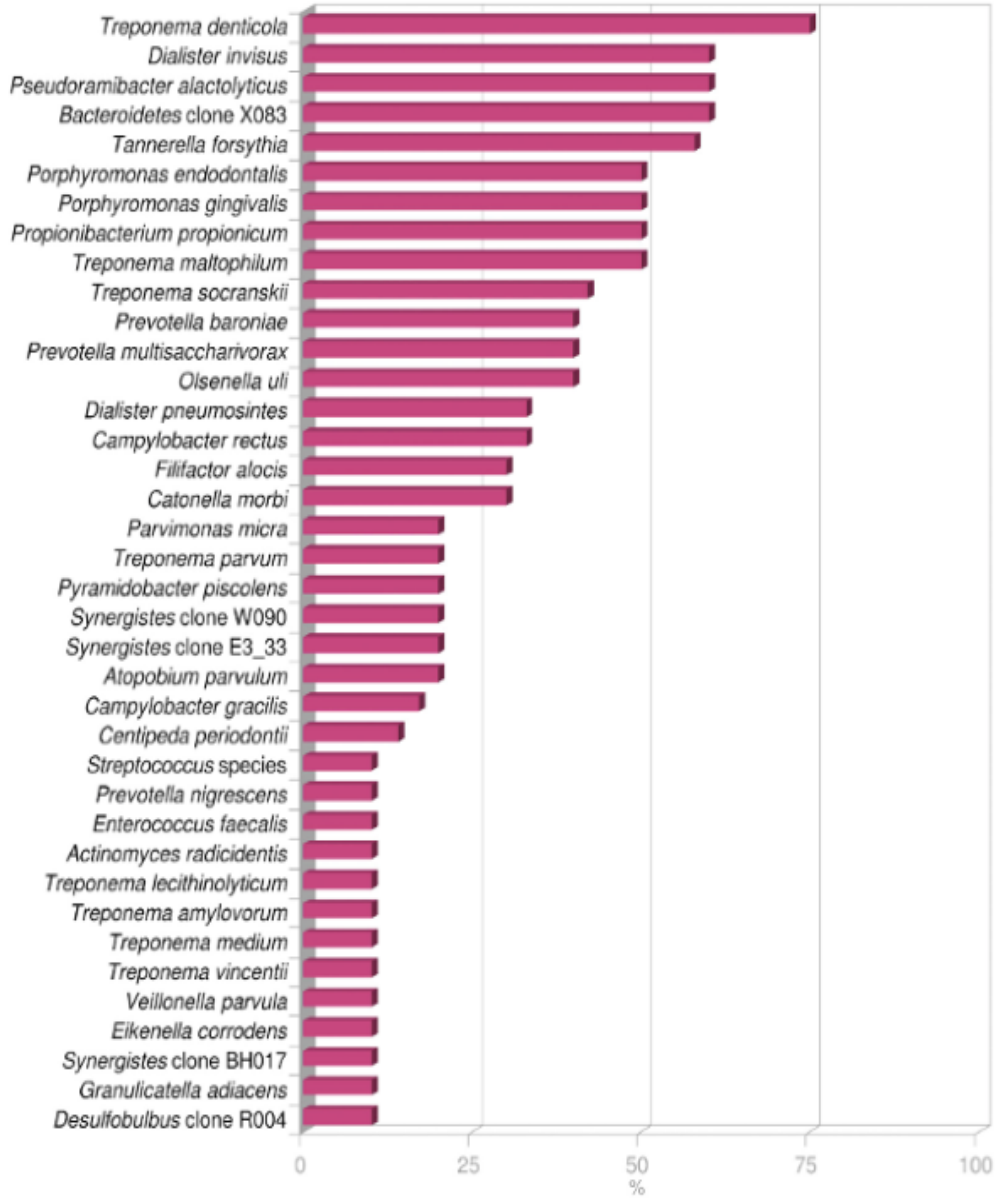
2. GENEL BİLGİLER

Apikal periodontitis genellikle kök kanal sistemindeki enfeksiyondan köken alan enflamatuvar bir oluşumdur (Siqueira, Ørstavik, Pitt ve Ford, 2008). Apikal periodontitisin patogenezinde başlıca etkenin mikroorganizmalar olduğu düşünülmektedir (Dantas, Coutrin de Toledo, Sampaio-Filho ve Siqueira, 2007).

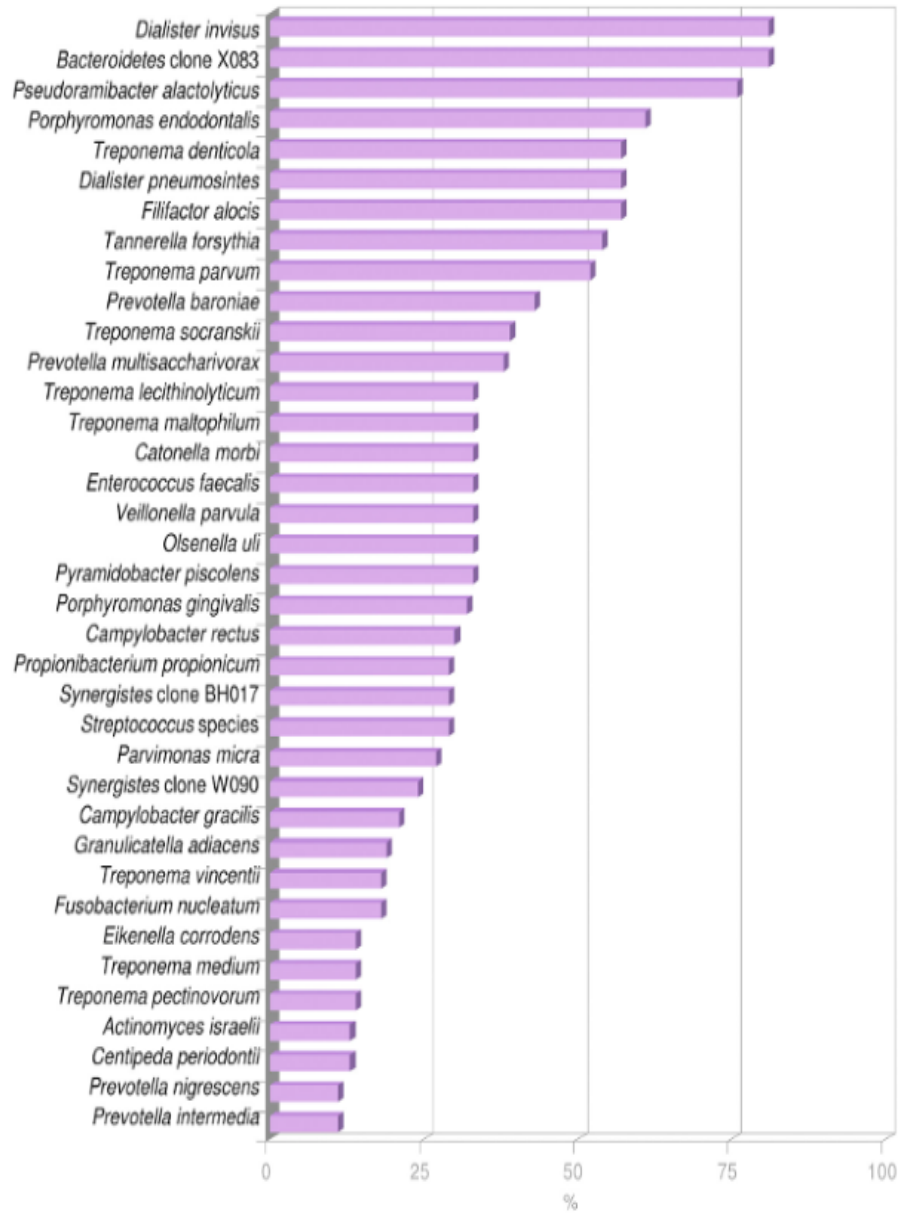
2.1. Endodontik Enfeksiyonların Mikrobiyolojisi ve Tipleri

Enfekte olmuş bir kök kanal sisteminin başlangıçtaki bakteriyel mikroflorası aerob ve fakültatif anaeroblar tarafından domine edilmektedir (Antunes, Rocas, Alves ve Siqueira, 2015). Enfeksiyon ilerledikçe, kök kanal sisteminin içerisindeki ekoloji de değişmektedir. Bu tür değişimler, kök kanalının açılmasına bağlı meydana gelen oksijen basıncı, irrigasyon ajanlarının kullanımı, kök kanalında kullanılan çeşitli materyallere bağlı farklılaşan pH ile ilişkilendirilebilir (Bystrom ve Sundqvist, 1981).

Endodontik enfeksiyonlar lokalizasyonlarına göre intraradiküler ve ekstraradiküler enfeksiyonlar olarak başlıca iki gruba ayrılmaktadır. Kök kanalında lokalize olan intraradiküler enfeksiyonlar ise primer enfeksiyonlar, sekonder enfeksiyonlar ve inatçı enfeksiyonlar olarak gruplanabilir. Primer endodontik enfeksiyonlar çoğunlukla, mikroorganizmalar ve yan ürünlerinin kök kanal sistemini ilk kez istila etmesi sonucu meydana gelmektedir. Nekrotik pulpa dokusunda ilk kolonize olan bakteriler tarafından oluşturulmaktadır (Vianna, Horz, Gomes ve Conrads, 2006). Bakteri sayısı ve çeşidi daha fazladır. Primer enfeksiyonlar genellikle polimikrobiyaldir ve çoğunlukla *Bacteroides*, *Prophyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Treponema*, *Peptostreptococcus*, *Eubacterium*, and *Camphylobacter* türlerine rastlanmaktadır (Provenzano ve diğerleri, 2013).



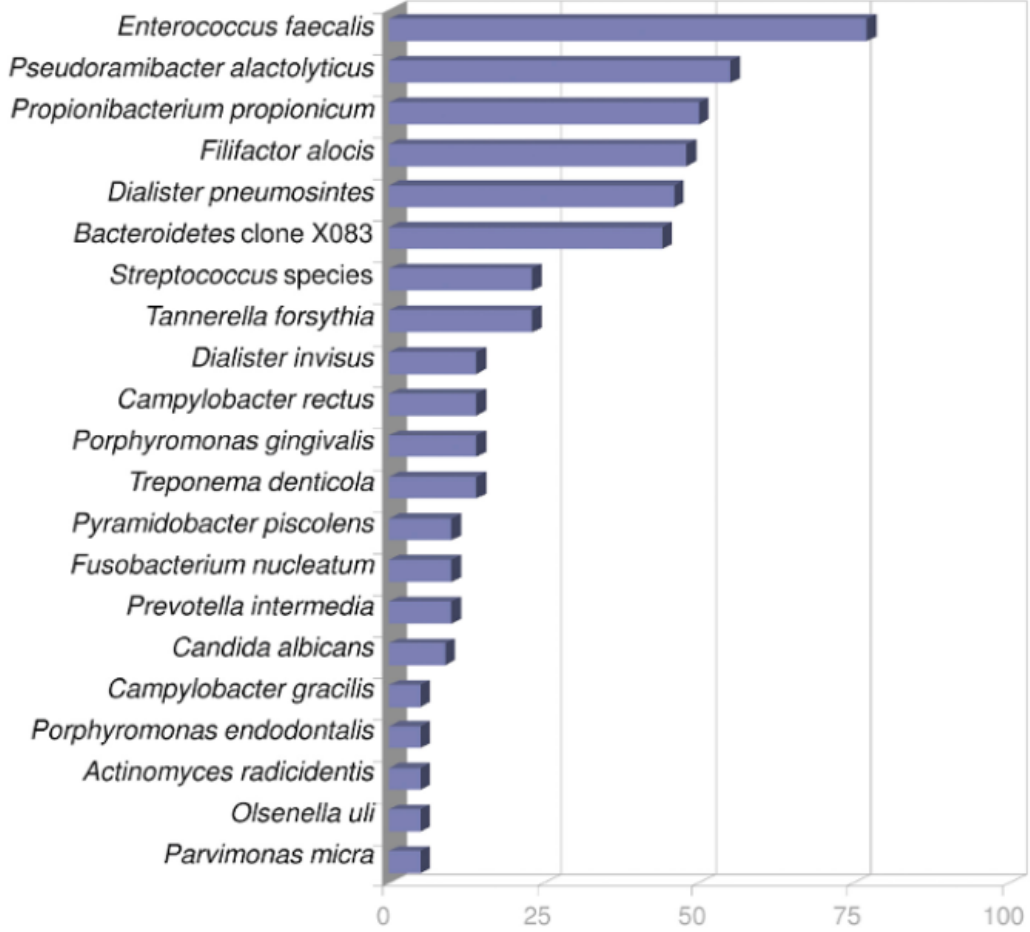
Resim 2.1. Akut apikal periodontitis görülen dişlerde, primer enfeksiyonlarda saptanan bakteri prevalansı (Hargreaves ve Berman, 2015: 614).



Resim 2.2. Kronik apikal periodontitis görülen dişlerde primer enfeksiyonlarda saptanan bakteri prevalansı (Hargreaves ve Berman, 2015: 614).

Sekonder enfeksiyonlar ise primer enfeksiyonda yer almayan ancak profesyonel bir girişimden sonra meydana gelen enfeksiyonlardır. Bakteri sayısı ve çeşidi primer enfeksiyonlara göre daha azdır. İnatacı enfeksiyonlar ise primer veya sekonder enfeksiyonun üyeleri tarafından oluşturulmakta ve bunlar antimikrobiyal prosedürlere direnebilmekte, tedavi edilmiş kanallarda besin yokluğunda uzun süre hayatta kalabilmektedir. Bu tür enfeksiyonlarda, kök kanal tedavisi sonrası kök kanal sistemi

içerisindeki inatçı mikroorganizmaların tedavi başarısızlıklarındaki en önemli neden olduğu düşünülmektedir (Alves ve diğerleri, 2016).



Resim 2.3. Kök kanal tedavili dişlerde tedavi sonrası görülen hastalıklarda saptanan mikroorganizma prevalansı (Hargreaves ve Berman, 2015: 622).

İnatçı ve sekonder enfeksiyonların klinik olarak ayırımı yapılmamaktadır. Bu gruptaki bakteriler iki grup altında incelenebilir:

2.1.1. Kök kanalının doldurulması sırasında ortaya çıkan bakteriler (short-term survivors)

Kök kanalının kemomekanik preparasyonundan sonra bakteri çeşitliliği ve sayısı azalmaktadır (bakteri türü: 1-5, bakteri sayısı: 10^2 - 10^5), ancak bu bakteriler primer enfeksiyonlardakilere göre daha dirençlidir (Byström ve Sundqvist, 1985). Tedaviye direnç

gösteren bakterilerin genellikle Gr (+) oldukları bulunmuştur. *Streptokoklar*, *Parvimonas micra*, *Propionibacterium* türleri, *Pseudoramibacter alactolyticus*, *Actinomyces* türleri, *Lactobacilli*, *E. faecalis*, ve *Olsenella uli* gibi Gr (+) fakültatifler ve anaeroblar da sıklıkla bu örneklerde gözlenmiştir (Chavez de Paz, Svensater, Dahlen ve Bergenholtz, 2005).

Gr (+) bakteriler tedavilere daha çok direnç göstermekte ve daha zor ekolojik şartlara adapte olabilmektedir. Tedavi sonrası örneklerde hala kültüre edilememiş bakteriler bulunmaktadır. Bu onların da antimikrobiyal tedaviye dirençli olduklarını gösterebilir (Paiva, Siqueira, ve Rôças, 2013).

2.1.2. Kök kanalları doldurulduktan sonra ortaya çıkan bakteriler (long-term survivors)

Kök kanalları doldurulduktan sonra ortaya çıkan bakteri türü sayısı uygun tedavi yapıldığında 1-5, uygun tedavi yapılmadığında 10-30 arasında değişmektedir. Bakteri sayısı ise 10^3 - 10^7 'ye çıkabilmektedir (Blome, Braun, Sobarzo ve Jepsen, 2008). Bu vakaların %90'ında Gr (+) fakültatif bir anaerob olan *Enterococcus faecalis*'in varlığı izlenmiştir (Molander, Reit, Dahlen ve Kvist, 1998). Bir mikroorganizmanın tedaviden sonra hayatta kalabilmesi için kanal içi dezenfeksiyon ve tedavi işlemlerine direnebilmesi ve tedavi sonucu ortaya çıkan zor ekolojik şartlara uyum sağlayabilmesi gereklidir ve *E. faecalis* bunları başarabilen nadir mikroorganizmalar içinde yer almaktadır.

2.1.3. Ekstraradiküler enfeksiyon

Apikal periodontitis enfeksiyonlarının alveolar kemiğe ve vücudun diğer bölgelerine yayılmasını engelleyen bir immünolojik bariyer bulunur. Ancak bazı durumlarda mikroorganizmalar bu bariyeri aşarak intraradiküler enfeksiyona bağımlı ya da bağımsız olarak ekstraradiküler enfeksiyona neden olabilirler (Tronstad ve Sunde, 2003). Apikal eksternal yüzeyde biyofilm yapılaşması görülmeye başlar. Dolayısıyla ekstraradiküler enfeksiyon da biyofilmler tarafından oluşturulan bir hastalıktır.

Ekstraradiküler enfeksiyonlar, intraradiküler bakterilerin ekstraradiküler bölgeye geçmesiyle oluşabilir. Bakteriler, konak cevabını yenip apikal foramenden dışarı çıkıp bu

bölgede kolonize olabilir ya da apikal foramen ile direkt ilişkili cep kistlerinin lümenine penetre olarak ekstraradiküler bölgeye geçiş sağlayabilir. Kök kanal enstrümantasyonunun taşkın yapılması sonucu dentin çipleriyle kaplanmış bakteriler de ekstraradiküler bölgede kolonize olur ve biyofilm oluşturur (Siqueira, 2005). Akut apikal apse, bağımlı ekstraradiküler enfeksiyonun en önemli örneğidir. Ekstraradiküler enfeksiyonda yer alan dominant bakteriler *Actinomyces* türleri ve *Propionibacterium propionicum*'dur (Happonen, 1986). Bu bakteriler kolonize olabilirler ve fagositoza direnç gösterirler. Retreatment vakalarının görülmesinin en önemli nedeni ekstraradiküler enfeksiyonlardır. Çoğu ekstraradiküler enfeksiyon intraradiküler enfeksiyon kaynaklıdır (Ricucci ve Siqueira, 2010). Tedavilerinde periradiküler cerrahi gerekebilir.

Hem intraradiküler inatçı enfeksiyonlarda, hem de ekstraradiküler enfeksiyonlardaki mikroorganizmaların daha dirençli olmalarını açıklayan bir takım mekanizmalar bulunmaktadır. Bunlar:

- Biyofilm oluşumu
- Fizyolojik modifikasyon
- Stres cevabı
- Hücresel alt gruplar oluşturma
- Bakteriler arası genetik materyalin değişimi'dir.

Dirençli mikroorganizmaların bu mekanizmalar arasındaki en önemli özellikleri biyofilm oluşturabilme yetenekleridir.

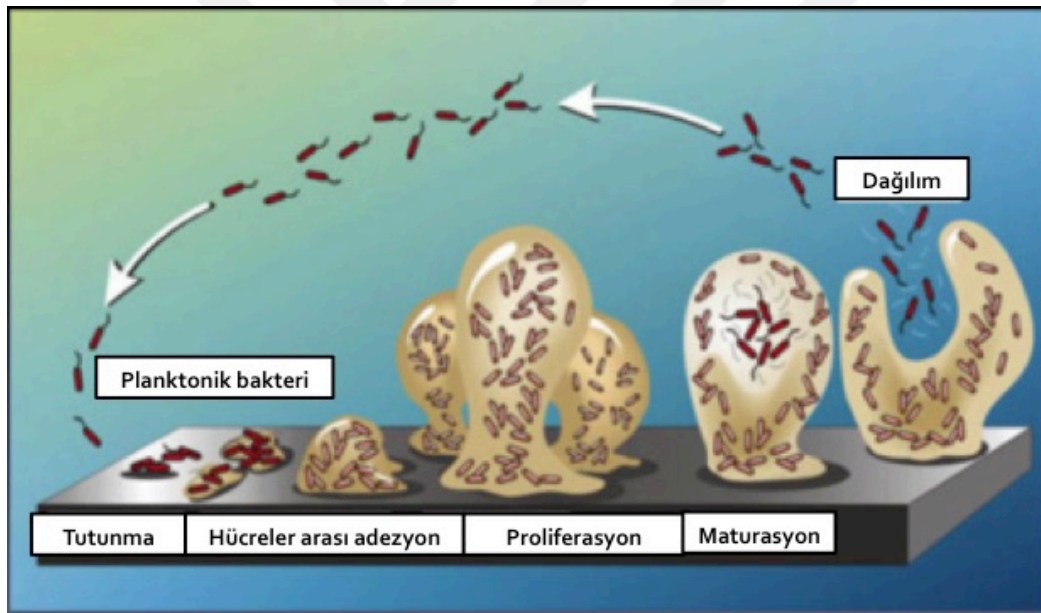
2.2. Biyofilm

Biyofilm, belirli bir yüzeye bağlanmış, ekstrasellüler polimerik matriks ile etrafı sarılan hücreler ile karakterize, çok hücreli bir mikrobiyal komünitedir (Donlan ve Costerton, 2002).

2.2.1. Biyofilm oluşumu

Biyofilm oluşumunun en erken safhası planktonik haldeki makromoleküllerin yüzey absorpsiyonu ve bunun sonucunda da koşullandırıcı tabakanın oluşumudur. İkinci aşama mikroorganizmaların adezyon, kohezyon ve polimer üretimi yoluyla güçlendirilen

tutunmasını içerir. Üçüncü aşamada ise yapısal olarak organize olmuş karışık mikrobiyal bir topluluk oluşur ve tutunan mikroorganizmalar çoğalır. Bu aşama sırasında mikroorganizmaların doğal karakteristik özellikleri ve mikro çevrenin doğası, biyofilm içerisinde mikroorganizmaların çoğalmasını ve devamını etkiler (Svensater ve Bergenholtz, 2004). Yüzeye, geri dönülemeyecek şekilde tutunan hücreler hücre bölünmesini başlatacak ve biyofilmi tanımlayan ekstrasellüler polimerleri üretecektir. Bu ekstrasellüler polimerik matriks esas olarak polisakkaritlerden oluşmaktadır ve mikroskopla veya kimyasal analizle tespit edilebilmektedir. Matriks yapısının büyük bir bölümü poliskakkartilerden oluşsa da protein ve nükleik asitleri de içerir. Bu matriks sadece biyofilme dayanıklılık sağlayan bir unsur değil aynı zamanda besin, su ve gerekli enzimleri barındıran bir yapıdır. Ayrıca biyofilmi eksojen tehditlerden korur ve yüzey tutunması sağlar (Donlan, 2001).



Resim 2.4. Biyofilm oluşum aşamaları

2.2.2. Biyofilmin yapısı

Bir biyofilm tabakasında %97 su, %2 -5 mikroorganizmalar, %1-2 polisakkarit, %1-2 protein, %1-2 DNA ve iyonlar bulunmaktadır. Biyofilmler tek bir mikroorganizma türü tarafından oluşturulabildiği gibi birden fazla türü de yapısında barındırabilir. Farklı türlerde oluşan biyofilmlerde her tür kendi mikrokolonisini oluşturur. Bu mikrokoloniler birbirlerinden su kanalları aracılığıyla ayrılmıştır. Bu kanallar içinde devam eden su akışı

besin maddelerinin ve oksijenin difüzyonunu sağlar. Sistemin yapısına, mikroorganizmanın türüne ve çevresel faktörlere bağlı olarak olgun bir biyofilmin oluşması birkaç saat ile birkaç hafta sürebilmektedir (Uludağ Altun ve Şener, 2008).

2.2.3. Biyofilm yaşam biçimi

Biyofilmi oluşturan bakteriler, zorlu büyüme ve çevre şartlarında farklı bir hayatta kalma kapasitesi göstermektedir. Bu bakterilerin bu eşsiz kapasitesi şu özelliklerinden kaynaklanır:

Büyüme için daha geniş bir çevre

İlk kolonize olan bakterilerin metabolitleri, özellikle üremesi zor olan diğer bakterilerin yapışması ve büyümesi için gerekli olan çevreyi ve zemini hazırlar (Marsh, 2005).

Artmış metabolik çeşitlilik ve besin temini

Biyofilmin yapısı besinlerin yakalanmasına ve içerisindeki aynı veya farklı türden hücrelerin metabolik birlikteliğine imkân sağlamaktadır. Bakterilerin büyümesi için besinler çoğu ekosistemde sınırlıdır; ancak bir türün metabolik ürünü bir başka türün ana besin kaynağı olabilir (Neelakantan, ve diğerleri, 2017).

Konak cevabı, antimikrobiyal ajanlar ve çevresel stresten korunma

Farklı türlerin komşu hücreleri, beta-laktamaz, katalaz, proteinaz gibi biyofilm matrikse tutunan ve antimikrobiyal ajanlara ve konak cevabına karşı bakterileri koruyan enzimler üretirler (Portenier, Waltimo, Orstavik ve Haapasalo, 2005). Biyofilm matriks fagositoza karşı da fiziksel koruma sağlar.

Genetik transfer

Hücreler arası ilişkiler ve biyofilm yapısı bakteri topluluğu içindeki gen transferini kolaylaştırır. Biyofilm içindeki genetik transferleri yöneten mekanizmalar; konjugasyon, transformasyon ve transdüksiyonu içerir (Ingle, Bakland ve Baumgartner, 2008: 270-285).

Artmış patojenite

Karışık bakteri topluluklarında türler arasında kurulan ilişkiler, patojenitenin artmasına veya azalmasına neden olabilir (Brook, 1986).

2.3. Quorum Sensing

Quorum sensing, bakterilerin kendi aralarında hücreden hücreye kurdukları bir iletişim sistemidir (Majumdar ve Pal, 2017). Mikroorganizmalar, bu sistem sayesinde, yalnız veya topluluk içinde olduklarını ayırt edebilirler ve küçük sinyal molekülleri ile birbirleriyle iletişim kurarak toplu halde davranabilirler (Li ve Tian, 2012).

Bakterilerin birbirleriyle haberleşme amacıyla kullandıkları sinyal molekülleri

1. Acyl-homoserine lactam (AHLs)-Gram (-)
2. Autoinducer peptides (AIPs)-Gram (+)
3. Autoinducer-2 (AI-2)-Gram (-), Gram (+)

Bakteriler, bu sinyal molekülleri aracılığıyla yeterli çoğunluğa ulaşıp ulaşmadıklarını izlemekte ve yeterli çoğunluğa ulaştıkları anda da virülans faktörlerinin üretimi gibi kritik gen ekspresyonlarını tetiklemektedir (Antunes, Ferreira, Buckner ve Finlay, 2011).

Biyofilm formasyonu, başlangıç, yerleşme, idame ve dağılma gibi çeşitli aşamaları içerir. Serbest yaşayan hücrelerin yoğunluğu belirli bir eşiğe ulaştığında, quorum sensing mekanizması sayesinde çok hücreli topluluklar olarak yaşama potansiyalini elde ederler (Kalia, 2014). Beslenme, pH, sinyal akış hızı gibi çeşitli çevresel faktörler biyofilm içerisindeki quorum sensing tarafından sağlanmış işleyişi etkilemektedir (Passos da Silva, Schofield, Parsek ve Tseng, 2017). Bakterilerin sayıca artmaları da bu mekanizma ile kontrol edilir. Bunun sonucunda virülansın artmasının dışında besin yarışı yaşanacağından bakteriler durgun faza geçerler böylece antimikrobiyalardan de korunurlar (Lynch ve Roberstson, 2008).

2.4. Biyofilmin Antimikrobiyallere Dirençteki Rolü

Klinik olarak biyofilmin antimikrobiyallere karşı artmış direnci önemli bir endişe konusudur. Biyofilmde yerleşmiş bakterilerin planktonik bakterilere göre antimikrobiyal ajanlara daha dirençli olduğu düşünülmektedir. Biyofilmdeki bakterileri öldürmek için gerekli antibiyotik konsantrasyonu planktonik haldeki aynı tür bakteriyi öldürmek için gerekli konsantrasyondan 100 ila 1000 kat daha fazladır (Mah ve O'Toole, 2001).

Biyofilm içerisindeki beslenme stresi yavaş büyüyen ve aç heterojen bir popülasyonun oluşmasına neden olur. Antibiyotiklere duyarlı üst tabakada yer alan hücrelerin tersine inatçı hücreler antibiyotiklere karşı oldukça dayanıklıdır ve biyofilm içerisinde merkezi işgal ederler (Satpathy, Sen, Pattanaik ve Raut, 2016). Antibiyotiklerin yaygın ve bilinçsiz kullanımı antimikrobiyallere dirençli bazı bakteri zincirlerinin oluşmasına neden olmuştur (Saxena, Joshi, Rawat ve Bisht, 2019). Biyofilmin antimikrobiyallere direnç geliştirmesinde bir takım mekanizmalar rol oynamaktadır:

Biyofilm yapısı antimikrobiyal ajanların penetrasyonunu sınırlayabilir

Biyofilm yüzeyindeki bakteriler etkilense de derin lokalize olan hücreler etkilenmeyebilirler. Biyofilm matriksi, antimikrobiyallere inaktive edecek nötralize edici enzimlere bağlanabilir veya bu enzimleri tutabilir (Stewart ve Costerton, 2001).

Biyofilm bakterilerinin değişmiş büyüme hızı

Biyofilmdeki besinsiz kalmış aç bakterilerin durgun faza geçmesi biyofilm popülasyonunun antimikrobiyallere karşı direnç geliştirmesinde önemli bir faktördür. Yerleşmiş bir biyofilmde düşük besin imkanı olan durumlarda bakteriler yavaş büyürler, bunun sonucunda hızlı bölünen hücrelere göre çok daha az duyarlılık gösterirler.

Çoğu antibiyotiğin etkin olabilmesi için bir derecede hücrel aktivite ile karşılaşması gereklidir. Bu sebeple durgun fazdaki bakteriyel hücreler genel bir mekanizma olarak antibiyotiklere dirençli olabilmektedir. (Hall-Stoodley, Costerton ve Stoodley, 2004)

İnatçı bakterilerin varlığı

Bazı biyofilmlerin antibiyotiklere karşı artmış toleransı, inatçı bakterilerin hayatta kalabilme yetilerine bağlıdır. Bu bakterilerin ayrıcalıklı bir fenotipe mi sahip olduğu yoksa sadece bir popülasyon içinde en dirençli hücreler mi oldukları belirsizdir (Hall-Stoodley ve diğerleri, 2004).

Direnç genleri

Bakterilerin biyofilm içerisindeki horizontal gen transferleri, klinik olarak ilişkili farklı bakteri türleri arasındaki antimikrobiyal direnç genlerinin yayılmasına neden olabilir (Al-Ahmad ve diğerleri, 2014).

Kök kanal sisteminde bulunan birçok farklı bakteri türünün biyofilm oluşturduğu bildirilmiştir. Ancak biyofilm oluşturan bakteriler arasında en yaygın olanı *E. faecalis*'tir.

2.5. *Enterococcus faecalis*

Enterococcus faecalis, primer endodontik enfeksiyonlarda %4-%40, inatçı endodontik enfeksiyonlarda %29-%77 oranında izole edilen gram (+), fakültatif anaerob bir koktur (Rocas, Siqueira ve Santos, 2004). İnatçı periapikal lezyon görülen dişlerde doldurulmuş kök kanallarından sıkça izole edilmektedir. Dentine tutunma, dentin tübüllerini işgal etme, biyofilm oluşturma gibi özellikleri irrigasyon solüsyonlarına ve intrakanal medikasyonlarına direncini açıklamaktadır (Du ve diğerleri, 2014).

E. faecalis, dentin tübülleri içerisine yaklaşık 400-1000 μ m kadar penetre olabilir ve endodontik enstrüman ve irriganların hareketinden kaçabilir (Kayaoğlu ve Ørstavik, 2004). Kanal içi antimikrobiyallere direnebilir, bunun en önemli nedeni biyofilm

oluşturabilmesidir. Ayrıca direnç genlerine de sahiptir ve Ca(OH)_2 'e direnç gösterebilir. Bunun bir nedeni, sahip olduğu proton pompasının hücre içine proton girişini gerçekleştirerek sitoplazmanın asitleşmesini sağlamak ve dolayısıyla yüksek alkalen pH'a dayanıklı hale gelmesidir (Byström, Claesson ve Sundqvist, 1985).

NaOCl'nin *E. faecalis* üzerinde oldukça etkili olduğu bilinmektedir. Ancak karbonhidratın, besinin yeterli bulunduğu durumlarda *E. faecalis* NaOCl'e karşı da direnç geliştirebilmektedir (Laplace, Thuault, Hartke, Boutibonnes ve Auffray, 1997).

Bunun dışında klorheksidin, potasyum iodid veya kalsiyum hidroksit kombinasyonlarının, kalsiyum hidroksitin tek başına kullanımına göre daha yüksek sayıda *E. faecalis* eliminasyonu gösterdiği bildirilmiştir (Gomes ve diğerleri, 2003).

E. faecalis, kök kanal tedavisi uygulanmış dişlerin bulunduğu kişiler dışında normalde ağız florasının bir parçası değildir. Çoğunlukla kök kanal tedavisi sonrasında gelişen enfeksiyonlarda tek tür olarak izole edilmektedir (Gomes ve diğerleri, 2004).

E. faecalis planktonik formda *in vitro* olarak kolayca yok edilebilir ancak enfekte kök kanal sisteminde ve biyofilm formunda yok edilmesi oldukça zordur ve makrolitlere, beta-laktam ajanlara, aminoglikozitlere ve daha birçok antibiyotiğe direnç gösterebilir (Gilmore, 2002).

Son zamanlarda hızla gelişen teknolojiye rağmen kök kanal sisteminden bakterilerin tamamen elimine edilmesi hala mümkün değildir. Bu bağlamda mekanik olarak gerçekleştirilen kök kanal preparasyonunun yanında yıkama solüsyonlarının etkin olarak kullanımı, özellikle kök kanal sisteminin düzensizliklerinde tutunabilen biyofilmlerin eliminasyonunda son derece önemlidir.

2.6. Kök Kanallarının İrrigasyonu

Endodontik tedavide irrigasyonun amaçları mekanik, kimyasal ve biyolojik yönden incelenebilir. Mekanik ve kimyasal açıdan irrigasyonun amaçları; debrisin uzaklaştırılması, kök kanalının lubrikasyonu, organik ve inorganik yapının çözülmesi ve smear tabakasının oluşumunun enstrümantasyon sırasında önlenmesi veya oluştuktan sonra çözülmesidir.

Biyolojik açıdan ise irrigasyon; anaerobik ve fakültatif mikroorganizmaların planktonik ve biyofilm formlarına etkili olmalı, endotoksinleri inaktive etmeli, vital dokular ile temas halinde toksisite göstermemeli ve anafilaktik reaksiyona sebep olmamalıdır (Basrani ve Haapasalo, 2012).

İyi bir irrigasyon solüsyonunun doku çözücü ve antibakteriyel özelliğe de sahip olması gerekmektedir. Günümüzde bu özellikleri en iyi sağlayan ve en çok tercih edilen irrigasyon solüsyonu sodyum hipoklorittir. Ancak NaOCl'nin inorganik dokuyu ve smear tabakayı uzaklaştırma etkinliği sınırlıdır. Bu bağlamda, dünyada en yaygın irrigasyon protokolü, NaOCl kullanımını takiben, inorganik yapıyı da çözebilecek bir şelasyon ajanının kullanılmasıdır (De- Deus ve diğerleri, 2011).

2.6.1. İrrigasyon solüsyonları

Endodontik tedavi için irrigasyon solüsyonu seçiminde, antimikrobiyal aktivite, toksisite, doku çözme yeteneği, yıkama etkisi gibi birçok faktör dikkate alınmalıdır. Haapasalo, Shen, Qian ve Gao (2014) ideal bir irrigasyon solüsyonunda bulunması gereken özellikleri şu şekilde belirtmişlerdir:

- Smear tabakasını kaldırabilme
- Biyofilmi uzaklaştırabilme
- Antimikrobiyal etkinlik
- Enstrümanların dentin kesme kabiliyetini artırması
- Isı kontrolü
- Organik ve inorganik doku çözücülüğü
- Kök kanal sistemine iyi penetrasyon
- Periapikal dokulara toksik olmama
- Alerjik olmama
- Diğer dental materyaller ile olumsuz yönde etkileşmeme
- Dentin yapısını zayıflatmama
- Üstün yıkama özelliği
- Sürtünmeyi azaltıcı etki
- Düşük maliyet

2.6.2. İrrigasyon solüsyonlarının sınıflandırılması

Çizelge 2.1. İrrigasyon solüsyonlarının sınıflandırılması
(Kumari, Punia ve Punia, 2012).

Kimyasal Ajanlar	Doğal Ajanlar
Doku Çözücü Ajanlar	Propolis
Sodyum hipoklorit (NaOCl)	Çay ağacı yağı
Oksidasyon Ajanları	Morinda citrifolia
Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)	Yeşil çay polifenolleri
Antibakteriyel ajanlar	Arctium lappa
Klorheksidin glukonat (CHX)	
MTAD	
Tetraclean	
Smearclear	
Qmix	
Şelasyon ajanları	
Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA)	
Etidronik asit (HEBP)	
Perasetik asit (PAA)	
MTAD	
Tetraclean	
Smearclean	
Qmix	
Asitler	
Sitrik asit	
Maleik asit	
Poliakrilik asit	
Perasetik asit (PAA)	
Etidronik asit (HEBP)	

2.6.3. Sodyum hipoklorit (NaOCl)

Sodyum hipoklorit üstün antibakteriyel kapasitesi, nekrotik ve vital pulpa dokusunu, dentin ve biyofilmin organik kısımlarını çözücü özelliği nedeni ile endodontik tedavide en yaygın kullanılan irrigasyon solüsyonudur (Senia, Marshall ve Rosen, 1971).

Sodyum hipokloritin etki mekanizması

- Sodyum hipoklorit (NaOCl), doku proteinleri ile temas ettiğinde nitrojen, formaldehit ve asetaldehit oluşur. Peptid bağları kopar ve proteinler parçalanır, bunun sonunda amino gruplarındaki (-NH-) hidrojen, klor ile yer değiştirir ve kloramini (-NCl-) oluşturur. Bu olay, antimikrobiyal etkinlikte büyük önem taşımaktadır (Hargreaves ve Berman, 2015: 252).
- NaOCl, nekrotik doku ve püyü çözerek de antimikrobiyal ajanın enfekte bölgelere daha rahat erişmesini sağlar (Hargreaves ve Berman, 2015: 252).
- Sodyum hipoklorit (NaOCl), su içerisinde sodyum (Na) ve hipoklorit iyonlarına (OCl) ayrıştırır, hipoklorik asit (HClO⁻) ile bir denge kurar. Asidik ve nötral pH'de klor genellikle HClO⁻ olarak, 9 ve üzeri pH'de ise OCl⁻ olarak bulunur. Hipoklorik asit en güçlü antibakteriyel etkiyi gösterirken OCl⁻'nin etkisi daha azdır. Hipoklorik asit direkt olarak mikrobiyal hücrenin vital fonksiyonlarını etkileyerek sonuçta hücre ölümüne sebep olur (Haapasalo ve diğerleri, 2014).
- NaOCl'nin biyofilmler üzerindeki etkisinin dentindeki organik yapıyı değiştirerek bakterilerin dentine ve diğer mikroorganizmalara tutunmasını azaltması ile açıklanabileceği belirtilmektedir (Clegg, Vertucci, Walker, Belanger ve Britto, 2006).

Konsantrasyon

Sodyum hipokloritin konsantrasyonu nekrotik doku artıklarının ve biyofilmlerin uzaklaştırılmasında önem taşımaktadır. Clegg ve arkadaşları, %6 NaOCl'nin biyofilm yapısını fiziksel olarak bozan ve bakterilerin yok edilmesini sağlayan tek solüsyon olduğu, daha düşük konsantrasyonlarının yetersiz kalabileceğini öne sürmektedir (Clegg ve diğerleri, 2006).

Kök kanallarının irrigasyonunda NaOCl, %0,5-%6 arası konsantrasyonlarda kullanılmaktadır. Bazı *in-vitro* çalışmalarda yüksek konsantrasyonda kullanılan NaOCl'nin *E. faecalis* ve *Candida albicans* üzerinde daha etkili olduğu belirtilmiştir (Gomes, Ferraz ve Vianna, 2001).

Yapılan çalışmalar, sodyum hipokloritin antimikrobiyal aktivitesinin konsantrasyona bağlı olmadığını ancak doku ve biyofilm çözücü etkisinin konsantrasyon ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Ordinola-Zapata, Bramante, Apreccio, Handysides ve Jaramillo, 2014). Yüksek ve düşük konsantrasyonda aynı etkinin görüldüğünü öne süren çalışmalar da mevcuttur (Byström ve Sundqvist, 1985). Yüksek konsantrasyonlarda NaOCl'nin doku çözücülüğü artmakta, ancak konsantrasyon arttıkça toksisitesi de artmaktadır (Hand, Smith ve Harrison, 1978). Ancak düşük konsantrasyonlarda kullanılan NaOCl'in hacmi artırılarak da aynı etkiye ulaşılabilir (Moorer ve Wesselink, 1982).

NaOCl organik yapıları etkin bir şekilde çözebilmesine rağmen, inorganik yapıyı çözme konusunda yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle endodontik tedavide, inorganik yapıyı da çözebilen ajanlar ile birlikte kullanımı önerilmektedir.

2.6.4. Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA)

Endodontide ilk kez 1957'de Nygaard-Østby tarafından dar ve kalsifiye kök kanallarının hazırlanmasına yardımcı olarak kullanılan Etilen diamin tetraasetik asit (EDTA), nötral Ph'a (Ph=7,3) sahip, endodontik tedavide enstrümantasyon sonrası oluşan smear tabakasının inorganik kısmının uzaklaştırılmasında kullanılan renksiz, suda çözünebilen bir şelasyon ajanıdır. EDTA, kalsiyum ile stabil bir kompleks oluştur, bütün iyonlar bağlandığı zaman bir denge kurulur ve daha fazla çözünme gerçekleşmez. Bu yüzden EDTA kendi kendini sınırlayan özellikte bir irrigasyon ajanıdır (Hülsmann, Heckendorff ve Lennon, 2003).

Kök kanal tedavisinde kullanılan EDTA %1-18 arasında değişen konsantrasyonlara sahiptir. Endodontide en çok tercih edilen %17 EDTA solüsyonu:

- Kök kanal duvarındaki smear tabakasını uzaklaştırır (Zehnder, Schmidlin, Sener, ve Waltimo, 2005).
- Dar ve kalsifiye kanal ağzlarının bulunmasını kolaylaştırır (Hill, 1959).
- Jel formları, döner aletlerin kullanılması sırasında lubrikasyon oluşturarak çalışma kolaylığı sağlar (Peters, Boessler ve Zehnder, 2005).
- Rejeneratif endodontik tedavide büyüme faktörlerinin salımını artırır (Gonçalves ve diğerleri, 2016).
- EDTA, kontakt halinde hücre zarındaki metal iyonlarını bağlayarak bakteri yüzey proteinlerini koparır, bu da bakteri ölümüne sebep olur ve biyofilm yapısının inorganik kısmını çözerek biyofilmi gevşetebilir veya temizleyebilir (Almeida, Hoogenkamp, Felipe, Crielaard ve van der Waal, 2016).

Endodontik tedavide EDTA'nın yetersiz kaldığı durumlar

Kök kanalının apikal üçlüsünde bulunan smear tabakayı uzaklaştırma konusunda yetersizliği

Yapılan çalışmalarda EDTA'nın apikal üçlüdeki smear tabaka eliminasyon etkinliğinin yeterli olmadığı bildirilmiştir (Ballal, Kandian, Mala, Bhat, Acharya, 2009).

Sodyum hipoklorit ile olan etkileşimi

Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA), NaOCl ile birlikte kullanıldığında NaOCl'nin doku çözücü etkinliği ve antimikrobiyal özellikleri serbest klor miktarındaki azalmaya bağlı olarak olumsuz yönde etkilenebilir. EDTA, NaOCl ile karıştırıldığında kalsiyum kompleksi özelliğini korumakta, ancak NaOCl, ortamda azalan serbest klor oranına bağlı olarak doku çözme kapasitesini ve antimikrobiyal etkinliğini kısmen kaybetmektedir. Klinik olarak düşünüldüğünde EDTA ve NaOCl'nin ayrı ayrı kullanılması gerektiği öne sürülmektedir (Grawehr, Sener, Waltimo ve Zehnder, 2003). Her ne kadar iki solüsyon ayrı ayrı kullanılsa da, kök kanal düzensizliklerinde kalan irrigasyon solüsyonu, diğeri ile etkileşime geçebilir.

Yetersiz antibakteriyel etki

Etilen diamin tetra asetik asitin, tek başına kullanıldığında antibakteriyel etkisi çok sınırlıdır. Oysa ki şelasyon ajanı olarak kullanılan diğer asit solüsyonlarının smear tabaka uzaklaştırma etkisiyle birlikte antibakteriyel etkisi de bulunmaktadır. EDTA'nın antibakteriyel etkisinin bakterilerin dış membranındaki katyonların şelasyonuna bağlı olduğunu ileri sürülmüştür (Patterson, 1963).

Ayrıca, EDTA'nın biyofilm yapısı üzerinde önemli bir etkisi olmadığını ve 60 dakika sonra bile *E. faecalis*'i uzaklaştıramadığını öne süren çalışmalar da mevcuttur (Arias-Moliz ve diğerleri, 2008; Zand ve diğerleri, 2010).

Kalsiyum silikat içerikli pat ve simanların bağlanmasına olumsuz etkisi

Her ne kadar smear tabakanın uzaklaştırılması, kullanılacak dolgu materyalinin bağlanması için önemli olsa da, kalsiyum silikat içerikli materyallerin kimyasal yapısından dolayı, smear tabakayı uzaklaştırmada kullanılan şelasyon ajanları bazen sorun oluşturabilmektedir. Şelasyon ajanlarının kalsiyum silikat esaslı dolgu maddelerinin bağlantısını olumsuz yönde etkilediğini ileri süren araştırmalar bulunmaktadır (Ballal, Ulusoy, Chhapparwal ve Ginjupalli, 2018) Bunun temel nedeninin kalsiyum silikat esaslı dolgu materyallerinin yeterince sertleşebilmek için smear tabakada var olan neme ihtiyaç duymaları olduğu düşünülmektedir (Bayram, Şaklar, Bayram, Oruçoğlu ve Bozkurt, 2015; Yıldırım, Oruçoğlu ve Çobankara, 2008).

Dentin yapısı üzerine olumsuz etkileri

Kök kanallarından smear tabakasının uzaklaştırılmasında kullanılan EDTA'nın kök dentininde deminerilizasyon ve yumuşamaya neden olduğu yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir (Taneja, Kumari ve Anand, 2014). Calt ve Serper'in yaptığı *in-vitro* çalışmada, EDTA'nın kök kanallarında 1 dakika kullanımının, smear tabakayı

uzaklaştırmada yeterli olduğu, 1 dakikayı aşan irrigasyon sürelerinde ise kök kanal duvarında istenmeyen erozyona neden olduğu bildirilmiştir (Calt ve Serper, 2002). Dentin yapısındaki tüm bu değişimler, hem kök kanal tedavisinden sonra kökün kırılma direncini azaltmakta, hem de kullanılacak kanal patlarının bağlantısını olumsuz yönde etkilemektedir.

Kalsiyum hidroksiti kök kanallarından uzaklaştırmadaki yetersizliği

Kalsiyum hidroksitin kök kanallarından tam olarak uzaklaştırılması zor olduğu bilinmektedir, bu da kanal dolumu sırasında dentin tübüllerine patların penetrasyonunu ve bağlanmasını engelleyebilmektedir (Windley, Ritter ve Trope, 2003).

Kök kanallarından kalsiyum hidroksitin uzaklaştırılmasında NaOCl ve EDTA'nın ard arda uygulanması genel olarak tercih edilen bir irrigasyon protokolü olsa da, bu yöntemle kök kanallarında kalan kalsiyum hidroksitin %40 ve üzerinde olduğu veya EDTA'nın aktive edilmeden yapılan uygulamalarında Ca(OH)₂ uzaklaştırılmasının yetersiz bulunduğu bildirilmiştir (Lambrianidis, Margelos ve Beltes, 1999).

Tüm bu nedenlerden dolayı kök kanal irrigasyonunda, NaOCl ile birlikte kullanıldığında onun etkisini azaltmayacak farklı şelasyon ajanları ile ilgili araştırmalar yapılmaktadır (De-Deus ve diğerleri, 2008). Bunların sonuçlarına göre, NaOCl'nin antibakteriyel ve doku çözücü özelliğini EDTA'ya göre daha az etkileyen birkaç solüsyon ön plana çıkmaktadır.

2.6.5. 1-hydroxyethylidene-1, 1-bisphosphonate (Etidronik asit-HEBP)

Etidronik asit (HEBP) olarak da bilinen 1-hydroxyethylidene-1, 1-bisphosphonate zayıf bir şelasyon ajanıdır. Etidronik asit dokulara toksik etkisi olmayan, antimikrobiyal özelliğinden dolayı kişisel temizlik ürünlerinde ve dezenfektan olarak yüzme havuzlarında kullanılan bir bifosfonattır. Bu özelliklerinden dolayı neoplastik hastalıklarda da sistemik olarak uygulanmaktadır (Russell ve Rogers, 1999).

Etidronik asitin kemik rezorpsiyonunu önlediği, osteoporöz ve Paget hastalarında kullanıldığı bilinmektedir (Zehnder, 2006). Tıpta kemik hastalıklarında kullanılması ve toksik özelliği bulunmaması gibi özellikleri nedeniyle HEBP endodontik tedavide

EDTA'ya alternatif bir irrigasyon ajanı olarak literatürde yerini almıştır (Tartari ve diğerleri, 2013).

EDTA'ya göre NaOCl ile etkileşiminin daha az olduğu ileri sürülmektedir (Arias-Moliz ve diğerleri, 2016). Bu nedenle NaOCl ile beraber ve kombine olarak tek irrigasyon solüsyonu halinde kullanımı önerilmektedir. Bu birleşim (NaOCl+HEBP), aynı zamanda smear tabakayı etkin bir şekilde uzaklaştırırken, kök kanalında doku çözücü ve antimikrobiyal etki sağlayacaktır (Girard, Paque, Badertscher, Sener ve Zehnder, 2005).

Etidronik asitin kök kanal irrigasyonunda önerilen konsantrasyonları %9 ve %18'dir. Bu konsantrasyonlarda kullanıldığında kök kanalının apikal üçlüsündeki smear tabakayı EDTA'ya göre daha etkin uzaklaştırdığı bildirilmiştir (Ulusoy, Zeyrek, Çelik, 2017).

Ayrıca kök dentini üzerinde HEBP'in EDTA'ya göre daha az agresif olduğu öne sürülmektedir (Lottanti, Gautschi, Şener ve Zehnder, 2009).

Etidronik asit kullanımı sonucu istmuslarda biriken sert doku debris miktarında azalma görüldüğü de bildirilmiştir (Paque, Rechenberg, Zehnder, 2012).

Ulusoy ve arkadaşları; simüle internal rezorpsiyon kavitelerindeki granülasyon dokusunun farklı irrigasyon protokolleri sonucu uzaklaştırılma oranlarını incelemişler ve NaOCl ve HEBP'in birlikte kullanımının kök kanal sisteminin düzenizliklerindeki organik dokuların çözünmesini artırdığını bildirmişlerdir (Ulusoy, Savur, Alaçam, Çelik, 2018).

Arias-Moliz ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, etidronik asitin NaOCl'nin serbest klor oranında azalmaya neden olmadığı ve etidronik asit-NaOCl karışımının kök kanallarındaki *Enterococcus faecalis* biyofilmlerini anlamlı düzeyde azalttığı bildirilmiştir. (Arias-Moliz, Ordinola-Zapata, Baca, Ruiz-Linares ve Ferrer-Luque, 2014).

Ayrıca etidronik asitin antibakteriyel etkisinin bulunduğu ve kök kanallarında tek başına kullanıldığında da bu etkiyi gösterdiği bildirilmiştir (Arias-Moliz, Ordinola-Zapata, Baca, Ruiz-Linares ve Ferrer-Luque, 2014; McHugh, Zhang, Michalek ve Eleazer, 2004).

2.6.6. Perasetik asit (PAA)

Perasetik asit, %0,5'ten daha düşük konsantrasyonlarda ve protein varlığında bile sporlara, bakterilere, virüslere ve mantarlara karşı etkili bir peroksijendir (Lensing ve Oei, 1985).

Perasetik asit, asetik asit ve oksijen gibi güvenli yan ürünlere ayrışır. Genellikle sulu çözeltilerde saf halde bulunmaz ancak hidrojen peroksit, asetik asit ve asetil hidroperoksit ile denge halinde bulunabilir. Perasetik asit solüsyonunda serbestleşen asetik asit göz önüne alındığında, PAA'in kök kanallarında enstrümantasyon sonrası smear tabakanın kaldırılması ve NaOCl irrigasyonu ile beraber kök kanalının dezenfeksiyonu için kullanılmasının uygun olabileceği ortaya çıkmaktadır (Lottanti ve diğerleri, 2009).

Asetik asit kalsiyum ile suda çözünen bileşikler oluşturan zayıf bir şelasyon ajanıdır (Martell ve Motekaitis, 1992). Perasetik asit kullanımında smear tabakasının kaldırılmasında etkili unsurun asetik asit olduğu öne sürülmektedir. %0,5-2,25 arasında değişen konsantrasyonlarda perasetik asit (PAA) kullanımının kök kanal dentin duvarlarından smear tabakasını uzaklaştırmada EDTA ile kıyaslanabilir düzeyde etkili olduğu gösterilmiştir (Lottanti ve diğerleri, 2009).

Ayrıca, perasetik asitin tek başına kullanıldığında da sodyum hipoklorite yakın bir doku çözücü aktivitesinin bulunduğu gösterilmiştir. Perasetik asit de etidronik asit gibi EDTA'ya oranla NaOCl ile daha az reaksiyona girerek onun etkinliğini korumaktadır.

Perasetik asit ile NaOCl birlikte kullanıldığında, perasetik asitin NaOCl'nin organik doku eritici özelliğini azaltmadığı bildirilmiştir (Ulusoy ve diğerleri, 2018). Perasetik asitin kök kanal enstrümantasyonundan ve NaOCl kullanımından sonra genellikle %1-2 konsantrasyonlarda final irrigasyonu olarak uygulanması önerilmektedir (Lottanti ve diğerleri, 2009). Perasetik asitin kök kanalındaki *E. faecalis* biyofilmleri üzerinde klorheksidinden daha etkili olduğu gösterilmiştir (Ordinola-Zapata ve diğerleri, 2013).

Sonuç olarak PAA'nın demineralize edici etkisi yüksek ve yüksek antibakteriyel özelliklere sahip bir irrigan olduğu söylenebilir (Lottanti ve diğerleri, 2009).

2.7. Kök Kanal Florasının İncelenmesinde Kullanılan Yöntemler

Kök kanal florasının incelenmesinde geleneksel olarak histolojik kesit, Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM), mikrobiyal analizler gibi çeşitli teknikler kullanılmaktadır (Flach ve diğerleri, 2016). Mikrobiyolojik örnekleme yöntemleri de özellikle koloni oluşturan birimlerin sayısını hesaplamada kullanışlı olmasına rağmen dentin içindeki bakterilerin mekansal dağılımı hakkında net bir bilgi vermemektedir (Flach ve diğerleri, 2016). Bunun yanı sıra histolojik kesitler enfekte dentin içerisindeki bakteri dağılımını gösterebilmekte ancak canlılık hakkında bir bilgi sunamamaktadır. Bunlar göz önüne alındığında Lazer Taramalı Konfokal Mikroskop (LTKM) ile görüntü alınması, dentin ve dentin tübülleri içerisindeki canlı ve ölü bakterilerin tanımlanması ve mikrobiyal biyofilm içerisindeki canlılık profilinin, yapının ve mekânsal dağılımın anlaşılabilmesi açısından uygun bir yöntemdir (Flach ve diğerleri, 2016).

Endodontik irrigasyon solüsyonlarının biyofilm üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesinde sıklıkla mikroskopik tekniklere başvurulmaktadır. Son yıllarda, dentin üzerindeki bakteriler ve bakteri biyofilmlerini Konfokal Lazer Taramalı Mikroskop'ta incelemek için bazı ilermeler kaydedilmiştir (Zapata, Bramente, De Moraes, 2008), (Ma, Wang, Shen ve Haapasalo, 2011).

Zapata ve arkadaşları, enfekte dentin tübüllerinde ölü ve canlı bakterilerin ayrımını, hücrelerin floresan diasetat ve propidium iodid ile boyandıktan sonra LTKM ile yapılabileceğini göstermiştir (Zapata, Bramente, De Moraes, 2008). Parmar ve diğerleri (2011), yeşil ve kırmızı floresan bakterilerin LTKM ile incelendiğinde enfekte kök kesitlerindeki dentin tübüllerinde gözlemlenebildiğini göstermiştir.

Son yıllarda, lazer taramalı konfokal mikroskop, biyofilm yapısı üzerinde yapılan çalışmalarda etkin bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır (Peterson ve diğerleri, 2015). Bunun nedeni ise hücresel seviyede ekosistemler ve sulandırılmış mekansal düzenlemelerde yıkıcı olmayan bir inceleme imkanı sağlamasıdır. Floresan işaretleyicilerin kullanılması belirli hücrelerin ve hatta ekstrasellüler matriksin bile belirli bir bölümünün hedeflenmesini sağlamaktadır. Özel live/dead boya kullanılması canlı veya ölü bakterilerin çoğunlukla yeşil ve kırmızı olarak gözlenen floresan sinyaller ile ayırt edilmesini sağlamaktadır (Ma, Wang, Shen ve Haapasalo, 2011).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırma Etik Kurulu tarafından onaylandı (18.07.2018, E.28962, 21071282-050.99-).

Bu çalışmada çekilmiş tek köklü insan premolar dişleri kullanıldı. Çalışmaya dahil edilme ve edilmeme kriterleri aşağıdaki gibi belirlendi:

3.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

1. Çekilmiş insan dişi olması
2. Tek köklü ve tek kanallı mandibular premolar diş olması
3. Kök gelişiminin tamamlanmış olması

3.2. Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri

1. Dişlerde çürük, çatlak ve kırık varlığı
2. Önceden yapılmış endodontik tedavi varlığı
3. Kök kanalının kalsifiye olması
4. İnternal ve eksternal kök rezorpsiyonu varlığı

Dişlerdeki tek kanal varlığı radyografik olarak doğrulandı. Bu kriterleri sağlayan 115 diş çalışmada kullanıldı. Dişler çekimden sonra deney gününe kadar +4⁰C'de steril suda saklandı.

3.3. Dentin Disklerinin Hazırlanması ve *E. faecalis* Biyofilmlerinin Oluşturulması

Bu çalışmada kullanılan dişlerin kök yüzeyleri, tartar ve yumuşak doku kalıntılarından periodontal küretler kullanılarak temizlendi. Tüm dişler kronlarından kök uzunlukları standart 13 mm olacak şekilde su soğutması altında ayrıldı. Diş köklerinin orta üçlülerinden 3 mm kalınlıklarda yuvarlak kesitler elde edildi. Bu kesitlerin kök kanal boşlukları standart bir genişlik elde etmek için 3 numaralı gates-glidden frezi ile genişletildi. Daha sonra kesitler, hazırlık aşamasında oluşan smear tabakasının

uzaklaştırılması için 1 dakika boyunca %17 EDTA solüsyonu içerisinde bekletildi ve %2,5 NaOCl ile irrigé edilerek dezenfekte edildi. Hazırlanan örnekler, dentin çatlağı oluşturma riskinin az olması nedeni ile etilen oksit gazı ile sterilize edildi.

Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakóltesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarı kólture koleksiyonunda yer alan *Enterococcus faecalis* ATCC#29212 standart suřu triptik soy agar (TSA) besi yeri (Fluka, BioChemica, İsviçre) içeren petri kaplarında 37°C’de 24 saat boyunca inkübatör (Nüve incubator, Türkiye) içerisinde inkübasyon ile üretildi. Üreyen kolonilere saflık kontrolü yapıldıktan sonra, 100 x15 mm boyutlarında steril cam tüpte (Isolab, Almanya) 10 ml triptik soy broth (TSB) (Merck, Almanya) sıvı besiyeri içerisine 0,5 McFarland standart test eşeline uyularak $1,5 \times 10^8$ koloni oluşturucu birim (CFU/mL) miktarında turbidometrik olarak bakteri ayarlaması yapıldı. Daha sonra her bir grupta belirlenen sayıda diş kesiti biyofilm gelişimi için steril polistren 24-kuyucuklu hücre kólture plaklarına yerleştirildi. Kesitler üzerine daha önceden belirtilen konsantrasyonda hazırlanan 100 µL bakteri süspansiyonu steril pipetler yardımı ile konuldu ve 5 dakika beklendi. Ardından diş kesitlerinin üzerini kapatacak şekilde 2 ml triptik soy broth (TSB) besi yeri eklendi. Üzerlerine %5 sükröz konsantrasyonundan 100 µL eklendi ve örnekler 37°C’de aerob ortamda inkübasyona bırakıldı. Bir gün sonra örneklerde üreme olup olmadığı kontrol edildi. Tüm örneklerde üreme olduğu görüldükten sonra örneklerin 48 saatte bir besiyeri değiştirilerek ve şeker ilavesi yapılarak 7 gün süre ile canlı kalması kontrol edilerek biyofilm oluşurmaları sağlandı.

Resim 3.1. Üretilen *E. faecalis* kolonileri

Resim 3.2. Örneklerin besiyeri değişimi



Resim 3.3. Örneklerin üzerine %5 sükröz çözeltisi eklenmesi

3.4. İrrigasyon Solüsyonlarının Enfekte Dentin Kesitlerine Uygulanması

Toplam 115 adet diş kesit örneği, 11 deney (n=10), 1 kontrol grubuna (n=5) ayrıldı:

1. Grup: 6 ml %2,5 sodyum hipoklorit (NaOCl)
2. Grup: 6 ml %17 etilen diamin tetra asetik asit (EDTA)
3. Grup: 6 ml %1 perasetik asit (PAA)
4. Grup: 6 ml %2 perasetik asit (PAA)
5. Grup: 6 ml %9 etidronik asit (HEBP)
6. Grup: 6 ml %18 etidronik asit (HEBP)
7. Grup: 3 ml %2,5 NaOCl - 3 mL %17 EDTA
8. Grup: 3 ml %2,5 NaOCl - 3 mL %1 PAA
9. Grup: 3 ml %2,5 NaOCl - 3 mL %2 PAA
10. Grup: 6 ml %2,5 NaOCl + %9 HEBP
11. Grup: 6 ml %2,5 NaOCl + %18 HEBP
12. Grup: Salin (kontrol)

1. Deney grubu

%2,5 NaOCl, bir firmadan temin edilen %5,25 NaOCl'nin (Wizard, Rehber Chemistry, Istanbul, Turkey) eşit oranda su ile karıştırılmasıyla elde edildi. 27G boyutunda dental enjektör (Genject Sağlık Ürünleri A.Ş., Ankara) ile uygulama hızı 1dk/3ml, toplam irrigasyon hacmi 6ml, uygulama süresi ise 2 dakika olacak şekilde manuel olarak uygulandı. Uygulama süresi sonrasında 6 ml distile su eklenerek nötralize edildi.

2. Deney grubu

%17 EDTA (Wizard, Rehber Chemistry, Istanbul, Turkey), 27G boyutunda dental enjektör (Genject Sağlık Ürünleri A.Ş., Ankara) ile uygulama hızı 1dk/3ml, toplam irrigasyon hacmi 6ml uygulama süresi ise 2 dakika olacak şekilde manuel olarak uygulandı. Uygulama süresi sonrasında 6 ml distile su ile nötralize edildi.

3. Deney grubu

Bir firmadan (SigmaAldrich, St Louis, MO) temin edilen %36-40 konsantrasyondaki perasetik asit solüsyonu (Code: 433241), iyonize olmayan su ile seyreltilerek ağırlık/hacim oranında %1 konsantrasyona sahip solüsyon elde edildi. Bu solüsyon +4⁰C de buzdolabında saklandı ve kullanım öncesi oda sıcaklığına getirildi. 27G boyutunda dental enjektör (Genject Sağlık Ürünleri A.Ş., Ankara) ile uygulama hızı 1dk/3ml, toplam irrigasyon hacmi 6ml uygulama süresi ise 2 dakika olacak şekilde manuel olarak uygulandı. Uygulama süresi sonrasında 6 ml distile su ile nötralize edildi.

4. Deney grubu

Bir firmadan (SigmaAldrich, St Louis, MO) temin edilen %36-40 konsantrasyondaki perasetik asit solüsyonu (Code: 433241), iyonize olmayan su ile seyreltilerek ağırlık/hacim oranında %2 konsantrasyona sahip solüsyon elde edildi. 27G boyutunda dental enjektör (Genject Sağlık Ürünleri A.Ş., Ankara) ile uygulama hızı 1dk/3ml, toplam irrigasyon hacmi 6ml uygulama süresi ise 2 dakika olacak şekilde manuel olarak uygulandı. Uygulama süresi sonrasında 6 ml distile su ile nötralize edildi.

5. Deney grubu

Bir firmadan temin edilen (SigmaAldrich, St Louis, MO) sulu %60 HEBP solüsyonu (Code: H6773), ağırlık/hacim oranına göre %9 konsantrasyona sahip olacak şekilde ultra saf su ile karıştırıldı ve kullanım öncesine kadar cam bir şişede oda sıcaklığında saklandı. Solüsyon 27G boyutunda dental enjektör (Genject Sağlık Ürünleri A.Ş., Ankara) ile uygulama hızı 1dk/3ml, toplam irrigasyon hacmi 6ml uygulama süresi ise 2 dakika olacak şekilde manuel olarak uygulandı. Uygulama süresi sonrasında 6 ml distile su ile nötralize edildi.

6. Deney grubu

Bir firmadan temin edilen (SigmaAldrich, St Louis, MO) sulu %60 HEBP solüsyonu (Code: H6773), ağırlık/hacim oranına göre %18 konsantrasyona sahip olacak şekilde ultra saf su ile karıştırıldı. Solüsyon 27G boyutunda dental enjektör (Genject Sağlık Ürünleri

A.Ş., Ankara) ile uygulama hızı 1dk/3ml, toplam irrigasyon hacmi 6ml uygulama süresi ise 2 dakika olacak şekilde manuel olarak uygulandı. Uygulama süresi sonrasında 6 ml distile su ile nötralize edildi.

7. Deney grubu

Bir firmadan temin edilen %5,25 NaOCl (Wizard, Rehber Chemistry, Istanbul, Turkey), eşit oranda su ile karıştırılarak 3 ml %2,5 NaOCl solüsyonu elde edildi ve 27G boyutunda dental enjektör (Genject Sağlık Ürünleri A.Ş., Ankara) ile uygulama hızı 1dk/3ml olacak şekilde manuel olarak uygulandı. Ardından 3ml %17 EDTA (Wizard, Rehber Chemistry, Istanbul, Turkey) solüsyonu, 27G boyutunda dental enjektör (Genject Sağlık Ürünleri A.Ş., Ankara) ile uygulama hızı 1dk/3ml olacak şekilde manuel olarak uygulandı. Uygulama süresi sonrasında 6 ml distile su ile nötralize edildi.

8. Deney grubu

3 ml %2,5 NaOCl solüsyonu (Wizard, Rehber Chemistry, Istanbul, Turkey), 27G boyutunda dental enjektör (Genject Sağlık Ürünleri A.Ş., Ankara) ile uygulama hızı 1dk/3ml olacak şekilde manuel olarak uygulandı. Ardından 3ml %1 perasetik asit solüsyonu (SigmaAldrich, St Louis, MO), 27G boyutunda dental enjektör (Genject Sağlık Ürünleri A.Ş., Ankara) ile uygulama hızı 1dk/3ml olacak şekilde manuel olarak uygulandı. Uygulama süresi sonrasında 6 ml distile su ile nötralize edildi.

9. Deney grubu

3 ml %2,5 NaOCl solüsyonu (Wizard, Rehber Chemistry, Istanbul, Turkey), 27G boyutunda dental enjektör (Genject Sağlık Ürünleri A.Ş., Ankara) ile uygulama hızı 1dk/3ml olacak şekilde manuel olarak uygulandı. Ardından 3ml %2 perasetik asit solüsyonu (SigmaAldrich, St Louis, MO), 27G boyutunda dental enjektör (Genject Sağlık Ürünleri A.Ş., Ankara) ile uygulama hızı 1dk/3ml olacak şekilde manuel olarak uygulandı. Uygulama süresi sonrasında 6 ml distile su ile nötralize edildi.

10. Deney grubu

3ml %5,25 NaOCl (Wizard, Rehber Chemistry, Istanbul, Turkey) solüsyonu ile 3 ml %18 HEBP solüsyonu (SigmaAldrich, St Louis, MO) karıştırılarak toplam 6 ml % 2,5 NaOCl + %9 HEBP solüsyonu elde edildi. Bu karışım solüsyon 27G boyutunda dental enjektör (Genject Sağlık Ürünleri A.Ş., Ankara) ile uygulama hızı 1dk/3ml, toplam irrigasyon hacmi 6ml uygulama süresi ise 2 dakika olacak şekilde manuel olarak uygulandı. Uygulama süresi sonrasında 6 ml distile su ile nötralize edildi.

11. Deney grubu

3ml %5,25 NaOCl (Wizard, Rehber Chemistry, Istanbul, Turkey) solüsyonu ile 3 ml %36 HEBP solüsyonu (SigmaAldrich, St Louis, MO) karıştırılarak toplam 6 ml % 2,5 NaOCl + %18 HEBP solüsyonu elde edildi. Bu karışım solüsyon 27G boyutunda dental enjektör (Genject Sağlık Ürünleri A.Ş., Ankara) ile uygulama hızı 1dk/3ml, toplam irrigasyon hacmi 6ml uygulama süresi ise 2 dakika olacak şekilde manuel olarak uygulandı. Uygulama süresi sonrasında 6 ml distile su ile nötralize edildi.

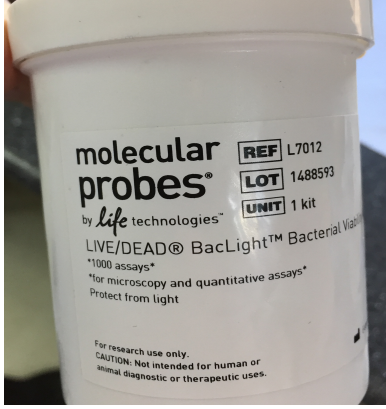
Kontrol grubu

Salin solüsyonu 27G boyutunda dental enjektör (Genject Sağlık Ürünleri A.Ş., Ankara) ile uygulama hızı 1dk/3ml, toplam irrigasyon hacmi 6ml uygulama süresi ise 2 dakika olacak şekilde manuel olarak uygulandı. Uygulama süresi sonrasında 6 ml su ile nötralize edildi.

Tüm deney gruplarında, toplam irrigasyon hacmi 6ml, uygulama süresi 2 dakikadır.

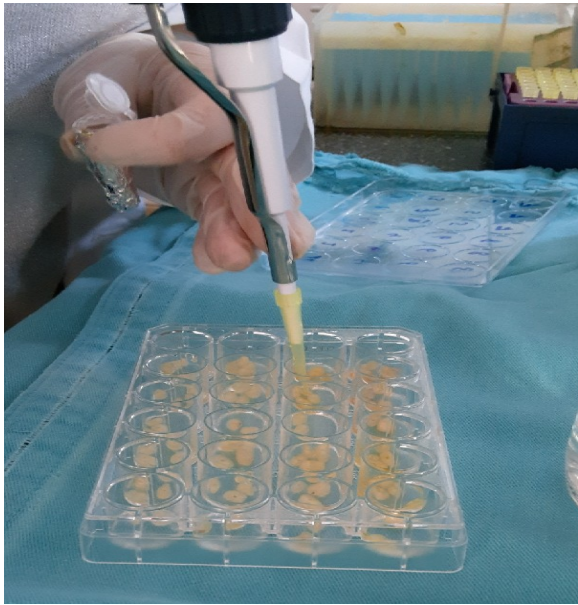
3.5. Lazer Taramalı Konfokal Mikroskop ile Bakteriyel Biyofilmlerin İncelemesi

Biyofilmlerin lazer taramalı konfokal mikroskop (LTKM) ile incelenmesi amacıyla ölü ve canlı bakterileri ayırt etmede kullanılan bir floresan boya (Live/Dead BacLight™, Kit L7012 Molecular Probes, ABD) ile deneysel olarak enfekte edilmiş tüm dentin diskleri boyandı. Bu kit, biyofilm içerisinde canlı bakterileri yeşil olarak işaretleyen SYTO-9 ve ölü bakterileri kırmızı olarak işaretleyen Propidyum İodür (PI)'den oluşmaktadır.



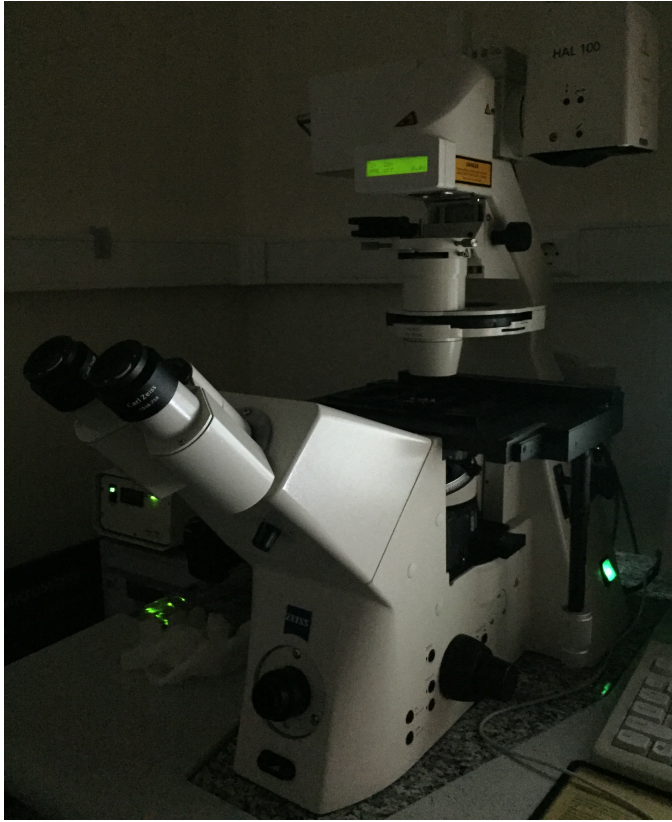
Resim 3.4. Live/Dead floresan boya (Live/Dead BacLight™, Kit L7012 Molecular Probes, ABD)

Üretici firmanın kullanım kılavuzuna göre her bir boyadan 9 µl alınarak 3 ml distile suya eklendi ve homojen bir karışım elde edilmesi için 2 dakika boyunca vortekslendi. Boyama öncesi karışım için kullanılan kap içerisindeki distile su steril tek kullanımlık pipet yardımı ile boşaltıldı. Her örnek için 200 µl karışım steril pipet yardımı ile yerleştirildi. Örnekler ışık almayacak şekilde alüminyum folyo ile kapatılarak üretici firmanın talimatları doğrultusunda 15 dakika bekletildi.



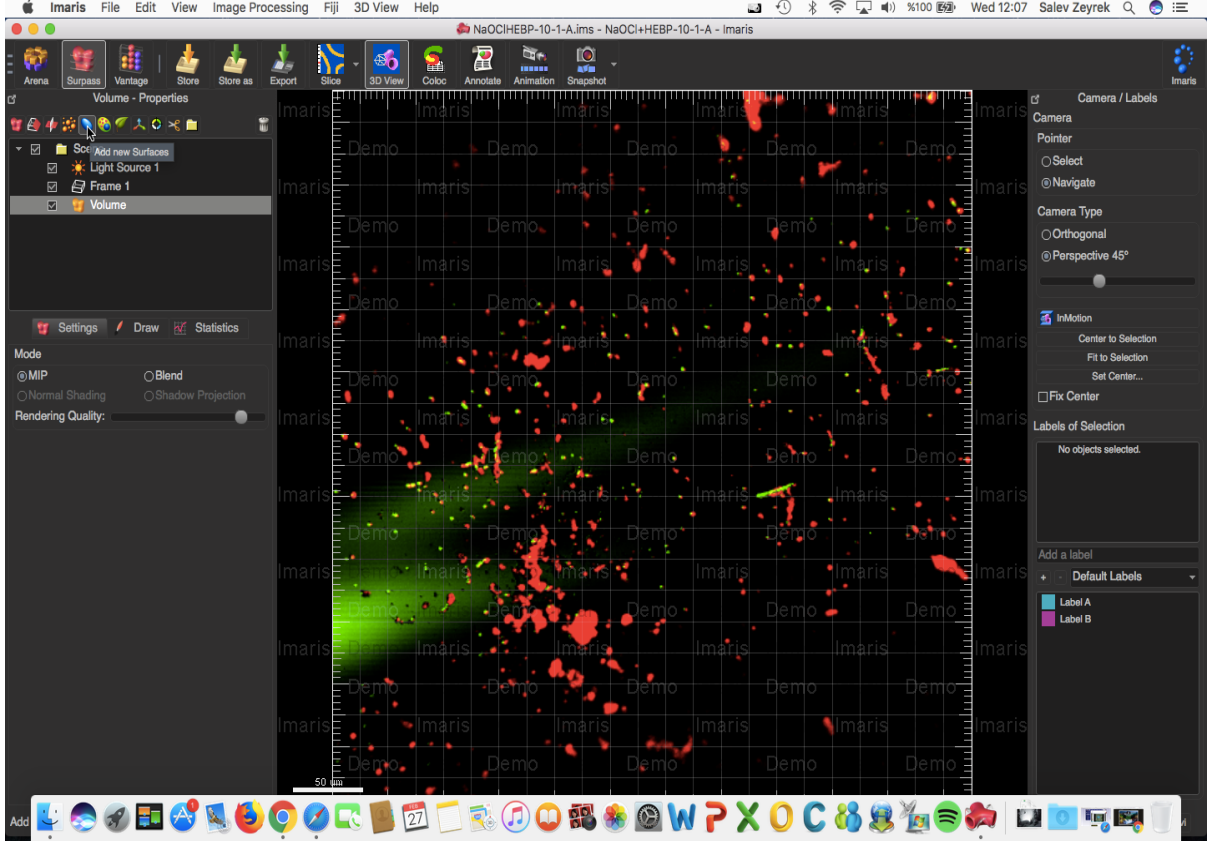
Resim 3.5. Örnekler üzerine boya karışımının steril pipet ile yerleştirilmesi

Boyama işlemini takiben uzman bir operatör yardımıyla örnekler, Orta Doğu Teknik Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji AR-GE Merkezi Mikroskopi Laboratuvarında LSM 510 META (Zeiss) lazer taramalı konfokal mikroskop ile 20x büyütme altında incelendi. İnceleme sonucunda her gruptan 10 LTKM görüntüsü kayıt edildi. Elde edilen 2 boyutlu görüntüler Imaris 9.2.1(BITPLANE an Oxford instruments company) yazılımı kullanılarak 3 boyutlu hale getirildi. Her görüntüye yeşil ve kırmızı kanaldan bakılarak ölü ve canlı bakterilerin ayrı ayrı biyohacimleri hesaplandı ve kaydedildi. Daha sonra veriler kullanılarak toplam biyohacim ve sonrasında ölü bakteri biyohacminin toplam biyohacime oranı yüzde olarak hesaplandı.

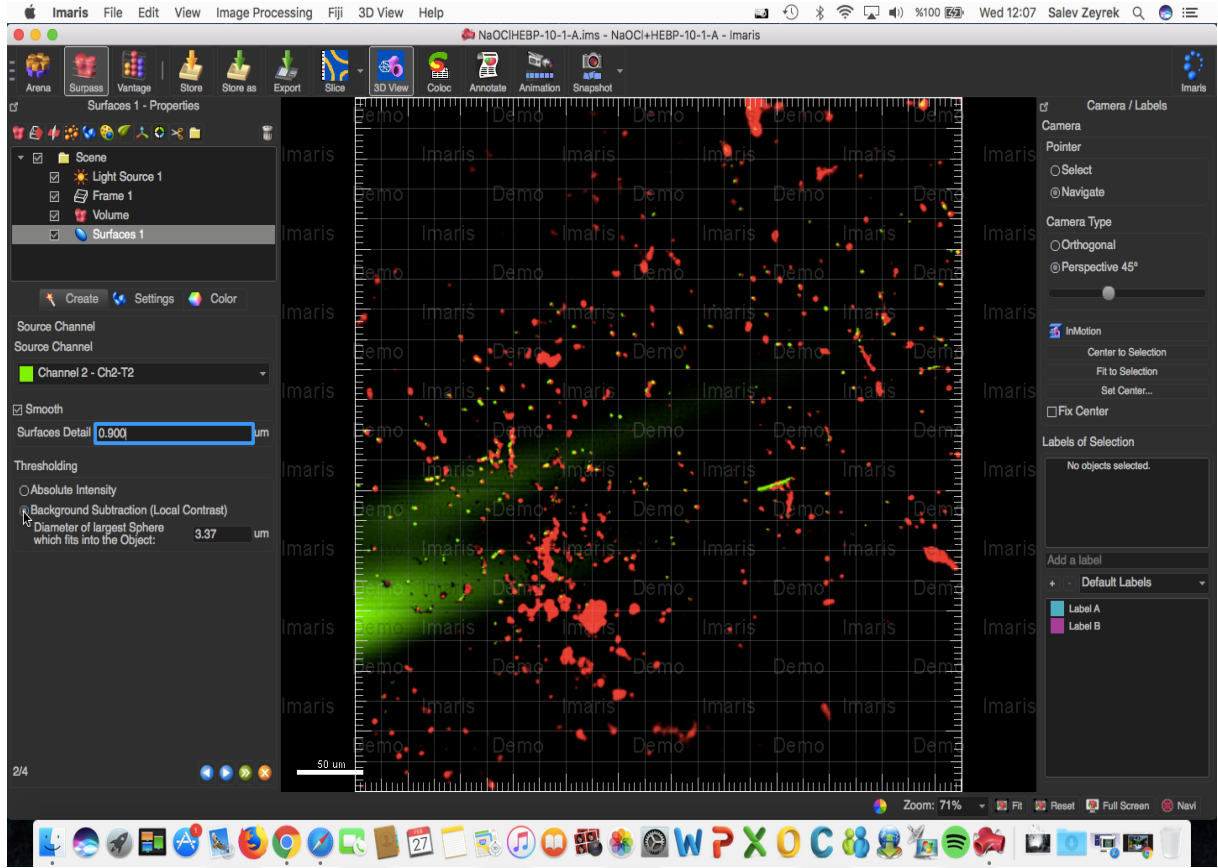


Resim 3.6. Lazer taramalı konfokal mikroskop, LSM 510 META (Zeiss)

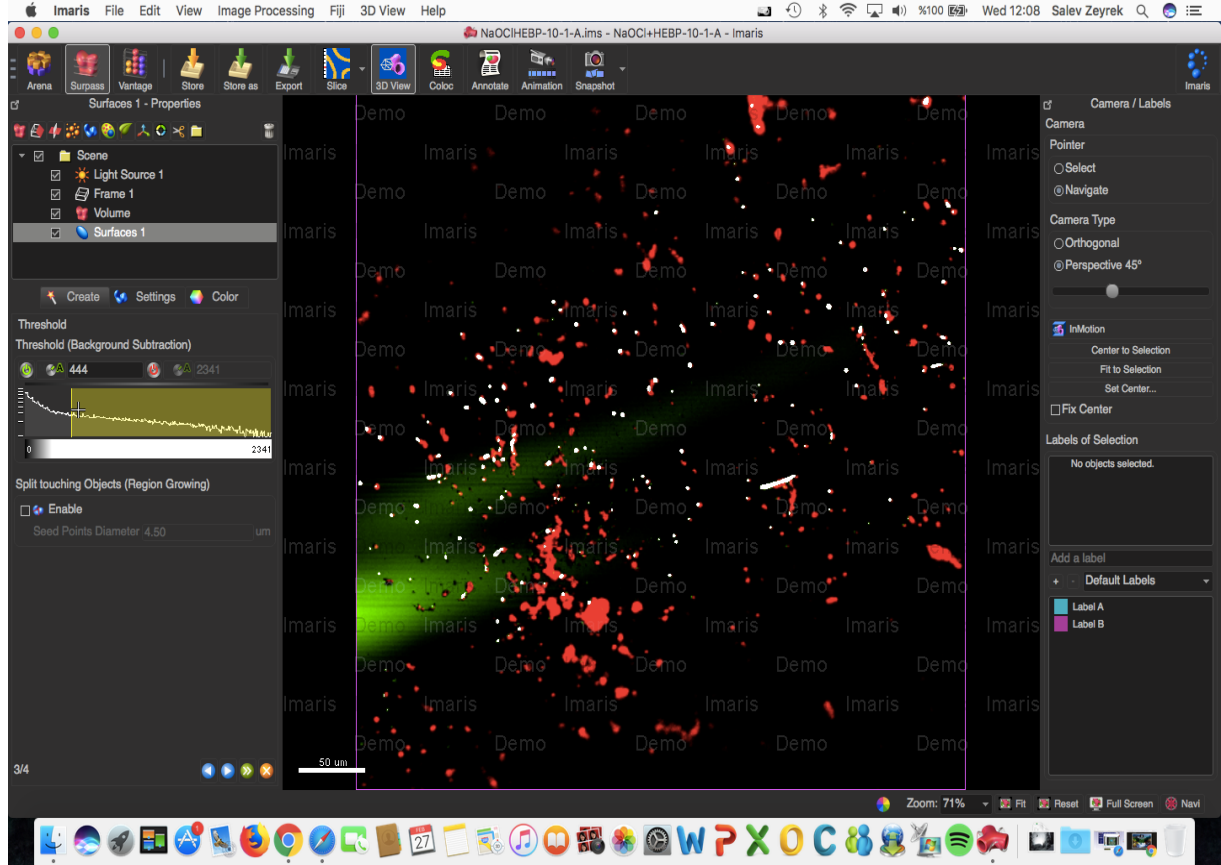
3.5.1. Imaris 9.2.1 (BITPLANE an Oxford instruments company) yazılımı ile LTKM görüntüleri üzerinde gerçekleştirilen hacimsel biyofilm hesaplama aşamaları



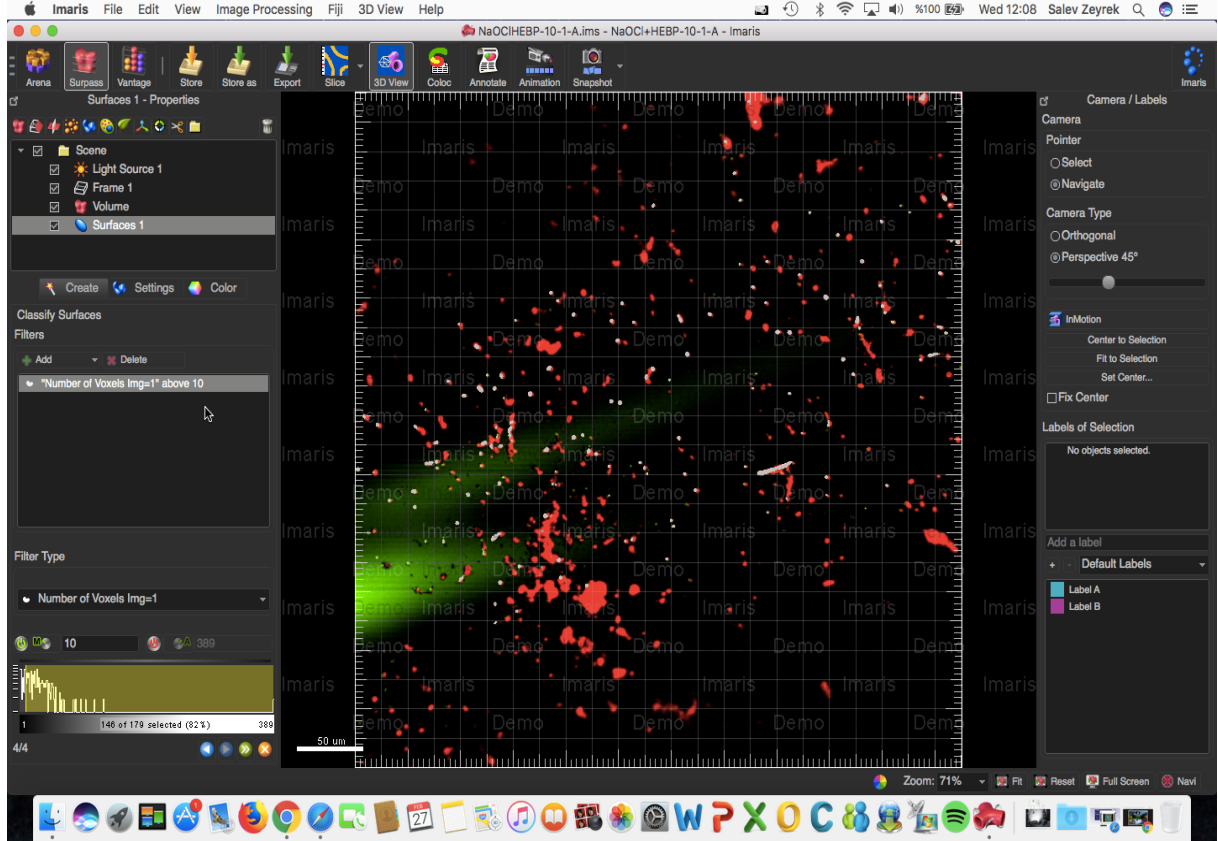
Resim 3.7. İki boyutlu LTKM görüntülerinin bakteri biyofilmlerinin incelenebilmesi için hacimsel (3 boyutlu) hale getirilmesi



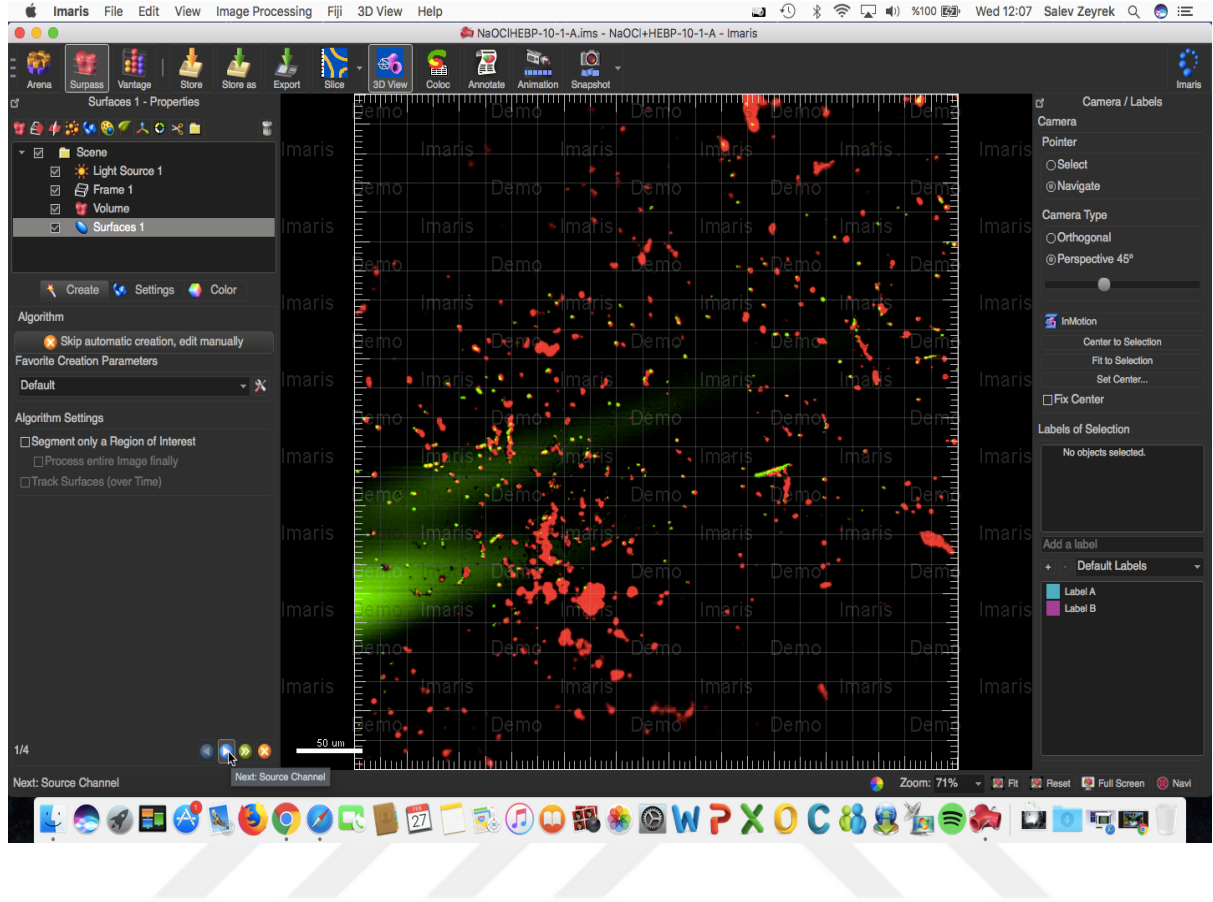
Resim 3.8. Canlı bakteri sayımı için yeşil kanaldan bakılarak yüzey detay boyutlarının ayarlanması



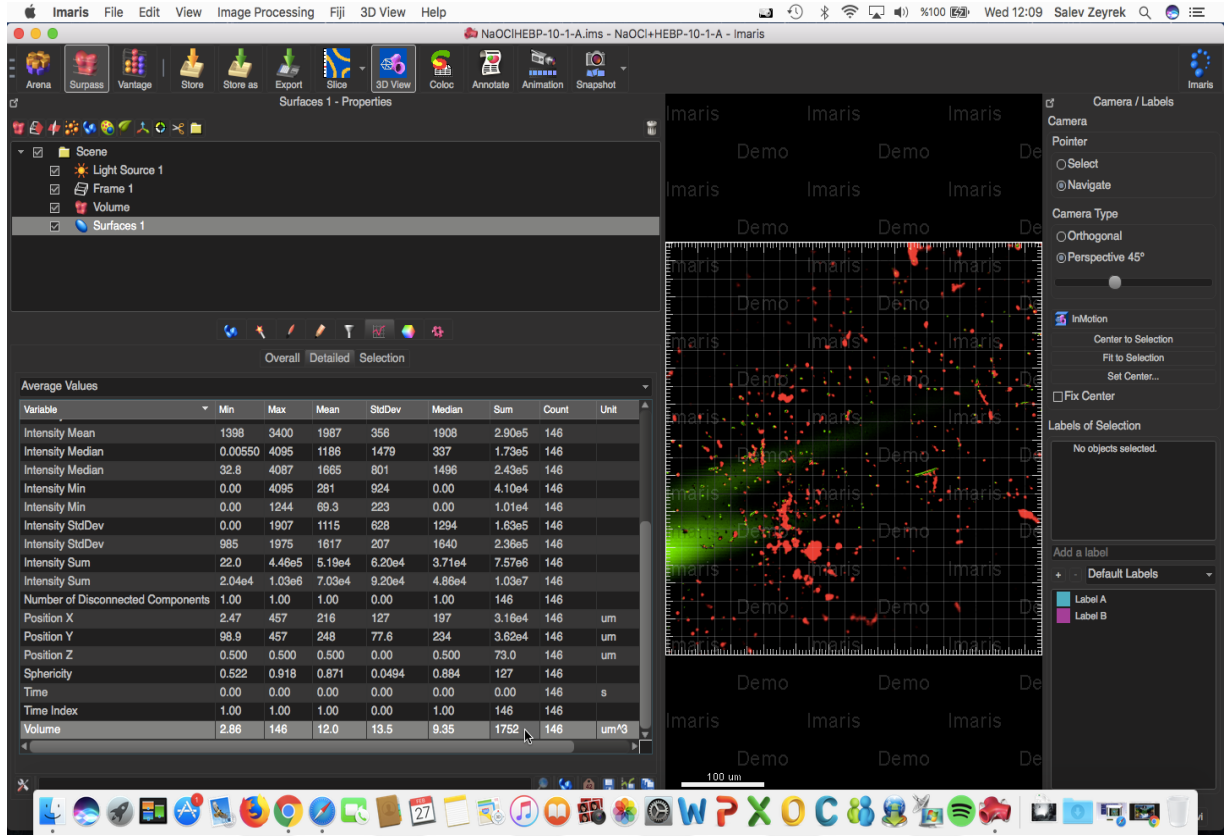
Resim 3.9. Arka planın dahil edilmemesi ile ilgili eşik değerinin ayarlanması



Resim 3.10. Seçilen yüzeylerin belirli bir voxel boyutunun üzerinde olması için yapılan ayarlamalar



Resim 3.11. Yapılan düzenlemelerin görüntü üzerinde uygulanması ve hacim hesaplamalarının başlatılması



Resim 3.12. Hesaplama sonucu canlı bakteri biyofilm hacminin ve diğer parametrelerin ayrıntılı dökümü

Yukarıdaki işlemler ölü bakterilerin sayımı için aynı şekilde kırmızı kanaldan bakılarak tekrarlanmıştır.

3.6. İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen verilerin değerlendirilmesi ve tabloların oluşturulması SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versiyon 15 ile gerçekleştirildi. Verilerin sunumu için ortalama değerler ve standart sapma değerleri kullanıldı. Nicel değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Saphiro-Wilk testi ile araştırıldı. Veriler normal dağıldığı için gruplar arasında anlamlı fark olup olmadığını saptamak amacıyla Tek Yönlü Varyans Analizi (One-way ANOVA) ile birlikte Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Bütün istatistiksel analizlerde anlamlılık seviyesi olarak $p < 0.05$ değeri kabul edildi.



4. BULGULAR

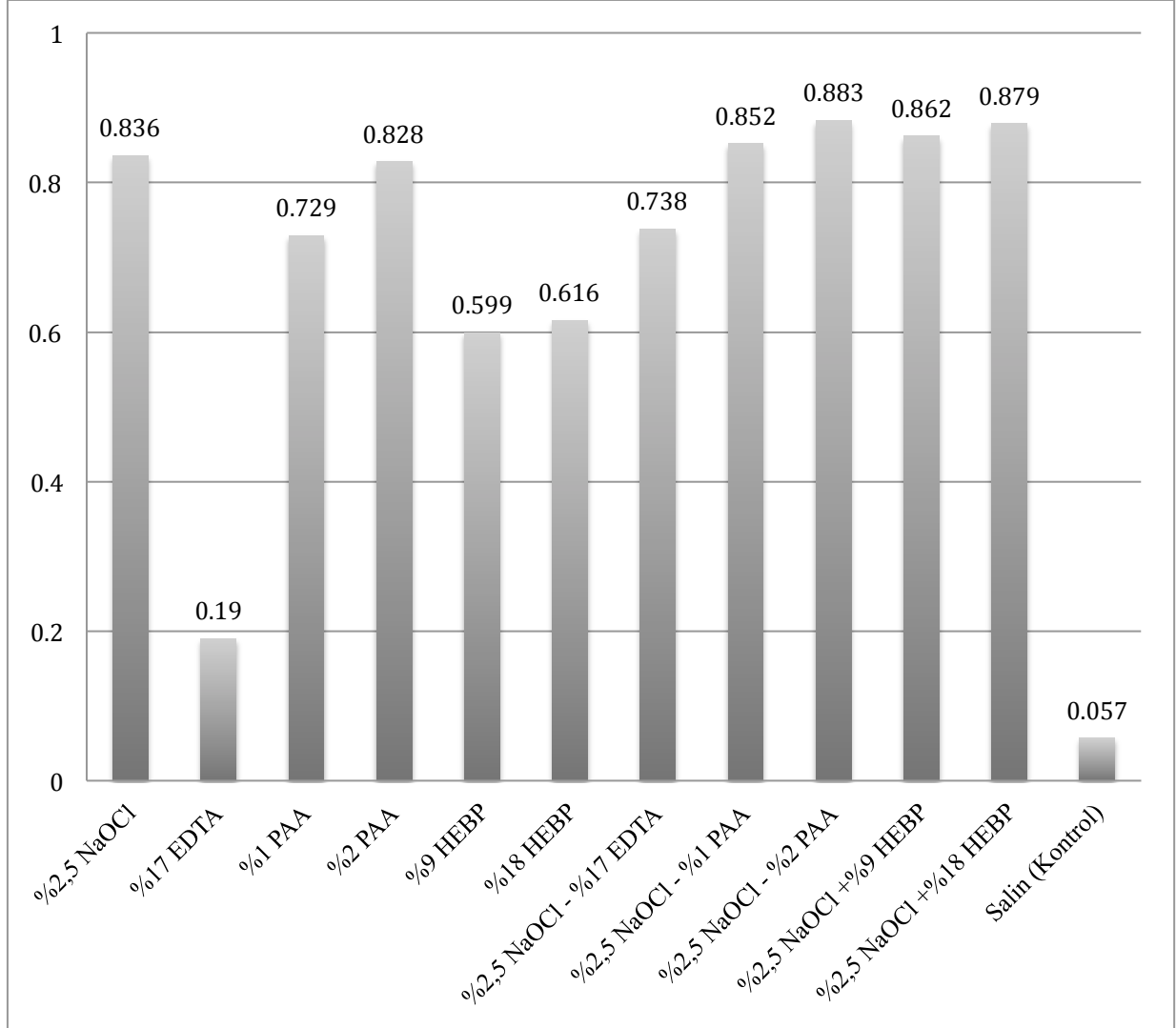
Bu çalışmada kullanılan toplam 11 adet deney (n=10) ve 1 adet kontrol (n=5) grubunda bulunan diş kesitlerinin lazer taramalı konfokal mikroskobu (LTKM) ile incelenmesi sonucunda elde edilen ölü bakteri yüzdelerinin ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 4.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Değerlendirilen irrigasyon protokollerinin uygulanması sonrasında deney gruplarındaki ölü bakteri yüzdelerinin ortalama, standart sapma, minimum-maksimum değerleri

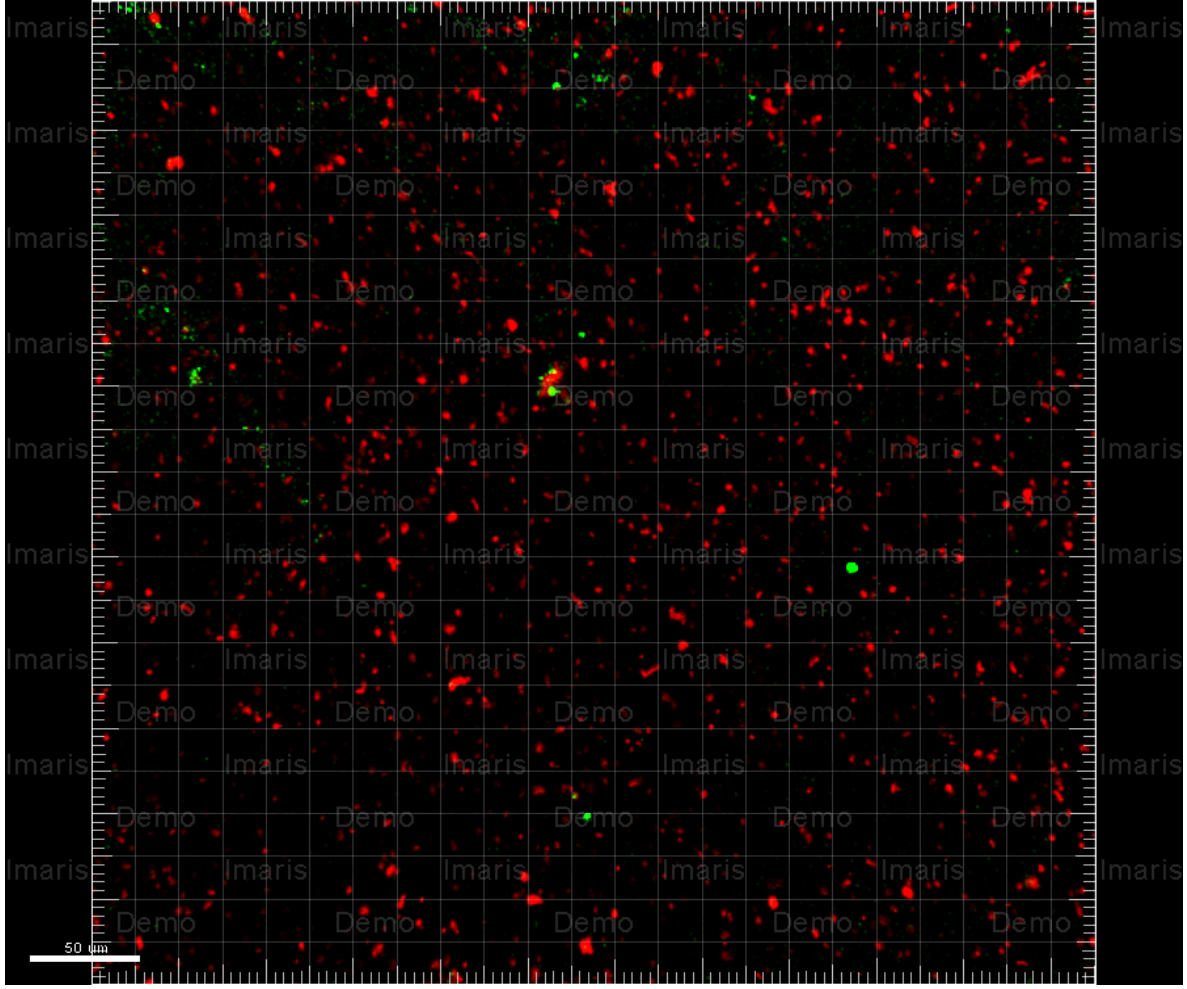
İrrigasyon protokolleri	Ort±SS	Min-Maks	Post-hoc
%2,5 NaOCl	0.836±0.096	0.710 - 0.979	A
%17 EDTA	0.190±0.096	0.075 - 0.367	C
%1 PAA	0.729±0.107	0.554 - 0.873	A,B
%2 PAA	0.828±0.138	0.625 - 0.977	A
%9 HEBP	0.599±0.126	0.414 - 0.818	B
%18 HEBP	0.616±0.135	0.461 - 0.815	B
%2,5 NaOCl - %17 EDTA	0.738±0.089	0.560 - 0.905	A,B
%2,5 NaOCl - %1 PAA	0.852±0.166	0.509 - 0.995	A
%2,5 NaOCl - %2 PAA	0.883±0.100	0.693 - 1.000	A
%2,5 NaOCl +%9 HEBP	0.862±0.129	0.540 - 0.955	A
%2,5 NaOCl +%18 HEBP	0.879±0.093	0.686 - 0.971	A
Salin (Kontrol)	0.057 ± 0.042	0.024 - 0.124	C

Ort, Ortalama; SS, standart sapma; Min-Maks, Minimum ve Maksimum; NaOCl, sodyum hipoklorit; EDTA, etilen diamin tetra asetik asit; PAA, perasetik asit; HEBP, etidronik asit, Farklı harfler, gruplar arasındaki istatistiksel farkları simgelemektedir (P<0.001).

Bu çalışmadan elde edilen bulgulara göre, %2,5 NaOCl ile birlikte %2 PAA kullanımı, diğer irrigasyon rejimlerine göre en yüksek bakteri ölümüne yol açmıştır. (Şekil 4.1, Resim 4.1) Ancak, bu gruptan elde edilen değerler, %2,5 NaOCl- %1 PAA, %2,5 NaOCl- %17 EDTA, %2,5 NaOCl + %9 HEBP, %2,5 NaOCl+ %18 HEBP, %2 PAA ve %1 PAA gruplarından elde edilen değerlerden istatistiksel olarak farklı değildir.

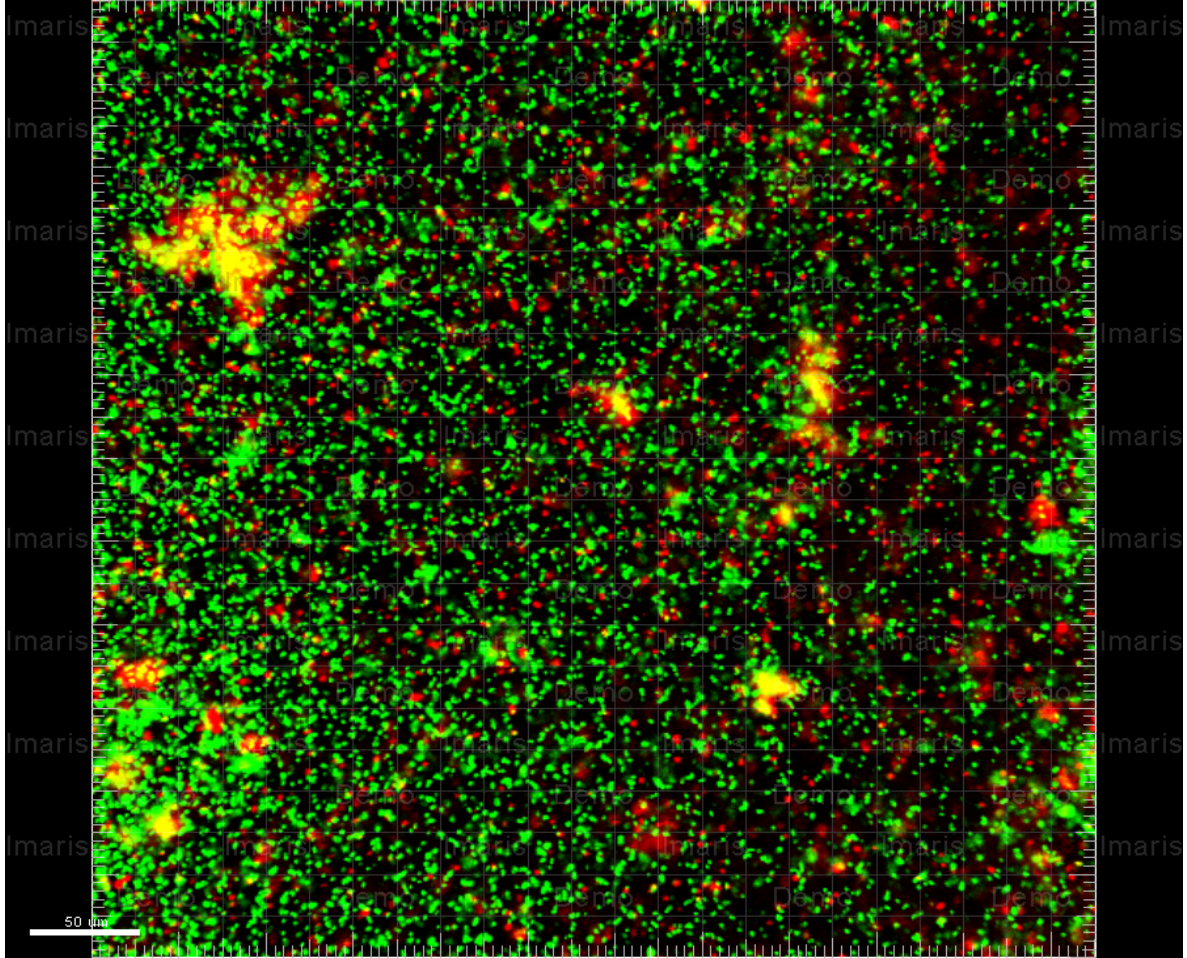


Şekil 4.1. Değerlendirilen irrigasyon solüsyonlarının uygulanması sonrasında deney gruplarındaki ölü bakteri yüzdelerinin ortalamalarına ait sütun grafiği



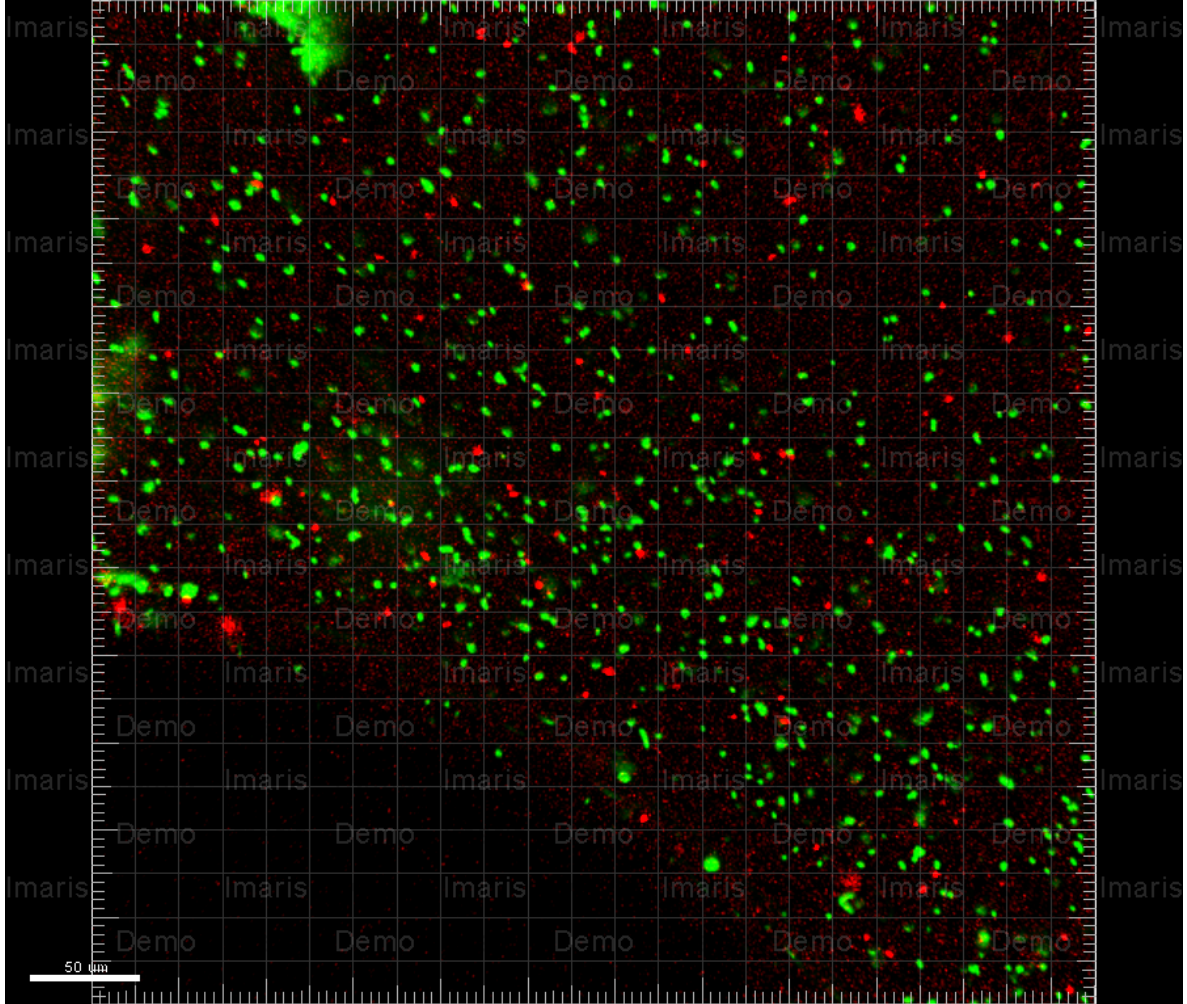
Resim 4.1. %2,5 NaOCl - %2 PAA uygulaması sonrası elde edilen temsili LTKM görüntüsü Yeşil, canlı bakteri; Kırmızı, ölü bakteri

Sadece salin kullanılarak yıkanan örneklerde (kontrol grubu) gözlenen canlı bakteri yüzdesi, diğer tüm irrigasyon protokolleri uygulanan örneklerden elde edilenlere göre belirgin olarak yüksektir ($p<0.001$).



Resim 4.2. Salin (kontrol) uygulaması sonrası elde edilen temsili LTKM görüntüsü. Yeşil, canlı bakteri; Kırmızı, ölü bakteri

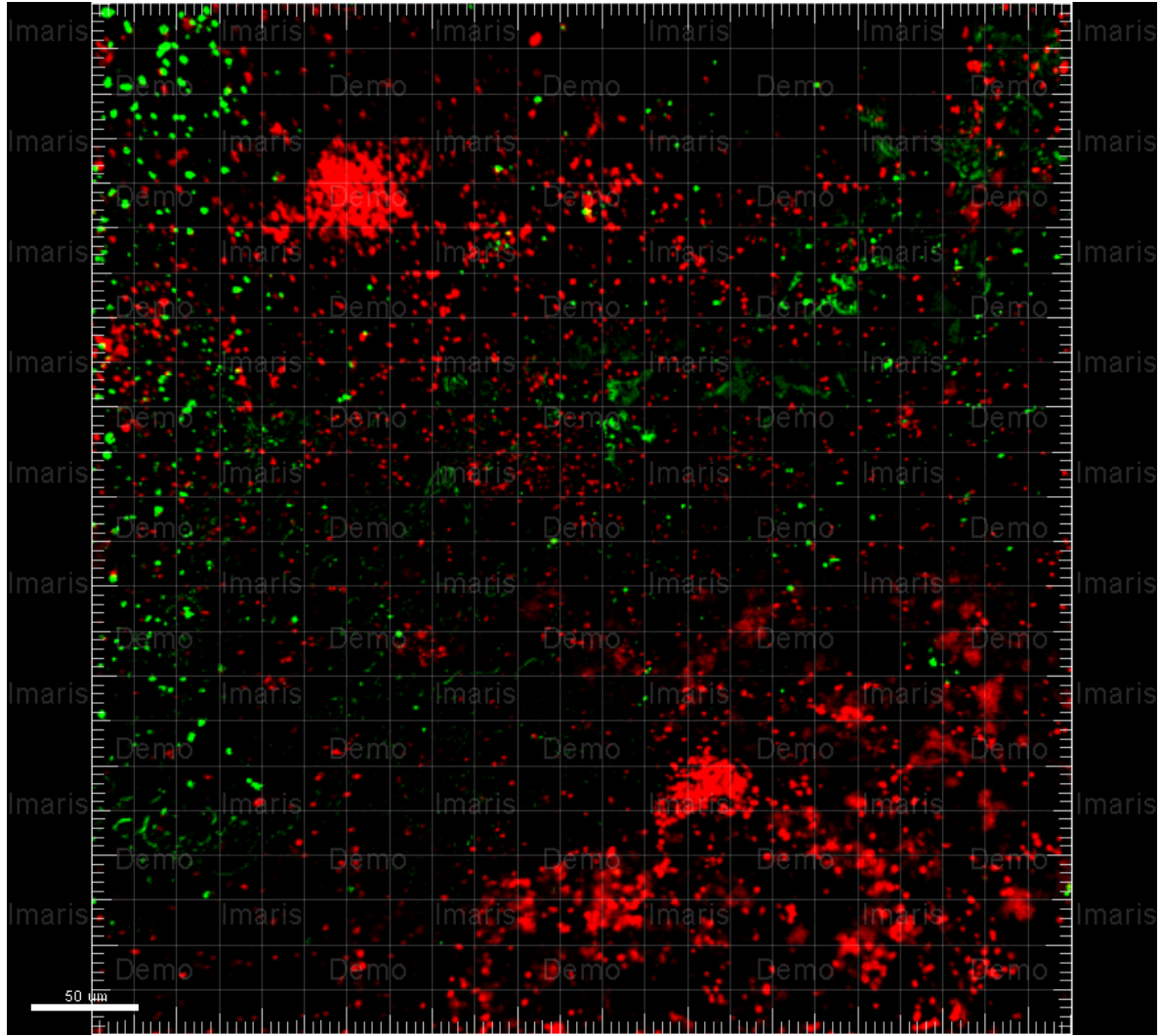
Tüm deney grupları arasında en fazla canlı bakteri yüzdesi %17 EDTA'nın tek başına kullanıldığı örneklerden elde edilmiştir ($p<0.001$)



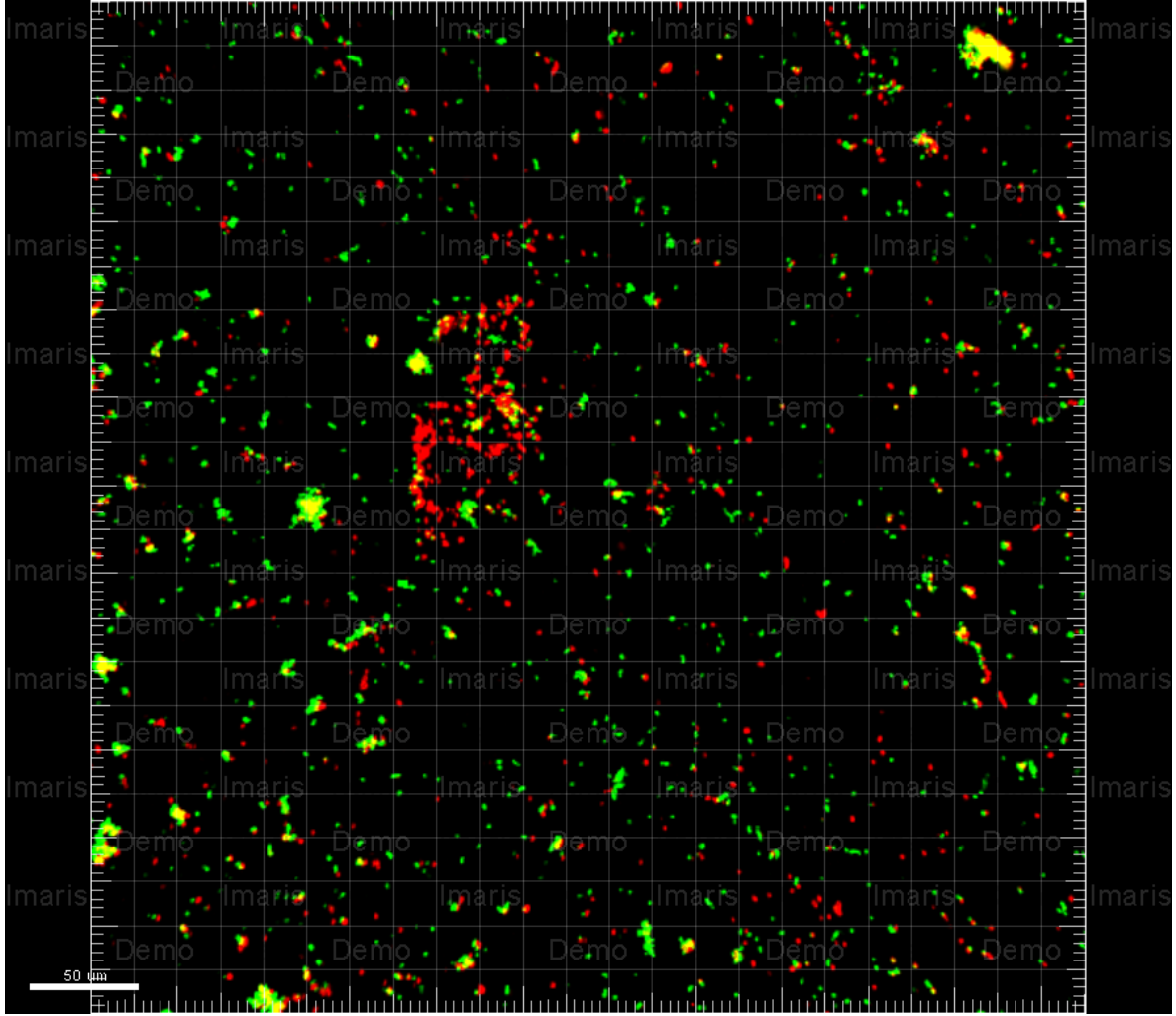
Resim 4.3. %17 EDTA uygulaması sonrası elde edilen temsili LTKM görüntüsü. Yeşil, canlı bakteri; Kırmızı, ölü bakteri

%2,5 NaOCl, %17 EDTA ile beraber kullanıldığında NaOCl'nin tek başına kullanımına göre bakteri eliminasyonunu azaltmış olsa da bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.001$).

%9 HEBP ve %18 HEBP solüsyonları tek başlarına kullanıldığı zaman elde edilen ölü bakteri yüzdesi, NaOCl ile birlikte kullanıldığında elde edilenden istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşüktür ($p<0.001$).

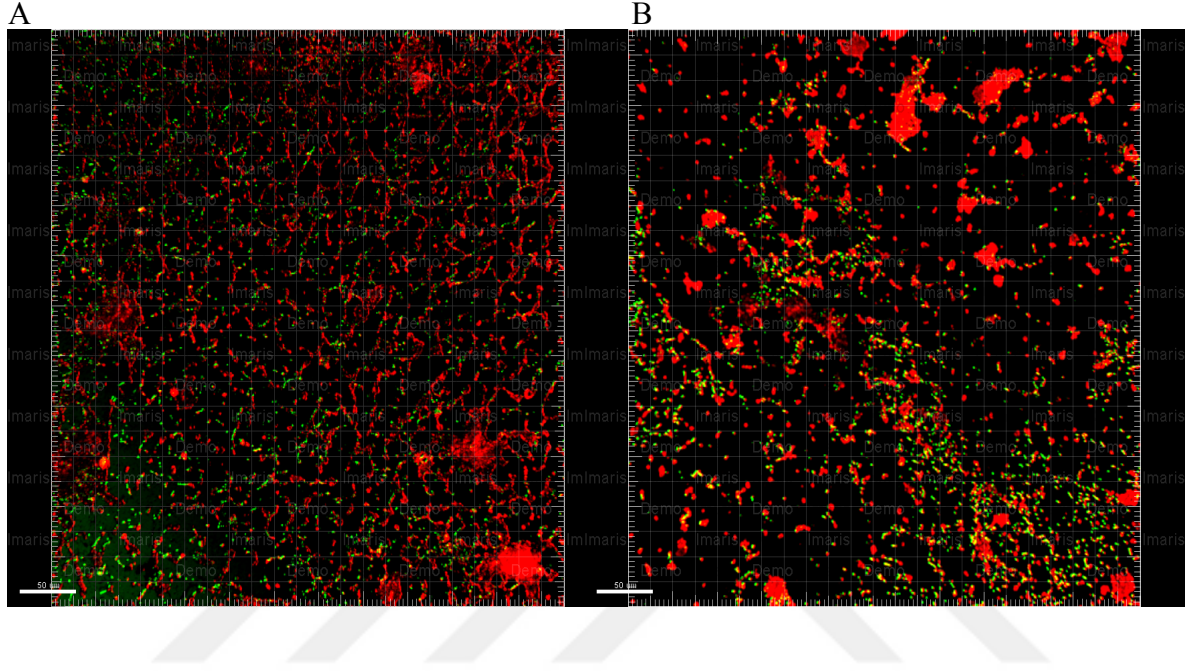


Resim 4.4. %2,5 NaOCl + %9 HEBP uygulaması sonrası elde edilen temsili LTKM görüntüsü. Yeşil, canlı bakteri; Kırmızı, ölü bakteri



Resim 4.5. %9 HEBP uygulaması sonrası elde edilen temsili LTKM görüntüsü. Yeşil, canlı bakteri; Kırmızı, ölü bakteri

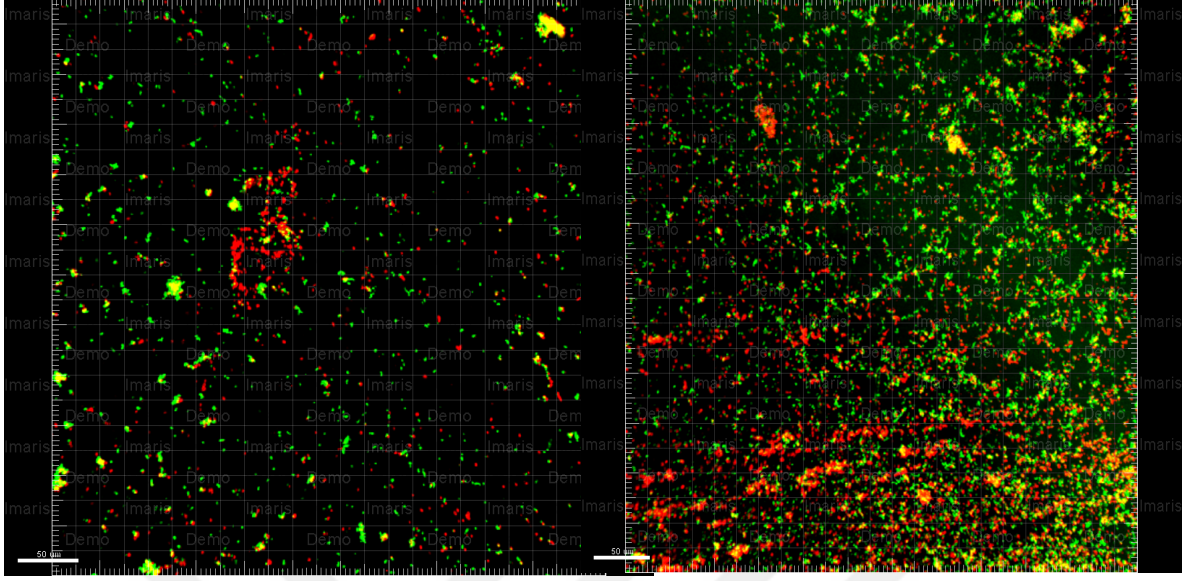
Perasetik asit (%1-2) ve etidronik asit (%9-18) tek başına veya NaOCl ile birlikte kullanıldığında her iki konsantrasyon arasında biyofilm eliminasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0.001$). Her ne kadar bu fark istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, her irrigasyon solüsyonu konsantrasyon arttıkça daha fazla biyofilm eliminasyonu sağlamıştır.



Resim 4.6. %1 PAA (A) uygulaması sonrası, %2 PAA (B) uygulaması sonrası elde edilen temsili LTKM görüntüsü. Yeşil, canlı bakteri; Kırmızı, ölü bakteri

A

B



Resim 4.7. %9 HEBP (A) ve %18 HEBP (B) uygulaması sonrası elde edilen temsili LTKM görüntüsü. Yeşil, canlı bakteri; Kırmızı, ölü bakteri

5. TARTIŞMA

Kök kanal tedavisi sonrası görülen başarısızlıklardan sorumlu mikrobiyolojik etkenlerin başında *Enterococcus faecalis*'in yer aldığı bilinmektedir (Molander ve diğerleri, 1998). Bu mikroorganizma, biyofilm oluşturabilme potansiyeli nedeni ile geleneksel irrigasyon protokollerine ve kök kanal ilaçlarına karşı dirençlidir (Haapasalo ve Orstavik, 1987). Bu nedenle, kök kanal tedavisinde alternatif irrigasyon solüsyonları kullanılmakta ve bu irrigasyon solüsyonlarının etkinliğini artırmaya yönelik çeşitli yöntemler uygulanmaktadır.

Sodyum hipoklorit (NaOCl), üstün antimikrobiyal etki ve organik doku çözücü yeteneği nedeniyle endodontide en yaygın kullanılan irrigasyon solüsyonudur (Haapasalo, Endal ve Zandi Coil, 2005). Ancak NaOCl'nin smear tabakasının uzaklaştırılmasında etkisinin zayıf olması nedeniyle dekalsifiye edici bir ajan ile birlikte kullanılması önerilmektedir. Bu amaçla kök kanal tedavisinde şelasyon ajanı olarak en sık etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) kullanılmaktadır. Ancak EDTA'nın NaOCl ile etkileşime girip NaOCl'nin etkinliğinin azalmasına neden olması, NaOCl'nin doku çözücü ve antimikrobiyal etkisini baskılaması, kök kanalının apikalinde yeterli etkinlik sağlayamaması gibi sınırlılıkları son zamanlarda alternatif şelasyon ajanların araştırılmasına yol açmıştır (Ballal ve diğerleri, 2009; Grawehr ve diğerleri, 2003).

Genel tıpta farklı alanlarda kullanılan 1-hidroxyethylidene-1, 1-bisphosphonate (Etidronik asit-HEBP) ve perasetik asit (PAA) gibi biyoyumlu ve asidik özellikleri düşük şelasyon ajanları, son yıllarda kök kanal irrigasyonunda kullanılmaya başlanmıştır (Lottanti ve diğerleri, 2009).

Enterococcus faecalis biyofilmlerinin etilen diamin tetra asetik asit (EDTA), etidronik asit (HEBP) ve perasetik asit (PAA) ile uzaklaştırılma etkinliğinin değerlendirildiği çalışmalar literatürde nadir de olsa mevcuttur (Arias-Moliz ve diğerleri, 2015; Hartmann ve diğerleri, 2019). Ancak bu solüsyonların farklı konsantrasyonlarda kullanıldığı zaman oluşan antibakteriyel etkilere dair daha önce yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır.

Kök kanal tedavisinde kullanılan irrigasyon solüsyonları antibakteriyel etkilerinin artırılma amaçları başta olmak üzere çeşitli nedenler ile farklı konsantrasyonlarda kullanılmaktadır.

Daha önceki çalışmalarda NaOCl ile birlikte kullanılan PAA ve HEBP solüsyonlarının kök kanal irrigasyonunda etkin oldukları optimal konsantrasyonlar sırasıyla %0,5-2,25 ve %9-18 olarak bildirilmiştir (Lottanti ve diğerleri, 2009). Bu nedenle mevcut çalışmada da bahsedilen çalışmalarda örtüşen konsantrasyonlar tercih edilmiştir.

Kök kanallarından *Enterococcus faecalis* biyofilmlerinin iki farklı konsantrasyonda kullanılan HEBP (%9-18) ve PAA (%1-2) ile uzaklaştırılma etkinliğinin değerlendirildiği bu çalışmada, daha yüksek konsantrasyonlarda kullanılan HEBP ve PAA'nın, *E.faecalis* biyofilmlerinin eliminasyonunda daha yüksek sayıda biyofilm eliminasyonuna yol açtığı bulgulanmıştır. Ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bununla birlikte, irrigasyon solüsyonlarının kök kanalında kullanımları sırasında tercih edilen konsantrasyonlarını belirlemekte gözönüne alınması gereken tek kriter antibakteriyel etki değildir. Toksikite, dentin erozyonu, dentin mikrosertliğinde aşırı azalma gibi istenmeyen etkilerin yüksek konsantrasyonlarda daha sık görüldüğü bildirilmiştir (Spångberg, Engström ve Langeland, 1973).

Ayrıca, hangi konsantrasyonda smear tabakanın daha etkin bir şekilde uzaklaştırıldığı da göz önünde bulundurulması gereken önemli bir konudur. Ulusoy ve arkadaşları (2017), farklı konsantrasyonlarda kullanılan PAA (%0,5, 0,1 ,2) ve HEBP (%9-18)'in kök kanal duvarlarından smear tabakanın uzaklaştırılma etkinliğini inceledikleri çalışmada, bu açıdan farklı konsantrasyonlar arasında fark bulunmadığını bildirmişlerdir (Ulusoy ve diğerleri, 2018).

Tüm bunlar, bizim çalışmamızın bulgularıyla birlikte değerlendirildiğinde, olası zararlı etkileri en aza indirgeyen ve smear tabakasının eliminasyonunu ve antibakteriyel etkiyi sağlayabilen mümkün olan en düşük konsantrasyon tercih edilmelidir.

Bu çalışmada, biyofilm yapısını çözücü etkisi ve biyofilm bakterilerinin ölümüne yol açtığı daha önceki çalışmalarda da gösterilen etkin bir dezenfektan olan PAA solüsyonu NaOCl ile birlikte kullanıldığında en yüksek bakteri ölümü gözlemlenmiştir (Ordinola-Zapata ve diğerleri, 2013). Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Ancak %2 PAA'nın tek başına kullanımı, her iki konsantrasyonda tek başına uygulanan HEBP'e göre anlamlı şekilde daha etkin biyofilm eliminasyonu sağlamıştır. Bu, etidronik asitin antibakteriyel etkisinin perasetik asite göre daha düşük olmasıyla açıklanabilir. Ancak, HEBP solüsyonu

NaOCl ile birlikte kullanıldığında, tek başına kullanılmasına göre daha iyi antibiyofilm etki göstermiştir. Bunun nedeni de, HEBP'in EDTA'nın tersine NaOCl ile reaksiyona girmeyip onun antibakteriyel etkisini kısıtlamaması olabilir (Arias-Moliz ve diğerleri, 2014).

Zaten endodontik tedavi sırasında şelasyon ajanları NaOCl ile ard arda veya birlikte kullanıldığı için, smear tabaka uzaklaştırma potansiyelinin iyi olduğu bilinen HEBP, kök kanal irrigasyonunda umut verici bir şelasyon ajanı olarak düşünülebilir (Ulusoy ve diğerleri, 2018).

Sodyum hipokloritin şelasyon ajanları ile genellikle karıştırılarak kullanılmaması önerilmektedir. Bunun nedeni de karıştırıldıktan hemen sonra serbest klor miktarındaki ani azalma olarak açıklanmaktadır (Zehnder, Schmidlin, Sener ve Waltimo, 2005). Hatta EDTA ile ard arda kullanımında bile kök kanal düzensizliklerinde kalmış olan EDTA, NaOCl'nin etkinliğini azaltabilir. Daha önce yapılan çalışmalar, NaOCl/HEBP kullanımının NaOCl'nin kimyasal özellikleri üzerinde istenmeyen ani bir etkiye neden olmadığını ve etkin sonuç sağladığını bildirmiştir (Tartari ve diğerleri, 2015). Zaman ve emek tasarrufu açısından bu iki irrigasyon solüsyonunun karışım halinde tek bir solüsyon olarak uygulanması önerilmektedir (Zehnder ve diğerleri, 2005). Bu nedenle, mevcut çalışmada %9 ve %18 HEBP ile NaOCl karışım olarak kullanılmıştır. Alınan sonuçlarda NaOCl/HEBP karışımının NaOCl'nin tek başına kullanıldığında antibakteriyel etkisini azaltmadığı hatta hafifçe artırdığı görülmüştür.

Çalışmamızın bulguları, EDTA'nın tek başına kullanıldığında antibakteriyel etkisinin oldukça düşük olduğunu ileri süren teorileri desteklemektedir (Baca, Junco, Arias-Moliz, González-Rodríguez ve Ferrer-Luque, 2011). Bunun yanı sıra, NaOCl ile beraber kullanıldığında, NaOCl'nin tek başına kullanımına göre daha düşük antibakteriyel etki göstermiştir. Bu bulgu da, daha önce araştırmaların bulgularıyla benzerlik taşımaktadır.

EDTA günümüzde kök kanal tedavisinde başarıyla kullanılmakta olan bir yardımcı irrigasyon ajanıdır. Ancak NaOCl'nin antibakteriyel etkinliğini azaltması ve kök kanallarının özellikle apikal üçlüsünde bulunan smear tabakayı yeterli şekilde uzaklaştıramaması gibi nedenler başta olmak üzere trikalsiyum silikat pat ve simaların bağlanmasına olumsuz etkisi ve zamana bağlı olarak dentin yapısında değişikliklere neden

olması gibi farklı negatif özellikler de gösterebilmektedir (Ballal, Ulusoy, Chhapparwal ve Ginjupalli, 2018; Taneja, Kumari, Anand, 2014).

Perasetik asitin NaOCl ile etkileşimini ve bu etkileşimin antibakteriyel yönünü inceleyen çalışma sayısı sınırlıdır (Aris-Moliz ve diğerleri, 2015; Suchmel, Lenhardt, Kampf ve Grisold, 2019). Bu çalışmada, NaOCl'nin tek başına kullanımı ile PAA ile birlikte kullanımı arasında, *E.faecalis* biyofilmlerinin eliminasyonu açısından, istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır, ancak her iki solüsyonun birlikte kullanıldığı durumda ölü bakteri yüzdesi daha yüksektir. Bu çalışmanın bulgularına göre, perasetik asitin tek başına kullanıldığı zaman yeterli antibakteriyel etkinlik göstermesi ve NaOCl'nin olumlu özelliklerini azaltmaması gibi nedenler göz önünde bulundurulduğunda, PAA da HEBP gibi ümit verici bir şelasyon ajanı olarak düşünülebilir.

İdeal bir irrigasyon solüsyonunun yukarıda belirtilen özelliklerinin yanısıra yan etkilerinin az olması da dikkat edilmesi gereken bir konudur. Mevcut çalışmada kullanılan etidronik asit, sabun gibi kişisel bakım ürünlerinde ve yüzme havuzlarında kullanılan biyoyumlu bir maddedir (Licata, 1993). Ancak HEBP, osteoporoz tedavisinde kullanılan bir bifosfonattır ve bifosfonatların sistemik alımının çenelerde meydana gelen osteonekroz ile ilişkilendirildiği bazı çalışmalar mevcuttur (Migliorati, Schubert, Peterson ve Seneda, 2005). Bunlara rağmen spesifik olarak etidronat ile ilgili hiçbir vaka rapor edilmemiştir. Perasetik asit, içme suyu dezenfeksiyonu için NaOCl'e alternatif olarak gösterilmiş olsa da, göreceli olarak daha sitotoksik olarak kabul edilir (Marabini, Frigerio, Chiesara, Radice, 2006). Ancak, 1980'li yıllarda Doğu Avrupa'daki yaygın kullanımına rağmen asidik kokusu dışında herhangi bir yan etki rapor edilmemiştir.

Demineralize edici irrigasyon solüsyonlarının kök kanallarında kullanımı sırasında dikkat edilmesi gereken bir diğer konu da uygulama hacmi ve süresidir. Kök kanal tedavisinde geleneksel olarak kullanılan EDTA için en uygun uygulama süresi çoğunlukla 1 dakika olarak önerilmektedir ve 1 dakikadan uzun süre kullanımlarda dentin erozyonuna sebep olabileceği rapor edilmiştir (Calt ve Serper, 2002). Bu nedenle, bu çalışmada standardizasyonu sağlamak amacıyla EDTA, PAA ve HEBP'in tek başına kullanıldıklarında uygulama süreleri 1 dakika olarak belirlenmiştir. NaOCl ile beraber/ardışık kullanıldıkları gruplarda ise toplam süre 2 dakika olarak standardize edilmiştir. Çalışmamızda kullanılan solüsyonların toplam hacimleri de her grupta 6 mL

olacak şekilde eşit tutulmuştur. Yapılan önceki çalışmalarda, irrigasyon solüsyonlarının uygulama süresi, çoğunlukla smear tabakanın eliminasyonunu yeterli kılacak aynı zamanda da dentin yapısında istenmeyen değişikliklere neden olmayacak şekilde belirlenmiştir (De-Deus ve diğerleri, 2011). Bu çalışmada kullanılan uygulama süreleri de önceki çalışmalar ile paralellik göstermektedir (De-Deus ve diğerleri, 2011). Irrigasyonun hacminin ve uygulama süresinin artmasıyla antibakteriyel etkilerinin de artacağı düşünülmektedir (Basrani ve Haapasalo, 2012). Ancak bu sürenin dentin yapısına kalıcı zarar verecek şekilde uzatılmaması gerektiği unutulmamalıdır

Kök kanal tedavisinde kullanılan irrigasyon solüsyonlarının antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi amacıyla yapılan çalışmaların çoğunda, kök kanallarını veya dentin kesitlerini enfekte etmek amacıyla tercih edilen mikroorganizma olarak *E. faecalis* kullanılmıştır (Eneide ve diğerleri, 2019; Wang, Zhao, Ran, Sun ve Liang, 2019). Bu tez çalışmasında, elde edilen verilerin diğer çalışma sonuçlarıyla karşılaştırılabilmesi amacıyla mikroorganizma olarak *E. faecalis* tercih edilmiştir. Bu mikroorganizmanın en önemli özelliğinin biyofilm oluşturabilmesi ve kök kanal tedavisi işlemlerine dirençli olması nedeniyle ve gerçek klinik durumları daha iyi taklit edebilmek amacıyla *E. faecalis*'in planktonik formu değil biyofilm formları oluşturulmuştur.

E. faecalis ile enfekte edilen örneklerin kullanıldığı *in-vitro* çalışmalarda inkübasyon süreleri 24 saatten 1 aya kadar değişmektedir (Balic ve diğerleri, 2016; Oliveira, Barbizam, Trope, ve Teixeira, 2007). Haapasalo ve Orstavik (1987), sığır dişlerinden hazırladıkları 4 mm'lik silindirik örnekler üzerinde yaptıkları *in-vitro* çalışmada, deneysel örnekleri 3 hafta boyunca *E. faecalis* mikroorganizması ile enfekte etmişlerdir. Daha sonra aldıkları SEM görüntülerinde dentin kanallarının içerisinde 500 µm derinlikte bakterilerin bulunduğunu, hatta bazı dentin bloklarında bakteri penetrasyonunun 1000 µm'ye kadar ulaştığını rapor etmişlerdir. Bu araştırmacılar *E. faecalis*'in ilk 24 saat içinde dentin kanallarına 300–400 µm kadar ulaşabildiğini ve bu penetrasyon ile daha fazla inkübe edilmiş olan dentin kanallarındaki bakteri penetrasyonu arasında fark olmadığını bildirmişlerdir. Bu sebeple de deneysel çalışmalarda daha kısa süreli inkübasyon sürelerinin de kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Biz de önceki çalışmalardan elde edilen bu bulguları gözönünde bulundurarak çalışmamızda 24 saatlik inkübasyon süresini tercih ettik.

Bu çalışmada diş köklerinden kesitler elde edildikten ve preparasyonları yapıldıktan sonra sterilizasyon işlemi için etilen oksit gazı kullanılmıştır (Thomas, Ruben, ten Bosch ve Huysmans, 2007). Otoklav sterilizasyonu, dentin çatlakları oluşturabilmesi, sonrasında bakteri kolonilerinin yüzeyden çok bu bölgelerde biyofilm oluşturma ihtimali ve buna bağlı olarak da lazer taramalı konfokal mikroskop (LTKM) ile inceleme sırasında meydana gelebilecek zorluklar nedeniyle tercih edilmemiştir.

Kök kanallarındaki bakteri kolonilerinin incelenmesinde histolojik kesitler, mikrobiyolojik analizler, SEM ve lazer taramalı konfokal mikroskop (LTKM) gibi birçok farklı yöntem kullanılmaktadır (Flach ve diğerleri, 2016). Mikrobiyolojik örnekleme teknikleri, koloni oluşturan ünite sayısının belirlenmesi açısından avantajlı olsa da dentin içerisindeki bakteri dağılımı hakkında yeterli bilgi verememektedir (Flach ve diğerleri, 2016). Histolojik kesit yönteminde ise enfekte dentin içerisindeki bakteri dağılımı gözlemlenebilir; ancak canlı bakteri sayısı belirlenemez (Flach ve diğerleri, 2016). Çalışmamızda bakteri biyofilmlerinin içerisindeki ölü ve canlı bakterilerin ayrı ayrı incelenebilmesi için floresan boyama tekniği ve sonrasında görüntüleme amacıyla LTKM kullanılmıştır.

Lazer taramalı konfokal mikroskop kullanılarak biyofilm içerisindeki canlılığın sayısal olarak ölçülebilmesi, antibakteriyel ajanların etkisinin değerlendirilmesinde iyi bir araçtır. Aynı zamanda, biyofilm içerisindeki canlılık profilini ve mekansal dağılımı anlayabilmek için de uygun bir yöntem olduğu düşünülmektedir (Del Carpio-Perochena, Bramante ve Duarte, 2011; Zaura-Arite , Van Marler, ve Ten Cate, 2001).

Floresan boyama ve LTKM'nin bir diğer avantajı da biyofilm içerisindeki zorlu çevre ve büyüme koşullarına karşı hayatta kalma stratejisi geliştiren bakterileri tespit edebilmesidir. Çünkü bu mikroorganizmalar, besin yetersizliğinde canlı fakat kültüre edilemeyen bir faza geçmektedir. Bu faz halindeki bakteriler antimikrobiallere karşı dirençlidir ve canlı olmalarına rağmen metabolik aktivitelerinin çok az olması nedeniyle kültür teknikleriyle tespit edilemezler (Van Acker, Van Dijck ve Coenye, 2014).

Tüm bu avantajlarına karşın LTKM'nin yetersiz kaldığı durumlar da bulunmaktadır. Bunlar, lazer mikroskobu ile değerlendirme işlemine bağlı olarak örneklerde bakteri ölümünün gerçekleşebilmesi, dolayısıyla ölü bakteri miktarının yanlış rapor edilmesi ve hücrel ultrayapının görüntülenebilmesi için gerekli yüksek çözünürlüğe ulaşamamasıdır

(Vera ve diğeri, 2017). Buna rağmen LTKM yönteminin, irrigasyon solüsyonlarının antibakteriyel etkinliğinin incelenmesinde yeterli bilgi sunduğu düşünülmektedir.

5.1. Çalışmanın Limitasyonları

Mevcut çalışmada kullanılan yöntemde, temas edecek yüzey alanı, temas süresi, uygun solüsyon miktarı gibi bazı parametrelerin daha iyi kontrol edilebilmesi amacıyla solüsyonlar, yatay ve düz yüzeylere uygulanmıştır. Bu da onların direkt olarak yer çekimi kuvvetine maruz kalmalarına neden olmuştur. Klinik koşullarda ise irrigasyon ajanları ile kök kanal duvarlarının teması, dişlerin doğal vertikal pozisyonları ve anatomik düzensizlikleri nedeniyle daha farklı olacaktır.

Bu çalışmada, kök kanallarını enfekte etmek için tek bir mikroorganizma kullanılmıştır. Oysa ki gerçek endodontik enfeksiyonlar, genellikle polimikrobiyaldir ve *E.faecalis* diğer mikroorganizmalar ile etkileşime girebilir ve davranışlarını değiştirebilir (Hasheminia, Farhad, Saatchi ve Rajabzadeh, 2013).

Bu tez çalışması *in-vitro* koşullarda gerçekleştirildiği için, gerçek klinik durumları yeterince taklit edememektedir. Endodontik hastalıklarda oluşan kök kanal mikroorganizma profilleri, deneysel olarak oluşturulanlardan daha farklı olabilir ve burada test edilen irrigasyon ajanlarına daha farklı tepki verebilir.

Bu çalışmanın sonuçlarının onaylanması açısından, aynı irrigasyon ajanları kullanılarak *in-vivo* koşullar altında gerçekleştirilen ileri çalışmalara gereksinim vardır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmanın limitasyonları ile birlikte elde edilen bulgular göz önüne alındığında şu sonuçlar çıkarılabilir:

Bu çalışmada kullanılan hiçbir irrigasyon protokolü, deneysel olarak üretilmiş *E. faecalis* biyofilmini %100 yok edememiştir. Yüksek konsantrasyonda uygulanan etidronik asit (%18) ve perasetik asitin (%2) NaOCl ile birlikte kullanıldığı gruplarda en fazla biyofilm eliminasyonu izlenmiştir. Ancak bu oran, %2,5 NaOCl-%1 PAA, %2,5 NaOCl+%9 HEBP, %2,5 NaOCl, %1 PAA, %2 PAA ve %2,5 NaOCl-%17 EDTA gruplarındakilerden istatistiksel olarak farklı değildir.

Etidronik asit ve perasetik asitin sodyum hipoklorit ile birlikte veya ardışık kullanımı sonucu elde edilen bakteri ölüm yüzdesi, NaOCl'nin tek başına kullanımına göre daha yüksektir. Öte yandan, EDTA kullanımı, NaOCl'nin antibakteriyel etkisini düşürmüştür. Ancak aradaki bu sayısal farklar, istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Perasetik asit ve etidronik asitin iki farklı konsantrasyonda kullanımı arasında biyofilm eliminasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Konsantrasyon arttıkça solüsyonların zararlı etkilerinin de artış gösterebilme olasılığı nedeniyle ve bu çalışmanın bulguları göz önüne alınarak, klinik uygulamalarda daha düşük konsantrasyonlar tercih edilebilir.

Kök kanal irrigasyonunda, üstün bir antimikrobiyal özellik gösteren, NaOCl ile negatif etkileşim göstermeyen, yüksek dekalsifikasyon özelliğine sahip, inatçı mikroorganizmalara karşı etkili ve biyouyumlu bir şelasyon ajanı tercih edilmelidir. EDTA'nın NaOCl'nin doku çözücü ve antibakteriyel etkisini azaltıcı potansiyeli ile diğer limitasyonları değerlendirildiğinde ve bu tez çalışmasının bulguları göz önüne alındığında, perasetik asit ve etidronik asit, EDTA'ya alternatif birer şelasyon ajanı olarak düşünülebilir.



KAYNAKLAR

- Al-Ahmad, A., Ameen, H., Pelz, K., Karygianni, L., Wittmer, A., Anderson, A. C., Spitzmuller, B. and Hellwig, E. (2014). Antibiotic resistance and capacity for biofilm formation of different bacteria isolated from endodontic infections associated with root-filled teeth. *Journal of Endodontics*, 40, 223–230.
- Alves, F. R.; Andrade-Junior, C. V., Marceliano-Alves, M. F., Perez, A. R., Rocas, I. N., Versiani, M. A., Sousa-Neto, M. D., Provenzano, J. C. and Siqueira, J. F. Jr. (2016). Adjunctive steps for disinfection of the mandibular molar root canal System: A correlative bacteriologic, micro-computed tomography, and cryopulverization approach. *Journal of Endodontics*, 42, 1667–1672.
- Antunes, H. S., Rocas, I. N., Alves, F. R. and Siqueira, J. F., Jr. (2015). Total and specific bacterial levels in the apical root canal system of teeth with post-treatment apical periodontitis. *Journal of Endodontics*, 41, 1037–1042.
- Antunes, L. C. M., Ferreira, R. B. R., Buckner, M. M. C. and Finlay, B. B. (2011). Quorum sensing in bacterial virulence. *Microbiology*, 156, 2271–2282.
- Arias-Moliz, M. T., Ferrer-Luque C. M., Espigares-Rodríguez, E., Liébana-Ureña, J. and Espigares-García, M. (2008). Bactericidal activity of phosphoric acid, citric acid, and EDTA solutions against *Enterococcus faecalis*. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology Endodontics*, 106, 84–89.
- Arias-Moliz, M. T., Morago, A., Ordinola-Zapata, R., Ferrer-Luque, C. M., Ruiz-Linares, M. and Baca, P. (2016). Effects of dentin debris on the antimicrobial properties of sodium hypochlorite and etidronic acid. *Journal of Endodontics*. 42(5), 771-775.
- Arias-Moliz, M. T., Ordinola-Zapata, R., Baca, P., Ruiz-Linares, M. and Ferrer-Luque, C. M. (2014). Antimicrobial activity of a sodium hypochlorite/etidronic acid irrigant solution. *Journal of Endodontics*. 40, 1999–2002.
- Arias-Moliz, M. T., Ordinola-Zapata, R., Baca, P., Ruiz-Linares, M., García García, E., Hungaro Duarte, M. A., Monteiro Bramante, C. and Ferrer-Luque, C. M. (2015). Antimicrobial activity of Chlorhexidine, Peracetic acid and Sodium hypochlorite/etidronate irrigant solutions against *Enterococcus faecalis* biofilms. *International Endodontic Journal*, 48(12), 1188-1193.
- Baca, P., Junco, P., Arias-Moliz, M. T., González-Rodríguez, M. P and Ferrer-Luque, C. M. (2011). Residual and antimicrobial activity of final irrigation protocols on enterococcus faecalis biofilm in dentin. *Journal of Endodontics*, 37, 363–366.
- Balić, M., Lucić, R., Mehadžić, K., Bago, I., Anić, I., Jakovljević, S. and Plečko, V. (2016). The efficacy of photon-initiated photoacoustic streaming and sonic-activated irrigation combined with QMiX solution or sodium hypochlorite against intracanal *E. faecalis* biofilm. *Lasers in Medical Science*, 31, 335–342.

- Ballal, N. V., Kandian, S., Mala, K., Bhat, K. S. and Acharya, S. (2009). Comparison of the efficacy of maleic acid and ethylenediaminetetraacetic acid in smear layer removal from instrumented human root canal: a scanning electron microscopic study. *Journal of Endodontics*, 35(11), 1573-1576.
- Ballal, N. V., Kandian, S., Mala, K., Bhat, K. S. and Acharya, S. (2009). Comparison of the efficacy of maleic acid and ethylenediaminetetraacetic acid in smear layer removal from instrumented human root canal: a scanning electron microscopic study. *Journal of Endodontics*, 35, 1573-1576.
- Ballal, N. V., Ulusoy, Ö. İ., Chhapparwal, S. and Ginjupalli, K. (2018). Effect of novel chelating agents on the push-out bond strength of calcium silicate cements to the simulated root-end cavities. *Microscopic Research and Technique*, 81(2), 214- 219.
- Basrani, B. and Haapasalo, M. (2012) Update on endodontic irrigating solutions. *Endodontic Topics*, 27, 74.
- Bayram, H. M., Şaklar, F., Bayram, E., Orucoglu, H. ve Bozkurt, A. (2015). Determination of the apical sealing abilities of mineral trioxide aggregate, portland cement, and bioaggregate after irrigation with different solutions. *Journal of International Oral Health*, 7, 13–17.
- Blome, B., Braun, A., Sobarzo, V. and Jepsen, S. (2008). Molecular identification and quantification of bacteria from endodontic infections using real-time polymerase chain reaction. *Oral Microbiology and Immunology*, 23, 384.
- Brook, I. (1986). Encapsulated anaerobic bacteria in synergistic infections. *Microbiological Reviews*, 50, 452.
- Bystrom, A. and Sundqvist, G. (1981). Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scandinavian Journal of Dental Research*, 89, 321–328.
- Byström, A. and Sundqvist, G. (1985). The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *International Endodontic Journal*, 18, 35.
- Byström, A., Claesson, R. and Sundqvist, G. (1985). The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endodontic Dental Traumatology*, 1, 170.
- Calt, S and Serper, A. (2002). Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. *Journal of Endodontics*, 28(1), 17-19.
- Chavez de Paz, L., Svensater, G., Dahlen, G. and Bergenholtz, G. (2005). Streptococci from root canals in teeth with apical periodontitis receiving endodontic treatment. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology*, 100, 232.
- Clegg, M. S, Vertucci, F. C, Walker, C., Belanger, M. and Britto, L. R. (2006). The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentin biofilms in vitro. *Journal of Endodontics*, 32(5), 434-437.

- De Almeida, J., Hoogenkamp, M., T. Felipe, W., Crielaard, W. and Van der Waal, S. (2016). Effectiveness of EDTA and Modified Salt Solution to detach and kill cells from *Enterococcus faecalis* biofilm. *Journal of Endodontics*, 42, 320–323.
- De-Deus, G., Souza, E. M., Marins, J. R., Reis, C., Paciornik, S. and Zehnder, M. (2011). Smear layer dissolution by peracetic acid of low concentration. *International Endodontic Journal*, 44, 485–490.
- De-Deus, G., Zehnder, M., Reis, C., Fidel, S., Fidel, R. A., Galan, J. Jr, Paciornik, S. (2008). Longitudinal co-site optical microscopy study on the chelating ability of etidronate and EDTA using a comparative single-tooth model. *Journal of Endodontics*, 34, 71-75.
- Del Carpio-Perochena, A. E., Bramante, C. M. and Duarte, M.A. (2011). Biofilm dissolution and cleaning ability of different irrigant solutions on intraorally infected dentin. *Journal of Endodontics*, 37, 1134–1138.
- Donlan, R. M. (2000). Role of biofilms in antimicrobial resistance. *American Society for Artificial Internal Organs Journal*, 46, 47-52.
- Donlan, R. M. and Costerton, J.W. (2002) Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*, 15, 167.
- Donlan, R.M. (2001). Biofilm formation: a clinically relevant microbiological process. *Clinical Infectious Diseases*, 33, 1387-1392.
- Du, T., Wang, Z., Shen, Y., Ma, J., Cao, Y. and Haapasalo, M. (2014). Effect of long-term exposure to endodontic disinfecting solutions on young and old *Enterococcus faecalis* biofilms in dentin canals. *Journal of Endodontics*, 40, 509–514.
- Eneide, C., Castagnola, R., Martini, C., Grande, N. M., Bugli, F., Patini, R., Cordaro, M., Sanguinetti, M., Olivi, G., Isola, G. and Marigo, L. (2019). Antibiofilm activity of three different irrigation techniques: An in vitro study, *Antibiotics (Basel)*, 8(3), 9.
- Flach, N., Bottcher, D. E., Parolo, C. C. F., Firmino, L. B., Malt, M., Lammers, M. L. and Grecca, F. S. (2016). Confocal microscopy evaluation of the effect of irrigants on *Enterococcus faecalis* biofilm: An in vitro study, *Scanning*, 38, 57–62.
- Gilmore, M. S. (2002). The Enterococci: pathogenesis, molecular biology, and antibiotic resistance. *Washington, D.C. ASM Press*, 288.
- Girard, S., Paque, F., Badertscher, M., Sener, B. and Zehnder, M. (2005). Assessment of a gel-type chelating preparation containing 1-hydroxyethylidene-1, 1-bisphosphonate. *International Endodontic Journal* 38, 810–816.
- Gomes, B. P., Ferraz, C. C. and Vianna, M. E. (2001). In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *International Endodontic Journal*, 34, 424.

- Gomes, B. P., Pinheiro, E. T., Gadê-Neto, C. R., Sousa, E. L., Ferraz, C. C., Zaia, A. A., Teixeira, F. B. and Souza-Filho, F. J. (2004). Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiology and Immunology*, 19(2), 71-76.
- Gomes, B.P., Souza, S.F., Ferraz, C.C., Teixeira, F.B., Zaia, A.A., Valdrighi, L. and Souza-Filho, F. J. (2003). Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine. *International Endodontic Journal*, 36(4), 267-275.
- Gonçalves, L. F., Fernandes, A. P., Cosme-Silva, L., Colombo, F. A., Martins, N. S., Oliveira, T. M., Araujo, T. H. and Sakai, V.T. (2016). Effect of EDTA on TGF- β 1 released from the dentin matrix and its influence on dental pulp stem cell migration. *Brazilian Oral Research*, 22, 30.
- Grawehr, M., Sener, B., Waltimo, T. and Zehnder, M. (2003). Interactions of ethylenediamine tetraacetic acid with sodium hypochlorite in aqueous solutions. *International Endodontic Journal*, 36(6), 411-417.
- Haapasalo, M. and Orstavik, D. (1987). In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *Journal of Dental Research*, 8, 1375-1379.
- Haapasalo, M., Endal, U., Zandi, H. and Coil, J. M. (2005). Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. *Endodontic Topics*, 10(1), 77-102.
- Haapasalo, M., Shen, Y., Qian, W. and Gao, Y. (2010). Irrigation in endodontics. *Dental Clinics of North America*, 54, 291-312.
- Haapasalo, M., Shen, Y., Qian, W. and Gao, Y. (2014). Irrigation in endodontics. *British Dental Journal*, 216, 299-303.
- Hall-Stoodley, L., Costerton, J. W. and Stoodley, P. (2004). Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nature Reviews Microbiology*, 2, 95.
- Hand, R. E., Smith, M. L. and Harrison, J. W. (1978). Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. *Journal of Endodontics*, 4,60.
- Happonen, R. P. (1986). Periapical actinomycosis: a follow-up study of 16 surgically treated cases. *Endodontics and Dental Traumatology*, 2, 205.
- Hargreaves, K. and Berman, L. (2015). *Cohen's Pathways of the Pulp Expert Consult 11th Edition*. ABD: Elsevier, 599, 614, 622, 252.
- Hartmann, R. C., Neuvald, L., Barth, V., Jr de Figueiredo, J. A. P., de Oliveira, S. D., Scarparo, R. K., Waltrick, S. B. and Rossi-Fedele, G. (2019). Antimicrobial efficacy of 0.5% peracetic acid and EDTA with passive ultrasonic or manual agitation in an *Enterococcus faecalis* biofilm model. *Australian Endodontic Journal*, 45(1), 57-63.

- Hasheminia, S., Farhad, A. R., Saatchi, M. and Rajabzadeh, M. (2013). Synergistic antibacterial activity of chlorhexidine and hydrogen peroxide against *Enterococcus faecalis*. *Journal of Oral Science*, 55, 275-80.
- Hill, P. (1959). Endodontics. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 9, 142.
- Hülsmann, M., Heckendorff, M. and Lennon, A. (2003). Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use. *International Endodontic Journal*, 36, 810.
- Ingle, J. I., Bakland, L. and Baumgartner, J. C. (2008). Ingle's Endodontics 6th ed. BC Decker, 270-285.
- Kakehashi, S., Stanley, H. R. and Fitzgerald, R. J. (1965). The Effects of Surgical Exposures of Dental Pulp in Germ-Free and Conventional Laboratory Rats. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 20, 340-349.
- Kalia, V. (2014). Microbes, antimicrobials and resistance: the battle goes on. *Indian Journal of Microbiology*, 54(1), 1-2.
- Kayaoglu, G. and Ørstavik, D. (2004). Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. *Critical Reviews Oral Biology and Medicine*, 1, 15(5), 308-320.
- Kishen, A. and Haapasalo, M. (2010). Biofilm models and methods of biofilm assessment. *Endodontic Topics*, 22(1), 58-78.
- Kumari, M. C., Punia, S. K., Punia, V. (2012). Root canal irrigants and irrigation techniques: A review part 1. *Indian Journal of Dental Sciences*, 3(4), 91-94.
- Lambrianidis, T., Margelos, J. and Beltes, P. (1999). Removal efficiency of calcium hydroxide dressing from the root canal. *Journal of Endodontics*, 25(2), 85-88.
- Laplace, J. M., Thuault, M., Hartke, A., Boutibonnes, P. and Auffray, Y. (1997). Sodium hypochlorite stress in *Enterococcus faecalis*: influence of antecedent growth conditions and induced proteins. *Current Microbiology*, 34(5), 284-289.
- Lensing, H. H. and Oei, H. L. (1985). Investigations on the sporicidal and fungicidal activity of disinfectants. *Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. I. Abt. Originale B, Hygiene*, 181, 487-495.
- Li, Y-H. and Tian, X. (2012). Quorum sensing and bacterial social interactions in biofilms. *Sensors (Basel)*, 12, 2519-2538.
- Licata, A. A. (1993). From bathtub ring to osteoporosis: a clinical review of the bisphosphonates. *Cleveland Clinic Journal of Medicine* 60, 284-290.
- Lin, J., Shen, Y. and Haapasalo, M. (2013). Comparative study of biofilm removal with hand, rotary nickel-titanium, and self-adjusting file instrumentation using a novel in vitro biofilm model. *Journal of Endodontics*, 39(5), 658-663.

- Lottanti, S., Gautschi, H., Şener, B. and Zehnder, M. (2009). Effects of ethylenediaminetetraacetic, etidronic and peracetic acid irrigation on human root dentine and smear layer. *International Endodontic Journal*, 42, 335-343.
- Lynch, S. A. and Robertson, T. G. (2008). Bacterial and fungal biofilm infections. *Annual Review of Medicine*, 59, 415-428.
- Ma, J., Wang, Z., Shen, Y. and Haapasalo, M. (2011). A new noninvasive model to study the effectiveness of dentin disinfection by using confocal laser scanning microscopy. *Journal of Endodontics*, 37, 1380-1385.
- Mah, T. F. and O'Toole, G.A. (2001). Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends in Microbiology*, 9, 34.
- Majumdar, S. and Pal, S. (2017). Cross-species communication in bacterial world. *Journal of Cell Communication and Signaling*, 11, 187-190.
- Marabini, L., Frigerio, S., Chiesara, E. and Radice, S. (2006). Toxicity evaluation of surface water treated with different disinfectants in HepG2 cells. *Water Research*, 40, 267-272.
- Marsh, P. D. (2005). Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style. *Journal of Clinical Periodontology*, 32, 7.
- Martell, A. E. and Motekaitis, R. J. (1992). Determination and use of stability constants. *New York: John Wiley & Sons*.
- McHugh, C. P., Zhang, P., Michalek, S. and Eleazer, P. D. (2004). pH required to kill *Enterococcus faecalis* in vitro. *Journal of Endodontics*, 30, 218-219.
- Migliorati, C. A., Schubert, M. M., Peterson, D. E. and Seneda, L. M. (2005). Bisphosphonate-associated osteonecrosis of mandibular and maxillary bone: an emerging oral complication of supportive cancer therapy. *Cancer*, 104, 83-93.
- Mohammadi, Z. (2008): Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. *International Dental Journal*, 58, 329.
- Molander, A., Reit, C., Dahlen, G. and Kvist, T. (1998). Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *International Endodontic Journal* 31, 1.
- Moorer, W. R. and Wesselink, P. R. (1982). Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite. *International Endodontic Journal* 15, 187.
- Nair, P. N., Henry, S., Cano, V. and Vera, J. (2005). Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, Endodontics*. 99, 231.

- Neelakantan, P., Romero, M., Vera, J., Daood, U., Khan, A. U., Yan, A. and Cheung, G. S. P. (2017). Biofilms in endodontics-current status and future directions. *International Journal of Molecular Science*, 11, 18(8).
- Oliveira, D. P., Barbizam, J. V., Trope, M. and Teixeira, F. B. (2007). In vitro antibacterial efficacy of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis*. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics*, 103,702-706.
- Ordinola-Zapata, R., Bramante, C. M., Aprecio, R. M., Handysides, R. and Jaramillo, D. E. (2014). Biofilm removal by 6% sodium hypochlorite activated by different irrigation techniques. *International Endodontic Journal*,47, 659–666.
- Ordinola-Zapata, R., Bramante, C. M., Garcia, R. B., de Andrade, F. B., Bernardineli, N., de Moraes, I. G. and Duarte, M. A. (2013). The antimicrobial effect of new and conventional endodontic irrigants on intra-orally infected dentin. *Acta Odontologica Scandinavica*, 71, 424–431.
- Paiva, S. S., Siqueira Jr, J. F. and Rôças, I. N. (2013). Molecular microbiological evaluation of passive ultrasonic activation as a supplementary disinfecting step: a clinical study. *Journal of Endodontics*, 39, 190.
- Paque, F., Rechenberg, D. K. and Zehnder, M. (2012). Reduction of hard-tissue debris accumulation during rotary root canal instrumentation by etidronic acid in a sodium hypochlorite irrigant. *Journal of Endodontics*, 38, 692–695.
- Park, E., Haapasalo, M. and Shen, Y. (2012). Irrigation of the apical root canal. *Endodontic Topics*, 27, 54–73.
- Parmar, D., Hauman, C. H. and Leichter, J. W. (2011). Bacterial localization and viability assessment in human ex vivo dentinal tubules by fluorescence confocal laser scanning microscopy. *International Endodontic Journal*, 44, 644–651.
- Passos da Silva, D., Schofield M. C., Parsek, M. R. and Tseng, B.S. (2017). An update on the sociomicrobiology of quorum sensing in gram- negative biofilm development *Indian Journal of Microbiology*, 59(1), 3–12.
- Patterson, S. S. (1963). *In vivo* and *in vitro* studies of the effect of the disodium salt of ethylenediamine tetra-acetate on human dentine and its endodontic implications. *Oral Surgery Oral Medicine and Oral Pathology*, 16, 83–103.
- Peters, O. A., Boessler, C. and Zehnder, M. (2005). Effect of liquid and paste-type lubricants on torque values during simulated rotary root canal instrumentation. *International Endodontic Journal*, 38, 223–229.
- Peterson, B. W., He, Y., Ren, Y., Zerdoum, A., Libera, M. R., Sharma, P. K., van Winkelhoff, A. J., Neut, D., Stoodley, P. and van der Mei, H. C. (2015). Viscoelasticity of biofilms and their recalcitrance to mechanical and chemical challenges. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Reviews*, 39, 234–245.

- Portenier, I., Waltimo, T., Orstavik, D., Haapasalo, M. (2005). The susceptibility of starved, stationary phase, and growing cells of *Enterococcus faecalis* to endodontic medicaments. *Journal of Endodontics*, 31, 380–386.
- Provenzano, J. C., Siqueira, J. F., Jr., Rocas, I. N., Domingues, R. R., Paes Leme, A. F. and Silva, M. R. (2013). Metaproteome analysis of endodontic infections in association with different clinical conditions. *Plos One*, 8, 76-108.
- Ricucci, D. and Siqueira Jr, J. F. (2010). Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *Journal of Endodontics*, 36, 1277.
- Rocas, I. N., Siqueira, J. F. and Santos, K. R. N. (2004). Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *Journal of Endodontics*, 30, 315–320.
- Russell, R. G. and Rogers, M. J. (1999). Bisphosphonates: from the laboratory to the clinic and back again. *Bone*, 25, 97–106.
- Saboia Dantas, C. F., Coutrin de Toledo, L. F., Sampaio-Filho, H. R. and Siqueira Jr, J. F. (2007). Herpesviruses in asymptomatic apical periodontitis lesions: an immunohistochemical approach. *Oral Microbiology and Immunology*, 22:320.
- Sagripanti, J. L. and Bonifacino, A. (2000). Cytotoxicity of liquid disinfectants. *Surgical Infections* 1, 3–14.
- Satpathy, S., Sen, S. K., Pattanaik, S. and Raut S. (2016). Review on bacterial biofilm: an universal cause of contamination. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 7, 56–66.
- Saxena, P., Joshi, Y., Rawat, K. and Bisht, R. (2019). Biofilms: Architecture, Resistance, Quorum Sensing and Control Mechanisms. *Indian Journal of Microbiology*, 59(1), 3–12.
- Senia, E. S., Marshall, F. J. and Rosen, S. (1971). The solvent action of sodium hypochlorite on pulp tissue of extracted teeth. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology*, 31, 96.
- Siqueira Jr, J. F., Ørstavik, D. and Pitt Ford, T. (2008). Microbiology of apical periodontitis. *Essential endodontology* (2. edition) Munksgaard Oxford, UK: Blackwell, 135.
- Siqueira, J. F., Jr. (2005). Reaction of periradicular tissues to root canal treatment: benefits and drawbacks. *Endodontic Topics*, 10, 123.
- Sonja, S., Shen, Y. and Maapasalo, M. (2013). Effect of the Source of Biofilm Bacteria, Level of Biofilm Maturation, and Type of Disinfecting Agent on the Susceptibility of Biofilm Bacteria to Antibacterial Agents *Journal of Endodontics*, 39, 473–477.

- Spångberg, L., Engström, B. and Langeland, K. 1973. Biologic effects of dental materials. 3. Toxicity and antimicrobial effect of endodontic antiseptics in vitro. *Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology*, 36, 856.
- Stewart, P. S. and Costerton, J. W. (2001). Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet*, 358, 135.
- Suchomel, M., Lenhardt, A., Kampf, G. and Grisold, A. (2019). Enterococcus hirae, Enterococcus faecium and Enterococcus faecalis show different sensitivities to typical biocidal agents used for disinfection. *Journal of Hospital Infection*. 6701(19), 30345-30347.
- Svensater, G. and Bergenholtz, G. (2004). Biofilms in endodontic infections. *Endodontic Topics*, 9, 27– 36.
- Taneja, S., Kumari, M. and Anand, S. (2014). Effect of QMix, peracetic acid and ethylenediaminetetraacetic acid on calcium loss and microhardness of root dentine. *Journal of Conservative Dentistry*, 17(2), 155-158.
- Tartari, T., de Almeida Rodrigues Silva E Souza, P., Vila Nova de Almeida, B., Carrera Silva Júnior, J. O., Facíola Pessoa, O., Silva E Souza Junior, M. H. (2013). A new weak chelator in endodontics: effects of different irrigation regimens with etidronate on root dentin microhardness. *International Journal of Dentistry*, 743018.
- Tartari, T., Guimaraes, B. M., Amoras, L. S., Duarte, M. A. H., Silva e Souza, P. A. R. and Bramante, C. M. (2015). Etidronate causes minimal changes in the ability of sodium hypochlorite to dissolve organic matter. *International Endodontic Journal*, 48, 399–404.
- Thomas, R. Z., Ruben, J. L., ten Bosch, J. J., Huysmans, M. C. (2007). Effect of ethylene oxide sterilization on enamel and dentin demineralization in vitro. *Journal of Dentistry*, 35(7), 547-551
- Tronstad, L. and Sunde, P. T. (2003). The evolving new understanding of endodontic infections. *Endodontic Topics*, 6, 57.
- Uludağ Altun, H. ve Şener, B. (2008). Biyofilm infeksiyonları ve antibiyotik direnci. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 39, 82-88.
- Ulusoy, Ö. İ., Savur, İ. G., Alaçam, T. ve Çelik, B. (2018). The effectiveness of various irrigation protocols on organic tissue removal from simulated internal resorption defects. *International Endodontic Journal*, 51, 1030–1036.
- Ulusoy, Ö. İ., Zeyrek, S. ve Çelik, B. (2017). Evaluation of smear layer removal and marginal adaptation of root canal sealer after final irrigation using ethylenediaminetetraacetic, peracetic and etidronic acids with different concentrations. *Microscopic Research and Technique*. 80, 687–692.

- Van Acker, H., Van Dijck, P. and Coenye, T. (2014). Molecular mechanisms of antimicrobial tolerance and resistance in bacterial and fungal biofilms. *Trends in Microbiology*, 22, 326–333.
- Vera , P. N. M. R. J., Daood , U., Khan , A. U., Yan, A., Shun ,G. and Cheung, P. (2017). Biofilms in Endodontics—Current Status and Future Directions *International Journal of Molecular Science*, 18, 1748.
- Vianna, M. E., Horz, H.P., Gomes, B.P. and Conrads, G. (2006). In vivo evaluation of microbial reduction after chemo-mechanical preparation of human root canals containing necrotic pulp tissue. *International Endodontic Journal*, 39, 484.
- Wang, J., Zhao, S., Ran, S. J., Sun, Z. and Liang, J. P. (2019). In vitro study of antimicrobial efficacy of different irrigations on *Enterococcus faecalis* biofilm formation in root canal. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*, 28(3), 246-250.
- Windley ,W., Ritter, A. and Trope, M. (2003). The effect of short-term calcium hydroxide treatment on dentin bond strengths to composite resin. *Dental Traumatology*, 19(2), 79- 84.
- Yıldırım, T., Oruçoğlu, H. ve Çobankara, F. K. (2008). Long-term evaluation of the influence of smear layer on the apical sealing ability of MTA. *Journal of Endodontics*, 34, 1537–1540.
- Zand, V., Lotfi, M., Rahimi, S., Mokhtari, H., Kazemi, A. and Sakhamanesh, V. (2010). A comparative scanning electron microscopic investigation of the smear layer after the use of sodium hypochlorite gel and solution forms as root canal irrigants. *Journal of Endodontics*, 36, 1234.
- Zapata, R. O., Bramante, C. M. and de Moraes, I. G. (2008). Confocal laser scanning microscopy is appropriate to detect viability of *Enterococcus faecalis* in infected dentin. *Journal of Endodontics*, 34, 1198–1201.
- Zaura-Arite, E., van Marle, J. and ten Cate, J. M. (2001). Confocal microscopy study of undisturbed and chlorhexidine-treated dental biofilm. *Journal of Dental Research*, 80, 1436–1440.
- Zehnder, M. (2006). Root canal irrigants. *Journal of Endodontics*, 32, 389–398.
- Zehnder, M., Schmidlin, P., Sener, B. and Waltimo, T. (2005). Chelation in root canal therapy reconsidered. *Journal of Endodontics*, 31, 817–820.



EKLER

Ek-1. Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 18/07/2018-E.28962



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Diş Hekimliği Fakültesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu



Sayı : 21071282-050.99-
Konu : Etik Kurul Hk.

Sayın Doç. Dr. Özgür İlke ATASOY ULUSOY
ENDODONTİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna, etik açıdan değerlendirmek üzere göndermiş olduğunuz "Kök Kanallarında Farklı Konsantrasyonlarda Kullanılan Etidronik Asit, Perasetik Asit ve Etilendiamintetraasetik asitin Enterococcus Faecalis Biyofilmlerine Etkisi" konulu çalışma, Etik Kurulumuz tarafından incelenmiş ve araştırma etiği açısından uygun bulunmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Nur MOLLAOĞLU
Kurul Başkanı

Ek:Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu (3 Sayfa)/Elden Teslim Edilecektir.

12/07/2018 Birim Evrak Sorumlusu

ŞAHİNDE TEMİREL



Evrakı Doğrulamak İçin: <https://belgedogrulama.gazi.edu.tr>
Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Bişkek Cad. No:4 kat I Emek/Ankara
Tel:0 (312) 203 40 00 Faks:0 (312) 223 92 26

Pin: 81422
Bilgi için :ŞAHİNDE TEMİREL
Birim Evrak Sorumlusu

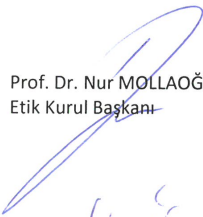
Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

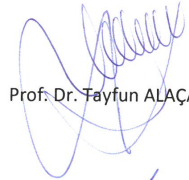
Ek-1. (devam) Etik Kurul Onayı

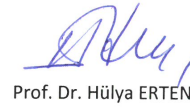
T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR VE ETİK KURUL KARARI

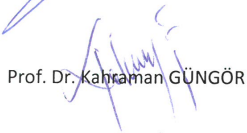
Toplantı Tarihi : 12.07.2018
Toplantı No : 3
Karar Sayısı : 1

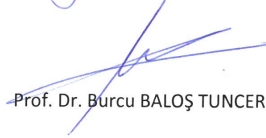
Karar No 2: Doç. Dr. Özgür İlke ATASOY ULUSOY tarafından gönderilen "Kök Kanallarında Farklı Konsantrasyonlarda Kullanılan Etidronik Asit, Perasetik Asit ve Etilediamintetraasetik asitin Enterococcus Faecalis Biyofilmlerine Etkisi" konulu çalışmanın kabulüne mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.


Prof. Dr. Nur MOLLAOĞLU
Etik Kurul Başkanı

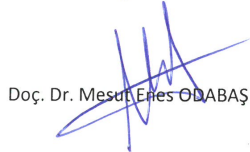

Prof. Dr. Tayfun ALAÇAM


Prof. Dr. Hülya ERTEN


Prof. Dr. Kahraman GÜNGÖR


Prof. Dr. Burcu BALOŞ TUNCER

Prof. Dr. Şebnem GÜLEN
(Katılmadı)


Doç. Dr. Mesut Eres ODABAŞ


Doç. Dr. Ferhan EĞİLMEZ

Doç. Dr. Orhan Mecit ULUDAĞ
(Katılmadı)

Doç. Dr. Benay YILDIRIM
(Katılmadı)


Doç. Dr. Burcu ÖZDEMİR


Uzman Dr. Hakan TÜZÜN


Gökhan TÜRE


İlker YAVUZ

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Soyadı, Adı : ZEYREK Salev
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 05.06.1992 Ankara
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : 0 532 315 58 36
 E-posta : salev.zeyrek@gmail.com



Eğitim derecesi

Okul/Program

Mezuniyet yılı

Doktora	Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı	Devam Ediyor
Lisans	Yakın Doğu Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2015
Lise	ODTÜ Geliştirme Vakfı Özel Lisesi	2010

İş Deneyimi, Yıl

Çalıştığı Yer

Görev

2019 – devam ediyor	Dentics Diş Kliniği	Diş Hekimi
2018 – 2019	Primadent Ağız Diş Sağlığı ve İmplantoloji Kliniği	Diş Hekimi
2016 – 2018	Dentanest Ağız ve Diş Sağlığı Merkezi	Diş Hekimi

Yabancı Dili

İngilizce

Yayınlar

1. Ulusoy, Ö. İ., Zeyrek, S. ve Çelik ,B. (2017). Evaluation of smear layer removal and marginal adaptation of root canal sealer after final irrigation using ethylenediaminetetraacetic, peracetic and etidronic acids with different concentrations. *Microscopic Research and Technology*, 80, 687–692.
2. Ulusoy, Ö. İ., Zeyrek, S. (2016). Kök kanal preparasyonunun hedefleri ve kullanılan aletler. *Türkiye Klinikleri J Endod-Special Topics*, 2(3):1-11.

Hobiler

Gitar, piyano ve bateri, yoga, snowboard/kayak, rüzgar sörfü, tenis, İtalyan mutfağı.



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR...

