

**T.C.  
BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ  
ENDODONTİ ANABİLİM DALI**

**KÖK KANAL TEDAVİSİ YENİLENEN DİŞLERDE KANAL İÇİ  
DEZENFEKSİYON YÖNTEMLERİNİN ENFEKTE KÖK  
KANALLARINDAKİ *ENTEROCOCCUS FAECALİS* VE *CANDİDA  
ALBİCANS* SAYILARINDAKİ AZALMAYA ETKİSİNİN PCR  
YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ**

**Dt. Burcu BİLGİN**

**DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Sevinç AKTEMUR TÜRKER**

**ZONGULDAK**

**2017**

**T.C.**  
**BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**  
**ENDODONTİ ANABİLİM DALI**

**KÖK KANAL TEDAVİSİ YENİLENEN DİŞLERDE KANAL İÇİ  
DEZENFEKSİYON YÖNTEMLERİNİN ENFEKTE KÖK  
KANALLARINDAKİ *ENTEROCOCCUS FAECALIS* VE *CANDIDA  
ALBICANS* SAYILARINDAKİ AZALMAYA ETKİSİNİN PCR  
YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ**

**Dt. Burcu BİLGİN**

**DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Doç. Dr. Sevinç AKTEMUR TÜRKER**

**ZONGULDAK**

**2017**

T.C.  
BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

İNTİHAL RAPORU BEYAN FORMU

Endodonti Anabilim Dalı'nda yürütülen "Kök Kanal Tedavisi Yenilenen Dişlerde Kanal İçi Dezenfeksiyon Yöntemlerinin Enfekte Kök Kanallarındaki *Enterococcus Faecalis* ve *Candida Albicans* Sayılarındaki Azalmaya Etkisinin PCR Yöntemi ile İncelenmesi" başlıklı tez için akademik intihal engelleme programında yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdadır.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz. 29/11/17

Öğrenci Adı- Soyadı

Arş. Gör. Dt. Burcu BİLGİN

Danışman Adı-Soyadı

Doç. Dr. Sevinç AKTEMUR TÜRKER

**BENZERLİK ORANLARI: %13**

## ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca beni destekleyen, değerli bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan tez danışmanım, Sayın Doç. Dr. Sevinç AKTEMUR TÜRKER başta olmak üzere,

Eğitimim süresince değerli bilgilerini benden hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman her konuda bana destek olan hocalarım, Sayın Prof. Dr. Emre BODRURLU, Sayın Doç. Dr. Sibel KOÇAK, Sayın Doç. Dr. M. Murat KOÇAK, Sayın Doç. Dr. Baran Can SAĞLAM, , Sayın Ydr. Doç. Dr. Ahmet HAZAR'a

Uzmanlık eğitimim boyunca bana hep destek olan, hiç yalnız bırakmayan sevgili kıdemli asistanımız Dt. Ecehan Hazar'a

Bu süreçte sevincimi de üzüntümü de paylaşan her zaman yanımda olan sevgili Olcay ÖZDEMİR ve İrem ÇETİNKAYA başta olmak üzere tüm bölüm arkadaşlarıma,

İstatiksel değerlendirmede emeği geçen BEU Biyoistatistik Bilim Dalı Başkanı Yrd. Doç. Dr. Fürüzan KÖKTÜRK ve BEU Periodontoloji Ana Bilim Dalında görev yapmakta Sayın Doç. Dr. Umut BALLI'ya

Çalışmaktan ve beraber olmaktan keyif aldığım tüm hocalarım, asistan arkadaşlarım ve Bülent Ecevit Diş Hekimliği Fakültesi'nin tüm personeline

Sevgi, saygı ve tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Burcu BİLGİN

Aralık, 2017

## ÖZET

**Burcu BİLGİN, Kök Kanal Tedavisi Yenilenen Dişlerde Kanal İçi Dezenfeksiyon Yöntemlerinin Enfekte Kök Kanallarındaki *Enterococcus Faecalis* ve *Candida Albicans* Sayılarındaki Azalmaya Etkisinin PCR Yöntemi ile İncelenmesi. Bülent Ecevit Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Zonguldak, 2017.**

**Amaç:** Bu *in vivo* çalışmanın amacı pasif ultrasonik irrigasyon, manuel dinamik aktivasyon ve fotodinamik terapi yöntemlerinin retreatment yapılan periapikal lezyonlu kanal tedavili dişlerdeki mikroorganizmaların uzaklaştırılmasındaki etkinliğini polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi kullanarak karşılaştırmaktır.

**Yöntem:** Kök kanal tedavisi yapılmış, apikal periodontitisli asemptomatik 36 adet diş bu çalışma için seçildi. Dişler kullanılan ek dezenfeksiyon yöntemine göre üç gruba ayrıldı: Pasif ultrasonik irrigasyon (PUI) grubu, Manuel dinamik aktivasyon (MDA) grubu ve Fotodinamik terapi (FDT) grubu. Kanal dolgusu sökümü sonrası (S1), kemomekanik preparasyon sonrası (S2) ve dezenfeksiyon yöntemi uygulandıktan sonra (S3) olmak üzere üç adet mikrobiyolojik örnek alındı. Bu örneklerdeki *E. faecalis* ve *C. albicans* seviyeleri PCR yöntemi kullanılarak ölçüldü.

**Bulgular:** Hiçbir dezenfeksiyon yöntemi *E. faecalis* ve *C. albicans*'i kök kanallarından tamamıyla uzaklaştıramadı. *E. faecalis*'i uzaklaştırma açısından yöntemler arasında fark bulunmadı ( $p>0.05$ ). *E. faecalis* her üç dezenfeksiyon yöntemi ile benzer oranlarda uzaklaştırdı. *C. albicans*'ı uzaklaştırma açısından sadece PUI ve MDA yöntemi arasında fark bulundu ( $p=0.043$ ). MDA yöntemi PUI yöntemine göre *C. albicans*'ı daha az oranda uzaklaştırdı. FDT grubu her iki mikroorganizma türünün miktarının azalmasında etkili olan tek yöntem olmuştur.

**Sonuç:** Kemomekanik preparasyon mikroorganizmaların uzaklaştırılmasında tek başına yeterli değildir. Tek seansta yapılan retreatment vakalarında ek bir dezenfeksiyon yöntemi uygulanmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** PCR, *E. faecalis*, *C. albicans*, Fotodinamik terapi, Pasif Ultrasonik irrigasyon, Manuel dinamik aktivasyon.

## ABSTRACT

**Burcu BİLGİN, Investigation of the Effect of Intracanal Disinfection Techniques in Reducing of the Amount of *Enterococcus Faecalis* and *Candida Albicans* in Infected Root Canals During Retreatment by Using PCR. Bülent Ecevit University, Faculty of Dentistry, Department of Endodontics, Master's Thesis, Zonguldak, 2017.**

**Aim:** The aim of this *in vivo* study was to compare the effect of passive ultrasonic irrigation, manual dynamic activation and photodynamic therapy in reducing microorganism load in endodontic retreatment of teeth with periradicular lesion by using polymerase chain reaction (PCR).

**Methodology:** Thirty-six endodontically treated root canals with apical periodontitis were selected for this study. Teeth were randomly divided into 3 groups according to the supplementary disinfection techniques used: Passive ultrasonic irrigation (PUI), Manual dynamic activation (MDA) and Photodynamic therapy (PDT). Microbiological samples were taken after removal of gutta-percha (S1), chemomechanical preparation (S2) and supplementary disinfection techniques (S3). The levels of *E. faecalis* and *C. albicans* in these samples were measured by using PCR.

**Results:** None of the disinfection techniques was completely removed microorganism from root canals. No significant differences were observed between groups in terms of removing of *E. faecalis* ( $p>0.05$ ). All disinfection techniques were removed *E. faecalis* in similar ratios. There was a significant difference only between PUI and MDA groups in terms of removing *C. albicans* ( $p=0.043$ ). In MDA group, *C. albicans* was removed in smaller ratio compared to PUI group. PDT was the only effective technique that reduced the amount of both microorganism.

**Conclusion:** Chemomechanical preparation was not enough to remove all microorganism from root canals alone. Supplementary disinfection techniques should be used in single visit endodontic retreatment cases.

**Keywords:** PCR, *E. faecalis*, *C. albicans*, Photodynamic therapy, Passive ultrasonic irrigation, Manual dynamic activation.

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL VE ONAY:.....	iii
ÖNSÖZ .....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİL DİZİNİ .....	x
TABLO DİZİNİ .....	xi
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	4
2.1. Endodontik Enfeksiyonlar .....	4
2.1.1. Kök kanal tedavisinin başarısızlığı ve nedenleri .....	4
2.1.2. Başarısız kök kanal tedavisinde kök kanalından izole edilen mikroorganizmalar.....	5
2.1.3. <i>Enterococcus faecalis</i> .....	7
2.1.3.1. <i>E. faecalis</i> ' in ikincil enfeksiyonlarda bulunma sıklığı.....	7
2.1.4. Endodontik enfeksiyonlarda mantarlar .....	8
2.1.4.1. <i>Candida albicans</i> .....	9
2.1.4.2. İkincil endodontik enfeksiyonlarda mantarlar .....	10
2.1.5. Mikroorganizmaların tespit yöntemleri .....	10
2.1.5.1. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR).....	12
2.2. İrrigasyon Solüsyonları .....	13
2.2.1. Sodyum hipoklorit (NaOCl) .....	13
2.2.2. Etilen diamin tetraasetik asit (EDTA) .....	14
2.3. İrrigasyon Solüsyonlarının Aktivasyonu.....	15
2.3.1. Pasif ultrasonik irrigasyon .....	15
2.3.2. Manuel dinamik aktivasyon.....	16
2.4. Lazer Sistemlerinin Endodontideki Uygulama Alanları .....	16
2.4.1. Lazerlerin kanal dezenfeksiyonundaki etki mekanizması .....	18
2.4.2. Fotodinamik terapi (FDT).....	20
2.4.2.1. Fotodinamik terapide kullanılan ışık kaynakları.....	21
2.4.2.1.1. Diyot lazerler .....	21

2.4.2.2. Fotodinamik terapide kullanılan fotosensitif maddeler.....	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	24
3.1. Etik Kurul Onayı .....	24
3.2. Hasta Seçimi ve Dağılımı.....	24
3.2.1. Araştırmaya Dâhil Edilmeme Kriterleri .....	24
3.3. Hastalara Uygulanan Endodontik Tedavi Protokolü ve Kök Kanallarından Örnek Alımı.....	25
3.3.1. Manuel dinamik aktivasyon grubu .....	28
3.3.2. Pasif ultrasonik irrigasyon grubu.....	28
3.3.3. Fotodinamik terapi grubu.....	29
3.4. Örneklerin PCR ile İncelenmesi.....	33
3.4.1. DNA izolasyonu .....	33
3.4.2. Gerçek zamanlı PCR protokolü .....	34
3.5. İstatistiksel Analiz .....	36
4. BULGULAR.....	37
5. TARTIŞMA .....	42
6. SONUÇLAR .....	51
7. KAYNAKLAR .....	52
8. EKLER.....	71
Ek 1. Etik Kurul Onayı.....	71
Ek 2. İntihal Raporu Beyan Formu .....	72
9. ÖZGEÇMİŞ .....	74



## SİMGELER VE KISALTMALAR

CFU	Colony forming unit
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
ESEM	Environmental Scanning Electron Microscope
FDT	Fotodinamik terapi
FM	Fotosensitif madde
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen Peroksit
LDF	Lazer doppler flowmetre
MDA	Manuel dinamik aktivasyon
MM	Metilen mavisi
NaOCl	Sodyum Hipoklorit
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> .5H <sub>2</sub> O	Sodyum Tiyosülfat
PIPS	Foton indüklenmiş fotoakustik dalgalanma
PTN	ProTaper Next
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu

## ŞEKİL DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1: Hasta Ağzında Lastik Örtü Uygulaması.....	26
Şekil 2: Sodyum Tiyosülfat ve Hidrojen Peroksit.....	26
Şekil 3: Örneklerin Eppendorf Tüplerine Toplanması ve Kullandığımız RNA Later.....	27
Şekil 4: Ultrasonik Cihazı ve Pasif Ultrasonik İrrigasyon Ucu.....	28
Şekil 5: Diyot Lazer Cihazı ve Fiber Optik Uç .....	29
Şekil 6: EDTA, Metilen Mavisi ve NaOCl.....	30
Şekil 7: Endodontik Tedavi Protokolü ve Örnek Alımı .....	31
Şekil 8: Yaptığımız Retreatment Vakalarından Örnekler.....	33
Şekil 9: DNA Ekstraksiyonu Sırasında Kullanılan Santrifüj Cihazı, İnkübasyon Cihazı ve Gerçek Zamanlı PCR Cihazı.....	35

## TABLO DİZİNİ

<b><u>Tablo</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
<b>Tablo 1:</b> Başarısız Kök Kanal Tedavileriyle İlişkili İkincil/İnatçı Enfeksiyonlardaki Bakteriyal Tür/Filotip (Takson) Yoğunluğu. ....	7
<b>Tablo 2:</b> Yaygın Olarak Kullanılan Mikroorganizma Tespit Yöntemleri ve Avantajları .....	12
<b>Tablo 3:</b> Dekalsifiye Edici Ajanların Özellikleri .....	15
<b>Tablo 4:</b> Hasta Dağılımı .....	25
<b>Tablo 5:</b> PCR ile Çoğaltılacak Gen Bölgesinin Primerleri .....	35
<b>Tablo 6:</b> PCR Bileşenleri .....	35
<b>Tablo 7:</b> PUI, MDA ve FDT Gruplarındaki <i>E. faecalis</i> 'in S1, S2, S3 Örneklerindeki Ortalama, Ortanca, Standart Sapma, Minimum ve Maksimum Değerleri ve S1-S3 Azalma Yüzdesi (%).....	39
<b>Tablo 8:</b> PUI, MDA ve FDT gruplarındaki <i>C. albicans</i> 'in S1, S2, S3 Örneklerindeki Ortalama, Ortanca, Standart Sapma, Minimum ve Maksimum Değerleri ve S1-S3 Azalma Yüzdesi (%).....	40
<b>Tablo 9:</b> PUI, MDA ve FDT Gruplarındaki <i>E. faecalis</i> 'in S1 ve S2 Örnekleri Arasındaki Azalma Yüzdeleri (%). ....	40
<b>Tablo 10:</b> PUI, MDA ve FDT Gruplarındaki <i>C. albicans</i> 'in S1 ve S2 Örnekleri Arasındaki Azalma Yüzdeleri (%). ....	41
<b>Tablo 11:</b> Gruplardaki <i>E. faecalis</i> 'in S1, S2 ve S3 Örneklerindeki Miktarı. ....	41
<b>Tablo 12:</b> Gruplardaki <i>C. albicans</i> 'in S1, S2 ve S3 Örneklerindeki Miktarı.....	41

## 1. GİRİŞ

Başarılı bir endodontik tedavi kök kanal sisteminin enfekte ve nekrotik pulpa dokusundan temizlenmesi, mikroorganizmaların elimine edilmesi ve yeniden enfeksiyon gelişimini önlemek için kök kanalının üç boyutlu olarak doldurulması ile sağlanmaktadır. Kök kanal tedavisi yapılmış dişlerde görülen başarısızlıklar genellikle tedavi prosedürleri sırasında kanal içi dezenfeksiyonun tam olarak sağlanamaması nedeniyle meydana gelir (1). Nekrotik kök kanalları hemen hemen eşit oranda gram pozitif ve gram negatif anaerobik bakterilerin baskın olduğu polimikrobiyal bir floraya sahiptir (2). Kök kanal tedavisinin yenilenmesi (retreatment) gereken inatçı enfeksiyonlardaki mikrobiyal flora ise, ya monoenfeksiyon ya da gram pozitif fakültatif ve zorunlu anaeroplardan oluşan eşit miktarda bulunduğu polimikrobiyal enfeksiyonlardır. Yapılan son mikrobiyolojik çalışmalarda başarısız kök kanal tedavilerinde artan miktarda *Candida albicans* (*C. albicans*) ve *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) izole edilmiştir. *E. faecalis* kök kanal tedavisi yapılmış dişlerden hem kültür yöntemi hem de moleküler yöntemlerle en çok izole edilen bakteri türüdür (3-8). Mantar türleri nekrotik dişlerle karşılaştırıldığında kök kanal tedavisi yapılmış apikal periodontitisli dişlerde daha çok bulunmaktadır. Tedaviye dirençli vakalardaki mantar varlığının kültür ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi ile %3-18 arasında değiştiği gösterilmiştir (8, 9). *C. albicans* ise oral kaviteden en çok izole edilen mantar türüdür (%30-45) (9, 10).

Retreatment gereken vakalarda kemomekanik preparasyon kök kanalının temizlenmesi, dezenfeksiyonu ve şekillendirilmesi bakımından en önemli basamaklardan biridir. Modern endodontide endodontik motorlarla çalışan nikel titanyum (Ni-Ti) döner ege sistemlerin kullanımı preparasyon zamanı ve prosedürel hataları azaltması nedeniyle gün geçtikçe yaygınlaşmaktadır (11,12). Yapılan çalışmalar çok eğeli döner ege sistemlerinin enfekte kök kanallarındaki bakterilerin ve endotoksinlerin %90'ından fazlasını uzaklaştırabildiğini göstermiştir (13, 14).

ProTaper Next (PTN) (Dentsply Maillefer, Ballaigues, İsviçre) son yıllarda üretilmiş dikdörtgen çapraz kesite sahip konvansiyonel rotasyon hareketi yapan döner ege sistemidir. Rotasyon hareketi sırasında eğeler asimetric, sinusoidal dalga hareketine benzeyen mekanik bir dalga oluşturarak preparasyon sırasında debrisin koronale doğru çıkarılmasını sağlar (15).

Günümüzde kök kanallarından mikroorganizmaların daha etkin bir şekilde uzaklaştırılmasını sağlayacak ve kök kanalı dezenfeksiyonunu artıracak yeni yöntemler geliştirilmiştir. Bu dezenfeksiyon yöntemleri arasında pasif ultrasonik irrigasyon (PUI), fotodinamik terapi (FDT) ve manuel dinamik aktivasyon (MDA) yer almaktadır. Pasif ultrasonik irrigasyon (PUI) kök kanalının şekillendirilmesini takiben son irrigasyonun, genellikle sodyum hipokloritin (NaOCl), aktivasyonu amacıyla kullanılır. PUI'nin kullanımının elle ya da döner aletlerle yapılan kemomekanik preparasyondan sonra kanal içi bakteri miktarını azalttığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (1, 16, 17).

Yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda konvansiyonel endodontik tedavi sonrasında uygulanan fotodinamik terapinin kök kanal sistemindeki bakteri miktarının azaltılmasında etkili bir yöntem olduğu bildirilmiştir (18, 19). FDT temelde oksijen varlığında ışık ile fotosensitif madde (FM) arasındaki etkileşimi içermektedir. Hedef dokular FM ile boyanır ve özel bir dalga boyundaki (genellikle 630 nm ve 700 nm dalga boyundaki kırmızı ışık) ışığa maruz bırakılır. Bu etkileşim sonucunda reaktif oksijen türleri üretilerek hedef hücrelerde (bakteri ve tümör hücreleri dâhil olmak üzere) oksitativ hasar meydana gelir (20). FDT'nin geleneksel endodontik enstrümantasyon ve irrigasyon yöntemleri ile karşılaştırıldığında enfekte kök kanallarındaki *E. faecalis* miktarını belirgin şekilde azalttığını bulan çalışmalar olduğu gibi (21-23) aksini iddia eden çalışmalar da mevcuttur (23-25).

Manuel dinamik aktivasyon (MDA) kök kanal duvarlarının temizlenmesi için kullanılan ucuz ve basit yöntemlerden biridir. MDA, şekillendirilmiş kök kanalına uyumlu bir güta-perka konunun, irrigasyon solüsyonu ile dolu kök kanalına çalışma boyunca tekrarlayan şekilde ileri-geri hareketiyle gerçekleştirilir. Güta-perka konunun kısa ve yumuşak darbeleriyle irrigasyon solüsyonu hidrodinamik olarak aktive edilir (26). Bu tekniğin kök kanalının apikal 0-2 milimetresinde oluşan hava kabarcığını patlatıp bakterilerden zengin olan bu bölgenin temizlenmesine yardımcı olduğu düşünülmektedir (27).

Enfekte kök kanalındaki mikrobiyal florayı moleküler metotları kullanarak araştıran çalışmalar, konvansiyonel kültür yöntemlerinin kullanıldığı çalışmalara göre farklı sonuçlar ortaya koymuştur (28, 29). Moleküler metotlar kültür yönteminden daha kolay, daha net ve daha hızlıdır. Moleküler yöntemlerden biri olan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi örneklerdeki 10 bakteriden daha azının varlığını belirleyebilecek kadar hassastır. En büyük dezavantajı ise moleküler

metotlarda bakteriler kültüre edilemediğinden canlı olup olmadıklarının bilinemesidir (30).

Bu bilgiler ışığında alışmamızda PUI, MDA ve FDT yöntemlerinin retreatment vakalarında, enfekte kök kanalındaki *E. faecalis* ve *C. albicans*'ın eliminasyonundaki etkinliğini PCR yöntemi kullanarak karşılaştırmak amaçlanmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Endodontik Enfeksiyonlar

#### 2.1.1. Kök kanal tedavisinin başarısızlığı ve nedenleri

Kök kanal tedavisi; pulpa dokusunun kök kanal sisteminden uzaklaştırılmasının ardından kök kanallarının mekanik olarak genişletilmesi, irrigasyon solüsyonları ile dezenfeksiyonu ve korondan apikale üç boyutlu olarak sıvı sızdırmaz bir şekilde doldurulması işlemlerini içerir. Başarılı bir endodontik tedavi bu prensiplerin tam olarak yerine getirilmesine bağlıdır (31).

Kök kanal tedavisinin başarı ve başarısızlık değerlendirmesi, histolojik, klinik ve radyografik bulgularla yapılmaktadır.

Histolojik başarı, periapikal dokularda iltihabi hücre yokluğu ile tanımlanmaktadır. Fakat tedavi öncesi ve sonrası histolojik inceleme olanaklı olmadığından bu başarı kanıtı, konservatif olarak tedavi edilen ve değerlendirilen olgularda ortaya konamamaktadır.

Radyolojik başarı, periapikal alanda tedaviden sonra herhangi bir radyolüens alanın oluşmaması veya tedaviden önce oluşmuş radyolüens alanın kaybolması ile tanımlanır.

Klinik başarı ise, tedavi sonrasında ilgili dişte palpasyon ve perküsyon duyarlılığının bulunmaması, spontan ağrının olmaması, varsa şişliğin geçmesi veya sinus yolunun kapanmış olması ve dişin fonksiyonunda kayıp gözlenmemesi şeklinde değerlendirilir.

Kök kanal tedavisinin başarı oranı farklı kriterler göz önüne alındığında %70-95 arasında değişmektedir (32).

Endodontik tedavinin en büyük başarısızlık sebeplerinden biri kanal içi enfeksiyonun ortadan kaldırılamamasıdır. Kullanılan teknik ve enstrümanlardan bağımsız olarak kök kanalının bir kısmı kemomekanik preparasyon sırasında dokunulmadan kaldığı ve şekillendirilmiş kanalların %40-50 kadarının hala kültüre edilebilen bakteriler içerdiği bildirilmiştir (33-35). Dokunulmayan alanlar, radyografik olarak kök kanal dolgusu yeterli görünmesine rağmen bakteri ve nekrotik doku içerebilir (36). Bu durum periradiküler alanda reaksiyonel bir iltihabi

cevaba neden olmakta ve radyograflarda iyileşmeyen periapikal lezyonlar olarak karşımıza çıkmaktadır.

Endodontik tedavinin başarısızlıkla sonuçlanmasının diğer sebepleri arasında tedavi sırasında izolasyonun sağlanmaması, uygun olmayan giriş kavitesi nedeniyle gözden kaçan kök kanalları, kanal içi dezenfeksiyonun yetersiz olması, kök kanalının üç boyutlu olarak doldurulamaması, kırık alet, perforasyon ve basamak oluşumu gibi iyatrojenik hatalar yer almaktadır (37).

Koronal sızıntıda endodontik tedavide başarısızlığa neden olan diğer faktörlerden biridir. Tam bir tıkama sağlanmış kök kanallarının ağız boşluğundan tekrar kontamine olabileceği bazı durumlar bulunmaktadır. Geçici/daimi restorasyonun kırılması, düşmesi, kalan diş yapısının kırılması, rezidüel çürük nedeniyle kanal dolgusunun ağız ortamına açılması ve daimi restorasyonun yapımındaki gecikmeler bu durumlar arasında yer almaktadır (38).

Bazı vakalar ise mikrobiyal olmayan faktörler yüzünden başarısız olabilmektedir. Kistik yapılar, kolesterol kristalleri, yabancı cisim reaksiyonu gibi faktörler de kök kanal tedavisinin başarısızlığına neden olabilmektedir.

### **2.1.2. Başarısız kök kanal tedavisinde kök kanalından izole edilen mikroorganizmalar**

İstmuslar, ramifikasyonlar, deltalar ve dentin tübülleri gibi kanal düzensizliklerine yerleşmiş olan bakteriler kanal dezenfeksiyonu işlemlerinden etkilenmeden kalabilirler (39-41). Endodontik tedavi sonrası görülen başarısızlık, kök kanalında canlı kalan mikroorganizmaların yeterli sayıya ulaşması, periradiküler dokulara çıkıp inflamasyonu tetiklemek ve devam ettirmek için yeterli patojeniteye sahip olması durumunda ortaya çıkar. Kök kanal tedavisi yapılmış bir dişte mikroorganizmaların enfeksiyon oluşturması için kanal içi dezenfeksiyon işlemlerine direnç gösterip, mevcut besin maddelerinin az olduğu bir ortama uyum sağlamaları gerekmektedir. Enfeksiyon sırasında mikroorganizmalar, biyofilm oluşturarak, antimikrobiyal ajanlara karşı 1000 kat daha dayanıklı hale gelebilmektedirler (42).

Kök kanal tedavisinde intraradiküler olarak görülen enfeksiyonlar birincil, ikincil ve inatçı olmak üzere 3'e ayrılmaktadır. Primer intraradiküler enfeksiyon, başlangıç evresinde nekrotik pulpa dokusuna girip kolonize olan mikroorganizmalar tarafından oluşturulur. Anaerobik bakterilerin hâkim olduğu ve kanal başına 10-30



türden oluşan karışık bir mikrobiyotaya sahiptir (43,44). Toplam bakteri sayısı enfekte kanal başına  $10^3$ - $10^8$  arasında değişmektedir (45-47). Tür sayısı ve bakteri yoğunluğu açısından her vaka değişkenlik gösterir (48). Bu durum, birincil enfeksiyonların heterojen bir etiyojiye sahip olduğunu, tek bir türün ana endodontik patojen olarak kabul edilemeyeceğini ve hastalığın patogeneğinde birden fazla bakteri kombinasyonunun rol oynadığını göstermektedir.

İkincil enfeksiyonlar, birincil enfeksiyonlar sırasında kök kanalında bulunmayan fakat kanal tedavisi işlemleri sırasında kök kanalına girmiş mikroorganizmalar tarafından meydana getirilir. İkincil endodontik enfeksiyonlara gram pozitif türler, fakültatif ve zorunlu anaeroblar hâkimdir (49). İnatçı enfeksiyonlara ise, birincil veya ikincil enfeksiyona mensup ve kanal tedavisi yapılmış dişlerde kanal içi dezenfeksiyon prosedürlerine ve besin yokluğuna karşı direnen mikroorganizmalar neden olur (50). Bu türlerin tespiti, daha önce tedavi edilen ve hastalığın tekrarladığı ya da varlığını sürdürdüğü dişlerden, kanal tedavisi yenilenirken alınan mikrobiyolojik örneklerin analizi ile yapılabilir. Bu örneklerden elde edilen mikrobiyotaya birincil enfeksiyonlara kıyasla daha az çeşitlilik gösterir. Kanal tedavisi uygun görünen dişlerden alınan örnekler 1-5 arasında tür içerirken, kanal tedavisi yetersiz yapılmış dişlerden elde edilen örneklerdeki tür sayısı 30'a kadar çıkabilir (43,51-53). Kök kanal tedavisi ve apikal periodontitisle ilişkili bir kök kanalı  $10^3$ - $10^7$  kadar bakteri hücreyi barındırabilir (54,55).

Retreatment vakalarından edilen örneklerde saptanan bakteri türleri /filotipleri 7 filum (dal) ve 58 genusa (cins) aittir. En yüksek tür zenginliği birincil enfeksiyonlarda olduğu gibi yine *Firmicutes* için gözlenmiş, bunu *Actinobacteria* ve *Proteobacteria* izlemiştir (Tablo 1). Moleküler yöntemler sayesinde, bu vakalarda *Spirochaetes* ve *Synergistes* filumlarının üyeleri de saptanmıştır (56).

Kültürel ve moleküler çalışmalar, *E. faecalis*'in kök kanal tedavisi dişlerde en sık görülen tür olduğunu ve prevalans değerinin vakaların %90'nına ulaştığını ortaya koymuştur (51-53, 55, 57-59). Birincil enfeksiyonlara kıyasla ikincil ve inatçı enfeksiyonların *E. faecalis*'i içermesi olasılığı yaklaşık 9 kat daha fazladır (53). Retreatment vakalarından elde edilen diğer türler arasında streptokoklar ve zor üreyen anaerobik *P. alactolyticus*, *P. propionicum*, *F. alocis*, *D. Pneumosintes* ve *D. invisus* gibi bakteri türleri de bulunur (56).

**Tablo 1:** Başarısız Kök Kanal Tedavileriyle İlişkili İkincil/İnatçı Enfeksiyonlardaki Bakteriyal Tür/Filotip (Takson) Yoğunluğu.

Filum	Taksonlar	Kültürde Üremeyen Filotipler	Moleküler Çalışmalarda Tespit Edilen Taksonlar	Kültür Çalışmalarında Tespit Edilen Taksonlar
Firmicutes	76	21	50	40
Actinobacteria	28	11	21	10
Proteobacteria	26	5	17	11
Bacteroidetes	22	6	16	9
Fusobacteria	4	2	3	2
Spirochaetes	1	0	1	0
Synergistes	1	1	1	0

### 2.1.3. *Enterococcus faecalis*

#### 2.1.3.1. *E. faecalis*' in ikincil enfeksiyonlarda bulunma sıklığı

*E. faecalis* enterokok cinsinin bir türüdür. Fermantatif fakültatif anaerop olan bu gram pozitif kok türü endospor oluşturmamaktadır (60).

Kanal içi dezenfeksiyon işlemlerine dirençli bir mikroorganizma olan *E. faecalis* nekrotik pulpalı dişlerin florasının az bir kısmını oluştururken, kök kanal tedavisinden sonra gelişen inatçı periapikal enfeksiyonların etyolojisinde önemli rol oynamaktadır. Bu mikroorganizma başarısız kök kanal tedavili dişlerin florasında tek mikroorganizma olarak veya floranın major komponenti olarak yaşayabilmektedir (61). Bunun nedeni gram pozitif olan *E. faecalis*'in, gram negatif bakterilere karşı toksin salgılayabilmesi bu sayede monomikrobiyal enfeksiyon oluşturabilmesidir. Bu türün kök kanalına koronal sızıntı sonucu ya da dişlerin drenaj için açık bırakıldığı sırada ikincil olarak girdiği düşünülmektedir. *E. faecalis*'in prevalansı çalışmalarda değişken bulunmuştur. Apikal periodontitisli hastalarda prevalansı %29-77 arasında değişmektedir (62, 63). Değişen oranlarda bulunması inatçı apikal enfeksiyonlardaki rolünün anlaşılmasını zorlaştırır da bu türün düşük miktarlarının bile inflamasyona neden olabileceğini düşündürmektedir. *E. faecalis*, besin yokluğuna, yüksek alkali pH'a ve antimikrobiyal ajanlara karşı direnç gösterebilme özellikleri sayesinde

endodontik işlemler sırasında hayatta kalarak ikincil ve inatçı enfeksiyonların gelişiminde önemli rol oynar.

#### 2.1.4. Endodontik enfeksiyonlarda mantarlar

Mantarlar, endodontik enfeksiyonlar ve periradiküler hastalıklarda rol oynayabilen kemoorganatrof ökaryotik mikroorganizmalardır. Patojenik mantarların çoğu *Ascomycetes*, *Basidiomycetes*, *Zygomycetes* ve *Deuteromycetes* grubuna girer. Fırsatçı fungal patojenlerin en çok görülen türleri, *Deuteromycetes* grubuna ait *Candida* ve *Aspergillus*'tur.

*Candida* türleri insanlarda yüzeysel hastalıklardan hayatı tehdit eden yaygın mikozlara kadar geniş bir yelpazede enfeksiyonlara neden olabilirler. Çoğu patojen mantar, eksojendir, ancak insidansı en yüksek olan mikozlara (örn.Kandidiyazis) insan vücudundaki normal mikrobiyotaya ait mantarlar neden olur. *Candida* türleri, sağlıklı kişilerin ağız boşluğu, gastrointestinal kanal, anüs, kasık, vajinal kanal ve vulvada bulunur (64).

Mantarlar, oral mikrobiyotanın küçük bir bölümünü oluşturmaktadır. En yaygın tür *Candida*'dır. *Candida albicans* (*C. albicans*), hem sağlıklı hem de ciddi sistemik hastalığı olan bireylerin ağız boşluğundan en sık izole edilen mantar türüdür. *C. albicans* en baskın mantar türü olmakla beraber bunu *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. parapsioli*s takip eder. *C. dubliniensis* *C. albicans*'la yakından ilişkili yeni bir çeşittir (65).

Dil sırtı, *C. albicans*'ın birincil oral yaşam alanı olarak kabul edilirken, diğer alanlara ikincil olarak kolonize olabilir (66). Mukoza, supragingiva, dentin, kök yüzeyi, subgingiva ve periodontal cepler ikincil olarak kolonize oldukları diğer alanlardır (67). Mantarların sement çürüklerinde (53), dentin tübüllerinde (68), inatçı apikal periodontitisli kanal tedavili dişlerin kök kanallarında (69), asemptomatik apikal periodontitisli dişlerin apikal kök yüzeylerinde (70) ve periapikal dokulardaki varlığı (71) kültür yöntemi ve mikroskopik inceleme ile gösterilmiştir. Mantarlar kök kanallarına endodontik tedavisi sırasında veya koronal restorasyonların sızıntısı sonucu girebilmektedir (72).

#### 2.1.4.1. *Candida albicans*

*C. albicans* insanda hastalık yapan *Candida*'ların başında gelir. Diğer *Candida*'lar insanda nadiren hastalık yapar veya avirülandır (73). *C. albicans*, diploit, eşeyli üreyen, maya tipi bir mantar türüdür. Genellikle blastospor ve hifal formları bulunan dimorfik mantarlar olarak tanımlanmaktadır. Hifalı yapının özellikle konak dokuya invaze olma ve makrofajlarca fagositozdan kaçmada rol oynadığı düşünülmektedir (74). *Candida* cinsine ait 200 tür olmasına karşın *Candida* enfeksiyonlarının %75'inin sorumlusu *C. albicans*'tır. *C. albicans*'ın sağlıklı yetişkinlerde oral kavitede bulunma oranı %30-45 arasında değişmekteyken HIV virüsü taşıyan hastalarda %95'e kadar çıkmaktadır (66, 75). *C. albicans* kök kanallarından en çok izole edilen mantar türü olup dentine adezyon yeteneği nedeniyle dentilofilik mikroorganizma olarak bilinmektedir.

Mantarların hastalık oluşturmasında çeşitli virülans faktörleri rol oynamaktadır. Bunlar; çevresel koşullara adaptasyon, farklı yüzeylere yapışabilme, hidrolitik enzimleri üretebilmesi, morfolojik değişim, biyofilm oluşumu, konak savunmasının immünomodülasyonu ve konak defansından kaçabilmesidir.

*Candida* türleri konak dokuya tutunabilen yüzey moleküllerine sahiptir. Tip 1 ve Tip 4 kollajene bağlanabilmektedirler (76). Bazı araştırmacılar *C. albicans*'ın *S. sanguinis*, *S. gordonii*, *S. oralis* ve *S. anginosus* suşları ile koagregasyon gösterdiğini ancak *S. mutans* ve *E. faecalis* ile birlikte bulunmadığını bildirmişlerdir (77, 78). Diğer mikroorganizmalar ile koagregasyon yapmaları, oral mukozal ve sert dokuların kolonizasyonunda önemli rol oynamaktadır. *C. albicans*'ın varlığı *in vitro* olarak toplam plak oluşumunda belirgin bir artışa neden olabilmektedir.

*C. albicans*'ın ürettiği hidrolitik enzimler periradiküler dokularda yıkıma neden olabilmektedir. Bu mantar türünden salınan kollajenolitik enzimlerin insan dentin kollajenini degrade edebileceği gösterilmiştir (74).

*C. albicans*, farklı yüzeylerde biyofilmler oluşturabilme özelliğine sahiptir ve bu özellik, bu türün *C. glabrata*, *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis* gibi biyofilm oluşturmayan türlere göre daha fazla patojen olduğunun düşünülmesinin nedenlerinden biri olduğu bildirilmiştir (79). Biyofilmin potansiyel risklere karşı mikroorganizmayı koruyucu özelliği vardır. Biyofilm içindeki hücreler, planktonik durumdaki hücrelere göre dezenfeksiyon işlemlerine karşı daha dirençlidirler.

Mantarlar kompleman sistemini aktive ederek, fagositozu başlatırlar. *C. albicans*, farklı mekanizmaların bir sonucu olarak konak savunmasından kaçabilir. Ayrıca bu türün, monositleri öldürmenin yanı sıra oksijen radikali üretimi ve degranülasyonu gibi polimorfonükleer nötrofil fonksiyonlarını da bloke ettiği gösterilmiştir (80, 81).

#### **2.1.4.2. İkincil endodontik enfeksiyonlarda mantarlar**

Mantarların birincil enfeksiyonlarda bulunma oranı kültür ve moleküler çalışmalarla %2-21 olarak bildirilirken tedaviye dirençli vakalardaki mantar varlığı %3-18 arasında değişmektedir (74). Nekrotik kanallara kıyasla mantarlar ikincil ve inatçı enfeksiyonlarda daha çok bulunur. Mantarların bakterilerden daha büyük ve hareketsiz olması dentin tübüleri aracılığı ile kök kanallarına girmelerini olanaksız kılmaktadır. Bu yüzden mantarlar kök kanallarına derin çürükler, çatlaklar ya da koronal sızıntı yoluyla girebilmektedir. Endodontik tedavi mantarların kök kanallarına girişi için başka bir yol oluşturmaktadır. Bu durum mantarların ikincil ve inatçı enfeksiyonlarda daha çok rastlanmasının nedeni olarak düşünülmektedir (82). Alkolizm, anemi, diabet, otoimmün hastalıklar ve HIV gibi genel sağlık durumunu etkileyen rahatsızlıklar endodontik enfeksiyonlardaki mantar prevalansını etkileyebilmektedir (83,84).

#### **2.1.5. Mikroorganizmaların tespit yöntemleri**

Endodontik hastalıkların enfeksiyöz yapıda olduğu uzun zamandır bilinmektedir. Bu hastalıklar oral mikrobiyotanın üyesi olan bir veya birkaç türden ziyade oral mikrobiyotanın üyeleri olan karmaşık bir mikroorganizma topluluğu tarafından başlatılmaktadır. Tablo 2’de yaygın olarak kullanılan mikroorganizma tespit yöntemleri ve avantajları açıklanmaktadır (85).

Uzun yıllar boyunca enfekte kök kanalları ve periapikal abseler kültür yöntemiyle incelenmiştir. Kültür yöntemi, bakterilerin fenotipik özelliklerini ve bunların antimikrobiyal duyarlılıklarını incelemek için tercih edilse de, son yıllarda hastalığın pataogenezinde rol oynayan ve tedaviye direnç gösteren türlerin kültürde üremeyen türler olduğu ortaya konulmuştur (86). Aynı zamanda kültür yönteminde kök kanallarından örnek alımının da bazı zorlukları bulunmaktadır. Duruma göre

haftalar, aylar hatta yıllar süren enfeksiyonlar kök kanallarında biyofilm oluşturan bakteriler tarafından meydana getirilir. Prepare edilmemiş kanallardan kâğıt konularla alınan örnekler sadece planktotik bakterileri içerir. Kanallar, biyofilmi bozmak için eğelense dahi istmuslar, ramifikasyonlar ve dentin tübülleri gibi alanlar dokunulmadan kalacağından alınan örnekler mikrobiyotanın az bir kısmını temsil edecektir.

Son yıllarda patojen mikroorganizmaların tespiti için moleküler yöntemlerden sıkça faydalanılmaktadır. Moleküler tanı yöntemleri arasında DNA probe tekniği ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yer almaktadır (87). DNA probe tekniği, patojen mikroorganizmaların belirlenmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. Bu tekniğin geleneksel mikrobiyolojik yöntemlere göre  $10^2$  sayıdaki bakteriyi bile belirleyebilme ve klinikte alınan örneklerden direk mikroorganizma tayini yapabilmek gibi iki büyük avantajı bulunmaktadır. Bununla birlikte spesifik DNA problemlerinin kullanımı, problemlerin önemli türleri hedeflemesi nedeniyle tekniği sınırlar. Seçilen türler kültür yöntemlerine dayalıdır ve herhangi bir ekilmemiş bakteri ya da bilinen ancak kültürü daha önce yapılmamış türlerin biyotipleri için tanımlama yapılamaz. Bu yöntemle mikroorganizmanın tespiti için canlı olması gerekmemektedir. Buna karşın oldukça pahalı yöntemler olmaları ve radyoaktif maddeler ile çalışılması gibi dezavantajları mevcuttur (88).

**Tablo 2:** Yaygın Olarak Kullanılan Mikroorganizma Tespit Yöntemleri ve Avantajları

<b>Kültür yöntemi</b>	<b>Görüntüleme</b>	<b>Moleküler Yöntemler</b>
Mikrobiyal virülansın belirlenmesinde kullanılabilir.	Mikroorganizmaların yerinin ve yoğunluğunun doğru belirlenmesini sağlar.	Mikroorganizmaların tespitinde yüksek duyarlılık gösterir.
Antibiyotik direnci bakılabilir.	Farklı büyütmelerde değişik mikrobiyal formlar ve biyofilm yapısı incelenebilir.	Mikroorganizmaların doğru taksonomik sınıflandırılmasına, patojen suşların tanımlanmasına olanak sağlar.
<i>In vitro</i> testlere ve deneylere izin verir.	Karanlık alan mikroskopisiyle spiroket gibi hareketli mikroorganizmalar incelenebilir.	Mikrobiyal virülans, etkileşimler ve gen ekspresyonunun doğru çalışılmasına izin verir.
Bakteriler sayılabilir.	Çekilmiş dişler ve smear tabakası incelenebilir.	Protein ekspresyonunun kapsamlı analizi ve bakteri yükünün yaklaşık tahmini yapılabilir.
Mikroorganizmaların canlılığı tespit edilebilir.	Mikroorganizmaların canlı ve ölü formları ayırt edilebilir.	mRNA'nın tespiti ile canlılık belirlenebilir.

### 2.1.5.1. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

Hiçbir teknik enfekte kök kanallarının potansiyel patojenlerinin gerçek çeşitliliğini tam olarak belirlemede yeterli değildir. Bununla birlikte 16S rRNA gen dizi verileri kullanılarak geliştirilen teknikler kültür edilemeyen mikroorganizmalar da dâhil olmak üzere çeşitli mikrobiyal toplulukları değerlendirmede kullanılabilirler.

PCR diğer bir moleküler teknik olup, son yıllarda biyoloji, tıp, genetik, gibi alanlarda oldukça ilgi görmektedir. PCR yöntemi moleküler teknolojiye en önemli gelişmelerden biridir. Çok hassas bir tekniktir ve DNA probe tekniğinden farklı olarak radyoaktiviteye ihtiyaç duymaz. Bir türe ait farklı tipteki organizmaların ve mikroorganizma geçiş yollarının belirlenmesinde kullanışlı olduğu bulunmuştur (88).

PCR, DNA içerisinde yer alan, dizisi bilinen iki segment arasındaki özgün bir bölgeyi enzimatik olarak çoğaltmak için uygulanan tepkimelere verilen ortak isimdir. Yöntemin temeli, bir tüp içerisindeki nükleik asitlerin uygun koşullarda *in vitro* olarak çoğaltılması esasına dayanır. PCR reaksiyonu, DNA'nın iki zincirinin yüksek sıcaklık ile birbirinden ayrılması (denatürasyon), sentetik oligo nükleotidlerin hedef DNA'ya bağlanması (hibridizasyon), sonra zincirin uzaması (polimerizasyon, çift iplikli DNA'ların sentezi) ve bu döngülerin belirli sayıda tekrarlanması esasına

dayanır. Bu üç adım (denatürasyon, hibridizasyon, polimerizasyon) bir PCR döngüsünü oluşturur. Her adım farklı sıcaklıklarda gerçekleşir. Tipik bir PCR reaksiyonu 25-40 tur PCR döngüsünden oluşur. Bakteri tanımlanması için genellikle basit bir PCR turu kullanılmakla birlikte bazı durumlarda nested PCR, multiplex PCR, gerçek zamanlı (real time) PCR gibi farklı PCR yöntemleri de kullanılabilir (89, 90).

## 2.2. İrrigasyon Solüsyonları

### 2.2.1. Sodyum hipoklorit (NaOCl)

Sodyum hipoklorit, NaOCl formülüyle yazılan çamaşır suyu adıyla bilinen dezenfeksiyon ve beyazlatıcı olarak kullanılan kimyasaldır. %0.5'lik NaOCl henüz antibiyotiklerin keşfedilmemiş olduğu 1. Dünya savaşı yıllarında yara antiseptiği olarak kullanılmıştır (Dakin, 1925).

NaOCl doku proteinleriyle temasa geçtiğinde kısa zamanda formaldehit, nitrojen, asitaldehit oluşur. Peptit bağlarını yıkarak proteinleri çözer. Bu süreçte amino grubundaki hidrojen atomuyla klorin grubu yer değiştirir ve kloraminler oluşur. Kloraminler antimikrobiyal etkinin oluşturulmasında önemli rol oynar.

Düşük yüzey gerilimi göstermesi, kolay bulunması, ucuz olması, biyofilme karşı etkili olması, etkili bir doku çözücü olması, organik ve antimikrobiyal etkinliği olması, NaOCl'i endodontik irrigasyon solüsyonları arasında en üst sıraya yerleştirmiştir.

NaOCl güçlü bir bazdır (pH>11). Kalsiyum hidroksite benzer şekilde antimikrobiyal etkisi bazik yapıda olmasından kaynaklanır. Yüksek pH'daki NaOCl geri dönüşümsüz enzim inhibisyonu yaparak sitoplazmik membran bütünlüğünü bozar, lipid peroksidasyonu sırasında fosfolipid yapının bozulmasına neden olur (91).

Endodontide irrigasyon solüsyonu olarak %0.5-6 arasında değişen konsantrasyonları tercih edilir. Yüksek konsantrasyonlardaki NaOCl'nin *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı daha etkili olduğunu bildiren *in vitro* çalışmalar mevcuttur (92-94). NaOCl 'nin etkinliği, uygulama miktarı, süresi, solüsyonun ısısı, konsantrasyonu artıkça artarken, solüsyonun pH'ı düştükçe, ortamdaki organik madde miktarı arttıkça ve aktif klor konsantrasyonu düştükçe azalır. Solüsyonun aktif klor miktarı saklama koşullarından etkilenir. Isı, ışık, pH, metal iyonlarının



varlığı, organik materyal varlığı solüsyonun kimyasal stabilitesini bozar. NaOCl yüzey temizliğinde ve güta-perkaların sterilizasyonunda da kullanılabilir.

Moorer ve Wesselink (96) NaOCl'nin mekanik ajitasyonunun ve ultrasonik aktivasyonunun doku çözme özelliğini artırdığını vurgulamışlardır. Stojicic ve ark. yaptıkları çalışmada (96) ajitasyonun ve solüsyonun devamlı yenilenmesinin NaOCl'nin etkinliğini artırdığını bildirmişlerdir. Fabiani (97) %5'lik NaOCl'nin ultrasonik aktivasyonunun kök kanalının apikal üçlüsündeki etkinliğini ve nikel titanyum uç ile yapılan pasif ultrasonik aktivasyonun sonik aktivasyona kıyasla doku çözme özelliğini artırdığını göstermiştir (98).

### **2.2.2. Etilen diamin tetraasetik asit (EDTA)**

İlk olarak 1935'de Ferdinand Munz tarafından sentezlenmiştir. Günümüzde temel olarak etilendiamin (1,2- diaminoethane), formaldehit (methanal) ve sodyum siyanidinden sentezlenmektedir. EDTA şelasyon yaparak smear tabakasının mineralize kısmının uzaklaştırılmasında kullanılır. Şelasyon özelliği  $Ca^{+2}$  ve  $Fe^{+3}$  gibi di- ve tri-kasyon metal iyonlarını "ayırma" yeteneğinden ortaya çıkar. EDTA ile bağlanan metal iyonları solüsyonda kalır ancak azalan reaktivite gösterirler. EDTA'ya maruz kalınan süre uzadığında bakteri hücre duvarındaki metal iyonları kopar ve süreç bakterinin ölümüyle sonuçlanır. EDTA tek başına smear tabakasını uzaklaştırmada yetersiz kalır organik kısmın kaldırılması için NaOCl ile birlikte kullanılmalıdır (99). EDTA genelde %17'lik konsantrasyonda kullanılır. Solüsyon temasta olduğu kök kanalı duvarlarındaki smear tabakasını 1 dakikadan daha kısa sürede uzaklaştırır. Yapılan çalışmalar yüksek konsantrasyonda ve uzun sürede EDTA kullanımının dentin sertliğini azalttığı ve kırılabilirliğini artırdığını ortaya koymuştur (100). Dekalsifiye edici ajanların genel özellikleri Tablo 3'te verilmiştir (101).

**Tablo 3: Dekalsifiye Edici Ajanların Özellikleri**

---

Smear tabakasının inorganik kısmını kaldırır.
Antibakteriyel etkiye katkı sağlarlar.
Kombine edilmiş solüsyonların geniş antibakteriyel özellikleri vardır.
EDTA'nın antifungal özelliği vardır.
Dentini 20-50 µm derinlikte demineralize ederler.
Düşük toksisite gösterirler.

---

### 2.3. İrrigasyon Solüsyonlarının Aktivasyonu

Kök kanal tedavisinin başarısı bakteriyel biyofilmlerin ve ürünlerin kanaldan uzaklaştırılmasına bağlıdır (102). Günümüzdeki preparasyon teknikleri tüm kanal yüzeylerini ve düzensizlikleri temizlemede yeterli olamamaktadır. Bunun yanında preparasyon sırasında oluşan smear tabakası dentin tübüllerini tıkayıp irrigasyon solüsyonlarının ve kanal patının penetrasyonunu engellemektedir. Arta kalan doku artıkları ve smear tabakası mikroorganizmalar içerebilir, kök kanal dolgusuyla dentin duvarları arasına girip sızıntıya yol açabilir. Bu da tedavinin başarısızlığıyla sonuçlanabilmektedir (103). Bu nedenle kök kanal sisteminden mikroorganizmaları, preparasyon sırasında oluşan debris ve smear tabakasını etkin bir şekilde uzaklaştırmak için irrigasyon solüsyonlarının aktivasyonu gerekmektedir.

#### 2.3.1. Pasif ultrasonik irrigasyon

Ultrasonikler 1957 yılında Richman tarafından endodontik uygulamalarda kullanılmaya başlanan, günümüzde irrigasyon solüsyonunun etkinliğini artırmak için kök kanallarında kullanılan yöntemlerden birisidir. Ultrasonik irrigasyon yönteminin smear tabakası ve dentin debrislerini uzaklaştırmada, etkili bir yöntem olduğu rapor edilmiştir (104). İki çeşit ultrasonik irrigasyondan bahsedilmektedir;

- Ultrasonik irrigasyon (UI): Ultrasonik enstrümantasyonla eş zamanlı kullanılan irrigasyondur.
- Pasif ultrasonik irrigasyon (PUI): Enstrümantasyon sonrasında irrigasyon solüsyonunu aktive etmek için kullanılır (105).

UI'nun; kök kanal sisteminden organik doku artığı ve smear tabakasını uzaklaştırmaya etkinliği, PUI'a göre oldukça düşüktür (106). Bu düşüş, akustik

dalgalanma ve kavitasyondaki azalma ile açıklanabilmektedir. PUI yönteminin temizleme etkisi dentin debris, mikroorganizma ve organik dokunun daha etkin şekilde uzaklaştırılması esasına dayanmaktadır. Pasif ultrasonik irrigasyon; titreşen alet aracılığıyla, kök kanalındaki irrigasyon solüsyonuna akustik enerjinin aktarılması esasına dayanmaktadır. Enerji, ultrasonik dalgalar yoluyla iletilir ve irrigasyon solüsyonunda akustik dalgalanma ve kavitasyon meydana getirebilir. Küçük çaplı enstrümanların; yüksek devirde ve solüsyon içinde serbestçe titreşim yaptığı durumlarda, akustik akımların maksimum düzeye ulaştığı ileri sürülmüştür. Kemomekanik preparasyondan sonra ek bir dezenfeksiyon yöntemi olarak irrigasyon solüsyonlarının (genellikle NaOCl) pasif ultrasonik yöntemle aktivasyonu önerilmektedir. Pasif olarak isimlendirilmesinin nedeni ultrasonik ucun dentini kesmeyecek yüzey özelliğine sahip olmasıdır. Bu yöntemin el ya da döner aletlerle genişletilen kanallardaki bakteri sayısını azaltmada etkili olduğu gösterilmiştir (107).

### **2.3.2. Manuel dinamik aktivasyon**

Manuel dinamik aktivasyon (MDA), kök kanalına uygulanan son genişletmenin çapına sahip gütaferkanın, kök kanalında bulunan irrigasyon solüsyonu içinde ileri-geri hareketleri ile kök kanalında oluşturduğu hidrodinamik aktiviteye bağlı oluşan dinamik irrigasyon şeklidir. Manuel dinamik aktivasyon ya da diğer adıyla manuel dinamik irrigasyon tüm kanal duvarlarının temizlenmesi için ortaya konulmuş farklı endodontik cihazlar gerektirmeyen ucuz bir yöntem olarak tanımlanmıştır. McGill ve ark. (108) bu hidrodinamik etkinin, irrigasyon solüsyonunda oluşan yer değiştirmeye ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Gu ve ark. (109) bu teknikte apikal 0-2 mm'de oluşan hava kabarcığının gütaferkanın hareketleriyle uzaklaşabileceği teorisini ileri sürmüşlerdir. Shehab El-Din ve ark. (110) manuel dinamik aktivasyonun smear tabakasını kaldırmada PUI ve pasif irrigasyondan (şırınga ile yapılan konvansiyonel irrigasyondan) daha etkili olduğunu bulmuşlardır.

### **2.4. Lazer Sistemlerinin Endodontideki Uygulama Alanları**

Lazer teknolojisi endodonti alanında dişin canlılığının belirlenmesinde, artmış dentin hassasiyetinin giderilmesinde, amputasyonda, pulpanın çıkarılmasında, kök

kanal preparasyonunda, kök kanal dezenfeksiyonunda, endodontik cerrahide, tekrarlayan endodontik tedavilerde kök kanal dolgusunun uzaklaştırılmasında kullanılmaktadır (111, 112).

Lazer Doppler Flowmetre (LDF) retina, renal korteks ve derideki gibi mikrovasküler dolaşımdaki kan akışını ölçmek için geliştirilmiş bir cihazdır. Endodonti pratiğinde dişlerin canlılığını kesin şekilde belirlemek oldukça zordur. Bazı sinir liflerinin nekroza direnç göstermesi yanlış pozitif cevaplara neden olabilmektedir. LDF noninvaziv, objektif, ağrısız, yarı kantitatif bir yöntemdir, pulpa kan akımını ölçmek için güvenilir olduğu gösterilmiştir. LDF için kullanılan lazerler genellikle 1 veya 2 mW'lık düşük güç düzeyindedir ve bu yöntemle herhangi bir pulpa hasarı rapor edilmemiştir (112).

Artmış dentin hassasiyeti; yanlış diş fırçalama, diş eti çekilmesi, asitli gıdaların aşırı tüketimi gibi nedenlerle gelişebilir (113). Ağrı hissi dentin tübüllerinin smear tabakasıyla tıkalı olmamasından kaynaklanmaktadır. Uygulanacak tedavinin pulpayı irrite etmemesi, hızlı ve uzun etkili olması, kolay ve ağrısız uygulanabilmesi ve dişlerde lekelenme yapmaması gerekmektedir. Bu amaçla bazı araştırmacılar lazerlerin güvenilir ve tekrarlanabilir bir tedavi seçeneği olduğu bildirmişlerdir. Artmış dentin hassasiyetinin tedavisinde kullanılan lazerler düşük çıkış gücü lazerleri [He-Ne ve galyum / alüminyum / arsenit (GaAlAs) lazerleri] ve orta çıkış gücü lazerleri (Nd: YAG ve CO<sub>2</sub> lazerleri) olarak ikiye ayrılır.

Kök gelişimini tamamlamış daimi dişlerde pulpa kaplaması ve kök kanal tedavisi yaygın endodontik tedavilerdendir. Direk ya da indirek pulpa kaplaması tedavisinin prognozu belirsiz olup başarı oranı %44-97 arasında değişmektedir (112). Direk kuafaj için lazerler kullanıldığında bu cihazların dokuyu buharlaştırma ve koagüle etme yeteneği sayesinde kanamasız ve steril bir alan oluşur böylece daha iyi bir kapama sağlanabilir. Lazer ile yapılan pulpotomi ve pulpa kaplaması çalışmalarını tarayan bir meta-analiz çalışmasında lazer uygulamasının pulpotomi prosedürlerinin tedavi sonuçlarını iyileştirebileceğini ancak bu konuda henüz güçlü kanıtların olmadığını ortaya koymuştur (114).

Apisektomi kök ucunun kesildiği ve onu çevreleyen inflame dokunun kürete edildiği işlemdir. Önceki kanal tedavisi başarısız olduğunda tercih edilir. Cerrahi sırasında lazerlerin kullanılması kansız bir operasyon alanı ile hekime kolaylık sağlar. Er:YAG lazerlerin ısı hasarı oluşturmadan sert dokuyu kesme yetenekleri sayesinde operasyon sırasında frez kullanma ihtiyacını ortadan kaldırır. Tüm bu

özelliklerinin yanında ses ve titreşim oluşturmamaları hastaların konforunu da arttırmaktadır (112).

Endodontide lazerlerin en sık kullanım alanı kanal dezenfeksiyonudur. Lazerlerin kök kanalında kullanımıyla ilgili temel problem fiber optik ucun en düşük 200 mikron çapa sahip olması ve lazer ışınının bu uçtan ancak tek yönlü ve ileri doğru çıkmasıdır. Bu yüzden, kök kanallarında lazer ile dezenfeksiyon yaparken fiber ucun lateral yönde hareket ettirilmesiyle emisyonun kanal duvarlarına yönlendirilmesine çalışılır. Bir diğer problem ise lazer kullanımı sırasında açığa çıkan ısıdır. Artan ısı riskini azaltmanın bir yolu, Gutknecht ve ark.'nın geliştirdiği titreşim tekniğini kullanmaktır (115). Teknik sırasında fiber uç, 2 mm/s'lik bir hızda helikoidal bir hareketle kanalda hareket ettirilir. Böylece, dokular sıcaklık değişimlerini tolere edebilirler.

#### **2.4.1. Lazerlerin kanal dezenfeksiyonundaki etki mekanizması**

Lazerlerin, endodonti alanında kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Kök kanal tedavisinde; özellikle kök kanallarının temizlenmesi ve şekillendirilmesinde, smear tabakasının ve debrislerin uzaklaştırılmasında, irrigasyon solüsyonlarının aktivasyonunda ve bakterilerin öldürülmesinde kullanılabileceği rapor edilmiştir (116, 117). Yapılan çalışmalar lazerle irrigasyon solüsyonu aktivasyonunun, kök kanalının irrigasyon solüsyonu ile doldurulmasının ardından sıvının yüksek hızla dalgalanarak kök kanalında kavitasyonel etki oluşturduğunu göstermektedir. Lazerler termal etkileri ile su moleküllerinin genişlemesine, buharlaşmasına ve patlamasına neden olarak kanal içerisindeki sıvıda sekonder kavitasyon oluşturmaktadır. Bu amaçla yapılan araştırmalarda; CO<sub>2</sub>, Nd:YAG, Argon, Diyot, Er,Cr:YSGG ve Er:YAG lazerler kullanılmıştır (118).

Franzen ve ark. (119) yaptıkları bir araştırmada, Er,Cr:YSGG lazerin *E. faecalis* ile kontamine edilmiş farklı kalınlıklarda dentin diskleri üzerindeki etkisini 0.25 W güçte, 20 Hz atım hızı, 200 µm çapında fiber uç kullanılarak, su soğutması olmadan ve 4 defa 10 'ar saniyelik atım uygulanıp aralarda da 5 saniye bekleyerek uygulamıştır. Bakteri eliminasyonunun dentin diliminin kalınlığına bağlı olduğu ve 100 µm ile 1000 µm kalınlıklar arasında, eliminasyonun %38-93 arasında değiştiği bu çalışmada rapor edilmiştir.

Er:YAG lazerlerin sert dokulardaki etkisi, hidroksiapatite karşı olan yüksek afinitesine bağlanmaktadır. İnorganik yapılar içerisindeki su tarafından absorbe edilerek, doku içerisinde basınç oluşmasına ve dokuların parçalanmasına sebep olurlar (120). De Groot ve ark. (121), Er:YAG lazerin irrigasyon solüsyonunda meydana getirdiği akışı ve kavitasyonu görüntüleyerek değerlendirdikleri çalışmalarında kök kanalının apikal kısmındaki dentin debrislerinin uzaklaştırılmasında, lazerle aktivasyonun pasif ultrasonik irrigasyon veya konvansiyonel irrigasyon yöntemine göre daha etkin olduğunu bildirmişlerdir.

Lazerle aktive olan irrigasyon solüsyonlarında buhar kabarcıkları oluşarak ikincil kavitasyon meydana gelir ve karmaşık kök kanal sistemlerinden debris ve smear tabakasının etkili bir şekilde uzaklaştırılması sağlanır (122, 123). ‘Foton İndüklenmiş Fotoakustik Dalgalanma’ (Photon Induced Photoacoustic Streaming-PIPS), bir erbium: itriyum-alüminyum-garnet (Er: YAG) lazer ile kullanılan yeni bir lazer aktivasyon tekniğidir. Diğer aktivasyon tekniklerinin tersine, kök ucuna ulaşmadan ucu sadece kanal ağzına yerleştirilir. Derin foto akustik şok dalgası, irrigasyon solüsyonunun üç boyutlu olarak hareket etmesini sağlar. Geleneksel irrigasyon ile karşılaştırıldığında, bu tekniğin, kök kanalı duvarlarından smear tabakasının, debrisin, medikamanların ve bakterilerin uzaklaştırılmasında daha etkili olduğu bildirilmiştir (124, 125). Peters ve ark. (126) PIPS yöntemi ile irrigasyon solüsyonunun aktive edilmesinin kökün apikal kısımlarında ve dentin tübüllerinin içerisinde bulunan bakterileri tamamen ortadan kaldırmamasına karşın, apikal kısımda ultrasonik aktivasyon yöntemine kıyasla bakteri ve biyofilm tabakasını daha iyi uzaklaştırdığını bildirmişlerdir.

Lazer enerjisi kök kanalı dezenfeksiyonunda doğrudan kullanıldığı gibi, ışığa duyarlı kimyasallarla birlikte kombine de kullanılabilir. Işığa duyarlı maddeler mikroorganizmalara bağlandığında düşük enerjili lazer ışığı ile aktivasyonu sonucu üretilen oksijen mikroorganizmanın DNA’sında ve hücre membranında hasar meydana getirmekte ve ölümüne neden olmaktadır. Bu mekanizma ‘ışıkla aktive olan dezenfeksiyon’ veya ‘fotodinamik terapi’ (FDT) olarak adlandırılır. Fotodinamik terapinin kök kanallarında sıkça görülen *F. nucleatum*, *P. intermedia*, *S. intermedius* ve *P. micros* gibi mikroorganizmaların yanı sıra inatçı enfeksiyonlarda önemli rol oynayan *E. faecalis*’in eliminasyonunda da etkili olduğu belirtilmiştir (127, 128). Schlafer ve ark. (129) 628 nm kırmızı spektrumda LED ışığı (Fotosan) ve fotosensitif madde olarak toluidin mavisinin farklı konsantrasyonlarını (10, 25, 50 ve 100

$\mu\text{g/mL}$ ) kullandıkları bir çalışmada en etkili konsantrasyonunun  $100 \mu\text{g/mL}$  olduğunu bildirmişlerdir. *E. coli*, *C. albicans*, *E. faecalis*, *F. nucleatum*, ve *S. intermedius* suşlarının planktonik süspansiyonlarında 30 sn süreyle ışınlama yapıldığında FDT'ye en fazla direnç gösteren mikroorganizmanın *C. albicans* olduğunu bildirmişlerdir. Bergmans ve ark. (130) *S. anginosus*, *E. faecalis* ve *F. nucleatum* ile enfekte ettikleri dişlere FDT, lazer ve tek başına fotosensitif madde uygulamışlardır. Tedaviden önceki ve sonraki CFU (Colony Forming Unit) sonuçları, ESEM (Environmental Scanning Electron Microscope) ile hücresel yapı değişiklikleri gözlemlenerek birlikte değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre; FDT uygulanan örneklerde mikroorganizma sayısında anlamlı derecede azalma olduğu, ancak tamamen elimine edilemediği bildirilmiştir. Tek başına lazer veya FM uygulamasında bakteri sayısında anlamlı bir azalma kaydedilmemiştir. ESEM incelemelerine göre biyofilm tabakasının FDT ile daha fazla kaldırılabilirdiği görülmüştür. Bago ve ark. (131) yaptıkları *in vitro* çalışmada FDT uygulamasını iki farklı prosedürle gerçekleştirmişlerdir. İlkinde toluidin mavisi kanalda 1 dakika, ikincisinde ise  $10 \mu\text{g/mL}$  fenotiazin klorit 2 dakika kanalda bekletildikten sonra  $660 \text{ nm}$  diyot lazer ile 60 sn ışınlanmıştır. Her iki uygulama şekliyle de fotodinamik terapinin, *E. faecalis* üzerinde konvansiyonel ve sonik aktivasyonlu %2.5 NaOCl irrigasyonundan ve de tek başına diyot lazer uygulamasından ( $975 \text{ nm}$ , 2 W,  $3 \times 20 \text{ sn}$ ) daha üstün antibakteriyel etkinlik gösterdiği bildirilmiştir.

#### **2.4.2. Fotodinamik terapi (FDT)**

Yüksek güçteki lazerlerin ısı gibi yan etkileri olması ve lazer ışınının kök kanalı için de her yere ulaşamaması nedeniyle dezenfeksiyon için düşük güçteki lazerlerin ışığa duyarlı bir boya ile beraber kullanılması fikri doğmuştur. Bu yöntemle ışıkla aktive edilmiş dezenfeksiyon (photo-activated disinfection) veya Fotodinamik Terapi (FDT) denir. Kanal içine konan fotosensitif madde (FM), düşük güçte bir lazer kaynağı ile uygun dalga boyunda ışınlandığında foto kimyasal bir reaksiyon oluşur ve tekli oksijen, serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen türleri açığa çıkar. Bu yan ürünler sayesinde mikroorganizmaların hücre zarı ve DNA'sı zarar görür. Dezenfeksiyon işlemi bu sayede gerçekleşir (132).

FDT'nin etki mekanizması toksik olmayan bir FM' nin topikal veya sistemik uygulanmasının ardından düşük dozda ve uygun bir dalga boyunda görünür ışık

uygulanmasına dayanır. Oksijen varlığında FM'nin ışığı absorbe etmesi fotokimyasal etkilere yol açıp tümör hücreleri, bakteriler ve mantarlar üzerinde toksik etki gösteren Reaktif Oksijen Radikallerinin (ROS) salınımına neden olan bir kaskadı başlatır. Bu reaksiyonlar sonucu hidrojen atomuna elektron transferi gerçekleşip serbest radikaller oluşabilir (tip I reaksiyon) ya da oksijen atomuna enerji transferi sonucunda (tip II reaksiyon) singlet (tekli) oksijen oluşur (133).

#### **2.4.2.1. Fotodinamik terapide kullanılan ışık kaynakları**

Fotosensitif maddenin aktivasyonu için Nd:YAG, Copper Vapor Lazer (CVL), argon lazer gibi kompleks ve pahalı ekipmanlar gerektiren farklı ışık kaynakları denenmiştir. Diyot lazerler kolay taşınabilir ve ucuz olmasından dolayı en çok tercih edilen lazerlerdendir. Konvensiyonel halojen ışık kaynağı ve light-emitting diyot (LED) ışık kaynakları da FM'nin aktivasyonu için kullanılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (129, 134-136). FDT'nin etkisini artırmak için kanal içi fiber optik uçlar da kullanılmıştır (21, 137-139). FDT'nin etkili olabilmesi için ışık kaynağının kalibrasyonu doğru yapılmalı ve kullanılan FM ile dalga boyu uyumlu olmalıdır.

##### **2.4.2.1.1. Diyot lazerler**

800-980 nm dalga boyu aralığındaki lazerlere verilen genel isimdir. Diyot lazerlere galyum arsenid, galyum aliminyum arsenid (GaAlAs) gibi farklı maddeler eklenerek benzer özellik sergileyen dalga boyları üretmesi sağlanmaktadır. Bu lazerlerin güçlü biyostimülasyon etkisi bulunmaktadır. GaAlAs yüksek doku penetrasyonuna sahiptir çünkü bu lazerin hemoglobin ve su tarafından absorpsiyonu iyi değildir. Deriye ve oral mukozaya uygulanan GaAlAs lazer dalgaları dokulara penetre olur ve oral mukozanın 4-8 mm altına kemiğe ve sinir dokusuna kadar ulaşır (140). Yüksek penetrasyon gücünden dolayı trigeminal sinir paretezilerinin tedavisinde doku rejenerasyonunu stimüle etmek amacı ile de kullanılabilir (141). Galyum arsenid ise deri pigmentlerindeki ve sudaki düşük absorpsiyonundan dolayı derin dokulara kadar penetre olabilen 904 nm dalga boyunda ışık yayan bir lazerdir. Fiber taşıma sistemi ile çalışan bu tip lazerler yumuşak doku cerrahisinde derin



penetrasyon özellikleri göz önünde tutularak kullanılabilirler. Aynı zamanda dentin hassasiyeti ve beyazlatma işlemlerinde de kullanılmaktadırlar (142).

Nd:YAG ve diyet lazerler dezenfeksiyon kabiliyetlerine bağlı olarak, lazer destekli endodontide klinik çalışmalarda değerlendirilip kullanılan ilk lazerlerdir (143, 144). Nd:YAG ve diyet lazerler ile bakterilerin yok edilmesi ile ilgili olarak iki muhtemel mekanizma üzerinde durulmaktadır. Birinci mekanizma; lazer ışının bakterinin bağlandığı substrat (dentin vs.) tarafından absorbe olduğu ve substratta ortaya çıkan ısının da mikroorganizmanın ölümüne yol açacak yükseklikte lokal bir ısı artışına neden olduğu fikridir. İkinci mekanizma ise lazer ışınının bakteri tarafından absorbe edildiği ve bakteri hücresinde direk hasar meydana getirdiği şeklindedir (145). Diyet lazerin sterilizasyon etkisi Nd:YAG lazer ile benzerlik gösterir. Penetrasyon derinliği (810 nm), Nd:YAG lazerin penetrasyon derinliğinden (1064 nm) daha az olduğu için ısıl yan etkilerinin de daha az olduğu belirtilmiştir (146). Mehrvarzfar ve ark. (147) yaptıkları bir *in vitro* çalışmada, 810 nm diyet lazer (2 W, 5x5 sn) ile MTAD'nin kombine kullanıldığı dişlerde bakterilerin tamamen elimine edildiğini bildirmişlerdir. Preethee ve ark. (148) *E. faecalis* ile enfekte ettikleri dişlerde diyet lazerin çeşitli yıkama solüsyonlarıyla bir arada kullanıldığında bakterisidal etkisini incelemişlerdir. Çalışmanın sonucunda 908 nm diyet lazerin %1.3 NaOCl, MTAD ve %8.5 salinle birlikte kullanımında, gruplarda *E. faecalis*'in tamamen elimine edildiği kültür metodu ile tespit edilmiştir. Kaiwar ve ark. (149) 980 nm diyet lazer ışığının *E. faecalis* üzerindeki antibakteriyel etkisini kültür metoduyla inceledikleri *in vitro* çalışmada; 3 W güçte uygulanan lazerin 1,5 W güçte uygulanandan daha fazla bakteri azalmasına neden olduğunu bildirmişlerdir.

#### **2.4.2.2. Fotodinamik terapide kullanılan fotosensitif maddeler**

İdeal bir FM'den beklenen bazı fotofiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikler bulunmaktadır. Bunlar; düşük sitotoksosite ve kısa zamanlı fotosensitivite göstermesi, basit formüllü, tekrar üretilebilir, stabil ve affinitesinin yüksek olması, sağlıklı dokulardan ziyade bakteri hücrelerine penetrasyonunun daha fazla (selektif) olmasıdır (133).

Dezenfeksiyon için üzerinde çalışılan FM'ler halojenlenmiş ksantenler, fenotiyazinler, akrininler ve konjüge klorinler olmak üzere dört grubu ayrılmıştır (150). Hamblin ve Hasan antimikrobiyal amaçlı kullanılan FM'leri penetrasyon ve

mikroorganizmalara bağlanma gücü yüksek olanlar (klorinler), düşük bağlanma gücü olanlar (toluidin mavisi ve metilen mavisi) ve hiç bağlanma göstermeyenler (rose bengal) şeklinde üç gruba ayırmışlardır (151). Endodonti alanında en çok fenotiyazinlerden üretilen FM'ler kullanılmıştır (21, 30, 138, 139). Fenotiyazinler için en iyi emilim aralığı FDT için uygun bir spektrum olan 600-660 nm dalga boyundaki kırmızı ışıktır. Aynı zamanda bu biyolojik dokularda efektif ışık penetrasyonu için gerekli olan terapötik pencere olarak bilinir (150). Birçok antibiyotiğe direnç gösteren tümör ve bakteri hücreleri metilen mavisi ve ortotoluidin mavisine duyarlıdır (151).

Yukarıda verilen literatür bilgileri ışığında bu *in vivo* çalışmada kök kanal tedavisi yenilenen dişlerde PUI, MDA ve FDT dezenfeksiyon yöntemlerinin *E. faecalis* ve *C. albicans* üzerindeki etkinliğinin PCR yöntemi kullanılarak karşılaştırılması amaçlanmıştır.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Etik Kurul Onayı

Bu *in vivo* çalışma 2016/08 nolu ve 29.06.2016 tarihli 2016-80-29/06 protokol nolu etik kurul raporu ile tıbbi açıdan uygun bulunmuştur. Bu çalışma Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (Proje no: 2016-27194235-02) tarafından desteklenmiştir.

#### 3.2. Hasta Seçimi ve Dağılımı

Bu araştırma, başarısız kabul edilen kök kanal tedavili dişlerdeki inatçı mikroorganizmalarla mücadele sırasında kullanılan dezenfeksiyon yöntemlerinin etkinliğini karşılaştırmak amacıyla yapıldı.

Hastalar Bülent Ecevit Üniversitesi Endodonti Anabilim Dalına kök kanal tedavisi yaptırmak amacıyla başvuran kişiler arasından seçildi. Bu çalışmada tek köklü tek kanallı ikincil enfeksiyonlu (asemptomatik apikal periodontitisli ve kök kanal tedavili) dişlere sahip 18 yaşından büyük hastalar seçildi.

##### 3.2.1. Araştırmaya Dâhil Edilmeme Kriterleri

Aşağıda sıralanmış özelliklere sahip olan hastalar çalışmaya dâhil edilmedi.

- Komplike sistemik hastalıklara sahip olan hastalar,
- 3 ay öncesine kadar antibiyotik tedavisi görmüş olan hastalar,
- Daha önceki kanal tedavisi sökülemeyen dişler,
- Lastik örtü ile izole edilemeyecek kadar harap olan dişler,
- Ağız ortamına açık pulpa odasına sahip dişler,
- 4 mm den derin periodontal cebe sahip dişler,
- Semptomatik apikal periodontitis ve sinus yolu bulunan dişler,
- Daha önceki kök kanal tedavisi iki yıldan az zaman geçmiş dişler çalışmaya dâhil edilmedi.

Bütün hastalardan çalışma öncesi radyograflar alındı ve PAI indeksine göre sınıflandırıldı (153). PAI indeksinin kullanımı için araştırmacının kendi kararları

içinde kalibrasyonu yapıldı. Bu çalışmaya PAI indeksi 3 ve 3'den büyük olan dişler dahil edildi. PAI indeksi toplam 5 skor içermektedir. Bu skorlar aşağıdaki şekildedir;

1. Periapikal dokular normal
2. Kemik yapısında çok az miktarda değişiklik var
3. Kemik yapısında mineral kaybı ile görülen değişiklikler var
4. İyi tanımlanabilen radyolüsens alanlar ile gözlenebilen apikal periodontitis var
5. Çok geniş radyolüsens alanlar gösteren yaygın apikal periodontitis var.

Toplamda her grupta 12 diş olmak üzere 36 adet diş bu çalışmaya dahil edilmiştir. Dişlerin her gruba rastgele dağılması için online randomizasyon sağlayan yazılım programı kullanılmıştır (www. randomizer.org). Kullanılan bu online programa göre dişler; 1 rakamı PUI, 2 rakamı MDA ve 3 rakamı FDT olmak üzere üç gruba dağıtılmıştır. Yapılan kemomekanik preparasyonun tarafsız olması adına yapılacak dezenfeksiyon yöntemini ifade eden rakam, kemomekanik preparasyondan sonra daha önceden hazırlanmış sıralı zarflar açılarak öğrenilmiştir. Hastaların diğer parametrelere göre dağılımı Tablo 4'de gösterilmiştir.

**Tablo 4: Hasta Dağılımı**

Hasta dağılımı		PUI (n: 9 hasta, 12 diş)	MDA (n:11 hasta, 12 diş)	FDT (n:8 hasta,12 diş)
Cinsiyet	Erkek (%)	2 (22)	2 (18)	3 (38)
	Kadın (%)	7 (78)	9 (82)	5 (62)
Yaş	≤45	8 (11)	9 (82)	7 (87)
	>45	1 (89)	2 (18)	1 (13)
Lokasyon	Üst çene	4	4	2
	Alt çene	8	8	10
	Anterior	5	3	2
	Posterior	7	9	10

### 3.3. Hastalara Uygulanan Endodontik Tedavi Protokolü ve Kök Kanallarından Örnek Alımı

Örnekler kök kanallarından sıkı antiseptik kurallar uygulanarak alındı. Uygulanan endodontik tedavi protokolü Şekil 7'de gösterilmiştir. Supraringival plak

pomza ve ultrasonik kavitron yardımıyla temizlendi. Hastalara 1 dakika boyunca ağız gargarası yaptırıldı. Dişlere lastik örtü (Şekil 1) takıldıktan sonra koronal restorasyon kaldırıldı var ise çürükler temizlendi. Giriş kavitesi açıldıktan önce ve sonra operasyon alanı (lastik örtü, klemp ve diş) %3'lük hidrojen peroksit (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) (Şekil 2) ve %2.5'lük NaOCl kullanılarak iki basamaklı dezenfeksiyon protokolü izlenerek temizlendi. Daha sonra operasyon alanı %10'luk sodyum tiyosülfat (Sigma-Aldrich, Steinheim, Almanya) (Şekil 2) ile rezidüel NaOCl 'yi nötralize etmek amacıyla yıkandı ve 1 dakika bekletildi.



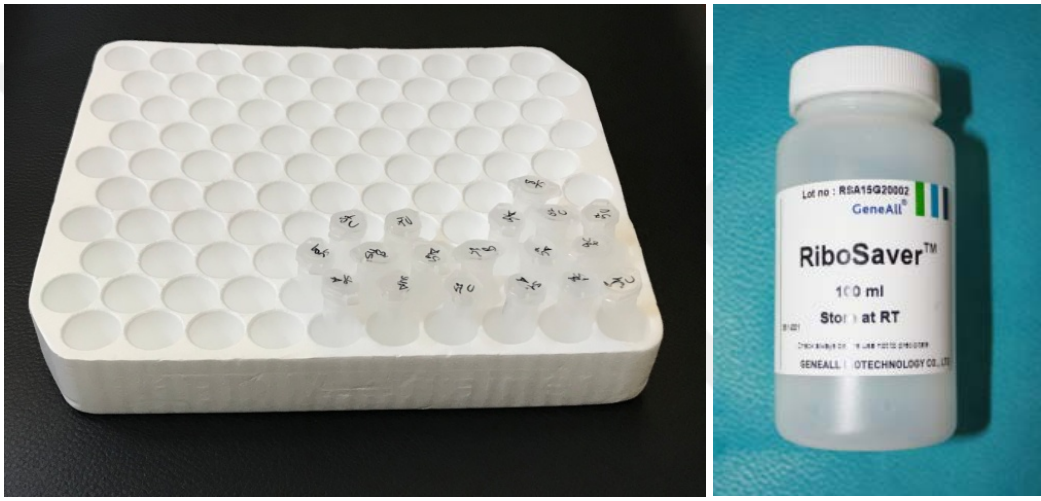
**Şekil 1:** Hasta Ağızında Lastik Örtü Uygulaması



**Şekil 2:** Sodyum Tiyosülfat ve Hidrojen Peroksit

Kök kanal dolguları ProTaper Universal Retreatment (Dentsply Tulsa Dental, Ballaigues, İsviçre) seti ile üretici firmanın talimatları doğrultusunda söküldü. D1 (30.09), kök kanal dolgusunun koronal 1/3'lük kısmının uzaklaştırılmasında, D2 (25.08), orta 1/3'lük kısmının uzaklaştırılmasında, D3 (20.07) apikal 1/3'lük kısmının uzaklaştırılmasında kullanıldı. Tüm eğeler 500 rpm hızda ve 3 Ncm torkta X-Smart (Dentsply-Maillefer, Konstanz, İsviçre ) cihazı kullanılarak uygulandı. Kök

kanal dolgusu sökülürken sadece steril salin solüsyon kullanıldı. Herhangi bir çözücü solvent kullanılmadı. Çalışma boyu apikal foramen 1 mm kısa olacak şekilde apeks bulucu (Raypex 6; VDW, Münih, Almanya) kullanılarak belirlendi ve radyograf alınarak teyit edildi. Kök kanalı steril salin solüsyon ile dolduruldu ve çalışma boyunda yerleştirilen 10 numara K tipi el eğesi duvarlara hafifçe sürtüldü. Steril kâğıt konlar çalışma boyunda yerleştirildi. Böylece ilk örnek (S1) alındı. Her bir kağıt kon kanalda 1 dk tutuldu ve ilk üç kağıt kon içinde RNA later (Şekil 3) içeren steril eppendorf tüplerine alındı. Önce +4°C de bir gece bekletilen örnekler daha sonra - 40°C de dondurularak saklandı.



**Şekil 3:** Örneklerin Eppendorf Tüplerine Toplanması ve Kullandığımız RNA Later

Tüm dişler çalışma boyunda Protaper Next (Dentsply Maillefer, Ballaigues, İsviçre) eğeleri kullanılarak X1'den (17/0.04) X3'e (30/0.07) kadar şekillendirildi. Kemomekanik şekillendirme sırasında her bir kök kanalında toplamda 8 ml olmak üzere %2.5'luk NaOCl kullanıldı. Kök kanallarının irrigasyonu çalışma boyundan 1 mm kısa olacak şekilde 27 gauge'luk (Ayset, Adana, Türkiye) dental enjektör yardımıyla yapıldı. Smear tabakasını kaldırmak için 3 ml %17'lik EDTA (Imicryl, Konya, Türkiye) ve 3 ml %2.5'luk NaOCl kullanıldı. Kanal steril salin solüsyonla yıkandıktan sonra %10'luk sodyum tiyosülfat ile doldurulup 1 dk boyunca bekletildi. Daha önce anlatılan prosedürlere uygun olarak steril kağıt konlar kullanılarak S2 örneği alındı. Bu aşamadan sonra dişlere daha önceden rastgele dağıtılmış 1, 2 ve 3 rakamından birini içeren zarflara göre dezenfeksiyon yöntemi uygulandı. Dezenfeksiyon yöntemleri şu şekilde uygulanmıştır;

### 3.3.1. Manuel dinamik aktivasyon grubu

Bu gruba dâhil edilen dişlerin kemomekanik preparasyonları tamamlandıktan sonra kök kanallarına doldurulan 1 ml %2.5'luk NaOCl, 30/0.07 açılı güta-perka kon ile çalışma boyundan 5 mm geride ve çalışma boyu arasında dk'da 100 vuruş olacak şekilde 30 saniye boyunca aktive edildi (154). Daha sonra 2 ml NaOCl ile yıkandı ve kanalı dolduran NaOCl, 30 sn boyunca yeniden aktive edildi. Son olarak 2 ml NaOCl ile kök kanalı tekrar yıkandı. Rezidüel NaOCl'nin nötralizasyonu için %10'luk sodyum tiyosülfat kullanıldı. Daha önce anlatıldığı gibi kök kanalından kağıt konlar kullanılarak S3 örneği alındı.

### 3.3.2. Pasif ultrasonik irrigasyon grubu

Bu gruba dâhil edilen dişlerin kök kanallarına doldurulan 1 ml %2.5'luk NaOCl, ultrasonik uç (IRRs Smooth wire VDW GmbH, Münih, Almanya) VDW Ultra (VDW GmbH, Münih, Almanya) ultrasonik cihazı (Şekil 4) ile birlikte üretici firmanın talimatları doğrultusunda 20 güç ayarında kullanıldı. Ultrasonik uç çalışma boyundan 1 mm kısa olacak şekilde, 30 sn boyunca aktive edildi. Daha sonra kök kanalı 2 ml %2.5'luk NaOCl ile yıkandı ve 30 sn daha aktive edildi. Son olarak kök kanalı 2 ml NaOCl ve ardından steril salin suyuyla yıkandı. Rezidüel NaOCl'i nötralize etmek için kök kanalı 1 dk boyunca sodyum tiyosülfatla bekletildikten sonra S3 örneği alındı.



Şekil 4: Ultrasonik Cihazı ve Pasif Ultrasonik İrrigasyon Ucu

### 3.3.3. Fotodinamik terapi grubu

Bu gruba dâhil edilen dişlerin kök kanalı 0.5 ml %0.01'lik metilen mavisi (MM) solüsyonu ile dolduruldu (155) (Şekil 6). Solüsyonun tüm kanal duvarlarına temas ettiğinden emin olmak için 10 numaralı steril K tipi el eğesi ile ajite edildi. MM kök kanalı içerisinde 5 dk boyunca bekletildi. Daha sonra üretici firmanın talimatları doğrultusunda 810±10 nm AMD Picasso (Indianapolis IN, ABD) diyet lazer cihazı (Şekil 5) 0.8 W'da, 200 µm fiber optik uç kullanılarak toplamda 40 sn boyunca kanalda kullanıldı. Fiber optik uç çalışma boyundan 1 mm kısa olacak şekilde başlanarak helikoidal hareketlerle 2 mm/sn olacak şekilde koranale doğru hareket ettirildi. Her 10 sn sonunda aktivasyon durdurulup sıcaklık artışını önlemek için 10 sn bekletildi. Son olarak metilen mavisini uzaklaştırmak için kanal steril salin solüsyonla yıkandı ve S3 örneği alındı.



Şekil 5: Diyot Lazer Cihazı ve Fiber Optik Uç



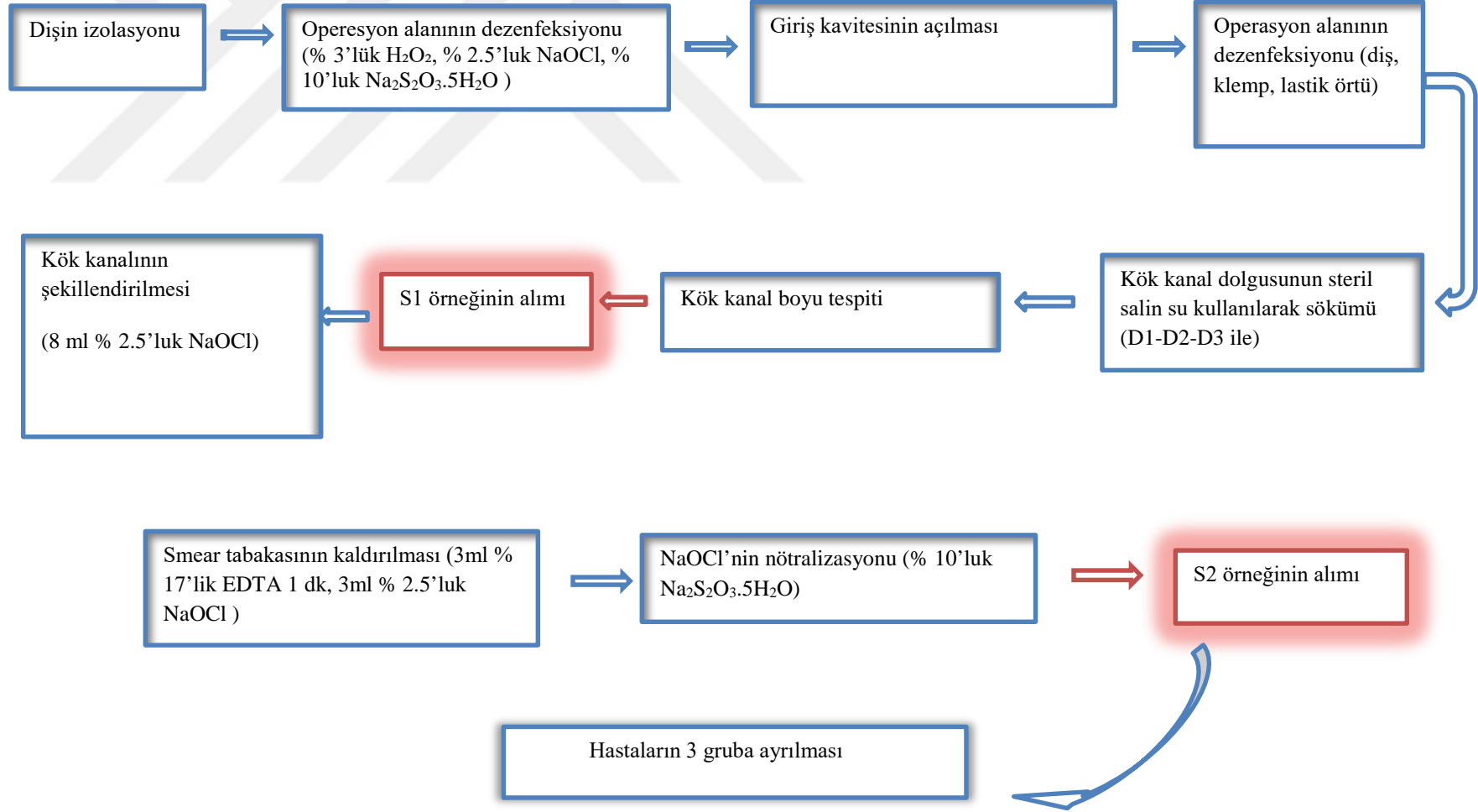


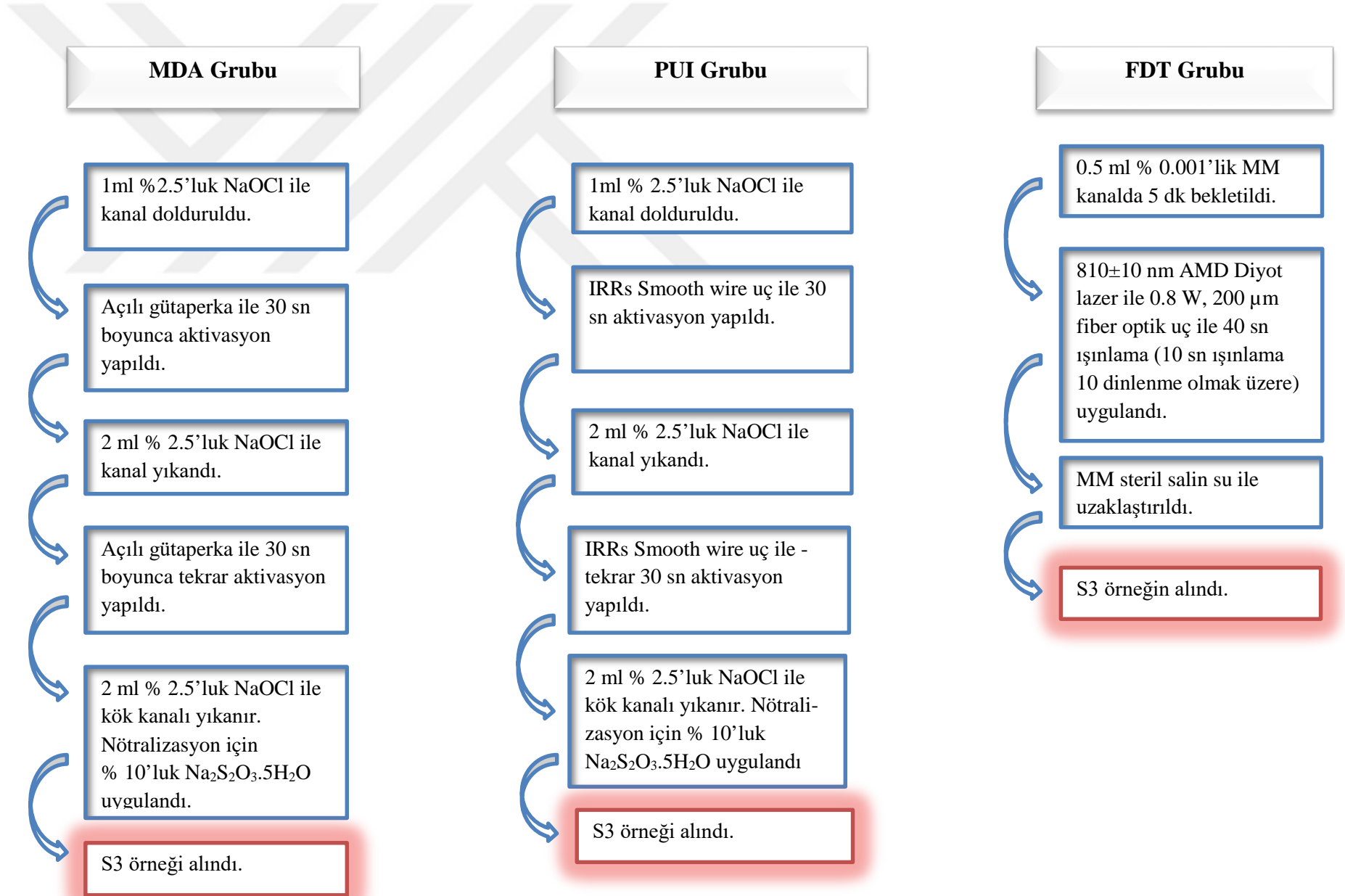
Şekil 6: EDTA, Metilen Mavisi ve NaOCl

Kök kanallarından alınan S1, S2 ve S3 örneklerindeki mikroorganizma miktarlarının analizi yapılmak üzere Atlas Biyoteknoloji Laboratuvarı'na gönderildi. S1 örneğinin *E. faecalis* ya da *C. albicans* türlerinde en az biri için pozitif çıkması durumunda diş çalışmaya dâhil edildi. Sonuçta her bir grupta 12 diş olacak şekilde 36 diş ve toplamda 28 hasta çalışmaya dâhil edildi.

Tüm dişlerin kemomekanik preparasyonu, kök kanal dolumu ve daimi restorasyon işlemleri tek seansta bitirildi. S3 örneği alındıktan kök kanalları 2 ml %2 'lik klorheksidin glukonat ile yıkandı ve kâğıt konlarla kurutuldu. Daha sonra ProTaper Next X3 güta-perka ve Adseal kanal dolgu patı (Metabiomed, Chungbuk, Kore) ile tek kon tekniği kullanılarak dolduruldu. Dişlerin restorasyonları kompozit rezin (Estelite Sigma Tokuyama, Tokyo, Japonya) kullanılarak yapıldı (Şekil 8).

Şekil 7: Endodontik Tedavi Protokolü ve Örnek Alımı







**Şekil 8:** Yaptığımız Retreatment Vakalarından Örnekler

### **3.4. Örneklerin PCR ile İncelenmesi**

#### **3.4.1. DNA izolasyonu**

Mikrobiyolojik örnekler 1.5 ml'lik eppendorf tüpleri içerisinde toplanarak analiz zamanına kadar koruyucu solüsyon içerisinde  $-40^{\circ}\text{C}$ 'de bekletilmiştir. Çalışmanın yapılması için ilgili birime kuru buz içerisinde örnekler teslim edilmiştir 16.000 g'de 5 dk santrifüj edilen örnekler PBS tamponu içerisinde çözülmüş ve hücrelerden DNA izolasyonu üreticinin direktifleri doğrultusunda hazır kit ile gerçekleştirilmiştir. Özel solüsyonlar ile DNA'nın tüpler içine özel olarak yerleştirilen matriks tabakasına tutunması sağlanmıştır. Aynı aşamada DNA haricindeki moleküller matrikse tutunamadığı için ortamdan uzaklaşır. Steril mikrosantrifüj tüplerine örnekten 200  $\mu\text{L}$  eklenmiştir. Proteinleri sindirmesi için Proteinaz K'dan 20  $\mu\text{L}$  eklenmiştir. RNA'dan tamamen arınmış bir DNA kullanmak için 20  $\mu\text{L}$  RNAz eklenerek vortekslenmiştir. 2 dk oda ısısında inkübe edilmiştir. Örnekleri parçalaması için 200  $\mu\text{L}$  lizis buffer eklenmiş ve iyice karışması için vortekslenmiştir. Reaksiyonun en iyi çalıştığı sıcaklıkta  $56^{\circ}\text{C}$ 'de 10 dk inkübe edilmiştir. Lizatın üzerine 200  $\mu\text{L}$  absolut etanol eklenerek karışması için vorteks + spin attırılmıştır. Elde edilen karışım SV kolona aktarılmıştır. 10.000 rpm'de 2 dk santrifüj edilmiş ve toplama tüpleri yenisi ile değiştirilmiştir. Kolonun üzerine 600

$\mu$ L 1. yıkama tamponu eklenmiştir. 10.000 rpm de 2 dk santrifüj edilmiş ve toplama tüpleri yenisi ile değiştirilmiştir. Kolonun üzerine 700  $\mu$ L 2. yıkama tamponu eklenmiştir. 10.000 rpm'de 2 dk santrifüj edilmiş ve toplama tüpleri yenisi ile değiştirilmiştir. Hiç tampon solüsyonu kalmamasına karşın tam hızda (14.000 rpm) 2 dk santrifüj edilmiştir. Temiz ve etiketlenmiş tüplere kolonları yerleştirilmiş 200  $\mu$ l DNA çözme tamponu eklenmiştir. 1 dk oda ısısında inkübe edildikten sonra tam hızda 2 dk santrifüj edilerek DNA elde edilmiştir. Kullanılan PCR bileşenleri Tablo 6'da verilmiştir.

DNA'nın tekrarlanan buzlanma ve çözünme durumlarından kaçınmak için DNA stoklara bölünerek muhafaza edilmiştir. Kalitesini görmek için %1.5-2.0 agoroz jelde DNA'lar yürütülmüştür. Miktar tayini için Nanodrop cihazında ölçüm yapılmıştır.

### **3.4.2. Gerçek zamanlı PCR protokolü**

Hedeflenen DNA hücrelerden izole edilmiştir. Elde edilen DNA örnekleri kullanılarak ilgilenilen gen ürünlerinin miktarları gerçek zamanlı PCR (Real-Time PCR) yöntemiyle saptanmıştır. Biyolojik örneklerden elde edilen DNA'nın kopya sayısını sayısal değerlere dönüştürme ve mRNA'nın düzeyini sayısal olarak belirleyebilme en çok kullanılan alanlarını oluşturmaktadır. Gerçek zamanlı PCR'de oluşan ürün miktarı reaksiyon boyunca oluşan ürün miktarıyla orantılı olarak artan floresan boyanın verdiği sinyalin izlenmesiyle anlaşılır ve amplifikasyonun devir sayısı belirli miktardaki DNA moleküllerinin elde edilmesi açısından da gereklidir. Çift zincirli DNA'ya bağlanan 'SYBR-Green I' floresan boya kullanmak çok iyi işleyen bir metottur. Bu yöntemde kullanılan floresan boya sadece çift zincirli DNA'ya bağlandığından çoğalan DNA miktarındaki artışa paralel olarak 'gerçek zamanlı' PCR cihazında okunan floresanın miktarı da eş zamanlı olarak artar. 497 nm dalga boyunda yükseltgenir ve 520 nm dalga boyunda indirgenir. Çoğaltımın başında reaksiyon karışımında çift zincirli DNA molekülü, primerler ve 'SYBR Green I' boyası bulunmaktadır. Bağlı olmayan serbest DNA molekülü çok az bir floresan ışımaya yapar. Primerler bağlanıp uzama başladığında boya molekülü çift zincirli DNA'nın arasına girer ve floresan yayılımı başlar. Başlangıçtaki döngü boyunca sinyal zayıftır; ürün miktarı arttıkça floresan miktarı hızla artar ve bu artış 'real-time' cihazının monitöründen izlenebilir. Elde edilen DNA'larda PCR yöntemi ile Tablo 5'teki primerler kullanılarak miktarları Applied Biosystems® ve StepOnePlus™ Real-Time PCR cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



**Şekil 9:** DNA Ekstraksiyonu Sırasında Kullanılan Santrifüj Cihazı, İnkübasyon Cihazı ve Gerçek Zamanlı PCR Cihazı

**Tablo 5:** PCR ile Çoğaltılacak Gen Bölgesinin Primerleri

<i>E. faecalis</i> -Forward	ATCAAGTACAGTTAGTCT
<i>E. faecalis</i> -Reverse	ACGATTCAAAGCTAACTG
<i>C. albicans</i> -Forward	GAATGATTACACCCACACCT
<i>C. albicans</i> -Reverse	ATGATAAAGCTCCTTCTCGT

**Tablo 6:** PCR Bileşenleri

<b>PCR BİLEŞENLERİ</b>	<b>1X</b>
2X SYBR MASTER MIX (Cat No:801-520, Lot no:QP116G25001)	10µL
F(10pm)	0,75µL
R(10pm)	0,75µL
ROX	1µL
DNA	4µL
WATER	3,5µL
<b>TOTAL</b>	<b>20µL</b>

<b>PCR BİLEŞENLERİ</b>	Std1	Std2	Std3	Std4
2X SYBR MASTER MIX	10µL	10µL	10µL	10µL
F(10pm)	0,75µL	0,75µL	0,75µL	0,75µL
R(10pm)	0,75µL	0,75µL	0,75µL	0,75µL
ROX	1µL	1µL	1µL	1µL
DNA	0,5µL	1µL	2µL	4µL
WATER	7µL	6,5µL	5,5µL	3,5µL
<b>TOTAL</b>	<b>20µL</b>	<b>20µL</b>	<b>20µL</b>	<b>20µL</b>

Gerçek zamanlı PCR analizi için bir miktarı bilinen standart kullanılmıştır. Gerçek zamanlı PCR sonuçları incelenerek istatistiksel analiz yapılmıştır.

### 3.5. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmeler SPSS 19.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunlukları Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Tanımlayıcı istatistikler aritmetik ortalama±standart sapma ve ortanca (minimum-maksimum) olarak ifade edildi. Grupların karşılaştırılmasında parametrik test varsayımları sağlanıyor ise tek yönlü varyans analizi, sağlanmıyor ise Kruskal-Wallis varyans analizi kullanıldı. Tek yönlü varyans analizinde gruplar arasında fark bulunduğu grupların ikişerli karşılaştırılması çoklu karşılaştırma yöntemlerinden Post Hoc Tukey Testi ile Kruskal-Wallis varyans analizinde alt grupların ikişerli karşılaştırılması ise Mann Whitney U testi ile yapıldı. Tekrarlı ölçümlerin değerlendirilmesinde parametrik test varsayımları sağlandığında iki eş arasındaki farkın önemlilik testi, sağlanmadığında ise Friedman testi yapıldı. Fark bulunduğu ikili karşılaştırmalarda Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi kullanıldı ve tüm değerlendirmeler için  $p<0.05$  değeri anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

*E. faecalis* ve *C. albicans*'ın S1, S2 ve S3 örneklerindeki hem miktarları hem de azalma yüzdeleri gruplar arası ve grup içinde istatistiksel olarak değerlendirildi. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda elde edilen, grupların ortalama, standart sapma, ortanca ve minimum-maksimum değerleri Tablo 7 ve 8'de verilmiştir. Mikroorganizmaların S1, S2 ve S3 örneklerindeki azalma yüzdeleri Tablo 9 ve 10'da verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre;

### 1. Gruplar arası karşılaştırmalarda,

- *E. faecalis* ve *C. albicans*'ın S1, S2 ve S3 örneklerindeki miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p>0.05$ ).

- *E. faecalis*'in S1-S2, S2-S3 ve S1-S3 örneklerindeki azalma yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0.05$ ).

- *C. albicans*'ın S1-S2, S1-S3 örneklerinin azalma yüzdeleri arasında fark bulunmazken, S2-S3 örneklerinin azalma yüzdeleri arasında sadece PUI ve MDA grupları arasında anlamlı bir fark bulundu ( $p=0.043$ ).

### 2. Gruplar kendi içinde *E. faecalis*'in S1, S2 ve S3 örneklerindeki miktarı açısından karşılaştırıldığında,

- Tüm gruplarda S1-S3 örnekleri arasında anlamlı fark bulundu ( $p<0.05$ ).

- PUI ve MDA grubunda S1-S2 örnekleri arasında anlamlı fark bulunurken, S2-S3 örnekleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı ( $p=0.347$  ve  $p=0.182$ , sırasıyla).

- FDT grubunda hem S1-S2 hem de S2-S3 örnekleri arasında fark anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ).

### 3. Gruplar kendi içinde *E. faecalis*'in S1-S2 ve S2-S3 örnekleri arasındaki azalma yüzdeleri açısından karşılaştırıldığında,

- PUI grubunda S1-S2 ve S2-S3 arasındaki fark anlamlı bulundu ( $p=0,042$ ).

- MDA grubunda S1-S2 ve S2-S3 arasındaki fark anlamlı bulunmadı ( $p=0,276$ ).

- FDT grubunda S1-S2 ve S2-S3 arasındaki fark anlamlı bulunmadı ( $p=0,462$ ).

### 4. Gruplar kendi içinde *C. albicans*'ın S1, S2, S3 örneklerindeki miktarı açısından karşılaştırıldığında,

- PUI ve FDT grubunda S1-S2, S2-S3 ve S1-S3 örnekleri arasında anlamlı fark bulundu ( $p<0.05$ ).



- MDA grubunda S1-S2 arasındaki fark anlamlı bulunmadı ( $p>0.016$ ), S2-S3 ve S1-S3 arasındaki fark anlamlı bulundu ( $p<0.016$ ).

5. Gruplar kendi içinde *C. albicans*'ın S1-S2 ve S2-S3 örnekleri arasındaki azalma yüzdeleri açısından karşılaştırıldığında,

- PUI grubunda S1-S2 ve S2-S3 arasındaki fark anlamlı bulunmadı ( $p=0,158$ ).
- MDA grubunda S1-S2 ve S2-S3 arasındaki fark anlamlı bulunmadı ( $p=0,158$ ). FDT grubunda S1-S2 ve S2-S3 arasındaki fark anlamlı bulunmadı ( $p=0,924$ ).



**Tablo 7:** PUI, MDA ve FDT Gruplarındaki *E. faecalis*'in S1, S2, S3 Örneklerindeki Ortalama, Ortanca, Standart Sapma, Minimum ve Maksimum Değerleri ve S1-S3 Azalma Yüzdesi (%).

Gruplar		S1 <sup>a</sup>	S2 <sup>a</sup>	S3 <sup>a</sup>	S1-S3* (Azalma Yüzdesi %)
PUI	<i>Ort ±SS</i>	8.94 x10 <sup>4</sup> ± 1.48x10 <sup>5</sup> <sup>b</sup>	1.71x10 <sup>4</sup> ± 1.88x10 <sup>4</sup>	1.55x10 <sup>4</sup> ± 2.29x10 <sup>4</sup>	
	<i>Ortanca</i>	2.41x10 <sup>4</sup>	7.89x10 <sup>3</sup>	5.62x10 <sup>3</sup>	% 77
	<i>Min.-Maks.</i>	1.98 x10 <sup>3</sup> - 4.71x10 <sup>5</sup>	2.65x10 <sup>2</sup> - 5.56x10 <sup>4</sup>	2.01x10 <sup>2</sup> - 6.27x10 <sup>4</sup>	
MDA	<i>Ort±SS</i>	1.64x10 <sup>5</sup> ± 3.49x10 <sup>5b</sup>	4.94x10 <sup>4</sup> ± 5.81x10 <sup>4</sup>	3.29x10 <sup>4</sup> ± 4.90x10 <sup>4</sup>	
	<i>Ortanca</i>	5.02x10 <sup>4</sup>	2.7x10 <sup>4</sup>	5.44x10 <sup>3</sup>	% 64
	<i>Min.-Maks.</i>	1.2x10 <sup>3</sup> - 1.26x10 <sup>6</sup>	1.02x10 <sup>2</sup> - 1.56x10 <sup>5</sup>	1.25x10 <sup>2</sup> - 1.32x10 <sup>5</sup>	
FDT <sup>c</sup>	<i>Ort±SS</i>	1.84x10 <sup>5</sup> ± 4.91x10 <sup>5</sup>	6.24x10 <sup>4</sup> - 1.72x10 <sup>5</sup>	4.02x10 <sup>4</sup> ± 1.29x10 <sup>5</sup>	
	<i>Ortanca</i>	1.63x10 <sup>4</sup>	5.47x10 <sup>3</sup>	1.69x10 <sup>3</sup>	% 80
	<i>Min.-Maks.</i>	1.02x10 <sup>2</sup> - 1.73x10 <sup>6</sup>	9.8x10 <sup>1</sup> - 6.08x10 <sup>5</sup>	9.5x10 <sup>1</sup> - 4.51x10 <sup>5</sup>	

<sup>a</sup> Gruplar arası karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Kruskal Wallis Testi, p>0.05).

<sup>b</sup> Grup içi karşılaştırmada S2 ve S3'e göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (Friedman + Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi, p<0.05).

<sup>c</sup> Grup içi karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (Friedman + Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi, p<0.05).

\* Gruplar arası karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Kruskal Wallis Testi, p>0.05).

**Tablo 8:** PUI, MDA ve FDT gruplarındaki *C. albicans*'ın S1, S2, S3 Örneklerindeki Ortalama, Ortanca, Standart Sapma, Minimum ve Maksimum Değerleri ve S1-S3 Azalma Yüzdesi (%).

Gruplar		S1 <sup>a</sup>	S2 <sup>a</sup>	S3 <sup>a</sup>	S1-S3* (Azalma Yüzdesi %)
PUI <sup>b</sup>	<i>Ort±SS</i>	7.80 x10 <sup>5</sup> ± 2.52x10 <sup>6</sup>	1.48x10 <sup>5</sup> ±4.14x10 <sup>5</sup>	2.41x10 <sup>4</sup> ±4.36x10 <sup>4</sup>	
	<i>Ortanca</i>	2.98x10 <sup>4</sup>	1.22x10 <sup>4</sup>	1.01x10 <sup>3</sup>	%82
	<i>Min.-Maks.</i>	2.01 x10 <sup>3</sup> - 8.79x10 <sup>6</sup>	1.02x10 <sup>2</sup> - 1.46x10 <sup>6</sup>	1.01x10 <sup>2</sup> -1.27x10 <sup>5</sup>	
MDA	<i>Ort±SS</i>	6.41x10 <sup>4</sup> ± 8.12x10 <sup>4</sup>	3.82x10 <sup>4</sup> ±5.19x10 <sup>4</sup>	2.04x10 <sup>4</sup> ±3.31x10 <sup>4</sup> <sup>c</sup>	
	<i>Ortanca</i>	2.42x10 <sup>4</sup>	8.04x10 <sup>3</sup>	5.46x10 <sup>3</sup>	%66
	<i>Min.-Maks.</i>	1.25x10 <sup>2</sup> -2.61x10 <sup>5</sup>	8.5x10 <sup>1</sup> -1.55x10 <sup>5</sup>	9.8x10 <sup>1</sup> -8.62x10 <sup>4</sup>	
FDT <sup>d</sup>	<i>Ort±SS</i>	7.98x10 <sup>4</sup> ± 1.24x10 <sup>5</sup>	4.48x10 <sup>4</sup> ±8.14x10 <sup>4</sup>	1.31x10 <sup>4</sup> ±2.67x10 <sup>4</sup>	
	<i>Ortanca</i>	2.10x10 <sup>4</sup>	2.37x10 <sup>3</sup>	1x10 <sup>3</sup>	%82
	<i>Min.-Maks.</i>	1.25x10 <sup>2</sup> -3.39x10 <sup>5</sup>	9.8x10 <sup>1</sup> -2.09x10 <sup>5</sup>	5.6x10 <sup>1</sup> -9.04x10 <sup>4</sup>	

<sup>a</sup>Gruplar arası karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Kruskal Wallis Testi, p>0.05).

<sup>b,d</sup> Grup içi karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (Friedman + Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi, p<0.05).

<sup>c</sup> Grup içi karşılaştırmada S1 ve S2'ye göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (Friedman + Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi, p<0.05).

\*Gruplar arası karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Kruskal Wallis Testi, p>0.05).

**Tablo 9:** PUI, MDA ve FDT Gruplarındaki *E. faecalis*'in S1 ve S2 Örnekleri Arasındaki Azalma Yüzdeleri (%).

		S1-S2 <sup>a</sup>	S2-S3 <sup>a</sup>
<i>E. faecalis</i>	PUI	%65	%19 <sup>b</sup>
	MDA	%49	%19
	FDT	%58	%46

<sup>a</sup> Gruplar arası karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Kruskal Wallis Testi, p>0.05).

<sup>b</sup> Grup içi karşılaştırmada S1-S2'ye göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (Friedman + Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi, p<0.05).

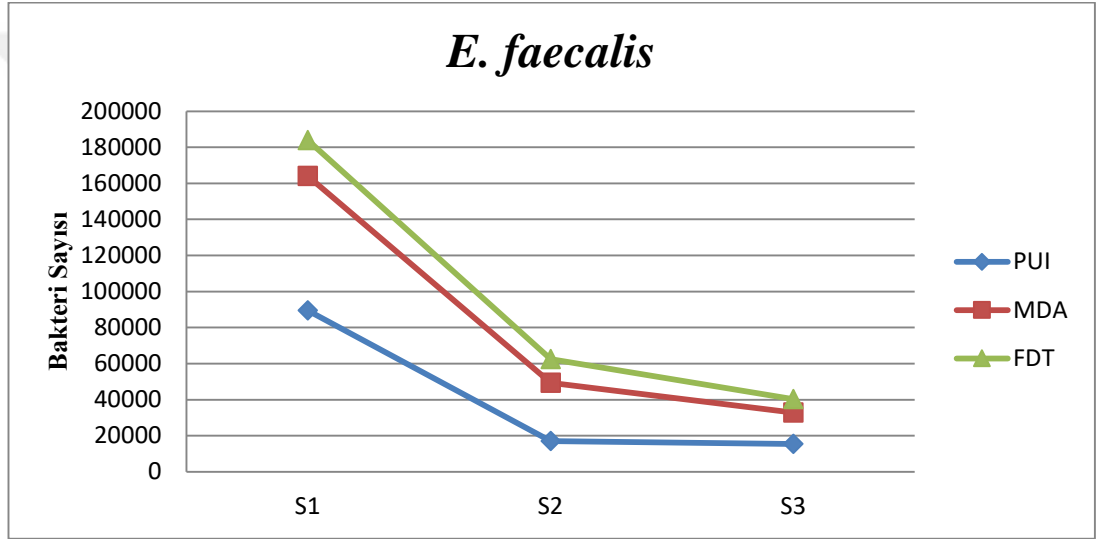
**Tablo 10:** PUI, MDA ve FDT Gruplarındaki *C. albicans*'ın S1 ve S2 Örnekleri Arasındaki Azalma Yüzdeleri (%).

		S1-S2	S2-S3 <sup>a</sup>
<i>C. albicans</i>	PUI <sup>b</sup>	%51	%63
	MDA <sup>c</sup>	%38	%30
	FDT <sup>d</sup>	%57	%56

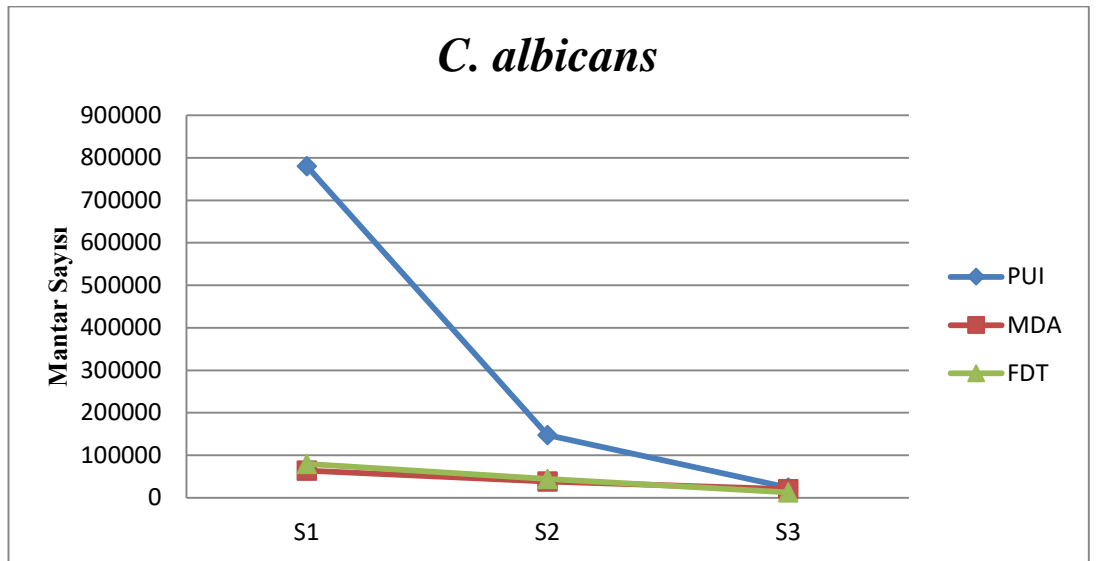
<sup>a</sup> Gruplar arası karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (Tek yönlü varyans analizi ve Post Hoc Tukey Testi  $p < 0.05$ ).

<sup>b,c,d</sup> Grup içi karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Friedman testi,  $p > 0.05$ ).

**Tablo 11:** Gruplardaki *E. faecalis*'in S1, S2 ve S3 Örneklerindeki Miktarı.



**Tablo 12:** Gruplardaki *C. albicans*'ın S1, S2 ve S3 Örneklerindeki Miktarı.



## 5. TARTIŞMA

Endodontik tedavinin en sık rastlanılan başarısızlık nedenlerinden birinin mikroorganizmaların kök kanalından temizlenememesi oluşu araştırmacıları yeni dezenfeksiyon yöntemleri arayışına itmiştir. Kök kanal dolumundan önceki final irrigasyonun etkinliğini artırmak için hali hazırda birçok yöntem bulunmaktadır. Bu tezin kuruluşundaki temel düşünce kök kanal tedavisinde kullanılan geleneksel yöntemlerin dışında, başarısızlığın asıl nedeni olan inatçı mikroorganizmaların temizlenmesi için başvurulmuş farklı dezenfeksiyon yöntemlerinin tekrarlayan endodontik tedavilerdeki etkinliklerinin değerlendirilmesi olmuştur.

Geleneksel şırınga irrigasyonunun etkilerinin yetersiz olduğu durumlarda irrigasyon solüsyonlarının aktivasyonları için farklı yöntemler geliştirilmiştir. PUI bu yöntemlerden biridir. Bu yöntem, titreşen bir alet aracılığıyla, kök kanalındaki irrigasyon solüsyonuna akustik enerjinin aktarılması esasına dayanmaktadır. MDA yöntemi ise ek bir ekipman gerektirmeyen ucuz ve basit bir aktivasyon yöntemidir. Bu yöntemde güta perkanın kanal içerisindeki ileri-geri hareketi ile irrigasyon solüsyonuna hareket kazandırılarak irriganların apekse ulaşmasını engelleyen hava kabarcığının patlatılması amaçlanır. Geleneksel antimikrobiyal irriganlar periradiküler dokularda sitotoksik etkilere neden olabilmektedir (155). Bu etkileri azaltmak için lazer kullanılan dezenfeksiyon yöntemleri geliştirilmiştir. FDT, bir ışık kaynağı, FM ve oksijen kullanılarak uygulanan bir dezenfeksiyon yöntemidir. Kullanılan ışığın dalga boyuyla uyumlu bir FM'nin kök kanalına uygulanmasından sonra tekli oksijen ve serbest radikal üretilmesi için lazer ışını uygulanır. Bu teknik minimal invaziv, direnç gelişmeyen ve tekrarlanabilir bir yöntemdir (156).

Nair ve ark. (69) endodontik tedaviye dirençli periapikal lezyonlardan aldıkları 9 biopsi örneğinden 2 tanesinde, Waltimo ve ark. (157) inatçı endodontik enfeksiyonlardan aldıkları 629 örnekten 47 tanesinde maya tespit etmişlerdir. En çok izole edilen türün *C. albicans* olduğu belirtilmiştir. Sundqvist ve ark. (51) endodontik tedavinin başarısız olduğu 24 vakadan 2'sinde, Molander ve ark. (158) 68 örnekten 3'ünde, Peciulienė ve ark. (54) ise kültür yöntemiyle inceledikleri 33 örnekten 6'sında *C. albicans* tespit etmişlerdir. Pinheiro ve ark. (52) kültür yöntemi kullanarak yaptıkları çalışmalarında 51 vakadan 2 tanesinde, Siqueira ve Rôças (159) ise PCR yöntemi ile 22 hastadan 2'sinde *C. albicans* tespit etmişlerdir.

Gomes ve ark. (160) retreatment gerektiren apikal periodontitisli 45 dişten aldıkları örnekleri incelemişler ve en çok rastlanılan türü %77.8 prevalans değeri ile *E. faecalis* olarak bulmuşlardır. Bunu izleyen türler sırasıyla *P. micros* (%51.1), *P. gingivalis* (%35.6) ve *F. alocis*'dir (%26.7). Dumani ve ark. (161) 2012 yılında yaptıkları *in vivo* çalışmada 114 retreatment vakasından aldıkları örneklerde PCR yöntemi kullanarak *E. faecalis*'i %10, *C. albicans*'ı ise %11 oranında bulmuşlardır. Poptani ve ark. (162) 2013 yılındaki retreatment vakaları üzerinde yaptıkları *in vivo* çalışmada 20 vakadan 13'ünde (%65) *E. faecalis*, 7'sinde (%35) *C. albicans* tespit etmişlerdir. Enterococcusun inatçı apikal periodontitis vakarında en çok izole edilen genus olduğu bildirilmiştir (53, 57, 158, 160, 163, 164). Murad ve ark. (165) 2014 yılında inatçı apikal periodontitis bulunan dişlerde mikrobiyal çeşitliliği saptamak için yaptıkları çalışmalarında bu türe ait iki genusa *E. faecium*'e %36 ve *E. faecalis*'e %28 oranlarında rastlamışlardır. *E. faecalis* enterik bir mikroorganizma olup birçok araştırmacı tarafından hem ikincil hem de inatçı enfeksiyonlarda rol oynadığı düşünölmektedir. Periapikal lezyonlu kanal tedavili dişlerden alınan örneklerde *E. faecalis* %30-%70 arasında değişen oranlarda bulunmuştur (57, 159, 166, 167). Değişken oran ve sayılarda bulunması bazı araştırmacıları *E. faecalis*'in ikincil enfeksiyonların etyolojisindeki yerini sorgulamasına neden olmuştur (63, 168, 169). *E. faecalis* düşük seviyelerde bile zararlı olabilmekte, antimikrobiyal ajanlara karşı yüksek direnç gösterebilmekte, besin yokluğunda ve yüksek alkali pH'da hayatta kalabilmektedir (170).

Literatürde yer alan bu bilgilerden yola çıkarak bu *in vivo* çalışmada, *C. albicans* ve *E. faecalis*'in kanal tedavisi sırasında kök kanalına girebileceği ve iyileşmeyen inatçı ve ikincil enfeksiyonlarda rol alabileceği düşünölerek, üç farklı dezenfeksiyon yönteminin (PUI, MDA ve FDT) retreatment vakalarındaki *E. faecalis* ve *C. albicans* üzerindeki etkinliğini PCR tekniği ile karşılaştırmak amaçlanmıştır. Çalışmaya dâhil edilen hastaların, en az 2 yıl önce kanal tedavisi yaptırmış olması, 3 ay süreyle antibiyotik kullanmamış olması, genel sağlık durumunun iyi olması ve kök kanal dolgusunda apikalde en fazla 4 mm boşluk bulunması ve 4 mm'den derin periodontal cep içermemesi koşullarını sağlamasına dikkat edildi. Hasta seçiminde belirlenen bu kriterler, Rodrigues ve ark.'nın (171) periapikal lezyonlu, semptomsuz, tek köklü tek kanallı retreatment vakalarında bulunan bakteriyel türleri inceledikleri çalışmalarından referans alındı.

Alınan örneklerdeki mikroorganizmaların sayısındaki azalmayı tespit etmek için gerçek zamanlı PCR yöntemi kullanıldı. Endodontik enfeksiyonlardaki bakterileri saptamak için sadece moleküler yöntemlerin kullanıldığı çalışmalarda 210 ayrı bakteri türünün bulunduğu ortaya konulmuştur. Bu rakam, yalnızca endodontik enfeksiyonlarda bulunan tüm taksonların %45'ine karşılık gelirken, tek başına kültür yöntemi kullanılan çalışmalar tarafından tespit edilen takson sayısı 151'dir (%32). Toplam bakteri türü zenginliğinin %23'ü olan 107 takson, hem kültür hem de kültürden bağımsız teknikler kullanılarak tespit edilmiştir (172). Moleküler yöntemler kültür yöntemlerine göre daha az sayıda hücreyi tespit edebilecek duyarlılığa sahiptir. Bu durum endodontik dezenfeksiyon yöntemlerinin karşılaştırılmasında daha doğru sonuçlar elde edilmesini sağlamaktadır (46). Ölmüş olan bakteri DNA'larının da tespit edebilmesi bu yöntemlerin dezavantajıdır (173). Fakat irrigasyon solusyonu olarak kullanılan NaOCl'nin mikroorganizmaları öldürme ve DNA'ları bozma özelliği vardır bundan dolayı parçalanmış DNA PCR yöntemiyle tespit edilememektedir. Sakamoto ve ark. (46) 2007 yılından yaptıkları ve endodontik tedavi sırasındaki dezenfeksiyon basamaklarından sonra aldıkları örnekler ile bakteri sayısındaki azalmayı PCR yöntemiyle inceledikleri çalışmalarında 15 adet kök kanalından 5 tanesinin negatif sonuç vermesi ve diğer kanallardaki bakteri sayısının da ortalama %99 oranında azalması bu düşüncüyü desteklemektedir. Literatürde bu düşüncüyü destekleyen başka araştırmalar da mevcuttur (174, 175).

PAI indeksi 3 ve 3'den büyük olan kanal tedavili dişlerin seçildiği bu *in vivo* çalışmada alınan *E. faecalis* ve *C. albicans* türleri açısından en az biri açısından pozitif sonuç veren S1 örnekleri çalışmaya dâhil edilmiştir. Grupların S1 örnekleri karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark olmadığı, grupların başlangıçtaki mikroorganizma sayılarının benzer olduğu görüldü. Gruplardaki kemomekanik preparasyonun standardizasyonu sağlamak için tüm tedavi protokolleri aynı hekim tarafından yapıldı. Her bir dişte kök kanalları, kanal dolguları söküldükten sonra, dezenfeksiyon yöntemi uygulanmadan önceki aşamaya kadar toplamda 8 ml NaOCl ile yıkandı. Apikal çapları 30/0.07 olacak şekilde ProTaper Next X1-X2-X3 eğeleri kullanılarak kök kanal preparasyonları yapıldı.

Preparasyon sonrası alınan S2 örneklerindeki *E. faecalis* ve *C. albicans* sayıları karşılaştırıldığında gruplar arasında fark olmadığı görüldü. Her bir grup kendi içinde karşılaştırıldığında, 3 grupta da, S2 örneklerindeki her iki

mikroorganizma sayısının da S1 örneklerinden daha az olduğu görüldü. Bu sonuç yapılan kemomekanik işlemlerin standardizasyonunu ve kemomekanik preparasyonun mikroorganizmanın kök kanalından uzaklaştırılmasındaki etkinliğini göstermektedir. S1 ve S2 örnekleri arasındaki mikroorganizma sayılarındaki azalma yüzdesine bakıldığında ise her iki mikroorganizma türü içinde gruplar arasında fark olmadığı, mikroorganizmaların 3 yöntemde de benzer yüzdelerde uzaklaştırıldığı görüldü. *E. faecalis*'in PUI, MDA ve FDT gruplarındaki S1-S2 örnekleri arasındaki azalma yüzdeleri sırasıyla %65, %49 ve %58 olarak bulunurken, *C. albicans* için %51, %38 ve %57 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar da her 3 grupta yapılan kemomekanik işlemlerin benzer şekilde etkili olduğunu göstermektedir.

Kemomekanik işlemler tamamlandıktan sonra randomize olarak dağıtılan dişlere ilgili dezenfeksiyon yöntemleri uygulanmış ve kök kanallarından S3 örneği alınmıştır. Alınan S3 örneklerindeki mikroorganizma sayıları S2 örnekleri ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre *E. faecalis*'in PUI ve MDA gruplarında S2 ve S3 örneklerindeki miktarları arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü ( $p=0.347$  ve  $p=0.182$  sırasıyla). Azalma yüzdelerine bakıldığında ise PUI ve MDA gruplarındaki S2-S3 arasındaki azalma yüzdesi %19 olarak bulundu. *E. faecalis* 'in S1-S2 (%65) ve S2-S3 (%19) azalma yüzdeleri arasındaki fark sadece PUI grubunda anlamlı bulundu. Bu sonuçlara göre *E. faecalis*'in uzaklaştırılmasında PUI yönteminin kemomekanik preparasyona göre daha az oranda bakteri uzaklaştırdığı bulunmuştur.

MDA grubunda S2-S3 örneklerindeki *E. faecalis* sayısındaki azalma yüzdesi (%19), S1-S2 örneklerindeki azalma yüzdesi (%49) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. Bu sonuca göre MDA yönteminin kemomekanik preparasyonla karşılaştırdığında *E. faecalis* sayısında ve azalma yüzdesinde benzer derecede etkili olduğu görüldü.

FDT grubunda ise S2 ve S3 örneklerindeki *E. faecalis* sayıları arasındaki fark anlamlı bulundu ( $p=0.002$ ). Bu gruptaki S2-S3 örneklerindeki bakteri azalma yüzdesi (%46), S1-S2 örneklerindeki azalma yüzdesi (%58) ile karşılaştırıldığında bir fark olmadığı görülmüştür. Bu sonuçlara göre FDT yönteminin *E. faecalis* miktarında anlamlı bir azalış meydana getirdiği görülmüştür.

Gruplararası karşılaştırmalarda ise yöntemlerin S2-S3 azalma yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Her 3 dezenfeksiyon yönteminin de *E. faecalis* kök kanalından benzer oranda uzaklaştırdığı görüldü.



*C. albicans*'ın S1-S2 örneklerindeki azalma oranı S2-S3 örneklerindeki azalma oranı ile karşılaştırıldığında her 3 yöntemin de kemomekanik preparasyona benzer oranda azalma sağladığı görüldü. PUI, MDA ve FDT gruplarındaki S2-S3 azalma yüzdeleri arasında (%63, %30 ve %56, sırasıyla) fark anlamlı bulundu ( $p=0.043$ ). Bu sonuca göre MDA yöntemi *C. albicans*' ın uzaklaştırılmasında PUI yöntemine göre daha az etkili bulundu ( $p=0.043$ ).

PUI, MDA ve FDT gruplarındaki toplam mikroorganizma sayısındaki azalma miktarı S1 ve S3 örnekleri arasındaki azalma yüzdesi hesaplanarak bulundu. Bu değerler *E. faecalis* için sırasıyla, %77, %64 ve % 80 iken *C. albicans* için bu %82, %66 ve %82 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre farklı dezenfeksiyon yöntemlerinin kullanıldığı retreatment vakarında her iki mikroorganizma türünün benzer oranlarda uzaklaştırıldığı görülmüştür İstatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmesi de MDA yönteminin diğer yöntemlere göre daha düşük azalma yüzdesine sahip olduğu görülmüştür.

Kemomekanik preparasyondan ve ek dezenfeksiyon yöntemlerinden sonra da hala her iki tür içinde tüm S3 değerleri pozitifdir. Hiç bir dezenfeksiyon yöntemi mikroorganizmaları %100 uzaklaştıramamıştır. Literatürdeki bir çalışma hariç (176) diğer çalışmalarda da mikroorganizmaların %100 oranında elimine edilemediği görülmüştür. Çalışmalarda mikroorganizmaların retreatment vakalarında %23-67 oranında varlığını sürdürdüğü rapor edilmiştir (54, 177, 178). Mikroorganizmaların varlığı, tedavi sonucu için olumsuz bir risk faktörü olduğundan, mümkün olduğunca daha fazla mikroorganizma uzaklaştırmak için, kanal içi dezenfeksiyonu artırmak farklı yöntemlere başvurmak gerekmektedir. Kök kanal sistemindeki mikroorganizmaların kalitatif varlığı/yokluğu önemli olsa da tek başına değerlendirme kriteri olarak kullanmak uygulanan dezenfeksiyon yöntemlerinin etkilerini göz ardı eder. Örneğin, kök kanal sisteminin sterilizasyonunun, mevcut teknikler ve materyaller ile nerpaiviaedeysel ulaşılabilen bir hedef olması nedeniyle, endodontik tedavinin başarısı; bakteri yükünün periradiküler doku iyileşmesi için gerekli azami seviyelere indirgenmesine bağlı olacaktır (179, 180). Bu nedenle bu *in vivo* çalışmada mikroorganizmaların varlığı/yokluğu değil mikroorganizma sayılarındaki azalma incelendi.

Literatürde mikroorganizmaları kanaldan uzaklaştırmak için kemomekanik temizliğe ek olarak PUI'nin kullanılmasını inceleyen birçok çalışma bulunmaktadır (107, 181-183). Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar çelişkilidir. Bazı çalışmalarda

PUI'nin etkili bir ek dezenfeksiyon yöntemi olduğu belirtilirken (182), diğer çalışmalarda belirgin bir fark bulunamamıştır (107, 181). Bu çelişkilerin sebebi farklı değerlendirme kriterleri ve deney düzenekleri olabilir. Paiva ve ark. (184), PUI ve klorheksidininin nekrotik kanallı apikal periodontitisli dişlerdeki mikroorganizma sayısının azalmasına olan etkisini hem PCR hemde kültür yöntemi kullanarak karşılaştırmışlardır. Çalışmalarında değerlendirme kriteri olarak tüm bakteri, arkea ve mantar türleri için negatif sonuç veren diş sayısını dikkate almışlardır. Çalışmalarının sonucunda her iki yöntem arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir.

Paiva ve ark. (185) 2013'de yaptıkları bir diğer *in vivo* çalışmada nekrotik kanallı dişler üzerinde ek dezenfeksiyon yöntemi olarak PUI'nin etkisini araştırmışlardır. 10 adet dişten alınan örnekler sonucunda PUI kemomekanik preparasyondan sonra bakteri sayısını %18.2 oranında azaltmasına rağmen çıkan negatif sonuç sayısını değiştirememiştir. Elde edilen sonuçlara göre PUI istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmamıştır. Bu *in vivo* çalışmada kemomekanik preparasyon sonrasında uygulanan PUI, *E. faecalis* üzerinde %19, *C. albicans* üzerinde %63 oranında azalma sağlamıştır. Kemomekanik preparasyona göre daha az oranda *E. faecalis* uzaklaştırmıştır. Gründling ve ark. (186) 2011 yılında sığır dişleri üzerinde PUI'nin *E. faecalis*'e olan etkisini SEM ve kültür yöntemiyle incelemişlerdir. Sonuç olarak NaOCl ile yapılan konvansiyonel irrigasyon ile NaOCl'nin PUI ile aktive edilmesi arasında anlamlı bir fark bulamamışlardır. Bu çalışmalarda elde edilen sonuçların bu *in vivo* çalışmada elde edilen sonuçlarla uyumlu olduğu görülmektedir.

MDA yönteminde, güta-perkanın ileri-geri hareketinin frekansı dakikada yaklaşık 100 hareket ve amplitüdü yaklaşık 3-5 mm olarak ayarlandı. Tüm klinik işlemler tek bir hekim tarafından gerçekleştirildi böylece hem uygulanabilir bir protokol hem de uniform bir uygulama elde edilmeye çalışıldı. Kanala tam uyum gösteren güta-perka seçiminde Jiang ve ark.'nın (187) debris uzaklaştırma etkinliklerini karşılaştırdıkları çalışmalarındaki açılı güta-perka ile yapılan MDA'yı daha etkili bulmaları rol oynamıştır. Literatürde MDA yönteminin smear tabakasını ve debrisleri uzaklaştırma etkinliğini inceleyen çalışmalar mevcuttur (110, 153, 187-190) fakat bu yöntemin antimikrobiyal etkinliği henüz değerlendirilmemiştir. Bu sebeple smear tabakası ve debris uzaklaştırma etkinliklerinin karşılaştırıldığı çalışmaların sonuçları göz önünde bulunduruldu. Andrabi ve ark. (153) PUI ve

MDA'nın smear tabakasını uzaklaştırmadaki etkinliğini karşılaştırdıkları çalışmalarında iki yöntem arasında belirgin fark bulamamışlardır. Saber ve ark. (110) pasif irrigasyon (PI), MDA, PUI ve Apikal Negatif Basınç (ANP) yöntemlerinin kapalı uçlu deney düzeneği üzerinde smear tabakası kaldırma etkinliklerine göre değerlendirmişler ANP ve MDA yöntemlerini PUI ve PI'dan daha etkili bulmuşlardır. Bu *in vivo* çalışmada da MDA *C. albicans*'ın uzaklaştırılmasında PUI'ye kıyasla daha az etkili olmuştur. PUI *E. faecalis* ve *C. albicans* için sırasıyla %19, %63, MDA sırasıyla %19, %30 azalma sağlamıştır.

FDT, erişilmesi güç alanlara ulaşarak kanal içi mikroorganizmaları etkin bir şekilde azaltmak için kullanılan bir yöntemdir. Bir fotosensitif madde ve düşük güçlü lazer, mikroorganizmaların büyümesini engelleyen veya mikroorganizmaları, öldüren serbest oksijen radikallerini üretmek için birlikte kullanılır (190). Bu teknik minimal invaziv, direnç gelişmeyen ve tekrarlanabilir bir yöntemdir (156). FDT'nin etkilerini inceleyen birçok *in vitro* çalışma mevcuttur. Bu konuyla ilgili yapılan *in vivo* çalışmalar ise sınırlı ve elde edilen sonuçlar çelişkilidir. Elde edilen sonuçlardaki farklılıkların deney düzeneklerindeki ve uygulama yöntemlerindeki farklılıklardan kaynaklandığını düşünmekteyiz. Örneğin Soukos ve ark. (23) planktonik fazdaki bakterileri kullanırken Muhammad ve ark. (192) biyofilm üzerinde çalışmışlardır. Aynı zamanda çalışmalarda FDT'nin uygulama süresi, kullanılan FM ve ışık kaynağı ayarları da çok çeşitlilik göstermektedir. FM'nin yüksek (25mg/ml) ve düşük (0.01mg/ml) olmak üzere çok çeşitli konsantrasyonları kullanılmıştır (192,193). Bu *in vivo* çalışmada %0.01'lik MM kullanıldı. Çalışmalardaki bir diğer farklılıkta kullanılan lazerler ve güç ayarlarıdır. Lazerlerin kullanımı sırasında ısı açığa çıkması nedeniyle hassas bir kullanım gerektirmektedirler. Udart ve ark. (194) yüksek güçte 940 nm diyot lazerlerin bakterileri inaktive etmesindeki tek mekanizmanın yüksek ısı olduğunu bildirmişlerdir. Lazer parametrelerinin uygunsuz kullanımı dentinde yanık oluşumu, kökte ankiloz, sementte erime, kök dejenerasyonu ve periradiküler nekroz gibi yan etkilere neden olabilir. Bu endişelere yanıt olarak, Alfredo ve ark. (195), endodontide 980 nm diyot lazer (1.5W) uygulamasının nem olup olmadığına bakılmaksızın uygulanan tüm modlarda güvenli olduğunu bildirmişlerdir. Radaelli ve ark. (196), 830 nm diyot lazerlerinin (3 ve 2.5W) uygulandıktan sonra 7.45°C'lik ( $\Delta T$ ) maksimum sıcaklık değişikliğine neden olduğunu bu değerinde güvenli bölgede olduğunu bildirmişlerdir. Artmış ısı riskini azaltmanın bir diğer yolu, Gutknecht ve

ark. (116) tarafından geliştirilen uygulama tekniğidir. Teknik sırasında fiber optik uç, 2 mm/sn 'lik bir hızda helikoidal bir hareketle kanal içerisinde yönlendirilir. 10 sn ışın uygulanıp 10 sn ara verilir böylece, dokulara sıcaklık değişimlerini modüle etmek için yeterli zaman verilmiş olur. Bu *in vivo* çalışmada üretici firmanın talimatları doğrultusunda 810 nm diyot lazeri 0.8W 40 sn boyunca helikoidal bir hareketle kullanıldı.

Garcez ve ark. (197) 30 diş üzerinde yaptıkları klinik çalışmada antibiyotik-dirençli mikroflora üzerinde FDT'nin etkinliğini değerlendirmişlerdir. Endodontik tedaviye ek olarak FDT kullanılan grupta *E. faecalis* negatif sonuç vermiştir. Yaptıkları bu *in vivo* çalışmada kemomekanik prosedürlere ek olarak kullanılan FDT'nin etkili bir ek dezenfeksiyon yöntemi olduğunu bildirmişlerdir. Bu *in vivo* çalışmada kemomekanik preparasyondan sonra uygulanan FDT *E. faecalis* üzerinde %46, *C. albicans* üzerinde %56'lık bir azalma sağlamıştır. FDT, her iki mikroorganizma türünün miktarında da anlamlı bir azalma meydana getirmiştir. Bonsor ve ark.'nın 2006 yılında yaptıkları *in vivo* çalışmada benzer sonuçlar bildirilmiştir (198). Ahangari ve ark. 2017 yılında FDT'nin *E. faecalis* ve *C. albicans* üzerindeki etkilerini retreatment vakalarında kalsiyum hidroksit ile *in vivo* olarak karşılaştırmışlardır (199). Elde edilen kültür sonuçlarına göre iki grup istatistiksel olarak birbirinden farklı olmamakla birlikte her iki tür sayısında istatistiksel olarak azalma bulmuşlardır. Bu sonuçlara göre iki seansta yapılan kanal tedavisi yerine FDT yönteminin kullanımıyla birlikte tek seansta etkili bir dezenfeksiyon sağlanabileceğini bildirmişlerdir. Bu *in vivo* çalışmanın sonuçlarına göre FDT'nin her iki mikroorganizma türünün uzaklaştırılmasında etkili olduğu bulundu. Bu sonuçlar George ve ark. (200), Garcez ve ark. (197, 201, 202), Bonsor ve ark. (198) ve Asnaashari ve ark.'nın (203,204) ışık kaynağı olarak lazer ya da LED kullanarak yaptıkları FDT çalışmalarının sonuçlarıyla uyumlu olduğu görüldü.

Literatürde FDT'nin etkisini anlamlı bulmayan çalışmalar da mevcuttur. Souza ve ark. (205) metilen mavisi ya da toluidin mavisi kullanılarak entrümantasyon ve irrigasyon prosedürlerine ek olarak kullanılan FDT'nin etkili olmadığını bildirmişlerdir. Bunun sebebinin kanal içindeki düşük oksijen konsantrasyonu olduğu bildirmişlerdir. Hecker ve ark. (206) 2013 yılında sığır dişleri üzerinde yaptıkları çalışmalarında FDT'yi etkili bulmamışlardır. Muhammad ve ark. (191) 2014 yılında PUI ile FDT'yi *ex vivo* 30 diş üzerinde karşılaştırmışlardır. *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus salivarius*, *Porphyromonas gingivalis* ve

*Prevotella intermedia* oluşan biyofilm üzerinde PUI'yı, ışık kaynağı olarak hem LED hem de lazer kullanılan FDT'den üstün bulmuşlardır. Bu *in vivo* çalışmanın sonuçlarına göre PUI ve FDT yöntemleri arasında her iki mikroorganizma türünün uzaklaştırması açısından fark bulunmadı.

Bu *in vivo* çalışmanın bazı imitasyonları bulunmaktadır. Kemomekanik preparasyon sırasında her grupta 8 ml olacak şekilde eşit miktarda NaOCl irrigasyonu yapıldı. Dezenfeksiyon yöntemlerinin uygulanması sırasındaki NaOCl miktarı ise farklılık gösterdi. PUI ve MDA yöntemlerinin uygulanması sırasında NaOCl kullanılması, FDT yöntemi uygulanırken ise kullanılmaması nedeniyle son NaOCl miktarları gruplarda eşit değildir. Limitasyonlarından bir diğeri de kâğıt konlar ile örnek alma yöntemidir. Bu yöntemle sadece ana kök kanalından örnek alınabilir. Hâlbuki tedavi edilmiş vakalarda oluşan apikal periodontitisin nedeni lateral kanallar, istmuslar, dentinal tübüller ve apikal ramifikasyonlarda bulunan mikroorganizmalar olabilir (180,207,208). Bu lokasyonlarda bulunan mikroorganizmalar kâğıt konlarla örnek alınımında gözden kaçabilir. Bu nedenle bu çalışmada mikroorganizmaların dentin kanalcıklarına penetrasyon olasılıkları göz önünde tutuldu ve çevresel egeleme yöntemi ile dentin kazınarak, kâğıt konlara emdirilme yoluyla örnekler alındı. Aynı zamanda bu çalışmada asepsiyi kontrol etme ve örnek alımını kolaylaştırmak için sadece tek köklü tek kanallı dişler seçildi.

Bu *in vivo* çalışmanın limitasyonları içerisinde kemomekanik işlemlerden sonra bir ek dezenfeksiyon yöntemi olarak uygulanan PUI, MDA ve FDT yöntemlerinin *E. faecalis* ve *C. albicans* üzerindeki etkisi karşılaştırılmış ve sonuç olarak her 3 yöntemin de *E. faecalis*'i benzer oranlarda uzaklaştırdığı görülmüştür. *C. albicans*'ın uzaklaştırılmasında ise PUI'nin MDA'dan daha iyi olduğu görülmüştür. Tek seansta yapılan kök kanal tedavilerinde, özellikle retreatment vakalarında, sadece kemomekanik preparasyonun mikroorganizmaların uzaklaştırılmasında yeterli olmadığı mutlaka ek bir dezenfeksiyon yönteminin uygulanarak maksimum düzeyde mikroorganizmanın uzaklaştırılması gerektiği görüşündeyiz. Bu dezenfeksiyon yöntemlerinin, özellikle MDA yönteminin, diğer mikroorganizma türlerine olan etkisinin de değerlendirileceği daha çok *in vivo* çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

## 6. SONUÇLAR

1. Hiçbir dezenfeksiyon yöntemi *E. faecalis* ve *C. albicans*'i kök kanallarından %100 oranında uzaklaştıramamıştır.
2. Her üç dezenfeksiyon yöntemi de *E. faecalis*'i benzer oranlarda uzaklaştırmıştır.
3. MDA yöntemi PUI yöntemine göre *C. albicans*'ı daha az oranda uzaklaştırmıştır.
4. PUI kemomekanik preparasyona göre *E. faecalis*'i daha az oranda uzaklaştırmıştır.
5. FDT hem *E. faecalis* hem de *C. albicans*'ın miktarını kemomekanik preparasyon sonrasında anlamlı derecede azaltmıştır.
6. PUI ve MDA *C. albicans*'ın miktarını kemomekanik preparasyon sonrasında anlamlı derecede azaltmıştır.
7. Kemomekanik preparasyon mikroorganizmaların uzaklaştırılmasında tek başına yeterli değildir. Tek seansta yapılan retreatment vakalarında ek bir dezenfeksiyon yöntemi uygulanmalıdır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Siqueira JF, Jr., Rocas IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod* 34(11):1291-301, 2008.
2. Siqueira JF, Jr. Endodontic infections: concepts, paradigms, and perspectives. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 94(3):281-93, 2002.
3. Gomes BP, Pinheiro ET, Jacinto RC, Zaia AA, Ferraz CC, Souza-Filho FJ. Microbial analysis of canals of root-filled teeth with periapical lesions using polymerase chain reaction. *J Endod* 34(5):537-40, 2008.
4. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjogren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 85(1):86-93, 1998.
5. Rocas IN, Siqueira JF, Jr., Santos KR. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod* 30(5):315-20, 2004.
6. Schirrmester JF, Liebenow AL, Pelz K, Wittmer A, Serr A, Hellwig E, Al-Ahmad A. New bacterial compositions in root-filled teeth with periradicular lesions. *J Endod* 35(2):169-74, 2009.
7. Sedgley C, Nagel A, Dahlen G, Reit C, Molander A. Real-time quantitative polymerase chain reaction and culture analyses of *Enterococcus faecalis* in root canals. *J Endod* 32(3):173-7, 2006.
8. Siqueira JF, Jr., Rocas IN. Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 97(1):85-94, 2004.
9. Siqueira JF, Jr., Sen BH. Fungi in endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 97(5):632-41, 2004.
10. Arendorf TM, Walker DM. The prevalence and intra-oral distribution of *Candida albicans* in man. *Arch Oral Biol* 25(1):1-10, 1980.
11. Foschi F, Nucci C, Montebugnoli L, Marchionni S, Breschi L, Malagnino VA, Prati C. SEM evaluation of canal wall dentine following use of Mtwo and ProTaper NiTi rotary instruments. *Int Endod J* 37(12):832-9, 2004.
12. Machado ME, Sapia LA, Cai S, Martins GH, Nabeshima CK. Comparison of two rotary systems in root canal preparation regarding disinfection. *J Endod* 36(7):1238-40, 2010.

13. Martinho FC, Chiesa WM, Marinho AC, Zaia AA, Ferraz CC, Almeida JF, et al. Clinical investigation of the efficacy of chemomechanical preparation with rotary nickel-titanium files for removal of endotoxin from primarily infected root canals. *J Endod* 36(11):1766-9, 2010.
14. Marinho AC, Martinho FC, Zaia AA, Ferraz CC, Gomes BP. Influence of the apical enlargement size on the endotoxin level reduction of dental root canals. *J Appl Oral Sci* 20(6):661-6, 2012.
15. Ruddle CJ, Machtou P, West JD. The shaping movement: fifth-generation technology. *Dent Today* 32(4):94, 6-9, 2013.
16. DeNunzio MS, Hicks ML, Pelleu GB, Jr., Kingman A, Sauber JJ. Bacteriological comparison of ultrasonic and hand instrumentation of root canals in dogs. *J Endod* 15(7):290-3, 1989.
17. Spoleti P, Siragusa M, Spoleti MJ. Bacteriological evaluation of passive ultrasonic activation. *J Endod* 29(1):12-4, 2003.
18. Garcez AS, Ribeiro MS, Tegos GP, Nunez SC, Jorge AO, Hamblin MR. Antimicrobial photodynamic therapy combined with conventional endodontic treatment to eliminate root canal biofilm infection. *Lasers Surg Med* 39(1):59-66, 2007.
19. Bonsor SJ, Nichol R, Reid TM, Pearson GJ. An alternative regimen for root canal disinfection. *Br Dent J* 201(2):101-5, 2006.
20. Sperandio FF, Huang YY, Hamblin MR. Antimicrobial photodynamic therapy to kill Gram-negative bacteria. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov* 8(2):108-20, 2013.
21. Vaziri S, Kangarlou A, Shahbazi R, Nasab AN, Naseri M. Comparison of the bactericidal efficacy of photodynamic therapy, 2.5% sodium hypochlorite, and 2% chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* in root canals; an in vitro study. *Dent Res J (Isfahan)* 9(5):613, 2012.
22. Foschi F, Fontana CR, Ruggiero K, Riahi R, Vera A, Doukas AG, Pagonis TC, Kent R, Stashenko PP, Soukos NS. Photodynamic inactivation of *Enterococcus faecalis* in dental root canals in vitro. *Lasers Surg Med* 39(10):782-7, 2007.
23. Soukos NS, Chen PS-Y, Morris JT, Ruggiero K, Abernethy AD, Som S, Foschi F, Doucette S, Bammann LL, Fontana CR, Doukas AG, Stashenko PP. Photodynamic therapy for endodontic disinfection. *J Endod* 32(10):979-84, 2006.



24. Hecker S, Hiller KA, Galler KM, 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. *Int Endod J* 46(5):449-57, 2013.
25. 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*. *Int Endod J* 46(6):499-505, 2013.
26. McGill S, Gulabivala K, Mordan N, Ng YL. The efficacy of dynamic irrigation using a commercially available system (RinsEndo) determined by removal of a collagen 'bio-molecular film' from an ex vivo model. *Int Endod J* 41(7):602-8, 2008.
27. Gu LS, Kim JR, Ling J, Choi KK, Pashley DH, Tay FR. Review of contemporary irrigant agitation techniques and devices. *J Endod* 35(6):791-804, 2009.
28. Siqueira JF, Jr., Rocas IN, Oliveira JC, Santos KR. Molecular detection of black-pigmented bacteria in infections of endodontic origin. *J Endod* 27(9):563-6, 2001.
29. Zoletti GO, Siqueira JF, Jr., Santos KR. Identification of *Enterococcus faecalis* in root-filled teeth with or without periradicular lesions by culture-dependent and-independent approaches. *J Endod* 32(8):722-6, 2006.
30. Baumgartner JC. Microbiological and molecular analysis of endodontic infections. *Endod Topics* (7):35-51.2004.
31. Seltzer S, Bender I. Cognitive dissonance in endodontics. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 20(4):505-16, 1965.
32. Weiger R, Axmann-Krcmar D, LM C. Prognosis of conventional root canal treatment reconsidered. *Dent Traumatol* 14(1):1-9,1998.
33. Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 55(3):307-12, 1983.
34. Byström A, Sunvqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J* 18(1):35-40,1985.

35. Shuping GB, Ørstavik D, Sigurdsson A, Trope M. Reduction of intracanal bacteria using nickel-titanium rotary instrumentation and various medications. *J Endod* 26(12):751-5, 2000.
36. Kersten H, Wesselink P, Thoden van Velzen S. The diagnostic reliability of the buccal radiograph after root canal filling. *Int Endod J* 20(1):20-4, 1987.
37. Patel S, Barnes J. Contemporary endodontics—part 2. *Br Dent J* 211(11):517-24, 2011.
38. Siqueira J, Lopes H. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *Int Endod J* 32(5):361-9, 1999.
39. Lin LM, Pascon EA, Skribner J, Gängler P, Langeland K. Clinical, radiographic, and histologic study of endodontic treatment failures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 71(5):603-11, 1991.
40. Siqueira JF, De Uzeda M, Fonseca MEF. A scanning electron microscopic evaluation of in vitro dentinal tubules penetration by selected anaerobic bacteria. *J Endod* 22(6):308-10, 1996.
41. Siqueira JF, de Uzeda M. Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. *J Endod* 22(12):674-6, 1996.
42. de Paz LC. Redefining the persistent infection in root canals: possible role of biofilm communities. *J Endod* 33(6):652-2, 2007.
43. Siqueira J, Rôças I. Treponema species associated with abscesses of endodontic origin. *Mol Oral Microbiol* 19(5):336-9, 2004.
44. Siqueira J, Rôças I. Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: part 2 redefining the endodontic microbiota. *J Endod* 31(7):488-98, 2005.
45. Vianna M, Horz H, Gomes B, Conrads G. In vivo evaluation of microbial reduction after chemo-mechanical preparation of human root canals containing necrotic pulp tissue. *Int Endod J* 39(6):484-92, 2006.
46. Sakamoto M, Siqueira J, Rôças I, Benno Y. Bacterial reduction and persistence after endodontic treatment procedures. *Mol Oral Microbiol* 22(1):19-23, 2007.

47. Siqueira JF, Rôças IN, Paiva SS, Guimarães-Pinto T, Magalhães KM, Lima KC. Bacteriologic investigation of the effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine during the endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 104(1):122-30, 2007.
48. Sakamoto M, Rôças I, Siqueira J, Benno Y. Molecular analysis of bacteria in asymptomatic and symptomatic endodontic infections. *Mol Oral Microbiol* 21(2):112-22, 2006.
49. Kaufman B, Spångberg L, Barry J, Fouad AF. Enterococcus spp. in endodontically treated teeth with and without periradicular lesions. *J Endod* 31(12):851-6, 2005.
50. Siqueira JF. Endodontic infections: concepts, paradigms, and perspectives. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 94(3):281-93, 2002.
51. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 85(1):86-93, 1998.
52. Pinheiro E, Gomes B, Ferraz C, Sousa E, Teixeira F, Souza-Filho F. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions *Int Endod J* 36(1):1-11, 2003.
53. Rôças IN, Siqueira JF, Santos KR. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod* 30(5):315-20, 2004.
54. Peciulienė V, Reynaud A, Balciuniene I, Haapasalo M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis *Int Endod J* 34(6):429-34, 2001.
55. Sedgley C, Nagel A, Dahlén G, Reit C, Molander A. Real-time quantitative polymerase chain reaction and culture analyses of *Enterococcus faecalis* in root canals. *J Endod* 32(3):173-7, 2006.
56. Siqueira J. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. *Int Endod J* 34(1):1-10, 2001.
57. Rôças IN, Jung I-Y, Lee C-Y, Siqueira JF. Polymerase chain reaction identification of microorganisms in previously root-filled teeth in a South Korean population. *J Endod* 30(7):504-8, 2004.
58. Siqueira JF, Rôças IN, Alves FR, Santos KR. Selected endodontic pathogens in the apical third of infected root canals: a molecular investigation. *J Endod* 30(9):638-43, 2004.

59. Zoletti G, Siqueira J, Santos K. Identification of *Enterococcus faecalis* in Root-filled Teeth With or Without Periradicular Lesions by Culture-dependent and Independent Approaches. *J Endod* 32(8):722-6, 2006.
60. Schleifer KH, Kilpper-Bälz R. Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the Genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 34(1):31-4, 1984.
61. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod* 32(2):93-8, 2006.
62. Sun J, Song X, Kristiansen BE, Kjæreng A, Willems RJ, Eriksen HM, Sundsfjord A, Sollid JE. Occurrence, population structure, and antimicrobial resistance of enterococci in marginal and apical periodontitis. *J Clin Microbiol* 47(7):2218-25, 2009.
63. Rôças IN, Siqueira JF. Characterization of microbiota of root canal-treated teeth with posttreatment disease. *J Clin Microbiol* 50(5):1721-4, 2012.
64. Soll DR. *Candida* commensalism and virulence: the evolution of phenotypic plasticity. *Acta Trop* 81(2):101-10, 2002.
65. Waltimo TM, Haapasalo M, Zehnder M, Meyer J. Clinical aspects related to endodontic yeast infections. *Endod Topics* 9(1):66-78, 2004.
66. Arendorf T, Walker D. The prevalence and intra-oral distribution of *Candida albicans* in man. *Arch Oral Biol* 25(1):1-10, 1980.
67. Suchitra U, Kundabala M. *Enterococcus Faecalis*-An Endodontic Pathogen. *Endodontology* 18(2):11-3, 2006.
68. Damm DD, Neville BW, Geissler RH, White DK, Drummond JF, Ferretti GA. Dentinal candidiasis in cancer patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 65(1):56-60, 1988.
69. Nair PR, Sjögren U, Krey G, Kahnberg K-E, Sundqvist G. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. *J Endod* 16(12):580-8, 1990.
70. Shorrock PJ, Lambert PA. Binding of fibronectin and albumin to *Enterococcus* (*Streptococcus*) *faecalis*. *Microb Pathog* 6(1):61-7, 1989.

71. Tronstad L, Barnett F, Riso K, Slots J. Extraradicular endodontic infections. *Dent Traumatol* 3(2):86-90, 1987.
72. Egan M, Spratt D, Lam J, Gulabivala K. The prevalence of yeasts in saliva and root canals of teeth associated with apical periodontitis. *Int Endod J* 35(4):321-9, 2002.
73. Sobrinho APR, Barros MHM, Nicoli JR, Carvalho MAR, Farias LM, Bambirra EA, Bahia MG, Vieira EC. Experimental root canal infections in conventional and germ-free mice. *J Endod* 24(6):405-8, 1998.
74. Siqueira JF, Sen BH. Fungi in endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 97(5):632-41, 2004.
75. Dupont B, Graybill J, Armstrong D, Laroche R, Touze J, Wheat L. Fungal infections in AIDS patients. *J Med Vet Mycol* 30(1):19-28, 1992.
76. Chaffin WL, López-Ribot JL, Casanova M, Gozalbo D, Martínez JP. Cell wall and secreted proteins of *Candida albicans*: identification, function, and expression. *Microbiol Mol Biol Rev* 62(1):130-80, 1998.
77. Holmes AR, Gopal PK, Jenkinson HF. Adherence of *Candida albicans* to a cell surface polysaccharide receptor on *Streptococcus gordonii*. *Infect Immun* 63(5):1827-34, 1995.
78. Jenkinson H, Lala H, Shepherd M. Coaggregation of *Streptococcus sanguis* and other streptococci with *Candida albicans*. *Infect Immun* 58(5):1429-36, 1990.
79. Haynes K. Virulence in *Candida* species. *Trends Microbiol* 9(12):591-6, 2001.
80. Ashman RB, Papadimitriou JM. Production and function of cytokines in natural and acquired immunity to *Candida albicans* infection. *Microbiol Rev* 59(4):646-72, 1995.
81. Danley DL, Polakoff J. Rapid killing of monocytes in vitro by *Candida albicans* yeast cells. *Infect Immun* 51(1):307-13, 1986.
82. Waltimo T, Trope M, Haapasalo M, Ørstavik D. Clinical efficacy of treatment procedures in endodontic infection control and one year follow-up of periapical healing. *J Endod* 31(12):863-6, 2005.
83. Ferrari PHP. Detecção de microrganismos oportunistas em pacientes soropositivos para o HIV e portadores de infecção endodôntica primária: Universidade de São Paulo. Faculdade de Odontologia, São Paulo, 2004.

84. Matusow RJ. Acute pulpal-alveolar cellulitis syndrome: I. Clinical study of bacterial isolates from pulps and exudates of intact teeth, with description of a specific culture technique. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 48(1):70-6, 1979.
85. Fouad AF. Endodontic Microbiology and Pathobiology: Current State of Knowledge. *Dent Clin North Am* 61(1):1-15, 2017.
86. Siqueira J, Rôças I. Uncultivated phylotypes and newly named species associated with primary and persistent endodontic infections. *J Clin Microbiol* 43(7):3314-9, 2005.
87. Conrads G, Gharbia SE, Gulabivala K, Lampert F, Shah HN. The use of a 16S rDNA directed PCR for the detection of endodontopathogenic bacteria. *J Endod* 23(7):433-8, 1997.
88. Zambon JJ, Haraszthy VI. The laboratory diagnosis of periodontal infections. *Periodontol* 2000 7(1):69-82, 1995.
89. Siqueira JF, Rôças IN. PCR methodology as a valuable tool for identification of endodontic pathogens. *J Dent* 31(5):333-9, 2003.
90. M. J. McPherson SGM, R. Beynon, C. Howe. PCR: The Basics from Background to Bench. pp. 1-45. BIOS Scientific Publishing Ltd, New York, USA, 2000.
91. Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spanó JCE, Marchesan MA, Pécora JD. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz Dent J* 13(2):113-7, 2002.
92. Radcliffe C, Potouridou L, Qureshi R, Hababbeh N, Qualtrough A, Worthington H, Drucker DB. Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 37(7):438-46, 2004.
93. Gomes B, Ferraz C, ME V, 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*. *Int Endod J* 34(6):424-8, 2001.
94. Waltimo T, Ørstavik D, Siren E, Haapasalo M. In vitro susceptibility of *Candida albicans* to four disinfectants and their combinations. *Int Endod J* 32(6):421-9, 1999.

95. Moorer W, Wesselink P. Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite. *Int Endod J* 15(4):187-96, 1982.
96. Stojcic S, Zivkovic S, Qian W, Zhang H, Haapasalo M. Tissue dissolution by sodium hypochlorite: effect of concentration, temperature, agitation, and surfactant. *J Endod* 36(9):1558-62, 2010.
97. Paragliola R, Franco V, Fabiani C, Mazzoni A, Nato F, Tay FR, Breschi L, Grandini S. Final rinse optimization: influence of different agitation protocols. *J Endod* 36(2):282-5, 2010.
98. Al-Jadaa A, Paqué F, Attin T, Zehnder M. Acoustic hypochlorite activation in simulated curved canals. *J Endod* 35(10):1408-11, 2009.
99. Goldman M, Kronman JH, Goldman LB, Clausen H, Grady J. New method of irrigation during endodontic treatment. *J Endod* 2(9):257-60, 1976.
100. Uzunoglu E, Aktemur S, Uyanik MO, Durmaz V, Nagas E. Effect of ethylenediaminetetraacetic acid on root fracture with respect to concentration at different time exposures. *J Endod* 38(8):1110-3, 2012.
101. Basrani B, Haapasalo M. Update on endodontic irrigating solutions. *Endod Topics* 27(1):74-102, 2012.
102. Siqueira JF, Rôças IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod* 34(11):1291-301, 2008.
103. Drake DR, Wiemann AH, Rivera EM, Walton RE. Bacterial retention in canal walls in vitro: effect of smear layer. *J Endod* 20(2):78-82, 1994.
104. Ahmad M, Ford TRP, Crum LA. Ultrasonic debridement of root canals: an insight into the mechanisms involved. *J Endod* 13(3):93-101, 1987.
105. Çiçek E, Bodrumlu E. Endodontide ultrasonikler: derleme. *J Dent Fac Atatürk Uni* 6:76-83, 2012.
106. Weller RN, Brady JM, Bernier WE. Efficacy of ultrasonic cleaning. *J Endod* 6(9):740-3, 1980.
107. Siqueira J, Machado A, Silveira R, Lopes H, Uzeda Md. Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal, in vitro. *Int Endod J* 30(4):279-82, 1997.

108. McGill S, Gulabivala K, Mordan N, Ng YL. The efficacy of dynamic irrigation using a commercially available system (RinsEndo®) determined by removal of a collagen 'bio-molecular film' from an ex vivo model. *Int Endod J* 41(7):602-8, 2008.
109. Gu L-s, Kim JR, Ling J, Choi KK, Pashley DH, Tay FR. Review of contemporary irrigant agitation techniques and devices. *J Endod* 35(6):791-804, 2009.
110. Saber SE-D, Hashem AAR. Efficacy of different final irrigation activation techniques on smear layer removal. *J Endod* 37(9):1272-5, 2011.
111. Fransson H, Larsson K, Wolf E. Efficacy of lasers as an adjunct to chemo-mechanical disinfection of infected root canals: a systematic review. *Int Endod J* 46(4):296-307, 2013.
112. Kimura Y, Wilder-Smith P, Matsumoto K. Lasers in endodontics: a review. *Int Endod J* 33(3):173-85, 2000.
113. Schuurs A, Wesselink P, Eijkman M, Duivenvoorden H. Dentists' views on cervical hypersensitivity and their knowledge of its treatment. *Dent Traumatol* 11(5):240-4, 1995.
114. De Coster P, Rajasekharan S, Martens L. Laser-assisted pulpotomy in primary teeth: a systematic review. *Int J Paediatr Dent* 23(6):389-99, 2013.
115. Gutknecht N, Moritz A, Conrads G, Sievert T, Lampert F. Bactericidal effect of the Nd: YAG laser in in vitro root canals. *J Clin Laser Med Surg* 14(2):77-80, 1996.
116. De Moor RJ, Meire M, Goharkhay K, Moritz A, Vanobbergen J. Efficacy of ultrasonic versus laser-activated irrigation to remove artificially placed dentin debris plugs. *J Endod* 36(9):1580-3, 2010.
117. Myers ML. The effect of laser irradiation on oral tissues. *J Prosthet Dent* 66(3):395-7, 1991.
118. Blanken J, De Moor RJG, Meire M, Verdaasdonk R. Laser induced explosive vapor and cavitation resulting in effective irrigation of the root canal. Part 1: a visualization study. *Lasers Surg Med* 41(7):514-9, 2009.
119. Franzen R, Esteves-Oliveira M, Meister J, Wallerang A, Vanweersch L, Lampert F, Gutknecht N. Decontamination of deep dentin by means of erbium, chromium: yttrium-scandium-gallium-garnet laser irradiation. *Lasers Med Sci* 24(1):75-80, 2009.



120. Lee B-S, Lin C-P, Hung Y-L, Lan W-H. Structural changes of Er: YAG laser-irradiated human dentin. *Photomed Laser Surg* 22(4):330-4, 2004.
121. De Groot S, Verhaagen B, Versluis M, Wu MK, Wesselink P, Van der Sluis L. Laser-activated irrigation within root canals: cleaning efficacy and flow visualization. *Int Endod J* 42(12):1077-83, 2009.
122. Akyuz Ekim SN, Erdemir A. Comparison of different irrigation activation techniques on smear layer removal: an in vitro study. *Microsc Res Tech* 78(3):230-9, 2015.
123. Arslan H, Capar I, Saygili G, Gok T, Akcay M. Effect of photon-initiated photoacoustic streaming on removal of apically placed dentinal debris. *Int Endod J* 47(11):1072-7, 2014.
124. DiVito E, Lloyd A. ER: YAG laser for 3-dimensional debridement of canal systems: use of photon-induced photoacoustic streaming. *Dent Today* 31(11):122, 4-7, 2012.
125. DiVito E, Peters O, Olivi G. Effectiveness of the erbium: YAG laser and new design radial and stripped tips in removing the smear layer after root canal instrumentation. *Lasers Med Sci* 27(2):273-80, 2012.
126. Peters OA, Bardsley S, Fong J, Pandher G, DiVito E. Disinfection of root canals with photon-initiated photoacoustic streaming. *J Endod* 37(7):1008-12, 2011.
127. Lee MT, Bird PS, Walsh LJ. Photo-Activated Disinfection Of The Root Canal: A New Role For Lasers In Endodontics. *Aust Dent J* 30(3):93-8, 2004.
128. Meire M, De Prijck K, Coenye T, Nelis H, De Moor R. Effectiveness of different laser systems to kill *Enterococcus faecalis* in aqueous suspension and in an infected tooth model. *Int Endod J* 42(4):351-9, 2009.
129. Schlafer S, Vaeth M, Hørsted-Bindslev P, Frandsen EV. Endodontic photoactivated disinfection using a conventional light source: an in vitro and ex vivo study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 109(4):634-41, 2010.
130. Bergmans L, Moisiadis P, Huybrechts B, Van Meerbeek B, Quirynen M, Lambrechts P. Effect of photo-activated disinfection on endodontic pathogens ex vivo. *Int Endod J* 41(3):227-39, 2008.

131. Bago I, Plečko V, Gabrić Pandurić D, Schauperl 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. *Int J Endod* 46(4):339-47, 2013.
132. Şen BH. Kök Kanal Enfeksiyonları ve Güncel İrigasyon Yöntemleri. *Türkiye Klinikleri J Dental Sci-Special Topics* 1(3):24-32, 2010.
133. Konopka K, Goslinski T. Photodynamic therapy in dentistry. *J Dent Res* 86 (8):694-707, 2007.
134. Bouillaguet S, Owen B, Wataha JC, Campo MA, Lange N, Schrenzel J. Intracellular reactive oxygen species in monocytes generated by photosensitive chromophores activated with blue light. *Dent Mater J* 24(8):1070-6, 2008.
135. Bouillaguet S, Wataha JC, Zapata O, Campo M, Lange N, Schrenzel J. Production of reactive oxygen species from photosensitizers activated with visible light sources available in dental offices. *Photomed Laser Surg* 28(4):519-25, 2010.
136. 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. *J Endod* 37(6):856-9, 2011.
137. Fimple JL, Fontana CR, Foschi F, Ruggiero K, Song X, Pagonis TC, Tanner AC, Kent R, Doukas AG, Stashenko PP, Soukos NS. Photodynamic treatment of endodontic polymicrobial infection in vitro. *J Endod* 34(6):728-34, 2008.
138. Ng R, Singh F, Papamanou DA, Song X, Patel C, Holewa C, Patel N, Klepac-Ceraj V, Fontana CR, Kent R, Pagonis TC, Stashenko PP, Soukos NS. Endodontic photodynamic therapy ex vivo. *J Endod* 37(2):217-22, 2011.
139. Nunes MR, Mello I, Franco GCN, de Medeiros JMF, dos Santos SSF, Habitante SM, Lage-Marques JL, Raldi DP. Effectiveness of photodynamic therapy against *Enterococcus faecalis*, with and without the use of an intracanal optical fiber: an in vitro study. *Photomed Laser Surg* 29(12):803-8, 2011.
140. Miserendino LJ, Pick RM. *Lasers in Dentistry: 1st ed.* pp. 39-55, Chicago: Quintessence Publishing; 1995.

141. Ferreira MPP, Ferrari RAM, Gravalos ED, Martins MD, Bussadori SK, Gonzalez DA, Fernandes KP. Effect of low-energy gallium-aluminum-arsenide and aluminium gallium indium phosphide laser irradiation on the viability of C2C12 myoblasts in a muscle injury model. *Photomed Laser Surg* 27(6):901-6, 2009.
142. Souza-Gabriel AE, Vitussi LOC, Milani C, Alfredo E, Messias DCF, Silva-Sousa YTC. Effect of bleaching protocols with 38% hydrogen peroxide and post-bleaching times on dentin bond strength. *Braz Dent J* 22(4):317-21, 2011.
143. Schoop U, Kluger W, Moritz A, Nedjelic N, Georgopoulos A, Sperr W. Bactericidal effect of different laser systems in the deep layers of dentin. *Lasers Surg Med* 35(2):111-6, 2004.
144. Wang Q-q, Zhang C-f, Yin X-z. Evaluation of the bactericidal effect of Er, Cr: YSGG, and Nd: YAG lasers in experimentally infected root canals. *J Endod* 33(7):830-2, 2007.
145. Pirnat S, Lukac M, Ihan A. Study of the direct bactericidal effect of Nd: YAG and diode laser parameters used in endodontics on pigmented and nonpigmented bacteria. *Lasers Med Sci* 26(6):755-61, 2011.
146. Judy MM, Matthews JL, Aronoff BL, Hulst DF. Soft tissue studies with 805 nm diode laser radiation: thermal effects with contact tips and comparison with effects of 1064 nm Nd: YAG laser radiation. *Lasers Surg Med* 13(5):528-36, 1993.
147. Mehrvarzfar P, Saghiri MA, Asatourian A, Fekrazad R, Karamifar K, Eslami G, Dadresanfar B. Additive effect of a diode laser on the antibacterial activity of 2.5% NaOCl, 2% CHX and MTAD against *Enterococcus faecalis* contaminating root canals: an in vitro study. *J Oral Sci* 53(3):355-60, 2011.
148. Preethee T, Kandaswamy D, Arathi G, Hannah R. Bactericidal effect of the 908 nm diode laser on *Enterococcus faecalis* in infected root canals. *J Conserv Dent* 15(1):46, 2012.
149. Kaiwar A, Usha H, Meena N, Ashwini P, Murthy CS. The efficiency of root canal disinfection using a diode laser: in vitro study. *Indian J Dent Res* 24(1):14, 2013.
150. Wainwright M. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). *The J. Antimicrob Chemother* 42(1):13-28, 1998.

151. Hamblin MR, Hasan T. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? *Photochem Photobiol Sci* 3(5):436-50, 2004.
152. Ørstavik D, Kerekes K, Eriksen HM. The periapical index: a scoring system for radiographic assessment of apical periodontitis. *Dent Traumatol* 2(1):20-34, 1986.
153. Andrabi SMUN, Kumar A, Zia A, Iftekhhar H, Alam S, Siddiqui S. Effect of passive ultrasonic irrigation and manual dynamic irrigation on smear layer removal from root canals in a closed apex in vitro model. *J Investig Clin Dent* 5(3):188-93, 2014.
154. Asnaashari M, Godiny M, Azari-Marhabi S, Tabatabaei FS, Barati M. Comparison of the antibacterial effect of 810 nm diode laser and photodynamic therapy in reducing the microbial flora of root canal in endodontic retreatment in patients with periradicular lesions. *J Lasers Med Sci* 7(2):99, 2016.
155. Rahimi S, Janani M, Lotfi M, Shahi S, Aghbali A, Pakdel MV, Salem Milani A1, Ghasemi N. A review of antibacterial agents in endodontic treatment. *Iran Endod J* 9(3):161, 2014.
156. Moslemi N, Azar PS-z, Bahador A, Rouzmeh N, Chiniforush N, Paknejad M, Fekrazad R. Inactivation of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* by two different modalities of photodynamic therapy using Toluidine blue O or Radachlorin as photosensitizers: an in vitro study. *Lasers Med Sci* 30(1):89-94, 2015.
157. Waltimo T, Siren E, Torkko H, Olsen I, Haapasalo M. Fungi in therapy-resistant apical periodontitis. *Int Endod J* 30(2):96-101, 1997.
158. Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 31(1):1-7,1998.
159. Siqueira JF, Rôças IN. Polymerase chain reaction–based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 97(1):85-94, 2004.
160. Gomes BP, Pinheiro ET, Jacinto RC, Zaia AA, Ferraz CC, Souza-Filho FJ. Microbial analysis of canals of root-filled teeth with periapical lesions using polymerase chain reaction. *J Endod* 34(5):537-40, 2008.
161. Dumani A, Yoldas O, Yilmaz S, Koksall F, Kayar B, Akcimen B, Seydaoglu G. Polymerase chain reaction of *enterococcus faecalis* and *candida albicans* in apical periodontitis from Turkish patients. *J Clin Exp Dent* 4(1):34-9, 2012.

162. Poptani B, Sharaff M, Archana G, Parekh V. Detection of *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* in previously root-filled teeth in a population of Gujarat with polymerase chain reaction. *Contemp Clin Dent* 4(1):62-6, 2013.
163. Rôças IN, Hülsmann M, Siqueira JF. Microorganisms in root canal-treated teeth from a German population. *J Endod* 34(8):926-31, 2008.
164. Cheung G, Ho M. Microbial flora of root canal-treated teeth associated with asymptomatic periapical radiolucent lesions. *Mol Oral Microbiol* 16(6):332-7, 2001.
165. Murad C, Sassone L, Favari M, Hirata R, Figueiredo L, Feres M. Microbial diversity in persistent root canal infections investigated by checkerboard DNA-DNA hybridization. *J Endod* 40(7):899-906, 2014.
166. Hancock H, Sigurdsson A, Trope M, Moiseiwitsch J. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 91(5):579-86, 2001.
167. Rôças IN, Siqueira JF. Identification of bacteria enduring endodontic treatment procedures by a combined Reverse Transcriptase-Polymerase Chain reaction and Reverse-Capture Checkerboard approach. *J Endod* 36(1):45-52, 2010.
168. Wang J, Jiang Y, Chen W, Zhu C, Liang J. Bacterial flora and extraradicular biofilm associated with the apical segment of teeth with post-treatment apical periodontitis. *J Endod* 38(7):954-9, 2012.
169. Hong B-Y, Lee T-K, Lim S-M, Chang SW, Park J, Han SH, Zhu Q, Safavi KE, Fouad AF, Kum KY. Microbial analysis in primary and persistent endodontic infections by using pyrosequencing. *J Endod* 39(9):1136-40, 2013.
170. Nakajo K, Nakazawa F, Iwaku M, Hoshino E. Alkali-resistant bacteria in root canal systems. *Mol Oral Microbiol* 19(6):390-4, 2004.
171. Rodrigues RC, Antunes HS, Neves MA, Siqueira JF, Rôças IN. Infection control in retreatment cases: in vivo antibacterial effects of 2 instrumentation systems. *J Endod* 41(10):1600-5, 2015.
172. Siqueira Jr J, Rôças I. Diversity of endodontic microbiota revisited. *J. Dent. Res.* 88(11):969-81, 2009.
173. Siqueira J, Rôças I. Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: part 1 current molecular technologies for microbiological diagnosis. *J Endod* 31(6):411-23, 2005.

174. Fouad AF, Barry J. The effect of antibiotics and endodontic antimicrobials on the polymerase chain reaction. *J Endod* 31(7):510-3, 2005.
175. McCarty SC, Atlas RM. Effect of amplicon size on PCR detection of bacteria exposed to chlorine. *Genome Res* 3(3):181-5, 1993.
176. Schirrmester JF, Liebenow A-L, Braun G, Wittmer A, Hellwig E, Al-Ahmad A. Detection and eradication of microorganisms in root-filled teeth associated with periradicular lesions: an in vivo study. *J Endod* 33(5):536-40, 2007.
177. Zerella JA, Fouad AF, Spångberg LS. Effectiveness of a calcium hydroxide and chlorhexidine digluconate mixture as disinfectant during retreatment of failed endodontic cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 100(6):756-61, 2005.
178. 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. *Eur J Dent* 7(3):302, 2013.
179. Nair P, Henry S, Cano V, Vera J. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after “one-visit” endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 99(2):231-52, 2005.
180. Vera J, Siqueira JF, Ricucci D, Loghin S, Fernández N, Flores B, Cruz AG. One-versus two-visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a histobacteriologic study. *J Endod* 38(8):1040-52, 2012.
181. Alves FR, Almeida BM, Neves MA, Moreno JO, Rôças IN, Siqueira JF. Disinfecting oval-shaped root canals: effectiveness of different supplementary approaches. *J Endod* 37(4):496-501, 2011.
182. Huque J, Kota K, Yamaga M, Iwaku M, Hoshino E. Bacterial eradication from root dentine by ultrasonic irrigation with sodium hypochlorite. *Int Endod J* 31(4):242-50, 1998.
183. Tardivo D, Pommel L, La Scola B, About I, Camps J. Antibacterial efficiency of passive ultrasonic versus sonic irrigation. *Ultrasonic root canal irrigation. Odontostomatol Trop* 33(129):29, 2010.
184. Paiva SS, Siqueira JF, Rôças IN, Carmo FL, Ferreira DC, Curvelo JA, Soares RM, Rosado AS. Supplementing the antimicrobial effects of chemomechanical debridement with either passive ultrasonic irrigation or a final rinse with chlorhexidine: a clinical study. *J Endod* 38(9):1202-6, 2012.

185. Paiva SS, Siqueira JF, Rôças IN, Carmo FL, Leite DC, Ferreira DC, Rachid CT, Rosado AS. Molecular microbiological evaluation of passive ultrasonic activation as a supplementary disinfecting step: a clinical study. *J Endod* 39(2):190-4, 2013.
186. Gründling GL, Zechin JG, Jardim WM, de Oliveira SD, de Figueiredo JAP. Effect of ultrasonics on *Enterococcus faecalis* biofilm in a bovine tooth model. *J Endod* 37(8):1128-33, 2011.
187. Jiang L-M, Lak B, Eijsvogels LM, Wesselink P, van der Sluis LW. Comparison of the cleaning efficacy of different final irrigation techniques. *J Endod* 38(6):838-41, 2012.
188. Caron G, Nham K, Bronnec F, Machtou P. Effectiveness of different final irrigant activation protocols on smear layer removal in curved canals. *J Endod* 36(8):1361-6, 2010.
189. Parente J, Loushine R, Susin L, Gu L, Looney SW, Weller R, Weller RN, Pashley DH, Tay FR. Root canal debridement using manual dynamic agitation or the EndoVac for final irrigation in a closed system and an open system. *Int Endod J* 43(11):1001-12, 2010.
190. Bonsor S, Nichol R, Reid T, Pearson G. An alternative regimen for root canal disinfection. *Br Dent J* 201(2):101, 2006.
191. 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 Photodyn Ther* 11(2):171-81, 2014.
192. Bumb SS, Bhaskar DJ, Agali CR, Punia H, Gupta V, Singh V, Kadtane S1, Chandra S. Assessment of photodynamic therapy (PDT) in disinfection of deeper dentinal tubules in a root canal system: an in vitro study. *J Clin Diagn Res* 8(11):67-71, 2014.
193. Cheng X, Guan S, Lu H, Zhao C, Chen X, Li N, Bai Q, Tian Y, Yu Q. Evaluation of the bactericidal effect of Nd: YAG, Er: YAG, Er, Cr: YSGG laser radiation, and antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) in experimentally infected root canals. *Lasers Surg Med* 44(10):824-31, 2012.
194. Udart M, Stock K, Graser R, Hibst R. Inactivation of bacteria by high-power 940nm laser irradiation. *Med Laser Appl* 26(4):166-71, 2011.

195. Alfredo E, Marchesan M, Sousa-Neto M, Brugnera-Junior A, Silva-Sousa Y. Temperature variation at the external root surface during 980-nm diode laser irradiation in the root canal. *J Dent* 36(7):529-34, 2008.
196. Radaelli CM, Zezell D, Cai S, Antunes A, Gouw-Soares S, editors. Effect of a high power diode laser irradiation in root canals contaminated with *Enterococcus faecalis*. "In vitro" study. *Int Congr Ser* 1248:273-276, 2003.
197. Garcez AS, Nunez SC, Hamblin MR, Suzuki H, Ribeiro MS. Photodynamic therapy associated with conventional endodontic treatment in patients with antibiotic-resistant microflora: a preliminary report. *J Endod* 36(9):1463-6, 2010.
198. Bonsor S, Nichol R, Reid T, Pearson G. Microbiological evaluation of photo-activated disinfection in endodontics (an in vivo study). *Br Dent J* 200(6):337, 2006.
199. Ahangari Z, Bidabadi MM, Asnaashari M, Rahmati A, Tabatabaei FS. Comparison of the Antimicrobial Efficacy of Calcium Hydroxide and Photodynamic Therapy Against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* in Teeth With Periapical Lesions; An In Vivo Study. *J Lasers Med Sci* 8(2):72, 2017.
200. George S, Kishen A. Advanced noninvasive light-activated disinfection: assessment of cytotoxicity on fibroblast versus antimicrobial activity against *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 33(5):599-602, 2007.
201. Garcez AS, Núñez SC, Lage-Marques JL, Jorge AOC, Ribeiro MS. Efficiency of NaOCl and laser-assisted photosensitization on the reduction of *Enterococcus faecalis* in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 102(4):93-8, 2006.
202. Garcez AS, Nuñez SC, Hamblin MR, Ribeiro MS. Antimicrobial effects of photodynamic therapy on patients with necrotic pulps and periapical lesion. *J Endod* 34(2):138-42, 2008.
203. Asnaashari M, Ashraf H, Rahmati A, Amini N. A comparison between effect of photodynamic therapy by LED and calcium hydroxide therapy for root canal disinfection against *Enterococcus faecalis*: A randomized controlled trial. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 17:226-32, 2017.



204. Asnaashari M, Godiny M, Azari-Marhabi S, Tabatabaei FS, Barati M. Comparison of the Antibacterial Effect of 810 nm Diode Laser and Photodynamic Therapy in Reducing the Microbial Flora of Root Canal in Endodontic Retreatment in Patients With Periradicular Lesions. *J Lasers Med Sci* 7(2):99-104, 2016.
205. Souza LC, Brito PR, de Oliveira JCM, Alves FR, Moreira EJ, Sampaio-Filho HR, Rôças IN, Siqueira JF Jr. Photodynamic therapy with two different photosensitizers as a supplement to instrumentation/irrigation procedures in promoting intracanal reduction of *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 36(2):292-6, 2010.
206. 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. *Int Endod J* 46(5):449-57, 2013.
207. Ricucci D, Siqueira JF, Bate AL, Ford TRP. Histologic investigation of root canal-treated teeth with apical periodontitis: a retrospective study from twenty-four patients. *J Endod* 35(4):493-502, 2009.
208. Ricucci D, Loghin S, Siqueira JF. Exuberant biofilm infection in a lateral canal as the cause of short-term endodontic treatment failure: report of a case. *J Endod* 39(5):712-8, 2013.

## 8. EKLER

### Ek 1. Etik Kurul Onayı



**T.C.**  
**BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı**

**TOPLANTI TARİHİ** : 29/06/2016  
**TOPLANTI NO** : 2016/08

#### **KARARLAR :**

- 20- Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 2016-80-29/06 Protokol no'lu "Kök Kanal Tedavisi Yenilenen Dişlerde Kanal İçi Dezenfeksiyon Yöntemlerinin Enfekte Kök Kanallarındaki *Enterococcus faecalis* ve *Candida albicans* Sayılarındaki Azalmaya Etkisinin PCR Yöntemi ile İncelenmesi" konulu çalışmasının Etik Kurul İlkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verilmiştir.

**A S L I G İ B İ D İ R**

**Doç. Dr. Günnur ÖZBAKİŞ DENGİZ**  
**B.E.Ü. Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı**

## Ek 2. İntihal Raporu Beyan Formu

T.C.  
BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

### İNTİHAL RAPORU BEYAN FORMU

Endodonti Anabilim Dalı'nda yürütülen "Kök Kanal Tedavisi Yenilenen Dişlerde Kanal İçi Dezenfeksiyon Yöntemlerinin Enfekte Kök Kanallarındaki *Enterococcus Faecalis* ve *Candida Albicans* Sayılarındaki Azalmaya Etkisinin PCR Yöntemi ile İncelenmesi" başlıklı tez için akademik intihal engelleme programında yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdadır.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz. 29/11/17

Öğrenci Adı- Soyadı

Arş. Gör. Dt. Burcu BİLGİN

Danışman Adı-Soyadı

Doç. Dr. Sevinç AKTEMUR TÜRKER

**BENZERLİK ORANLARI: %13**

%13

### ÖZET

**Burcu BİLGİN, Kök Kanal Tedavisi Yenilenen Dişlerde Kanal İçi Dezenfeksiyon Yöntemlerinin Enfekte Kök Kanallarındaki *Enterococcus Faecalis* ve *Candida Albicans* Sayılarındaki Azalmaya Etkisinin PCR Yöntemi ile İncelenmesi, Bülent Ecevit Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Endodonti Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Zonguldak, 2017.**

**Amaç:** Bu *in vivo* çalışmanın amacı pasif ultrasonik irrigasyon, manuel dinamik irrigasyon ve fotodinamik terapi yöntemlerinin retreatment yapılan periapikal lezyonlu kanal tedavili dişlerdeki mikroorganizmaların uzaklaştırılmasındaki etkinliğini polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi kullanarak karşılaştırmaktır.

**Yöntem:** Kök kanal tedavisi yapılmış, apikal periodontitiisi asemptomatik 36 adet diş bu çalışma için seçildi. Dişler kullanılan ek dezenfeksiyon yöntemine göre üç gruba ayrıldı: Pasif ultrasonik irrigasyon (PUI) grubu, Manuel dinamik aktivasyon (MDA)

26	Hasan Kalyoncu Üniver... Öğrencü Yazılı Döneli	%<1
27	pt.eoribd.com İnternet Kaynağı	%<1
28	webftp.gazi.edu.tr İnternet Kaynağı	%<1
29	BULDUK, Bahattin and ... Yayın	%<1
30	Beşikent Üniversitesi'n... Öğrencü Yazılı Döneli	%<1
31	Issuu.com İnternet Kaynağı	%<1

## 9. ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında Almanya’da doğdu. 2006 yılında İzmit Mimar Sinan Lisesi’nde orta öğretimini tamamladı.

2007-2012 yılları arasında Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’nde yüksek lisansını tamamladı.

2013-2015 yılları arasında Derince Ağız ve Diş Sağlığı Merkezinde diş hekimi olarak çalıştı.

2015 yılında Güz Dönemi DUS (Diş Hekimliği Uzmanlık Sınavı)’unu kazanarak Bülent Ecevit Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı’nda uzmanlık eğitimini almaya başladı.

