



T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
ENDODONTİ ANABİLİM DALI

KTP LAZER İLE AKTİVE EDİLEN FARKLI İRRİGASYON
SOLÜSYONLARININ ANTİBİOFİLM ETKİSİ

DT. Zuhal ELMALI

UZMANLIK TEZİ

SİVAS

2016



T.C.

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
ENDODONTİ ANABİLİM DALI

KTP LAZER İLE AKTİVE EDİLEN FARKLI İRRİGASYON
SOLÜSYONLARININ ANTİBİOFİLM ETKİSİ

DT. Zuhal ELMALI

UZMANLIK TEZİ

Yrd. Doç. Dr. Recai ZAN

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ

SİVAS

2016

KTP İlaçları ile Aktive Edilken Farklı İncirgenin Solisyonlarının Antibiyotik Etkisi
adlı **Uzmanlık** Tezi, jürimiz tarafından Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği
Fakültesi**ENDODONTİ**..... Anabilim Dalında **Uzmanlık** tezi olarak
kabul edilmiştir.

AD SOYAD

İMZA

Başkan Prof. Dr. Sema Yıldırım

Üye Yrd. Doç. Dr. Recai Zor

Üye Doç. Dr. KEREM ENHİN AKPINAR



ONAY

Bu tez çalışması, ...19.09.2016. tarihinde Fakülte Yönetim Kurulu
tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul
edilmiştir.

Prof. Dr.İhsan Hubbozoğlu
DIŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

DEKANI



TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimime başladığım günden bugüne, desteğini ve hoşgörüsünü hiçbir zaman benden esirgemeyen, bilgi, tecrübe ve klinik deneyimlerinden yararlandığım, tez çalışmalarım sırasında fikirleri ile her zaman bana yol gösteren, değerli danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Recai ZAN'a,

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmalarım süresince, değerli bilgileriyle her konuda bana yol gösteren, yardım, destek ve deneyimlerini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam Sayın Doç. Dr. Kerem Engin AKPINAR'a,

Eğitimim ve tez çalışmalarım süresince ilgisini ve desteğini daima hissettiğim, mesleki bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Demet ALTUNBAŞ'a,

Tez çalışmalarım süresince deneyim ve tecrübeleriyle her zaman destek aldığım değerli hocam Prof. Dr. İhsan HUBBEZOĞLU'na,

Tez çalışmamın mikrobiyolojik kısımlarında yanımda olan veyardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Tutku TUNÇ'a,

Tanımaktan ve birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum arkadaşım Dt. Gizem KUTLU'ya

Yoğun çalışma tempomuzda gösterdikleri yardımlarıyla her zaman sevgiyle hatırlayacağım C.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti ailesine,

Sonsuz emek ve sevgileri ile beni bugünlere getiren, maddi ve manevi destekleriyle hep yanımda hissettiğim çok sevdiğim aileme,

Sevgisi ve anlayışı ile her zaman yanımda olan, varlığıyla güçlendiğim eşim Dt. Oğuzhan Mehmet ELMALI'ya

Tüm kalbimle teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

KTP LAZER İLE AKTİVE EDİLEN FARKLI İRRİGASYON SOLÜSYONLARININ ANTİBİOFİLM ETKİSİ

Dt. Zuhal ELMALI

Endodonti Anabilim Dalı

Sivas

2016

Bu çalışmanın amacı, KTP ile aktive edilen irrigasyon solüsyonlarının kök kanal içerisinde oluşturulan *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) biyofilmleri üzerine antimikrobiyal etkinliklerinin taramalı elektron mikroskopu ile *in vitro* değerlendirmesidir.

Bu çalışmada 120 tek kök tek kanallı daimi mandibular küçük azı insan dişleri kullanıldı. Dişlerin sterilizasyon ve dezenfeksiyon işlemleri yapıldı. *E. faecalis* biyofilmleri prepare edilen kök kanallarının içerisinde 4 hafta boyunca uygulanan re-inokülasyon prosedürleri ile elde edildi. Dört haftanın sonunda her grup 20 kökten oluşan 6 gruba ayrıldı ve farklı irrigasyon protokolleri uygulandı. Bu gruplar sırasıyla;

Grup 1, NaOCl (pozitif kontrol) grubu: *E. faecalis* biyofilmi ile kontamine edilen kök kanalları KTP lazer ile aktive edilen %5,25'lik NaOCl solüsyonu ile irrije edildi.

Grup 2, Serum fizyolojik (negatif kontrol) grubu: *E. faecalis* biyofilmi ile kontamine edilen kök kanalları KTP lazer ile aktive edilen serum fizyolojik solüsyonu ile irrije edildi.

Grup 3: *E. faecalis* biyofilmi ile kontamine edilen kök kanalları KTP lazer ile aktive edilen süper okside su solüsyonu ile irrije edildi.

Grup 4: *E. faecalis* biyofilmi ile kontamine edilen kök kanalları KTP lazer ile aktive edilen 8ppm konsantrasyonundaki ozonlu su solüsyonu ile irrije edildi.

Grup 5: *E. faecalis* biyofilmi ile kontamine edilen kök kanalları KTP lazer ile aktive edilen %2'lik CHX solüsyonu ile irrije edildi.

Grup 6: *E. faecalis* biyofilmi ile kontamine edilen kök kanalları KTP lazer ile aktive edilen %17'lik EDTA solüsyonu ile irrije edildi.

Kök kanallarından, dezenfeksiyon uygulamalarının öncesi ve sonrası şeklinde ikiye ayrılmış olan katı besiyerine mikroorganizma koloni sayılarını incelemek için yayma

ekim yapıldı ve veriler istatistiksel olarak değerlendirildi. İstatistiksel değerlendirmede tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanıldı. İşlem öncesi ve sonrasında biyofilm varlığını ve biyofilm eliminasyonunu taramalı elektron mikroskopunda incelemek amacıyla örnek olarak kullanılacak kökler hazırlandı ve elde edilen standart görüntüler üzerinde biyofilmlerin kapladığı yüzey alanları incelendi.

Tüm çalışma grupları arasında yapılan istatistiksel karşılaştırma sonuçlarına göre, pozitif kontrol grubu olarak kullanılan NaOCl grubu en yüksek miktarda bakteri eliminasyonunu sağlarken, en düşük bakteri eliminasyonu negatif kontrol grubu olarak kullanılan serum fizyolojik grubunda görülmüştür ($p<0,05$).

Deney gruplarından hiçbiri kök kanallarındaki *E. faecalis* biyofilmini tamamen elimine etmede başarılı olamamıştır. Antibiyofilm etkinlik açısından en güçlü etkiyi gösterensüper okside su ile ozonlu su grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaz iken ($p>0,05$); en düşük antibiyofilm etkiyi EDTA grubu göstermiştir ($p<0,05$).

Anahtar kelimeler: biyofilm, lazer ile aktive edilen irrigasyon, *E. faecalis*, KTP lazer, kök kanal dezenfeksiyonu

ABSTRACT
ANTIBIOFILM EFFECT OF DIFFERENT IRRIGATION SOLUTIONS
ACTIVATED WITH KTP LASER

Dt. Zuhal ELMALI

Department of Endodontics

Sivas

2016

The aim of this study was to evaluate the antimicrobial efficacy of KTP laser activated irrigation solutions on intraradicular *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) biofilms *in vitro* conditions by using scanning electron microscope.

In this study 120 freshly extracted, single-rooted single canal human mandibular permanent premolar teeth were used. Sterilization and disinfection of the teeth was performed.

Enterococcus faecalis biofilms were obtained into the prepared root canals in 4 weeks with the re-inoculation procedures. At the end of the 4 weeks the roots were divided into 6 groups of twenty and were treated with different irrigation protocols. These groups are;

Group 1, NaOCl (positive control) group: Root canals which contaminated with *E. faecalis* biofilm were irrigated with %5,25 NaOCl that activated with KTP laser.

Group 2, Saline (negative control) group: Root canals which contaminated with *E. faecalis* biofilm were irrigated with saline that activated with KTP laser.

Group 3: Root canals which contaminated with *E. faecalis* biofilm were irrigated with super oxidized water that activated with KTP laser.

Group 4: Root canals which contaminated with *E. faecalis* biofilm were irrigated with intensity 8 ppm ozonated water that activated with KTP laser.

Group 5: Root canals which contaminated with *E. faecalis* biofilm were irrigated with %2 CHX that activated with KTP laser.

Group 6: Root canals which contaminated with *E. faecalis* biofilm were irrigated with %17 EDTA that activated with KTP laser.

It was smear-planted to solid medium which split as before and after the disinfection applications for counting microorganism colonies from root canals and data were evaluated statistically. In this statistical evaluation one way ANOVA and Tukey tests were used. Before and after the irrigation procedures to presence and elimination of biofilm the root halves were processed for scanning electron microscopy and on the standard images biofilm coverage were examined.

While NaOCl ensure the highest amount of elimination as positive control group, the lowest amount of bacterial elimination was detected in saline group that applied as a negative control group according to statistical comparison of all groups ($P < 0,05$).

None of experimental group was achieved the whole elimination of *E. faecalis* biofilm. Although there was no statistical significant difference between super oxidized water and aqueous ozone groups that indicated the strongest antibiofilm effect ($P > 0,05$), EDTA showed the lowest antibiofilm effect ($P < 0,05$).

Keywords: biofilm, laser activated irrigation, *E. faecalis*, KTP laser, root canal disinfection

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|-----|
| TEŞEKKÜR..... | iii |
| ÖZET..... | iv |
| ABSTRACT..... | vi |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ..... | x |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | xi |
| TABLolar DİZİNİ..... | xii |
| 1.GİRİŞ | 1 |
| 2.GENEL BİLGİLER | 2 |
| 2.1. Endodontide İrrigasyon | 2 |
| 2.1.1. Sodyum Hipoklorit (NaOCl)..... | 3 |
| 2.1.2. Etilen diamin tetraasetik asit (EDTA)..... | 5 |
| 2.1.3. Klorheksidin Glukonat (CHX) | 6 |
| 2.1.4. Ozon | 7 |
| 2.1.5. Ozonun Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi | 8 |
| 2.1.6. Ozonlu Su | 8 |
| 2.1.7. Süper Okside Su(SPO) | 9 |
| 2.2. Biyofilm..... | 10 |
| 2.2.1. Biyofilm Oluşumunun Evreleri | 10 |
| 2.2.2. Quorum sensing mekanizmaları | 11 |
| 2.2.3. Biyofilmin antimikrobiyal ajanlara karşı direnci | 11 |
| 2.2.4 Kök kanalında biyofilm formasyonu..... | 12 |
| 2.3. Enterococcus Faecalis | 13 |
| 2.4. Lazerin tanımı..... | 15 |
| 2.4.1.Diş Hekimliğinde Kullanılan Lazer Tipleri..... | 15 |
| 3.GEREÇ VE YÖNTEM | 18 |

| | |
|--|----|
| 3.1. Örneklerin Seçimi ve Hazırlanması..... | 18 |
| 3.2. Mikrobiyolojik İşlemler..... | 19 |
| 3.3. Deney grupları ve çalışma dizaynı | 21 |
| 3.4. Mikrobiyolojik sayım ve SEM incelenmesi | 23 |
| 4.BULGULAR..... | 24 |
| 5.TARTIŞMA | 32 |
| 6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER | 44 |
| KAYNAKLAR | 46 |
| ÖZGEÇMİŞ | 65 |

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|---------------------------|------------------------------------|
| BHI | : Brain Heart İnfusion |
| CFU | : Colony Forming Unit |
| CHX | : Klorhexidin Glukonat |
| Dak | :Dakika |
| EDTA | :Etilen Diamin Tetraasetik asit |
| <i>E. faecalis</i> | :Enterococcus Faecalis |
| KLTM | : Konfokal Lazer Tarama Mikroskobu |
| KTP | : Potasyum titanyum fosfat |
| ml | : mililitre |
| NaOCl | : Sodyum hipoklorit |
| O₃ | :Ozon gazı |
| ppm | :Parts Per Million |
| Sa | : Saat |
| SEM | : Taramalı Elektron Mikroskobu |
| SF | : Serum Fizyolojik |
| sn | : Saniye |
| SPO | : Süper Okside Su |
| °C | : Santigrat Derece |
| % | : Yüzde |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|--|----|
| Şekil 2.1: Moleküler oksijenin ozon molekülüne dönüşümü | 7 |
| Şekil 3.1: Dört hafta sonunda kök kanalından elde edilen <i>Enterococcus faecalis</i> biyofilmlerinin 10.000x büyütmedeki SEM görüntüleri | 21 |
| Şekil 3.2: Ozonlu su jeneratörü..... | 23 |
| Şekil 3.3: Ozonlu su reaktör tankı | 23 |
| Şekil 4.1: KTP lazerin NaOCl irrigasyon solüsyonunu aktive etmesi sonucu <i>E. faecalis</i> biyofilmini tamamen elimine ettiği 10.000x büyütmedeki SEM görüntüleri .. | 27 |
| Şekil 4.2: KTP lazerin SF irrigasyon solüsyonunu aktive etmesi sonucu <i>E. faecalis</i> biyofilmini elimine etmede 10.000x büyütmedeki SEM görüntüleri..... | 27 |
| Şekil 4.3: KTP lazerin SPO irrigasyon solüsyonunu aktive etmesi sonucu <i>E. faecalis</i> biyofilmini elimine etmede 10.000x büyütmedeki SEM görüntüleri..... | 28 |
| Şekil 4.4: KTP lazerin ozonlu su irrigasyon solüsyonunu aktive etmesi sonucu <i>E. faecalis</i> biyofilmini elimine etmede 10.000x büyütmedeki SEM görüntüleri..... | 28 |
| Şekil 4.5: KTP lazerin CHX irrigasyon solüsyonunu aktive etmesi sonucu <i>E. faecalis</i> biyofilmini elimine etmede 10.000x büyütmedeki SEM görüntüleri..... | 29 |
| Şekil 4.6: KTP lazerin EDTA irrigasyon solüsyonunu aktive etmesi sonucu <i>E. faecalis</i> biyofilmini elimine etmede 10.000x büyütmedeki SEM görüntüleri..... | 29 |
| Şekil 4.7: <i>E. faecalis</i> biyofilmi ile enfekte edilen örneklerde işlem öncesi ve sonrasında kök kanallarından izole edilen bakterilerin kanlı agar besiyerindeki görüntüsü | 30 |

TABLÖLAR DİZİNİ

- Tablo 4.1:** *E. faecalis* ile enfekte edilen örneklerde, dezenfektan ajanlarının işlem öncesi (İ.Ö) ve sonrası (İ.S) gözlenen mikroorganizma CFU sayıları (10^8 CFU/ml).
..... 25
- Tablo 4.2:** *E. faecalis* grubuna ait uygulama sonrası elde edilen log CFU sayım değerlerine ait veriler ile gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar 26



1.GİRİŞ

Kök kanal sisteminin dentin tübülleri alanında ve foramen apikale çevresinde dirençli mikroorganizmaların yok edilmesi günümüz endodontik tedavi protokollerinde temel sorundur. Endodontik tedavinin temel amaçlarından biri, apikal periodontitisin etkeni olan mikroorganizmaların enfekte kök kanal sisteminden elimine edilmesidir (1).

Dirençli veya sekonder enfeksiyonlarda en sık görülen bakteri türü *E.faecalis*'dir. *E. faecalis*'in daha önce kanal tedavisi uygulanmamış dişlerde hiç izole edilmemiş veya düşük düzeyde izole edilmiş olması, bu bakteri türünün kök kanal tedavisinde başarısızlıklara neden olan temel bakteri türlerinden biri olduğunu kanıtlar (2, 3).

Kök kanallarının şekillendirilmesi ve temizlenmesi işleminin başarılı bir şekilde gerçekleştirilmesinde; kök kanalındaki vital ve nekrotik pulpa dokusu, etkilenmiş dentin dokusu ve diğer artıkların tamamen uzaklaştırılmasının, kök kanal boşluğunun dezenfeksiyonunun sağlanmasının oldukça önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir (4). Bu nedenle endodontide yeni antimikrobiyal stratejilerin geliştirilmesi çabaları devam etmektedir.

Endodontide lazer kullanımı kök kanal tedavisinin başarı yüzdesini arttırmaktadır. Lazer ışınları, endodontide debris ve smear tabakasını kaldırabilme, dentin dokusuna daha fazla penetre olarak kök kanal sisteminin karmaşık yapısının içerisinde ulaşılamayan bölgelere geleneksel yöntemlerden daha fazla ulaşılmasını sağlayabilme, antimikrobiyal etkinlik göstererek kök kanal sisteminde geleneksel yöntemlerle yapılan kemomekanik preparasyonun dezavantajlarını elimine edebilme amacı ile kullanılmaktadır (5, 6). Lazerlerin kök dentin tübüllerinin ulaşılamayan noktalarına ulaşım, 1000 µm'den daha fazla derinliğe ilerleyerek spesifik antibakteriyel etki göstermeleri ile derin tabakalardaki mikroorganizmaların tamamının elimine edilebilmesini sağlayarak bu olumsuz faktörleri ortadan kaldırdığı ileri sürülmektedir (7).

Tüm bu bilgilerin ışığı altında, bu çalışmanın amacı potasyum titanyum fosfat (KTP) lazer aktivasyonu ile uygulanan farklı irrigasyon solüsyonlarının, kök kanal içerisinde oluşturulan *E. faecalis* biyofilm tabakası üzerine antimikrobiyal etkinliklerinin taramalı elektron mikroskopu ile *in vitro* olarak değerlendirilmesidir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Endodontide İrrigasyon

Apikal periodontitisin gelişiminde mikroorganizmalar kritik bir öneme sahip olduğundan, modern endodontik tedavinin temel amaçlarından biri kök kanal dolgusundan önce enfekte kök kanallarından mikroorganizmaların eliminasyonudur. Bu amaçla, kök kanal sistemi el ve döner sistemlerle şekillendirilirken, irrigasyon ile inflame ve nekrotik dokular, mikroorganizmalar, biyofilmler ve debrisler uzaklaştırılmaya çalışılmaktadır (8).

Kök kanal tedavisinde irrigasyon işleminin sağladığı yararlar şu şekilde sıralanabilir (9):

- ✓ Enfekte materyal, yumuşak ve sert doku artıkları fiziksel ve kimyasal olarak uzaklaştırılır. İrrigasyon solüsyonları organik debrisleri uzaklaştırarak mikroorganizmaların beslenmelerini güçleştirmekte ve böylece sayı ve türlerini azaltmaktadır.
- ✓ Kök kanal sistemindeki artık organik materyal çözünmektedir. Kök kanallarının mekanik preparasyonlarında ulaşılamayan kanal ayrıntıları seçilen materyal ve yonteme bağlı olarak bir ölçüde temizlenebilmektedir.
- ✓ Kanal aletlerinin lubrikasyonla çalışmaları kolaylaştırılmaktadır ve oluşabilecek işlemsel hatalar azalmaktadır.
- ✓ Bazı solüsyonlar antimikrobiyal etki göstererek mikroorganizmaları öldürmektedir.
- ✓ Bazı sıvılar smear tabakasını uzaklaştırabilmekte, böylece dezenfektanların dentin kanalcıkları içerisine yayılmaları kolaylaşmaktadır.
- ✓ Kanallardaki işlemler irrigasyon solüsyonuyla dolu bir ortamda gerçekleştirildiğinde dentin talaşları pulpa odasına doğru yükselir. Talaşların apikal bölümde birikmesi ve tıkanmaoluşturması olasılığı azalır.
- ✓ İrrigasyon solüsyonlarının dişleri ağartma özellikleri vardır. Bu özellik kanal tedavisinden sonra dişlerin doğal renklerini yitirmelerini önemli ölçüde engeller.

Bu şartların sağlanabilmesi için kullanılacak ideal bir irrigasyon solüsyonunda bulunması gereken özellikler ise şu şekilde sıralanabilir (9, 10):

- ✓ Kök kanalındaki artık organik ve inorganik doku ve debrisleri eritebilmelidir.
- ✓ Dişin çevre dokularına antijenik, toksik ve karsinojenik etki göstermemelidir.

- ✓ Düşük yüzey gerilimi göstererek mekanik preparasyonla ulaşılamayan kök kanal yüzeylerine etki edebilmelidir.
- ✓ Lubrikasyon özelliği ile kanal aletlerinin kanalda rahat çalışmasını sağlamalıdır.
- ✓ Mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etki gösterebilmeli ve bu özelliğini kullanım sonrası kök kanallarında bir süre daha devam ettirebilmelidir.
- ✓ Endotoksinleri etkisiz hale getirebilmelidir.
- ✓ Smear tabakasını kaldırabilmeli, dentin dokusuna olumsuz etkisi olmamalıdır.
- ✓ Kanalda kolay nötralize olmamalıdır.
- ✓ Kanal dolgu maddesine olumsuz etkisi olmamalıdır.
- ✓ Daimi restorasyonların pulpa odası duvarına bağlanma kuvvetine olumsuz etkisi olmamalıdır.
- ✓ Dişin rengini değiştirmemelidir.
- ✓ Kolay elde edilebilmeli, uygulanması kolay olmalıdır.
- ✓ Maliyeti düşük, raf ömrü uzun olmalıdır.
- ✓ Kolay saklanabilmelidir.

Bugüne kadar kullanılan irrigasyon solüsyonları arasında asitler, şelasyon ajanları, proteolitik enzimler, alkalin solüsyonlar, oksitleyici ajanlar gibi kimyasal maddeler sayılabilir. Sodyum hipoklorit (NaOCl), etilen diamin tetraasetik asit (EDTA) ve klorheksidin glukonat (CHX) günümüzde en sık kullanılan irrigasyon solüsyonları arasındadır. Ozonlu su ve süper okside su (SPO) ise son zamanlarda endodontik irrigasyon solüsyonu olarak kullanılması önerilen diğer antimikrobiyal ajanlardır.

2.1.1. Sodyum Hipoklorit (NaOCl)

NaOCl'in endodontide kullanımı ilk defa 1936 yılında Walker tarafından önerilmiştir. NaOCl günümüzde irrigasyon solüsyonu olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Kemomekanik preparasyon esnasında organik artıklara karşı çözücü etki göstermesi, antiseptik olması, düşük yüzey gerilimi ile dentin duvarlarına kolayca diffüze olabilmesi, kolay elde edilebilmesi ve ucuz olması nedenleriyle çok fazla tercih edilen bir irrigasyon solüsyonudur(9).

NaOCl, suda sodyum (Na⁺) ve hipoklorit (OCl⁻) iyonlarına ayrışır, hipoklorik asit (HOCl) oluşturarak denge sağlar. Asidik ve nötral pH'da klor, hipoklorik asit (HOCl) formunda iken, pH 9 ve üzerindeyken hipoklorit iyonu (OCl⁻) halindedir. NaOCl'in

pH'sı, tamponlanmadığı zaman yaklaşık 11-12'dir. NaOCl çoğunlukla %0,5 ve %6 arasında değişen konsantrasyonlarda kullanılmaktadır (11).

NaOCl'in antibakteriyel etkinliğini açıklayan iki temel görüş vardır; ilk görüşe göre solüsyonun dezenfektan etkinliği, içerisindeki tepkimeye girmemiş hipoklorik asit (HOCl) miktarına bağlıdır. Hipoklorik asit bakteri enzimlerinin sülfidril gruplarında irreversibl oksidasyona neden olarak hücrenin metabolik fonksiyonlarını bozmakta ve böylece hayati enzimleri inhibisyona uğrayan bakteriler ölmektedir. İkinci görüşe göre ise solüsyonun antibakteriyel etkinliği, hücre proteinlerini hidrolize ve okside etmesi yeteneğinin yanı sıra hipertonicliğinden dolayı bir miktar hücre içi sıvının osmotik olarak hücre dışına çıkmasına bağlıdır (11).

NaOCl'in organik dokular üzerindeki etkisi, hipokloröz aside bağlıdır. Hipokloröz asit insolübl proteinlerle reaksiyona girerek, solübl yapıda polipeptid, amino asit ve diğer yan ürünlerin oluşumunu sağlayarak etkisini göstermektedir (11).

NaOCl geniş spektrumlu bir antimikrobiyal ajandır. Bakterilere, sporlara, bakteriofajlara, mantarlara ve virüslere karşı etkili olduğu bilinmektedir. Bazı *in vitro* çalışmalarda NaOCl'in çok düşük konsantrasyonlarda bile saniyeler içerisinde mikroorganizmaları öldürebildiği gösterilirken (12) bazılarında ise aynı mikroorganizmaların öldürülmesi için daha uzun zaman gerektiği bildirilmiştir (13). Sonuçlar arasındaki farklılıkların deney koşullarından kaynaklandığı düşünülmektedir (14).

NaOCl'in dezavantajları ise smear tabakasını tek başına uzaklaştırabilmesi, periapikal dokulara taşırıldığı zaman toksik etki göstermesi, kötü bir tada ve kokuya sahip olmasıdır. Kök kanal sisteminin karmaşık anatomik yapıda olması, *in vivo* koşullarda inflamatuvar eksuda, doku artıkları ve mikrobiyal toplulukların varlığı NaOCl'in etkinliğini azaltmaktadır (15). Ancak, birçok *in vitro* çalışmada NaOCl'in mikroorganizmaların biyofilm formlarını elimine etmede en etkili irrigasyon solüsyonu olduğu tespit edilmiştir (16, 17).

In vitro bir çalışmada %1, %2,5 ve %5,25 konsantrasyonlardaki NaOCl solüsyonunun *E. faecalis* üzerindeki antibakteriyel etkinliği karşılaştırılmış; enfekte kök kanalında kullanılan üç ayrı NaOCl konsantrasyonunun antibakteriyel etkinliği arasında bir fark olmadığı ancak irrigasyon solüsyonunun konsantrasyonu arttıkça antibakteriyel etki hızının arttığı söylenmiştir (18). Yapılan bir başka çalışmada ise çeşitli konsantrasyonlardaki NaOCl'in *E. faecalis* üzerine etkisine bakılmış ve bakterinin

%5,25'lik NaOCl ile 30 saniyede, %2,5' lik NaOCl ile 10 dakikada ve %0,5' lik NaOCl ile 30 dakikada öldürüldüğü belirtilmiştir (12). Yapılan farklı bir *in vitro* çalışmada da, %0,5, %2,5 ve %5,25 olmak üzere NaOCl'nin üç farklı konsantrasyonunun *E. feacalis* üzerine antibakteriyel etkinliğine bakılmış ve en etkili konsantrasyonun %5,25 olduğu tespit edilmiştir (19).

Literatürde çeşitli lazer tipleri kullanılarak, lazerlerin kök kanalındaki antimikrobiyal etkinlikleri *in vitro* olarak incelenmiştir. NaOCl kullanılarak yapılan konvansiyonel irrigasyonun dentin tübüllerinde ancak 200 ile 300 µm derinliğe kadar ulaşabildiği (20); lazerlerin ise dentin tübüllerinde 1 mm'ye kadar antimikrobiyal etkinlik gösterebildiği savunulmuştur (21).

2.1.2. Etilen diamin tetraasetik asit (EDTA)

Şelasyon ajanları kalsiyum gibi toprak alkali metallere yüksek derece ilgi gösteren zayıf asitlerdir. Bu nedenle kök dentininde bulunan Ca⁺⁺ ile birleşerek eriyen tuzlar meydana getirirler ve böylece dentin duvarlarının yumuşamasını sağlarlar.

Endodontide en yaygın olarak kullanılan ve incelenen şelasyon ajanı Etilen diamin tetraasetik asit (EDTA)'dır. EDTA kök kanal tedavisi esnasında ilk olarak Nygaard-Ostby (1957) tarafından kullanılmıştır. %10 veya %15'lik EDTA'nın canlı dokularda çok az veya hiç irritasyon oluşturmadığı bildirilmiştir (9).

EDTA'nın, kök kanal dentinindeki kalsiyum iyonları ile oluşturduğu şelasyon özelliği sayesinde dentinin inorganik yapısını uzaklaştıracağı ve bu etkileşimin sonucu olarak da kök kanalının şekillendirilmesi sırasında daha az dirençle karşılaşılacağı, böylelikle temizlemenin kolaylaşacağı düşünülmüştür (9). EDTA ilk başlarda yalnızca dar kanalları genişletmek amacı ile kullanılırken, smear tabakasının varlığından haberdar olunmasından sonra bu tabakanın uzaklaştırılması amacı ile de kullanılmaya başlanmıştır (22).

EDTA kök kanallarında genellikle %17'lik konsantrasyonda kullanılır. Bu konsantrasyonda 50 µm kalınlığındaki kök kanal duvarını dekalsifiye edebilmektedir. Karşılıklı iki kanal duvarında elde edilen 100 µm kalınlığında bir dekalsifikasyon 10 numaralı kanal eğerine eşdeğer bir sonuç çıkarmaktadır (23).

EDTA'nın sınırlı da olsa belli bir antibakteriyel aktivitesi vardır. Fakat EDTA'nın antibakteriyel etkisinin bakteri ile uzun süre direkt teması sonucu meydana geldiği ve EDTA'nın bu etkisinin bakterilerin hücre duvarındaki katyonların şelasyonu nedeniyle olduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda EDTA veya sitrik asit kullanılarak smear

tabakasının uzaklaştırılmasıyla dentinin derin tabakalarında kullanılan lokal antiseptiklerin etkisinin arttığı da gösterilmiştir (24).

Diffüzyon testi kullanarak yapılan bir çalışmada EDTA'nın siyah pigmentli bazı anaerob ve *E. faecalis* gibi bazı fakültatif bakterilere karşı antibakteriyel etkinliğinin olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada EDTA'nın antibakteriyel etkisinin esas olarak kontamine smear tabakasının kaldırılması ile ilgili olduğu da ileri sürülmüştür (25).

NaOCl çok kullanılan bir endodontik irrigant olmasına rağmen inorganik dentin parçalarını çözemediği için kök kanalının şekillendirilmesi sırasında oluşan smear tabakasını tek başına ortadan kaldıramamaktadır (26). NaOCl smear tabakasının kaldırılmasında sıklıkla EDTA veya sitrik asit gibi inorganik doku çözme özelliğine sahip materyallerle kombine kullanılmaktadır (27). Ancak hem sitrik asit hem de EDTA'nın, NaOCl solüsyonundaki klorini azalttığı ve böylece NaOCl'in nekrotik dokular ve bakteriler üzerinde etkisizleştiği bildirilmiş, bu yüzden de sitrik asit veya EDTA'nın hiçbir zaman NaOCl ile karıştırılmaması gerektiği ileri sürülmüştür (28).

CHX ile EDTA arasındaki etkileşimin araştırıldığı bir başka çalışmada bu iki materyalin bir araya gelmesi sonucu beyaz bir tortu oluştuğu bildirilmiş ve bu oluşan beyaz tortunun bir kimyasal reaksiyon sonucu değil CHX'in EDTA ile tuz oluşturmasına bağlı olarak oluştuğu ileri sürülmüştür (29).

2.1.3. Klorheksidin Glukonat (CHX)

CHX, 2 tane simetrik 4-klorofenil halkası ve 2 tane biguanid grubunun ortada heksametilen zinciri ile bağlanmasıyla oluşan, sentetik katyonik bis-guanittir. CHX pozitif yüklü hidrofobik ve lipofilik bir madde olup bakterilerin hücre zarındaki fosfolipid ve lipopolisakkaritlerle etkileşerek aktif veya pasif transport mekanizmaları ile hücre içine girer. Pozitif yüklü klorheksidin glukonat molekülü ile mikroorganizmaların hücre duvarındaki negatif yüklü fosfat gruplarının etkileşimi sonucu hücrelerin ozmotik dengesi değişir (30).

CHX molekülü gram (-) ve gram (+) organizmalara, mantarlar, fakültatif anaerob ve aeroblar, bakteriyel sporlar, lipofilik virüsler ve dermatofitlere karşı oldukça aktiftir (31). CHX solüsyonunun antibakteriyel etkinliğinde birçok mekanizma rol oynamaktadır. CHX bakteriler üzerindeki negatif alanlara elektrostatik olarak bağlanmaktadır. Bakterilerin sitoplazmik membranlarına tutunarak osmotik dengenin bozulmasına ve sonuç olarak hücre içi komponentlerin hücre dışına sızmasına neden olmaktadır. Düşük konsantrasyonlarda CHX, fosfor gibi düşük molekül ağırlıklı maddelerin hücre dışına çıkması sonucu bakteriostatik etki, yüksek konsantrasyonlarda ise proteinin çapraz bağı sonucu

sitoplazmanın koagülasyonu nedeniyle bakterisid etki gösterir. CHX'in bu etkisinin, yavaş salınmasından dolayı bakteristatik etkisinden daha az önemli olduğu düşünülmektedir (32, 33).

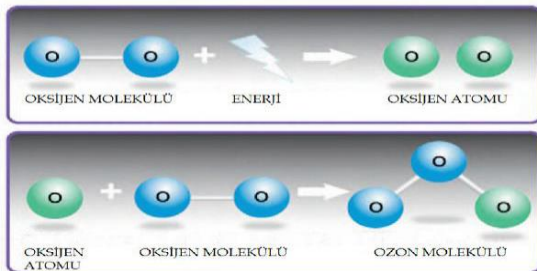
CHX'in en önemli özelliği substantivitesinin olması yani sert dokulara bağlanarak antimikrobiyal etkisini uzun süre devam ettirmesidir (34). Bu özelliği nedeniyle kemomekanik preparasyonu takiben son yıkamanın CHX ile yapılması önerilmektedir (35). Ancak diğer irrigasyon solüsyonlarında olduğu gibi etkinliği pH'sına bağlı olup organik maddelerin varlığında azalma gösterir. En büyük dezavantajı organik doku çözücü etkisinin olmamasıdır (36).

Planktonik mikroorganizmalar üzerinde yapılan çalışmaların bir kısmında NaOCl ile CHX arasında antimikrobiyal etkinlik açısından belirgin bir fark gözlenmezken, bir kısmında ise CHX, NaOCl'den daha etkili bulunmuştur (12, 37). Ancak CHX, mikroorganizmaların biyofilm formlarının eliminasyonunda NaOCl'e göre daha az etkili bulunmuştur (16, 38).

2.1.4. Ozon

O₃ atmosferin özellikle üst tabakalarında oldukça bol bulunan bir moleküldür (39). Oda sıcaklığında açık mavi renkli bir gaz olarak bulunur. Havadaki konsantrasyonu 2 milyonda bir (ppm) iken kendine has bir kokusu vardır (40). O₃, molekül ağırlığı 47,98 g/mol olan üç atomlu, endotermik ve termodinamik olarak oldukça kararsız bir oksijen bileşiğidir. Kısa yarılanma ömrü ile basınç ve ısı gibi çevre koşullarına bağlı olarak kısa süre içinde moleküler oksijenden atomik oksijene dönüşür. Ozonun suda ayrışma işleminde ikinci oksidan olarak oluşan hidroksil (OH) molekülü; ayrışmayı hızlandırır (41). Üç oksijen molekülü, 68,4 Kilokalori (Kcal) enerji ile iki ozon molekülünü meydana getirir (39). Ozon oluşumunu gösteren tepkime Şekil 2.1'de gösterilmektedir.

Tepkime Formülü: $3O_2 + 68,4 \text{ Kcal} \rightarrow 2O_3$



Şekil 2.1: Moleküler oksijenin ozon molekülüne dönüşümü (42)

2.1.5. Ozonun Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi

Ozonun sıvı ve gaz formları; bakteri, virüs, protozoa ve mantarlara karşı güçlü okside edici etkilerinden dolayı güvenilir mikrobisit ajanlar olarak kullanılmaktadır (43). Ozon, geniş bir antimikrobiyal yelpazeye sahiptir (44). Dezenfeksiyon etkisini; mikroorganizmaları parçalayarak, nötralize ederek ya da büyümelerini engelleyerek gösterir (45). Ozon; işlem görmemiş sudaki bakterileri, hücre membranlarını yırtarak 2 sn içerisinde hızlı bir şekilde öldürür. Hücrelerde meydana gelen lizis olayı ozonun konsantrasyonuna bağlıdır. Ozon, hücrelerin lizise uğramasına aracılık eder. Sitoplazmik içerik okside edilir ve daha sonra 254 µm dalga boyundaki UV ışın ile yok edilir (46). Günümüz çalışmaları, mikroorganizmaların ozon üreten antikorlar tarafından tamamen parçalanabildiklerini göstermektedir (47). Ozon, tüm mikroorganizmalara karşı aynı güce sahip değildir. Özgün bakterilere karşı gösterdiği etki genel bakteri suşlarından farklıdır. Örnek olarak; enterovirüsler, HIV, HAV ve rotavirüsler; poliomiyelit ve koksaki virüslere kıyasla ozona karşı daha hassastır (48). Ozonun temel antiviral aktivitesi, virüs kapsidini değiştirip viral DNA' nın geri dönüşümsüz olarak yıkılmasıdır (49). Ozon, 1°C' de 1 g/m³ H₂O konsantrasyonunda koliform bakterileri, *Staphylococcus aureus*'u ve *Aeromonas hydrophilia*'yı hızlı bir şekilde inaktive eder (50). Çok düşük konsantrasyonda bile ozonun enterovirusleri inaktive etmesi *Eschericia coli*'den daha hızlıdır. Mikrobiyal kültürlerde *E. coli* ve *C. albicans*, stafilokok bakterilerine göre ozona karşı daha hassastır (51). Yapılan bir diğer çalışmada 0,5 ile 4 mg/l oranındaki ozonlu suyun gram pozitif ve gram negatif oral mikroorganizmaları öldürmede yüksek oranda etkili olduğu gözlenmiştir. Hazırlanan kültür ortamında; endodontal patojen *Porphyromonas endodontalis* ve periodontal patojen *Porphyromonas gingivalis* gibi gram negatif bakteriler, ozonlu suya karşı oral streptokok ve *C. albicans* gibi mikroorganizmalardan çok daha fazla hassastır (52). Gaz ozonun, *E. faecalis* üzerinde antibakteriyel etkisi kanıtlanmıştır; ancak bu etki NaOCl kadar etkili bulunmamıştır (53).

2.1.6. Ozonlu Su

Soğuk klorsuz suyun seramik filtreden geçirilen ozon gazı ile işleme tabi tutulduktan sonraki durumu ozonize edilmiş su diye tanımlanır. Ozonlama için bir veya iki kere distile edilmiş su kullanılması önerilir. Ozonun bozunma hızı solüsyonun hidrojen içeriğine bağlıdır, asit ortamda ozon/oksijen gaz karışımı daha stabil iken, alkali ortamda ozonun parçalanması çok daha hızlı gerçekleşir. Ozonlu distile suyun 20°C sıcaklıkta, pH 7 iken yarılanma ömrü 25

ile 30 dak'dır. Düşük sıcaklıkta çözülmüş ozon, su içinde daha uzun süre korunur. Suyu ozonlamak için 2500 ile 10000 mcg/L arasında ozon konsantrasyonları kullanılır. Bir litre suyun ozonlanması için gereken süre 20 dak'dır. Ozon/oksijen gaz karışımının akım hızı 1 L/dak'dır. Daha uzun süre ozonlama su içindeki çözülmüş ozonun miktarını artırmaz. Ozon, oksijene oranla suda yaklaşık 10 kat daha fazla çözünür (54). Pirojen içermeyen suda yarı ömrü 9 ile 10 saat arasındadır (pH 7, 20°C); 0°C' de iki katına çıkar (55). Suyu ozonlamak için cam veya plastik bir kap kullanılır, bu kapak contalı olmalı ve kapakta ozon/oksijen karışımını vermek için özel yayıcı ve artık ozonu parçalayıcıya götürecek başka bir çıkışı olmalıdır (54). Diş hekimliğinde hem dezenfektan olarak hem de diş çekimi sonrasındaki yaraların tedavisinde, kandida ve parodontitis vakalarında kullanılır (55). Ozonlu su; hemostaz sağlaması, lokal oksijeni artırması ve bakteri çoğalmasını önlemesi ile oral cerrahide kullanım alanı bulmuştur. Diş çekimini takiben veya cerrahi müdahale sırasında kullanılır (56). Ozonlu su stomatolojide yaygın olarak; stomatit, diş çekimi sonrası, yumuşak dokuların enfekte yaralarının tedavisi, cerrahi işlemlerden önce oral kavitenin genel dezenfeksiyonunda kullanılır. Ozonun yarı ömrü distile su içinde, oda ısısında yaklaşık 30 dak olduğundan, ozonlu suyun elde edilmesinden hemen sonra kullanılması önerilir. Yeni hazırlanmış ozonlu distile su buzdolabında yaklaşık 1 saatsaklanabilir (54).

Yapılan bir çalışmada ozonlu suyun; %2 ve %0,2 CHX, %5,25 ve %2,25 NaOCl, %3 H₂O₂ gibi antibakteriyellere ve metranidazole göre en üst düzeyde biyouyumlu olduğu bulunmuştur. Ozonun sıvı formu bilinen tüm antiseptiklere oranla en düşük toksisiteyi göstermekte ve herhangi bir ilaç rezistansı ile karşılaşmamaktadır (57). Ozonlu su; bakteri, virüs ve mantarlara karşı yüksek oranda etkili ve diğer kimyasal temizleyicilere kıyasla daha ekonomiktir. Hücreleri öldürmek için ozon konsantrasyonu 2 ile 4 mg/l oranında olmalıdır (52).

2.1.7. Süper Okside Su (SPO)

Son zamanlarda endodontik tedavi için dezenfekte edici ajanlar üretilmiştir. Bu dezenfektan ajanlardan birisi süper okside sudur. Süper okside su; moleküler oksijenin tek elektron kazandığı oksijenin yaygın formudur. Süperokside radikaller çevresinden kolaylıkla etkilenen yağ, protein ve nükleik asit içeren biyolojik hedeflere saldırabilir (58). Süper okside suyun bir diğer avantajı ise NaOCl (59) ve H₂O₂ (60) ile kıyaslandığındaki toksisite derecesidir. Ayrıca kök kanallarında aranan bir solüsyon olup; endoskop (61) ve bazı dental materyallerin (62, 63) dezenfekte edilmesinde kullanılmaktadır. Yüksek dozda kullanıldığında ve cerrahi aletlerle uzun süre temasında aşındırıcı etkilidir (64, 65).

2.2. Biyofilm

Biyofilm; mikroorganizmalar tarafından oluşturulan, mikroorganizmaların herhangi bir yüzeye, ara yüzeye veya birbirlerine yapışmalarını sağlayan, büyüme oranları ile gen transkripsiyonuna bağlı olarak farklı fenotip gösterebilen ve oluşturan, mikroorganizmaların içinde gömülü olarak bulunduğu ekstraselüler polimerik maddeden oluşmuş matrikse denir (66). Biyofilmin %15'ini hücreler %85'ini matriks oluşturur (67).

Mikroorganizmalar aköz ortamda planktonik halde olmak yerine çoğunlukla biyofilm popülasyonları olarak bulunurlar (68). Bu nedenle doğal sınırlarla temasta olan herhangi bir sistem içindeki canlı veya cansız yüzeylerde biyofilm formasyonu meydana gelebilir (67). Oral biyofilmler karışıktır ve 30 veya daha çok bakteri cinsinden oluşurlar (68). Biyofilmler, yüzeye yapışmış halde bulunan ve içinde mikroorganizmaların bulunduğu homojen bir tabakadan ibaret olmayıp, belirli bir yapıya sahip, hareket yeteneği olan mikrobiyal topluluklardan oluşan biyolojik sistemlerdir (69). Biyofilmleri oluşturan mikrobiyal komüniteler, alt tabakaya bir arayüze veya birbirine irreversible olarak bağlı hücrelerden oluşurlar.

Ekstraselüler polimerik substans (EPS) matriksi biyofilmlerde bulunan hücreler tarafından üretilir (70). Biyofilm formasyonu ise; yüzeye yapışma ve immobilizasyon, hücreler arası iletişim, mikrokoloni oluşumu ve biyofilmin yapısal maturasyonunu içeren kompleks gelişimsel bir olgudur (71). Ayrıca biyofilmler bünyelerindeki hücrelere çeşitli avantajlar sağlarlar, bunlardan en önemlisi de antiseptik, antibiyotik ve endüstriyel biyosidler gibi potansiyel olarak toksik ajanlardan korumalarıdır (72).

2.2.1. Biyofilm Oluşumunun Evreleri

Biyofilm oluşumu temelde 4 aşamada gerçekleşmektedir;

1. Conditioning film tabakasının oluşması
2. Planktonik mikroorganizmaların adezyonu
3. Mikroorganizmaların polimerik matriks içinde kolonizasyonu
4. Mikroorganizmaların biyofilmin üst tabakasından koparak ayrılması

Biyofilm oluşumu bakterilerin bir yüzeye tutunmaları ile başlayan dinamik bir süreçtir. Bu tutunma sonucu biyofilm fenotipinin ortaya çıkmasına neden olan bir dizi genetik işlem başlamış olur (73).

Makromoleküllerin yüzeye absorpsiyonu biyofilm oluşumunun en erken evresidir ve conditioning film tabakasının oluşumunu sağlamaktadır. Bu tabaka her zaman mikroorganizmaların gelişinden önce oluşur ve belirli mikroorganizmaların selektif olarak adezyonuna neden olarak, biyofilmin mikrobiyal yapısının belirlenmesini sağlamaktadır (74).

İkinci evre ise planktonik mikroorganizmaların adezyonunu ve kuvvetli bir şekilde tutunmasını içerir. Üçüncü aşama ise tutunan planktonik mikroorganizmaların çoğalmasını ve metabolizmasını içerir. Bunun sonucunda karışık mikrobiyal topluluklar yapısal olarak organize olur. Bu aşamada, mikroorganizmaların genotipik özellikleri ve mikroçevrenin yapısı biyofilmdeki mikroorganizmaların çoğalmasını ve başarısını etkilemektedir (75). Son evrede tek bir bakteri veya bakteri kümeleri biyofilm tabakasından koparak ortama yayılır. Bu ayrılma işlemi dışkuvvetlerin etkisiyle olabileceği gibi, biyofilm oluşum sürecinin bir parçası olarak tek bir hücrenin veya birçok hücrenin emboli şeklinde kopmasının bir sonucu olarak gerçekleşebilir (76).

Konfokal Lazer Tarama Mikroskopisi (KLTM) ile yapılan çalışmalar bakterilerin, kompleks ekzopolisakkarid ile çevrilmiş mikrokoloniler içerisinde yaşadıklarını ortaya koymuşlardır. Çeşitli yüksekliklerde kuleler oluşturan mikrokolonilerin aralarında, besinlerin ulaştırılması ve metabolik atık ürünlerin uzaklaştırılması için primitif bir dolaşım sistemi olarak görev yapan su kanalları bulunmaktadır (77).

2.2.2. Quorum sensing mekanizmaları

Biyofilm oluşumu rastlantısal bir olay değildir. Bu olay, sadece bakterilerin biraraya gelerek belirli bir yüzeye yapışması ve o yüzeydeki diğer türlerle birlikte yaşamaya devam etmesi anlamına gelmez. Bakteriler biyofilm oluşturmak için birbirlerine çeşitli kimyasal işaret mekanizmaları kullanarak haber verirler. Kimyasal sinyalin, bölgesel ekstrasellüler konsantrasyonun belli bir düzeye ulaşması, çevrede bulunan diğer bakteriler için o bölgede belli yoğunlukta bir hücresel kümelenmenin başladığı anlamına gelir. Kimyasal olarak popülasyonun yoğunluğunun hissedilmesine 'quorum-sensing' adı verilir (78).

2.2.3. Biyofilmin antimikrobiyal ajanlara karşı direnci

Biyofilm içinde üreyen mikrobiyal varlıkları antimikrobiyal ajanlarla yoketmek güçtür ve gelişmiş biyofilmde var olan mikroorganizmalar oldukça dirençlidir. Antimikrobiyal ajanların biyofilm içerisine tamamen girememesi biyofilm matriksini oluşturan polimerik maddenin antibiyotiklerin difüzyonunu engellediği bilinmektedir (79).

Biyofilm içinde gelişen mikroorganizmaların antimikrobiyal ajanlara karşı planktonik yapıda olanlardan 100-1000 kat daha dirençli olduğunu gösteren raporlar bulunmaktadır (80). Bu direnç ile ilgili mekanizmalar ise şöyledir (81);

- ✓ Ekstrasellüler polimerik matriks antimikrobiyel ajanın geçişi için bariyeroluşturur.
- ✓ Biyofilmin polianyonik yapısı katyonların derin diffüzyonuna direnç gösterir, antikorları engeller ve antibiyotikleri nötralize eden laktamaz gibi enzimlerin konsantrasyonunu artırır.
- ✓ Bakterilerin transpozon ve plazmidler aracılığıyla DNA değişimi yeni fenotiplerin oluşmasını sağlamaktadır.
- ✓ Biyofilmin yapısı, bakterileri konakçı savunma mekanizmalarından korumaktadır.
- ✓ Biyofilmin gelişimi sırasında meydana gelen fizyolojik değişiklikler ve mikroorganizmaların üreme hızlarının değişmesi sonucu antimikrobiyal ajanlar daha yavaş hücre içine girer.

2.2.4 Kök kanalında biyofilm formasyonu

Kök ucu cerrahisi yapılmış, kök kanal dolgusu tamamlanmış, apikal periodontitisi bulunan 23 dişten apikal kök örnekleri alınarak yapılan bir çalışmada tedavi edilmiş dişlerin dış kök yüzeylerinde görülen ekstraradiküler biyofilmin, bol miktarda şekilsiz ekstrasellüler materyalin ve birçok bakteriyel türün varlığı görülmüştür (82).

Elektron mikroskopu ile yapılan bir başka çalışmada ise cerrahi olarak çekilen dişlerin; yüzeyi, kök uçları ve ameliyat sırasında veya endodontik olarak yeniden yapılan tedavi sırasında çıkarılan gutta perka uçlarında periapikal lezyonlarda biyofilmin oluşumunun varlığı incelenmiş ve incelenen 11 örneğin 9'unda ekstraradiküler biyofilme rastlanmıştır (83).

Pulpa nekrozu bulunan, periapikal lezyonları radyografik olarak görülen veya görülemeyen ve canlı pulpası olan dişlerin kök uçlarının dış yüzeylerinde biyofilm varlığının değerlendirildiği bir çalışmada; sağlıklı dişlerin ve pulpa nekrozu olan radyografik olarak periapikal lezyon görülmeyen dişlerin apikal eksternal kök yüzeylerinde mikroorganizma bulunamamıştır. Pulpa nekrozu ve kronik periapikal lezyonu olan dişlerde ise sementte rezorbsiyon ve apikal foramen çevresinde çok miktarda mikroorganizmaya rastlanmıştır (84).

Aseptomatik apikal periodontitisli dişlerin kök uçlarının dış kısımlarının incelendiği bir çalışmada apikal foramende, foremene komşu bölgelerde ve rezorbsiyon

lakünalarında, yoğun bakteri zincirleri ve ekstrasellüler matriks içine gömülmüş çok tabakalı bakteriler tespit edilmiştir (85).

İnatçı endodontik enfeksiyonlar ile tedaviye direnç gösteren vakalarla ilgili yapılan bir çalışmada; apikal rezeksiyon sonucunda kök ucu bölgelerinden elde edilen SEM görüntüleri incelenmiş ve apikal foramene komşu olan yerlerin devamlı, düzgün ve çeşitli bakteri formlarını içeren bir tabaka ile kaplı olduğu belirtilmiştir. Yüzey düzensizlikleri, girinti ve boşluklarda ise ekstrasellüler madde ile bir arada tutunan koklar ve rodlar ile birlikte bazı fibriler formlar tanımlanmıştır (86).

2.3. Enterococcus Faecalis

Enterokoklar gram (+) fakültatif anaerob olup, tipik olarak mikroskopta çiftler veya zincirler oluşturmuş biçimde görülürler. Enterokoklar mide bağırsak sisteminde, ağız boşluğunda ve vajinada kommensalist olarak yaşarlar. Bununla beraber insanda üriner sistem enfeksiyonu, kan dolaşımı, endokard, karın, safra yolları, yara yanıkları ve çeşitli hastalıklara neden olabilirler. Enterokokların insanlarda neden olduğu enfeksiyonların %90'ından *E. faecalis* sorumludur (87). *E. faecalis*, sporsuz form, fermantatif, oksijenin yokluğunda veya varlığında büyüme kabiliyetine sahip fakültatif anaerobik olan gram pozitif D grubu streptokoktur. *E. faecalis* hücreleri oval, 0.5-1 µm çapındadır. Tek başına, çiftler halinde veya küçük zincirler halinde bulunur. Sıklıkla zincir doğrultusunda uzarlar(88). 10°C ile 45°C arasında yaşayabilir, 60°C sıcaklığa ve pH 9,6'ya 30 dak direnç gösterebilir (89). *E. faecalis*'in primer endodontik enfeksiyonlarda görülme sıklığı %4-40 olarak bildirilirken, inatçı periradiküler lezyonlarda bulunma sıklığının çok daha fazla olduğu belirtilmiştir. Ayrıca; *E. faecalis*'in başarısız kök kanal tedavili dişlerde bulunma sıklığının primer endodontik enfeksiyonlardan 9 kat daha fazla olduğu da bildirilmiştir (90). Kök kanalında yaşayan tek mikroorganizma ya da kök kanal mikroflorasının majör komponenti olarak yaşamını sürdürebilir (91).

E. faecalis diğer enterokok türlerinde olduğu gibi, elverişsiz koşullara da kolaylıkla adapte olabilir. Sodyum dodesil sülfat, safra tuzları, hiperosmolarite, ısı, etanol, hidrojen peroksit, asidite ve alkalinitenin normal öldürücü düzeylerine diğer mikroorganizma türlerine göre daha az hassastır (79). *E. faecalis*, UV ışımına karşı da direnç gösterebilmektedir (92).

Yapılan çalışmalarda, *E. faecalis*'inperiapikal enfeksiyonların farklı formlarıyla ilişkisi incelenmiş, *E. faecalis*'in akut apikal periodontitis ve akut apikal abseden ziyade asemptomatik kronik apikal lezyonlarla daha fazla ilişkili olduğu saptanmıştır (93-95).

Yine yapılan bir çalışmada kronik apikal periodontitis bulgusu veren başarısız endodontik tedavili dişlerin %30-70'inde *E. faecalis*'in pozitif kültürünün elde edildiği ve sıklıkla da saf kültür şeklinde bulunduğu tespit edilmiştir (96).

Bu mikroorganizma çeşitli genetik polimorfizmler gösterebilmektedir (97). Serine proteaz, jelatinaz ve dentine bağlanmayı kolaylaştıran kollajen bağlayan protein (Ace) gibi enzimlere sahiptir (98). Dentin tübüllerinde 400 ile 1000 µm ilerleyebilecek kadar küçük boyutludur ve dentin tübülleri içerisinde de yaşamını sürdürebilmektedir (99). Uygun besin ortamı oluşuncaya kadar uzun süre açlığa dayanabilir ve serumu besin kaynağı olarak kullanabilir (100). Yapılan bir araştırmada, *E. faecalis*'in kök kanalında ek besin olmadan 12 ay boyunca canlılığını sürdürebildiği gösterilmiştir (101). *E. faecalis*'in biyofilm oluşturarak bu yapıyı oluşturamayan bakterilere kıyasla, 1000 kat daha dirençli hale geldiği belirtilmiştir (102).

Sekonder enfeksiyonlardaki mikroorganizmalar bir veya birkaç bakteri türünden oluşmaktadır. *E. faecalis*, başarısız kök kanallarından büyük oranda izole edilmiştir. Floranın büyük bir komponenti olarak veya kök kanalındaki tek organizma olarak yaşamını sürdürebilmektedir (103).

Yapılan bir araştırmada özel kültür örneklerindeki bakteri türlerinde *E. faecalis*'in periradiküler periodontitisli kanal dolgulu dişlerde yaklaşık %37 oranında bulunduğu, buna karşılık daha hassas olan polimeraz zincir reaksiyonu tekniğinde ise bu oranın %77 olduğu bulunmuştur (104).

E. faecalis'in kanal içi antiseptik materyal olarak kullanılmakta olan ve alkalın dezenfektan olan kalsiyum hidroksit (Ca(OH)₂) antimikrobiyal etkisine karşı direnç gösterdiği birçok çalışmada gösterilmiştir (105, 106).

E. faecalis enfeksiyonlarının elimine edilmesinin amaçlanması tedavinin bütün safhalarında önemlidir. Kök kanalının apikal kısmının büyük numaralara kadar prepare edilmesi, kanal içi mikroorganizmaların elimine edilmesinde yardımcı olur. %3'lük NaOCl yeterli miktarda ve düzenli olarak yenilenecek uygulanırsa kök kanalındaki *E. faecalis*'i öldürme yeteneğine sahiptir (107).

CHX'in %2'lik sıvı vejel konsantrasyonları kök kanalı ve dentin tübüllerinde bulunan *E. faecalis*'in elimine edilmesinde oldukça etkilidir. %2'lik CHX solüsyonu, dentin

tübüllerinin yüzeyel tabakasından 100 µm'luk derinliğe kadar dentin tübüllerinde 15 gün içerisinde bakteri eliminasyonu sağlamaktadır (108). Biyofilm şeklinde büyümenin bir özelliği olarak da klinik olarak izole edilen *E. faecalis*'lerde bağlanma kapasitelerinde artış ve antimikrobiyallere karşı daha fazla direnç gözlenir (109).

2.4. Lazerin tanımı

Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation kelimesinin ilk harflerinden oluşturulan LASER terimi, dilimize LAZER olarak girmiştir. Işığın uyarılarak güçlendirilmesi veya hızlandırılmış ve yoğunlaştırılmış yüksek enerji taşıyan ışık demeti anlamına gelmektedir (110). Lazer ışını, tek renklidir (monokromatik), doğrusaldır (collimated) ve ışığı oluşturan fotonlar aynı fazdadır (koherans) (111). Tıpta ve diş hekimliğinde kullanılan esas özelliği ise tek renkli (dalga boyu) olmasıdır. Bu sayede lazer ile hedeflenen dokulara etki edilirken çevredokulara minimum düzeyde tahribat olmaktadır. Buna lazerin doku selektif özelliği denir (112).

2.4.1. Diş Hekimliğinde Kullanılan Lazer Tipleri

Argon Lazer: Aktif maddesi argon olan lazerdir. 488 µm (mavi) ve 514 µm (mavi-yeşil) olmak üzere iki dalga boyu vardır. Her iki dalga boyu da dental sert dokular ve su tarafından daha az emilir. Böylece gingival cerrahiler sırasında diş sert dokularına zararvermeme avantajına sahiptir (113).

CO₂lazer: Bu lazer türü 10.600 µm dalga boyunda kullanılır. Bu dalga boyundaki lazer, spektrumun orta infrared görünür iyonize olmayan bölümünün sonunda konumlandırılır. Su tarafından iyi absorbe edilir. Yumuşak dokuları kaldırmada hızlıdır. Dokudaki penetrasyon derinliği sığ olması mukozal lezyonların tedavisinde önemlidir. Özellikle yoğun fibröz dokuların kesilmesinde kullanışlıdır. Diğer lazerlerle karşılaştırıldığında hidroksiapatitteki emilimi en fazla olan lazerdir (114).

Diyot Lazer: Diyot lazerler, elektrik enerjisini ışık enerjisine çevirmek için galium, arsenid, alüminyum ve indiumun kombine olarak kullanıldığı solid durumlu, yarı iletken lazerlerdir. Dental kullanım için dalga boyu 800 ile 980 µm arasındadır. Fiber optik taşıma sistemi ile ışın taşınır. Sürekli dalgalı ve atımlı modda kullanılır. Doku ile temas ettirilerek kullanılır. Optik fiber kullanımdan önce ayrılmalı ve hazırlanmalıdır, uzun kullanımlar sırasında da lazerin etkinliği açısından kontrol edilmelidir. Bu lazerler diş dokuları tarafından çok az absorbe edildiğinden dentin, mine ve semente yakın bölgelerdeki yumuşak doku cerrahisinde güvenle kullanılabilir (114).

Er,Cr:YSGG ve Er:YAG Lazerler: Er,Cr:YSGG (2790 μm) lazer katı itriyumskandiyum-granat aktif maddesine sahiptir. Er:YAG (2940 μm) lazer ise itriyumalüminyum-granat aktif maddesine sahiptir. Her iki lazerin de su ve hidroksiapatit tarafından yüksek emilimi vardır. Bu lazerler çürüğün uzaklaştırılmasında ve diş preperasyonu sırasında su spreyi ile kullanılmaktadır. Bu lazerlerin en önemli avantajı gingivaya yakın çürüklerin rahatlıkla tedavi edilebilmesi ve ayrıca yumuşak dokuda da aynı enstrümanla şekillendirilebilmesidir (115, 116).

Ho:YAG Lazer: Holmiyum lazerlerin dental cihazlarının üretimi seneler önce durdurulmuştur. Bu lazerin ürettiği dalga boyu 2100 μm 'dir. Su tarafından emilimi Nd:YAG lazerden 100 kat daha fazladır. Yüksek güçlerde kullanıldığı zaman sert ve kalsifiye dokuları eritebilir. Yumuşak doku lazeri olarak kullanıldığı zaman hemoglobini ve diğer doku pigmentlerini etkilemez (117). Holmiyum lazer sıklıkla temporomandibular eklem artroskobik cerrahisinde kullanılır (118).

Nd:YAG lazer: Lazer ışınının fiberoptik olarak dağıtıldığı serbest hareketli atımlı dalga lazerleridir. Genellikle doku ile temasta kullanılır. Temassız kullanıldığında sadece birkaç milimetre penetre olabildiği için hemostaz sağlama, aftöz ülser tedavisi veya pulpa hassasiyetini gidermek amacıyla kullanılabilir (119). Diş hekimliği için tasarlanan ilk lazerdir. Nd:YAG lazer ile dental uygulamalar için yapılmış çok kapsamlı araştırmalar vardır. Dalga boyu 1064 μm olarak belirlenmiştir. Pigmente dokular tarafından oldukça fazla absorbe edilir. Su tarafından absorbe edilmesi argon lazerden 10000 kat daha fazladır. Dental yumuşak dokuların kesilmesi ve iyi bir hemostatik kabiliyetle koagülasyonu Nd:YAG lazerin en yaygın kullanım alanlarıdır (114).

Yaptığımız tez çalışmasında Nd:YAG lazerin dalga boyunun yarıya indirilip frekansının katlanması ile elde edilen KTP lazer kullanılmıştır.

KTP Lazer

KTP lazer dalga boyu yarıya indirilmiş Nd:YAG lazerdir. Dalga boyu 532 μm 'dir (120). Nd:YAG lazer fototermal etkisi sayesinde periodontal yumuşak doku tedavisinde, kuvvetli hemostatik ve bakterisid özelliğinden dolayı cerrahi işlemler sırasında da kullanılmaktadır. Doku penetrasyon derinliği 1-2 mm' dir (121). KTP lazerin çıkış gücü 5 W (max)'dir. Lazer ışını uygulanacak dokuya 200 μm çapında fiber optik kablo ile iletilmektedir. Kök kanalı sterilizasyonu için tekrarlayan atımlı dalga modu kullanılır. KTP lazer ilk olarak diş beyazlatmalarında kullanılmış fakat daha sonradan diş hekimliği ve endodontinin birçok farklı alanında kullanılmaya başlanmıştır.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örneklerin Seçimi ve Hazırlanması

Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı'ndan 14.07.2015 tarih ve 2015-07/08 sayılı etik kurul onayı alındıktan sonra çalışmaya başlanmıştır. Çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti A.D. kliniği ve Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmösitik Mikrobiyoloji A.D. kliniğinde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda ortodontik veya periodontal nedenlerle çekilmiş, çürüksüz ve restorasyonsuz 120 adet daimi insan alt premolar dişleri kullanıldı. ($\alpha= 0,05$ $\beta= 0,10$ ve $1-\beta= 0,90$) alınarak kullanılacak diş sayısına karar verildi. Dişlerin tek kök tek kanallı olup olmadıkları, kanal yapısını ve sayısını belirleyebilmek için tüm dişlerin bukkal ve aproksimal doğrultularda dijital radyografileri alınarak değerlendirildi ve birden fazla kanallı olan dişler çalışmaya dahil edilmedi.

Çekim sonrası dişler %5,25 lik NaOCI solüsyonunda 15 dak kadar bekletilerek kök yüzeyindeki organik artıklar uzaklaştırıldı. Bu işlem sonrasında kök yüzeyinde kalabilecek sert ve yumuşak doku artıkları ekskavatör yardımıyla temizlendikten sonra laboratuvar çalışması yapılıncaya kadar +4°C' de %0,9'luk salin solüsyonunda bekletildi. Dişlerin koronal kısımları mine-sement birleşim seviyesinin altından ve her bir kökün boyu 14-16 mm olacak şekilde su soğutması altında steril elmas diskler kullanılarak kesildi. Daha sonra kök kanallarındaki pulpa dokusu tirnerf (Vereinigte Dentalwerke GmbH & Co. KG, Münih, Almanya) kullanılarak çıkarıldı ve kök kanallarına #15 K-File (Mani Inc., Tochigi, Japonya) el aletleri ile girilerek kanal yolu belirlenmesi yapıldı. Kanal aletinin ucu apikal açıklıkta görülene kadar ilerletilip kanal aletinin boyu ölçüldü ve ölçülen bu boydan 1 mm geri çekilmek suretiyle lastik rondel yardımıyla her bir kök için çalışma boyu belirlendi. Kök kanalları, standart preparasyon tekniği kullanılarak ProTaper Next rotary eğeleri (Dentsply Maillefer, Ballaigues, İsviçre) ile apikalde görülen 15numara eğeyle ölçülen mesafeden 1 mm kısa olacak şekilde prepare edildi. Kök kanalları X1, X2 ve X3 numaralı eğeler sırasıyla kullanılarak ve tüm kanalların apikal genişlikleri X3 ile standardize edilecek şekilde şekillendirildi. Preparasyon boyunca kanallar her bir eğe kullanımından sonra 1 ml %5,25' lik NaOCl solüsyonu ile irriye edildi. Kök kanallarında preparasyon sırasında oluşan smear tabakasını kaldırmak için, kök kanalları daha sonra sırasıyla % 17'lik EDTA (AppliChem

GmbH, Almanya), %5,25 NaOCl ve distile su kullanılarak, her bir solüsyonda ve sırasıyla olmak üzere 5'er dak boyunca irrigasyon yapıldı ve paper point ile kurutuldu.

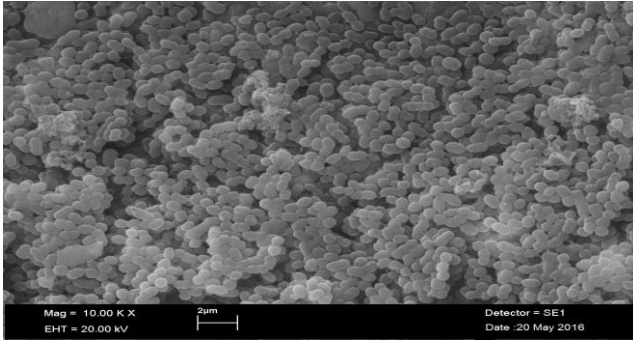
Mikrobiyolojik uygulamaların öncesinde dişleri yerleştireceğimiz şişeler, lastik kapakları çıkarılarak 10'arlı gruplar halinde ambalajlandı ve sterilizasyon sağlamak amacıyla otoklava yerleştirilerek 121°C'de ve 20 dak süresince steril edildi (Melag,Euroklav 23V-S, Almanya). Daha sonra dişlerin kök uçları da dahil apikal kök yüzeylerine 3 kat tırnak cilası uygulandı. Dişler, kullanacağımız cam şişelerin lastik kapaklarının üzerine delikler açılarak kapağın 2-3 mm üzerinde kalacak şekilde yerleştirildi ve sızıntının önüne geçilebilmesi amacıyla dişlerin lastik kapaklarla birleşim alanları adeziv yapıştırıcısıyla kaplandı. Daha sonra rastgele seçilen dişler herbir ambalajda 10'ar tane olmak kaydıyla Etilen Oksit (EtO) sterilizasyonuna gönderildi. Tüm ambalajlar 3M (Steri-Vac 4XL) EtO sterilizasyonu cihazında, %40-60 nem oranında, 55°C'de 5,5 saat gaz ve 11 saat havalandırmaya tabi tutuldu. Bu süreçte sterilizasyonun kontrolü amacıyla cihazın içine kimyasal indikatör, cihazdan çıkan malzemenin sterilizasyonunun kontrolü için ise biyolojik indikatör uygulandı. EtO'dan alınan dişlerin gömülü olduğu lastik kapaklar kontaminasyonu engellemek amacıyla Biosafety Level 2 laminar air-flow kabin içerisinde, dişlerin apikal kısımları kapak kapatıldığında şişe içinde kalacak şekilde ayrı ayrı cam şişeler (Zetaplus, Zhermack SpA, İtalya) içerisine gömüldü.

Sonuç olarak, çalışmamızda kullanmak amacıyla, ilk olarak tüm dişlerin kök kanal preparasyonları yapıp, dezenfeksiyon ve sterilizasyon işlemleri tamamlandı ve steril lastik kapaklı cam şişelere yerleştirildi. Bu işlemlerin sonucunda mikroorganizmalardan arındırılmış ve düzeneğe yerleştirilmiş olan 120 adet diş elde edilmiş oldu. Düzeneğe yerleştirilen dişler, her bir grupta 20 diş olacak şekilde *E. faecalis* inokülasyonu için 6 gruba ayrıldı.

3.2. Mikrobiyolojik İşlemler

Çalışmamızda American Type Culture Collection (ATCC)'a kayıtlı standart suşlardan *E. faecalis* (ATCC 29212) suşu bakteri olarak kullanıldı. *E. faecalis* suşunun ekimi kanlı agara yapıldı ve 37°C'de mikroaerofilik ortamda 24 saat inkübe edilerek kültürleri hazırlandı. McFarland cihazında (PhoenixSpec, BD, NJ, USA) 4 ml serum fizyolojik solüsyonu içinde üreyen *E. faecalis*suşu McFarland bulanıklık değeri 0,5 olarak ayarlandı. Daha sonra 5 ml Brain Heart Infusion (BHI) broth içeren 5ml'lik tüpler hazırlandı. Kanlı agara hazırlanmış olan *E. faecalis* ekimlerinden öze yardımı ile bakteriler alınarak 0,5 McFarland olacak şekilde bakteri süspansiyonları hazırlandı. 10µL bakteri kültür süspansiyonu steril

mikropipet kullanılarak mekanik olarak genişletilmiş kök kanal lümenine aktarıldı ve 37°C derecede 24 saat bekletildi. Kontamine edilen gruplarda kanalların girişleri geçici dolgu maddesi ve steril alüminyum folyolar ile sarılarak 37 °C sıcaklıktaki etüvde 24 saat bekletildi. 24 saatin sonunda bakteri üreme kontrolleri yapıldı. Enfekte kök kanalları steril buyyon ile ıslatıldı, kök kanalına paper pointler yerleştirilip 5 dak bekletildi ve içerisinde 0,5 ml BHI buyyon (Merck 1.13825) bulunan steril eppendorf tüplere alındı. 15 dak bekledikten sonra vortex (Ms1 Mini shaker IKA, Almanya) ile karıştırılan eppendorflardan steril mikropipet ile 50 µL sıvı besiyeri alınarak katı besiyerine yayma ekim yapıldı. Katı besi yeri olarak; %5 koyun kanlı agar (Merck 1.10886) kullanıldı. 37°C'lik etüvde dört hafta boyunca matür biyofilm oluşumu için bekletildi. Kök kanallarındaki mevcut besiyerleri iki günde bir değiştirilip yerine taze BHI besiyeri koyuldu. Besiyeri değişimi sırasında bakteri üreme kontrolü amacıyla besiyerinden alınan örneklerin kanlı agara ekimi yapıldı ve 37°C'de etüvde 24 saat inkübe edilerek kontaminasyon yönünden değerlendirildi. 2. haftanın sonunda kök kanallarındaki biyofilm oluşumunun SEM incelenmesi için örnek olarak kullanılacak köklerden 2 tanesi steril separe ile dikey yönde kök kanal sistemi içerisine girmeyecek şekilde ikiye ayrılıp kullanılan parçalar, görüntüleme öncesinde %4'lük gluteraldehit içerisinde 3 saat 4°C'de bekletilerek fikse edildi. Daha sonra artan konsantrasyonlardaki (%40, %50, %70, %80, %90, %100) etanol solüsyonlarında bekletilerek dehidratasyona maruz bırakıldı. Dehidrate örnekler oda ısısında kurutulduktan sonra altın-palladyum ile kaplandı ve SEM ile incelendi. SEM ile inceleme sonucunda *E. faecalis* biyofilminin kolonizasyon paterni görüntülendi ve grupların hiçbirinde *E. faecalis* dışında bir bakteri üremesi gözlemlenmedi. Daha matür bir *E. faecalis* biyofilminin kolonizasyon paterni oluşturmak amacıyla 2 hafta daha beklenip toplam 4 haftanın sonunda ayrılan örnek olarak kullanılacak kökler için aynı işlemler tekrarlanıp SEM ile incelenip deney aşamasına geçildi.



Şekil 3.1: Dört hafta sonunda kök kanalından elde edilen *Enterococcus faecalis* biyofilmlerinin 10.000x büyütmedeki SEM görüntüleri

3.3. Deney grupları ve çalışma dizaynı

Kök kanallarına bakteri ekimi yapıp gruplar oluşturulduktan sonra irrigasyon ve KTP lazer protokolünün uygulanmasından önce kök kanalları 0,2 ml steril NaCl ile yıkandı. Kök kanallarına 40 numaralı steril kağıt konlar yerleştirildi ve 2 dak beklendikten sonra kağıt konlar, içerisinde 5 ml BHI bulunan ependorf tüpler içerisinde alındı. Ependorf tüpler 5 dak süre ile vortekslendikten sonra steril bir plastik öze ile tüplerden örnek alındı ve 2'ye ayrılmış kanlı besi yerinin bir yarısına ekim yapıldı.

E. faecalis ile enfekte olan kök kanalları, tüm irrigasyon solüsyonları ile yapılacak uygulamalar sırasında 2 Watt KTP lazerin ışınlama gücü ile kombine edilerek toplam 3 dak süreyle dezenfekte edildi.

KTP Lazer ile aktive edilecek irrigasyon solüsyonları ve uygulamaları:

Grup 1, NaOCl (pozitif kontrol) grubu: 20 dişin *E. faecalis* biyofilmi ile enfekte olan kök kanalları 2,5 ml/dak akış hızıyla %5,25 NaOCl ile 15 sn irrigasyonun ardından 15 sn boyunca 2W gücünde KTP lazerin 200 µm çapında fiber optik ucu ile apekten koronale doğrukesintisiz dairesel hareketlerle lazer aktivasyonu yapıldı. İrrigant kanaldan aspire edilmedi; böylelikle kanal tamamen irrigant ile dolu iken lazerin performansı değerlendirildi. Bu döngü 6 kez tekrar edildi. İrrigantın total volümü 7,5 ml oldu. Protokolün total zamanı ise 3 dak olarak belirlendi. Kanal içinde kalan bakteri sayımı yapıldı ve pozitif kontrol grubu olarak kullanıldı.

Grup 2, Serum fizyolojik (negatif kontrol) grubu: 20 dişin *E. faecalis* biyofilmi ile enfekte olan kök kanalları 2,5 ml/dak akış hızıyla basınç altında kullanılan SF solüsyonu ile 15 sn irrigasyonun ardından 15 sn boyunca 2W gücünde KTP lazerin 200 µm çapında fiber optik ucu ile apekten koronale doğru kesintisiz dairesel hareketlerle lazer aktivasyonu

yapıldı. Bu döngü 6 kez tekrar edildi.İrrigantın total volümü 7,5 ml oldu. Protokolün total zamanı ise 3 dak olarak belirlendi. Kanal içinde kalan bakteri sayımı yapıldı ve negatif kontrol grubu olarak kullanıldı.

Grup 3, CHX grubu: 20 dişin *E. faecalis*biyofilmi ile enfekte olan kök kanalları 2,5 ml/dak akış hızıyla basınç altında %2 CHX solüsyonu ile 15 sn irrigasyonun ardından 15 sn boyunca 2W gücünde KTP lazerin 200 µm çapında fiber optik ucu ile apeksten koronale doğru kesintisiz dairesel hareketlerle lazer aktivasyonu yapıldı. Bu döngü 6 kez tekrar edildi. İrrigantın total volümü 7,5 ml oldu. Protokolün total zamanı ise 3 dak olarak belirlendi. Kanal içinde kalan bakteri sayımı yapıldı.

Grup 4, EDTA grubu: 20 dişin *E. faecalis*biyofilmi ile enfekte olan kök kanalları 2,5 ml/dak. akış hızıyla basınç altında %17 EDTA solüsyonu ile 15 sn irrigasyonun ardından 15 sn boyunca 2W gücünde KTP lazerin 200 µm çapında fiber optik ucu ile apeksten koronale doğru kesintisiz dairesel hareketlerle lazer aktivasyonu yapıldı. Bu döngü 6 kez tekrar edildi. İrrigantın total volümü 7,5 ml oldu. Protokolün total zamanı ise 3 dak olarak belirlendi. Kanal içinde kalan bakteri sayımı yapıldı.

Grup 5, Süper okside su grubu: *E. faecalis* biyofilmi ile enfekte olan 20 dişin kök kanalları 50-80 mg/L konsantrasyonda, 5.5 ph' da redoks potansiyeli 850-1000 mV'den büyük hipoklorik asit (HOCL) içeren okside maddelerin karışımından meydana gelen süper okside su (Medilox; O-M Medical Dental Tekstil, Ankara, Türkiye) ile2,5 ml/dak. akış hızıyla 15 sn irrigasyonun ardından 15 sn boyunca 2W gücünde KTP lazerin 200 µm çapında fiber optik ucu ile apeksten koronale doğru kesintisiz dairesel hareketlerle lazer aktivasyonu yapıldı. Bu döngü 6 kez tekrar edildi.İrrigantın total volümü 7,5 ml oldu. Protokolün total zamanı ise 3 dak olarak belirlendi. Kanal içinde kalan bakteri sayımı yapıldı.

Grup 6, Ozonlu su grubu: TeknO3zone firması tarafından özel yapılan ozon jeneratörü (Şekil 3.2; TeknO3zone, İzmir/Türkiye) ile ozonlu su elde edildi. Elde edilen ozonlu suyun ozon miktarı, jeneratör'e bağlı reaksiyon tankında (Şekil 3.3) bulunan prob yardımı ile ölçüldü. Reaktör tankındaki distile suyun ozon yoğunluğu, jeneratör üzerindeki dijital göstergeden izlendi. *E. faecalis* ile enfekte olan 20 dişin kök kanalları 8 ppm ozonlu su 2,5 ml/dak akış hızıyla 15 sn irrigasyonun ardından 15 sn boyunca 2W gücünde KTP lazerin 200 µm çapında fiber optik ucu ile apeksten koronale doğru kesintisiz dairesel hareketlerle

lazer aktivasyonu yapıldı. Bu döngü 3 kez tekrar edildi.İrrigantın total volümü 7,5 ml oldu. Protokolün total zamanı 3 dak olarak belirlendi. Kanal içinde kalan bakteri sayıldı.



Şekil 3.2: Ozonlu su jeneratörü



Şekil 3.3: Ozonlu su reaktör tankı

3.4. Mikrobiyolojik sayım ve SEM incelenmesi

E. faecalis ile kontamine edilen ve gruplara ayrılan dişlere gerekli dezenfeksiyon prosedürleri yapıldıktan sonra 5 dak beklenilip irrije edilen solüsyon ile nemli olan kök kanallarına 40 numaralı steril kağıt konlar yerleştirilerek alınan örnekler 2 dak beklendikten sonra 5 ml BHI bulunan cam tüpler içerisine alındı. Eppendorf tüpler 5 dak süre ile vortekslelendikten sonra steril plastik özeler ile örnekler alındı ve kanlı besi yerlerinin ekim yapılmamış 2. yarısına ekim yapıldı. Ekim yapılan petri kutuları 37 °C sıcaklıktaki etüvde 24 saat bekletildi ve daha sonra Colony Forming Units (CFU) sınıflamasına göre sayım yapıldı. İlk ve son ekimler sonucunda elde edilen bakteri sayıları hesaplanarak, çalışma gruplarının antibakteriyel etkinlik göstergeleri kayıt edildi. Örnek olarak kullanılacak deney ve kontrol gruplarında kullanılan köklerden rastgele 2 tanesi steril separe ile dikey yönde ikiye ayrılıp kullanılan parçalar, görüntüleme öncesinde %4'lük gluteraldehit içerisinde 3 saat 4°C'de bekletilerek fikse edildi. Daha sonra artan konsantrasyonlardaki (%40, %50, %70, %80, %90, %100) etanol solüsyonlarında bekletilerek dehidratasyona maruz bırakıldı. Dehidrate örnekler oda ısısında kurutulduktan sonra altın-palladyum ile kaplandı ve SEM ile incelendi.

Çalışmamızın verileri SPSS (Ver:22.00) programına yüklenerek değerlendirilmiştir. Veriler değerlendirilirken tek yönlü ANOVA ve Tukey testi uygulanmıştır.

4.BULGULAR

Çalışmamızda elde edilen veriler değerlendirilerek aşağıdaki bulgulara ulaşıldı. *E. faecalis* biyofilmi oluşturulmuş örneklerden, dezenfektan ajanlarının işlem öncesi ve sonrasında alınan bakterilerin CFU sayım sonuçları (10^8 CFU/ml) Tablo 4.1’de sunulmuştur. Uygulama sonrası elde edilen sayım sonuçlarının logaritmaları alınıp minimum, maksimum, ortalama ve standart sapma, ortanca (median) değerleri Tablo 4.2’de gösterilmiştir. İşlem sonrası KTP lazer ile aktive edilen NaOCl, SF, süper okside su, ozonlu su, CHX ve EDTA’nın *E. faecalis* biyofilmini elimine etmede 10.000x büyütmedeki SEM görüntüleri sırasıyla Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6 de gösterilmiştir. *E. faecalis* biyofilmi ile enfekte edilen örneklerde işlem öncesi ve sonrasında kök kanallarından izole edilen bakterilerin kanlı agar besiyerindeki görüntülerinden kesitler Şekil 4.8’de gösterilmiştir.

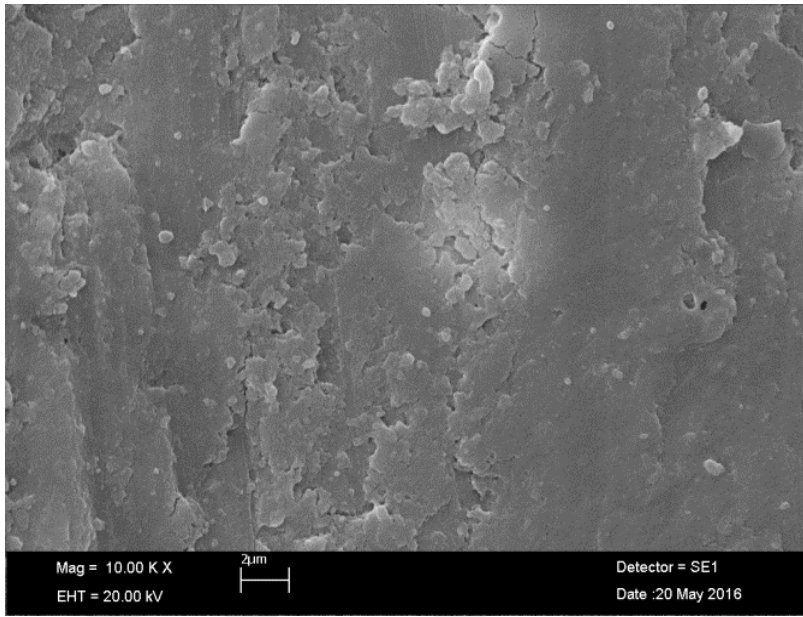
Tablo 4.1: *E. faecalis* ile enfekte edilen örneklerde, dezenfektan ajanlarının işlem öncesi (İ.Ö) ve sonrası (İ.S) gözlenen mikroorganizma CFU sayıları (10^8 CFU/ml).

| Grup 1 Serum Fizyolojik | | Grup 2 NaOCl | | Grup 3 Süper okside su | | Grup 4 Ozonlu su | | Grup 5 CHX | | Grup 6 EDTA | |
|----------------------------|--------|-----------------|-----|---------------------------|-------------------|---------------------|-------------------|---------------|-----------------|----------------|-------------------|
| İ.Ö | İ.S | İ.Ö | İ.S | İ.Ö | İ.S | İ.Ö | İ.S | İ.Ö | İ.S | İ.Ö | İ.S |
| 10^8 | 10^6 | 10^8 | 0 | 10^8 | $0,8 \times 10^1$ | 10^8 | $0,8 \times 10^1$ | 10^8 | 7×10^1 | 10^8 | 16×10^1 |
| 10^8 | 10^4 | 10^8 | 0 | 10^8 | $0,7 \times 10^1$ | 10^8 | $1,3 \times 10^1$ | 10^8 | 10^2 | 10^8 | $6,5 \times 10^2$ |
| 10^8 | 10^7 | 10^8 | 0 | 10^8 | 10^1 | 10^8 | $0,8 \times 10^1$ | 10^8 | 8×10^1 | 10^8 | 16×10^1 |
| 10^8 | 10^7 | 10^8 | 0 | 10^8 | $0,5 \times 10^1$ | 10^8 | $0,4 \times 10^1$ | 10^8 | 3×10^1 | 10^8 | $6,5 \times 10^2$ |
| 10^8 | 10^7 | 10^8 | 0 | 10^8 | $0,5 \times 10^1$ | 10^8 | $1,6 \times 10^1$ | 10^8 | 4×10^1 | 10^8 | 4×10^2 |
| 10^8 | 10^7 | 10^8 | 0 | 10^8 | $0,7 \times 10^1$ | 10^8 | $1,3 \times 10^1$ | 10^8 | 3×10^1 | 10^8 | 10^3 |
| 10^8 | 10^7 | 10^8 | 0 | 10^8 | $0,7 \times 10^1$ | 10^8 | $0,5 \times 10^1$ | 10^8 | 5×10^1 | 10^8 | 4×10^2 |
| 10^8 | 10^5 | 10^8 | 0 | 10^8 | $0,8 \times 10^1$ | 10^8 | 10^1 | 10^8 | 4×10^2 | 10^8 | 16×10^2 |
| 10^8 | 10^7 | 10^8 | 0 | 10^8 | $0,7 \times 10^1$ | 10^8 | $0,7 \times 10^1$ | 10^8 | 8×10^1 | 10^8 | 35×10^1 |
| 10^8 | 10^6 | 10^8 | 0 | 10^8 | $1,3 \times 10^1$ | 10^8 | 2×10^1 | 10^8 | 7×10^1 | 10^8 | 16×10^1 |
| 10^8 | 10^7 | 10^8 | 0 | 10^8 | 10^1 | 10^8 | $3,2 \times 10^1$ | 10^8 | 3×10^1 | 10^8 | $6,5 \times 10^2$ |
| 10^8 | 10^6 | 10^8 | 0 | 10^8 | $0,8 \times 10^1$ | 10^8 | $0,8 \times 10^1$ | 10^8 | 7×10^1 | 10^8 | $1,6 \times 10^2$ |
| 10^8 | 10^7 | 10^8 | 0 | 10^8 | $0,7 \times 10^1$ | 10^8 | $1,3 \times 10^1$ | 10^8 | 10^2 | 10^8 | $6,5 \times 10^2$ |
| 10^8 | 10^7 | 10^8 | 0 | 10^8 | 10^1 | 10^8 | $0,8 \times 10^1$ | 10^8 | 8×10^1 | 10^8 | $6,5 \times 10^2$ |
| 10^8 | 10^7 | 10^8 | 0 | 10^8 | $0,5 \times 10^1$ | 10^8 | $1,6 \times 10^1$ | 10^8 | 3×10^1 | 10^8 | 4×10^2 |
| 10^8 | 10^7 | 10^8 | 0 | 10^8 | $0,7 \times 10^1$ | 10^8 | $1,6 \times 10^1$ | 10^8 | 4×10^1 | 10^8 | 10^3 |
| 10^8 | 10^5 | 10^8 | 0 | 10^8 | $0,7 \times 10^1$ | 10^8 | $0,5 \times 10^1$ | 10^8 | 3×10^1 | 10^8 | 4×10^2 |
| 10^8 | 10^7 | 10^8 | 0 | 10^8 | $0,8 \times 10^1$ | 10^8 | 1×10^1 | 10^8 | 5×10^1 | 10^8 | 4×10^2 |
| 10^8 | 10^6 | 10^8 | 0 | 10^8 | $0,7 \times 10^1$ | 10^8 | $0,7 \times 10^1$ | 10^8 | 8×10^1 | 10^8 | $1,6 \times 10^3$ |
| 10^8 | 10^7 | 10^8 | 0 | 10^8 | 10^1 | 10^8 | 2×10^1 | 10^8 | 7×10^1 | 10^8 | $3,5 \times 10^2$ |

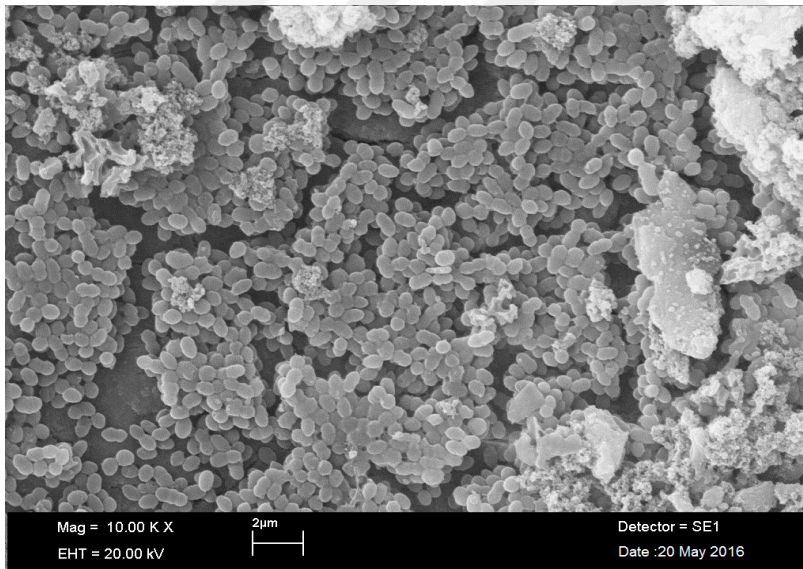
Tablo 4.2: *E. faecalis* grubuna ait uygulama sonrası elde edilen log CFU sayım değerlerine ait veriler ile gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar

| Gruplar | Minimum | Maximum | Ortalama \pm Standart sapma (Log CFU mL ⁻¹) | Median |
|-----------------------------------|---------|---------|---|--------|
| Grup 1 Serum fizyolojik | 4,000 | 7,000 | 6,36 \pm 1,03 | 7,000 |
| Grup 2 NaOCl | 0,000 | 0,000 | 0,00 \pm 0,00 | 0,000 |
| Grup 3 Süper okside Su | 0,700 | 1,100 | 0,86 \pm 0,13 ^a | 0,800 |
| Grup 4 Ozonlu Su | 0,600 | 1,500 | 1,10 \pm 0,27 ^a | 1,000 |
| Grup 5 CHX | 1,400 | 2,600 | 1,77 \pm 0,35 | 1,800 |
| Grup 6 EDTA | 2,200 | 3,300 | 2,71 \pm 0,35 | 2,600 |

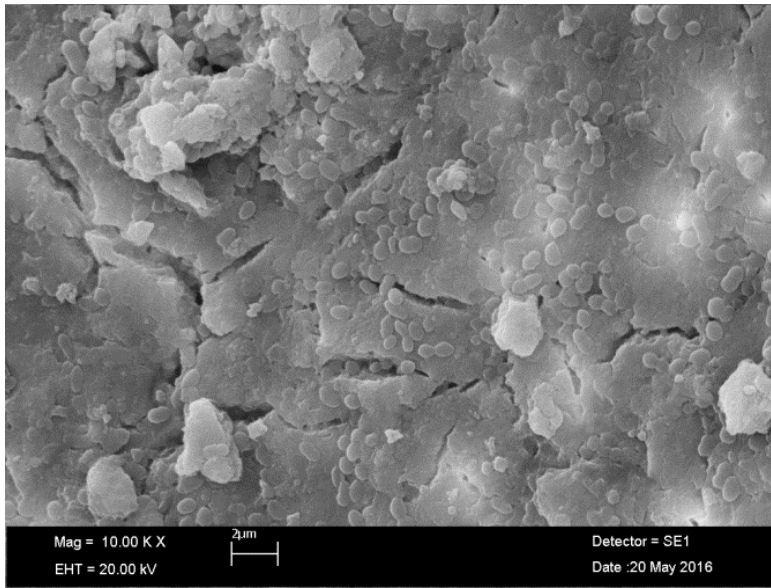
*Aynı üst simge ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak fark yoktur ($p>0,05$).



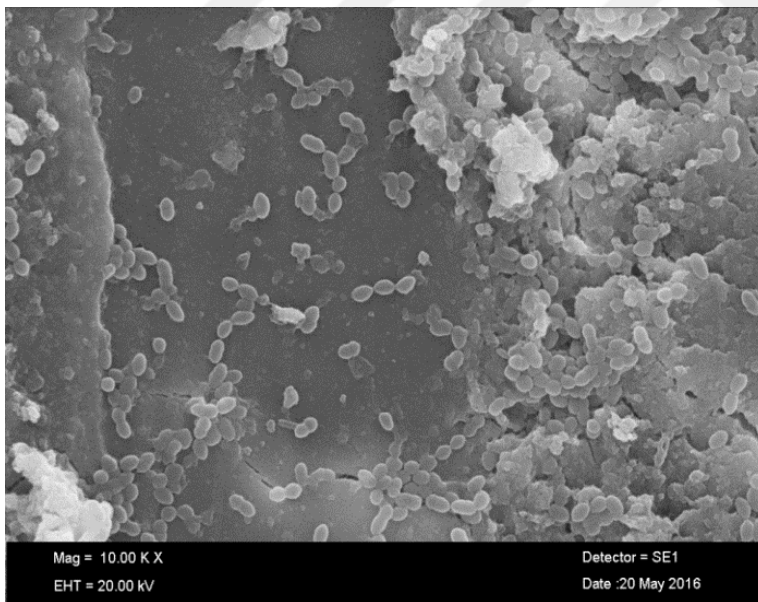
Şekil 4.1: KTP lazerin NaOCl irrigasyon solüsyonunu aktive etmesi sonucu *E. faecalis* biyofilmini tamamen elimine ettiği 10.000x büyütmedeki SEM görüntüleri



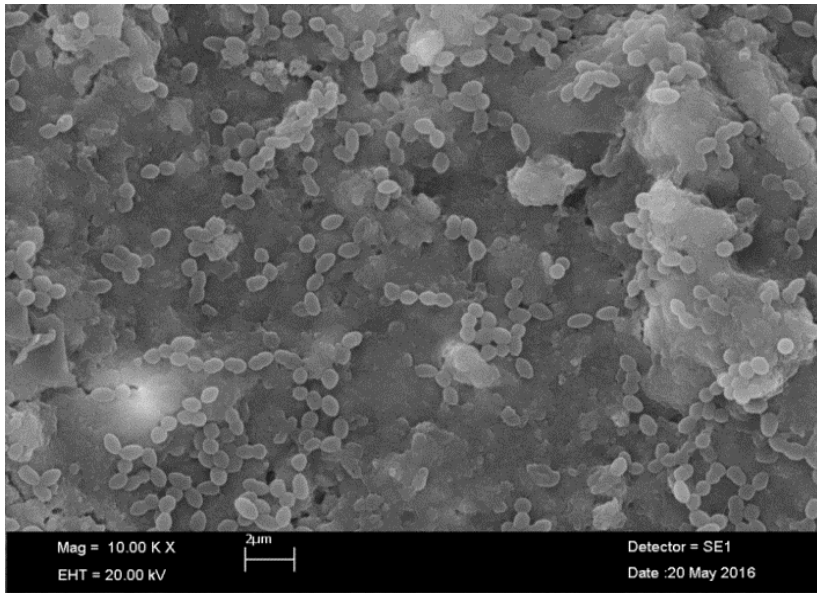
Şekil 4.2: KTP lazerin SF irrigasyon solüsyonunu aktive etmesi sonucu *E. faecalis* biyofilmini elimine etmede 10.000x büyütmedeki SEM görüntüleri



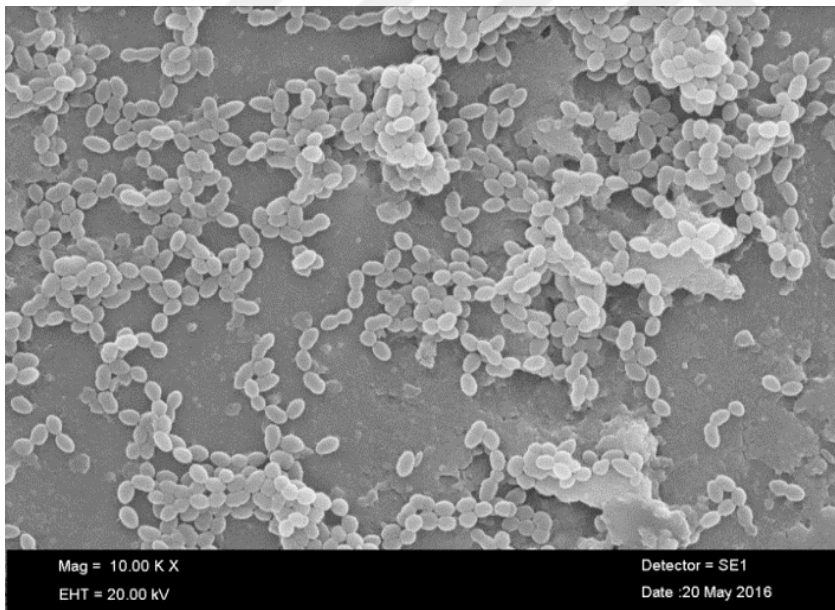
Şekil 4.3: KTP lazerin SPO irrigasyon solüsyonunu aktive etmesi sonucu *E. faecalis* biyofilmini elimine etmede 10.000x büyütmedeki SEM görüntüleri



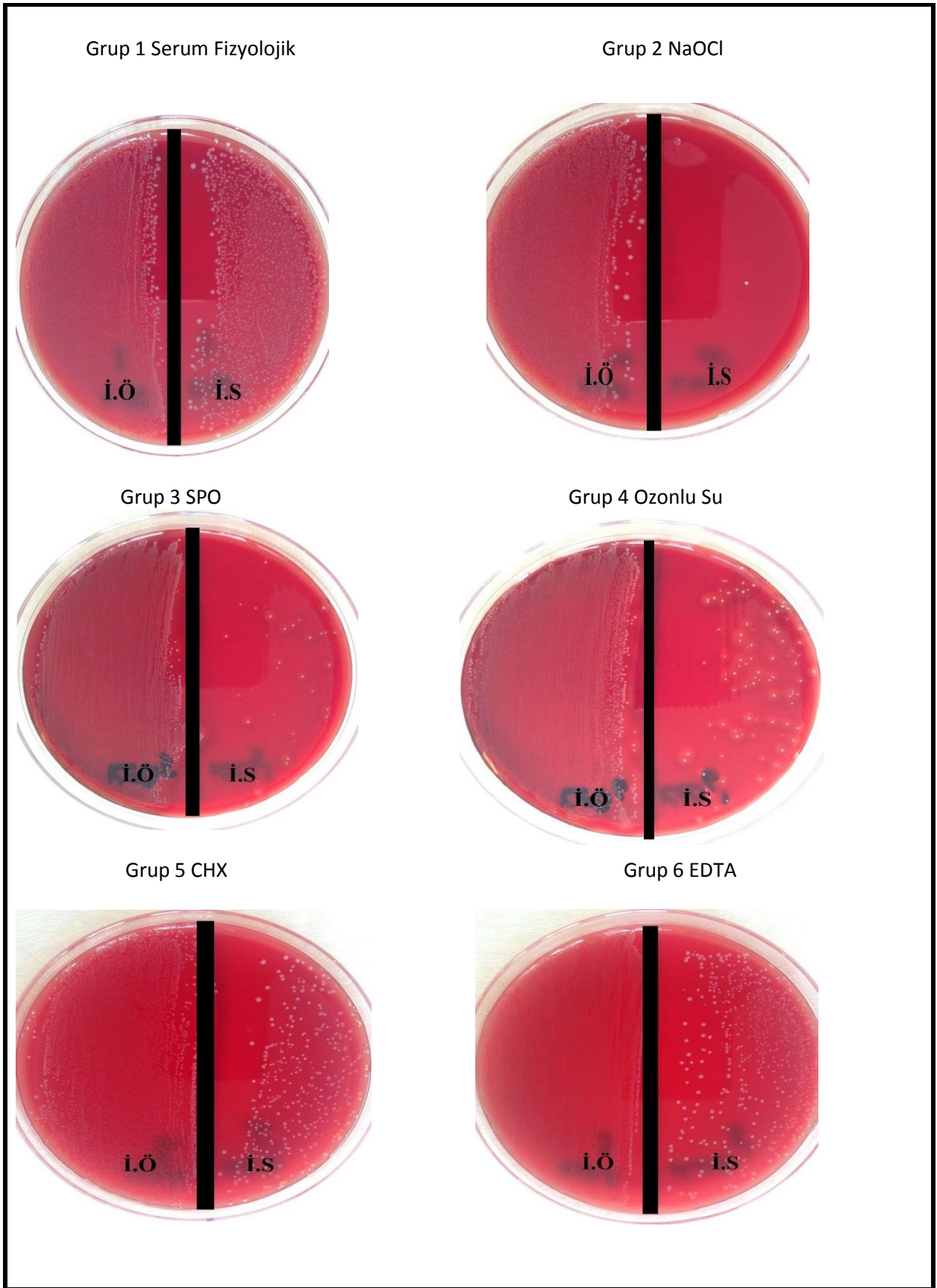
Şekil 4.4: KTP lazerin ozonlu su irrigasyon solüsyonunu aktive etmesi sonucu *E. faecalis* biyofilmini elimine etmede 10.000x büyütmedeki SEM görüntüleri



Şekil 4.5: KTP lazerin CHX irrigasyon solüsyonunu aktive etmesi sonucu *E. faecalis* biyofilmini elimine etmede 10.000x büyütmedeki SEM görüntüleri



Şekil 4.6: KTP lazerin EDTA irrigasyon solüsyonunu aktive etmesi sonucu *E. faecalis* biyofilmini elimine etmede 10.000x büyütmedeki SEM görüntüleri



Şekil 4.7: *E. faecalis* biyofilmi ile enfekte edilen örneklerde işlem öncesi ve sonrasında kök kanallarından izole edilen bakterilerin kanlı agar besiyerindeki görüntüsü

E. faecalis biyofilmi oluşturulmuş kök kanallarına 6 farklı irrigasyon ajanı ile yapılan dezenfeksiyon işlemleri sonrası ortaya çıkan bakteri koloni sayıları arasında yapılan istatistiksel değerlendirmede 6 farklı grup arasındaki fark anlamlı bulunmuştur. (F= 245,210; P= 0,000, P<0,05)

İkişerli gruplar arasındaki değerlendirmeler Tukey testi kullanılarak yapılmıştır. Bu testin sonuçlarına göre;

- ✓ Çalışmamızda negatif kontrol grubu amacıyla kullanılan Serum fizyolojik irrigasyon grubu ile diğer 5 grup arasında istatistiksel olarak fark anlamlı bulunmuştur. (P<0,05).
- ✓ Çalışmamızda pozitif kontrol grubu amacıyla kullanılan NaOCl irrigasyon grubu ile diğer 5 grup arasında istatistiksel olarak fark anlamlı bulunmuştur (P<0,05).
- ✓ Çalışmamızda kullandığımız ozonlu su ile süperoksit su irrigasyon grupları arasında istatistiksel olarak fark anlamlı bulunmamıştır (P>0,05). Ozonlu su grubu ile diğer deney grupları arasında istatistiksel olarak fark anlamlı bulunmuştur (P<0,05).
- ✓ Süperoksit su grubu ile diğer deney grupları arasında istatistiksel olarak fark anlamlı bulunmuştur (P<0,05).
- ✓ Çalışmamızda kullandığımız CHX irrigasyon grubu ile diğer deney grupları arasında istatistiksel olarak fark anlamlı bulunmuştur (P<0,05).
- ✓ Çalışmamızda kullandığımız EDTA irrigasyon grubu ile diğer deney grupları arasında istatistiksel olarak fark anlamlı bulunmuştur (P<0,05).

Sonuç itibarıyla *E. faecalis* biyofilmi oluşturulmuş kök kanallarındaki en yüksek antibakteriyel etkiyi NaOCl grubu gösterirken, bunu sırasıyla ozonlu su ve süperoksit su, CHX, EDTA grupları takip etmektedir. Tüm çalışma grupları arasında en düşük antibakteriyel etkiyi serum fizyolojik grubu göstermiştir. Deney grupları arasında enjekte kök kanallarında en güçlü antibakteriyel etkiyi süper oksit su ve ozonlu su göstermiştir.

5.TARTIŞMA

Bu çalışmanın amacı, KTP lazer aktivasyonu ile yapılan irrigasyonun kök kanalları içerisinde oluşturulan *E. faecalis* biyofilmleri üzerine antimikrobiyal etkinliklerinin taramalı elektron mikroskobu ile *in vitro* değerlendirilmesidir.

Çalışmamızda çekilmiş tek kök tek kanallı dişlerin kök dentin duvarlarında mono kültür olarak *E. faecalis* biyofilmleri 1 ay süreyle *in vitro* olarak oluşturulmuştur. İlk aşamada oluşturulan *E. faecalis* biyofilmlerinin varlığı ve *E. faecalis*'in dentin tübüllerine penetrasyonu taramalı elektron mikroskobu ile belirlenmiştir. İkinci aşamada ise, KTP lazer ile aktive edilen irrigasyon solüsyonlarının kanal içerisinde oluşturulan *E. faecalis* biyofilmleri üzerindeki biyofilm eliminasyon etkinliği saptanmıştır.

Biyofilm oluşumunun ilk evresi bakterilerin bir yüzeye tutunmaları ile başlamaktadır. *In vitro* biyofilm oluşturma aşamalarında birçok çalışmada farklı yüzeyler kullanılmıştır. Bu yüzeyler; çekilmiş dişlerden, hidroksiapatit disklerinden ve boncuklarından, cam çubuklardan, polisitiren yüzeylerden oluşmaktadır (122-128). Bizim çalışmamızda çekilmiş dişlerden elde edilen kökler biyofilm oluşumunda kullanılmıştır.

Çalışmamızda *E. faecalis* biyofilminin kullanılma amacı, bu bakterinin kimyasal ve mekanik işlemlere karşı oldukça dirençli olup tedavi başarısızlıklarının temel etkenlerinden biri olmasıdır. *E. faecalis*, dirençli apikal enflamasyona neden olan ve monokültürlerde bulunan fakültatif anaerobik gram (+) bir test mikroorganizmasıdır (129). *E. faecalis* kök kanal tedavi sonrası oluşan başarısızlıklarda ana etken olan bakteridir (130). Düşük beslenme şartları ve kök kanal tedavisi sırasında kullanılan ilaçlara direnci sayesinde zor şartlarda da canlılığını sürdürebilmektedir (131).

Pinheiro ve ark. (129) başarısız kök kanal tedavilerinin %52,94'ünde *E. faecalis*'i izole etmişlerdir. Bu oranları, *E. faecalis*'in yaşamsal ve virülans faktörlerinin fazla oluşu, diğer mikroorganizmalara oranla dentin tübüllerine daha yoğun invazyon göstererek diğer mikroorganizmaların yaşamasına olanak bırakmayacak şekilde ortamdaki besinleri tüketmeleri ile açıklamışlardır.

Orstavik ve Haapasalo (132) yaptıkları çalışmada sıgır dişi dentin örneklerini *E. faecalis*, *S. Sanguis*, *E. Coli* ve *P. Aeruginosa* ile enfekte ettikleri bir çalışmada 14 günlük inkübasyon sürecinin sonunda SEM ile incelemişlerdir. *E. faecalis* ve *S. Sanguis*'in tüm tübül uzunluğu boyunca penetre olabildiklerini, *E. Coli*'nin en fazla 600 µm penetre olabildiğini ve *P. Aeruginosa*'nın ise dentin tübüllerinde güçle tespit edilebildiğini

bildirmişlerdir. Bakterilerin adezyonu adezin adı verilen bakteriyel hücre yüzey komponentleriyle sağlanır (133). Ace, enterokokları tip 1 kollajene ve ekstrasellüler matrikse bağlayan bir proteindir. Dentinin temel organik maddesi tip 1 kollajendir ve *E. faecalis*'i dentine bağlayan ana substrat olarak düşünülmektedir (134).

Mikroorganizmalar çoğunlukla yüzeylere tutunarak organize olabilen mikrobiyal topluluklar meydana getirme eğiliminde olduklarından dolayı test sistemlerinde planktonik mikroorganizmaların kullanılması *in vivo* koşulları tam olarak yansıtmaz (135). Biyofilm içindeki bakteriler planktonik koşullarda gelişmiş bakterilerle kıyaslandığı zaman antimikrobiyal ajanlara karşı karakteristik biçimde artmış dirence sahiptir (136).

Biyofilm ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda biyofilm oluşturmak için gereken süre farklılıklar göstermektedir. Yirmi dört saatten 6 haftaya kadar değişen sürelerde biyofilm oluşturulmuş ve antimikrobiyal ajanların etkinlikleri değerlendirilmiştir (17, 137). Fakat yapılan çalışmalarda biyofilm oluşum süresi ile ilgili olarak bir standardizasyon belirlenememiştir. Bizim çalışmamızda matür biyofilm oluşturmak amacı ile 4 hafta boyunca iki günde bir taze *E. faecalis* süspansiyonu köklerin içine enjekte edilerek bekletilmiştir.

Tez çalışmamız kapsamında diş dokusunda oluşan biyofilm örneklerimizi görüntülemek amacıyla SEM tekniği kullanılmıştır. Taramalı elektron mikroskopu diş içinde biyofilm oluşumunun gözlenmesinde literatürde sıklıkla kullanılmıştır (138, 139). Yañez ve ark. (140) görüntülemeye SEM tekniklerinin kullanılmasının mükemmel alan derinliği sağladığını ve morfolojiyi tanımlamaya oldukça elverişli olduğunu bildirmişlerdir. Ono ve ark. (141) SEM yönteminin, diş dokuları ve restoratif sistemlerin dinamik yüzeylerinin analizinde en sık kullanılan tekniklerinden birisi olduğunu rapor etmişlerdir. Buna karşın SEM ile sadece 2 boyutlu görüntüler elde edilebilmekte ve görüntülenen yapıların topografik değerlendirmeleri yapılabilmektedir. Biyofilmler çok tabakalı yapılar olup SEM ile bu yapıların tüm derinliğini analiz etmek mümkün değildir. Dolayısıyla bu teknikte elde edilen görüntülerin nitel veya yarı nitel değerlendirmeleri yapılabilmektedir. Çok tabakalı olan biyofilm yapısının 3 boyutlu derinliğinin incelenememesi dezavantajdır (142).

Çalışmamızda, sıvı-debris taşması için tanımlanan lastik kapaklı cam şişe metodu modifiye edilerek kullanıldı. Preparasyon işlemleri tamamlanan dişler, irrigasyon solüsyonlarının uygulanması esnasında çalışma kolaylığı elde etmek ve standardizasyonu sağlamak amacıyla lastik kapaklı cam şişelere apikal kısımları kapak kapatıldığında şişe içinde kalacak şekilde yerleştirildi (143).

İnsan veya hayvan diş modellerinde antibakteriyel ajanların etkinliği araştırılırken en çok kullanılan değerlendirme yöntemi, çeşitli mikrobiyolojik tekniklerle kök kanallarından elde edilen örneklerdeki canlı kalmış mikroorganizma miktarının tespit edildiği mikrobiyolojik sayım yöntemleridir. Mikrobiyolojik sayımlarda kök kanalından örnek alınması sırasında sıklıkla iki yöntem kullanılmaktadır. Bunlardan ilki enfekte dentin talaşının örnek olarak alınması, ikincisi ise steril kağıt konuların kanal içerisine yerleştirilmesi ve belli bir süre kanalda bekletilen bu konuların aseptik şartlarda besi yerine transfer edilmesidir. Çalışmamızda kök kanallarında dentin talaşları elimine edilmiş olduğundan dolayı örneklerin alınması ve besiyerlerine taşınmasında steril kağıt konular kullanılmıştır (144-146). Lazer ışını ile aktive edilen irrigasyon solüsyonlarının uygulanmasının öncesi ve sonrasında olmak üzere steril kağıt konular kullanılarak kök kanallarından besi yerlerine bakteri transferi yapılmıştır. Transfer edilen canlı kalan bakterilerin katı besi yerinde koloni oluşturabilme potansiyelini koruyan kısmı CFU sınıflamasına göre tedavi öncesi ve sonrası olarak ayrı ayrı sayılmıştır. İlk ve son sayımlar arasındaki fark bakterideki azalmayı gösterecek şekilde yüzdesi alınarak hesaplanmıştır.

Lazer diş hekimliğinde temel olarak cerrahi, periodontal işlemler ve operatif işlemlerde kullanılır. Bununla birlikte endodonti alanında da lazer kullanımının oldukça yüksek bir potansiyeli vardır.

Bizim çalışmamızda dalga boyu yarıya indirilmiş Nd:YAG lazer sistemine sahip olan KTP lazer ile endodontik tedavilerde kullanılan farklı irrigasyon solüsyonlarının aktive edilmesi ve böylece bu dezenfeksiyon prosedürünün kök kanallarındaki antibiyofilm etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Literatürde KTP lazer ile ilgili yeterince çalışma bulunmamaktadır. Bu yüzden KTP lazer dalga boyu yarıya indirilmiş Nd:YAG lazer sistemi olduğundan; Nd:YAG lazer sistemi ile ilgili literatürde geçen bazı çalışmalara tartışmamızda yer verilmiştir (147, 148).

Nd:YAG lazerler, smear tabakasının kaldırılması, debrisin uzaklaştırılması, kök kanal sisteminin temizlenmesi, şekillendirilmesi, dezenfeksiyonu ve apisektomi sonrası apikal bölgenin kaplanması sıklıkla tercih edilen cihazlardır. Nd:YAG lazerin periapikal enflamasyonu azalttığı, kök kanal lümeninin kurummasını hızlandırdığı ve dentini uzaklaştırırken bakterisidal etki oluşturduğu tespit edilmiştir (147, 148).

E. faecalis ile enfekte kök kanallarına 15 Hz ve 1,5 Watt enerji seviyesinde Nd:YAG lazer uygulanan bir çalışmada; Nd:YAG lazer uygulaması sonrasında %99,7 oranında

bakteriyel azalma saptanmıştır. Ancak kök kanallarında tam bir sterilizasyon tespit edilememiştir (149).

Gutknecht ve ark. (150) 1,5 W enerji seviyesinde 15 Hz darbe frekansında uyguladıkları Nd:YAG lazerin %97,12-99,91 oranında antibakteriyel etki oluşturduğunu tespit etmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada Nd:YAG lazer ışınlarının kanaldan uzak dentinde bulunan gram pozitif ve gram negatif mikroorganizmalar üzerine, yüksek antimikrobiyal etki gösterdiği bildirilmiştir. *E. faecalis* gibi mikroorganizmaların lazer ışınına karşı oldukça hassas olduğu belirtilmiştir (151).

Schoop ve ark. (152) KTP lazeri *E. faecalis* üzerine 1 W uyguladıklarında mikroorganizma sayısında önemli bir azalma olurken, 1,5 W uyguladıklarında etkinliğinin daha fazla olduğunu göstermiş olduklarından bizim de çalışmamızda irrigasyonu daha etkin hale getirebileceği düşünülmüş ve KTP lazer 2W gücünde uygulanmıştır. Dentin yüzeyinde daha homojen bir etki sağlamak için lazer ışınının, sadece fiber optik kablonun uç kısmından değil de, lateral kısımlarından uygulanması gerekmektedir. Bu nedenle çalışmamızda fiber optik uç dairesel hareketlerle, apikalden koronale doğru uygulanmıştır.

Meire ve ark. (153) Nd:YAG ve KTP, PAD lazer sistemleri ile konvansiyonel irrigasyonu, enfekte kök modelinde antibakteriyel etkinlikleri bakımından kıyaslamışlar ve konvansiyonel irrigasyonun %2,5 NaOCl solüsyonu ile 5 dak uygulandığı bu çalışmada, diğer lazer gruplarına göre daha etkin olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada olduğu gibi KTP lazerin antimikrobiyal etkinliğinin zayıf bulunması ile ilgili birkaç faktör sayılabilir. Lazerler sadece odaklandığı bölgeye enerji vermektedir. Bu yüzden de kanal içerisinde sadece temas ettiği yüzeylere etkili olmaktadır. Ayrıca KTP lazerin dalga boyunun düşük olması, penetrasyon derinliğinin daha az olması ve endodontik patojenlerin çok tabakalı olarak üreyebilmeleri gibi dezavantajları vardır.

Lazerle aktive edilen irrigasyon tekniğinin temizleme etkinliği; darbe atımlarının sonucu oluşan buhar kabarcığının dinamiğine bağlıdır. Lazerin her atımı sıvı akışını hızlandırırken, konvansiyonel irrigasyonda sabit akış hızı gözlemlenmektedir. Dolayısıyla lazerle aktivasyon, konvansiyonel irrigasyona göre daha başarılıdır. Biz de çalışmamızda bu yüzden KTP lazer ile farklı irrigasyon solüsyonlarını aktive ettik.

Kök kanal irrigasyon solüsyonlarının hangi pH, konsantrasyon ve hacimde daha etkin olduklarını araştıran birçok çalışma bulunmaktadır (13, 72). Irrigasyon solüsyonunun etkinliğinde; konsantrasyon, uygulama hacmi, uygulama süresi, sıcaklık ve pH seviyesinin

önemli olduğu bildirilmiştir (154). Çalışmamızda test edilen irrigasyon solüsyonlarının hepsi oda sıcaklığında, aynı hacimde ve bilinen en etkin konsantrasyonlarında kullanılmıştır.

Çalışmamızın sonuçlarına göre pozitif kontrol grubu olarak kullandığımız 2 W gücündeki KTP lazer ile aktive ettiğimiz %5,25'lik NaOCl, hem kültür yöntemlerinde hem de SEM incelenmesinde *E. faecalis* biyofilmini elimine etmede en etkili ajan olarak bulunmuştur.

Retamozo ve ark.(155) *E. faecalis* ile enfekte edilen dentin örneklerini dezenfekte etmek için yeterli NaOCl konsantrasyonunu ve irrigasyon süresini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmalarında, sıgır kesici dişlerinden elde ettikleri 450 dentin örneğini kullanmışlardır. Bu örnekleri *E. faecalis* ile enfekte ettikten sonra %1,3, %2,5, %5,25'lik konsantrasyonlarda NaOCl solüsyonunu 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 ve 40 dak'lık sürelerde uygulamışlardır. Çalışmalarının sonunda %5,25'lik NaOCl solüsyonunun 40 dak uygulanması ile en etkili sonucu aldıklarını ve aynı sürede %1,3 ve %2,5'lük NaOCl uygulamasının *E. faecalis*'i elimine etmede yetersiz kaldığını bildirmişlerdir. *E. faecalis* ile kontamine dentinde tam bir eliminasyon sağlamak için NaOCl'in yüksek konsantrasyonuna ve uzun uygulama süresine gerek duyulduğunu vurgulamışlardır.

Tetraacetythylenediamine-sodium perborate (TAED-SP) , %2,5 ve %5 NaOCl'nin *E. faecalise* karşı antimikrobiyal etkinliğinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, TAED-SP ve %5'lik NaOCl'nin, %2,5 oranında kullanılan NaOCl'ye göre *E. faecalis*'e karşı antimikrobiyal etkinliğinin daha fazla olduğu belirtilmiştir (156).

980 µm dalga boyunda diod lazer ve %5,25 lik NaOCl nin *E. faecalise* karşı antibakteriyel etkinliğinin karşılaştırıldığı bir çalışmada; NaOCl nin diod lazer ile karşılaştırıldığında, %99,87 oranında *E. faecalis*'i elimine etmede başarılı olduğu belirtilmiştir (157).

Planktonik ve biyofilm halinde bulunan *E. faecalise* karşı NaOCl ve CHX'in tek başına, her ikisinde setrimid ile kombine edilmiş halleri ve QMIX irrigasyon solüsyonları kullanılarak etkinliklerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada; planktonik haldeki bütün mikroorganizmaların kullanılan bütün solüsyonlarla elimine edildiği ancak biyofilm halindeki *E. faecalis*in yalnızca NaOCl ve setrimid ile kombine edilen NaOCl ile elimine olduğu bildirilmiştir (158).

E. faecalis ile enfekte kök kanallarındaki derin dentin tübüllerinde Er:YAG lazer ile kombine edilen NaOCl'in bakterisidal etkisinin incelendiği bir çalışmada; bu

kombinasyonun 200 µm den 500 µm ye kadar derin dentin tübüllerini dezenfekte ettiği belirtilmiştir (159).

5,25'lik NaOCl, MTAD, Tetraclean' nin *E. faecalis* biyofilmine karşı antimikrobiyal etkinliklerinin değerlendirildiği bir çalışmada beş dak içinde *E. faecalis* biyofilmini yok edebilen tek solüsyonun %5,25'lik NaOCl olduğu, MTAD ve Tetraclean'in ise total eliminasyon için daha uzun bir süreye ihtiyaç duydukları belirtilmiştir (160).

Planktonik ve biyofilm formunda bulunan *E. faecalis*'e karşı çeşitli irrigasyon solüsyonlarının etkinliklerinin değerlendirildiği bir diğer çalışmada; %3 oranında kullanılan NaOCl'in en etkili ajan olduğu ve her iki formda bulunan *E. faecalis*' i 2 dak'lık bir sürede elimine ettiği bildirilmiştir (107).

Bu çalışmaların sonuçlarının ışığında pozitif kontrol grubu olarak %5,25'lik NaOCl'in *E. faecalis* biyofilmi üzerindeki antimikrobiyal etkinliği incelenmiş ve çalışmamızın sonuçları yukarıda bahsedilen mevcut çalışma sonuçları ile benzerlik göstermiştir (108, 159, 161).

NaOCl, H₂O₂, EDTA, CHX, kalsiyum hidroksit ve serum fizyolojinin antimikrobiyal etkilerinin anaerob bakteriler üzerinde değerlendirmek amacıyla yapılan bir çalışmada serum fizyolojinin tamamen etkisiz olduğu ifade edilmiştir (161).

Serum fizyolojik ve %0,5'lik NaOCl solüsyonunun gram (-) ve gram (+) mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkinliğinin karşılaştırıldığı bir çalışmadan elde edilen bulgulara göre serum fizyolojik solüsyonunun kök kanalındaki mikroorganizma sayısında bir miktar azalmaya neden olmasına rağmen yıkama solüsyonu olarak NaOCl kullanıldığında daha üstün bir antimikrobiyal etki oluştuğu gösterilmiştir (162). Ayrıca serum fizyolojik solüsyonunun doku çözücü özelliği yoktur (163) ve smear tabakasını kaldıramaz (164). Bu gibi limitasyonlarına rağmen lazer ile aktive edilen serum fizyolojik solüsyonunun enjektör ile yapılan geleneksel irrigasyon tekniğine göre, smear tabakasını kaldırabildiği (165) ve antibakteriyel etkisi olduğu (166) bildirilmiştir. Bunun yanında lazer ile aktive edilen serum fizyolojik solüsyonunun enjektör ile yapılan geleneksel irrigasyon tekniği kullanılarak uygulanan NaOCl'ye göre oldukça düşük bir antibakteriyel etkiye sahiptir (166).

Görüldüğü gibi lazer ile aktive edilen serum fizyolojik solüsyonu bakteriyel tabakayı azaltmada yeteri kadar etkili değildir. Bizim de çalışmamızda negatif kontrol grubu olarak kullandığımız serum fizyolojik solüsyonu bütün gruplar içerisinde en etkisiz ajan olarak

bulunmasına rağmen, yukarıdaki literatür çalışmalarına paralel olarak bakteri sayısında bir miktar azalmaya neden olmuştur.

EDTA'nın aktif antimikrobiyal etkisi olmayan kimyasal bir ajan olduğu söylene de, kök kanal duvarlarında oluşan smear tabakasının inorganik komponentini kaldırarak kanal içi bakteri sayısında azalmaya neden olduğu bilinmektedir (167).

EDTA, gram negatif bakterilerin hücre zarı katyonları ile birleşerek lipopolisakkarit salınımına neden olarak hücrenin yapısını bozabilmektedir. Yapılan *in vitro* bir çalışmada, %15'lik EDTA'nın kök kanalında 1 dak bekletildikten sonra *E. faecalis* biyofilmlerini ortadan kaldırabildiği gösterilmiştir (168).

Yapılan *ex vivo* bir çalışmada ise, %17 EDTA'nın 24 saat sonunda *E. faecalis* biyofilm formasyonunu %44 oranında inhibe ettiği gösterilmiştir (169). Buna rağmen, kök kanallarında ve dentin tübüllerinde kuvvetli bir antimikrobiyal ajan değildir ve *E. faecalis* gibi gram pozitif bakteriler üzerinde etkisi bulunmamaktadır (167, 170).

%17 EDTA, %2 CHX, %0.2 setrimid, MTAD ve QMix'in *E. faecalis* biyofilm formasyonuna karşı antibakteriyel etkinliklerinin dentin bloklarında 2 dak süreyle incelendiği bir çalışmada, %17'lik EDTA'nın *E. faecalis* biyofilm formasyonuna karşı antibakteriyel aktivitesi daha düşük bulunmuştur (171).

%5,25 NaOCl, %10 sitrik asit, %17 EDTA, %3 H₂O₂, 0.2% setrimid ve kontrol grubu olarak serum fizyolojik solüsyonunun kök kanallarındaki *E. faecalis* ve *E. Coli*'ye karşı antimikrobiyal etkinliklerinin değerlendirildiği çalışmada, her iki grupta da %17'lik EDTA solüsyonunun en düşük antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğu bildirilmiştir (172).

E. faecalis ile enfekte edilmiş insan dişi modellerinin %0.2'lik EDTA solüsyonunda 1 dak bekletildiği bir çalışmada, örneklerin %37'sinde bakteri popülasyonunun tamamen elimine edildiği ancak, %5,25'lik NaOCl solüsyonuna göre daha az antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu söylenmiştir (173).

Dunavant ve ark. (72) yaptıkları çalışmalarında, %6'lık NaOCl solüsyonunun *E. faecalis* biyofilmlerini %99.99 oranında elimine ederken, %17'lik EDTA ve su karışımı olan REDTA solüsyonunun *E. faecalis* biyofilmlerini %26.99 oranında elimine edebildiğini saptamışlardır. Ayrıca araştırmacılar 1 ve 5 dak uyguladıkları irrigasyon solüsyonlarının değerlendirilmesinde uygulanan süre ile bakteri eliminasyonu oranı arasında anlamlı bir ilişki bulamamışlardır.

Bizim çalışmamızda da yukarıdaki literatür bilgilerine paralel olarak %17'lik EDTA solüsyonu *E. faecalis* biyofilmini elimine etmede diğer deney gruplarına kıyasla daha

başarısız bulunmuştur. Diğer deney gruplarına göre antibiyofilm etkisinin daha az olması düşük antimikrobiyal özelliğine bağlanabilir. Buna ilaveten EDTA gibi şelasyon ajanları veya asitlerin kök kanallarının irrigasyonu işleminde kullanılması sonucu ortaya koydukları yetersiz antimikrobiyal etki bu ajanların dentinin sadece inorganik yapısını uzaklaştırmaları, kollagen lifleri açığa çıkarmaları ve *E. faecalis*'in adezyonu için uygun bir ortam oluşturmalarına bağlanabilir (174).

Uzun yıllardan beri periodontolojide ağız gargarası olarak kullanılan CHX, endodontide de irrigasyon solüsyonu ve kanal içi medikament olarak kullanılmaktadır (175). CHX ile ilgili çalışmalarda bu irrigasyon solüsyonunun %0,2, %1 ve %2'lik konsantrasyonları kullanılmıştır (176, 177). CHX'in *E. faecalis*'e karşı antibakteriyel özellik gösterdiği pek çokaraştırmacı tarafından bildirilmiştir (178, 179).

Kök kanallarında çeşitli irrigasyon solüsyonlarının farklı bakterilerin biyofilm formları üzerindeki antimikrobiyal etkilerini LSCM ile değerlendirildiği bir çalışmada, %1'lik NaOCl en etkili solüsyon olarak bulunmuştur. %2,5 oranında kullanılan CHX solüsyonu ise *E. faecalis* dahil test edilen bütün mikroorganizmaların biyofilm formlarını elimine etmede yetersiz olarak bulunmuştur (135).

%2,25 NaOCl, %0,2 CHX ve %10 povidin iyodin kullanılarak monokültür halinde *E. faecalis*'in de bulunduğu çeşitli mikroorganizmaların biyofilm formlarına karşı etkilerinin karşılaştırıldığı çalışmada, NaOCl'yi en etkili ajan olarak bulmuşlar, bunu povidin iyodinin takip ettiğini bildirmişlerdir (16).

Kök kanallarında çeşitli irrigasyon solüsyonlarının *E. faecalis* biyofilmine karşı etkilerine bakılan bir çalışmada %2 oranında 1 ve 5 dak kullanılan CHX solüsyonunun uygulanan zaman arasında anlamlı bir fark bulunamamış ve %2'lik CHX'in *E. faecalis* biyofilmini yok etme oranı %60,49 olarak bulunmuştur (72).

Williamson ve ark. (180) yaptıkları bir çalışmada %2'lik CHX'i %6 oranında kullanılan NaOCl'ye karşı *E. faecalis* biyofilmini elimine etmede daha az etkili bulunmuştur.

E. faecalis biyofilmine karşı NaOCl, EDTA, sitrik asit, fosforik asit ve %2'lik CHX etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada NaOCl en etkili ajan olarak bulunurken; onu %2'lik CHX takip etmekte olup; EDTA, sitrik asit ve fosforik asit *E. faecalis* biyofilmine karşı etkisiz olarak bulunmuştur (38).

Bu bilgiler ışığında biz de çalışmamızda deney gruplarından biri olarak %2 konsantrasyonunda CHX kullanmayı tercih ettik. Yukarıda bahsedilen literatür bilgilerine

paralel olarak bizim çalışmamızda da %2 konsantrasyonunda kullandığımız CHX solüsyonu *E. faecalis* biyofilmini elimine etmede %17'lik EDTA solüsyonuna göre daha başarılı bulunurken diğer deney gruplarına kıyasla daha başarısız bulunmuştur.

Literatürde çalışmamızın sonuçlarıyla paralellik göstermeyen çalışmalar da mevcuttur. Tek köklü maksiller dişlerin kanallarına 60 gün boyunca *E. faecalis* inoküle edilmiş ve daha sonra ozonlu su, gaz ozon, %2,5'lik NaOCl ve %2'lik CHX yıkama solüsyonlarının antibakteriyel etkinliklerinin incelendiği bir çalışmada kullanılan hiçbir yıkama solüsyonunun 20 dak'lık temas süresinde *E. faecalis*'e karşı antimikrobiyal etki göstermediği bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise %5,25 oranında kullandığımız NaOCl solüsyonu *E. faecalis* biyofilmini tamamen elimine ettiği gibi, %2'lik CHX solüsyonu biyofilm tabakasında azalma meydana getirmiştir. Farklı bulguların inkübasyon zamanı ve bakterinin elde edilme yönteminin farklı olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz (181).

In vivo olarak yapılan bir çalışmada planktonik formdaki *E. faecalis*'i %2'lik CHX'in 15 örneğin 12 tanesinden, %5,25'lik NaOCl'nin ise 15 örneğin 11 tanesinden elimine ettiği bildirilmiştir (182). Bu bulgunun, bizim çalışma sonucu ile farklılık göstermesinin nedenlerini *in vivo* ve *in vitro* deney koşullarındaki farklılıklara ve Waltimo ve ark. (183) ortaya koyduğu gibi *E. faecalis*'in biyofilm şeklinde çoğaltılmasının planktonik süspansiyonda çoğaltılan türünden daha fazla CHX'e direnç gösterebilmesi sonucuna bağlayabiliriz.

Çalışmamızın sonucunda elde ettiğimiz verilere göre, ozonlu su ile SPO arasında antibiyofilm etkinlik açısından anlamlı bir fark bulunamamasına rağmen, SPO'nun ozonlu suya kıyasla işlem sonrası kök kanallarından elde edilen *E. faecalis* bakteri sayısı açısından daha fazla bir eliminasyon meydana getirdiği görülmüştür. Her iki deney grubunda CHX ve EDTA solüsyonlarına göre *E. faecalis* biyofilmini yok etmede daha başarılı bulunmuştur.

Ozonun mikrobiyolojik ve metabolik özellikleri hem ozon gazını hem de ozonlu suyu oldukça faydalı hale getirmektedir (184). Yapılan çalışmalarda gaz ozon ve ozonlu suyun bakteri, mantar, protozoa ve virüslere karşı oldukça güçlü ve güvenilir bir ajan olduğu bildirilmiştir (43, 185).

Nagayoshi ve ark. (184) yaptıkları bir çalışmada, ozonlu suyun manuel veya ultrasonik teknikle uygulanmasının *E. faecalis* ve *S. mutans* bakterileri ile enfekte edilmiş sığır dişlerinin kök kanalları üzerindeki antimikrobiyal etkisini incelemişlerdir. Sonuç olarak, ultrasonik teknikle uygulanan ozonlu suyun bu bakterileri önemli ölçüde elimine ettiğini saptamışlardır. Bunun yanısıra ozonlu suyun *E. faecalis* ve *S. mutans*

mikroorganizmaları ile enfekte edilen kök kanallarına ultrasonik olarak uygulanması sonucu görülen antimikrobiyal etkinliğin %2,5'lik NaOCl ile yapılan irrigasyon sonucu elde edilen bulgularla çok yakın olduğu ortaya koymuşlardır. Ayrıca ozonlu suyun kültür edilen hücreler üzerinde düşük toksisite gösterdiğini bildirmişlerdir.

Cardoso ve ark. (186) yaptıkları çalışmada ozonlu suyun *C. Albicans*, *E. faecalis* ve *E. coli* endotoksinini elimine etmedeki etkilerini incelemişlerdir. 24 adet tek köklü insan dişine *C. albicans* ve *E. faecalis*, diğer 24 örneğe de *E. coli* endotoksini inoküle etmişler; işlemden hemen sonra ve ozonlu suyun rezidüel etkisini incelemek amacıyla işlemden 7 gün sonra dişlerden örnekler almışlardır. İşlem sonrası hemen alınan örneklerde ozonlu suyun *E. faecalis* ve *C. albicans*'ın bakteri sayısında önemli derecede bir azalma meydana getirdiğini tespit etmişlerdir. Fakat 7 gün sonra alınan örneklerde bakteri sayısında tekrardan artma meydana geldiğini gözlemlemişlerdir. Belli bir süre geçtikten sonra mikroorganizma kalıntılarının tekrardan çoğalmasından dolayı ozonlu suyun rezidüel etki göstermediğini belirtmişlerdir. Bu özellik aynı zamanda yaygın olarak kullanılan birçok irrigantın ortak özelliğidir (187-189) ve dentin tübüllerinin iç kısımlarına zayıf penetre olmalarıyla bağdaştırılabilir (186).

Huth ve ark. (190) yaptıkları çalışmada ozonlu su, ozon gazı, %5,25'lik NaOCl, %2'lik CHX ve %3 oranında kullanılan hidrojen peroksitin kök kanallarına inoküle edilen *E. faecalis*, *C. albicans* ve *P. Aeruginosa*'nin planktonik ve biyofilm formlarına karşı antimikrobiyal etkisini incelemişlerdir. 20 µg/ml konsantrasyonundaki ozonlu suyun 1 dak'lık uygulanması sonucunda bu üç bakterinin planktonik formunun yüksek derecede elimine olduğunu göstermişlerdir. Aynı zamanda yüksek konsantrasyondaki ozonlu suyun *E. faecalis* biyofilm hücrelerinin hemen hemen hepsini elimine ettiğini bildirmişlerdir.

Literatürde, elde ettiğimiz sonuçlara göre farklı bulgular ortaya koyan çalışmalar da mevcuttur. Estrela ve ark. (181) *E. faecalis*'i 30 tane maksillar anterior dişe 60 gün boyunca inoküle ettikleri bir çalışmada, ozon gazı, ozonlu su, %2'lik CHX ve %2,5'lik NaOCl'nin antimikrobiyal etkinliklerini değerlendirmişler; 20 dak'lık kontakt zamanı boyunca uygulanan solüsyonların *E. faecalis*'e karşı antimikrobiyal bir aktivite göstermediğini saptamışlardır. Sonuçlardaki farklılıkların kullanılan metod, inkübasyon süresi, çalışma modelindeki farklılıklardan kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Ozonlu su son yıllarda popüler hale gelen bir irrigasyon solüsyonudur. Yapılan çalışmalarda mikroorganizmalara karşı oldukça etkili olduğu gösterilmektedir. Bununla beraber ozonlu suyun oldukça hızlı bir çalışma süresi gerektirmesi, ozonlu suyla yapılan kök

kanal irrigasyon işlemi ile ilgili klinik şartlara uygun sürelerin ve konsantrasyonların belirlenebileceği yeni araştırmalar gerekmektedir.

Süper okside su toksik olmaması, biyoyumlu olması, hastalara ve çevreye karşı güvenli olması ve ucuz olmasından dolayı son yıllarda geniş kullanım alanı bulan bir solüsyondur (191). Buna rağmen literatürde süper okside suyun antimikrobiyal etkisinin değerlendirildiği birkaç çalışma vardır.

Süper okside su tuzlu suya elektrik akımı uygulanması sonucu elde edilir. Mikroorganizmalara karşı geniş spektrumlu olması sayesinde dezenfeksiyon ve sterilizasyon amacıyla kullanılmaktadır. Elektrolizden sonra güçlü oksidasyon potansiyeli olan ve yüksek antimikrobiyal özellik gösteren hipokloröz asit, hipoklorit iyonları, çözülmüş oksijen, ozon ve süper oksit radikalleri oluşur. Bakteriler, virüsler, mantarlar ve parazitleri oldukça hızlı bir şekilde öldürebilir ve zor yüzeyler ile su sistemlerinin dezenfeksiyonunda kullanılır (192). Ayrıca hızlı antimikrobiyal etkisinden dolayı (193, 194) meyve ve sebze yıkanmasında (195), hemodiyaliz ekipmanlarının temizlenmesinde (196) de kullanılmaktadır.

Bazı çalışmalar süper okside suyun ph'ının dezenfeksiyon etkisinde oldukça yoğun bir payı olduğunu göstermektedir (195). Farklı süper okside su çeşitlerinin ph aralıkları 2.3-2.7 (197), 5.6-6.5 (198) ve 9-10 (199) arasında değişmektedir. Bizim kullandığımız Medilox süper okside suyun (Medilox; O-M Medikal Dental Tekstil, Ankara, Türkiye) ph'ı ise 5.5'dir.

Süper okside suyun içinde *E. faecalis* 29212 suşunun da bulunduğu çeşitli mikroorganizmalara karşı farklı konsantrasyonlarda *in vitro* etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada Medilox süper okside su tüm standart ve klinik suşlarda 1/1 dilüsyonda 1 dak ve diğer tüm test sürelerinde etkin bulunmuştur (200).

Yamada ve ark. (201) dental aletler üzerindeki karyojenik ve periodontal patojenik bakterilere karşı süper okside suyun antibakteriyel etkisini 15 saniyeden 24 saate kadar değerlendirdikleri çalışmada, süper okside suyun karyojenik ve periodontal patojenik bakteriler üzerinde antibakteriyel etkisinin olduğunu söylemişlerdir.

İnsan tek köklü alt premolar dişlerinde içlerinde Medilox süper okside suyun da bulunduğu çeşitli irrigasyon solüsyonlarının planktonik haldeki *S. aureus*'a karşı antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirildiği bir çalışmada süper okside su negatif kontrol grubu olarak kullanılan NaOCl kadar etkili olmasa da diğer deney gruplarına göre daha başarılı bulunmuştur ve süper okside suyun kök kanallarındaki *S. Aureus*'a karşı NaOCl'ye alternatif bir irrigasyon solüsyonu olabileceği söylenmiştir (202).

Sığır kesici dişlerinin kök kanallarına inoküle edilmiş *E. faecalis*'e karşı süper okside su ve NaOCl'nin antimikrobiyal etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, solüsyonlar 3 dak boyunca uygulanmış ve süper okside suyun NaOCl gibi bütün bakterileri yok edememesine rağmen *E. faecalis*'i öldürmede güçlü bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (203). Bizim çalışmamız da bu iki çalışmaya paralel olarak *E. faecalis* biyofilmini elimine etmede, süper okside su grubunun pozitif kontrol grubu olan %5,25'lik NaOCl gibi bütün biyofilm tabakasını elimine edemese de oldukça güçlü bir etkiye sahip olduğu gözlenmiştir.

Lazerlerin kök kanal sistemi içerisinde uygulanmasında önemli derecede sınırlamalar mevcuttur. Optik fiber uçtan veya lazer yönlendirici uçtan gelen lazer enerjisi lateralkanallara ulaşma şansı olmadan doğrudan kök kanalı boyunca ilerler. Bu yüzden birlazer kullanarak kanal yüzeyi boyunca her zaman düzgün bir temas alanı sağlamak mümkün değildir. Diğer bir sınırlama periapikal dokularda termal hasara neden olmayacak güvenli bir prosedür uygulama gerekliliğidir (204). Birçok araştırmacı tarafından da gösterilmiştir ki lazer ile diş yapısı arasındaki etkileşim süresince foton enerjisi ısı enerjisine dönüşür. Bu ısı etkisi çevre dokuların vital hücrelerinin hasarından kaçınmak için çok dikkatli kontrol edilmelidir (205). Diğer bir sınırlama da lazer kullanılarak smear tabakası ve debrisin uzaklaştırılmasının mümkün olmasına karşın kök kanal sisteminin tamamının temizlenmesi çok zordur. Çünkü lazer ışını ileriye doğru düz olarak yayılır. Dolayısıyla lateral kanalları ışınlamak hemen hemen imkansızdır. Matsumoto (206), kök kanal duvarlarının tamamının ışınlanmasına imkan sağlayacak endodontik bir uç geliştirilmesi gerektiğini tavsiye etmiştir.

Başarılı bir endodontik tedavi tüm mikroorganizmaların eliminasyonuna bağlıdır. Endodontik tedavide enfeksiyonun devamlılığı en önemli başarısızlık nedenidir. Fabricius ve ark. (207) tedavi görmüş kök kanallarında bakterilerin çok uzun yıllarca yaşayabildiğini göstermişler ve iyileşmeyen apikal periodontitiserle bakteri varlığının anlamlı ilişkisini belirtmişlerdir. Bu nedenlerle kök kanal tedavisi esnasında uygulanan dezenfeksiyon prosedürünün tedavi başarısındaki büyük rolü daima göz önünde bulundurulmalıdır.

6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızın limitasyonları göz önünde bulundurularak elde edilen sonuçlar aşağıdaki gibi sıralanabilir:

1. Pozitif kontrol grubu olarak kullandığımız 2 W gücünde KTP lazer ile aktive ettiğimiz %5,25'lik NaOCl solüsyonu *E. faecalis* biyofilmini tamamen elimine etmiştir. Çok daha ekonomik ve ulaşılabilirliği oldukça kolay olan NaOCl'in klinik uygulamalarda tercih edilmesi gerekliliği görüşündeyiz.
2. KTP lazerin kök kanalı içerisinde antibakteriyel etkinliğinin artırılabilmesi amacıyla ışını lateral kanallara da yönlendirebilecek fiberoptik uç sistemlerinin geliştirilmesiyle yeni çalışmalar yapılması gerekliliği düşünülmüştür.
3. Negatif kontrol grubu olarak kullandığımız 2 W gücünde KTP lazer ile aktive ettiğimiz serum fizyolojik solüsyonu *E. faecalis* biyofilmini elimine etmede en düşük etkiyi göstermiştir.
4. *E. faecalis* biyofilmi ile enfekte kök kanallarındaki en yüksek antibiyofilm etkiyi % 5,25'lik NaOCl grubu gösterirken, bunu sırasıyla ozonlu su ve süper okside su grubu, % 2'lik CHX solüsyonu, % 17'lik EDTA solüsyonu ve serum fizyolojik grupları takip etmektedir.
5. Deneysel grubu olarak kullandığımız ozonlu su ve süper okside su grupları arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmamıştır. Her iki solüsyonun lazer ile aktivasyonu güçlü antibakteriyel etkinlik göstermiştir. Ancak kanaldaki bakterileri tamamen elimine edememiştir. Bakterilerin tamamen ortadan kaldırılamaması sonucunda çok kısa süre içerisinde, bakterilerin logaritmik üremeleri göz önünde bulundurulduğunda, uygun ortam varlığında tekrar maksimum sayılarına ulaşabileceği aşıkardır. Kök kanal tedavisi sırasında bakteriler tamamen elimine edilebilirse iyileşme prognozunun başarılı olacağı bilinmektedir. Dolayısıyla bu irrigasyonların 2 W gücünde KTP lazer ile aktivasyonlarının kök kanallarında dezenfeksiyon amaçlı kullanımı başarı getirmeyecektir. Bu nedenle lazerle aktive olan dezenfeksiyon sistemleri kök kanal tedavisinde sadece destekleyici tedavi olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.
6. Pozitif kontrol grubu olarak kullandığımız % 5,25'lik NaOCl ve negatif kontrol grubu olarak kullandığımız serum fizyolojik solüsyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık bulunmuştur.

7. Çalışma grupları arasında en yüksek antibiyofilm etkinliği gösteren KTP lazer ile aktive ettiğimiz % 5,25'lik NaOCl solüsyonunun klinik uygulamalarda kullanılmasının kök kanal tedavilerinde biyofilm eliminasyonu açısından oldukça etkili olabileceğini ve özellikle uzun takipli tedavilerin başarısını arttırabileceğini düşünmekteyiz.
8. Kök kanallarında irrigasyon solüsyonlarının aktivasyonu için önerilen yöntemler ile güncel irrigasyon aktivasyon tekniklerinin etkinliği ve mekanizmalarının inceleneceği aynı zamanda bunların farklı yöntemlerle kombine kullanılabilirliği üzerine yeni çalışmalara gereksinim olduğunu düşünmekteyiz.



KAYNAKLAR

1. Berutti E, Marini R, Angeretti A. Penetration ability of different irrigants into dentinal tubules. *J Endod*, 23(12):725-727, 1997.
2. 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.
3. Siqueira JF, Rocas IN, De Uzeda M, Colombo AP, Santos KR. Comparison of 16S rDNA-based PCR and checkerboard DNA-DNA hybridisation for detection of selected endodontic pathogens. *J Med Microbiol*, 51(12):1090-1096, 2002.
4. Dummett CO, and Kopel HM. Pediatric endodontics, In Ingle JI, Bakland LK (eds). *Endodontics*. 5th ed. London: BC Decker Inc Hamilton, 861-902, 2002.
5. Klinker T, Klimm W, Gutknecht N. Antibacterial effects of Nd:YAG laser irradiation within root canal dentin. *J Clin Laser Med Surg*, 15(1):29-31, 1997.
6. Mohammadi Z. Laser applications in endodontics: an update review. *Int Dent J*, 59(1):35-46, 2009.
7. Moritz A, Schoop U, Goharkhay K, Jakolitsch S, Kluger W, Wernisch J, Sperr W. The bactericidal effect of Nd:YAG, Ho:YAG, and Er:YAG laser irradiation in the root canal: an in vitro comparison. *J Clin Laser Med Surg*, 17(4):161-164, 1999.
8. Sjogren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J*, 30(5):297-306, 1997.
9. Alaçam T. *Endodonti*. 2. Baskı. Ankara: Barış Yayınları, 2000.
10. Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, Bakland LK. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 94(6):658-666, 2002.
11. Çalışkan MK. *Endodontide Tanı ve Tedaviler*. 2. Baskı. s: 1-30, 315-350, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2006.

12. Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J*, 34(6):424-428, 2001.
13. Radcliffe CE, 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):438-446, 2004.
14. Haapasalo M, Shen Y, Wang Z, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Br Dent J*, 216(6):299-303, 2014.
15. Spangberg L, Engstrom B, Langeland K. Biologic effects of dental materials. 3. Toxicity and antimicrobial effect of endodontic antiseptics in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 36(6):856-871, 1973.
16. Spratt DA, Pratten J, Wilson M, Gulabivala K. An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates. *Int Endod J*, 34(4):300-307, 2001.
17. Prabhakar J, Senthilkumar M, Priya MS, Mahalakshmi K, Sehgal PK, Sukumaran VG. Evaluation of antimicrobial efficacy of herbal alternatives (Triphala and green tea polyphenols), MTAD, and 5% sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis* biofilm formed on tooth substrate: an in vitro study. *J Endod*, 36(1):83-86, 2010.
18. Siqueira JF, Jr., Rocas IN, Favieri A, Lima KC. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. *J Endod*, 26(6):331-334, 2000.
19. Berber VB, Gomes BP, Sena NT, Vianna ME, Ferraz CC, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing *Enterococcus faecalis* within root canals and dentinal tubules. *Int Endod J*, 39(1):10-17, 2006.
20. Orstavik D, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endod Dent Traumatol*, 6(4):142-149, 1990.

21. Siqueira JFJ, De Uzeda M, Fonseca MEA. scanning electron microscopic evaluation of in vitro dentinal tubules penetration by selected anaerobic bacteria. . J Endod., 22:308-310, 1996.
22. Weine SF. Endodontic Therapy. St. Louis, CV Mosby, 1982.
23. Weller RN, Brady JM, Bernier WE. Efficacy of ultrasonic cleaning. J Endod, 6(9):740-743, 1980.
24. Haapasalo M, Orstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. J Dent Res, 66(8):1375-1379, 1987.
25. Siqueira JF, Jr., Batista MM, Fraga RC, de Uzeda M. Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented gram-negative anaerobes and facultative bacteria. J Endod, 24(6):414-416, 1998.
26. Lester KS, Boyde A. Scanning electron microscopy of instrumented, irrigated and filled root canals. Br Dent J, 143(11):359-367, 1977.
27. Zehnder M. Root canal irrigants. J Endod, 32(5):389-398, 2006.
28. Zehnder M, Schmidlin P, Sener B, Waltimo T. Chelation in root canal therapy reconsidered. J Endod, 31(11):817-820, 2005.
29. Rasimick BJ, Nekich M, Hladek MM, Musikant BL, Deutsch AS. Interaction between chlorhexidine digluconate and EDTA. J Endod, 34(12):1521-1523, 2008.
30. Gomes BP, Souza SF, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, Souza-Filho FJ. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. Int Endod J, 36(4):267-275, 2003.
31. Fardal O, Turnbull RS. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. J Am Dent Assoc, 112(6):863-869, 1986.
32. Caliskan MK, Turkun M, Alper S. Allergy to sodium hypochlorite during root canal therapy: a case report. Int Endod J, 27(3):163-167, 1994.

33. Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Silva LA, Nelson Filho P, Bonifacio KC, Ito IY. In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution. *J Endod*, 25(3):167-171, 1999.
34. Khademi AA, Mohammadi Z, Havaee A. Evaluation of the antibacterial substantivity of several intra-canal agents. *Aust Endod J*, 32(3):112-115, 2006.
35. Zamany A, Safavi K, Spangberg LS. The effect of chlorhexidine as an endodontic disinfectant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 96(5):578-581, 2003.
36. Russell AD, Day MJ. Antibacterial activity of chlorhexidine. *J Hosp Infect*, 25(4):229-238, 1993.
37. Vahdaty A, Pitt Ford TR, Wilson RF. Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules in vitro. *Endod Dent Traumatol*, 9(6):243-248, 1993.
38. Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-Garcia M, Baca P. Enterococcus faecalis biofilms eradication by root canal irrigants. *J Endod*, 35(5):711-714, 2009.
39. Özler M, Öter Ş, Korkmaz A. Ozon gazının tıbbi amaçlı kullanılması. *TAF Prev Med Bull*, 8. 59-64, 2009.,
40. Mehlman MA, Borek C. Toxicity and biochemical mechanisms of ozone. *Environ Res*, 42(1):36-53, 1987.
41. Staehelin J, Hoigne J. Decomposition of ozone in water in the presence of organic solutes acting as promoters and inhibitors of radical chain reactions. *Environ Sci Technol*, 19(12):1206-1213, 1985.
42. Nogales CG, Ferrari PH, Kantorovich EO, Lage-Marques JL. Ozone therapy in medicine and dentistry. *J Contemp Dent Pract*, 9(4):75-84, 2008.
43. Arita M, Nagayoshi M, Fukuizumi T, Okinaga T, Masumi S, Morikawa M, Kakinoki Y, Nishihara T. Microbicidal efficacy of ozonated water against *Candida albicans* adhering to acrylic denture plates. *Oral Microbiol Immunol*, 20(4):206-210, 2005.
44. Wallhausser, K.H. and Praxis, Der. *Starilisation-Des-Infektion-Konservierung*, Stuttgart: Thieme, 1995.

45. Morris JC. Chlorination and disinfection-state of the art, J American Water Works Assoc., 63: 669, 1971.
46. Kaplan L, Pesce AJ, Kazmierczak SC. Clinical Chemistry (Theory, Analysis, Correlation), 2004.
47. Wentworth P Jr, McDunn JE, Wentworth AD, et al. Evidence for antibodycatalysed ozone formation in bacterial killing and inflammation, Science, 560, 2195-9, 2002.
48. Kowalski WJ, Bahnfelt WP, Whittam T.S. Bacterial effects of high airborne ozone concentrations on Escherichia coli and Staphylococcus aureus. Ozone Sci Eng, 20, 205-21, 1998.
49. Roy D, Wong PK, Engelbrecht RS, Chian ES. Mechanism of enteroviral inactivation by ozone, Appl Environ Microbiol., 41, 718-723, 1981.
50. Lohr A, Gratzek J. Bactericidal and paracitidal effects of an activated air oxidant in a closed aquatic system, J Aquaric Aquat., Sci, 4: 1-8, 1984.
51. Ivanova O, Bogdanov M, Kazantseva V, et al. Ozone inactivation of enteroviruses in sewage, Vopr Virusol, 6: 693-698, 1983.
52. Nagayoshi M, Fukuizumi T, Kitamura C, Yano J, Terashita M, Nishihara T. Efficacy of ozone on survival and permeability of oral microorganisms. Oral Microbiol Immunol, 19(4):240-246, 2004.
53. Hems RS, Gulabivala K, Ready D, Spratt DA. An invitro evaluation of the ability of ozone to kill a strain of Enterococcus faecalis, Int Endod J., 38: 22–9, 2005.
54. Bocci V. Ozone. A new medical drug. Dordrecht, the Netherlands: Springer, 1–295, 2005.
55. Stubinger S, Sader R, Filippi A. The use of ozone in dentistry and maxillofacial surgery: a review. Quintessence Int, 37(5):353-359, 2006.
56. Turk R. Ozone in dental medicine. Ozonachrichten. 4, 61-65, 1985.

57. Huth KC, Jakob FM, Saugel B, Cappello C, Paschos E, Hollweck R, Hickel R, Brand K. Effect of ozone on oral cells compared with established antimicrobials. *Eur J Oral Sci*, 114(5):435-440, 2006.
58. David W, Margaret J, Fehrenbach, Emmons M Mosby's Dental Dictionary, 2nd edn St Louis, USA: Elsevier Health Sciences, 2008.
59. Shetty N, Srinivasan S, Holton J, Ridgway GL. Evaluation of microbicidal activity of a new disinfectant: Sterilox 2500 against *Clostridium difficile* spores, *Helicobacter pylori*, vancomycin resistant *Enterococcus* species, *Candida albicans* and several *Mycobacterium* species. *J Hosp Infect*, 41(2):101-105, 1999.
60. Gonzalez-Espinosa D, Perez-Romano L, Guzman-Soriano B, Arias E, Bongiovanni CM, Gutierrez AA. Effects of pH-neutral, super-oxidised solution on human dermal fibroblasts in vitro. *Int Wound J*, 4(3):241-250, 2007.
61. Selkon JB, Babb JR, Morris R. Evaluation of the antimicrobial activity of a new super-oxidized water, Sterilox®, for the disinfection of endoscopes. *J Hosp Infect*, 41(1):59-70, 1999.
62. Martin MV, Gallagher MA. An investigation of the efficacy of super-oxidised (Optident/Sterilox) water for the disinfection of dental unit water lines. *Br Dent J*, 198(6):353-354, 2005.
63. Martin N, Martin MV, Jedyakiewicz µm. The dimensional stability of dental impression materials following immersion in disinfecting solutions. *Dent Mater*. 23(6):760-768, 2007.
64. Thorn RM, Lee SW, Robinson GM, Greenman J, Reynolds DM. Electrochemically activated solutions: evidence for antimicrobial efficacy and applications in healthcare environments. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 31:641-653, 2012.
65. Reybrouck G. The testing of disinfectants. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 41:269-272, 1998.
66. Donlan MR, Costerton W. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev*, 15: 167-93, 2002.

67. Costerton JW. Introduction to biofilm. *Int J Antimicrob Agents*. 11:217-221; discussion 237-219, 1999.
68. Athanassiadis B, Abbott PV, Walsh LJ. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. *Aust Dent J*, 52(1 Suppl):S64-82, 2007.
69. Davey ME, O'toole GA. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol Mol Biol Rev*, 64:847-867, 2000.
70. Duggan JM, Sedgley CM. Biofilm formation of oral and endodontic *Enterococcus faecalis*. *J Endod*, 33(7):815-818, 2007.
71. O'toole G, Kaplan HB, Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Annu Rev Microbiol*. 54:49-79, 2000.
72. Dunavant TR, Regan JD, Glickman GN, Solomon ES, Honeyman AL. Comparative evaluation of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilms. *J Endod*, 32(6):527-531, 2006.
73. Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis*, 8:881-90, 2002.
74. Buschner JH, Van Der Mei HC. Initial microbial events: mechanisms and implications. In: Allison DG, Gilbert P, Lappin-scott HM, Wilson M, editors. *Community structure and co-operation in biofilms*. Cambridge: Cambridge University Press; 2000: p. 25-36, 2000.
75. Lee SF, Li YH, Bowden GH. Detachment of *Streptococcus mutans* biofilm cells by an endogenous enzymatic activity. *Infect Immun* 64:1035-1038, 1996.
76. Post JC, Stoodley P, Hall-Stoodley L, Ehrlich GD. The role of biofilms in otolaryngologic infections. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 12:185-90, 2004.
77. Overman PR. Biofilm: A new view of plaque. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 1: 1-7, 2000.
78. Smith RS, Iglewski BH. *P. aeruginosa* quorum-sensing systems and virulence. *Curr Opin Microbiol*, 6(1):56-60, 2003.

79. Svensater G, Bergenholtz G. Biofilms in endodontic infections. *Endod Topics*, 9: 27–36, 2004.
80. Ceri H, Olson ME, Stremick C, Read RR, Morck D, Buret A. The Calgary Biofilm Device: new technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. *J Clin Microbiol* 37:1771-1776, 1999.
81. Stewart PS. Theoretical aspects of antibiotic diffusion into microbial biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 40:2517-2522, 1996.
82. Wang J, Jiang Y, Chen W, Zhu C, 18. Liang J. biofilm Bacterial flora and extraradicular associated with the apical segment of teeth with post-treatment apical periodontitis. *J Endod*, 38: 954-9, 2012.
83. Noiri Y, Ehara A, Kawahara T, Takemura N, Ebisu S. Participation of bacterial biofilms in refractory and chronic periapical periodontitis. *J Endod*, 28: 679-83, 2002.
84. Leonardo MR, Rossi MA, Silva AB, Ito IY, Bonifa'cio KC. EM evaluation of bacterial biofilm and microorganisms on the apical external root surface of human teeth. *J Endod*, 28: 815-8, 2002.
85. Lomçalı G, Sen BH, Çankaya H. Scanning electron microscopic observations of apical root surfaces of teeth with apical periodontitis. *Endod Dent Traumatol*. 12:70-76, 1996.
86. Tronstad L, Barnett F, Cervone F. Periapical bacterial plaque in teeth refractory to endodontic treatment. *Endod Dent Traumatol*. 6:73-77, 1990.
87. Jett BD, Huycke MM, Gilmore MS. Virulence of Enterococci. *Clin Microbiol Rev*, 7:462–78, 1994.
88. Rocas IN, Siqueira JF Jr, Santos KR. Association of enterococcus faecalis with different forms of periradicular diseases. *J Endod*, 30(5):315-20, 2004.
89. Kishen, A., George, S., Kumar, R. Enterococcus faecalis-mediated biomineralized biofilm formation on root canal dentine in vitro, *J Biomed Mater Res A*, Vol. 77, 406-415, 2006.
90. Roças IN, Siqueira JF Jr., Santos KR. Association of Enterococcus faecalis with different forms of periradicular diseases. *J Endod*, 30, 315-20, 2004.

91. Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *Int Endod J*,35,221-228, 2002.
92. Giard JC, Hartke A, Flahaut S, Benachour A, Boutibonnes P, Auffray Y. Starvation-induced multiresistance in *Enterococcus faecalis* JH2-2. *Curr Microbiol*, 32:264-71, 1996.
93. Sundqvist G. Associations Between Microbial Species in Dental Root Canal Infections. *Oral Microbiol Immunol*, 7: 257-62, 1992.
94. Pinheiro ET, Anderson MJ, Gomes BP, Drucker DB. Phenotypic and genotypic identification of enterococci isolated from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Oral Microbiol Immunol*, 21: 137-44, 2006.
95. Gomes BP, Pinheiro ET, Sousa EL, Jacinto RC, Zaia, AA, Ferraz CC, De Souza-Filho FJ. *Enterococcus faecalis* in dental root canals detected by culture and by polymerase chain reaction analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 102: 247-53, 2006.
96. Kayaoglu G, Orstavik D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 15:308-320, 2004.
97. Sedgley CM, Lennan SL, Clewell DB. Prevalence, phenotype and genotype of oral enterococci. *Oral Microbiol Immunol*,19,95-101, 2004.
98. Hubble TS, Hatton JF, Nallapareddy SR, Murray BE, Gillespie MJ. Influence of *Enterococcus faecalis* proteases and the collagen-binding protein, Ace, on adhesion to dentin. *Oral Microbiol Immunol*,18,121-126, 2003.
99. Love RM. *Enterococcus faecalis*--a mechanism for its role in endodontic failure. *Int Endod J*,34,399-405, 2001.
100. Figdor D, Davies JK, Sundqvist G. Starvation survival, growth and recovery of *Enterococcus faecalis* in human serum. *Oral Microbiol Immunol*,18,234-239, 2003.
101. Sedgley CM, Lennan SL, Appalbe OK. Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals ex vivo. *Int Endod J*,38,735-742, 2005.

102. Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ. Biofilm formation in medicated root canals. *J Endod*,28,689-693, 2002.
103. 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.
104. Kaufman B, Spangberg L, Barry J, Fouad AF. *Enterococcus* spp. in endodontically treated teeth with and without periradicular lesions. *J Endod*, 31(12):851-6, 2005.
105. Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ. Biofilm formation in medicated root canals. *J Endod*, 28:689-93, 2002.
106. Siren EK, Haapasalo MP, Waltimo TM, Orstavik D. In vitro antibacterial effect of calcium hydroxide combined with chlorhexidine or iodine potassium iodide on *Enterococcus faecalis*. *Eur J Oral Sci*, 112(4):326-331, 2004.
107. Abdullah M, Ng YL, Gulabivala K, Moles DR, Spratt DA. Susceptibilities of two *Enterococcus faecalis* phenotypes to root canal medications. *J Endod*, 31(1):30-36, 2005.
108. Lin YH, Mickel AK, Chogle S. Effectiveness of selected materials against *Enterococcus faecalis*: part 3. The antibacterial effect of calcium hydroxide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*. *J Endod*, 29(9):565-566, 2003.
109. George S, Kishen A, Song KP. The role of environmental changes on monospecies biofilm formation on root canal wall by *Enterococcus faecalis*. *J Endod*, 31(12):867-872, 2005.
110. Mercer C. Lasers in dentistry: a review. Part 1. *Dental Update*, 23:74-80, 1996.
111. Smith WV, Sorokin P P. *The Laser*. 1. baskı. New York: McGraw-Hill Book Company Press, 1996.
112. Gutknecht N, Maden İ, Kazak Z. *Diş Hekimliğinde Uygulamalı Lazer Sunumu*. İstanbul: Vestiyerakademi, 2011.
113. Moshonov J, Sion A, Kasirer J, Rotstein I, Stabholz A. Efficacy of argon laser irradiation in removing intracanal debris. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 79:221-225, 1995.

114. Coluzzi DJ. An overview of laser wavelengths used in dentistry. *Dental Clinics of North America*, 44:753-765, 2000.
115. Takeda FH, Harashima T, Kimura Y, Matsumoto K. Efficacy of Er:YAG laser irradiation in removing debris and smear layer on root canal walls. *J Endod*. 24:548-551, 1998.
116. Hmud R, Kahler WA, George R, Walsh LJ. Cavitation effects in aqueous endodontic irrigants generated by near-infrared lasers. *J Endod*. 36:275-278, 2010.
117. Kautzky M, Susani M, Steurer M, Schenk P. Soft-tissue effects of the holmium:YAG laser: an ultrastructural study on oral mucosa. *Lasers in Surgery and Medicine*, 20:265-271, 1997.
118. Hendler BH, Gateno J, Moor P, Sherk HH. Holmium:YAG laser arthroscopy of the temporomandibular joint. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 50:931-934, 1992.
119. Coluzzi DJ. Fundamentals of dental lasers: science and instruments. *Dental Clinics of North America*, 48:751-770, 2004.
120. Gökner Y. Diş hekimliğinde lazer uygulamaları. *Dentiss*, 2:28-32, 2007.
121. White JM, Gekelman D, Shin K, Park J, Swenson T, Rouse B, Tran K, Bullard S, Scott-Beckles B, Oto MJSB, Yamamoto A. Laser Interaction with Dental Soft Tissues: What Do We Know from Our Years of Applied Scientific Research? *Proc SPIE*, p.39-48, 2002.
122. Balzar Ekenback S, Linder LE, Sund ML, Lönnies H. Effect of fluoride on glucose incorporation and metabolism in biofilm cells of *Streptococcus mutans*. *Eur J Oral Sci*; 109: 182-186, 2001.
123. Luppens SBI, Ten Cate JM. Effect of biofilm model, mode of growth and strain on *Streptococcus mutans* protein expression as determined by twodimensional difference gel electrophoresis. *J Proteome Res*, 4: 232-237, 2005.
124. Li YH, Bowden GWH. Characteristics of the accumulation of selected oral gram positive bacteria on mucin conditioned glass surfaces in a model system. *Oral Microbiol Immunol*, 9: 1-11, 1994.

125. Kara D, Luppens SBI, Ten Cate JM. Difference between single and dual species biofilms of *Streptococcus mutans* and *Veillonella parvula* in growth, acidogenicity and susceptibility to chlorhexidine. *Eur J Oral Sci*, 114: 58-63, 2006.
126. Steinberg D, Moldovan M, Molukandov D. Testing a degradable topical varnish of cetylpyridinium chloride in an experimental dental biofilm model. *J Antimicrob Chemother*, 48: 241-43, 2001.
127. Steinberg D, Rozen R, Klausner EA, Zachs B, Friedman M. Formulation, development and characterization of sustained release varnishes containing amine and stannous fluorides. *Caries Research*, 36: 411-416, 2002.
128. Munshi AK, Reddy NN, Shetty V. A comparative evaluation of three fluoride varnishes: an in-vivo study. *J Indian Soc Pedo Prev Dent*, 19: 92-102, 2001.
129. Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, Sousa EL, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Int Endod J*, 36: 1-11, 2003.
130. Peciulienė V, Reynaud AH, Balciuniene I, Haapasalo M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. *Int Endod J*, 34: 429-434, 2001.
131. Gomes BP, Lilley JD, Drucker DB. Variations in the susceptibilities of components of the endodontic microflora to biomechanical procedures. *Int Endod J*, 29: 235-241, 1996.
132. Orstavik D, HM. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endod Dent Traumatol*, 6: 142-149, 1990.
133. Patti JM, Allen BL, McGavin MJ, Hook M. MSCRAMM-mediated adherence of microorganisms to host tissues. *Annu Rev Microbiol*, 48:585-617, 1994.
134. Nallapareddy SR, Qin X, Weinstock GM, Hook M, Murray BE. Enterococcus faecalis adhesin, ace, mediates attachment to extracellular matrix proteins collagen type IV and laminin as well as collagen type I. *Infect Immun*, 68:5218-5224, 2000.
135. Chavez De Paz LE, Bergenholtz G, Svensater G. The effects of antimicrobials on endodontic biofilm bacteria. *J Endod*, 36:70-77, 2010.

136. Whiteley M, Bangera MG, Bumgarner RE, Parsek MR, Teitzel GM, Lory S et al. Gene expression in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Nature* 413:860-864, 2001.
137. Bryce G, O'Donnell D, Ready D, Ng YL, Pratten J, Gulabivala K. Contemporary root canal irrigants are able to disrupt and eradicate single- and dual-species biofilms. *J Endod*, 35(9):1243-1248, 2009.
138. Schoop U, Goharkhay K, Klimscha J, Zagler M, Wernisch J, Georgopoulos A, Sperr W, Moritz A. The use of the erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet laser in endodontic treatment: the results of an in vitro study. *J Am Dent Assoc*, 138(7):949-955, 2007.
139. Roper MJ, White JM, Goodis HE, Gekelman D. Two-dimensional changes and surface characteristics from an erbium laser used for root canal preparation. *Lasers Surg Med*, 42(5):379-383, 2010.
140. Yanez MJ, Barbosa SE. Changes in particle area measurements due to SEM accelerating voltage and magnification. *Microsc Res Tech*, 61(5):463-468, 2003.
141. Ono M, Nikaido T, Ikeda M, Imai S, Hanada N, Tagami J, Matin K. Surface properties of resin composite materials relative to biofilm formation. *Dent Mater J*, 26(5):613-622, 2007.
142. Bhuva B, Patel S, Wilson R, Niazi S, Beighton D, Mannocci F. The effectiveness of passive ultrasonic irrigation on intraradicular *Enterococcus faecalis* biofilms in extracted single-rooted human teeth. *Int Endod J*, 43(3):241-250, 2010.
143. Tinaz AC, Alacam T, Uzun O, Maden M, Kayaoglu G. The effect of disruption of apical constriction on periapical extrusion. *J Endod*, 31(7):533-535, 2005.
144. Siqueira JF, Jr., Machado AG, Silveira RM, Lopes HP, de Uzeda M. 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):279-282, 1997.
145. Heling I, Chandler NP. Antimicrobial effect of irrigant combinations within dentinal tubules. *Int Endod J*, 31(1):8-14, 1998.

146. Eddy RS, Joyce AP, Roberts S, Buxton TB, Liewehr F. An in vitro evaluation of the antibacterial efficacy of chlorine dioxide on *E. faecalis* in bovine incisors. *J Endod*, 31(9):672-675, 2005.
147. Piccolomini R, D'arcangelo C, D'ercole S, et al. Bacteriologic evaluation of the effect of Nd:YAG laser irradiation in experimental infected root canals. *J Endod*, 28:276-278, 2002.
148. Folwaczny M, Mehl A, Jordan C, Hickel R. Antibacterial effects of pulsed Nd:YAG laser radiation at different energy settings in root canals. *J Endod*, 28:24-29, 2002.
149. Bergmans L, Moisiadis P, Teughels W, et al. Bactericidal effect of Nd:YAG laser irradiation on some endodontic pathogens ex vivo. *Int Endod J*, 39:547-557, 2006.
150. 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*, 14:77-80, 1996.
151. Moritz A, Schoop U, Goharkay K, Jakolitsch S, Kluger W, Wernish J, Sperr W. The bactericidal effect of Nd:YAG, Ho:YAG ve Er:YAG lazer irriration in the root canal: an in vitro comparison. *J Clin Med Surg*, 17: 161-4, 1999.
152. Seltzer S, endodontology. 2. Baskı, Lee and Febiger, Philadelphia s.260-6, 1988.
153. Meire MA, De Prijk K, Coenye T, Nelis HJ, De Moor RJ. Effectiveness of different laser systems to kill *Enterococcus faecalis* in aqueous suspension and in an infected tooth model. *Int Endod J*, 42:351-359, 2009.
154. Gulabivala K PB, Evans G, Yuan-ling NG. Effects of mechanical and chemical procedures on root canal surfaces. *Endodontic Topics*, 10: 103–122, 2005.
155. Retamozo B, Shabahang S, Johnson N, Aprecio RM, Torabinejad M. Minimum contact time and concentration of sodium hypochlorite required to eliminate *Enterococcus faecalis*. *J Endod*. Mar;36(3):520-3, 2010.
156. Shakouie S, Salem Milani A, Eskandarnejad M, Rahimi S, Froughreyhani M, Galedar S, Ranjbar E. Antimicrobial activity of tetraacetythylenediamine-sodium perborate versus sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis*. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*, 10(1):43-47, 2016.

157. Sohrabi K, Sooratgar A, Zolfagharnasab K, Kharazifard MJ, Afkhami F. Antibacterial Activity of Diode Laser and Sodium Hypochlorite in Enterococcus Faecalis-Contaminated Root Canals. *Iran Endod J*, 11(1):8-12, 2016.
158. Nascimento CA, Tanomaru-Filho M, Faria-Junior NB, Faria G, Guerreiro-Tanomaru JM. Antimicrobial activity of root canal irrigants associated with cetrimide against biofilm and planktonic Enterococcus faecalis. *J Contemp Dent Pract*, 15(5):603-607, 2014.
159. Cheng X, Chen B, Qiu J, He W, Lv H, Qu T, Yu Q, Tian Y. Bactericidal effect of Er:YAG laser combined with sodium hypochlorite irrigation against Enterococcus faecalis deep inside dentinal tubules in experimentally infected root canals. *J Med Microbiol*, 65(2):176-187, 2016.
160. Giardino L, Ambu E, Savoldi E, Rimondini R, Cassanelli C, Debbia EA. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of sodium hypochlorite, MTAD, and Tetraclean against Enterococcus faecalis biofilm. *J Endod*, 33(7):852-855, 2007.
161. Ohara P, Torabinejad M, Kettering JD. Antibacterial effects of various endodontic irrigants on selected anaerobic bacteria. *Endod Dent Traumatol*, 9(3):95-100, 1993.
162. Bystrom A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res*, 89(4):321-328, 1981.
163. Trepagnier CM, Madden RM, Lazzari EP. Quantitative study of sodium hypochlorite as an in vitro endodontic irrigant. *J Endod*, 3(5):194-196, 1977.
164. Baumgartner JC, Brown CM, Mader CL, Peters DD, Shulman JD. A scanning electron microscopic evaluation of root canal debridement using saline, sodium hypochlorite, and citric acid. *J Endod*, 10(11):525-531, 1984.
165. DiVito E, Peters OA, 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):273-280, 2012.
166. Pedulla E, Genovese C, Campagna E, Tempera G, Rapisarda E. Decontamination efficacy of photon-initiated photoacoustic streaming (PIPS) of irrigants using low-energy laser settings: an ex vivo study. *Int Endod J*, 45(9):865-870, 2012.

167. Ballal NV, Mala K, Bhat KS. Evaluation of decalcifying effect of maleic acid and EDTA on root canal dentin using energy dispersive spectrometer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 112(2):e78-84, 2011.
168. Ferrer-Luque CM, Arias-Moliz MT, Gonzalez-Rodriguez MP, Baca P. Antimicrobial activity of maleic acid and combinations of cetrimide with chelating agents against *Enterococcus faecalis* biofilm. *J Endod*, 36(10):1673-1675, 2010.
169. Baca P, Junco P, Arias-Moliz MT, Gonzalez-Rodriguez MP, Ferrer-Luque CM. Residual and antimicrobial activity of final irrigation protocols on *Enterococcus faecalis* biofilm in dentin. *J Endod*, 37(3):363-366, 2011.
170. Fidalgo TK, Barcelos R, Portela MB, Soares RM, Gleiser R, Silva-Filho FC. Inhibitory activity of root canal irrigants against *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*. *Braz Oral Res*, 24(4):406-412, 2010.
171. Zhang R, Chen M, Lu Y, Guo X, Qiao F, Wu L. Antibacterial and residual antimicrobial activities against *Enterococcus faecalis* biofilm: A comparison between EDTA, chlorhexidine, cetrimide, MTAD and QMix. *Sci Rep*, 5:12944, 2015.
172. Kaushik N, Rehani U, Agarwal A, Kaushik M, Adlakha V. Antimicrobial Efficacy of Endodontic Irrigants against *Enterococcus Faecalis* and *Escherichia Coli*: An in vitro study. *Int J Clin Pediatr Dent*, 6(3):178-182, 2013.
173. Buck RA, Eleazer PD, Staat RH, Scheetz JP. Effectiveness of three endodontic irrigants at various tubular depths in human dentin. *J Endod*, 27(3):206-208, 2001.
174. Haapasalo M, Qian W, Portenier I, Waltimo T. Effects of dentin on the antimicrobial properties of endodontic medicaments. *J Endod*, 33(8):917-925, 2007.
175. Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Comparative study of the antimicrobial efficacy of chlorhexidine gel, chlorhexidine solution and sodium hypochlorite as endodontic irrigants. *Braz Dent J*, 18(4):294-298, 2007.
176. Zerella JA, Fouad AF, Spangberg 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):756-761, 2005.

177. Zhang C, Kimura Y, Matsumoto K, Harashima T, Zhou H. Effects of pulsed Nd:YAG laser irradiation on root canal wall dentin with different laser initiators. *J Endod*, 24(5):352-355, 1998.
178. Gomes BP, Pedroso JA, Jacinto RC, Vianna ME, Ferraz CC, Zaia AA, de Souza-Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of five root canal sealers. *Braz Dent J*, 15(1):30-35, 2004.
179. Sassone LM, Fidel RA, Murad CF, Fidel SR, Hirata R, Jr. Antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine by two different tests. *Aust Endod J*, 34(1):19-24, 2008.
180. Williamson AE, Cardon JW, Drake DR. Antimicrobial susceptibility of monoculture biofilms of a clinical isolate of *Enterococcus faecalis*. *J Endod*, 35(1):95-97, 2009.
181. Estrela C, Estrela CR, Decurcio DA, Hollanda AC, Silva JA. Antimicrobial efficacy of ozonated water, gaseous ozone, sodium hypochlorite and chlorhexidine in infected human root canals. *Int Endod J*, 40(2):85-93, 2007.
182. Ercan E, Ozekinci T, Atakul F, Gul K. Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite in infected root canal: in vivo study. *J Endod*, 30(2):84-87, 2004.
183. Waltimo TM, Haapasalo M, Zehnder M, Meyer J. Clinical aspects related to endodontic yeast infections. *Endodontic Topics*, 9: 66-78, 2004.
184. Nagayoshi M, Kitamura C, Fukuizumi T, Nishihara T, Terashita M. Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules. *J Endod*, 30(11):778-781, 2004.
185. Kim JG, Yousef AE, Dave S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. *J Food Prot*, 62(9):1071-1087, 1999.
186. Cardoso MG, de Oliveira LD, Koga-Ito CY, Jorge AO. Effectiveness of ozonated water on *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, and endotoxins in root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 105(3):e85-91, 2008.

187. Bystrom A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 55(3):307-312, 1983.
188. Bystrom A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J*, 18(1):35-40, 1985.
189. Vahdati A, Pitt Ford TR, Wilson RF. Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules in vitro. *Endod Dent Traumatol*, 9:243-8, 1993.
190. Huth KC, Quirling M, Maier S, Kamereck K, Alkhayer M, Paschos E, Welsch U, Miethke T, Brand K, Hickel R. Effectiveness of ozone against endodontopathogenic microorganisms in a root canal biofilm model. *Int Endod J*, 42(1):3-13, 2009.
191. Perçin D, Esen Ş: New disinfectants and problems in practice. *Ankem*, 23(2):89–93, 2009.
192. Samastı M: Hastanelerde Dezenfeksiyon Kullanım Esasları, Yapılan Hatalar, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Hastane Enfeksiyonları Korunma Kontrol Sempozyum, Volume 60.143–168, 2008.
193. Tanaka H, Hirakata Y, Kaku M, Yoshida R, Takemura H, Mizukane R, Ishida K, Tomono K, Koga H, Kohno S, Kamihira S. Antimicrobial activity of superoxidized water. *J Hosp Infect*, 34(1):43-49, 1996.
194. Selkon JB, Babb JR, Morris R. Evaluation of the antimicrobial activity of a new superoxidized water, Sterilox, for the disinfection of endoscopes. *J Hosp Infect*, 41(1):59-70, 1999.
195. Len SV, Hung YC, Erickson M, Kim C. Ultraviolet spectrophotometric characterization and bactericidal properties of electrolyzed oxidizing water as influenced by amperage and pH. *J Food Prot*, 63(11):1534-1537, 2000.
196. Tanaka N, Fujisawa T, Daimon T, Fujiwara K, Yamamoto M, Abe T. The use of electrolyzed solutions for the cleaning and disinfecting of dialyzers. *Artif Organs*, 24(12):921-928, 2000.
197. Tanaka H, Hirakata Y, Kaku M et al. Antimicrobial activity of superoxidized water. *J Hosp Infect*, 34: 43±49, 1996.

198. Selkon JB, Babb JR, Morris R. Evaluation of the antimicrobial activity of a new super-oxidized water, Sterilox, for the disinfection of endoscopes. *J Hosp Infect*, 41: 59-70, 1999.
199. Koseki S, Yoshida K, Isobe S, Itoh K. Decontamination of lettuce using acidic electrolyzed water. *J Food Prot*, 64: 652-658, 2001.
200. Gunaydin M, Esen S, Karadag A, Unal N, Yanik K, Odabasi H, Birinci A. In vitro antimicrobial activity of Medilox(R) super-oxidized water. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 13:29, 2014.
201. Yamada K, Yama M, Takaku Y, Kakizawa T, Kimizuka R, Okuda K, Kato T. Antimicrobial activity of super-oxidised water against oral microorganisms. *Arch Oral Biol*, 55(6):397-400, 2010.
202. Zan R, Kutlu G, Hubbezoglu I, Sumer Z, Tunc T, Mutlu Z. Bactericidal effects of various irrigation solutions against staphylococcus aureus in human root canal. *J Istanbul Univ Fac Dent*, 49(1):19-26, 2015.
203. Rossi-Fedele G, Figueiredo JA, Steier L, Canullo L, Steier G, Roberts AP. Evaluation of the antimicrobial effect of super-oxidized water (Sterilox®) and sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis* in a bovine root canal model. *J Appl Oral Sci*, 18(5):498-502, 2010.
204. Kimura Y, Wilder-Smith P, Yonaga K, Matsumoto K. Treatment of dentine hypersensitivity by lasers: a review. *J Clin Periodontol*, 27(10):715-721, 2000.
205. Turkmen C, Gunday M, Karacorlu M, Basaran B. Effect of CO₂, Nd:YAG, and ArF excimer lasers on dentin morphology and pulp chamber temperature: an in vitro study. *J Endod*, 26(11):644-648, 2000.
206. Matsumoto K. Lasers in endodontics. *Dent Clin North Am*, 44(4):889-906, viii, 2000.
207. Fabricius L, Dahlen G, Sundqvist G, Happonen RP, Moller AJ. Influence of residual bacteria on periapical tissue healing after chemomechanical treatment and root filling of experimentally infected monkey teeth. *Eur J Oral Sci*, 114(4):278-285, 2006.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı, Soyadı: ZuhalelMALI

Uyruđu: Türkiye (TC)

Dođum Tarihi ve Yeri: 10 Ocak 1989, Aydın

Medeni Durumu: Evli

Tel: +90 346 21910 10

e-mail: zuhalmutlu09@hotmail.com

Yazışma Adresi: Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti A.D.
Merkez/SİVAS

Eđitim

| Derece | Kurum | Mezuniyet Tarihi |
|------------------|---------------------------------------|------------------|
| Uzmanlık Eğitimi | Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hek. Fak. | 2013-halen |
| Yüksek Lisans | Gazi Üniversitesi Diş Hek. Fak. | 2012 |
| Lise | Adnan Menderes Anadolu Lisesi, Aydın | 2007 |

Yabancı Dil

İngilizce

Katıldığı Bilimsel Aktiviteler

- Türk Endodonti Derneği 6. Uluslararası Bilimsel Sempozyumu (6-8 Mart 2015, Erzurum)
- Türk Endodonti Derneği 7. Uluslararası Bilimsel Sempozyumu (26-29 Mayıs 2016, Ürgüp)

Makaleler

- R Zan, G Kutlu, İ Hubbezoğlu, Z Sümer, T Tunç, Z Mutlu. Bactericidal Effects of Various Irrigation Solutions Against Staphylococcus Aureus in Human Root Canal. J Istanbul Univ Fac Dent. 49(1):19-26, 2015.

Poster Sunumları:

Çeşitli İrrigasyon Solüsyonlarının İnsan Kök Kanallarındaki Staphylococcus Aureus'a Karşı Bakterisit Etkileri (Türk Endodonti Derneği 12. Uluslararası Kongresi, 15-17 Mayıs 2014)

The roughening effects of Er:YAG, Nd:YAG and KTP laser systems on root dentin surface (Türk Endodonti Derneği 6. Uluslararası Bilimsel Sempozyumu, 6-8 Mart 2015)

Examination of flexural strength incidence of root dentin after various disinfection procedures: in-vitro study (Türk Endodonti Derneği 6. Uluslararası Bilimsel Sempozyumu, 6-8 Mart 2015)

Flexural strenght of root dentin after root canal preparation using One-Shape New Generation, K3XF, Twisted File Adaptive, and Protaper Next instrumentation systems (Türk Endodonti Derneği 6. Uluslararası Bilimsel Sempozyumu, 6-8 Mart 2015)

Evaluation of root dentin surface roughness caused by different endodontic irrigants (Türk Endodonti Derneği 6. Uluslararası Bilimsel Sempozyumu, 6-8 Mart 2015)