



TC.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI ENDODONTİK İRRİGASYON SOLÜSYONLARININ
E.faecalis BİYOFİLMİ ÜZERİNDEKİ ANTİBAKTERİYEL
ETKİNLİKLERİNİN *In vitro* OLARAK İNCELENMESİ

Dt. Özge GÜNGÖR TUNÇBİLEK

ENDODONTİ ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ

Kasım 2018

BOLU



TC.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI ENDODONTİK İRRİGASYON SOLÜSYONLARININ
E.faecalis BİYOFİLMİ ÜZERİNDEKİ ANTİBAKTERİYEL
ETKİNLİKLERİNİN *In vitro* OLARAK İNCELENMESİ

Dt. Özge GÜNGÖR TUNÇBİLEK

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi İsmail ÖZKOÇAK

ENDODONTİ ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ

Kasım 2018

BOLU

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
Tez Onay Belgesi

Tezin Başlığı : Farklı Endodontik İnfüzyon Solüsyonlarının Efficacies Blyofismi Üzerindeki Antibakteriyel Etkinliklerinin İn Vitro Olarak İncelenmesi

Tezin Savunma Tarihi : 12.11.2018

Tezin Danışmanı : Dr. Öğr. Üyesi İSMAIL ÖZKOÇAK

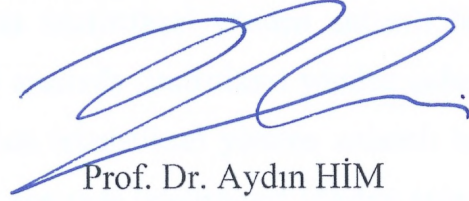
Jüri Başkanı : Prof. Dr. Hakan OKUZOĞLU

Üye : Dr. Öğr. Üyesi İsmail ULUN

Üye : Dr. Öğr. Üyesi İsmail ÖZKOÇAK

DEKANLIK ONAYI

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.


Prof. Dr. Aydın HİM

DEKAN V.

ÖZET

Bu çalışmanın amacı; klor içermeyen farklı solüsyonların; kök kanallarındaki *E. faecalis*'e karşı etkilerini incelemek ve bu solüsyonların etkinliklerini endodontik tedavide en sık kullanılan solüsyonlar olan NaOCl, CHX ve EDTA ile *in-vitro* olarak incelemektir.

Çalışmamızda 120 adet mandibular premolar diş kullanıldı. Dişlerin kronları uzaklaştırılarak 15 mm uzunluğunda kök kanalları elde edildi. Kök kanalları ProTaper Next X3 numaralı eğeye kadar şekillendirildi. Tüm kökler otoklavda sterilize edildi. Negatif kontrol grubu haricindeki tüm örnekler *E. faecalis* ile kontamine edildi ve 7 günlük inkübasyona bırakıldı. Dişler rastgele 6 deney ve 2 kontrol grubuna ayrıldı (n=15). Grup 1: pozitif kontrol grubu, grup 2: negatif kontrol grubu; grup 3: % 5.25'lik NaOCl; grup 4: %17'lik EDTA, grup 5:%2'lik CHX; grup 6: Doctor Mady Bitkisel Çamaşır Suyu; grup 7: Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu, grup 8: Seventh Generation Klorsüz Çamaşır Suyu. Dezenfeksiyon işlemi sırasında steril paper pointler ile yüzey sürüntüsü ve steril ProTaper Next X3 eğeleri yardımı ile dentin talaşı alınarak steril ependorf tüpü içindeki besi yerine yerleştirildi ve tekrar inkübe edildi. 24 saat sonraki bakteriyel üreme miktarları (CFU) belirlendi ve istatistiksel analizler Tek yönlü varyans analizi, post-hoc Tukey HSD testi ile yapıldı.

Pozitif kontrol grubu ile grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. Grup 3, 5 ve 7 arasında istatistiksel yönden anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Grup 5 ve grup 3, 7 ve 8 arasında istatistiksel yönden anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Grup 6 ve 8 arasında istatistiksel yönden anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Grup 7 ve grup 3, 5 ve 8 arasında istatistiksel yönden anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Grup 8 ve grup 5, 6 ve 7 arasında istatistiksel yönden anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Negatif kontrol grubu, grup 3 ve 5 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (p>0.05).

NaOCl, EDTA, CHX, Doctor Mady Bitkisel Çamaşır Suyu, Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu, Seventh Generation Klorsüz Çamaşır Suyu bakteri sayısında azalmaya neden olmuştur. NaOCl, CHX ve Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu

arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmazken NaOCl en yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahiptir.

Anahtar Kelimeler: klorsuz çamaşır suyu, *E. faecalis*, irrigasyon, ısrarcı enfeksiyon, serbest aktif klor



ABSTRACT

The aim of this study is to investigate the antimicrobial effects of different chlorine-free solutions on the *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) in the root canal and the efficacy of these solutions is examined *in-vitro* with NaOCl, CHX and EDTA, the most commonly used solutions in endodontic treatment.

One hundred twenty mandibular premolar teeth were used. The teeth were decoronated in order that each tooth had a standardized length of 15mm. The root canals were prepared ProTaper Next files up to size X3. All the roots were sterilized in the autoclave. All samples except negative control contaminated with an *E. faecalis* suspension and incubated for 7 days. Teeth were randomly divided into 6 experimental groups and two control groups (n = 15). Group 1: positive control; group 2: negative control group; group 3: 5.25% NaOCl; group 4: 17% EDTA, group 5: 2% CHX; group 6: Doctor Mady Herbal Laundry Bleach; group 7: Green Clean Herbal Bleach, group 8: Seventh Generation Chlorine-free Bleach. After disinfection, samples were taken by ProTaper Next X3 files and paper points then placed in the medium in the sterile ependorf tube and reincubated. Bacterial growth rates (CFU) were determined after 24 hours and statistical analyzes were performed with One-Way ANOVA and post-hoc Tukey HSD tests.

There was no statistically significant difference between positive control group and group 4. There was no statistically significant difference between groups 3, 5 and 7. There was no statistically significant difference between group 5 and group 3, 7 and 8. There was no statistically significant difference between groups 6 and 8. There was no statistically significant difference between groups 3 and 5 and 8. There was no statistically significant difference between groups 8 and 5, 6 and 7. There was no statistically significant difference between the negative control group and groups 3 and 5 ($p > 0.05$)

NaOCl, EDTA, CHX, Doctor Mady Herbal Bleach, Green Clean Herbal Bleach, Seventh Generation Chlorine- Free Bleach caused a decrease in the number of bacteria. NaOCl has the highest antimicrobial activity while there is no statistically significant difference between NaOCl, CHX and Green Clean Herbal Bleach.

Keywords: chlorine-free bleach, *E. faecalis*, irrigation, persistent infection, free active chlorine



TEŞEKKÜR

Uzmanlık öğrenimim boyunca yardım, destek ve deneyimlerini esirgemeyen, çalışmak istediğim her konuda beni motive eden, tezimin oluşmasında ve hazırlanmasında büyük desteğini gördüğüm, her zaman anlayış ve hoşgörüsüyle yanımda olan, bilgi ve tecrübesiyle desteğini hiç esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Doktor Öğretim Üyesi İsmail Özkoçak ‘a,

Uzmanlık eğitimim süresince, bilgi ve deneyimlerini hiç esirgmeden paylaşan Sayın Doktor Öğretim Üyesi Hakan Göktürk’e,

Mikrobiyoloji deneylerindeki yardımlarından dolayı Sayın Öğretim Görevlisi Şebnem Kurhan’a,

İstatistiksel analizdeki yardımlarından dolayı Doktor Öğretim Üyesi Osman Demir’e,

Uzmanlık öğrenimim süresince iyi-kötü her günümde yanımda olan, bulunduğum çalışma ortamını ve Bolu’yu daha yaşanılabilir yapan anabilim dalımızdaki tüm arkadaşlarıma,

Bütün öğretim hayatım boyunca hep yanımda olduklarını bildiğim, maddi manevi desteklerini arkamda hissettiğim, karşılıksız sevgi ve fedakarlıklar ile beni bu günlere getiren, her zaman beni gönülden destekleyen sevgili annem Fatma Güngör, babam Mustafa Güngör, kardeşim Ufuk Güngör’e

İyi niyeti ve sonsuz sabrıyla her zaman yanımda olan, varlığıyla bana güç veren, her adımda desteğini hissettiğim yol arkadaşım, sevgili eşim Mert Tunçbilek’e,

En içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar	x
ŞEKİLLER	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1 Kök Kanallarına Bakteri İnvazyonu.....	4
2.2 Kök Kanal Mikrobiyolojisi.....	6
2.3 Biyofilm	9
2.4 Endodontik Biyofilm Oluşum Mekanizması	10
2.4.1Endodontik Biyofilmler	11
2.4.1.1İntrakanal Mikrobiyal Biyofilmler	11
2.4.1.2 Ekstraradiküler Biyofilm	11
2.4.1.3 Periapikal Biyofilm	11
2.4.1.4 Yabancı Cisim Merkezli Biyofilm	12
2.5 Enterokoklar.....	12
2.5.1 <i>E. Faecalis</i> 'in Özellikleri.....	12
2.6 Kök Kanal İrrigasyon ve Dezenfeksiyonu.....	14
2.7 Kök Kanal Tedavisi Sırasında Kullanılan İrrigasyon Solüsyonları.....	16
2.7.1 Sodyum hipoklorit (NaOCl)	16
2.7.2 EDTA.....	20
2.7.3 Klorheksidin.....	21
2.7.4 Sitrik asit.....	22
2.7.5 MTAD	23
2.7.6 QMix.....	23
2.7.7 Tetraclean	24
2.7.8 Yeşil Çay	24
2.7.9 Kitosan.....	25

2.7.10 Propolis	25
2.8 Kök Kanal Mikroflorasını İncelemek İçin İn Vitro Bakteriyel Biyofilm Modelleri	26
2.9 Biyofilm analizleri	31
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	34
3.1 Örnek Seçimi ve Hazırlanması	34
3.2 Kök Kanallarına Bakteriyel İnokülasyonu	36
3.3 Deneysel Prosedürler	38
3.4 Mikrobiyolojik İşlemler	42
4.BULGULAR	43
5.TARTIŞMA	51
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	58
7.KAYNAKLAR	59
8.EKLER.....	71
9.ÖZGEÇMİŞ.....	72

TABLÖLAR

TABLO SAYFA

Tablo 3.1: Deney ve kontrol grubundaki örneklerin dağılımı..... 38

Tablo 4. 2: *E.faecalis* ile kontamine edilmiş diş köklerinde, gruplardaki dezenfeksiyon işlemleri sonrası sayılan ortalama bakteri koloni miktarları (cfu/mL)..... 44



ŞEKİLLER

Şekil 2.1: Pulpa-dentin kompleksinin bakteriyel invazyonunun potansiyel yollarını ve klinik sonuçlarını gösteren temsili diyagram.	5
Şekil 2.2: Kök kanalının farklı bölgelerinde ekolojik koşullar. (21)	6
Şekil 2.3: Biyofilm Oluşumun Aşamaları.....	10
Şekil 2.4: Entrococcus faecalis SEM görüntüsü (42).....	13
Şekil 2.5: Modifiye Robins Cihazı şematik görünümü(85)	30
Şekil 2.6: Mikroakışkan Cihaz(86).	31
Şekil 3.7: ProTaper Next Eğeleri	35
Şekil 3.8: Eppendorf tüpüne yerleştirilip sterilize edilen örnek.....	36
Şekil 3.9: <i>E. faecalis</i> (ATCC 29212) suşu	36
Şekil 3.10: %5,25'lik NaOCl solüsyonu.....	39
Şekil 3.11: %17'lik EDTA solüsyonu	39
Şekil 3.12: %2 'lik CHX solüsyonu.....	40
Şekil 3. 13: Doctor Mady Organik Çamaşır Suyu	40
Şekil 3.14: Green Clean Organik Çamaşır Suyu.....	41
Şekil 3.15: Seventh Generation Klorsuz Çamaşır Suyu.....	41
Şekil 4.17: Deney ve kontrol gruplarındaki mikroorganizma (<i>E.faecalis</i>) miktarlarının dağılımı	43
Şekil 4. 18:Pozitif kontrol grubundan rastgele seçilen bir örneğin besiyeri üzerindeki <i>E. faecalis</i> görüntüleri.	45
Şekil 4. 19: Negatif kontrol grubundan rastgele seçilen bir örneğin besiyeri üzerindeki	45
Şekil 4. 20: EDTA grubundan rastgele seçilen bir örneğin besiyeri üzerindeki <i>E. faecalis</i> görüntüleri.....	47
Şekil 4. 21: CHX grubundan rastgele seçilen bir örneğin besiyeri üzerindeki <i>E. faecalis</i> görüntüleri.....	48

Şekil 4. 22: Doctor Mady grubundan rastgele seçilen bir örneğin besiyeri üzerindeki <i>E. faecalis</i> görüntüleri.	48
Şekil 4. 23: Green Clean grubundan rastgele seçilen bir örneğin besiyeri üzerindeki <i>E. faecalis</i> görüntüleri.	49
Şekil 4. 24: Seventh Generation grubundan rastgele seçilen bir örneğin besiyeri üzerindeki <i>E. faecalis</i> görüntüleri.	50



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	Santigrat derece
µm	Mikrometre
µL	Mikrolitre
cm	Santimetre
gr+	Gram pozitif
gr-	Gram negatif
mm	Milimetre

Kısaltmalar

Ark.	arkadaşları
BHI	Brain Heart Infusion
CFU	Colony forming unit
CHX	Klorheksidin
CLSM	Konfokal Laser Taramalı Mikroskobu
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
EGCG	Epigallocatechin gallate
EPS	Glikokaliks
FAC	Serbest aktif klor
HOCl	Hipokloröz asit

MBEC	Minimal Biyofilm Eradikasyon Konsantrasyonu
MTAD	Mixture of tetracycline acid detergent
MTP	Mikrotitreşimli Plak
NaOCl	Sodyum hipoklorit
OCl-	Hipoklorit
PALM	Foto Aktive Lokalizasyon Mikroskobu
PCA	Parakloroanilin
ROS	Reaktif oksijen ürünleri
SH	Sülhidril
SIM	Yapısal İlluminasyon Mikroskobu
STED	Uyarılmış Emisyon Azaltımı
TEM	Taramalı Elektron Mikroskobu

1.GİRİŞ

Pulpa ve periapikal dokuları etkileyen patolojik değişikliklerin başlamasında ve ilerlemesinde mikrobiyal etiyoloji önemli bir yere sahiptir. Kök kanal sisteminin mekanik debridmanı ve temizlenmesi, irrigant kullanımı, kök kanal sisteminin doldurulması ve mikrobiyal kontrol endodontik tedavilerin sonuçlarını etkileyen temel faktörlerdir. Kök kanal sisteminin karmaşık anatomisi (örneğin, ismusların, aksesuar kanalların ve dentin tübüllerinin varlığı), kök kanal sisteminin geleneksel temizliğinden sonra bakterilerin hayatta kalmasına neden olur. Mekanik kök kanal temizleme tek başına bakteri sayısını 100 ila 1000 kat azaltabilir; bununla birlikte bakterileri kök kanal sisteminden tamamen ortadan kaldıramaz (1, 2).

Planktonik mikroorganizmalar uygun klinik işlemlere duyarlıdır. Ancak; kök kanal sistemindeki serbest dolaşan mikroorganizmalar birbirine yapışabilir ve olgun biyofilmler oluşturabilir. Biyofilmler, tanım olarak, birbirine yapışan ve / veya yüzeylere veya ara yüzeylere yapışan kendi kendine üretilen polimerik bir matris içine gömülmüş, bakteri hücrelerinin yapılandırılmış topluluğudur (3). Olgun biyofilmlerdeki bakteriler, antimikrobiyal ajanlara doğal olarak direnç gösterirler, bu da kök kanal sistemindeki biyofilmleri yok etmeyi zorlaştırır. Kök kanal tedavisinin amacı, kök kanal sisteminden mikrobik biyofilmleri ortadan kaldırarak apikal periodontitisi önlemek ve tedavi etmektir. Mevcut temizleme ve şekillendirme teknikleri tek başına bakterisiz bir kök kanalı sağlayamaz ve bu nedenle bakteri sayısını ve bunların toksik yan ürünlerini azaltmaya yardımcı olmak için kimyasal bir irrigasyon gereklidir (4, 5).

Kemomekanik preparasyona karşı oldukça dirençli olan *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) fakültatif gram-pozitif anaerobik mikroorganizma olup, genellikle kök kanal tedavisinin başarısızlık vakalarında izole edilir (6). Bir çalışmada, *E. faecalis*'in primer endodontik enfeksiyonların %18' inden ve endodontik başarısızlık vakalarının %67'sinden izole edildiği gösterilmiştir (1). *E.faecalis* yetersiz beslenme koşullarında hayatta kalma yeteneğine sahiptir ve tek bir mikroorganizma olarak yaşayabilir. *E.faecalis* biyofilm oluşturabilir. Bakteriyal biyofilm, bu mikroorganizma tarafından ekstraselüler polimerik matrisin oluşması nedeniyle geleneksel irrigantlara karşı

oldukça dirençlidir. Ayrıca, bakteriyel biyofilm bakterileri bağışıklık sisteminden korur ve besin sağlar; sonuçta, mikroorganizmaların direncini artırır (2).

İrrigantlar; gevşek debris temizlemek, dentin duvarlarını kayganlaştırmak, kanaldaki organik maddeyi çözmek ve antimikrobiyal etki için endodontik tedavi sırasında kullanılır. Temizleme ve dezenfeksiyon prosedürleri, büyük ölçüde irrigantların mekanik ve kimyasal etkilerine bağlıdır. İrrigasyon sırasında mekanik etkiler, kök kanalındaki irrigasyon solüsyonunun akışı ve geri akışı ile üretilir. Kullanılan irrigasyon türünden bağımsız olarak, kök kanalındaki bakteri popülasyonu, irrigasyonun mekanik etkileri ile önemli ölçüde azalır (7).

Sodyum hipoklorit (NaOCl) geniş antimikrobiyal etkinliğe sahip en yaygın olarak kullanılan irrigasyon solüsyonudur. Vejetatif bakterileri, sporla üreyen bakterileri, mantarları, protozoaları ve virüsleri (HIV, rotavirüs, HSV-1 ve -2 ve hepatit A ve B virüsleri dahil) hızla öldürebilir. NaOCl, endodontide irrigasyon solüsyonu olarak yaygın bir şekilde kullanılmasına rağmen, sitotoksiktir ve klinik açıdan çeşitli komplikasyonlara sebep olabilir (8, 9).

Klorheksidin (CHX), geniş spektrumlu antimikrobiyal aktiviteye sahip olan ve hem gram pozitif hem de gram negatif mikroorganizmalara karşı aktif olan bir bisbiguanittir (10). Düşük sitotoksisiteye sahiptir; ancak bununla birlikte, nekrotik pulpa dokusunu çözemez (11).

Dentin elle veya döner aletler kullanılarak kesildiğinde, mineralize olmuş dokular bölünmez veya ikiye ayrılmaz, ancak önemli miktarda debris üretmek üzere parçalanır. Mineralize kollajen matrisin çok küçük parçacıklarından oluşan bu yapı, smear tabakası oluşturmak için yüzeye yayılır (12). Endodontik tedavi için en yaygın kullanılan irrigasyon solüsyonları sodyum hipoklorit (NaOCl) ve klorheksidin (CHX) olmasına rağmen smear tabakasını tamamen kaldıramazlar. Smear tabakasını uzaklaştırmak için en sık kullanılan solüsyon etilendiamintetraasetik asittir (EDTA) (13). EDTA; sodyum tuzları metalik iyonlarla noniyonik şelatlar oluşturabilen nonkoloidal organik ajan olan bir poliprotik asittir (14). Smear tabakasını kaldırabilmesine rağmen EDTA tek başına kullanıldığında literatürde rapor edilen antibakteriyel etkisi çok düşüktür (15).

Doğal őrunler yıllardır diş hekimliği ve tıp alanında kullanılmaktadır ve gőnőmőzde daha popőler hale gelmiştir. Yaşam tarzı ve tedavi modalitelerindeki değişimlerle birlikte, patojenler de daha dirençli hale gelmektedir. Doğal tıbbın ve bitkisel ilaçların őnemi, gővenli, biyoyumlu ve toksik olmayan avantajları nedeniyle bu gibi durumlarda ortaya çıkmaktadır (16).

NaOCl'in insan periferik lenfositleri őrzerindeki sitotoksik ve genotoksik etkileri, alerjik potansiyeli, duyarlığa sebep olması, sitotoksitesine bağlı olarak nekroz, hemoliz ve cilt őrseri oluşturma yeteneği gibi özellikleri nedeniyle őrreticileri içeriğindeki kloru uzaklaştırmaya yőnlendirmiřtir (17). Seventh Generation, Green Clean, Doctor Mady gibi deterjanlar őrreticiler tarafından geliştirilen klor içermeyen deterjanlardır.

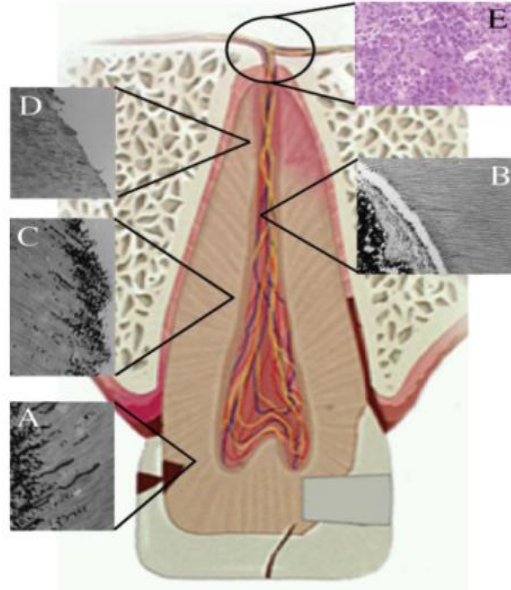
Bu çalışmanın amacı organik içerikli ve klor içermeyen farklı solősyonların; kök kanallarındaki *E.faecalis*'e karşı etkilerini incelemek ve bu solősyonların etkinliklerini endodontik tedavide en sık kullanılan solősyonlar olan NaOCl, CHX ve EDTA ile *in-vitro* olarak karşılaştırmaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Kök Kanallarına Bakteri İnvazyonu

Yüzyılı aşkın süre önce Miller hem çürüklü hem de çürüksüz dentin tübüllerine bakteriyel invazyonu göstermiş ve tübül mikroflorasının kok ve çubuklardan oluştuğunu bildirmiştir. Keyes, diş çürüğünün çeşitli diyetlerle beslenen germ-free hayvanlarda gelişmediğini göstermiştir. Kakehashi ve arkadaşları, cerrahi olarak açılan rat molar pulpalarında, yalnızca oral kavitede bakteriler bulunduğu pulpa ve periapikal hastalığın ortaya çıktığını, germ-free ratlarda ağız ortamına açılan pulpanın sağlıklı kaldığını ve açılan alanın dentin köprüsüyle tamir edildiğini bildirmiştir. Bakterilerin diş çürüğü, pulpa ve periapikal hastalıkların gelişiminde ve ilerlemesinde başlıca etiyolojik faktör olduğu bu çalışmaların sonucunda kesin bir şekilde tespit edilmiştir (18).

Pulpa ve dentin, üstteki mine veya sement tarafından ağız boşluğundaki eksojen maddelerden korunan fonksiyonel bir komplekstir. Koruyucu tabakada bozulma hastalığa neden olabilir; bununla birlikte, pulpa-dentin kompleksi, dentin tübüllerine ve açık pulpaya bakteriyel invazyona tepki vermek ve onları yok etmek amacıyla bir dizi mekanizmaya sahiptir. Dokular bağışıklık sistemi ile zengin süreçlerle zenginleştirildiğinden, kompleksin bu işlevi yerine getirme yeteneği göz ardı edilmemelidir. Ancak klinik anlamda bu doğal süreçler veya operatif işlemler ile enfeksiyon yolu ortadan kaldırılmazsa, daha sonra komplekse invaze olan bakterilerin yükü savunmaların üstesinden gelir ve pulpitise, pulpa nekrozuna, pulpa odasının ve kök kanal sisteminin enfeksiyonuna neden olur ve inflamatuvar periapikal hastalığa ilerler (Şekil 2.1) (18).



Şekil 2.1: Pulpa-dentin kompleksinin bakteriyel invazyonunun potansiyel yollarını ve klinik sonuçlarını gösteren temsili diyagram.

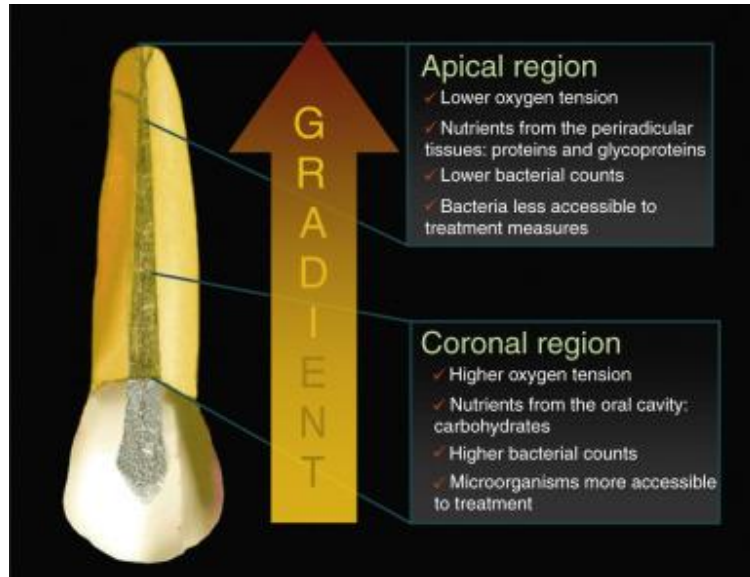
(A) Diş çürüğü, mine çatlakları / kırıkları veya restoratif / periodontal işlemler gibi nedenlerle mine veya sement bütünlüğünde bir bozulma sonucunda dentin tübüllerinden pulpa boşluğuna doğru bakteriyel invazyon (B) Radiküler dentinal tübüllerle ilişkili invazyon ile birlikte enfekte olmuş bir kök kanalında bakteriyel biyofilm (C) Kök kanal bakterileri tarafından ortadan ağıra servikal ve orta kök radiküler dentine ait dentin tübüllerine invazyon (D) Apikal radiküler dentine ait dentin tübüllerinin kök kanal bakterileri tarafından düşük invazyonu. (E) Kök kanalının bakteriyel invazyonunu takiben apikal periodontitise neden olan bakteriyi gösteren histopatolojik bölüm.

Pulpaya bakteri istilası başladığında bakterilerin kök pulpasını tamamen istila etmeleri birkaç gün sonra tamamlanır. Bakteriler pulpada ilerlerken tam merkezden gitmezler, dentin duvarlarını izlerler. Çürük kavitesinden pulpa odasına girer girmez pulpodental membranı izler ve kanal ağızlarına gelirler. Pulpa merkezi hala dekontaminedir ancak pulpada iltihabi cevap, eksuda birikimi ve mikro apseler bulunur. Dış kaynaklı antijenik veya fizikokimyasal uyarı giderilmezse inflamatuvar reaksiyon pulpanın alt tabaklarına doğru giderek yayılır, kök pulpası ve periapikal dokularda da kron pulpasındakine benzer değişimler görülür. Kök kanalı içerisinde bakterilerin izledikleri yol, kanalın vestibül ve lingual/palatinal duvarları boyunca. Bakteriler kanal duvarlarında yığılmış kümeler şeklinde yerleşirler. Tek veya çok katlı yığılımlar yapabilirler. Bu yapılar incelendiğinde saf olmadıkları, birden fazla bakteri cinsi içerdikleri görülür. Kron ve kök pulpası tamamen parçalandığında pulpa odasında çok miktarda bakteri vardır. Dentin kanalcıkları tamamen kontaminedir. Dentin kanalcıklarına yerleşen mikroorganizmalar kök kanalı, çevre dokuların enfeksiyonları ve tekrarlayan enfeksiyonlar için bir kaynak oluşturur (19).

2.2 Kök Kanal Mikrobiyolojisi

Endodontik tedavinin amacı, mikroorganizmaların kök ve / veya periradiküler dokuları enfekte etmesi veya tekrar enfekte etmesini önlemek için enfeksiyonu ortadan kaldırmaktır. Bu nedenle, endodontik tedavinin başarısının temelini, farklı hastalık formlarıyla ilişkili endodontik mikrobiyotanın tam olarak anlaşılması oluşturur (20).

Kök kanal enfeksiyonu dinamik bir süreçtir ve farklı aşamalarda farklı bakteriyel türler görülür. Mikrobiyolojinin bileşimindeki kaymalar, büyük ölçüde, özellikle oksijen basıncı ve besin mevcudiyeti bakımından, çevresel koşullardaki değişikliklerden kaynaklanmaktadır. Pulpal enfeksiyon sürecinin ilk aşamalarında, fakültatif bakteriler baskındır. Birkaç gün ya da hafta sonra, pulpa nekrozu ve fakültatif bakteriler tarafından tüketim sonucu kök kanalında oksijen tükenir. Daha fazla oksijen kaynağı nekrotik pulpada kan dolaşımının kesilmesiyle kesintiye uğrar. Anaerobik bir ortam gelişir ve bu ortam zorunlu anaerobik bakterilerin hayatta kalması ve büyümesi için oldukça elverişlidir. Zaman geçtikçe, anaerobik koşullar, özellikle kök kanalının apikal üçte birinde daha da belirgin hale gelir; sonuç olarak sayıca fazla fakültatif bakterilere baskın mikrobiyata anaeroplara olacaktır (Şekil 2.2) (21).



Şekil 2.2: Kök kanalının farklı bölgelerinde ekolojik koşullar. (21)

Kök kanalının farklı bölgelerinde ekolojik koşullar oksijen basıncı ve besin (tip ve uygunluk) için bir gradyan oluşturmaktadır. Sonuç olarak, farklı bölümlerde bulunan mikrobiyota, çeşitlilik, yoğunluk ve tedavi prosedürlerine erişim bakımından da farklılık gösterebilir.

Kök kanal sistemine bakteri kolonizasyonu için başlıca besin kaynakları şunlardır: 1) nekrotik pulpa dokusu, 2) doku sıvılarından protein ve glikoproteinler ve apikal ve lateral foramina yoluyla kök kanal sistemine sızan eksuda, 3) kök kanalına koronal olarak penetre olan tükürük ve 4) diğer bakterilerin metabolizma ürünleri. Kök kanal sisteminin en hacimli kısmı ana kanal olduğu için en büyük besin maddesi burada bulunur ve bu nedenle enfekte olmuş mikrobiyotaların (özellikle hızlı anaerobik türlerin) çoğunun bu bölgede bulunması beklenmektedir.

Kök kanal sistemindeki besinleri en iyi şekilde kullanabilen ve rekabet edebilen bakteriyel türler kolonizasyonda başarılı olacaktır. Oksijen seviyelerindeki değişimlerden etkilenmenin yanı sıra, kök kanal sistemini kolonize eden mikrobiyota bileşimindeki kaymalar da besin kullanımının dinamiğine bağlı olabilir. Sakkarolitik türler enfeksiyöz sürecin çok erken evrelerinde baskındır ancak kısa süre sonra daha sonraki aşamalara egemen olacak olan asakkarolitik türler sayıca artar(22). Nekrotik pulpa dokusu bakterilere sınırlı bir besin kaynağı olarak kabul edilebilmesine rağmen, periradiküler enflamasyonun indüksiyonu, özellikle de kanal içine sızan eksudada bulunan proteinler ve glikoproteinler formunda sürdürülebilir bir besin kaynağı sağlar. Enfeksiyöz sürecin bu aşamasında, proteolitik kapasiteye sahip olan veya bu substratı metabolizmada kullanabilenlerle kooperatif etkileşime giren bakteriler hakim olmaya başlar. Bu nedenle, enfeksiyöz süreç periradiküler enflamasyonun indüksiyon aşamasına ulaştığında, metabolizmasında peptit veya amino asitleri kullanan anaerobik türlerin kurulması lehine; proteinler, özellikle kanalın apikal kısmında başlıca besin kaynağı olurlar (23).

Primer intraradiküler enfeksiyon nekrotik pulpa dokusunun enfeksiyonudur. Tedavi edilmeyen dişlerde görülür ve primer apikal periodontitise neden olur. Mikroorganizmalar, inflamasyon ve ardından nekroz ile sonuçlanan pulpa invazyonunun (genellikle çürükler yoluyla) erken evrelerinde yer alabilir veya

mikroorganizmalar pulpa nekrozundan sonra kök kanalındaki çevresel koşullardan yararlanabilir (23).

Deneyisel çalışmalarda ter Steeg ve van der Hoeven, primer kök kanal enfeksiyonundaki dinamik süreci yürüten en önemli faktörlerin beslenme, oksijen seviyesi (redoks potansiyeli) ve kök kanalı içindeki lokal pH değerlerinin olduğunu göstermiştir. Primer endodontik tedavi olgularında, oral kavite ile doğrudan iletişim olduğunda fakültatif anaerobik ve aerobik mikroflora baskındır (24). Bakteri hücrelerinin sayısı, kök kanalı başına 10^3 ila 10^8 arasında değişebilir. Moleküler çalışmalar, enfekte olmuş kanal başına ortalama 10 ila 20 tür/filotip bulunduğunu göstermiştir. Sinüs yoluyla ile ilişkili dişlerin kanalları, bu aralığın üstüne yakın bir dizi tür sergileyebilir.

Apikal periodontitis lezyonunun büyüklüğünün, kök kanalındaki bakteri türlerinin ve hücrelerinin sayısı ile orantılı olduğu gösterilmiştir. Moleküler bir çalışma, kanal başına düşen taksonun, lezyon büyüklüğü ile doğru orantılı olduğunu gösterdi: küçük lezyonlarda (<5 mm) yaklaşık 12 takson, 5mm'den 10 mm'ye kadar olan lezyonlar 16 takson, ve 10 mm'nin üzerindeki lezyonlar yaklaşık 20 takson. Büyük lezyonlarla ilişkili bazı kanallar 40'dan fazla takson bile barındırabilir. Bu nedenle, lezyon ne kadar büyükse, kanaldaki bakteri çeşitliliği ve yoğunluğu o kadar yüksektir. Apse durumları da dahil olmak üzere primer enfeksiyonda, saptanan en yaygın adlandırılmış olan bakteriyel türler, çeşitli gram-negatif bakteri türleri (Fusobacterium, Dialister, Porphyromonas, Prevotella, Tannerella, Treponema, Pyramidobacter, Campylobacter ve Veillonella) ve gram-pozitif türlerine (Parvimonas, Filifactor, Pseudoramibacter, Streptococcus, Propionibacterium, Olsenella, Actinomyces, Peptostreptococcus ve Eubacterium) aittir (23).

Persistan veya sekonder intraradiküler enfeksiyonlar, tedavi sonrası apikal periodontitisin başlıca nedenleridir. Bu ifade, iki güçlü kanıt temelli argüman tarafından desteklenmektedir. Birincisi, apikal periodontitis lezyonları görülen kök kanal tedavisi yapılmış olan dişlerin birçoğunun (tümü olmasa da) bir intraradiküler enfeksiyonu barındırdığı gösterilmiştir. İkincisi, dolum sırasında kanalda mikroorganizmalar bulunduğunda, advers tedavi sonucu açısından artmış risk olduğu gösterilmiştir. Çalışmalar, kemomekanik preparasyon ve intrakanal medikasyondan

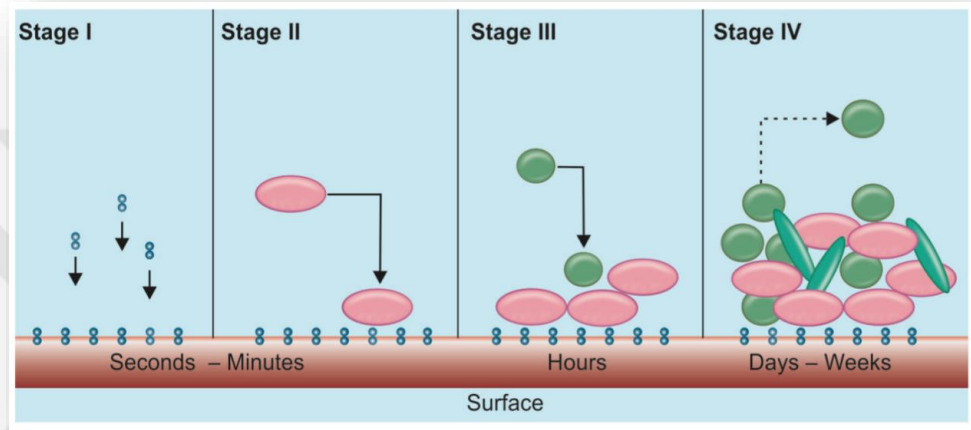
hemen sonra örnek alınarak kök kanalına dirençli türlerin tanımlanmasını amaçlamıştır. Bu çalışmalarda bulunan bakteri türleri, tedavi sonucunu etkileme potansiyeline sahiptir. Birçok çalışma, hem enstrümantasyon sonrası hem de medikamasyon sonrası örneklerde daha yüksek oranda gram-pozitif bakteri ortaya çıkarmıştır. *Enterococcus faecalis*, kök kanalı tedavi edilen dişlerde en sık saptanan tür olup, prevalans değerleri olguların %90'ına kadar ulaşmaktadır. Tedavi sonrası hastalığı olan dişlerin kanallarında *E. faecalis*, birincil hastalık vakalarına göre yaklaşık dokuz kat daha fazladır (25, 26).

2.3 Biyofilm

Biyofilmler, tanım olarak, birbirine, yüzeylere veya ara yüzeylere yapışan bakterilerin kendi kendine ürettikleri polimerik bir matris içine gömüldüğü, bakteri hücrelerinin yapılandırılmış topluluğudur (3). Biyofilmler; Antonie van Leuwenhoek'un, insan diş yüzeyinden kazıdığı 'mikroskopik hayvan' kümelerinin agregalarını tanımlamak için ilkel ama etkili mikroskopunu kullandığında 1674'ün başlarında gözlenmiştir. Biyofilm oluşumu, serbest yüzen mikroorganizmalar kendilerini bir yüzeye bağladıklarında ortaya çıkar. Mikroorganizmalar yapısal bir matris sağlayan ve adezyonu kolaylaştıran hücre dışı polimerler salgırlar (27).

Biyofilm oluşumuna katılan üç bileşen bakteri hücreleri, sıvı bir ortam ve bir katı yüzeydir. Biyofilm oluşumu bir dizi gelişim aşamasını izler. Biyofilm oluşumunun ilk aşaması, planktonik fazdaki makromoleküllerin yüzeye adsorpsiyonunu içerir. Organik ve inorganik moleküller yüzeye yapışır. İkinci aşama, mikroorganizmaların adezyonunu ve koadezyonunu içerir; polimer üretimi ile bağlanma güçlendirilebilir. İlk bakteri-substrat etkileşiminin doğası, yüzey enerjisi ve yük yoğunluğu gibi fizikokimyasal özelliklerle belirlenir. Bakteriler, fimbria, pili, flagella ve EPS (glikokaliks) gibi bakteriyel yüzey yapıları ile bir substrata yapışır. Bu bakteriyel yapılar tarafından bakteri ve kondisyon filmi arasında köprüler oluşturulmaktadır. Bakteriyel yüzey yapıları ve substrat arasındaki moleküler spesifik etkileşimler aktif hale gelir. Bu köprüler, elektrostatik çekim, kovalent ve hidrojen bağı, dipol etkileşimi ve hidrofobik etkileşimin birleşimidir. Substrat üzerindeki reseptörlere bağlanan polisakkarit adhezin veya ligand oluşumu yardımıyla, bir substrat ile spesifik bakteriyel adezyon üretilir.

Üçüncü aşama yapışmış mikroorganizmaların çoğalmasını ve metabolizmasını içerir, sonuçta yapısal olarak organize edilmiş karışık bir mikrobiyal topluluk meydana gelir. Tek katmanlı mikroorganizmalar tarafından oluşturulan mikrokoloni, sekonder kolonizörleri çeker ve biyofilmin son yapısının oluşumuna yol açar. Bu metabolik olarak aktif mikroorganizma topluluğu, bireylerin görev ve faydalarını paylaştığı olgun bir biyofilmdir. Dördüncü aşama biyofilm mikroorganizmalarının ayrılmasını içerir (28, 29).



Şekil 2.3: Biyofilm Oluşumun Aşamaları

2.4 Endodontik Biyofilm Oluşum Mekanizması

Biofilm oluşumu ilk olarak, organizmanın, kök kanal boyunca yapıştığı ve yayıldığı yerde pulpaya nüfuz etmesiyle başlar. Pulpal dokunun sonraki yıkımına neden olacak enfeksiyöz sürecin yeterli güç kazanması biyofilm oluşumundan sonradır. Bununla birlikte, bozulma işleminin bir noktasında, bakteriyel kütlelerin konak savunma mekanizmaları tarafından durdurulduğu sabit bir duruma ulaşılır. Sınır bölgesi, foramen'deki kök kanal çıkışının yakınındaki kök kanalının içinde olabilir veya taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile gösterildiği gibi, foramenlerin periapikal doku ortamına çıkışının yakınındaki dış kök yüzeyinde olabilir. Organizmaların bu pozisyonlardan ayrılabilmesini ve zaman zaman lezyonda kendiliğinden toplanabileceğini varsaymak mantıksız değildir. Dolayısıyla, bir biyofilm yapısındaki bakteriyel kondensasyonların gelişip gelişemeyeceği veya konakçıdan türetilmiş proteinlerin ve bakteriyel adeziv maddelerin uygun önkoşulları sağlayabildiği bakteri

/ enflamatuvar ara yüz bölgesi dışında kök kanal sisteminin bölgelerinde tutulup tutulmadığı sorusu halen devam etmektedir (29).

2.4.1 Endodontik Biyofilmler

2.4.1.1 İntrakanal Mikrobiyal Biyofilmler

İntrakanal biyofilmler, enfekte dişin kök kanal dentininde oluşan mikrobik biyofilmlerdir. Biofilmin tanımlanması, transmisyon elektron mikroskobu altında, 1987’de Nair tarafından bildirilmiştir (30). Organizmaların büyük çoğunluğu gevşek filamentler, spiroketler, koklar ve çubuklar olarak mevcuttur. Bunların dışında bakteri yoğunlaşması diş yüzeyinde görülen dental plağa benzer bir palisad yapı olarak görülmüştür. Bakteri kaynaklı ekstrasellüler matriks materyali de bulunmuştur (29).

2.4.1.2 Ekstraradiküler Biyofilm

Endodontik olarak enfekte olmuş dişlerin kök apeksine bitişik kök yüzeyinde oluşan ekstraradiküler biyofilmler kök yüzey biyofilmidir (31). Tronstad ve arkadaşları, tedaviye dirençli (refrakter endodontik vakalar) vaka çalışmasında, SEM altında cerrahi olarak çekilmiş dişlerin kök uçlarını incelemişler ve farklı türlerde bakteriler ve değişik derecelerde ekstrasellüler matriksle yapısal olarak düzensiz biyofilm bulmuşlardır (32).

2.4.1.3 Periapikal Biyofilm

Endodontik olarak enfekte olan dişlerin periapikal bölgesinde periapikal mikrobiyal biyofilmler, kök kanal enfeksiyonlarının yokluğunda bile görülebilen izole biyofilmlerdir. Actinomyces türleri ve Propionibacterium propionicum ile ilişkili periapikal lezyonlar, bu tür biyofilmlerde bulunan bakterilerin konakçı savunma mekanizmalarının üstesinden geldiği zaman ortaya çıkabilir. Actinomyces hücrelerinin agregasyonu pH, iyonik güç ve biyofilm oluşumunu kolaylaştıran hücre konsantrasyonundan etkilenir (33, 34).

2.4.1.4 Yabancı Cisim Merkezli Biyofilm

Bakteriler yapay bir biyomateryal yüzeye yapıştığında ve biyofilm yapıları oluşturduklarında yabancı cisim merkezli biyofilm bulunur (35). Biyomateryal merkezli enfeksiyon olarak da bilinir. Protezle ve ayrıca implant destekli protezle ilişkili önemli bir komplikasyondur. Biyomateryal merkezli enfeksiyon, nozokomiyal organizmalar tarafından fırsatçı invazyonu ortaya çıkarmaktadır. Takemura ve ark., gram pozitif fakültatif anaerobların koloni oluşturduklarını, gutta-perka'yı çevreleyen hücre dışı polimerik matriksleri oluşturduklarını ve biyofilm oluşumunda serumun önemli rol oynadığını bildirmişlerdir (36). Çalışmalar ekstraradiküler mikrobiyal biyofilm ve biyomateryal merkezli biyofilmin refrakter periapikal hastalık ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir (37).

2.5 Enterokoklar

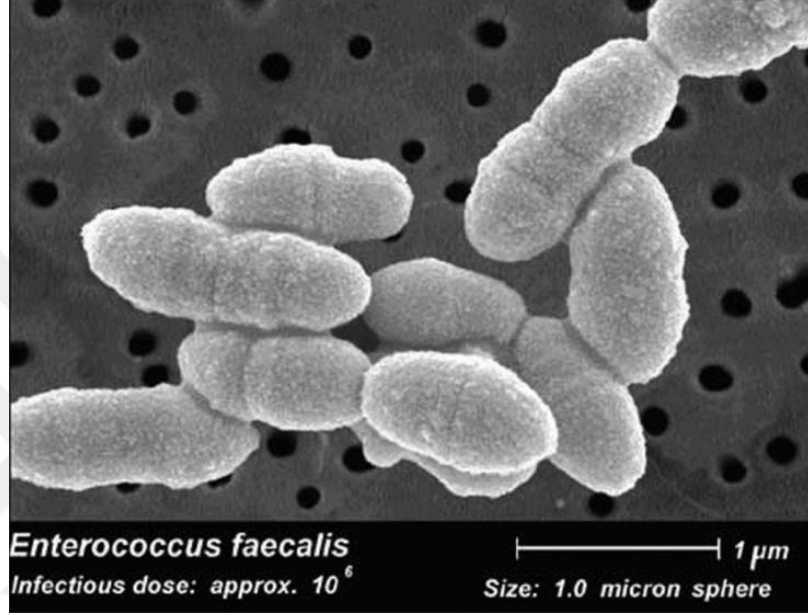
Enterokoklar, insan ve hayvanların gastrointestinal kanal, ağız boşluğu ve vajinasında yaşayan yaygın bakterilerdir. Enterokoklar önceleri virülan olmayan bir bakteri olarak kabul edilmekle birlikte, günümüzde dünya çapında nozokomiyal enfeksiyonların başlıca nedenlerinden biri olarak kabul edilmektedirler. Diş hekimliğinde, Enterococcus türleri, özellikle Enterococcus faecalis, kronik periodontitis ve kronik apikal periodontitisi içeren başarısız kanal tedavisi ile ilişkili bulunmuştur (38).

2.5.1 *E. faecalis* 'in Özellikleri

E. faecalis, sporsuz form, fermantatif, oksijenin yokluğunda veya varlığında büyüme kabiliyetine sahip fakültatif anaerobik gram pozitif (gr+) D grubu streptokoktur. *E. faecalis* hücreleri oval, 0.5-1µm çapındadır. Tek başına, çiftler halinde veya küçük zincirler halinde bulunurlar. Sıklıkla zincir doğrultusunda uzarlar. Çoğu suşlar nonhemolitik ve nonmotildir. Kanlı agardaki yüzey kolonileri dairesel, pürüzsüz ve bütündür. DNA'sının GC içeriği % 37 ila 40 mol arasındadır(25).

Dentine bağlanır ve dentin tübüllerini istila eder. Besin kaynağı olarak serumu kullanır. Litik enzimler, sitolizin, agregasyon maddesi, feromonlar ve lipoteikoik asit içerir. Vücuttaki bağışıklık tepkiyi tetikler ve lenfositlerin işlevini bozar (39, 40).

E. faecalis biyofilm oluşturabilir. Bakteriyal biyofilm, bu mikroorganizma tarafından ekstrasellüler polimerik matrisin oluşması nedeniyle geleneksel irrigantlara karşı oldukça dirençlidir. Ayrıca, bakteriyal biyofilm bakterileri bağışıklık sisteminden korur ve besin sağlar; sonuçta, mikroorganizmaların direncini artırır (2). Biyofilmdeki bakterilerin antimikrobiyal ajanlara direnci, planktonik durumun 1000-1500 katıdır (41).



Şekil 2.4: *E. faecalis* SEM görüntüsü (42)

E. faecalis, küçük kanalların apikal ramifikasyonlarında veya kök dolgusu ile kanal duvarı arasındaki boşlukta yaşayabilir. *E. faecalis* suşları, besin maddelerinin yetersiz olduğu ve diğer bakterilerle kompetensin azaldığı bir ortamda en az 6-12 ay boyunca hayatta kalabilir(38). Proton pompası nedeniyle 11,1 pH'a dayanabilir (42).

E. faecalis ayrıca kalsiyum hidroksit de dahil olmak üzere kimyasallara karşı oldukça dirençlidir. Çalışmalar, *E. faecalis*'in açlığa karşı direnç gösterdiğini ve farklı çevresel ve besinsel koşullar altında (aerobik, anaerobik, besin açısından zengin ve besleyici-yoksun koşullar) biyofilmler geliştirebildiğini göstermiştir. Bununla birlikte, *E. faecalis* biyofilmlerinin fizikokimyasal özelliklerinin, mevcut çevresel ve beslenme koşullarına göre değiştiği bulunmuştur. *E. faecalis* besin açısından zengin çevre şartları altında bakteri hücrelerinin ve su kanallarının karakteristik yüzey agregatları ile tipik biyofilm yapıları üretir. Biyofilmin yüzeyinde yaşayabilen bakteriyel hücreler

mevcuttur. Besinden yoksun ortam (aerobik ve anaerobik) koşulları altında, adere olmuş hücre kümelerinin düzensiz büyüdüğü gözlenmiştir.

Kök kanal dentininde *E. faecalis* biyofilminin gelişimi şu şekilde üç aşamayı içerir:

Aşama 1: Kök kanal dentin yüzeyine *E. faecalis* hücreleri yapışarak mikrokoloni oluşturur.

Aşama 2: Dentin substratından mineral fraksiyonunun bakteriyel aracılı çözünmesi, *E. faecalis* biyofilminin mineralizasyonuna (veya kalsifikasyonuna) neden olan kalsiyum ve fosfat iyonlarında lokal artışa yol açar.

Aşama 3: Dentin üzerindeki bakterilerin ve metabolik ürünlerinin bu etkileşimi nedeniyle *E. faecalis* biyofilm mineralize olur (29).

2.6 Kök Kanal İrrigasyon ve Dezenfeksiyonu

Pulpa ve periapikal hastalıklara neden olan en yaygın etiyolojik faktör mikroorganizmalardır. Endodontik tedavinin temel amacı, pulpa dokusunun vital ve nekrotik kalıntılarını, mikroorganizmaları ve bunların toksik ürünlerini kök kanalından uzaklaştırmaktır. Kök kanal sisteminin anatomik karmaşıklığı, sayısız ismus ve kanallar arası bağlantı, pulpa-periodontal bağlantı varlığı nedeniyle, endodontik aletler ile kanal içi alanın önemli bir kısmına erişilememektedir. Peters ve arkadaşlarının araştırması, preparasyon tekniğinden bağımsız olarak, kanal yüzeyinin yaklaşık % 35'inin mekanik enstrümantasyonla temizlenemediğini göstermektedir (43).

Kök kanalının kemo-mekanik preparasyonu sırasında, duvarlarda 1-2 mikron kalınlığında bir smear tabakası üretilir. Bu tabaka, vital ve/veya nekrotik pulpa dokusu artıkları, mikroorganizmalar ve bunların toksinleri ve farklı büyüklükteki dentin parçacıklarını içerir. Kanal duvarları üzerinde smear tabakasının varlığı, kısmen veya tamamen dentin tübüllerini bloke edebilir, irrigasyon ve kanal içi ilaçların etkilerini önler, kesin obturasyon için materyallerin adezyonunu engeller ve mikro sızıntı için potansiyel bir yola sebep olur. Ayrıca mikroorganizmaların büyümesi ve çoğalması için bir altyapı sunar (12).

Günümüzde endodontik tedavide görülen başarısızlıkların, geride kalan mikroorganizmaların patojeniteye sahip olmaları, yeterli sayıya ulaşmaları ve periradiküler dokulara erişebilmeleriyle oluştuğu düşünülmektedir (44). Mekanik enstrümantasyon ile kalan doku ve smear tabakası kalıntılarının kök kanalından tamamen yok edilememesi nedeniyle, kanaliküler sistemin temizlenmesini ve dezenfekte edilmesini sağlayan irrigasyon yönteminin kullanılması gerekmektedir (45).

Kök kanal irrigasyon solüsyonlarının, kök kanalının dezenfekte edilmesi ve kayganlaştırılması, kök kanal sisteminden debrisin dışarı atılması ve organik ve inorganik dokuların çözülmesine yardımcı olmaları nedeniyle endodontik tedavide önemli oldukları kanıtlanmıştır (46).

Kök kanal tedavisi sırasında şu nedenlerle irrigasyon solüsyonları kullanılır (19).

1. Kök kanal sistemindeki enfekte materyalleri, yumuşak ve sert doku artıklarını fiziksel ve kimyasal olarak uzaklaştırır.
2. İrrigasyon solüsyonları organik artıkları kök kanalından uzaklaştırarak mikroorganizmaların beslenmesini zorlaştırır böylece kök kanalındaki mikroorganizma sayısı ve tipi azalır.
3. İrrigasyon solüsyonlarının çoğunluğu antimikrobiyal olduğundan mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etki gösterirler.
4. İrrigasyon solüsyonları kök kanalındaki artık organik ve inorganik yapıları eritebilmektedirler.
5. Kök kanalında lubrikasyon yani kayganlaştırıcı etki sağlayarak kanal aletleri ile çalışmayı kolaylaştırırlar.
6. Kanal içinde kullanılan dezenfektanların etkilerini arttırırlar.

Kök kanal sistemini etkin bir şekilde temizlemek ve dezenfekte etmek için, bir irrigant ideal olarak:

- (a) Geniş bir antimikrobiyal spektruma ve yüksek etkililiğe sahip olmalı,
- (b) Proteinleri ve nekrotik dokuyu parçalayabilmeli,
- (c) Enstrümantasyon sırasında smear tabakasının oluşumunu önlemeli veya oluşuktan sonra bunu çözebilmeli,
- (d) Aletlerle erişilemeyen alanlara ulaşmak için yüzey gerilimi düşük olmalı,
- (e) Uzun süreli antibakteriyel etki sunmalı,
- (f) Süspansiyonda dentin debrisini tutabilmeli,
- (g) Kök kanal aletleri için bir kayganlaştırma etkisi sağlamalı,
- (h) Periapikal dokuları irrite etmemeli,
- (i) Dolgu malzemelerinin sızdırmazlık özelliği üzerinde olumsuz bir etkisi olmamalı,
- (j) Antijenik, toksik ve kanserojen olmamalı. Ayrıca dentin veya dolgu malzemelerinin sızdırmazlık özelliği üzerinde olumsuz bir etkisi olmamalıdır. Nispeten ucuz olmalı, kullanımı pratik olmalı ve dişlerde renklenmeye sebep olmamalıdır (47).

2.7 Kök Kanal Tedavisi Sırasında Kullanılan İrrigasyon Solüsyonları

2.7.1 Sodyum hipoklorit (NaOCl)

NaOCl ilk olarak 1789'da Javelle Fransa'da klor gazı bir sodyum karbonat çözeltisinden geçirilerek elde edildi. "Eau de Javelle" veya "Javelle water" olarak bilinen sonuçtaki sıvı, zayıf bir sodyum hipoklorit çözeltisidir. Ancak bu işlem çok verimli değildi ve alternatif üretim yöntemleri aranıyordu. Böyle bir yöntem, düşük seviyede kullanılabilir klor elde etmek için sodyum karbonat ile klorlanmış kirecin (ağartma tozu olarak bilinir) ekstraksiyonunu içerir. Bu yöntem, "Eusol" ve "Dakin

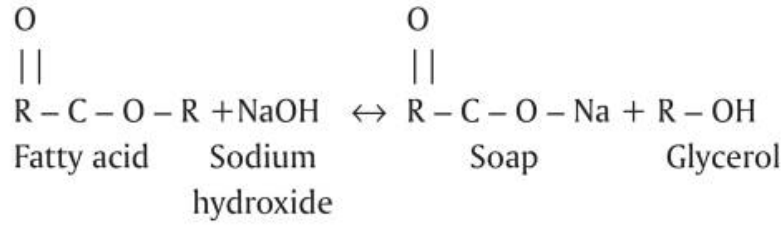
solüsyonu" ticari adları altında satılan bir hastane antiseptiği olarak kullanılmak üzere NaOCl çözeltileri üretmek için yaygın olarak kullanılmıştır.

'Dakin solüsyonu' NaOCl'nin %0,5'lik konsantrasyonudur ve ilk kez etkin olarak Birinci Dünya Savaşı'nda kimyager Henry Drysdale Dakin ve cerrah Alexis Carrel tarafından; Dakin'in enfekte nekrotik doku üzerinde farklı solüsyonların etkinliği konusundaki çalışmalarına dayanarak enfekte yaraların temizlenmesinde kullanılmıştır. Endodontide ise 1919 yılının başlarında Coolidge tarafından tavsiye edildiği üzere ana irrigant olarak kullanılmaya başlanmış ve o günden beri kullanılmaya devam eden irrigasyon solüsyonu olmuştur (48).

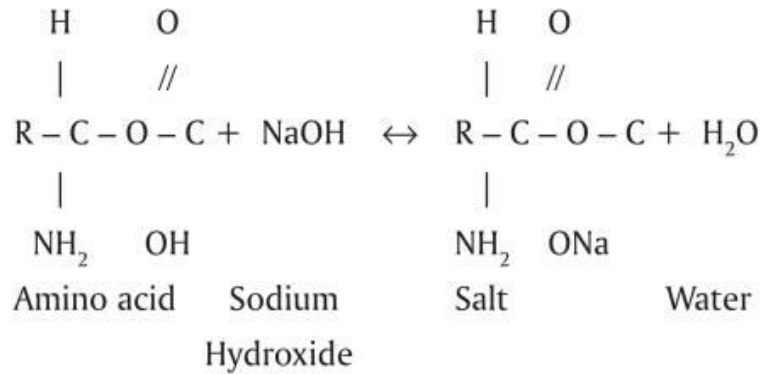
Sodyum hipoklorit suda klorin hipoklorit (OCl⁻) veya hipokloröz asit (HOCl) formunu alır.



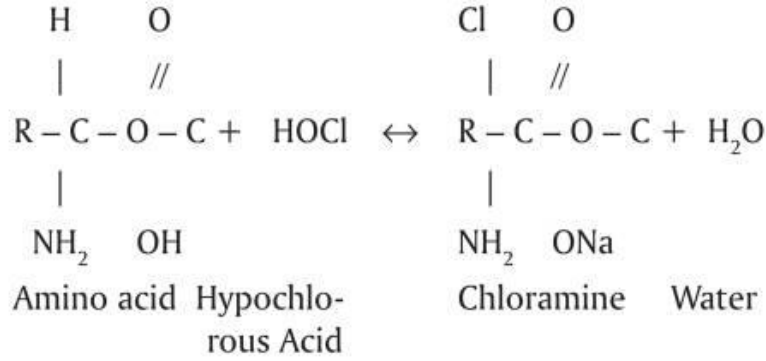
NaOCl organik dokuyla karşılaştığında üç reaksiyon meydana gelir. Birincisi doymuş yağ asitlerinin tuz ve gliserole dönüştürüldüğü saponifikasyon reaksiyonudur. Açığa çıkan gliserolle birlikte yüzey gerilimi azalır.



İkincisi; aminoasitlerin su ve tuz oluşturularak nötralize edildiği aminoasit nötralizasyonudur. Hidroksil iyon salınımı ile birlikte pH azalır.

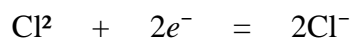


Üçüncüsü ise hipokloröz asit ile organik doku temas ettiğinde meydana gelen hücre metabolizmasını bozan; kloramin reaksiyonudur. Klor (güçlü bir oksidan), bakteriyel enzimleri inhibe eden antimikrobiyal etki gösterir ve temel bakteriyel enzimlerin SH gruplarının (sülfidril grubu) geri dönüşümsüz bir oksidasyonuna neden olur (49).



Hipokloröz asit ve hipoklorit iyonu birlikte serbest aktif klor (FAC) içeriğini oluştururlar. Protein yıkımı ve bakteriyel enzimlerin inhibisyonundan sorumlu olan bu FAC'tır (50). FAC, oksitleme kapasitesinin bir ölçümü olarak tanımlanabilir ve elementel klorun miktarı cinsinden ifade edilir. HOCl hipoklorit iyonundan daha güçlü bir oksidan olarak kabul edilir. HOCl molekülü, doku ve mikroorganizmalar üzerindeki güçlü klorlama ve oksitleyici etkilerden sorumludur. HOCl disosiasyonu pH'a bağlıdır, HOCl ve OCl⁻ arasındaki klinik denge, HOCl'nin antimikrobiyal işleviyle tüketildiği zaman korunur. Ph 10'da, temel olarak bütün klor, OCl⁻ formundadır; tersine pH 4.5 olan bir pH'ta tüm klorin HOCl formundadır. Dezenfekte edici özellikler, ayrılmış HOCl'nin konsantrasyonuna paralel olarak daha yüksek pH ile azalır (47).

Vücut sıcaklığında sulu çözeltideki reaktif klor iki şekilde olabilir: hipoklorit (OCl⁻) veya hipokloröz asit (HOCl). Aşağıdaki denklemlere göre, bunların konsantrasyonu, elemental klorun elektrokimyasal eşdeğer miktarını belirleyerek mevcut klor olarak ifade edilebilir.



Bu nedenle, 1 mol hipoklorit 1 mol kullanılabilir klor içerir. Mevcut klor durumu, çözeltinin pH'ına bağlıdır. pH 6'nın üstünde, baskın olan form hipoklorittir ve bu değer altında hipokloröz asittir. Her iki form da son derece reaktif oksitleyici maddelerdir. Endodontide kullanıldığı gibi saf hipoklorit çözeltiler pH 12 değerine sahiptir ve bu nedenle mevcut klorun tamamı OCl^- formundadır. Bununla birlikte, mevcut klorun aynı seviyelerinde HOCl , hipokloritten daha fazla bakterisidaldir (51).

Endodontide NaOCl tamponsuz olarak pH:11'de %0,5 ile %5,25 konsantrasyon aralığında kullanılmaktadır. Bikarbonatla tamponlu olanlar ise pH:9'da %0,5 veya %1'lik konsantrasyonlarda kullanılmakta ve piyasada bulunmaktadır (52). Literatürde % 0.5-6 arasında değişen konsantrasyonlar bildirilmiştir; yüksek konsantrasyonlar *E. faecalis* üzerinde daha iyi antibakteriyel etkinliğe sahiptir, ancak aynı zamanda daha yüksek toksisiteye sahiptir (9).

NaOCl vital ve nekrotik pulpa artıklarını ayırt etmeden çözme özelliğine sahiptir. Bu özellik apikal foramenden periradiküler boşluğa NaOCl 'nin ekstrüzyonu durumunda, periapikal dokular için toksik olabilir. Aslında insan periferik lenfositleri üzerindeki sitotoksik ve genotoksik etkiler, sodyum hipoklorit uygulaması ile bağlantılı olarak gözlenmiştir. NaOCl 'in alerjik potansiyeli tıp literatüründe zaten analiz edilmiştir, ancak dişhekimliği literatüründe bilinen az sayıda aşırı duyarlılık vakası bildirilmiştir. NaOCl 'in diğer bir dezavantajı, dentinin mekanik direncini kolajen ve proteoglikanların bozulmasına neden olarak azaltmasıdır (9). Sitotoksitesine bağlı olarak nekroz, hemoliz ve cilt ülseri oluşturma yeteneğine sahiptir (17).

Klor içermediği iddia edilerek piyasaya sürülmüş olan pek çok çamaşır suyu bulunmaktadır. Bunlardan 3 tanesi U Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu, Seventh Generation Klorsuz Çamaşır Suyu ve Doktor Mady Bitkisel Çamaşır Suyu'dur. U Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu; <%5 bitki bazlı sabun, <% 5 non-iyonik aktif madde, <%5 anyonik aktif madde ; Seventh Generation Klorsuz Çamaşır Suyu; <%5 anyonik aktif madde ve Doktor Mady Bitkisel Çamaşır Suyu; %5 anyonik madde, %5 bitkisel non-iyonik aktif madde, hindistan cevizi, palmye, buğday ve patatesten elde edilen hammaddelerden oluşmaktadır. Üretici firmalar U Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu, Doktor Mady Bitkisel Çamaşır Suyu ve Seventh Generation Klorsuz

Çamaşır Suyu ürünlerinin her üçünün de içinde klor bulunmadığını iddia etmektedirler.

2.7.2 EDTA

Etilendiamintetraasetik asit (EDTA) bir poliaminokarboksilik asittir. Renksiz, suda çözünen bir katıdır. Bileşik ilk olarak 1935 yılında etilen diamin ve kloroasetik asitten hazırlanarak Ferdinand Munz tarafından tarif edilmiştir. Günümüzde EDTA esas olarak etilen diamin, formaldehit ve sodyum siyanürden sentezlenmektedir. Endodontide EDTA ilk kez, %15'lik EDTA kullanımı ile Nygaard-Ostby tarafından 1957 yılında önerilmiştir (53).

Sıvı EDTA solüsyonu, kök kanal dentinini kimyasal olarak yumuşatabilen, smear tabakasını eriten ve dentin permeabilitesini arttıran bir ajan olarak diş hekimliğinde kullanılan ilk şelatlayıcıdır. EDTA, dentin içerisindeki kalsiyum iyonlarıyla reaksiyona girer, çözünür kalsiyum şelatları oluşturur, dekalsifiye dentin üretir. EDTA'nın dentini, 5 dakika içinde 20-30 µm derinliğe dek kalsiyumsuzlaştırdığı bildirilmiştir (54, 15, 55).

EDTA'nın %10-%17 arasındaki konsantrasyonlarının kullanımı bildirilmiş olmasına karşın en sık kullanılan konsantrasyonu %17'dir. Curr ve ark. EDTA'nın demineralizasyon etkisinin pH'sından etkilendiğini belirtmiş ve en yüksek demineralizasyon etkinliğini pH 5.0 ile 6.0 arasında gösterdiğini bildirmişlerdir (56).

Antibakteriyel etkisi bakterilerin dış zarından katyonların şelasyonu ile ilgilidir. EDTA ayrıca smear tabakasının inorganik kısmını kaldırma özelliğine de sahiptir. Bazı sitotoksik etkiler gösterir (57, 17). Ancak EDTA tek başına kullanıldığında literatürde rapor edilen antibakteriyel etkisi çok düşüktür (15).

Şelatörlerin NaOCl'ye ilavesi, pH'ını bir oranda ve zamana bağlı bir şekilde azaltır. Bu, çözeltideki serbest klor formlarını etkiler. Hipoklorit iyonunun miktarını azaltan hipokloröz asit ve klor gazı artışına neden olur. Bu da NaOCl'nin etkinliğini azalttığı için hiçbir zaman NaOCl ile karıştırılmamalıdır (14).

1 dakika boyunca 1 mL % 17 EDTA ile son irrigasyon, koronal, orta ve apikal üçlüdeki smear tabakasının büyük ölçüde ortadan kaldırılmasını sağlamaktadır (58).

2.7.3 Klorheksidin

Klorheksidin, santral bir heksametilen zincirine bağı iki adet 4-klorofenil halkası ve iki adet bisguanit grubundan oluşan simetrik, sentetik bir katyonik bisguaniddir. Klorheksidin, bakterilerin hücre zarındaki fosfolipidler ve lipopolisakaritler ile etkileşime girerek; aktif veya pasif taşıma mekanizması yoluyla hücrenin içine giren, pozitif yüklü bir hidrofobik ve lipofilik moleküldür. Etkisi, negatif yüklü fosfat gruplarıyla molekülün pozitif yükünün mikroorganizmaların hücre duvarları üzerindeki etkileşiminden dolayı hücrelerin ozmotik dengesini değiştirmesinden kaynaklanmaktadır. Bu hücre duvarı geçirgenliğini artırır ve klorheksidin molekülünün bakterilere penetrasyonunu sağlar. Klorheksidin bir bazdır ve bir tuz olarak kararlıdır. En yaygın oral preparat olan klorheksidin glukonat, suda çözünür ve fizyolojik pH değerinde, pozitif olarak yüklü klorheksidin bileşenini kolayca ayırır ve bırakır. Klorheksidin yaygın olarak %2 jel veya %0,2 sıvı konsantrasyonda kullanılır. Düşük konsantrasyonda (% 0,2), düşük molekül ağırlıklı maddeler, özellikle potasyum ve fosfor, hücreden sızacaktır. Bu olay geriye dönüşümlü olabildiğinden düşük konsantrasyonda etkisi bakteristatiktir. Daha yüksek konsantrasyonda (%2) klorheksidin, sitoplazmik içeğin çökmesine sebep olup, sonucunda hücre ölümü meydana geldiği için etkisi bakterisidalıdır (59).

Klorheksidin, pH'sı 5.5-7 arasında değişen ve antimikrobiyal etkisi olan katyonik bisguaniddir. Klorheksidin test edilen bisguanidlerin en güçlüsüdür. Aerop ve anaeroplarda dahil olmak üzere hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilere, bakteriyel sporlara, lipofilik virüslere, dermatofitlere, mayalara ve mantarlara karşı etkilidir. Mantar sporlarına karşı düşük mikrobiyal etkinliğe sahiptir (60). Güçlü bir antiseptiktir ve ağız boşluğunda kimyasal plak kontrolü için yaygın olarak kullanılır. Bu irrigantın nekrotik doku kalıntılarını çözememesi bir dezavantaj olarak düşünülür. Daha düşük konsantrasyondaki klorheksidini ısıtmak, sistemik toksisiteyi düşük tutarak kök kanal sistemindeki etkinliğini artırabilir. Ayrıca, 2 dakikalık % 2 CHX sıvısıyla irrigasyon, bakterileri dentin tübüllerinin yüzeysel katmanlarından yalnızca 100 µm'e kadar uzaklaştırabilir (17).

Klorheksidin doku çözücü özelliğinin olmaması en önemli dezavantajlarından biridir. Ayrıca smear tabakasını uzaklaştırma da etkili değildir.

Kök kanal sistemindeki dentin ve bileşenlerinin (hidroksiapatit ve kollajen), ölü mikroorganizmalar ve iltihabi eksudanın klorheksidinin antibakteriyel etkisini düşürdüğü de rapor edilmiştir (59).

İrrigasyon amacıyla klorheksidin kullanımında önemli bir husus da CHX ve NaOCl arasında gelişebilen kimyasal reaksiyonlardır. NaOCl kullanımının ardından CHX ile kanallar irrigate edildiğinde asit baz reaksiyonu sonucu karsinojenik bir ürün olan para-kloraanilin (PCA) denilen turuncu-kahverengi bir çözünmez nötr tuz meydana gelmektedir. CHX; NaOCl ile karıştırıldığında, CHX molekülleri her biri bir yan ürün oluşturan daha küçük parçalara hidrolize olur. Bu reaksiyonda kırılacak ilk bağlar, bu iki atom arasındaki düşük bağ ayrışma enerjisi nedeniyle karbon ve azot arasındakilerdir. PCA'nın varlığı, klorin varlığı için Beilstein testi ile ve anilin varlığı için HCl çözünürlük testi ile doğrulanmıştır. PCA'nın oluşan çözünmeyen çökeltiden süzülmesinin sıçanlarda sitotoksik olduğu gösterildiğinden ve insanlarda kanserojen olabileceğinden endişe kaynağıdır (61). Bu reaksiyon kanal yüzeyini kaplar, dentin tübüllerini önemli ölçüde tıkar ve kök kanalının sızdırmazlığını etkiler. Bu nedenle NaOCl'yi takiben klorheksidin kullanmadan önce kök kanalları distile su veya alkolle yıkanmalıdır (47, 62).

2.7.4 Sitrik asit

Bir şelasyon ajanı olan sitrik asit, metallerle reaksiyona girerek iyonik olmayan bir çözünür şelat oluşturur. %1 ile %50 arasında değişen farklı konsantrasyonlarda çalışmalarda kullanılmıştır. İyi kimyasal stabiliteye sahiptir, fakültatif ve zorunlu anaeroblara karşı antimikrobik etkiler gösterir. Smear tabakasının inorganik bileşeninin kaldırılma kapasitesi ve dentinin dekalsifikasyon kapasitesi gibi özellikleri nedeniyle sitrik asitin kök kanal irrigasyonunda solusyon olarak kullanımı önerilmiştir. Smear tabakasının kaldırılmasında EDTA kadar etkilidir. Fosforik asit, poliakrilik asit veya laktik asit ile karşılaştırıldığında, smear tabakasının çıkarılmasında daha etkili olduğu bildirilmiştir (63, 64). Sitrik asitin EDTA'ya kıyasla daha biyoyumlu ve klinik kullanıma uygun olduğu bildirilmiştir (63).

2.7.5 MTAD

Yaygın kanal içi bir irrigant olan MTAD, endodontik tedavi için kullanılan % 3 doksisisiklin (bir tetrasiklin), % 4,25 sitrik asit ve % 0,5 polisorbat 80 (Tween 80) deterjandan oluşan bir karışımdır. Sitrik asitin antimikrobik etkisi bilinmemekle birlikte smear tabakasının giderilmesine yardımcı olur. Tween 80'in, yüzey gerilimini azalttığı ve çeşitli kök kanalı irrigantlarının antimikrobiyal etkisini arttırdığı bilinmektedir. MTAD 'nin antibakteriyel etkisi büyük oranda aminoasit-tRNA'nın bakteriyel ribozom ile bağlantısını önleyerek, bakteriyel protein sentezini inhibe eden doksisisikline atfedilir (65). Doksisisiklin bakteriostatiktir; bakterileri öldürmez ancak hassas bakterilerin çoğalmasını engeller. Bakteriostatik özellik, bakteriyel hücre lizisinin yokluğunda avantajlıdır, antijenik yan ürünler (endotoksinler) serbest bırakılmaz. Doksisisiklin direnci, kök kanallarından izole edilen bakteriler arasında nadir değildir. Doksisisikline karşı kazanılmış direnç mekanizmalarının farklı mekanizmaları, ribozomal koruma, bakteriyel hücreden antibiyotik akışı ve antibiyotiklerin enzimatik olarak inaktive edilmesi ile ana hareket biçimleri olarak tanımlanmıştır. BioPure MTAD, kök kanalı başına 5 ml olan tam dozajda kullanıldığında kanal içi irrigant olarak oldukça etkilidir (65, 17).

Giardino ve arkadaşları, % 5,25 NaOCl ve MTAD (doksisisiklin, sitrik asit ve bir deterjan-Tween 80 karışımı) etkinliğini değerlendirmiş ve sadece % 5,25 NaOCl'in E. faecalis biyofilmini başarılı bir şekilde parçalayıp kaldırdığını bildirmişlerdir (9).

2.7.6 QMix

QMiX, ilave antimikrobiyal ajanların bulunduğu smear tabakasının tek aşamada çıkarılması sağlayan, NaOCl'den sonra son irrigasyonda kullanılan, antibiyotik içermeyen yeni bir endodontik irriganttır (66). EDTA, CHX ve bir deterjan içerir. QMiX hiçbir karıştırma gerektirmeyen, kullanıma hazır berrak bir solüsyondur. EDTA ve CHX'in karıştırılmasıyla beyaz bir çökelti oluştuğu bilinmektedir. QMiX'te, kimyasal tasarımından dolayı bu önlenir. Endodontik irrigasyonda yeni bir endişe, NaOCl ve CHX arasında potansiyel olarak kanserojen bir çökelti olmasıdır. CHX içeriğine rağmen, QMiX'in NaOCl ile karıştırılması herhangi bir çökelti oluşturmaz

(veriler gösterilmemiştir) ve çözelti kahverengi / turuncu renk almamaktadır. QMiX; NaOCl'den sonra son durulama olarak önerilir (67).

Morgental ve arkadaşlarının Qmix'in etkisini geleneksel irrigasyon solüsyonlarıyla karşılaştırdıkları bir çalışmada, QMiX ve NaOCl'nin antibakteriyel etkinliklerinin %2'lik CHX ve %17'lik EDTA'dan daha iyi olduğunu; ancak *E.faecalis*'e karşı %6 NaOCl'nin Qmix'ten daha etkili olduğunu bildirmişlerdir (68).

2.7.7 Tetraclean

Tetraclean, antibiyotik, asit ve deterjan karışımından oluşan bir solüsyondur. MTAD'den farkı antibiyotik konsantrasyonu ve deterjanın tipidir. 50 mg/ml doksisisiklin ve poliprolen glikol içerir.

Mohammadi ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Tetraclean'in substantivitesini, MTAD'den anlamlı derecede yüksek bulmuş ve en az 28 gün boyunca kök kanal dentininde kaldığını göstermişlerdir (69). Poggio ve arkadaşları; çeşitli irrigasyon solüsyonlarının primer endodontik enfeksiyonla ilişkili patojenlere karşı antibakteriyel etkinliklerini değerlendirdikleri çalışmada; Tetraclean'in test edilen diğer tüm irrigantlara kıyasla bakteri üremesini önemli derecede daha fazla inhibe ettiğini bildirmişlerdir (70). Aynı araştırmacıların 4 farklı irrigasyon solüsyonunun kök kanal dentini üzerine dekalsifikasyon özelliklerini *in vitro* karşılaştırdıkları çalışmada; Tetraclean'in smear tabakasının kaldırılmasında daha etkili olduğunu ve biyomekanik preparasyonu kolaylaştırması için kullanılabileceğini bildirmişlerdir (71). Mohammadi ve arkadaşlarının *Candida Albicans*'a karşı son irrigasyonda NaOCl, CHX, MTAD ve Tetraclean'in antifungal özelliklerini karşılaştırdıkları çalışmada; NaOCl ve CHX' in; MTAD ve Tetraclean'den daha etkili olduğu ve Tetraclean 'in antifungal etkinliği MTAD'den anlamlı olarak daha iyi bulunmuştur (72).

2.7.8 Yeşil Çay

Yeşil çay epigallocatechin gallate (EGCG) ve tokoferoller, karotenoidler, C vitamini ve bazı mineralleri içerir. Antioksidan özelliği, siyah çaydan daha güçlüdür. *E. faecalis* biofilmine karşı mükemmel antibakteriyel aktivite gösterir ve 6 dakika içinde *E. faecalis*'in %100'ünü öldürebilir. Lee ve arkadaşları, EGCG'nin apikal

periodontitisin ilerlemesini baskılayabileceği sonucuna varmışlardır. Kısa süre önce Lee ve Tan, EGCG'nin *E. faecalis*'in planktonik ve biyofilm formlarına karşı etkili bir antimikrobik ajan olduğunu ve bakteri üremesini engellediğini göstermiştir. EGCG'nin *E. faecalis* üzerindeki antibakteriyel etkisi, hidroksil radikallerinin üretimi sırasında ortaya çıkabilir (73).

2.7.9 Kitosan

Kitosan, biyouyumluluk, biyolojik bozunabilirlik, biyoadezyon ve toksisitesinin olmaması nedeniyle dental araştırmalarda dikkat çeken doğal bir polisakkarittir. Karides ve yengeç kabuklarında bulunan kitin deasetilasyonu ile elde edilen kitosan, doğada bol olması ve düşük üretim maliyetleri nedeniyle çeşitli uygulamalar için ekolojik olarak ilginç hale gelmiştir. Tıp ve ilaçlar (antibakteriyel ve antitümör ajan, ilaç taşıyıcı, yara iyileştirici hızlandırıcı), biyoteknoloji (enzim ve hücre taşıyıcısı, kromatografi rezini), çevre (su arıtımı), tarım (tohum hazırlama), kozmetik ve gıda (demir ve kalsiyum emilimini hızlandırıcı, fiber kaynağı) alanlarında kitosana başvurulmaktadır (55). Kitosan bakteri hücrelerinin ölümüne yol açan, bakteri hücrelerinin negatif yüklü yüzeyi ile kitosanın reaksiyona girmesini sağlayan daha yüksek bir yüzey alanı ve yük yoğunluğu nedeniyle belirgin antibakteriyel etkiye sahiptir (74).

Diş hekimliğinde *Candida albicans*'a karşı % 0.1 CHX içeren % 2 kitosan jelinin antifungal etkisi gösterilmiştir ve kanal içi ilaç olarak kalsiyum hidroksit $Ca(OH)_2$ patına ilavesinin uzun süreli kalsiyum iyonu salınımını teşvik ettiği gösterilmiştir. Silva ve arkadaşlarının kitosanın smear tabakasını kaldırma etkisini farklı irrigasyon solüsyonlarıyla karşılaştırdıkları çalışmada; % 15 EDTA, % 0.2 kitosan ve % 10 sitrik asitin, kök kanallarının orta ve apikal üçte birinden smear tabakasını etkili bir şekilde uzaklaştırdığı, buna ek olarak, % 15 EDTA ve % 0.2 kitosan, kök dentin demineralizasyonu üzerindeki en büyük etkiye, ardından % 10 sitrik asit ve % 1 asetik asitin bunu izlediği bildirilmiştir (55).

2.7.10 Propolis

Propolis, antibakteriyel, antifungal ve iyileştirici özellikleriyle bilinen; bal arıları tarafından toplanan, flavonoidler, steroidler, amino asitler, terpenler, fenolik ve

aromatik bileşiklerden oluşan kahverengi reçineli bir karışımdır (75). Propolisin biyolojik aktivitesi esas olarak hidroksikinnamik asitlerin türevleri ve flavonoidler ile ilişkilidir. Flavonoidler, aromatik bir halkaya doğrudan bağlı bir hidroksil radikali içeren fenolik bileşiklerdir ve antioksidan, antibakteriyel, antifungal, antiviral ve anti-inflamatuar özelliklere sahip iyi bilinen bitki bileşikleridir. Propolis; bakteri RNA polimerazını inhibe edebilmesi nedeniyle antibakteriyeldir; serbest radikal oluşumunu engelleme veya inhibe etme kabiliyeti nedeniyle immüno-modülatör, antioksidan ve iyileştirici bir ajandır. Flavonoidler (quercetin, galangin ve pinocembrin), kafeik asit, benzoik asit ve sinamik asit muhtemelen mikrobiyal membran veya hücre duvarında işlev gösterebilir ve işlevsel ve yapısal hasarlara neden olabilir. Propolis içerisinde kafeik asit gibi aromatik bileşikler, antimikrobiyal ve antibakteriyel, anti-inflamatuar, immünomodülatör ve hepatoprotektif olarak bilinirler (76).

Propolisin $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 'ye göre 10 kat daha az sitotoksik olduğu gösterilmiştir (55, 74). Ong ve arkadaşları tarafından geliştirilen kitosan-propolis nanoformülasyonu *E. faecalis*'in biyofilm oluşumunun yanı sıra bakteri üremesini de engellemiş; virülans ve biyofilm oluşumundan sorumlu genlerin yapısını değiştirerek, bakterilerin biyofilm oluşumunu sağlayan ve böylece onları tedaviye duyarlı hale getiren karakteristik özelliklerini kaybetmesine neden olmuştur (75).

2.8 Kök Kanal Mikroflorasını İncelemek İçin İn Vitro Bakteriyel Biyofilm Modelleri

Laboratuvar modelleri farklı deneysel amaçlar için doğal biyofilmleri taklit etmede kullanılır. Bu *in vitro* biyofilmlerin, öngörülebilir yapı ve davranışa sahip standartlaştırılmış biyofilm modellerinin elde edilmesinde kontrolü ve kullanımı kolaydır. Geleneksel biyofilm modelleri, statik büyüme koşullarındaki monokültürlerden, dinamik büyüme koşullarındaki çeşitli karışık kültürler kadar çeşitlilik gösterir. Statik biyofilm modelleri, biyofilmleri büyütme için farklı substratlar (örneğin cam, polikarbonat, silikon, hidroksilapatit, nitroselüloz, emaye, dentin) kullanırken, dinamik biyofilm modelleri belirli bir substrat üzerinde biyofilmleri büyütme için reaktör veya fermantasyon sistemlerini kullanır. Hem aerobik hem de anaerobik ortamlar, *in vitro* biyofilm gelişimi için kullanılabilir.

In vivo koşulların genellikle dinamik olduğu göz önüne alındığında, biyofilm formatını statik koşullar altında değerlendiren araştırmalar, araştırma sorusuna bağlı olarak yanıltıcı olabilir.

Bu *in vitro* bakteriyel biyofilm modelleri:

(i) Belirli bakteri türlerinin herhangi bir biyomateryal yüzeye yapışmalarını incelemek;

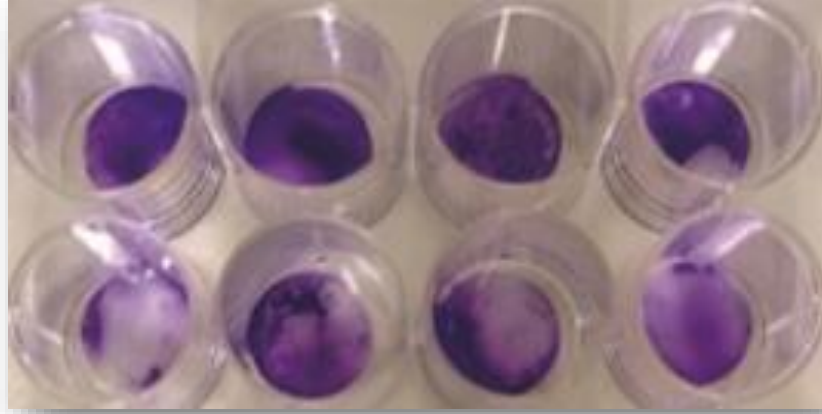
(ii) Belirli bir substrat üzerindeki erken mikrobiyal biyofilm oluşumunun doğasını ve modelini incelemek;

(iii) Farklı biyofilm bakterileri ve konak immün hücreleri arasındaki etkileşimi incelemek ve

(iv) Antimikrobiyal ajanların veya antimikrobiyal tedavi stratejilerinin etkinliğini test etmek için kullanılır.

Son yıllarda, inokulumda mikrobiyal konsantrasyon, inkübasyon süresi, büyüme koşulları ve substrat özellikleri de dahil olmak üzere, adezyon deneylerini gerçekleştirirken birtakım parametrelerin önemli olabileceği ortaya çıkmıştır. Planktonik ve biyofilm bakteriler ile yapılan deneylerden elde edilen bulgular, planktonik ve biyofilm bakterileri arasında öldürme dinamikleri açısından büyük farklılıklar ortaya çıkarmıştır (77).

Mikro Titreşimli Plak (MTP) Analizi; yararlı ve sürekli olarak kullanılan biyofilm model sistemleridir. Sistem kapalıdır; bu nedenle, deney sırasında reaktör içine veya dışına akış yoktur. Sonuç olarak, deneysel modeldeki ortam, örneğin besin maddeleri ve moleküllerin varlığı bakımından değişir. Mikro titreşimli tabakalı sistem; aynı anda farklı testler yapmak için kullanılır; bu, biyofilm dezenfeksiyonu ve uzaklaştırılması için yöntemlerin hızlı taranması için ideal olabilir. Mikro titreşim tabakaları ile biyofilm kantifikasyonu, biyokütle tayinleri, canlılık tayini ve matris kantifikasyon tayinleri olarak kategorize edilebilir (78, 79). Bu sistemin kurulumu kolaydır, ucuzdur ve yüksek verimli tarama için oldukça elverişlidir. Bu tahlilin başlıca kısıtlaması, bitmiş ve biyofilmlerin tam olgunlaşmasını önleyebilen büyüme ortamının sınırlandırılmasıdır (80).



Şekil 2.5: Mikrotitreşimli plaka sistemi. Kristal viyole adere biyofilmin boyanmasında kullanılır.

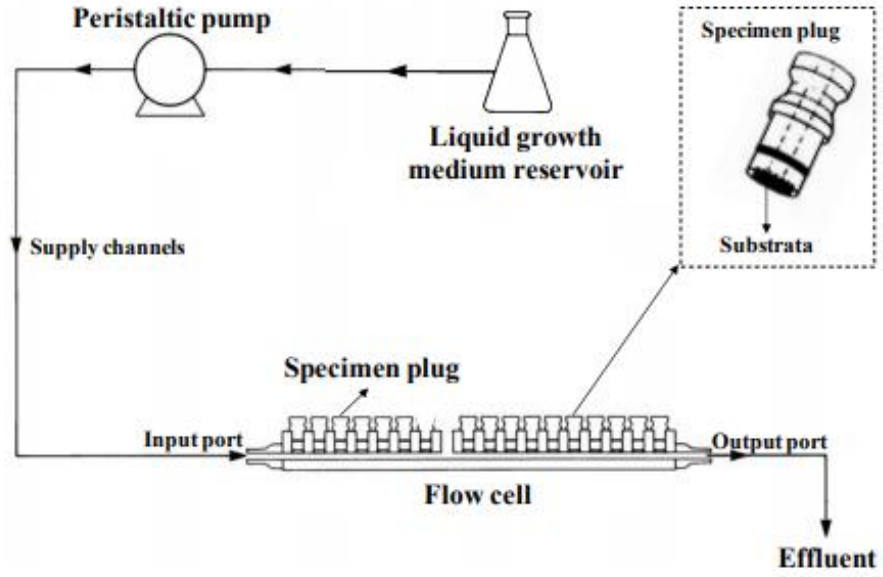
Calgary Biofilm Cihazı, biyofilmlerin antibiyotik duyarlılığını belirlemek için hızlı bir teknoloji olarak tanıtıldı ve MBEC Testi (“Minimal biyofilm eradikasyon konsantrasyonu” testi) olarak ticarileştirilmiştir. Bu sistemde, sabitleyiciler bir mikrotitre levhanın üst kapağına tutturulur ve mikrotitre plakası kapatılarak, bu mandallar 96 çukurlu MTP'nin çukurlarında bulunan ortam içine batırılır. Biyofilm büyümesinin ardından, kapak çeşitli (antibiyotik) çözeltiler içeren ikinci bir plakaya aktarılabilir. İşlemden sonra, üst kapak, yeniden büyümeyi sağlamak için ortam içeren yeni bir mikrotitre plakasına aktarılabilir ya da sabitleyiciler üst kapaktan kesilebilir. Biyofilm biyokütlesi veya biyofilmde bulunan sesil hücrelerin sayısı; geleneksel canlı plaka sayımı veya mikroskopik teknikler kullanılarak ölçülebilir. Bu hızlı ve minyatürize edilmiş biyofilm analizi, çeşitli antimikrobiyal ajanların biyofilm eradikasyonu üzerindeki etkilerini değerlendirmek için uygulanmaktadır (81).

Koloni biyofilmleri, agar petri plakalarının yüzeyine yerleştirilen filtreler üzerinde yetiştirilmektedir. Filtreler daha sonra düzenli aralıklarla taze ortama aktarılır ve biyofilmlere yarı sürekli bir taze besin kaynağı verir. Bu yaklaşımın en büyük avantajı, ucuz biyofilmlerin ucuz laboratuvar materyalleri kullanılarak büyümesinin kolay olmasıdır. Bu yaklaşımı kullanarak oluşturulan biyofilmler genellikle kalındır. Koloni biyofilmlerinde diferansiyel boyama kullanılarak biyofilmlerin heterojenitesi hakkında bilgi elde edilmektedir. Ek olarak koloni biyofilmleri, biyofilmler içindeki

gen ekspresyonu heterojenitesini belirlemek için yararlı olmuştur. Koloni biyofilmleri ayrıca, model biyofilmler aracılığıyla antibiyotiklerin difüzyon hızını tahlil etmek için kullanılmıştır. Bu biyofilmlerin dezavantajı, sürekli bir ortam akışı olmadığından, bakterilerin bir yüzeye veya matris malzemesine yapışmaya zorlanmamasıdır. Yıkama olmadığından, planktonik hücreler biyofilm analizlerine müdahale edebilir (82).

Akış yer değiştirme biyofilm model sistemleri'nde büyüme için gerekli olan besin maddelerini içeren büyüme ortamı sabit bir oranda eklenir; atık ürünler ve biyofilm toksinleri aynı anda çıkarılır. Akış deplasmanı kavramı, makromoleküler bileşenlerin ilk filminin mikrobiyal adezyona izin vermek için bir yüzey üzerinde oluşturulması gerektiği öncülüne dayanmaktadır. Sıvı akışı optimal bir şekilde mikrobiyal hücrelerin herhangi bir biyofilmin karakteristik bir özelliği olan bir substrata yapışmasını sağlar. Kontrollü hidrodinamik şartlarla gerçekleştirilen paralel tabakalı akış odası kullanan deneylerin mikrobiyal adezyon için ideal akış hızları sunacağı ve teknik değişkenleri azalttığı öne sürülmüştür. Bu aynı zamanda, farklı laboratuvarlarda çalışma tasarımlarının tekrarlanabilirliğinde de yardımcı olur (79).

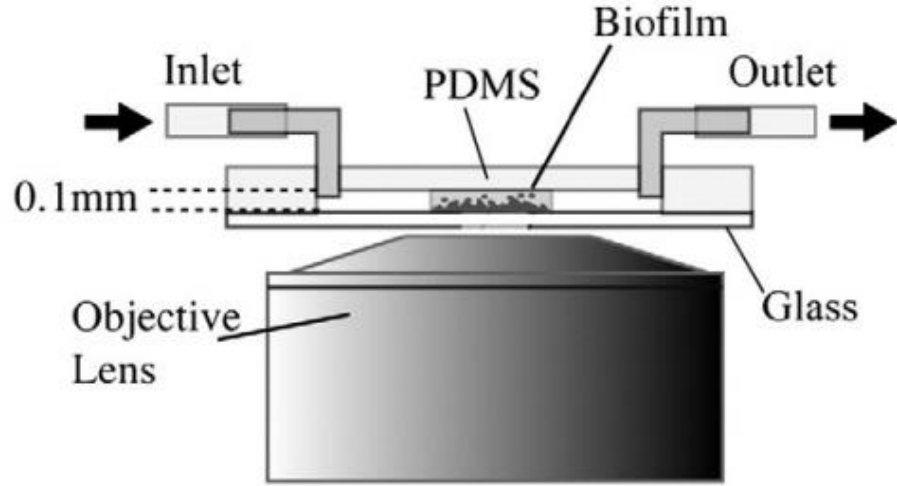
Modifiye Robbins cihazı, sıvı akışına maruz bırakılan sürekli bir biyofilm oluşumu olan bir cihazdır (83). Bu cihaz biyofilm büyümesi için substrat olarak silikon veya hidroksiapatit diskleri kullanılabilir, mikrobiyal büyümeyi destekleyen veya inhibe eden ajanlar eklenebilir. Bu sistemin en büyük avantajı, aynı deneyde birden fazla antibiofilm ajanının değerlendirilmesine izin vermesidir. Bu cihaz aynı zamanda değiştirilebilir ve akış cihazlarıyla birlikte kullanılabilir (84). Modifiye Robbins cihazı, plastik veya paslanmaz çelikten imal edilebilir ve dikdörtgen kesitli bir kanal boyunca bir doğrusal dizi içinde bir dizi ayrı port içerir. Her port üzerinde biyofilmin olduğu diski tutan basınçla sıkışan tıpa bulunur. Tipik bir deneyde, Modifiye Robbins cihazı bir mikroorganizma süspansiyonu ile doldurulur ve disklere planktonik hücrelerin yapışmasını geliştirmek için çevrilir. Cihazlar inokulum süspansiyonları ile doldurulduktan sonra, giriş ve çıkış tarafındaki boru kelepçelenir ve giriş tarafındaki borudaki geri kalan hücre süspansiyonu baypastan dışarı atılır. Adezyon fazından sonra, cihazlar geri çevrilir, kelepçeler gevşetilir ve pompa, diskler üzerinde büyüme ortamının ve biyofilm gelişiminin sürekli bir akışını sağlamak için başlatılır (81).



Şekil 2.5: Modifiye Robins Cihazı şematik görünümü(85)

Akış hücresi sistemi en çok kullanılan dinamik modellerden biridir. Büyüme ortamının içinden aktığı sabit derinlikte şeffaf bir odadan oluşur. Giriş borusu, büyüme ortamını tedarik eder ve çıkış borusu, ortamı bir atık haznesine akıtır. Büyüme ortamı, ortamın akış hızını kontrol eden bir peristaltik pompa yardımıyla hücre içinden geçirilir. Bir mikroskop, CCD kamera veya Konfokal Lazer Tarama Mikroskobu (CLSM) ile birlikte, bu yöntem biyofilm oluşumundaki ilk olayları gerçek zamanlı olarak gözlemlemek için kullanılabilir.

Mikroakışkan Cihaz; hücre-sıvı hacim oranları ve akış hızlarında biyofilm oluşturması nedeniyle, biyofilm araştırmalarında popüler bir yöntem haline gelmektedir. Ayrıca, odanın küçük olması nedeniyle, sıkı kontrol edilen koşullar altında biyofilmin tek bir hücre çözünürlüğü analizine izin verir. Özünde, bu cihaz, küçük bir çip üzerinde az miktarda sıvı kullanarak kimyasal tahlillerin analizine izin verir. Böyle bir yaklaşım, polimeraz zincir reaksiyonu, protein analizi ve DNA dizilimi gibi teknikler açısından çok faydalı olabilir. Bu yaklaşımda biyofilmlerin analizi açısından, floresan boyama gibi yöntemleri kullanarak niceleme ile ilgili özel zorluklar vardır. Bu açıdan ilginç bir gelişme, biyofilmlerin biyolojik hacmini nicel olarak incelemek için sürekli konfokal refleksiyon mikroskopisi olarak adlandırılan modifiye konfokal refleksiyon mikroskopik yaklaşımın uygulanması idi (79).



Şekil 2.6: Mikroakışkan Cihaz(86).

2.9 Biyofilm analizleri

Biyofilm analizleri, mikroorganizmanın sayısı ve türü, yerleşik mikrobiyal nüfusun canlılığı (ölü / yaşayan hücreler), yaş, kalınlık (tek katmanlı veya çok katmanlı), yapı (homojen, düzensiz, yoğun, gözenekli) ve biyofilmlerin yüzey topografisi gibi faktörleri karakterize etmek için kullanılır (77). Kök kanallarındaki bakterilerin sayısının belirlenmesinde, kök kanallarından paper pointlerle örnekler alınarak indirekt olarak ‘dilüsyonla sayma yöntemi’, pulvarizasyon sonrası ‘dilüsyonla sayma yöntemi’, kültürlerin bulanıklığı doğrultusunda bakteri sayısının belirlendiği ‘türbidimetrik yöntem’ (spektrofotometre), ve direkt olarak TEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) ve CLSM (Konfokal Laser Taramalı mikroskobu) ile bakteri sayısının tespit edildiği yöntemler mevcuttur (87-93).

Pulvarizasyon (köklerin dondurulduktan sonra parçalanması) sonrası ‘dilüsyonla sayma yöntemi’ nde, örnek dişler pulvarize edildikten sonra, elde edilen dentin tozları serum içeren ependorf tüplerine aktarılmaktadır. Tüpler vortex cihazı ile çalkalandıktan sonra içerlerinden paper pointler ile örnek alınarak ‘dilüsyonla sayma yöntemi’ ne göre ölçümler yapılmaktadır. Pulvarizasyon yönteminin kullanılmasının amacı sadece ana kanallardaki değil aynı zamanda anatomik farklılıklardaki ve dentin

kanallarındaki mikroorganizmaları da elde etmektir (90). Yalnızca çekilmiş dişlere uygulanabiliyor olması dezavantajıdır (94).

Direkt olarak *in vitro* örneklerde veya histolojik kesitlerde biyofilm analizlerinde kullanılan temel teknik ışık mikroskobudur. Nispeten ucuz, kullanımı basit, hızlı ve kolay kullanılabilir bir yöntemdir. Farklı mikroskobik yöntemler, bakterilerin substratlara yapışmasını, biyofilmlerin yapısını ve bir biyofilm yapısındaki bakterilerin dağılım / tip / yaşayabilirliğini değerlendirmek için kullanılmıştır. Mikroskobik yöntemde, bakteriyel biyofilm, floresan (örneğin propidyum iyodür) veya doğada floresan olmayan (örneğin safranin) uygun bir boya ile boyanır. Yüksek çözünürlüklü ışık mikroskobu, bir substrat yüzeyindeki bakteri hücrelerinin miktarını sağlar (77).

Sıvı besi yerlerindeki bulanıklığı tayin etmek için fotoelektrik türbidimetre (spektrofotometre) kullanılmaktadır. Bu aletin esası ışık üzerine kurulmuştur. Bir ortam ne kadar berrak olursa, o kadar fazla ve ne kadar bulanık olursa, o kadar az ışık geçirir. Bulanıklık sayesinde de üremenin meydana gelip gelmediği ve derecesi öğrenilmektedir (88).

Taramalı Elektron Mikroskobu (TEM); bir bakterinin hücre yüzeyi veya hücre zarı hasarının tanımlanması gibi morfolojik yapıların detaylı analizinin yanı sıra, nitelikli bilgi elde etmek için mikrobik ekosistemlerin taranmasını sağlar. Ayrıca, ekosistemlerde yapısal değişiklikleri tespit ederek hücre-hücre etkileşimlerinin analizine olanak tanır. Bununla birlikte, bu mikroskopi yöntemi numune preparasyonunun, genellikle ekstrasellüler polimerik matrisinin bozulmasına neden olan yüksek vakum koşullarını içermektedir (79).

Son yıllarda CLSM plağın gerçek yapısını ve biyofilm içindeki seçilmiş bakterilerin yerini belirlemek için kullanılmaktadır. Bu yöntem ekosistemlerin tahribatsız incelenmesine ve hücresel ölçekte hidrate boyutsal düzenlemeye izin verir. CLSM kullanımı, biyofilmlerdeki organizmaların floresan boyalar ile boyanmasını gerektirir. Floresan markerların kullanımı, belirli hücrelerin veya ekstrasellüler matrisin belirli bileşenlerinin işaretlenmesine izin verir. Bu boyalar, belirli dalga boylarında ışık yayar ve belirli hücresel fonksiyonları araştırmak için kullanılır. Belirli

boyaların [örn. canlı / ölü boyalar] kullanılması, canlı veya ölü bakterilerin genellikle yeşil veya kırmızı flüoresans sinyalleri ile gösterilmesine izin verir(95).

STED (Uyarılmış Emisyon Azaltımı), PALM (Foto Aktive Lokalizasyon Mikroskopisi) ve SIM (Yapısal illuminasyon Mikroskopisi) biofilm analizinin yapıldığı çözünürlük açısından bazı sınırlamaları olan yeni mikroskopik tekniklerdir(79).

Kolorimetrik analiz, biyofilmdeki bakteriyel hücreler tarafından boya alımına dayanan yarı kantitatif bir yöntemdir. Bu analizde, bakteri biyo-filminin bir boya (ör., Kristal viyole) ile boyanmasından sonra, bilinen bir miktar alkol veya bir sürfaktan (sodyum dodesil sülfat) kullanılarak bozular ve çıkarılan boyanın yoğunluğu bir spektrofotometre kullanılarak ölçülür. Bu, biyofilm bakterilerinin hızlı bir şekilde ölçülmesini sağlayan kolay bir testtir. Bununla birlikte, bu testin bazen yorumlanması zor olabilir çünkü ölçülen absorbans / optik yoğunluk bakteri sayısının bir yansımasıdır ve biyofilm yapısındaki EPS'nin gerçek bir göstergesi değildir. Cam tüpler ve mikrotitre plakaları geleneksel olarak *in vitro* biyo-filmler yetiştirmek için kullanılmış olsalar da, gelişmekte olan biyofilmde tutarsızlık ve standardizasyon eksikliği artan endişeye neden olmuştur (77).

Mikrobiyolojik bir yöntem olan kültür metodu canlı bakteri sayısının tespit edilmesi için kullanılan klasik bir yöntemdir. En çok kullanılan yöntemlerden biridir. Bu yöntemin prensibi mikroorganizmaların katı besiyerinde koloni oluşturması ve bu kolonilerin sayılarak örnekteki mikroorganizma sayısının (CFU/ml) hesaplanması şeklindedir. CFU ölçümü, substrata yapışan veya biyofilm yapısı içinde büyüyen canlı bakterilerin miktarı hakkında bilgi sağlar. CFU, koloniler oluşturmak için yeterli oranda hücre bölünmesini başlatabilen ve büyüme gereksinimleri; kullanılan kültür ortamı tarafından desteklenen bakterileri algılayabilir (77). Birçok çalışmada paper pointle kök kanallarından örnek alınarak mikrobiyolojik olarak 'dilüsyonla sayma yöntemi' tercih edilmiştir. Yöntemin kullanılması çok basittir ve net veriler elde edilebilmektedir (87, 92, 93).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Kök kanal tedavisinde irrigasyon amacıyla kullanılan 5 farklı irrigasyon solüsyonunun antibakteriyel etkinliklerini değerlendirmek amacıyla planlanan bu çalışmaya, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Klinik Araştırmalar ve Etik Kurulu tarafından verilen 2018-155 no'lu etik kurul onayı alınarak başlanmıştır (Bkz.EK-1). Çalışmanın örnek hazırlanma kısmı ve irrigasyon protokollerinin uygulanması Abant İzzet Baysal Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nde, mikrobiyolojik deneyler kısmı Abant İzzet Baysal Üniversitesi Mühendislik Fakültesi'nde gerçekleştirilmiştir.

3.1 Örnek Seçimi ve Hazırlanması

Bu çalışmada ortodontik veya periodontal nedenlerle çekilmiş 120 adet çürüksüz daimi insan mandibular premolar dişleri kullanılmıştır. Çalışmada kullanılacak dişlerin çalışmaya dahil edilme kriterleri ise şu şekilde belirlenmiştir:

1. Periodontal veya ortodontik nedenlerle çekim endikasyonu konulmuş, tek kök, tek kanallı çürüksüz dişler,
2. Kök kanal gelişimini tamamlamış dişler,
3. Kök kanalında herhangi bir anatomik varyasyon olmayan dişler,
4. Birden fazla kanal, rezorpsiyon, kalsifikasyon, apikal kurvatur içermeyen dişler,
5. Kanal ağzından foramen apikaleye kadar kanal devamlılığı olan dişler

Bu şartları sağlayan dişlerin elde edilmesi ve çalışmada kullanılabilmesi amacıyla, dişlerden öncelikle bukkal-lingual ve mezio-distal yönlerden radyografları alınmış ve dahil edilme kriterlerini taşımayan dişler çalışmadan çıkarılmıştır. Dişlerin üzerindeki doku ve artıklar temizlendikten sonra çalışmanın yapılacağı zamana kadar oda sıcaklığında %0,9'luk serum fizyolojik solüsyonunda saklanmıştır.

Dişlerin koronal kısımları mine-sement birleşim seviyesinden aşağıda ve her bir kökün boyu 15 mm olacak şekilde su soğutması altında separe kullanılarak standardize edildi. Daha sonra kök kanallarına #10 K tipi el aletleri ile girilerek kanal

yolu belirlenmesi yapıldı. Kanal aletinin ucu apikal açıklıkta görülene kadar ilerletildi; bu uzunluktan 1 mm çıkarılarak çalışma boyu belirlendi. ProTaper Next (Densply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) Ni-Ti eğeleri ile preparasyon son eğe X3 (30/0.06) olacak şekilde tamamlandı. Her eğe arasında 27G dental enjektör kullanılarak çalışma boyunda 2 ml %5,25'lik NaOCl (Chloraxid, Stalowa Wola, Polonya) ile irrigasyon yapıldı.



Şekil 3.7: ProTaper Next Eğeleri

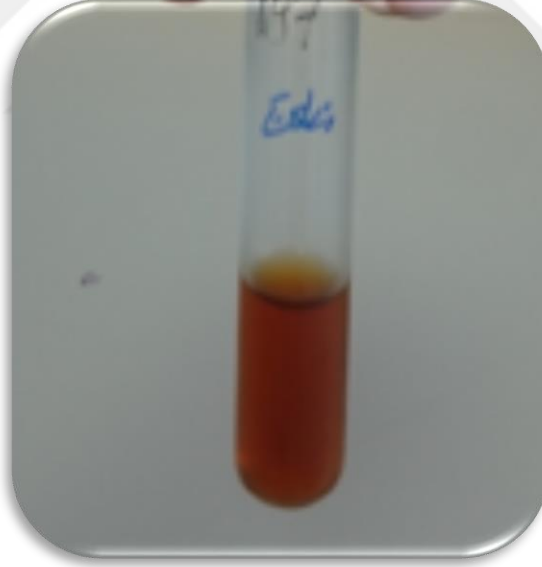
Kök kanallarında preparasyon sırasında oluşan smear tabakasını kaldırmak için kökler sırasıyla %17'lik EDTA(MD-Cleanser, Chungcheongbuk-do, Kore), % 5,25'lik NaOCl ve distile su kullanılarak irrigate edildi. Ardından kağıt konularla kurulandı. Her dişin apikal forameni bakteri sızıntısı ve irrigan taşmasını önlemek için ışık ile sertleşen kompozit rezin (Estelite Sigma Quick, Tokyo, Japonya) ile kapatıldı. Mikrobiyolojik uygulamaların kolay yapılabilmesini sağlamak için dişler, silikon ölçü maddesi (Zetaplus, Badia Polesine, İtalya) kullanılarak eppendorf tüplerinin içerisine sabitlendi. Eppendorf tüplerine yerleştirilen dişler otoklav poşetine yerleştirildikten sonra 121 °C'de 20 dakika sterilize edildi.



Şekil 3.8: Eppendorf tüpüne yerleştirilip sterilize edilen örnek

3.2 Kök Kanallarına Bakteriyel İnokülasyonu

Bu çalışmadaki tüm mikrobiyolojik işlemler aseptik koşullar altında, bir laminar flow kabininde gerçekleştirildi. Çalışmada test bakterisi olarak ATCC'ye kayıtlı standart suşlardan *E. faecalis* (ATCC 29212) suşu kullanıldı.



Şekil 3.9: *E. faecalis* (ATCC 29212) suşu

37 °C'de 24 saat inkübe edilerek kültürleri hazırlandı. Hücre sayıları optik yoğunluklarına bakılarak besi ortamının mL'sinde 10^8 hücre içerecek şekilde McFarland No: 0.5 standardına göre karşılaştırılarak ayarlandı. Eppendorf tüplerinin içerisindeki dişlerin kanallarına tüberkülin şırıngası yardımıyla ekim yapıldı. Kültür koşullarını sabit tutmak ve beslenme desteği sağlamak için, 72 saatlik aralıklarla bu

süreç tekrarlandı; her zaman hazırlanan ve McFarland No: 0.5 standardına göre ayarlanmış 24 saatlik saf kültürler kullanıldı. İnkübasyon sırasında sıcaklık 37 ° C'de sabit tutuldu. 7 gün sonra *E.faecalis* ile enfekte edilen dişlerin bulunduğu eppendorf tüpleri açıldı ve deneysel irrigasyon solüsyonlarıyla irrigasyon işlemine geçildi.

Deneyde kullanılan irrigasyon solüsyonları şunlardır:

- %5.25 Sodyum hipoklorit (NaOCl)
- % 17 Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA)
- % 2 Klorhesidin (CHX)
- Doctor Mady Bitkisel Çamaşır Suyu
- U Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu
- Seventh Generation Klorsuz Çamaşır Suyu

3.3 Deneysel Prosedürler

Çalışmada tüm solüsyonlar kullanıma hazır olarak yukarıda her biri için ayrı ayrı verilen üretici firmalardan temin edilmiştir. Daha sonra kökler çalışma dizaynına uyacak şekilde 2 adet kontrol (pozitif ve negatif) ve 6 adet deney grubu olmak üzere ve her bir grupta 15'er adet örnek olacak şekilde toplam 8 gruba ayrıldı.

Tablo 3.1: Deney ve kontrol grubundaki örneklerin dağılımı

Deney grubu	<i>Enterococcus</i> <i>E.faecalis</i> (n)
Pozitif kontrol	15
Negatif kontrol	15
%5.25 NaOCl	15
% 17 EDTA	15
%2 CHX	15
Doctor Mady Bitkisel Çamaşır Suyu	15
U Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu	15
Seventh Generation Klorsuz Çamaşır Suyu	15
Toplam	120

Pozitif kontrol grubu: *E.faecalis* ile enfekte edilen dişler plastik şırınga ve 27-gauge iğne kullanılarak 10 mL serum fizyolojik ile irrigate edildi.

Negatif kontrol grubu: Steril dişler plastik şırınga ve 27-gauge iğne kullanılarak 10 mL serum fizyolojik ile irrigate edildi.

% 5.25'lik NaOCl grubu: *E.faecalis* ile enfekte edilen dişler plastik şırınga ve 27-gauge iğne kullanılarak 10 mL % 5.25'lik NaOCl ile irrigate edildi.



Şekil 3.10: %5,25'lik NaOCl solüsyonu

%17'lik EDTA grubu: *E.faecalis* ile enfekte edilen dişler plastik şırınga ve 27-gauge iğne kullanılarak 10 mL %17'lik EDTA ile irriga edildi.



Şekil 3.11: %17'lik EDTA solüsyonu

%2'lik CHX (Werax, İzmir, Türkiye) grubu: *E.faecalis* ile enfekte edilen dişler plastik şırınga ve 27-gauge iğne kullanılarak 10 mL %2'lik CHX ile irriga edildi.



Şekil 3.12: %2 'lik CHX solüsyonu

Doctor Mady Bitkisel Çamaşır Suyu (Uzay Kimya, İstanbul, Türkiye) grubu: *E.faecalis* ile enfekte edilen dişler plastik şırınga ve 27-gauge iğne kullanılarak 10 mL Doctor Mady Bitkisel Çamaşır Suyu ile irrigate edildi.



Şekil 3. 13: Doctor Mady Bitkisel Çamaşır Suyu

U Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu (Uzay Kimya, Esenyurt, İstanbul) grubu: *E.faecalis* ile enfekte edilen dişler plastik şırınga ve 27-gauge iğne kullanılarak 10 mL U Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu ile irrigate edildi.



Şekil 3.14 U Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu

Seventh Generation Klorsuz Çamaşır Suyu (Seventh Generation, Burlington, ABD) grubu: *E.faecalis* ile enfekte edilen dişler plastik şırınga ve 27-gauge iğne kullanılarak 10 mL Seventh Generation Klorsüz Çamaşır Suyu ile irrije edildi.



Şekil 3.15: Seventh Generation Klorsuz Çamaşır Suyu

3.4 Mikrobiyolojik İşlemler

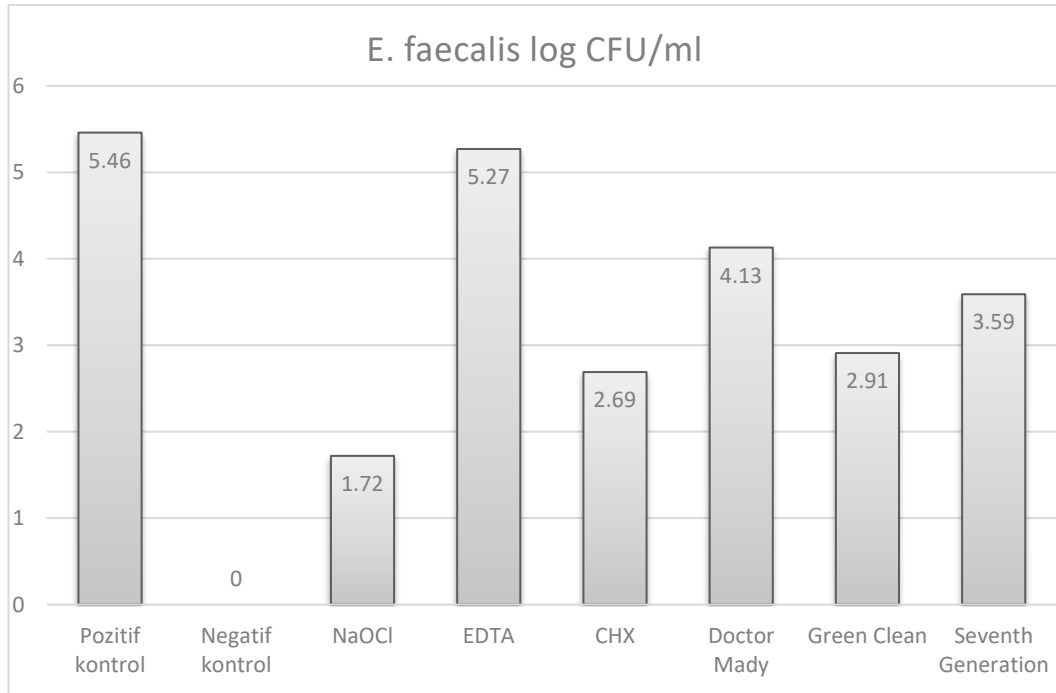
Tüm grupları standardize etmek için, kök kanalları 30 saniye boyunca 5 mL serum fizyolojik ile irriga edildi. Ardından kanallardan 3 steril kağıt kon ile örnek alındı ve bu konlar 1mL serum fizyolojik içeren steril eppendorf tüplerine yerleştirildi. Kanalların içerisinde 300 rpm hız ve 2.2 Ncm torkla ProTaper Next F3 eğesi ile çalışma uzunluğunda 3 gagalama ile ortalama 5 sn süresince örnek alındı. Steril koşullar altında, eğeler 1 mL serum fizyolojik içeren kağıt konların yerleştirildiği steril eppendorf tüplerine aktarıldı ve her tüp 20 saniye vortekslendi.

Her örnek için 7 defa 10'lu seri dilüsyon yapıldı. İlk steril tüpe 900 µL MRD (Maximum Recovery Diluent, Merck, Darmstadt, Almanya) ve 100 µL hazırlanan örnekten eklendi. 1 dakika vortekslendi. Bu işlem 10^{-7} dilüsyona kadar tekrarlandı. Dilüsyon sonrası son 3 dilüsyondan (10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7}) 100µL alınarak TSA (Tyryptic Soy Agar, Merck Darmstadt, Almanya) plaklarına yayma yöntemi ile homojen ekim yapıldı ve drigalski spatülü ile yayıldı. 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Daha sonra TSA'da gelişen koloniler sayılarak CFU/mL CFU (colony forming units) hesaplaması yapıldı.

4.BULGULAR

Bu çalışmada *E. faecalis* ile kontamine edilmiş kök kanallarına NaOCl, CHX, EDTA ve üç farklı organik çamaşır suyu Doctor Mady, Green Clean ve Seventh Generation uygulandıktan sonra antibakteriyel etkinlikleri karşılaştırılmış ve elde edilen bulgular değerlendirilmiştir. Kök kanallarında dezenfeksiyon işlemi uygulandıktan sonra üreyen bakteri kolonileri sayılmış ve istatistiksel incelemeleri SPSS 19 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir (IBM SPSS Statistics 19, SPS inc., an IBM Co., Somers, NY). İstatistiksel incelemelerde verilerin değerlendirilmesinde Tek yönlü varyans analizi, çoklu karşılaştırmalarda post-hoc Tukey HSD testi kullanılmıştır. İncelemeler üzerinden deney ve kontrol grupları arasında kıyaslamalar yapılmış, çizelge ve şekillerle gösterilmiştir.

E. faecalis ile kontamine edilmiş diş köklerinde, gruplardaki dezenfeksiyon işlemleri sonrası ortalama bakteri koloni miktarları ' \log_{10} CFU/mL' ve geometrik ortalama 'CFU/ml' olarak Tablo 4. 2'de gösterilmiştir. Gruplara göre logCFU/mL dağılımı ise Şekil 4.16'de gösterilmiştir.

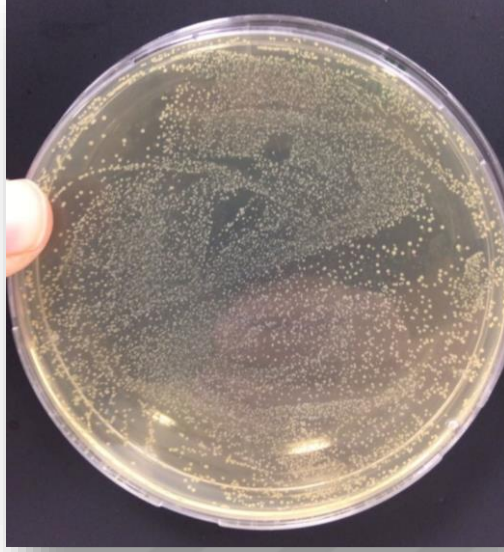


Şekil 4.17: Deney ve kontrol gruplarındaki mikroorganizma (*E.faecalis*) miktarlarının dağılımı

Tablo 4. 3: *E.faecalis* ile kontamine edilmiş diş köklerinde, gruplardaki dezenfeksiyon işlemleri sonrası sayılan ortalama bakteri koloni miktarları (cfu/mL)

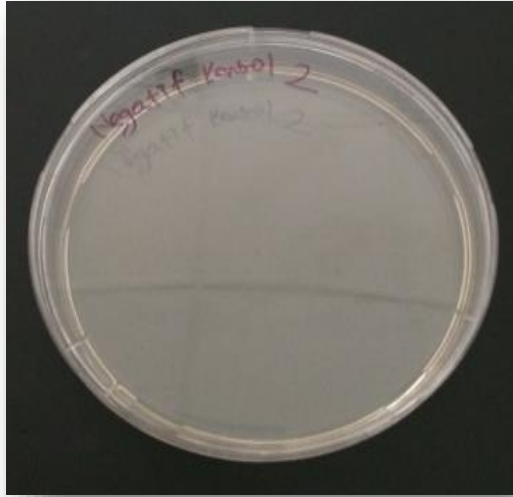
Deney ve kontrol grupları	<i>E.faecalis</i> LogCFU/ml	<i>Enterococcus</i> <i>Faecalis</i> CFU/ml	
	Ort±SS	Geometrik Ortalama	
Pozitif kontrol	5,46±0,55	289394,5374	a
Negatif kontrol	0	0	f
NaOCl	1,72±0,55	0	bf
EDTA	5,27±0,56	186102,2613	a
CHX	2,69±0,59	0	bcf
Doctor Mady Bitkisel Çamaşır Suyu	4,13±0,99	13390,4298	d
U Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu	2,91±1,24	806,0590	be
Seventh Generation Klorsuz Çamaşır Suyu	3,59±1,07	3890,3950	cde

E. faecalis ile enfekte edilen tedavi uygulanmayan pozitif kontrol grubunda üreyen koloni miktarının $5,46 \pm 0,55 \log_{10} \text{CFU/mL}$ olduğu görüldü. Bu sonuçlara göre pozitif kontrol grubunda üreyen koloni geometrik ortalaması 289394,5374 olarak hesaplandı.



Şekil 4. 18: Pozitif kontrol grubundan rastgele seçilen bir örneğin besiyeri üzerindeki *E. faecalis* görüntüleri.

E. faecalis ile enfekte edilmeyen tedavi uygulanmayan negatif kontrol grubunda herhangi bir üreme olmadı.



Şekil 4. 19: Negatif kontrol grubundan rastgele seçilen bir örneğin besiyeri üzerindeki *E. faecalis* görüntüleri.

E. faecalis ile enfekte edilen NaOCl uygulanan deney grubunda üreyen koloni miktarının $1,72 \pm 0,55 \log_{10} \text{CFU/mL}$ olduğu görüldü. Bu sonuçlara göre NaOCl uygulanan deney grubunda üreyen koloni geometrik ortalaması 0 olarak hesaplandı.

E. faecalis ile enfekte edilen EDTA uygulanan deney grubunda üreyen koloni miktarının $5,27 \pm 0,56 \log_{10} \text{CFU/mL}$ olduğu görüldü. Bu sonuçlara göre EDTA uygulanan deney grubunda üreyen koloni geometrik ortalaması 186102,2613 olarak hesaplandı.

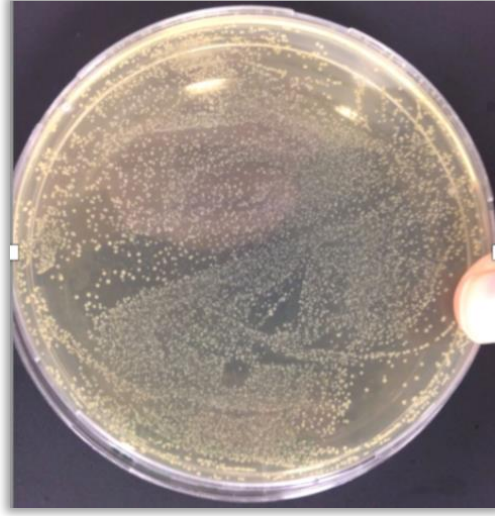
E. faecalis ile enfekte edilen CHX uygulanan deney grubunda üreyen koloni miktarının $2,69 \pm 0,59 \log_{10} \text{CFU/mL}$ olduğu görüldü. Bu sonuçlara göre CHX uygulanan deney grubunda üreyen koloni geometrik ortalaması 0 olarak hesaplandı.

E. faecalis ile enfekte edilen Doctor Mady Bitkisel Çamaşır Suyu uygulanan deney grubunda üreyen koloni miktarının $4,13 \pm 0,99 \log_{10} \text{CFU/mL}$ olduğu görüldü. Bu sonuçlara göre Doctor Mady Bitkisel Çamaşır Suyu uygulanan deney grubunda üreyen koloni geometrik ortalaması 13390,4298 olarak hesaplandı.

E. faecalis ile enfekte edilen U Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu uygulanan deney grubunda üreyen koloni miktarının $2,91 \pm 1,24 \log_{10} \text{CFU/mL}$ olduğu görüldü. Bu sonuçlara göre U Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu uygulanan deney grubunda üreyen koloni geometrik ortalaması 806,0590 olarak hesaplandı.

E. faecalis ile enfekte edilen Seventh Generation Klorsuz Çamaşır Suyu uygulanan deney grubunda üreyen koloni miktarının $3,59 \pm 1,07 \log_{10} \text{CFU/mL}$ olduğu görüldü. Bu sonuçlara göre Seventh Generation Klorsuz Çamaşır Suyu deney grubunda üreyen koloni geometrik ortalaması 3890,3950 olarak hesaplandı.

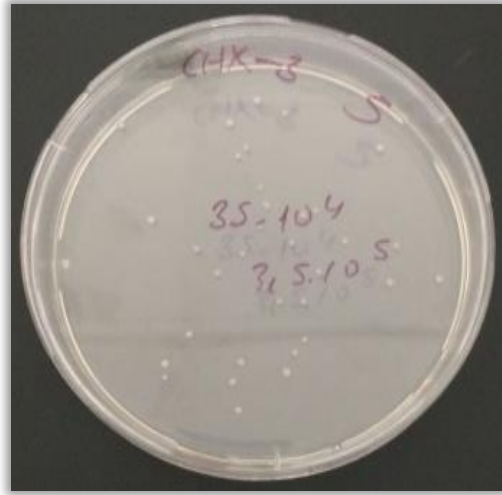
E. faecalis ile enfekte edilen kök kanallarında pozitif kontrol grubunda üreyen mikroorganizma sayısı ile %17 EDTA uygulanan grupta üreyen mikroorganizma sayısına ilişkin bulgular karşılaştırıldığında; gruplar arasında fark olmadığı bulunmuştur. ($p > 0.05$).



Şekil 4. 20: EDTA grubundan rastgele seçilen bir örneğin besiyeri üzerindeki *E. faecalis* görüntüleri.

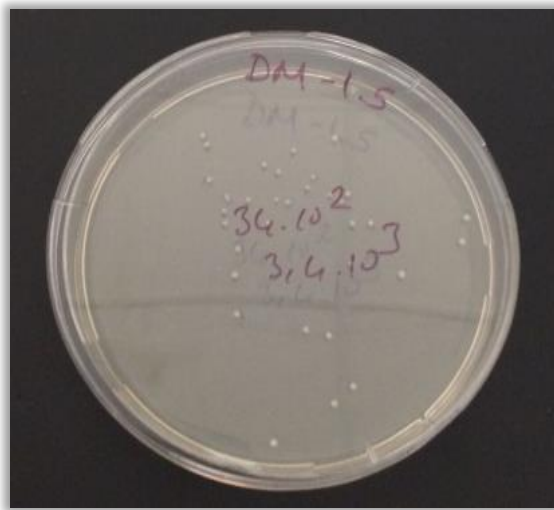
E. faecalis ile enfekte edilen kök kanallarında %5,25 NaOCl uygulanan grupta üreyen mikroorganizma sayısı ile %2 CHX ve U Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu uygulanan gruplarda üreyen mikroorganizma sayısına ilişkin bulgular karşılaştırıldığında; %5,25 NaOCl uygulanan grup ile karşılaştırılan gruplar arasında fark olmadığı bulunmuştur. ($p>0.05$).

E. faecalis ile enfekte edilen kök kanallarında %2 CHX uygulanan grupta üreyen mikroorganizma sayısı ile %5,25 NaOCl, U Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu ve Seventh Generation Klorsuz Çamaşır Suyu uygulanan gruplarda üreyen mikroorganizma sayısına ilişkin bulgular karşılaştırıldığında; %2 CHX uygulanan grup ile karşılaştırılan gruplar arasında fark olmadığı bulunmuştur. ($p>0.05$).



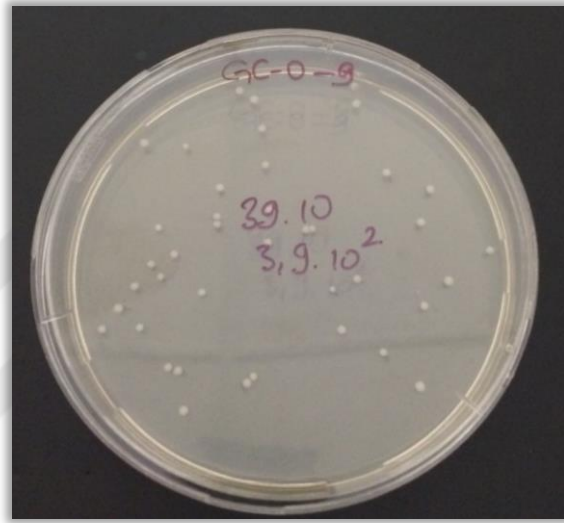
Şekil 4. 21: CHX grubundan rastgele seçilen bir örneğin besiyeri üzerindeki *E. faecalis* görüntüleri.

E. faecalis ile enfekte edilen kök kanallarında Doctor Mady Bitkisel Çamaşır Suyu uygulanan grupta üreyen mikroorganizma sayısı ve Seventh Generation Klorsuz Çamaşır Suyu grubunda üreyen mikroorganizma sayısına ilişkin bulgular karşılaştırıldığında; gruplar arasında fark olmadığı bulunmuştur. ($p>0.05$).



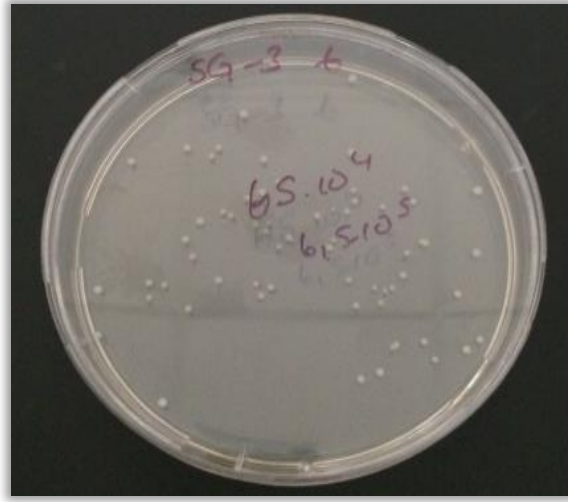
Şekil 4. 22: Doctor Mady Bitkisel Çamaşır Suyu grubundan rastgele seçilen bir örneğin besiyeri üzerindeki *E. faecalis* görüntüleri.

E.faecalis ile enfekte edilen kök kanallarında U Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu uygulanan grupta üreyen mikroorganizma sayısı ile %5,25 NaOCl, %2 CHX ve Seventh Generation Klorsuz Çamaşır Suyu uygulanan gruplarda üreyen mikroorganizma sayısına ilişkin bulgular karşılaştırıldığında; U Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu uygulanan grup ile karşılaştırılan gruplar arasında fark olmadığı bulunmuştur. ($p>0.05$).



Şekil 4. 23: U Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu grubundan rastgele seçilen bir örneğin besiyeri üzerindeki *E. faecalis* görüntüleri.

E.faecalis ile enfekte edilen kök kanallarında Seventh Generation Klorsuz Çamaşır Suyu uygulanan grupta üreyen mikroorganizma sayısı ile %2 CHX, Doctor Mady Bitkisel Çamaşır Suyu ve U Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu uygulanan gruplarda üreyen mikroorganizma sayısına ilişkin bulgular karşılaştırıldığında; Seventh Generation Klorsuz Çamaşır Suyu uygulanan grup ile karşılaştırılan gruplar arasında fark olmadığı bulunmuştur. ($p>0.05$).



Şekil 4. 24: Seventh Generation Klorsuz Çamaşır Suyu grubundan rastgele seçilen bir örneğin besiyeri üzerindeki *E. faecalis* görüntüleri.

5. TARTIŞMA

Bakterilerin kök kanallarından çıkarılması ve pulpa ve periapikal dokularda mikroorganizmalarla enfeksiyonun önlenmesi endodontik tedavinin amaçlarıdır. Mekanik enstrümantasyonu ve kimyasal temizlemenin uygulanmasını içeren kök kanalının kemomekanik debridmanı, kanal bakterilerinin eliminasyonu sırasında ana işlemdir (41). Kök kanalından bakteriyel eliminasyon, aletlerin ve irrigantların mekanik etkisinin yanı sıra, irrigasyon solüsyonlarının antibakteriyel etkileri ile sağlanır. Biyofilmlerde gelişen mikrobiyal toplulukların antimikrobiyal ajanlarla ortadan kaldırılması son derece zordur. Biyofilmlerde yetişen mikroorganizmaların antimikrobiyallere karşı planktonik olarak yetiştirilen bakterilere göre 1000-1500 kat daha dirençli olabileceğini gösteren raporlar vardır (96). Haapasalo ve arkadaşlarına göre irrigasyon, planktonik ve biyofilm formlarındaki bakterileri ve doku kalıntılarını, mekanik enstrümantasyonla dokunulamayan kök kanal duvarlarının karmaşık alanlarından uzaklaştırmanın tek yoludur (97).

Çalışmamızda klor içermeyen farklı çamaşır sularının; kök kanallarındaki *E.faecalis*'e karşı etkileri incelenmiş ve bu solüsyonların etkinlikleri endodontik tedavide en sık kullanılan solüsyonlar olan NaOCl, CHX ve EDTA ile *in vitro* olarak karşılaştırılmıştır.

Yapılan *in vitro* endodontik mikrobiyoloji çalışmalarında, biyofilm oluşumunda kullanılan yüzeyler; hidroksiapatit diskler (98, 99), nitrosellüöz membran filtreler (100-102), çekilmiş dişlerden hazırlanan dentin örnekleri (103, 104), polisitiren yüzeyler (105, 106), resin kök kanal modelleri (107), çekilmiş insan (108-112) ve hayvan dişleri (113-117) olabilmektedir. Çalışmamızda klinik durumu yansıtabimesi için çekilmiş tek köklü, benzer büyüklüklerde kök çürüğü bulunmayan periodontal kaynaklı enfeksiyonlar sonucu çekim kararı verilen alt premolar dişler kullanılmıştır. Çalışma süresine kadar seçilen dişler serum fizyolojik içerisinde aynı koşullarda saklanmıştır.

Çalışmamızda kök kanal uzunluklarını 15 mm olacak şekilde standart hale getirebilmek ve çalışma boyutunu daha rahat ayarlayabilmek için çalışmaya dahil edilen dişler kole seviyesinden su soğutması altında yüksek devirli steril bir elmas

frezle kesilmiştir. Aynı zamanda standardize edilmiş bakteri kolonizasyonu elde edilmeye çalışılmıştır. Çalışmaların yöntemleri incelendiğinde, kök kanalı hazırlığı sırasında irrigantların sızıntısını ve antibakteriyel etkilere müdahalesini önlemek için, dişlerin apikal kısımlarının tıkanıp, çalışmaların mikrobiyolojik kısımlarında ve dezenfeksiyon işlemleri sırasında taşıma ve çalışmayı kolaylaştırmak, manipülasyonu basitleştirmek için, örneklerin 1,5 mL'lik bir eppendorf tüplerine sabitlendiği ve otoklavda sterilize edildiği gözlenmiştir(118, 110, 111, 119, 2, 120). Yukarıdaki çalışmalarla uyumlu olarak çalışmamızda dişlerin apikal kısımları kompozit rezin ile tıkanmış ve örnekler otoklavda sterilize edilmiştir.

Dentin kanallarının açık olduğu dişlerde bakteri inokülasyonu sırasında pulpa yönünden dentin kanallarına doğru gelişen enfeksiyonda önemli ölçüde artış sağlanabilmesi nedeniyle; araştırmacılar kök kanallarını test mikroorganizması ile enfekte etmeden önce preparasyon sırasında oluşan smear tabakasını uzaklaştırarak, dentin kanallarının tamamen temizlenip ağızlarının açılmasını sağlamışlardır (121, 122). Mevcut çalışmada dentin kanalları içerisine bakteri invazyonunu kolaylaştırmak amacıyla kök kanal preparasyonundan sonra kanallar %17 EDTA ve ardından %5,25 NaOCl ile irriga edilmiştir (41).

Kök kanal antiseptiklerinin antimikrobiyal etkinliklerinin değerlendirilmesinde en dirençli mikroorganizmalarla çalışılması o materyalle ilgili elde edilen verilerin diğer pek çok mikroorganizma için de geçerli olması yönünden oldukça önemlidir. *E. faecalis* normal ağız florasında bulunan bir bakteridir. Nadiren primer endodontik enfeksiyon vakalarında bulunmasına rağmen endodontik tedavinin başarısız olduğu durumlarda sıklıkla izole edilmiş veya saptanmıştır (123). Bu mikroorganizma fagositoz, antikolar ve antimikrobiyal ajanlara karşı direnç sağlayan ve yaşam koşullarını iyileştiren biyofilm oluşturma yeteneğine sahiptir (124, 125). Dentin tübüllerine derinlemesine nüfuz eder ve diğer mikroorganizmalar olmadan tek bir tür olarak kanallarda kalabilir (126, 127). Bu nedenle kök kanal irrigasyonunda kullanılan antibakteriyel solüsyonların etkinliklerinin değerlendirilmesi amacıyla yapılan çalışmaların pek çoğunda kök kanallarını deneysel olarak enfekte etmek üzere sıklıkla *E.faecalis* kullanılmaktadır (128, 129). Bu çalışmada da elde edilen verilerin diğer çalışma sonuçlarıyla karşılaştırılmasını kolaylaştırmak amacıyla, çok zor çevre

şartlarına olan direnci ve inatçı kök kanal enfeksiyonlarından sıklıkla izole edilmesi nedeniyle test mikroorganizması olarak *E.faecalis*'le çalışılmıştır.

Haapasola ve Orstavik sığır dişlerinden hazırladıkları 4 mm'lik silindirik örnekler üzerinde yaptıkları *in vitro* bir çalışmada, smear tabakasını kaldırdıktan sonra hazırladıkları blokları üç hafta boyunca *E.faecalis*'le enfekte etmişlerdir. Araştırmacılar bu örneklerden aldıkları SEM görüntülerinde kanal lümeninden dentin kanallarının içerisine doğru 500 µm derinlikte bakterilerin mevcut olduğunu, hatta bazı dentin bloklarında bakteri penetrasyonunun 1000 µm'ye kadar ulaştığını rapor etmişlerdir. Bu araştırmacılar *E. faecalis*'in 24 saat içinde dentin kanallarına 300-400 µm kadar ulaşabildiğini ve daha fazla inkübe edilmiş olan dentin kanallarındaki bakteri penetrasyonu arasında fark olmadığını, bu nedenle deneysel çalışmalarda daha kısa süreli inkübasyon sürelerinin kullanılabileceğini belirtmişlerdir (130). Shen ve ark. uygun biyofilmdeki bakterilerin antimikrobiyal tedavilere genç biyo-filmdeki bakterilerden daha dirençli olduğunu bildirmişlerdir (131). Bununla birlikte endodontik çalışmalar için standardize edilmiş kanal içi mikrobiyal biyofilm modellerinin geliştirilmesinin önemini vurgulayan temsili bir biyofilm modeli geliştirmek için inkübasyon süreleri konusunda bir görüş birliği mevcut değildir (107). Örneklerin *E. faecalis* ile inkübasyon süresi çeşitli çalışmalarda farklılık göstermektedir. İnkübasyon süresinin 24 saat (103, 132), 48 saat (107, 133), 7 gün (134-136), iki hafta (137, 138), üç hafta (139-141, 104), dört hafta olduğu (110, 1, 2) çalışmalar literatürde bulunmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda, antibakteriyel protokoller, 7 günlük *E. faecalis* (ATCC 29212) biyo-filmde değerlendirildi.

Kök kanalındaki mikroorganizmaların toplanmasında kanaldaki solüsyonların aspirasyonu (142, 143, 133), steril paper pointlerin kök kanalında bekletilmesi (144-147) veya eğeler ile dentin talaşlarının toplanması yöntemleri (137, 148-152) kullanılmıştır. Paper pointlerle bakteriyolojik örnekleme ile sadece ana kök kanalında bulunan mikroorganizmalar örneklenebildiğinden ve dentin tübüllerinin içinde bulunan mikroorganizmalara erişilemediğinden tek başına yeterli değildir. Dentin talaşlarının elde edilmesi dentin tübüllerindeki bakterilerin de tespitine olanak sağlamaktadır (153, 148) . Çalışmamızda da literatürdeki çalışmalara benzer şekilde her kök kanalından 3 ayrı paper point ile her biri için 60 sn temas süresi beklenecek ve

ProTaper Next X3 eğe ile dentin talaşları biriktirilerek örnek alınmasına dikkat edilmiştir. Böylece sadece yüzey değil dentin tübüleri içerisinde var olan bakteri kolonizasyonu da değerlendirilmiş ve çalışmanın güvenilirliği ve standart sonuçlara ulaşılabilmesi amaçlanmıştır.

Endodontide çok sayıda deneysel çalışma çeşitli kimyasalların ve tekniklerin antimikrobiyal etkinliğini bildirmektedir. Kültür prosedürleri endodontik kökenli enfeksiyonlar dahil olmak üzere çeşitli bulaşıcı hastalıklarla ilişkili mikrobiyotanın değerlendirilmesinde referans olarak kullanılmıştır (154). İnsan veya hayvan diş modellerinde antibakteriyel ajanların etkinliği araştırılırken birçok çalışmada kullanılan değerlendirme yöntemi mikrobiyolojik sayım yöntemidir (155). Biz de çalışmamızda işlem sonrası üreyen bakteri kolonilerini sayarak CFU/ml değerlerini elde ettik.

Sodyum hipoklorit (NaOCl), antimikrobiyal etkinliğine ek olarak, vital ve nekrotik dokuları çözme yeteneği nedeniyle endodontide en etkili dezenfektan olarak kabul edilmektedir (52). Endodontik tedavide NaOCl % 0.5 ile % 6 arasında değişen konsantrasyonlarda kullanılır ve bunların hepsi antibakteriyel aktivite gösterir (156). Güçlü bir oksitleyici ajan olan NaOCl'deki serbest klor, proteinleri bölerek vital ve nekrotik dokuyu çözer. Klor, enzimlerin -SH grubunun irreversibl oksidasyonuna neden olarak, bakteriyel hücrenin metabolik fonksiyonlarını bozar (157). Siqueira ve ark. yaptıkları *in vitro* çalışmada %1, %2,5 ve %5,25 konsantrasyonlardaki NaOCl solüsyonlarının *E. faecalis* üzerindeki antibakteriyel etkinliğini karşılaştırmışlar; enfekte kök kanallarında kullanılan NaOCl konsantrasyonlarının antibakteriyel etkinliği arasında bir fark olmadığını ancak irrigasyon solüsyonunun konsantrasyonu arttıkça antibakteriyel etki hızının arttığını bildirmişlerdir (8). Berber ve ark.'nın dentin talaşları üzerine yaptıkları başka bir çalışmada %5,25 NaOCl' nin %2,5 NaOCl'den daha etkili olduğunu bildirilmişlerdir (158). Çalışmamızda NaOCl grubunda %5,25 konsantrasyonda solüsyon kullanılmıştır. Çalışmamızın sonuçlarına göre kolonilerdeki azalma pozitif kontrol grubuna göre EDTA grubu hariç istatistiksel olarak anlamlıdır.

CHX'in sıvı ya da jel formunun kök kanal tedavisinde irrigasyon ajanı olarak kullanımı önerilmiştir (159). Birçok araştırmada CHX'in farklı yoğunluklarının

antibakteriyel etkisi üzerine çalışma yapmıştır. % 2 CHX solüsyonunun % 0,12 CHX'e göre daha etkin olduğu bildirilmiştir (160). Çalışmamızda CHX grubunda %2 konsantrasyonda solüsyon kullanılmıştır. Çalışmamızın sonuçlarına göre kolonilerdeki azalma pozitif kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır.

EDTA dentin içindeki kalsiyum iyonlarıyla reaksiyona girer ve çözünür kalsiyum şelatları oluşturur. Şelasyon özelliği sayesinde dentinin inorganik yapısını uzaklaştırır (161). EDTA'nın antimikrobiyal etkinliği ile ilgili literatürde çalışmalar bulunmaktadır. Arias - Moliz ve ark., EDTA'nın 60 dakikalık temastan sonra bile *E. faecalis*'e karşı hiçbir etkisinin olmadığını göstermiştir (162). De Almeida ve ark. *E. faecalis*'i kullanarak yaptıkları *in vitro* çalışmada EDTA'nın biofilmden birçok bakterinin ayrılmasına neden olduğunu ancak antimikrobiyal etkisinin çok az olduğunu bildirmiştir (136). Çalışmamızda EDTA'nın *E. faecalis* kolonilerinde bir miktar azalmaya neden olduğu bulunmuştur. Pozitif kontrol grubu ile aralarında istatistiksel açıdan bir farklılık bulunmamıştır.

NaOCl vital ve nekrotik dokuları ayırt etmeden optimal doku çözme özelliğine sahiptir. Dokuları çözerken protein yıkımı ve bakteriyel enzimlerin inhibisyonundan sorumlu olan serbest aktif klor içeriğidir (50). NaOCl kullanımının çoğu komplikasyonu kök ucundan dışarı taşırılması sonucunda olmaktadır. NaOCl'nin apikal foramen den periradiküler boşluğa ekstrüzyonu halinde periapikal dokularda toksik olabilir. Taşırıldığında ağrı, şişlik, hemoraji ve bazı durumlarda sekonder enfeksiyon ve parestezi gelişmesi ile karakterize şiddetli doku reaksiyonlarına neden olabilir. Vital dokular üzerinde hemoliz, cilt ülserasyonu ve nekroz ile sonuçlanan toksik etkilere sahiptir. İnsan periferik lenfositleri üzerinde sitotoksik ve genotoksik etkiler meydana gelebilir. Tıp literatüründe alerjik potansiyeli analiz edilmiş ve dental literatürde de hipersensitivite vakaları bildirilmiştir (48). Çalışmamızda NaOCl'ye alternatif olabilecek organik içerikli ve klor içermeyen deterjanların *E. faecalis*'e karşı etkinlikleri test edilmiştir.

CHX, düşük konsantrasyonlarda kullanıldığında (% 0,2), özellikle potasyum ve fosfor gibi düşük moleküler ağırlıklı maddelerin hücreden dışarı sızmasına neden olur. Yüksek konsantrasyonda (%2) kullanıldığında, sitoplazmik içeriğin çökmesine neden olur ve hücre ölümüyle sonuçlanır (59). NaOCl ise serbest aktif klor içeriği

sayesinde protein yıkımına ve bakteri enzimlerinin inhibisyonuna neden olur (50). Birçok *in vitro* / *ex vivo* çalışma, NaOCl ve CHX'in antibakteriyel aktivitelerini karşılaştırmıştır. Çalışmalardan bazıları NaOCl'nin üstün olduğunu (151, 163), bazıları CHX'in üstün olduğunu (164) ve bazıları da benzer olduklarını bildirmiştir (165). Bu çalışmalara baktığımızda kullanılan solüsyonların derişiminin, miktarının, uygulama süresinin ve çalışma yönteminin bu farklılıklara sebep olduğunu söyleyebiliriz. Bizim çalışmamızda da Gomes ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya uygun olarak NaOCl ve CHX'in benzer antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğu bulunmuştur. Çalışmamızda %5,25 NaOCl ve %2 CHX ile klor içermeyen ve organik içeriğe sahip Green Clean grupları *E.faecalis*'e karşı benzer antimikrobiyal etki göstermiştir. Aralarında istatistiksel açıdan fark bulunmasa da sırasıyla; %5,25 NaOCl; %2 CHX ve U Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu gruplarına göre *E. faecalis*'e karşı daha etkili bulunmuştur.

Çalışmamızda %2 CHX uygulanan grupta üreyen *E.faecalis* sayısında azalma meydana geldiği gözlenmiştir. %2 CHX uygulanan grupta üreyen mikroorganizma sayısı ile %5,25 NaOCl, U Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu ve Seventh Generation Klorsuz Çamaşır Suyu gruplarında üreyen mikroorganizma sayısına ilişkin bulgular karşılaştırıldığında; %2 CHX uygulanan grup ile karşılaştırılan grupların benzer antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bulunmuştur. ($p>0.05$). Doctor Mady Bitkisel Çamaşır Suyu ile Seventh Generation Klorsuz Çamaşır Suyu; Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu ile Seventh Generation Klorsuz Çamaşır Suyu grupları arasında üreyen mikroorganizma sayısına ilişkin bulgular karşılaştırıldığında; *E.faecalis* sayısı üzerine antimikrobiyal etkinliğin benzer olduğu bulunmuştur.

Çalışmamızda mikrobiyolojik değerlendirme sonrası tüm deney gruplarındaki *E.faecalis* miktarının pozitif kontrol grubuna göre çok daha az olduğu ve aralarındaki farkın EDTA grubu hariç anlamlı olduğu görülmüştür. En etkili dezenfeksiyon ajanlarının ise sırasıyla %5,25 NaOCl, %2 CHX ve U Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu olduğu saptanmıştır. Bu grupları Seventh Generation Klorsuz Çamaşır Suyu, Doctor Mady Bitkisel Çamaşır Suyu ve EDTA izlemiştir. Çalışmamızdan elde edilen bulgular sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmamak üzere NaOCl en etkili antimikrobiyal ajan olarak saptanmıştır. Klor içermeyen organik deterjanlardan ise en etkili olan U Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu grubudur. Klor içermeyen organik

deterjanlar antimikrobiyal etki göstermesine rağmen NaOCl kadar etkili değildir. NaOCl 'de bulunan serbest aktif klor içeriği bakteriyel enzimleri inhibe eder. Bu nedenle klor içermeyen organik içerikli deterjanların NaOCl kadar etkili olmadığını düşünmekteyiz.

Bu çalışmanın limitasyonlarından birincisi, model kullanılmış olmasıdır. Oysa *in vivo* olarak, endodontik enfeksiyonların doğası önemli derecede farklıdır. *In vivo* koşullarda, *E.faecalis* diğer mikroorganizmalar ile etkileşime girebilir ve bu nedenle davranışlarını değiştirebilir (166). Benzer şekilde, kök kanallarını enfekte etmek için tek bir mikroorganizma kullanılmış olması, endodontik enfeksiyonların genellikle polimikrobiyal olması nedeniyle uygulanan dezenfeksiyon işlemlerinin etkinliğini değiştirmiş olabilir. Deneyde seçilen dişler tek ve oval kanallı olmasına rağmen; kanalların hacimleri tam olarak birbirine eşit değildir. Hacmi eşitlemek için ProTaper Next X3 büyüklüğündeki eğeye kadar preparasyon yapılmış olmasına rağmen; kök kanal anatomisinin karmaşık yapısından dolayı fin, isthmus gibi yapılar radyografide tespit edilememiş olabilir ve minimum da olsa kanal hacimleri birbirine eşit olmamış olabilir. Hacmin eşit olmaması biofilm büyüklüğünün eşit olmaması anlamına gelmektedir. Bu da çalışmanın sonuçlarını etkilemiş olabilir. Kullanılan ajanların smear tabakası üzerine etkileri ve doku çözme özelliklerinin incelenmesi için ileri araştırmaların yapılması gerektiği görüşüdeyiz.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

In vitro olarak gerçekleştirilen çalışmamızın gereç ve yöntem sınırlamaları göz önünde bulundurularak elde edilen sonuçlar aşağıdaki gibi sıralanabilir:

1. Hiçbir irrigasyon solüsyonu *E. faecalis* 'i kök kanalından kullanılan süre ve miktar dahilinde tamamen yok edememiştir.
2. Deney grupları arasında *E. faecalis* 'in eliminasyonunda en yüksek başarı sırasıyla %5,25 NaOCl, %2 CHX ve U Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu grubunda saptanmıştır. Aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamasına rağmen U Green Clean Bitkisel Çamaşır Suyu, NaOCl ve CHX'den daha düşük antimikrobiyal aktiviteye sahiptir.
3. Smear tabakası uzaklaştırılmış *E. faecalis* ile enfekte kök kanallarında %5,25 NaOCl ve %2 CHX benzer antimikrobiyal etkiye sahiptir.
4. %17 EDTA'nın *E. faecalis* 'e karşı antibakteriyel etkisi minimaldir.
5. Doctor Mady Bitkisel Çamaşır Suyu ve Seventh Generation Klırsuz Çamaşır Suyu benzer antimikrobiyal etki göstermesine rağmen NaOCl ve CHX grupları ile karşılaştırıldığında *E. faecalis* 'in eliminasyonunda yeterli etkiye sahip değildir.
6. Literatürde birçok dezavantajı bildirilmesine rağmen ekonomik ve ulaşılabilirliği oldukça kolay olan NaOCl klinik uygulamalarda prosedürlere bağlı kalmak ve dikkatli olmak koşuluyla tercih edilmelidir
7. Organik içerikli klor içermeyen deterjanlar ile *E. faecalis* miktarındaki azalma pozitif kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı olsa da klinik açıdan kanal içerisinde bakteri varlığı tedavinin başarısızlığı ile sonuçlanacağından kabul edilemez bir durumdur.

7.KAYNAKLAR

1. **Neelakantan P, Cheng CQ, Mohanraj R, Sriraman P, Subbarao C, Sharma S.** Antibiofilm activity of three irrigation protocols activated by ultrasonic, diode laser or Er:YAG laser in vitro. *International endodontic journal.* **2015**; 48: 602-10.
2. **Afkhami F, Akbari S, Chiniforush N.** Enterococcus faecalis Elimination in Root Canals Using Silver Nanoparticles, Photodynamic Therapy, Diode Laser, or Laser-activated Nanoparticles: An in vitro Study. *Journal of endodontics.* **2017**; 43: 279-82.
3. **Darrag AM.** Antimicrobial efficacy of endodontic irrigation solutions against planktonic microorganisms and dual-species biofilm. *Tanta Dental Journal.* **2013**; 10: 129-37.
4. **Bukhary S, Balto H.** Antibacterial efficacy of octenisept, alexidine, chlorhexidine, and sodium hypochlorite against Enterococcus faecalis biofilms. *Journal of endodontics.* **2017**; 43: 643-7.
5. **Estrela C, Costa E Silva R, Urban RC, Goncalves PJ, Silva JA, Estrela CR, et al.** Demetallization of Enterococcus faecalis biofilm: a preliminary study. *Journal of Applied Oral Science.* **2018**; 26.
6. **Souza MA, Dalla Lana D, Gabrielli E, Ribeiro MB, Miyagaki DC, Cecchin D.** Effectiveness of final decontamination protocols against Enterococcus faecalis and its influence on bond strength of filling material to root canal dentin. *Photodiagnosis and photodynamic therapy.* **2017**; 17: 92-7.
7. **Siqueira JF, Lima KC, Magalhães FA, Lopes HP, de Uzeda M.** Mechanical reduction of the bacterial population in the root canal by three instrumentation techniques. *Journal of endodontics.* **1999**; 25: 332-5.
8. **Siqueira Jr JF, Rôças IN, Favieri A, Lima KC.** Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. *Journal of endodontics.* **2000**; 26: 331-4.
9. **Borzini L, Condò R, De Dominicis P, Casaglia A, Cerroni L.** Root canal irrigation: Chemical agents and plant extracts against Enterococcus faecalis. *The open dentistry journal.* **2016**; 10: 692.
10. **Vasudeva A, Sinha DJ, Tyagi SP, Singh NN, Garg P, Upadhyay D.** Disinfection of dentinal tubules with 2% Chlorhexidine gel, Calcium hydroxide and herbal intracanal medicaments against Enterococcus faecalis: An in-vitro study. *Singapore dental journal.* **2017**; 38: 39-44.
11. **Verma MK, Pandey RK, Khanna R, Agarwal J.** The antimicrobial effectiveness of 25% propolis extract in root canal irrigation of primary teeth. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry.* **2014**; 32: 120.
12. **Violich D, Chandler N.** The smear layer in endodontics—a review. *International endodontic journal.* **2010**; 43: 2-15.
13. **Poletto D, Poletto AC, Cavalaro A, Machado R, Cosme-Silva L, Garbelini CCD, et al.** Smear layer removal by different chemical solutions used with or without ultrasonic activation after post preparation. *Restorative dentistry & endodontics.* **2017**; 42: 324-31.

14. **Rossi-Fedele G, Doğramacı EJ, Guastalli AR, Steier L, de Figueiredo JAP.** Antagonistic interactions between sodium hypochlorite, chlorhexidine, EDTA, and citric acid. *Journal of endodontics*. **2012**; 38: 426-31.
15. **Mohammadi Z, Shalavi S, Jafarzadeh H.** Ethylenediaminetetraacetic acid in endodontics. *European journal of dentistry*. **2013**; 7: S135.
16. **Thomas S, Asokan S, John B, Priya G, Kumar S.** Comparison of antimicrobial efficacy of diode laser, triphala, and sodium hypochlorite in primary root canals: A randomized controlled trial. *International journal of clinical pediatric dentistry*. **2017**; 10: 14.
17. **Chiniforush N, Pourhajibagher M, Shahabi S, Bahador A.** Clinical Approach of High Technology Techniques for Control and Elimination of Endodontic Microbiota. *Journal of lasers in medical sciences*. **2015**; 6: 139-50.
18. **Love RM.** Invasion of dentinal tubules by root canal bacteria. *Endodontic Topics*. **2004**; 9: 52-65.
19. **Alaçam T.** *Endodonti: Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları*; 2012. 589-617 p.
20. **Narayanan LL, Vaishnavi C.** Endodontic microbiology. *Journal of conservative dentistry: JCD*. **2010**; 13: 233.
21. **Hargreaves KM, Berman LH.** Cohen's pathways of the pulp: Elsevier Health Sciences; 2015.
22. **Sundqvist G, Figdor D.** Life as an endodontic pathogen: Ecological differences between the untreated and root-filled root canals. *Endodontic Topics*. **2003**; 6: 3-28.
23. **Berman LH, Hargreaves KM, Cohen SR.** Cohen's Pathways of the Pulp Expert Consult-E-Book: Elsevier Health Sciences; **2010**.
24. **Peciuliene V, Maneliene R, Balcikonyte E, Drukteinis S, Rutkunas V.** Microorganisms in root canal infections: a review. *Stomatologija*. **2008**; 10: 4-9.
25. **Rôças IN, Siqueira Jr JF, Santos KR.** Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *Journal of endodontics*. **2004**; 30: 315-20.
26. **Siqueira JR JF, Rôças IN.** Present status and future directions in endodontic microbiology. *Endodontic topics*. **2014**; 30: 3-22.
27. **Banerjee P, Singh M, Sharma V.** Biofilm Formation: A Comprehensive Review.
28. **Garg N, Garg A.** Textbook of endodontics: Boydell & Brewer Ltd; 2010.
29. **Jhajharia K, Parolia A, Shetty KV, Mehta LK.** Biofilm in endodontics: a review. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*. **2015**; 5: 1.
30. **Nair PR.** Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. *Journal of endodontics*. **1987**; 13: 29-39.
31. **Frank SA, Barbour AG.** Within-host dynamics of antigenic variation. *Infection, genetics and evolution*. **2006**; 6: 141-6.

32. **Tronstad L, Barnett F, Cervone F.** Periapical bacterial plaque in teeth refractory to endodontic treatment. *Dental Traumatology*. **1990**; 6: 73-7.
33. **Jontell M, Gunraj M, Bergenholtz G.** Immunocompetent cells in the normal dental pulp. *Journal of dental research*. **1987**; 66: 1149-53.
34. **Medvedev AE, Sabroe I, Hasday JD, Vogel SN.** Invited review: tolerance to microbial TLR ligands: molecular mechanisms and relevance to disease. *Journal of endotoxin research*. **2006**; 12: 133-50.
35. **Wilson M.** Susceptibility of oral bacterial biofilms to antimicrobial agents. *Journal of Medical Microbiology*. **1996**; 44: 79-87.
36. **Takemura N, Noiri Y, Ehara A, Kawahara T, Noguchi N, Ebisu S.** Single species biofilm-forming ability of root canal isolates on gutta-percha points. *European journal of oral sciences*. **2004**; 112: 523-9.
37. **An YH, Friedman RJ.** Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial surfaces. *Journal of biomedical materials research*. **1998**; 43: 338-48.
38. **Wang Q-Q, Zhang C-F, Chu C-H, Zhu X-F.** Prevalence of *Enterococcus faecalis* in saliva and filled root canals of teeth associated with apical periodontitis. *International journal of oral science*. **2012**; 4: 19.
39. **Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB.** *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *Journal of endodontics*. **2006**; 32: 93-8.
40. **Siddiqui SH, Awan KH, Javed F.** Bactericidal efficacy of photodynamic therapy against *Enterococcus faecalis* in infected root canals: a systematic literature review. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*. **2013**; 10: 632-43.
41. **Frough-Reyhani M, Ghasemi N, Soroush-Barhaghi M, Amini M, Gholizadeh Y.** Antimicrobial efficacy of different concentration of sodium hypochlorite on the biofilm of *Enterococcus faecalis* at different stages of development. *Journal of clinical and experimental dentistry*. **2016**; 8: 480.
42. **Bergmans L, Moisiadis P, Teughels W, Van Meerbeek B, Quirynen M, Lambrechts P.** Bactericidal effect of Nd: YAG laser irradiation on some endodontic pathogens ex vivo. *International endodontic journal*. **2006**; 39: 547-57.
43. **Nogo-Zivanovic D, Bjelovic L, Ivanovic V, Kanjevac T, Tanaskovic I.** Consideration of the Therapeutic Potential of Irrigants in Endodontic Therapy. *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research*. **2018**; 19: 103-12.
44. **Siqueira JF, Jr., Lopes HP.** Bacteria on the apical root surfaces of untreated teeth with periradicular lesions: a scanning electron microscopy study. *International endodontic journal*. **2001**; 34: 216-20.
45. **Shen Y, Gao Y, Lin J, Ma J, Wang Z, Haapasalo M.** Methods and models to study irrigation. *Endodontic Topics*. **2012**; 27: 3-34.
46. **Navarro-Escobar E, González-Rodríguez M-P, Ferrer-Luque C-M.** Cytotoxic effects of two acid solutions and 2.5% sodium hypochlorite used in endodontic therapy. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. **2010**; 15: 90-4.

47. **Kandaswamy D, Venkateshbabu N.** Root canal irrigants. *Journal of conservative dentistry: JCD.* **2010**; 13: 256.
48. **Mohammadi Z.** Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. *International dental journal.* **2008**; 58: 329-41.
49. **Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spano JC, Marchesan MA, Pecora JD.** Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Brazilian dental journal.* **2002**; 13: 113-7.
50. **Clarkson RM, Podlich HM, Moule AJ.** Influence of ethylenediaminetetraacetic acid on the active chlorine content of sodium hypochlorite solutions when mixed in various proportions. *Journal of endodontics.* **2011**; 37: 538-43.
51. **Bloomfield SF, Miles GA.** The antibacterial properties of sodium dichloroisocyanurate and sodium hypochlorite formulations. *The Journal of applied bacteriology.* **1979**; 46: 65-73.
52. **Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y.** Irrigation in endodontics. *Dental clinics of North America.* **2010**; 54: 291-312.
53. **Hulsmann M, Heckendorff M, Lennon A.** Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use. *International endodontic journal.* **2003**; 36: 810-30.
54. **Cruz-Filho AM, Sousa-Neto MD, Savioli RN, Silva RG, Vansan LP, Pecora JD.** Effect of chelating solutions on the microhardness of root canal lumen dentin. *Journal of endodontics.* **2011**; 37: 358-62.
55. **Silva PV, Guedes DF, Nakadi FV, Pecora JD, Cruz-Filho AM.** Chitosan: a new solution for removal of smear layer after root canal instrumentation. *International endodontic journal.* **2013**; 46: 332-8.
56. **Serper A, Calt S.** The demineralizing effects of EDTA at different concentrations and pH. *Journal of endodontics.* **2002**; 28: 501-2.
57. **Heling I, Rotstein I, Dinur T, Szwec-Levine Y, Steinberg D.** Bactericidal and cytotoxic effects of sodium hypochlorite and sodium dichloroisocyanurate solutions in vitro. *Journal of endodontics.* **2001**; 27: 278-80.
58. **Uroz-Torres D, Gonzalez-Rodriguez MP, Ferrer-Luque CM.** Effectiveness of the EndoActivator System in removing the smear layer after root canal instrumentation. *Journal of endodontics.* **2010**; 36: 308-11.
59. **Mohammadi Z, Abbott PV.** The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *International endodontic journal.* **2009**; 42: 288-302.
60. **Çalışkan MK.** Endodontide tanı ve tedaviler. Nobel Tıp Kitapevleri **2006**.
61. **Chhabra RS, Huff JE, Haseman JK, Elwell MR, Peters AC.** Carcinogenicity of p-chloroaniline in rats and mice. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association.* **1991**; 29: 119-24.
62. **Krishnamurthy S, Sudhakaran S.** Evaluation and prevention of the precipitate formed on interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine. *Journal of endodontics.* **2010**; 36: 1154-7.

63. **Scelza MF, Pierro V, Scelza P, Pereira M.** Effect of three different time periods of irrigation with EDTA-T, EDTA, and citric acid on smear layer removal. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics.* **2004**; 98: 499-503.
64. **Arslan H, Barutcigil C, Karatas E, Topcuoglu HS, Yeter KY, Ersoy I, et al.** Effect of citric acid irrigation on the fracture resistance of endodontically treated roots. *Eur J Dent.* **2014**; 8: 74-8.
65. **Cauwerts K, Decostere A, De Graef EM, Haesebrouck F, Pasmans F.** High prevalence of tetracycline resistance in Enterococcus isolates from broilers carrying the erm(B) gene. *Avian pathology : journal of the WVPA.* **2007**; 36: 395-9.
66. **Giardino L, Andrade FB, Beltrami R.** Antimicrobial Effect and Surface Tension of Some Chelating Solutions with Added Surfactants. *Brazilian dental journal.* **2016**; 27: 584-8.
67. **Stojicic S, Shen Y, Qian W, Johnson B, Haapasalo M.** Antibacterial and smear layer removal ability of a novel irrigant, QMiX. *International endodontic journal.* **2012**; 45: 363-71.
68. **Morgental RD, Singh A, Sappal H, Kopper PM, Vier-Pelisser FV, Peters OA.** Dentin inhibits the antibacterial effect of new and conventional endodontic irrigants. *Journal of endodontics.* **2013**; 39: 406-10.
69. **Mohammadi Z, Giardino L, Mombeinipour A.** Antibacterial substantivity of a new antibiotic-based endodontic irrigation solution. *Australian endodontic journal : the journal of the Australian Society of Endodontology Inc.* **2012**; 38: 26-30.
70. **Poggio C, Colombo M, Scribante A, Sforza D, Bianchi S.** In vitro antibacterial activity of different endodontic irrigants. *Dental traumatology : official publication of International Association for Dental Traumatology.* **2012**; 28: 205-9.
71. **Poggio C, Dagna A, Colombo M, Rizzardi F, Chiesa M, Scribante A, et al.** Decalcifying effect of different ethylenediaminetetraacetic acid irrigating solutions and tetraclean on root canal dentin. *Journal of endodontics.* **2012**; 38: 1239-43.
72. **Mohammadi Z, Giardino L, Palazzi F.** Evaluation of the antifungal activity of four solutions used as a final rinse in vitro. *Australian endodontic journal : the journal of the Australian Society of Endodontology Inc.* **2013**; 39: 31-4.
73. **Mohammadi Z, Jafarzadeh H, Shalavi S, Kinoshita JI.** Unusual Root Canal Irrigation Solutions. *The journal of contemporary dental practice.* **2017**; 18: 415-20.
74. **Del Carpio-Perochena A, Kishen A, Felitti R, Bhagirath AY, Medapati MR, Lai C, et al.** Antibacterial Properties of Chitosan Nanoparticles and Propolis Associated with Calcium Hydroxide against Single- and Multispecies Biofilms: An In Vitro and In Situ Study. *Journal of endodontics.* **2017**; 43: 1332-6.
75. **Ong TH, Chitra E, Ramamurthy S, Siddalingam RP, Yuen KH, Ambu SP, et al.** Correction: Chitosan-propolis nanoparticle formulation demonstrates anti-bacterial activity against Enterococcus faecalis biofilms. *PloS one.* **2017**; 12: e0176629.
76. **S VK.** Propolis in dentistry and oral cancer management. *North American journal of medical sciences.* **2014**; 6: 250-9.
77. **Kishen A, Haapasalo M.** Biofilm models and methods of biofilm assessment. *Endodontic Topics.* **2010**; 22: 58-78.

78. **Macia M, Rojo-Molinero E, Oliver A.** Antimicrobial susceptibility testing in biofilm-growing bacteria. *Clinical Microbiology and Infection*. **2014**; 20: 981-90.
79. **Neelakantan P, Romero M, Vera J, Daood U, Khan AU, Yan A, et al.** Biofilms in endodontics—current status and future directions. *International journal of molecular sciences*. **2017**; 18: 1748.
80. **Gabrilska RA, Rumbaugh KP.** Biofilm models of polymicrobial infection. *Future microbiology*. **2015**; 10: 1997-2015.
81. **Coenye T, Nelis HJ.** In vitro and in vivo model systems to study microbial biofilm formation. *Journal of microbiological methods*. **2010**; 83: 89-105.
82. **Franklin MJ, Chang C, Akiyama T, Bothner B.** New technologies for studying biofilms. *Microbiology spectrum*. **2015**; 3.
83. **Coenye T, De Prijck K, De Wever B, Nelis HJ.** Use of the modified Robbins device to study the in vitro biofilm removal efficacy of NitrAdine™, a novel disinfecting formula for the maintenance of oral medical devices. *Journal of applied microbiology*. **2008**; 105: 733-40.
84. **Honraet K, Nelis H.** Use of the modified robbins device and fluorescent staining to screen plant extracts for the inhibition of *S. mutans* biofilm formation. *Journal of microbiological methods*. **2006**; 64: 217-24.
85. **Pavarina A, Dovigo L, Sanitá P, Machado A, Giampaolo E, Vergani C.** Dynamic models for in vitro biofilm formation. *Biofilms: formation, development and properties 1st ed Hauppauge, NY: Nova Science Publishers, Inc.* **2011**.
86. **Yawata Y, Toda K, Setoyama E, Fukuda J, Suzuki H, Uchiyama H, et al.** Monitoring biofilm development in a microfluidic device using modified confocal reflection microscopy. *Journal of bioscience and bioengineering*. **2010**; 110: 377-80.
87. **Brito PR, Souza LC, de Oliveira JCM, Alves FR, De-Deus G, Lopes HP, et al.** Comparison of the effectiveness of three irrigation techniques in reducing intracanal *Enterococcus faecalis* populations: an in vitro study. *Journal of endodontics*. **2009**; 35: 1422-7.
88. **Townsend C, Maki J.** An in vitro comparison of new irrigation and agitation techniques to ultrasonic agitation in removing bacteria from a simulated root canal. *Journal of endodontics*. **2009**; 35: 1040-3.
89. **Bhuva B, Patel S, Wilson R, Niazi S, Beighton D, Mannocci F.** The effectiveness of passive ultrasonic irrigation on intraradicular *Enterococcus faecalis* biofilms in extracted single-rooted human teeth. *International endodontic journal*. **2010**; 43: 241-50.
90. **Miller TA, Baumgartner JC.** Comparison of the antimicrobial efficacy of irrigation using the EndoVac to endodontic needle delivery. *Journal of endodontics*. **2010**; 36: 509-11.
91. **Shen Y, Stojicic S, Qian W, Olsen I, Haapasalo M.** The synergistic antimicrobial effect by mechanical agitation and two chlorhexidine preparations on biofilm bacteria. *Journal of endodontics*. **2010**; 36: 100-4.
92. **Siqueira JF, Alves FR, Almeida BM, de Oliveira JCM, Rôças IN.** Ability of chemomechanical preparation with either rotary instruments or self-adjusting file to disinfect oval-shaped root canals. *Journal of endodontics*. **2010**; 36: 1860-5.

93. **Alves FR, Almeida BM, Neves MA, Rôças IN, Siqueira JF.** Time-dependent antibacterial effects of the self-adjusting file used with two sodium hypochlorite concentrations. *Journal of endodontics*. **2011**; 37: 1451-5.
94. **Tran KT, Torabinejad M, Shabahang S, Retamozo B, Aprecio RM, Chen J-W.** Comparison of efficacy of pulverization and sterile paper point techniques for sampling root canals. *Journal of endodontics*. **2013**; 39: 1057-9.
95. **Mohammadi Z, Palazzi F, Giardino L, Shalavi S.** Microbial biofilms in endodontic infections: an update review. *Biomedical journal*. **2013**; 36: 59-70.
96. **da Silva TM, Alves FR, Lutterbach MT, Paiva MM, Ferreira DC.** Comparison of antibacterial activity of alexidine alone or as a final irrigant with sodium hypochlorite and chlorhexidine. *BDJ open*. **2018**; 4: 18003.
97. **Tziafas D, Alraeesi D, Al Hormoodi R, Ataya M, Fezai H, Aga N.** Preparation Prerequisites for Effective Irrigation of Apical Root Canal: A Critical Review. *Journal of clinical and experimental dentistry*. **2017**; 9: e1256-e63.
98. **Shen Y, Qian W, Chung C, Olsen I, Haapasalo M.** Evaluation of the effect of two chlorhexidine preparations on biofilm bacteria in vitro: a three-dimensional quantitative analysis. *Journal of endodontics*. **2009**; 35: 981-5.
99. **Stojicic S, Shen Y, Haapasalo M.** 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*. **2013**; 39: 473-7.
100. **Spratt D, Pratten J, Wilson M, Gulabivala K.** An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates. *International endodontic journal*. **2001**; 34: 300-7.
101. **Giardino L, Ambu E, Savoldi E, Rimondini R, Cassanelli C, Debbia EA.** Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of sodium hypochlorite, MTAD, and Tetraclean against *Enterococcus faecalis* biofilm. *Journal of endodontics*. **2007**; 33: 852-5.
102. **Hope CK, Garton SG, Wang Q, Burnside G, Farrelly PJ.** A direct comparison between extracted tooth and filter-membrane biofilm models of endodontic irrigation using *Enterococcus faecalis*. *Archives of microbiology*. **2010**; 192: 775-81.
103. **Meire M, Coenye T, Nelis H, De Moor R.** Evaluation of Nd: YAG and Er: YAG irradiation, antibacterial photodynamic therapy and sodium hypochlorite treatment on *Enterococcus faecalis* biofilms. *International endodontic journal*. **2012**; 45: 482-91.
104. **Jurič IB, Plečko V, Anić I, Pleško S, Jakovljević S, Rocca JP, et al.** Antimicrobial efficacy of photodynamic therapy, Nd: YAG laser and QMiX solution against *Enterococcus faecalis* biofilm. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*. **2016**; 13: 238-43.
105. **Kishen A, Upadya M, Tegos GP, Hamblin MR.** Efflux pump inhibitor potentiates antimicrobial photodynamic inactivation of *Enterococcus faecalis* biofilm. *Photochemistry and photobiology*. **2010**; 86: 1343-9.
106. **Liu H, Wei X, Ling J, Wang W, Huang X.** Biofilm formation capability of *Enterococcus faecalis* cells in starvation phase and its susceptibility to sodium hypochlorite. *Journal of endodontics*. **2010**; 36: 630-5.

107. **De Meyer S, Meire M, Coenye T, De Moor R.** Effect of laser-activated irrigation on biofilms in artificial root canals. *International endodontic journal*. **2016**.
108. **Oliveira DP, Barbizam JV, Trope M, Teixeira FB.** In vitro antibacterial efficacy of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis*. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. **2007**; 103: 702-6.
109. **Ng R, Singh F, Papamanou DA, Song X, Patel C, Holewa C, et al.** Endodontic photodynamic therapy ex vivo. *Journal of endodontics*. **2011**; 37: 217-22.
110. **Bago I, Plečko V, Gabrić Pandurić D, Schauerl Z, Baraba A, Anić I.** Antimicrobial efficacy of a high-power diode laser, photo-activated disinfection, conventional and sonic activated irrigation during root canal treatment. *International endodontic journal*. **2013**; 46: 339-47.
111. **Miranda R, Santos E, Souto R, Gusman H, Colombo A.** Ex vivo antimicrobial efficacy of the EndoVac® system plus photodynamic therapy associated with calcium hydroxide against intracanal *Enterococcus faecalis*. *International endodontic journal*. **2013**; 46: 499-505.
112. **Neelakantan P, Cheng C, Mohanraj R, Sriraman P, Subbarao C, Sharma S.** Antibiofilm activity of three irrigation protocols activated by ultrasonic, diode laser or Er: YAG laser in vitro. *International endodontic journal*. **2015**; 48: 602-10.
113. **Mohammadi Z, Giardino L, Palazzi F, Shahriari S.** Effect of initial irrigation with sodium hypochlorite on the residual antibacterial activity of Tetraclean. *NY State Dent J*. **2010**.
114. **Silva LA, Novaes AB, Jr., de Oliveira RR, Nelson-Filho P, Santamaria M, Jr., Silva RA.** Antimicrobial photodynamic therapy for the treatment of teeth with apical periodontitis: a histopathological evaluation. *Journal of endodontics*. **2012**; 38: 360-6.
115. **Du T, Shi Q, Shen Y, Cao Y, Ma J, Lu X, et al.** Effect of modified nonequilibrium plasma with chlorhexidine digluconate against endodontic biofilms in vitro. *Journal of endodontics*. **2013**; 39: 1438-43.
116. **Hecker S, Hiller KA, Galler K, Erb S, Mader T, Schmalz G.** Establishment of an optimized ex vivo system for artificial root canal infection evaluated by use of sodium hypochlorite and the photodynamic therapy. *International endodontic journal*. **2013**; 46: 449-57.
117. **Justo AM, da Rosa RA, Santini MF, Ferreira MBC, Pereira JR, Duarte MAH, et al.** Effectiveness of final irrigant protocols for debris removal from simulated canal irregularities. *Journal of endodontics*. **2014**; 40: 2009-14.
118. **Brito PR, Souza LC, Machado de Oliveira JC, Alves FR, De-Deus G, Lopes HP, et al.** Comparison of the effectiveness of three irrigation techniques in reducing intracanal *Enterococcus faecalis* populations: an in vitro study. *Journal of endodontics*. **2009**; 35: 1422-7.
119. **Muhammad OH, Chevalier M, Rocca J-P, Brulat-Bouchard N, Medioni E.** Photodynamic therapy versus ultrasonic irrigation: interaction with endodontic microbial biofilm, an ex vivo study. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*. **2014**; 11: 171-81.
120. **Pražmo EJ, Godlewska RA, Mielczarek AB.** Effectiveness of repeated photodynamic therapy in the elimination of intracanal *Enterococcus faecalis* biofilm: an in vitro study. *Lasers in medical science*. **2017**; 32: 655-61.

121. **Safavi KE, Dowden WE, Introcaso JH, Langeland K.** A comparison of antimicrobial effects of calcium hydroxide and Iodine-potassium iodide. *Journal of endodontics*. **1985**; 11: 454-6.
122. **Ørstavik D, Haapasalo M.** Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Dental Traumatology*. **1990**; 6: 142-9.
123. **Bitter K, Vlassakidis A, Niepel M, Hoedke D, Schulze J, Neumann K, et al.** Effects of Diode Laser, Gaseous Ozone, and Medical Dressings on Enterococcus faecalis Biofilms in the Root Canal Ex Vivo. *BioMed research international*. **2017**; 2017: 6321850.
124. **Shrestha A, Zhilong S, Gee NK, Kishen A.** Nanoparticulates for antibiofilm treatment and effect of aging on its antibacterial activity. *Journal of endodontics*. **2010**; 36: 1030-5.
125. **Pan J, Sun K, Liang Y, Sun P, Yang X, Wang J, et al.** Cold plasma therapy of a tooth root canal infected with Enterococcus faecalis biofilms in vitro. *Journal of endodontics*. **2013**; 39: 105-10.
126. **Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, Sousa EL, Teixeira FB, Souza-Filho FJ.** Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *International endodontic journal*. **2003**; 36: 1-11.
127. **Dametto FR, Ferraz CCR, de Almeida Gomes BPF, Zaia AA, Teixeira FB, de Souza-Filho FJ.** In vitro assessment of the immediate and prolonged antimicrobial action of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant against Enterococcus faecalis. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. **2005**; 99: 768-72.
128. **Guerreiro-Tanomaru JM, Chavez-Andrade GM, de Faria-Junior NB, Watanabe E, Tanomaru-Filho M.** Effect of Passive Ultrasonic Irrigation on Enterococcus faecalis from Root Canals: An Ex Vivo Study. *Brazilian dental journal*. **2015**; 26: 342-6.
129. **Ramezanali F, Samimi S, Kharazifard M, Afkhami F.** The in Vitro Antibacterial Efficacy of Persian Green Tea Extract as an Intracanal Irrigant on Enterococcus faecalis Biofilm. *Iranian endodontic journal*. **2016**; 11: 304-8.
130. **Haapasalo M, Orstavik D.** In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res*. **1987**; 66: 1375-9.
131. **Shen Y, Stojicic S, Haapasalo M.** Antimicrobial efficacy of chlorhexidine against bacteria in biofilms at different stages of development. *Journal of endodontics*. **2011**; 37: 657-61.
132. **Chiniforush N, Pourhajibagher M, Parker S, Shahabi S, Bahador A.** The in vitro effect of antimicrobial photodynamic therapy with indocyanine green on Enterococcus faecalis: Influence of a washing vs non-washing procedure. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*. **2016**; 16: 119-23.
133. **Beltes C, Sakkas H, Economides N, Papadopoulou C.** Antimicrobial photodynamic therapy using Indocyanine green and near-infrared diode laser in reducing Enterococcus faecalis. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*. **2017**; 17: 5-8.
134. **Souza LC, Brito PR, de Oliveira JCM, Alves FR, Moreira EJ, Sampaio-Filho HR, et al.** Photodynamic therapy with two different photosensitizers as a supplement to instrumentation/irrigation procedures in promoting intracanal reduction of Enterococcus faecalis. *Journal of endodontics*. **2010**; 36: 292-6.
135. **Kim S-W, Shin D-H.** Antibacterial effect of urushiol on E. faecalis as a root canal irrigant. *Restorative dentistry & endodontics*. **2017**; 42: 54-9.

136. **De Almeida J, Cechella BC, Bernardi AV, De Lima Pimenta A, Felipe WT.** Effectiveness of nanoparticles solutions and conventional endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilm. *Indian Journal of Dental Research.* **2018**; 29: 347.
137. **Rios A, He J, Glickman GN, Spears R, Schneiderman ED, Honeyman AL.** Evaluation of photodynamic therapy using a light-emitting diode lamp against *Enterococcus faecalis* in extracted human teeth. *Journal of endodontics.* **2011**; 37: 856-9.
138. **Muhammad OH, Chevalier M, Rocca JP, Brulat-Bouchard N, Medioni E.** Photodynamic therapy versus ultrasonic irrigation: interaction with endodontic microbial biofilm, an ex vivo study. *Photodiagnosis and photodynamic therapy.* **2014**; 11: 171-81.
139. **Stojicic S, Amorim H, Shen Y, Haapasalo M.** Ex vivo killing of *Enterococcus faecalis* and mixed plaque bacteria in planktonic and biofilm culture by modified photoactivated disinfection. *International endodontic journal.* **2013**; 46: 649-59.
140. **Yildirim C, Karaarslan ES, Ozsevik S, Zer Y, Sari T, Usumez A.** Antimicrobial efficiency of photodynamic therapy with different irradiation durations. *European journal of dentistry.* **2013**; 7: 469.
141. **Da Frota MF, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M, Bagnato VS, Espir CG, Berbert FLCV.** Photodynamic therapy in root canals contaminated with *Enterococcus faecalis* using curcumin as photosensitizer. *Lasers in medical science.* **2015**; 30: 1867-72.
142. **Foschi F, Fontana CR, Ruggiero K, Riahi R, Vera A, Doukas AG, et al.** Photodynamic inactivation of *Enterococcus faecalis* in dental root canals in vitro. *Lasers in surgery and medicine.* **2007**; 39: 782-7.
143. **Poggio C, Arciola CR, Dagna A, Florindi F, Chiesa M, Saino E, et al.** Photoactivated disinfection(PAD) in endodontics: an in vitro microbiological evaluation. *International Journal of Artificial Organs.* **2011**; 34: 889-97.
144. **Lana M, Ribeiro-Sobrinho A, Stehling R, Garcia G, Silva B, Hamdan J, et al.** Microorganisms isolated from root canals presenting necrotic pulp and their drug susceptibility in vitro. *Oral microbiology and immunology.* **2001**; 16: 100-5.
145. **Baumgartner JC, Johal S, Marshall JG.** Comparison of the antimicrobial efficacy of 1.3% NaOCl/BioPure MTAD to 5.25% NaOCl/15% EDTA for root canal irrigation. *Journal of endodontics.* **2007**; 33: 48-51.
146. **Kuvvetli SS, Sandalli N, Topcuoglu N, Kulekci G.** Antibacterial efficacy of diode and Er: YAG laser irradiation in experimentally contaminated primary molar root canals. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry.* **2009**; 34: 43-8.
147. **Endo MS, Ferraz CC, Zaia AA, Almeida JF, Gomes BP.** Quantitative and qualitative analysis of microorganisms in root-filled teeth with persistent infection: Monitoring of the endodontic retreatment. *European journal of dentistry.* **2013**; 7: 302.
148. **De Oliveira BP, Aguiar CM, Câmara AC, De Albuquerque MM, De Barros Correia ACR, Soares MFdLR.** The efficacy of photodynamic therapy and sodium hypochlorite in root canal disinfection by a single-file instrumentation technique. *Photodiagnosis and photodynamic therapy.* **2015**; 12: 436-43.

149. **Nakamura VC, CAndeiro GT, Cai S, Gavini G.** Ex vivo evaluation of three instrumentation techniques on *E. faecalis* biofilm within oval shaped root canals. *Brazilian oral research.* **2015**; 29: 1-7.
150. **Asnaashari M, Mojahedi SM, Asadi Z, Azari-Marhabi S, Maleki A.** A comparison of the antibacterial activity of the two methods of photodynamic therapy (using diode laser 810nm and LED lamp 630nm) against *Enterococcus faecalis* in extracted human anterior teeth. *Photodiagnosis and photodynamic therapy.* **2016**; 13: 233-7.
151. **Samiei M, Shahi S, Abdollahi AA, Eskandarinezhad M, Negahdari R, Pakseresht Z.** The Antibacterial Efficacy of Photo-Activated Disinfection, Chlorhexidine and Sodium Hypochlorite in Infected Root Canals: An in Vitro Study. *Iranian endodontic journal.* **2016**; 11: 179-83.
152. **Soares JA, Soares SMCS, César CAS, De Carvalho MAR, Brito-Júnior M, De Sousa GR, et al.** Monitoring the effectiveness of photodynamic therapy with periodic renewal of the photosensitizer on intracanal *Enterococcus faecalis* biofilms. *Photodiagnosis and photodynamic therapy.* **2016**; 13: 123-7.
153. **Câmara AC, De Albuquerque MM, Aguiar CM, De Barros Correia ACR.** In vitro antimicrobial activity of 0.5%, 1%, and 2.5% sodium hypochlorite in root canals instrumented with the ProTaper Universal system. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology.* **2009**; 108: e55-e61.
154. **Dos Santos Pinheiro R, De Lima Pedro R, Dos Santos KRN, Guimaratilde L, Maia LC.** Microorganisms involved in endodontic infection of permanent teeth: a systematic review. *African Journal of Microbiology Research.* **2013**; 7: 1819-26.
155. **Ma J, Wang Z, Shen Y, Haapasalo M.** A new noninvasive model to study the effectiveness of dentin disinfection by using confocal laser scanning microscopy. *Journal of endodontics.* **2011**; 37: 1380-5.
156. **Yang Y, Shen Y, Wang Z, Huang X, Maezono H, Ma J, et al.** Evaluation of the susceptibility of multispecies biofilms in dentinal tubules to disinfecting solutions. *Journal of endodontics.* **2016**; 42: 1246-50.
157. **Priyank H, Pandey V, Bagul A, Majety K, Verma P, Choudhury B.** Evaluation of 4% Sodium Hypochlorite in eliminating *Enterococcus faecalis* from the Root Canal when Used with Three Irrigation Methods: An in vitro Study. *The journal of contemporary dental practice.* **2017**; 18: 214-7.
158. **Berber VB, Gomes BP, Sena NT, Vianna ME, Ferraz CC, Zaia AA, et al.** Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing *Enterococcus faecalis* within root canals and dentinal tubules. *International endodontic journal.* **2006**; 39: 10-7.
159. **Gomes BP, Vianna ME, Zaia AA, Almeida JFA, Souza-Filho FJ, Ferraz CC.** Chlorhexidine in endodontics. *Brazilian dental journal.* **2013**; 24: 89-102.
160. **Basrani B, Haapasalo M.** Update on endodontic irrigating solutions. *Endodontic topics.* **2012**; 27: 74-102.
161. **Alaçam T.** Endodonti: Özyurt Matbaacılık; **2012.** 529-88 p.
162. **Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-Rodríguez E, Liebana-Urena J, Espigares-Garcia M.** Bactericidal activity of phosphoric acid, citric acid, and EDTA solutions against

Enterococcus faecalis. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. **2008**; 106: 84-9.

163. **Rodrigues CT, de Andrade FB, de Vasconcelos L, Mideda RZ, Pereira TC, Kuga MC, et al.** Antibacterial properties of silver nanoparticles as a root canal irrigant against *Enterococcus faecalis* biofilm and infected dentinal tubules. *International endodontic journal*. **2018**; 51: 901-11.

164. **Menezes M, Valera M, Jorge A, Koga-Ito C, Camargo C, Mancini M.** In vitro evaluation of the effectiveness of irrigants and intracanal medicaments on microorganisms within root canals. *International endodontic journal*. **2004**; 37: 311-9.

165. **Gomes B, Ferraz C, Vianna M, Berber V, Teixeira F, Souza-Filho F.** In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *International endodontic journal*. **2001**; 34: 424-8.

166. **Hasheminia S, Farhad AR, Saatchi M, Rajabzadeh M.** Synergistic antibacterial activity of chlorhexidine and hydrogen peroxide against *Enterococcus faecalis*. *Journal of oral science*. **2013**; 55: 275-80.

8.EKLER

BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU ONAYI
BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY CLINICAL RESEARCHES ETHICS COMMITTEE APPROVAL
 Sayı : 290 287.../2018
 Konu: Kararlar

BASVURU BİLGİLERİ (APPLICATION INFORMATION)	ARAŞTIRMANIN ADI (TITLE OF THE PROJECT)	Farklı Endodontik İrrigasyon Solüsyonlarının E. Faecalis Biyofilm Üzerindeki Antibakteriyel Etkinliklerinin In-Vitro Olarak İncelenmesi
	SORUMLU ARAŞTIRMACI (PRINCIPAL INVESTIGATOR)	Dr. Öğr. Üyesi İsmail ÖZKOÇAK
	DİĞER ARAŞTIRMACILAR (OTHER INVESTIGATORS)	Ary. Gör. Özge GÜNGÖR TUNÇBILEK, Dr. Öğr. Görevlisi Şehnem KURHAN
	ARAŞTIRMA MERKEZİ (RESEARCH CENTER)	Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı

KARAR (DECISION)	Karar no (Decision No): 2018/155	Tarih (Date): 06.09.2018
	Dr. Öğr. Üyesi İsmail ÖZKOÇAK'ın sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma dosyası ve ilgili belgelerin incelenmesi sonucunda araştırmanın gerçekleştirilmesinde etik yönden sakınca olmadığına mevcudun oy birliği/oy çokluğu ile karar verilmiştir.	

Üyeler	Uzmanlık alanı	Kurumu	İmzası
Prof. Dr. Nebil YILDIZ (Başkan)	Nöroloji	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Prof. Dr. Safiye GÜREL (Başkan Yrd.)	Radyoloji	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Prof. Dr. Özge UZUN (Üye)	Farmakoloji	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Doç. Dr. Hüsamettin ÇAKICI (Üye)	Ortopedi ve Travmatoloji	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Doç. Dr. İsa YILDIZ (Üye)	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Doç. Dr. Mehmet Hamid BOZTAŞ (Üye)	Ruh Sağlığı Hastalıkları	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Dr. Öğr. Üyesi Erkan KILINÇ (Bildirimlerden sorumlu üye)	Fizyoloji	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Dr. Öğr. Üyesi Oya KALAYCIOĞLU (Üye)	Biyostatistik	BAİBÜ İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi	
Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Hayati ATALA (Üye)	Protetik Diş Tedavisi	BAİBÜ Diş Hekimliği	
Dr. Öğr. Üyesi Tamer ÇANKAYA (Üye)	Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	BAİBÜ Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksekokulu	İzinli
Dr. Öğr. Üyesi Makbule TOKUR KESGIN (Üye)	Hemşirelik	BAİBÜ Bolu Sağlık Yüksek Okulu	
Dr. Öğr. Üyesi Kutlu AYDIN (Üye)	Antrenörlük	BAİBÜ Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu	İzinli
Dr. Hatice Selen SÖYLEMEZ (Üye)	Eczacı	Özel Eczane (BOLU)	
Av. Huri Hülya GÜNEŞ COŞKUN (Üye)	Hukukçu	Özel Hukuk Bürosu (BOLU)	
Ramazan KAYNARPINAR (Sivil-Üye)	Esnaf	Serbest Meslek (BOLU)	

9.ÖZGEÇMİŞ

Özge GÜNGÖR TUNÇBİLEK 28.03.1991 tarihinde Bursa’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Bursa’da tamamladı. 2009 yılında girdiği Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’nden 2014 yılında mezun oldu. 2016 yılında Abant İzzet Baysal Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı’nda uzmanlık eğitimine başladı. O tarihten itibaren aynı bölümde araştırma görevlisi olarak çalışmakta ve uzmanlık eğitimine devam etmektedir.



