



TC

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DİŞ HASTALIKLARI ve TEDAVİSİ ANABİLİM DALI

**LAZERLE AKTİVE EDİLMİŞ FARKLI İRRİGASYON SOLÜSYONLARININ
İNTRAKANAL *Enterococcus faecalis* BİYOFİLMİ ÜZERİNE ANTİMİKROBİYAL
ETKİNLİKLERİNİN *in vitro* İNCELENMESİ**

DOKTORATEZİ

Dr. Burcu ÖZSES ÖZKAYA

Danışman: Prof. Dr.MeteÜNGÖR

Ankara, 2012

T.C
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Diş Hastalıkları ve Tedavisi Dalında Doktora Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 28/06/2012

“Lazerle Aktive Edilmiş Farklı İrigasyon Solusyonlarının İntrakanal Enterococcus Faecalis Biyofilmi Üzerine Antimikrobiyal Etkilerinin İn Vitro İncelenmesi”

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Mete ÜNGÖR

TEZ JÜRİSİ ÜYELERİ

Prof. Dr. Mete ÜNGÖR


Prof. Dr. Bade SONAT

Prof. Dr. Hatice DOĞAN BUZOĞLU

Doç. Dr. Emel Olga ÖNAY

Yrd. Doç. Dr. Kamran GÜLŞAHI

ONAY:Bu tez Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Yönetim Kurulu'nun **29/06/2012** tarih ve **85** sayılı kararıyla kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Rengin Erdal
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜRLER

Tez çalışmam ve doktora eğitimim süresince her konuda destek olan, engin bilgi ve tecrübelerini benimle devamlı paylaşan değerli hocam Prof. Dr. Mete ÜNGÖR'e,

Doktora eğitimim boyunca yardımlarını ve klinik tecrübelerini benimle paylaşan Doç.Dr. Emel Olga ÖNAY ve Yrd. Doç. Dr. Kamran GÜLŞAHI'ya,

Tezimin mikrobiyoloji ve histoloji çalışmaları sırasındaki yardımları için Prof. Dr. Jülide Sedef Göçmen, Doç. Dr. Müge Demirbilek ve Prof. Dr. Attila Dağdeviren'e,

Tezimin deney gruplarının oluşturulmasında yardımcı olan Prof. Dr. Norbert Gutknecht'e,

Tezimin gerçekleşmesinde lazer cihazının teminini sağlayan Dt. Mehmet Doğan Ateş'e,

Doktora hayatım boyunca yanımda olan asistan arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca sevgilerini ve desteklerini sürekli hissettiğim aileme,

Sabrı, sınırsız sevgi ve desteği ile her zaman yanımda olan sevgili eşim Volkan Özkaya ve oğlum Memduh Özkaya'ya teşekkür ederim.

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, erbium lazer aktivasyonu ile yapılan irrigasyonun, Nd:YAG lazerin kök kanal dezenfeksiyonunun ve konvansiyonel irrigasyon yöntemlerinin kanal içerisinde oluşturulan *Enterococcus faecalis* biyofilmleri üzerine antimikrobiyal etkinliklerinin taramalı elektron mikroskobu ile *in vitro* değerlendirilmesidir.

Bu çalışmada uzunlamasına kırılarak elde edilmiş 110 adet standart yarım kökün prepare edilmiş kanal duvarlarında *E. faecalis* biyofilmleri 4 hafta boyunca oluşturuldu. Dört haftanın sonunda yarım kökler birleştirilerek, her grup 12 kökten oluşan 9 gruba ayrıldı ve farklı irrigasyon protokolleri uygulandı. Grup I ve II de nonablatif enerji seviyesinde apikalde uygulanan Er:YAG lazer ile sırasıyla S F ya da %1 NaOCl solüsyonları aktive edildi. Grup III ve IV de koronalde uygulanan Er:YAG lazer ile S F ya da %1 NaOCl solüsyonlarının aktivasyonu yapıldı. Grup V ve VI da S F ya da %1 NaOCl solüsyonları ile yapılan konvansiyonel irrigasyon sonrası Nd:YAG lazer uygulandı. Grup VII, VIII ve IX da sırasıyla %1 NaOCl, %6 NaOCl ya da S F kullanılarak konvansiyonel irrigasyon yapıldı.

Irrigasyon işlemleri sonrası taramalı elektron mikroskobu için kökler hazırlandı. Örneklerin koronal, orta ve apikal bölgelerinden 700x büyütmede ESEM kullanılarak standart görüntüler elde edildi. Elde edilen görüntüler üzerinde biyofilmlerin kapladığı yüzey alanları, 4 puanlı skorlama sistemi ile 3 gözlemci tarafından bağımsız olarak incelendi.

Uygulanan 3 yöntemden hiçbirinin *E. faecalis* biyofilmlerini tamamen elimine edemediği saptandı. Er:YAG lazerin aktivasyonu ile yapılan irrigasyonun, Nd:YAG lazer ile yapılan kök kanal dezenfeksiyonuna ve konvansiyonel irrigasyona göre daha fazla biyofilm elimine ettiği bulundu. Apikalde uygulanan Er:YAG lazerin aktivasyonu sonucu oluşan irrigasyonun antimikrobiyal etkinliği, koronalde uygulanan Er:YAG lazerin aktivasyonuna göre daha etkili olduğu tespit edildi. Sodyum hipoklorit solüsyonunun Er:YAG lazer ile aktivasyonunun, S F solüsyonu ile yapılan aktivasyonuna göre biyofilm eliminasyon etkinliği daha fazla saptandı. Farklı irrigasyon solüsyonlarının kanal

içerisinde uygulanmasının Nd:YAG lazerin biyofilm eliminasyonu üzerine arttırıcı etkisi olmadığı belirlendi.

Sonuç olarak çalışmamızda en etkili yöntem olarak bulunan Er:YAG lazerin aktivasyonu ile yapılan irrigasyonun kök kanalından tamamen bakteriyel biyofilm eliminasyonunu sağlayamadığı saptanmıştır. Buna rağmen, lazerle aktive edilerek yapılan irrigasyon sonucu daha fazla negatif örnek ve apikal bölgede daha az biyofilm elde edildi.

Anahtar kelimeler: Lazer aktivasyonu ile yapılan irrigasyon, Er:YAG lazer, Nd:YAG lazer, biyofilm, *E. faecalis*, kök kanal dezenfeksiyonu

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the antimicrobial efficacy of erbium laser activated irrigation and Nd:YAG laser disinfection of root canals, and also that of conventional irrigation on intraradicular *Enterococcus faecalis* biofilms *in vitro* conditions by using scanning electron microscope.

In this study *Enterococcus faecalis* biofilms were grown in 4 weeks on the prepared root canal walls of 110 standardized root halves which had been longitudinally sectioned. At the end of the 4 weeks after following reapproximation, the roots were divided into nine groups of twelve and were treated with different irrigation protocols. In group I and II, saline or 1% NaOCl solutions were activated respectively in nonablative energy level by using the Er:YAG laser irradiation in the apical third of the root canal system. In group III and IV saline or 1% NaOCl solutions were activated by Er:YAG laser in the coronal third of the root canal system. In group V and VI, Nd:YAG laser was irradiated after the conventional irrigation that was made by using saline or 1% NaCl solutions. In group VII, VIII, IX conventional irrigation was treated respectively by using 1% NaCl, 6% NaCl or saline.

After the irrigation procedures the root halves were processed for scanning electron microscopy. The standard images (700x) were taken from apical, coronal and middle part of the specimens by using ESEM. Biofilm coverage were examined independently by three calibrated examiners, using a four-point scoring system.

It was concluded that none of the three methods used in this study did not eliminate *Enterococcus faecalis* biofilms completely. Also it was found that Er:YAG laser activated irrigation eliminated much more biofilms than conventional irrigation and Nd:YAG laser disinfection of root canals. The determination showed that the antimicrobial efficacy of Er:YAG laser activated irrigation applied in the apical part of the root canal is more effective than that of Er:YAG laser activated irrigation applied in the coronal part of the root canal. The biofilm elimination efficacy was much more with NaCl solution activation than saline solution activation irrigated by Er:YAG laser

irradiation. It was also determined that treating different irrigation solutions in canals did not augment the effect of Nd YAG laser irradiation on elimination of biofilms.

As a result; Er:YAG laser activated irrigation that was seemed to be the most effective method in our study proved not to eliminate the biofilms from the root canal completely. However, it was clear that laser activated irrigation generated much more negative samples and left less apical biofilms than the other irrigation methods.

Keywords: Laser-activated irrigation, Er:YAG laser, Nd YAG laser, biofilm, Enterococcus faecalis, root canal disinfection

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	viii
KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
TABLolar DİZİNİ.....	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 Enterokoklar	2
2.1.1 Enterokokların Fenotipik Özellikleri	3
2.1.2 Enterokokların Virulans ve Patojenite Özellikleri	4
2.1.3 Strese Karşı Cevap.....	6
2.1.4 Canlı Fakat Kültür Edilemeyen Faz (VBNC)	7
2.1.5 Ekstrasellüler Proteinlere Adezyon	7
2.2 Biyofilm.....	7
2.2.1 Biyofilm Oluşum Basamakları.....	8
2.2.2 Biyofilm Bakterilerinde Oluşan Fenotipik Değişiklikler	10
2.2.3 Biyofimdeki Ekolojik Değişiklikler Sonucu Oluşan	
Endodontik Enfeksiyonlar.....	11

2.2.4 Endodontik Enfeksiyonlarda Biyofilm Formasyonuna İlişkin İspatlar	11
2.2.5 Dış Kök Yüzeyinde Biyofilm Oluşumuna Benzer Belirtiler	12
2.2.6 Kök Kanal Biyofilm Formasyonuna İlişkin Hipotezler	12
2.2.7 Biyofilmde Anti-mikrobiyal Ajanlara Karşı Oluşan Direnç Mekanizmaları	13
2.3 Lazerler	14
2.3.1 Lazerin Tanımı	14
2.3.2 Geçmişten Bugüne Dış Lazerleri	15
2.3.3 Lazerlerin Sınıflandırılması	16
2.3.4 Dış Hekimliğinde Kullanılan Lazer Tipleri	17
2.3.5 Lazerlerin Biyofiziksel Etkileri	18
2.4 Endodontide Lazer Kullanımı	19
2.4.1 Pulpa Diağnozu	19
2.4.2 Dentin Hassasiyeti	19
2.4.3 Pulpa Kaplaması ve Pulpotomi	20
2.4.4 Kök Kanal Duvarlarının Modifikasyonu	20
2.4.5 Kök Kanallarının Sterilizasyonu	21
2.4.6 Kök Kanallarının Şekillendirilmesi ve Doldurulması	23
2.4.7 Kök Kanal Tedavisinde Kullanılması	24
2.4.8 Endodontik Cerrahi	25

2.4.9 Lazerlerin Farklı Endodontik İşlemlerde Kullanım Alanları.....	25
2.5 Sert Doku Lazer Biyofiziği.....	26
2.6 İrrigasyon Solüsyonlarının Lazer ile Aktivasyonu.....	27
2.7 Sodyum Hipoklorit	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
3.1 Örneklerin Hazırlanması.....	30
3.2 Bakteri Süspansiyonunun Hazırlanması	32
3.3 Biyofilm Oluşumu.....	33
3.4 Antimikrobiyal Testlerin Uygulanması.....	34
3.5 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) İncelemesi.....	36
3.6 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Gözlemleri.....	37
3.7 Skorlama Sistemi.....	38
3.8 İstatistiksel Değerlendirme	39
4. BULGULAR	40
4.1 Skorlama Değerlerine Ait İstatistiksel Bulgular.....	40
4.2 Kappa İstatistiklerine Ait Bulgular	45
4.3 SEM Görüntülerine Ait Bulgular	48
5. TARTIŞMA.....	55
6. SONUÇ.....	71
7.KAYNAKLAR	73

KISALTMALAR DİZİNİ

°C	Santigrat derece
µm	Mikrometre
µs	Mikrosaniye
ark.	Arkadaşları
CD	Compact Disc
CO ₂	Karbondioksit
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
Er,Cr:YSGG	Erbium,Chromium: Yttrium - Scandium – Gallium - Garnet
Er:YAG	Erbium: Yttrium- Aluminium- Garnet
GaAlAs	Gallium – Aluminium – Arsenit
He-Ne	Helium - Neon
Ho:YAG	Holmium: Yttrium - Aluminium - Garnet
Hz	Hertz
LAI	Lazer aktivasyonuyla yapılan irrigasyon
LDF	Lazer Doppler Flowmetry
M	Mol
mj	Millijoule
mm	Milimetre
ms	Milisaniye

mw	Miliwatt
NaOCl	Sodyum Hipoklorit
Nd:YAG	Neodymium: Yttrium-Aluminium - Garnet
nm	Nanometre
PIPS	Photon initiated photoacoustic streaming
S F	Serum Fizyolojik
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SSP	Super Short Pulse
VSP	Very Short Pulse

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	Biyofilm oluşumunun aşamaları	8
Şekil 3.1	Plastik kavanozlar içerisine gömülmüş prepare edilmiş kökler	30
Şekil 3.2	Biyofilm oluşumu için seçilen yarım kök.....	31
Şekil 3.3	Biyofilm oluşumu için seçilen kök ve ilgili silikon blok yüzeyinin işaretlenmesi	31
Şekil 3.4	Kök parçalarının sterilizasyonu ve kontrolü	32
Şekil 3.5	Biyofilm oluşumunda kullanılmayan yarım kök parçalarının ependorf tüplerinde steril halde bekletilmesi.....	32
Şekil 3.6	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212) suşu	33
Şekil 3.7	McFarland cihazı	33
Şekil 3.8	Besiyerinin örneği örtecek şekilde dağıtılması	33
Şekil 3.9	Fidelis Plus-III AT; Fotana, Ljubljana, Slovenia	35
Şekil 3.10	Er:YAG lazer ve Nd:YAG lazerin uygun parametrelerde uygulanması	36
Şekil 3.11	Critical point dryer sonrası dehidrate örneklerin elde edilmesi	37
Şekil 3.12	Örneklerin altın-palladyum ile kaplanması	37
Şekil 3.13	Örneklerin ESEM de incelenmek üzere yerleştirilmesi	38
Şekil 4.1	Dört haftalık <i>Enterococcus faecalis</i> biyofilmlerinin 3.000x büyütmedeki SEM görüntüleri.....	48

- Şekil 4.2** Dentin tübüllerinde 1 mm derinliğe invaze olmuş *Enterococcus faecalis* 30.000x büyütmedeki SEM görüntüleri49
- Şekil 4.3** Er:YAG lazerin dentin ablasyonu 700x büyütmedeki SEM görüntülerinde gözlemlenmesi.....50
- Şekil 4.4** Apikalde uygulanan Er:YAG lazerin S F solüsyonunu aktivasyonu sonucu apikal bölgede kök kanal duvarlarında *Enterococcus faecalis* biyofilmlerini tamamen elimine ettiği 700x büyütmedeki SEM görüntülerinde gözlemlenmesi.....50
- Şekil 4.5** Apikalde uygulanan Er:YAG lazerin NaOCl solüsyonu aktivasyonu sonucu apikal bölgede kök kanal duvarlarında *Enterococcus faecalis* biyofilmlerini tamamen elimine ettiği ve dentin yüzeyinde ablasyona neden olduğu 700x büyütmedeki SEM görüntülerinde gözlemlenmesi.....51
- Şekil 4.6** Koronalde uygulanan Er:YAG lazerin S F solüsyonu aktivasyonu sonucu apikal bölgede kök kanal duvarlarında *Enterococcus faecalis* biyofilmlerini kısmen elimine ettiği 700x büyütmedeki SEM görüntülerinde gözlemlenmesi.....51
- Şekil 4.7** Koronalde uygulanan Er:YAG lazerin NaOCl solüsyonu aktivasyonu sonucu apikal bölgede kök kanal duvarlarında *Enterococcus faecalis* biyofilmlerini kısmen elimine ettiği ve dentin yüzeyinde ablasyona neden olduğu 700x büyütmedeki SEM görüntülerinde gözlemlenmesi52
- Şekil 4.8** S F ile yapılan konvansiyonel irrigasyon sonrası uygulanan Nd:YAG lazerin apikal bölgede kök kanal duvarlarında *Enterococcus faecalis* biyofilmlerini kısmen elimine ettiği 700x büyütmedeki SEM görüntülerinde gözlemlenmesi52
- Şekil 4.9** NaOCl ile yapılan konvansiyonel irrigasyon sonrası uygulanan Nd:YAG lazerin apikal bölgede kök kanal duvarlarında

	<i>Enterococcus faecalis</i> biyofilmlerini kısmen elimine ettiği 700x büyütmedeki SEM görüntülerinde gözlemlenmesi	53
Şekil 4.10	Yüzde 1 NaOCl ile 1 dakika uygulanan konvansiyonel irrigasyonun apikal bölgede kök kanal duvarlarında <i>Enterococcus faecalis</i> biyofilmlerini kısmen elimine ettiği 700x büyütmedeki SEM görüntülerinde gözlemlenmesi.....	53
Şekil 4.11	Yüzde 6 NaOCl ile 1 dakika uygulanan konvansiyonel irrigasyonun apikal bölgede kök kanal duvarlarında <i>Enterococcus faecalis</i> biyofilmlerini kısmen elimine ettiği 700x büyütmedeki SEM görüntülerinde gözlemlenmesi.....	54
Şekil 4.12	S F ile 1 dakika uygulanan konvansiyonel irrigasyonun apikal bölgede kök kanal duvarlarında <i>Enterococcus faecalis</i> biyofilmlerinin varlığı 700x büyütmedeki SEM görüntülerinde gözlemlenmesi	54

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1	Enterokok türleri ve yaşam alanları	4
Tablo 2.2	Lazerlerin aktif maddesine göre sınıflandırılması	18
Tablo 4.1	Grupların biyofilm eliminasyon etkinliklerinin değerlendirildiği görüntü skorlarına ait tanımlayıcı istatistikler	40
Tablo 4.2	Grupların antimikrobiyal etkinliklerinin değerlendirilmesi için apikal, orta ve koronal bölgelerden alınan görüntü skorlarının dağılımı	41
Tablo 4.3	Gözlemcilerin iki farklı değerlendirmesi arasındaki uyumu belirlemek için yapılan kapa istatistiği	46
Tablo 4.4	Gözlemciler arası değerlendirmelerin uyumunu ölçmek için yapılan kapa istatistiği	47

GİRİŞ

Mikroorganizmalar pulpa dokusuna ulaştığı zaman, dentin tübüllerine invaze olmakta ve komşu konnektif dokularda yıkımla karakterize periapikal enflamasyonlara sebep olmaktadır (1). Kök kanal sisteminde derin bölgelerde bulunan dirençli bakterilerin eliminasyonu günümüz tedavi rejimlerinde ana sorundur ve endodontik tedavi görmüş dişlerin uzun dönem başarısında çok önemlidir (2).

Enterococcus faecalis kök kanal tedavisi sonrası dirençli periradikuler enfeksiyonlarda ana rol oynayan predominant organizmadır (3). *E. faecalis* kök kanal duvarlarına yapışabilir, birikebilir ve biyofilm olarak organize olabilen topluluklar oluşturabilir. Bu da biyofilm oluşturmeyen mikroorganizmalara göre fagositlere, antikorlara ve antimikrobiyalere 1000 kat daha fazla direnç sağlamaktadır (4).

Endodontide lazerlerin kullanımı kök kanal tedavisinin başarı şansını ve etkinliğini arttırmıştır. Genelde, dental lazerler dentinal dokulara daha iyi penetrasyonundan dolayı kök kanal sisteminde daha önce ulaşılamayan bölgelere daha iyi ulaşılabilirlik sağlamaktadır (5). Son çalışmalar bu lazer sistemlerinin tatmin edici bakterisidal etkinliklerinin olduğunu göstermiştir. Böylece endodontide lazer kullanımına yeni alanlar eklenmiştir (6).

Lazerle aktive edilen irrigasyon (LAI) , erbium lazerlerle yapılan ve irrigasyon solüsyonunu aktive eden bir metod olarak tanımlanır (7-12). Bu etki kavite oluşumuna dayanmaktadır; lazerin subablatif düzeyde ayarlanarak suda aktivasyonu, geniş eliptik buhar kabarcıklarının oluşmasıyla sonuçlanır. Daha sonra oluşan bu kabarcıklar genişleyip patlar. Bu buhar kabarcıkları orijinal hacminden 1600 katı hacim genişlemesine neden olur.

Bu çalışmanın amacı, erbium lazer aktivasyonu ile yapılan irrigasyonun, Nd:YAG lazerin kök kanal dezenfeksiyonunun ve konvansiyonel irrigasyon yöntemlerinin kanal içerisinde oluşturulan *Enterococcus faecalis* biyofilmleri üzerine antimikrobiyal etkinliklerinin taramalı elektron mikroskobu ile *in vitro* değerlendirilmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

Oral mikroorganizmaların kök kanal boşluğu içinde mikrobiyal topluluklar oluşturmasından sonra, bu kolonilerden mikroorganizmaların ve toksinlerinin periodontal ligament ve kemiğe yayılması sonucu periapikal dokularda oluşan enfeksiyona apikal periodontitis denmektedir (13). Ağızda 700'den fazla farklı bakteri çeşidi bulunmasına rağmen, kök kanal sisteminde çok az bakteri türleri enfeksiyon oluşturabilmekte ve antimikrobiyal ajanlara ve endodontik medikamentlere karşı direnç geliştirmektedir (14, 15).

Primer apikal periodontitisin etiyolojisinde gram (-) zorunlu veya fakültatif mikroorganizmalar dominanttır. Sekonder endodontik enfeksiyonlar ise gram (+) mikroorganizmaların sınırlı türleri tarafından oluşturulan monoenfeksiyon şeklinde gelişmektedir (16).

Endodontik enfeksiyonlar çoğunlukla, bakterilerin biyofilm oluşturması sonucu meydana gelmektedir. Akut enfeksiyonlardan planktonik mikroorganizmalar sorumlu olmasına rağmen, bu mikroorganizmalar daha önceden oluşmuş biyofilm yapılarından kaynaklanmaktadır (17). Nair ve ark. (18, 19) hem primer apikal periodontitis hem de sekonder apikal periodontitisin etiyolojisinden sorumlu mikroorganizmaların kök kanal boşluğunda oluşan biyofilm yapılarından kaynaklandığını saptamışlardır.

2.1 Enterokoklar:

Enterokoklar ağız boşluğunun, gastrointestinal kanal ve kadın genital yollarının normal florasında insanda ve hayvanlarda bulunan fırsatçı patojenler olarak adlandırılır. Tüm hastane enfeksiyonlarının %12'sinin etiyolojisinde enterokokların olduğu bildirmiştir (20). *E. faecalis* tüm enterokok enfeksiyonlarının %80'inden sorumludur (21).

Enterokoklar üriner sistem enfeksiyonları, bakteriyemi, karın içi ve pelvik bölgesi enfeksiyonları, cerrahi bölgede oluşan sekonder enfeksiyonlar ve merkezi sinir

sistemi enfeksiyonları gibi ciddi enfeksiyonlara sebep olmaktadır (22). Enterokoklar mekanik ventilasyon yapılmış hastalarda sıklıkla izole edilebilmektedir (23).

Enterococcus faecalis'in kök kanal tedavisi yapılmış başarısız olmuş vakalarda ve kronik apikal periodontitis olan dişlerde monokültür olarak sıklıkla izole edilmesi, bu mikroorganizmanın sekonder endodontik enfeksiyonların en yaygın etiyolojik faktörü olabileceği düşüncesine yönlendirmiştir (16).

2.1.1 Enterokokların Fenotipik Özellikleri

Enterokoklar 1980'lerin ortalarına kadar ayrı bir suş olarak tanımlanmamıştır. Temel mikrobiyolojik incelemelerde boyanma, hücre şekli ve diziliş benzerliği ile laktamaz enzim eksikliği enterokokların *Streptococcus* olarak adlandırılmasına sebep olmuştur. Grup D antijeninin bulunması sonrası enterokoklar; tuzu tolere edebilen grup D streptokoklar olarak isimlendirilmiştir.

Grup D antijeninin yapısı lipoteikoik asittir. Hemen hemen tüm gram (+) bakterilerde bulunan bir bileşiktir ve streptokokların karbohidrat yapısında olan antijenlerinden farklıdır. Enterokoklar 1984 yılında DNA-DNA ve DNA-RNA hibridizasyon çalışmaları sonrasında ayrı bir suş olarak gösterilmiştir (16).

Tablo 2.1 Enterokok Türleri ve Yaşam Alanları (4)

<i>E. faecalis</i>	Ağız boşluğu, gastro intestinal sistem, su, gıdalar, hayvanlar
<i>E. faecium</i>	Ağız boşluğu, gastro intestinal sistem, su, gıdalar, hayvanlar
<i>E. gallinarum</i>	Gıdalar, insan (az sıklıkla)
<i>E. casseliflavus</i>	Toprak, bitkiler, Gıdalar, insan (az sıklıkla)
<i>E. avium</i>	Hayvanlar
<i>E. hirae</i>	Hayvanlar
<i>E. durans</i>	İnsan, hayvan, gıdalar

Enterokokal hücreler sferik veya ovoid şekillidir, sıvı ortamlarda ikili veya kısa zincirler şeklinde bulunmaktadır. Endosporları yoktur ve bazı türleri kısıtlı flagellaları ile hareket edebilmektedir. Kremimsi beyaz renkte koloniler oluşturur, Gram (+), katalaz-negatif, %6,5 NaCl'da çoğalabilmekte, 10°C ile 45°C derece arasında yaşayabilmekte, 30 dakika boyunca 60°C derecede ve pH 9,6'nın üzerinde hayatta kalabilmektedir (24).

Enterokoklarının büyük bir kısmı fakültatif anaeroptur, fakat bazı türleri aeroptur. Enterokoklar nitratı indirgeyememekte ve pektin veya selülozu sindirememektedir. Enterokoklar pek çok dezenfektana veya fiziksel ajanlara fenotipik tolerans veya dirençlerini arttırma eğiliminde olan patojenik türlerdir. Bil-eskulin agarda çoğalmaları enterokokların teşhisinde en önemli özelliktir (25).

2.1.2 Enterokokların Virulans ve Patojenite Özellikleri

Enterokokların konakçı hücre ve ekstrasellüler matrikse adhezyonunu sağlayan, dokulara invazyonunu kolaylaştıran, immunomodulasyon ve toksine bağlı hasar oluşturmasını sağlayan virulans faktörleri vardır (16). Bu faktörler :

- A. Agregasyon substansı (as)
- B. Enterokokkal yüzey proteinleri (eyp)
- C. Gelatinaz
- D. Sitolizin toksini
- E. Ekstrasellüler süperoksit üretimi
- F. Antibiyotiğe karşı direnç belirleyicisi

A. Agregasyon Substansı

Hücre yüzeyinde lokalize olan bu protein, plazmitte kodlanmış bir adhezindir. Bu adhezin hücreler arası teması sağlayarak suşlar arasında plazmid değişimini kolaylaştırır (26-30).

Agregasyon substansı *E. faecalis*'in virulansında 4 farklı şekilde etki eder.

- Türler arasında, enterokokkal sitolizin ve antibiyotiğe karşı direnç gibi plazmitte kodlanmış virulans faktörlerinin yayılmasında rol alır (26).
- Renal ve bağırsak epitelyum hücrelerine enterokokların tutunmasını ve bu yüzeylerde enterokokların kolonizasyonunu kolaylaştırır (27).
- Polimorfonükleer lökosit (PMN) veya makrofaja bağlı fagositoz esnasında enterokokları korur. PMN'leri veya makrofajları mikrobiyal ölümle sonuçlanmayacak şekilde aktive eder (28, 29).
- Agregasyon substans ve sitolizinin sinerjistik etkileri sonucu virulans artmaktadır. Bu artış sitolizininin regülasyonunda quorum-sens mekanizmasının aktivasyonu ile sağlanmaktadır. Sonuç olarak doku zararı ve daha derin doku invazyonu oluşmaktadır (30).

B. Enterokokkal Yüzey Protein (eyp)

Eyp, özel çoklu tekrarlayan yapıya sahip, kromozomda kodlanmış yüzey proteindir. Virulanstaki rolü tam olarak bilinmemektedir, fakat merkezde tekrarlayan bölüm bakteri yüzeyinden proteini geri çekerek proteini immun sistemden saklar. Toledo-Arana ve ark., enterokokkal yüzey protein varlığında hidrofobisite, biyofilm oluşumu ve biyotik yüzeylere yapışmanın arttığını bildirmişlerdir (31).

C. Gelatinaz

Bakteriyel proteazların ana fonksiyonu organizmaya peptid sağlamaktır. Proteazlar direkt veya indirekt olarak konakçı dokulara verdiği zarar sonucu virulans faktörü olarak adlandırılmaktadır.

E. faecalis, gelatinaz ve serin proteaz olarak adlandırılan proteaz enzimleri salgılamaktadır. Salgılanma mekanizmaları *fsr* sistem (*E. faecalis* regülatörü) tarafından otoregüle edilmektedir. Hidrofobik olan gelatinaz, metallo-endo-peptidazdır ve gelatin, kazein, insulin, fibrinojen ve küçük peptidleri hidrolize edebilmektedir. Makinen ve Makinen, *E. faecalis*'in metallopeptidazını insan endotel hücrelerini inaktif etmesi (vazoaktif peptid) sebebiyle kokolizin olarak adlandırmışlardır (32).

D. Hemolizin (Sitolizin)

Beta-hemolitik *E. faecalis* suşları tarafından üretilen plasmitte kodlanmış toksindir. Eritrosit, polimorfonükleer nötrofil veya makrofajların lizisine, bakteriyel hücrelerin ölümüne ve fagositozun azaltılmasına neden olur (33).

Tip A lantibiyotik olarak sınıflandırılır. Lantibiyotikler, lantionin amino asitlerinden oluşan ve ribozomlardan sentezlenen peptidlerdir. Bakteri hücrelerinin sitoplazmik membranında por oluşturarak antibakteriyel etki gösterir.

E. Ekstrasellüler Superoksit

Ekstrasellüler superoksit üretimi enterokokal virulans ile ilgilidir. İnvaziv suşlarda kommensal suşlara göre üretimi daha fazla bulunmuştur (34).

2.1.3 Strese Karşı Cevap

Durağan faz (üreme olamayan faz) doğada mikroroganizmalarda en sık rastlanan durumdur. Sınırlı besin kaynakları olduğu durumlarda (açlık fazı) bakteriler bu durumun üstesinden gelebilmek için değişik stratejiler geliştirmektedir.

Açlık durumunda zamanla bakterilerin hücre büyüklüğünde küçülme olur. Moleküler sentez oranı, üreme fazından durağan faza doğru azalır. Üreme fazında uzun zincirler şeklinde olan hücrelerin aksine, açlık fazındaki hücreler nadiren zincirler şeklinde daha çok ikili olarak tespit edilir (16).

Glukoz eksikliğinde bakterilerin değişik streslere karşı daha dirençli olduğunun gösterilmesi; sınırlı besin şartlarında *E. faecalis'in* direnç kazandığı sonucuna varılmasını sağlamıştır (35). Açlık fazında ısı, hidrojen peroksit (H₂O₂), asidite, tuz (NaCl), sodyum hipoklorit (NaOCl), safra tuzları ve sodyum dodesil sülfat (SDS) gibi değişik streslere karşı hücrelerin korunması artmaktadır (36-38).

Klorinin, hücrede çeşitli subsellüler komponentlere yıkıcı etkisi ve protein sentezini inhibe edici etkisi vardır. Glukoz eksikliği ile oluşturulan açlık fazındaki bakteriler, üreme fazındaki hücrelere göre 900 kat daha fazla NaOCl'e karşı direnç göstermiştir (37).

2.1.4 Canlı Fakat Kültür Edilemeyen Faz (VBNC)

Uzun süren açlık fazından sonra, başlangıç seviyesindeki total bakteri sayısı aynı kalmasına rağmen, kültür edilen hücre sayısı azalmaktadır. Yapılan son çalışmalarda, kullanılan standart mikrobiyolojik teknikler ile bakterilerin canlı fakat kültür edilemeyen faza geçtikleri gösterilmiştir. Sonuç olarak; hücre bölünmesinin restorasyonu veya tekrar canlandırılması canlı fakat kültür edilemeyen faz hipotezini desteklemektedir. Isı artışı veya besin maddelerinin eklenmesi gibi şartlardaki değişiklikler kültür edilemeyen bakterilerin tekrar canlanmasını sağlamaktadır (39).

2.1.5 Ekstrasellüler Proteinlere Adezyon

Konakçı hücrelere bakterilerin adezyonu, dokulara invazyon ve enfeksiyonun yerleşmesi için en önemli basamaktır. Bakteriler konakçı ekstrasellüler matrikse spesifik adhesin-ligandlar aracılığıyla tutunmaktadır (16).

2.2 Biyofilm

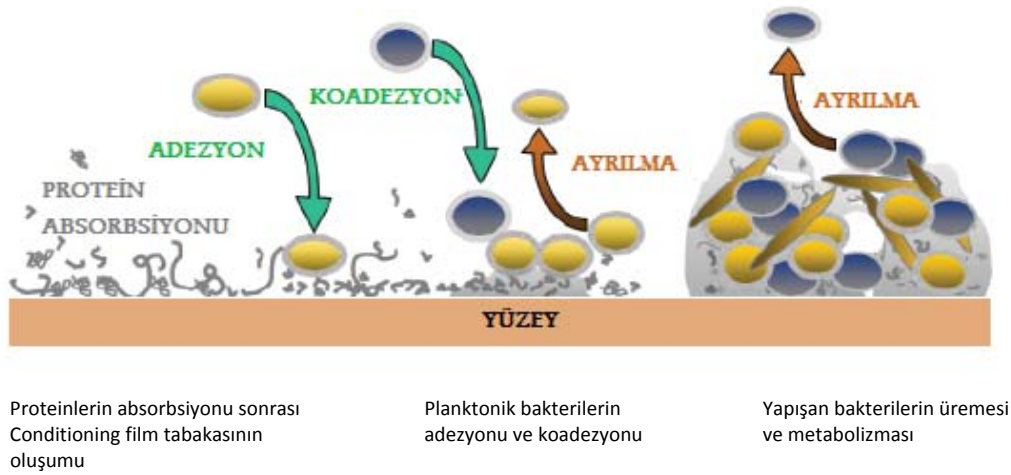
Biyofilm proteinler, polisakkaritler, nükleik asitler ve eksopolimerik maddelerin hidrate matriks içine gömülmesi sonucu oluşan, canlı ve çeşitli cansız yüzeylere geri dönüşümsüz olarak bağlanmış bakteri topluluklarıdır. Ekstrasellüler polimerik matriks biyofilm hacminin %85'ini oluşturmaktadır(40).

Biyofilm formasyonu ise; yüzeye yapışma ve immobilizasyon, hücreler arası iletişim, mikrokoloni oluşumu ve biyofilmin yapısal maturasyonunu içeren kompleks gelişimsel bir olgudur (41).

2.2.1 Biyofilm Oluşum Basamakları

Doğal ortamlarda mikroorganizmalar ve makromoleküller nadiren serbest haldedir, yüzeylere tutunmaya ve yapışık mikrobiyal topluluklar oluşturmaya kuvvetli eğilimleri vardır. Su sistemlerinde serbest halde yüzebilen mikroorganizmalar olarak tanımlanan planktonik mikroorganizmalar, biyofilm oluşumu için ön şarttır. Dolayısıyla biyofilm, sıvılarla temasta olan her yüzeyde oluşabilir (42). Değişik çevrelerde oluşan biyofilmlerin yapısı, kompozisyonu ve mikrokolonilerin aktiviteleri farklı olmasına rağmen, mikrotoplulukların gelişim aşamaları aynı basamakları takip etmektedir. Bu aşamalar:

1. Conditioning film tabakasının deposisyonu
2. Planktonik mikroorganizmaların adezyonu ve polimerik matriks içinde kolonizasyonu
3. Diğer mikroorganizmaların koadezyonu
4. Mikroorganizmaların biyofilm üst tabakasından koparak ayrılması



Şekil 2.1 Biyofilm oluşumunun aşamaları (43)

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 teşvik ederek, biyofilmin mikrobiyal içeriğini belirlemektedir (44).

İkinci aşama; mikroorganizmaların adezyonunu içerir. Biyolojik ortamlarda pek çok mikroorganizma biyofilm yapısında rol alır. İlk kolonize olan mikroorganizmalar, diğer organizmalarla koadezyon için çok önemlidir. Örneğin, streptokok suşları dış yüzeyinde ilk kolonize olan türdür ve gram (+) ve gram (-) mikroorganizmaların koadezyonları için önemli özellikler taşımaktadır (45).

Üçüncü aşama; yapışmış mikroorganizmaların metabolizma aktiviteleri ve üremelerini içerir. Bunun sonucunda karışık mikrobiyal topluluklar yapısal olarak organize olur. Bu aşamada, mikroorganizmaların genotipik özellikleri ve mikroçevrenin yapısı biyofilmdeki mikroorganizmaların çoğalmasını ve başarısını etkilemektedir.

Mikroorganizmaların yüzeyden ayrılması gelişim aşamasının devamı olarak görülmelidir. Lokalize mikroorganizmaların ayrılması başlangıç adezyonundan hemen sonra başlar ve zamanla artar çünkü artış biyofilmde mevcut olan mikroorganizmaların sayısı ile ilişkilidir. Mikroorganizmaların yüzeyden düzenli olarak ayrılması, başka bölgelere yayılmayı ve kolonize olmayı sağlamaktadır.

Lazer taramalı konfokal mikroskobu ile matür biyofilm yapısı incelendiği zaman; çoğunluğunda su akışı olan açık su kanalları içeren matrikse gömülmüş mikrokolonilerden oluştuğu tespit edilmiştir. Bu açık yapı, mine yüzeyinden ağız boşluğuna doğru transvers kanalları olan dental biyofilmlerde gösterilmiştir. Belirtilen bu açık yapı, besinlerin dağılımını ve metabolik son ürünlerin uzaklaştırılmasını sağlamaktadır (46).

Biyofilmi oluşturan bakterilerin topluluk olarak yaşamalarının pek çok avantajı vardır. Biyofilm içinde birlikte fonksiyon gören tamamlayıcı ekstrasellüler enzimlere sahip oral bakteriler, tek başına bir bakterinin parçalayamadığı kompleks besin moleküllerini parçalayabilirler (47). Bu durum, devital pulpalı enfekte kök kanalındaki biyofilm popülasyonlarının besinsizlik durumunda nasıl canlı kalabildiklerini ve besin kaynaklarına ulaştıklarında hızla nasıl toparlandıklarını açıklayabilir.

2.2.2 Biyofilm Bakterilerinde Oluşan Fenotipik Değişiklikler

Biyofilmin yapısında bulunan bakterilerin fizyolojik özellikleri, sıvı kültürde bulunan aynı bakteri suşundan daha farklıdır. Biyofilmde üreyen belirli bakteri türlerinin daha virulan hale dönüştüğü bulunmuştur.

Mikroorganizmaların belirli yüzeylere adezyonu, çok sayıda gen ekspresyonunun değişmesini tetikler. Ayrıca adezyona protein sentez değişikliklerinin yanında sadece yapışık hücrelerde tanımlanan proteinlerin sentezi de eşlik etmektedir. Sonuç olarak mikroorganizmaların fenotipinde değişiklikler olur. Örneğin, *Streptococcus gordonii* türünün tükürükle temas etmesi, tükürükte bulunan glikoproteinlere bağlanan proteinleri kodlayan genleri tetiklediği gösterilmiştir (48).

Bireysel olarak mikroorganizmalar çevreden gelen kimyasal bilgileri algılayıp, fenotipik özelliklerini değiştirebilirler. Besinlerde oluşan konsantrasyon değişiklikleri, metabolik son ürünler, oksijen, büyüme faktörleri ve biyosidler biyofilm yüzeyinde farklı fiziksel ve kimyasal gradientlerin oluşmasına neden olmaktadır (47). Dolayısıyla biyofilmlerin mikroçevresel olarak farklılıklar içermesi; aynı suşun farklı fenotiplerinin oluşmasına neden olmaktadır.

Quorum sensing, hücre popülasyon hacminine bağlı olarak oluşturulan, bakteriyel gen ekspresyonunun düzenlenmesidir ve otoindüsör olarak adlandırılan ekstrasellüler sinyal moleküllerinin üretimi aracılığıyla gerçekleştirilir (49). Quorum sensing mekanizması; virulans, biyofilm formasyonu, ekstrasellüler DNA salınımı ve çevresel strese karşı cevap oluşturma gibi pek çok mikrobiyal özelliklerin düzenlenmesinde rol alır (50).

Oral mikroorganizmalar tarafından salınan sinyal molekülleri türler arası iletişimi sağlamaktadır. Kök kanallarında bulunan *S. Gordonii*, *Streptococcus mitis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusebacterium nucleatum* ve *Prevotella intermedia* gibi oral bakteriler quorum sensing mekanizması ile birbirleriyle iletişim kurarlar (51).

2.2.3 Biyofimdeki Ekolojik Değişiklikler Sonucu Oluşan Endodontik Enfeksiyonlar

Endodontik lezyonların akut atakları, kök kanal boşluğuna besin maddelerinin girmesi sonucu oluşan ekolojik değişikliklerin, proteolitik bakterilerin gelişimini sağlaması ile tetiklendiği düşünülmektedir. Primer enfekte kök kanalının tedavisinde yapılan taşkın enstrumantasyon periapikal dokularda yaralanmalara neden olur. Kök kanalına iltihabi eksudanın girişi endodontik işlemler sırasında canlı kalabilen proteolitik bakterilerin gelişimine neden olur. Benzer şekilde; yenilenen kanal tedavisi işlemleri sırasında taşkın enstrumantasyon, yapılan kanal dolgusu ile hapsedilmiş bakterilerin besinsizlik durumunu ortadan kaldıracaktır. Eğer kanal sistemi tekrar açılırsa foraminal yapıların dikkatsiz genişletilmesi besin kaynağını arttırarak tedavi sonucunu olumsuz etkiler (52).

Koronal sızıntı olarak adlandırılan koronal restorasyonların kırılıp kök kanal sistemi ile ağız ortamı arasında geçiş yolunun oluşması hem kök kanal sisteminde doldurulamamış alanlarda bulunan mikroorganizmalara besin kaynağı sağlar hem de yeni mikroorganizmaların yerleşmesini sağlar (53).

2.2.4 Endodontik Enfeksiyonlarda Biyofilm Formasyonuna İlişkin İspatlar

Enfekte kök kanallarında biyofilm yapıları ilk defa Nair tarafından tespit edilmiştir. Nair (54), periapikal lezyonlu, geniş koronal çürüğü olan 31 tane çekilmiş dişin kök kanal içeriğini transmisyon elektron mikroskopunda (TEM) incelemiştir. Enflamatuar doku ile birlikte büyük çoğunluğunun koklar, rodlar, spiroketler ve filamentlerin ayrı ayrı gevşek kümelenmelerinden oluşan mikroroganizma yığınlarını saptamıştır. Ayrıca kök kanal duvarlarına yapışmış inceden kalına doğru tabakalanmalar gösteren yoğun bakteriyel kümelenmeler tespit etmiştir. Bakteriler arası boşluklarda amorf bir materyal gözlemlemiş ve bu materyali ekstrasellüler matriks olarak yorumlamıştır.

Şen ve ark. (55) apikal periodontitisli tedavi edilmemiş çekilmiş dişleri SEM ile incelemişlerdir. Kok ve rodların dominat olarak kök kanal duvarlarında koloniler oluşturduğu ve dentin tübüllerine penetre olduklarını tespit etmişlerdir.

2.2.5 Dış Kök Yüzeyinde Biyofilm Oluşumuna Benzer Belirtiler

Tronstad ve ark. (56) tedaviye cevap vermeyen inatçı endodontik vakalar olarak adlandırılan dişlerde yapılan apikal rezeksiyon sonrası çıkarılan kök uçlarını SEM ile incelemişlerdir. Apikal foramene yakın apeks bölgesinin devamlı, düzgün ve çeşitli bakteri formlarını içeren bir tabaka ile kaplandığını tespit etmişlerdir. Yüzey düzensizlikleri, girinti ve boşluklarda ekstrasellüler madde ile bir arada tutunan koklar ve rodlar ile birlikte bazı fibriller formlar tespit etmişlerdir.

Lomçalı ve ark. (57) asemptomatik apikal periodontitisli dişlerin kök uçlarının dış kısımlarını SEM ile incelemişlerdir. Apikal foramen ve foremene komşu bölgelerde ve rezorbsiyon lakünalarında, yoğun bakteri kümelenmeleri ve kalın ekstrasellüler matriks içine gömülmüş çok tabakalı bakterileri tespit etmişlerdir.

Siqueria ve Lopes, (58) geniş çürüklü, asemptomatik periradiküler lezyonlu yapışık 26 tane çekilmiş dişi SEM ile incelemişlerdir. Kok ve rodların kanal içinde sınırlı olduğunu görmüşlerdir. Yoğun bakteriyel kümelenmeler sadece 1 örnekte apikal foramenin ötesinde, 1 vakada da apikal foramene yakın bulunurken, diğer örneklerde bu bölgede birkaç bakteri hücresi saptamışlardır. Apikal foramende veya dışında bulunan bakterilerin gerçek koşulları yansıtmadığını, çekim sırasında bakteriyel kolonilerin ekstrüze olduklarını savunmuşlardır.

2.2.6 Kök Kanal Biyofilm Formasyonuna İlişkin Hipotezler

Kök kanalında oluşan biyofilm için gerekli ön şartlar, pulpanın yıkım sebeplerine bağlı olarak değişmektedir. Travmaya bağlı iskemik yaralanma sonucu oluşan pulpa nekrozu ile çürük sonucu pulpanın ekspoze olması arasında kolonizasyon fazı bakımından gerekli ön şartlar farklıdır. Çürük sonucu oluşan enflamatuar lezyon apekse doğru ilerlerken planktonik mikroorganizmaları da içine alarak, bu

mikroorganizmaların çoğalmasını ve kök kanal duvarlarına yapışmasını sağladığı düşünülmektedir (17).

Mikroorganizmaların pulpaya başlangıç penetrasyonunu sadece tahmin edebiliriz çünkü mikroorganizmaların nasıl yapıştığı ve kök kanalı boyunca nasıl ilerlediği bilinmemektedir. Muhtemelen; biyofilm oluşumu sonrası enflamatuar lezyon güç kazanarak pulpal dokuda yıkıma neden olmaktadır. Bakteriyel kümelenmeler konakçı savunma mekanizması tarafından zaptedilirse; yıkım işlemi durağan faza geçebilir. Bakteriyel sınır hattı; kanal içinde kanal çıkışına yakın (54), foramende (54) veya SEM’de gösterildiği gibi (56, 57) periapikal dokulara yakın foramen çıkışında dış kök yüzeyinde olabilir. Mikroorganizmaların bu bölgelerden ayrılabilceği ve lezyon içinde toplanabileceği düşünülmektedir (59).

Nair’in (54) gözlemlediği gibi çoğu lezyonlar kanalın çıkışına yakın bölgede bulunan mikroorganizmaların aktif fagositozunu yapan PMN’lerin yoğun infiltrasyonu sonucu oluşan akut fazdadır. Dolayısıyla biyofilm benzeri topluluklar için gerekli sıvı faz enflamatuar lezyonlardan kaynaklanmaktadır. Her zaman kök kanalları sıvı ile dolu değildir ve nekrotik pulpalı dişlerin kanallarının koronal kısmı sıklıkla kurudur. Biyofilm yapısındaki bakteriyel kümelenmelerin kök kanalın içerisinde mi geliştiği yoksa kanalın apeksine yakın bakteri ile enflamatuar kesişim bölgesinde mi olduğu sorusu cevaplanamamıştır. Bu enflamatuar alan, konak kaynaklı proteinler ve bakteriler tarafından üretilen adeziv substanslar içerdiği için uygun ön koşulları sağlayabilir (17).

2.2.7 Biyofilmde Anti-mikrobiyal Ajanlara Karşı Oluşan Direnç Mekanizmaları

Biyofilm içinde üreyen mikrobiyal toplulukları anti-mikrobiyal ajanlarla yok etmek zordur ve matür biyofilmdeki mikroorganizmalar oldukça dirençlidir. Biyofilmde üreyen mikroorganizmalar planktonik formdakilere göre 2 ile 1000 kat daha dirençli oldukları rapor edilmiştir (60). Bu dirence neden olan mekanizmalar şu şekilde açıklanmaktadır (61-64)

- Ekstrasellüler polimerik matriks anti-mikrobiyel ajanın geçişi için bariyer oluşturur.
- Biyofilmin polianyonik yapısı katyonların derin diffüzyonuna direnç gösterir, antikorları engeller ve antibiyotikleri nötralize eden laktamaz gibi enzimlerin konsantrasyonunu arttırır.
- Bakterilerin transpozon ve plazmidler aracılığıyla DNA değişimi yeni fenotiplerin oluşturmasını 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.

2.3. Lazerler

2.3.1 Lazerin Tanımı

Lazer, İngilizce 'Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation' kelimelerinin baş harflerinden oluşan bir kısaltmadır. Einstein'ın 1917'de ortaya attığı postulatın adı olup; lazer işığının elde edilif teorisini belirtmektedir. Radyasyon kaynağının enerjisinin aktif bir madde üzerine dufürölüp, yoğunlaştırılarak emilimi ile oluşan çok ince bir spektrumdaki işık/işın enerjisinin, mekanik-optik düzeneklerle arttırılarak başka bir ortama iletilmesiyle elde edilen enerjidir (65). Lazer, belirli kurallarla hareket eden ve fotonlardan oluşan disiplinli bir işıktır. Lazer işını, tek renklidir (monokromatik), doğrusaldır (collimated) ve işığı oluşturan fotonlar aynı fazdadır (koherans) (66). Tıpta ve diş hekimliğinde kullanılan esas özelliği ise tek renkli (dalga boyu) olmasıdır. Bu sayede lazer ile hedeflenen dokulara etki edilirken evre dokulara minimum düzeyde tahribat olmaktadır. Buna lazerin doku selektif özelliği denir (67).

Lazer işığının rengi elde edildiği maddeye bağlıdır ve lazerler elde edildikleri maddelerin isimleriyle anılmaktadır. Çeşitli element ya da kristallerden ve ultraviyole

(mor ötesi) dalga boylarından infrared (kızıl ötesi) dalga boylarına kadar çeşitli renklerde lazerler üretilmiştir (67).

2.3.2 Geçmişten Bugüne Diş Lazerleri

Townes ve Schawlow radyasyonun 1953'te uyarılmış salınımı ile elektromanyetik dalga güçlendirilmesi yani MASER (Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation) sistemini geliştirdiler. Gordon 1958'de tasarladığı aygıta 'laser' adını vererek, bu sözcüğü ilk kullanan olmuştur (66).

Diş hekimliğinde lazer kullanımı, Theodor Maiman'ın 1960 yılında Amerika'da ilk lazer ışığını elde etmesinden çok kısa bir süre sonra başlamıştır. İlk uranyum lazer cihazı Ruby lazerdir ve IBM laboratuvarlarında geliştirilmiştir. Bell laboratuvarlarında 1961'de ilk helyum-neon lazer cihazı geliştirilmiştir. Robert Hall 1962'de, ilk semikondüktör lazeri General Electric laboratuvarlarında tanıtmıştır (66). İlk Nd:YAG lazer ve CO₂ lazer Bell laboratuvarlarında 1964'te bulunmuş, argon lazerin 1964'de, kimyasal lazerin 1965'de ve metal buhar lazerin 1966'da tanıtılmasıyla gelişmeler devam etmiştir(66). Goldman ve ark. (68) 1965'de lazer ile dövmenin uzaklaştırılması deneyi sırasında erkek kardeşinin dişine iki sinyal kırmızı ışık uygulamış ve minenin yüzey çatlamasının ağrısız olduğunu gözlemlemişlerdir. Bilim adamları 1970'lerin ortalarından sonlarına doğru, lazerleri yumuşak doku uygulamalarında kullanmışlardır. Daha sonra birçok araştırmacı CO₂ lazerin ağız yumuşak doku lezyonlarında ve periodontal uygulamalarda etkili olduğunu savunmuşlardır (69-71). Weichmann ve Johnson (72) 1971 yılında endodonti alanında ilk defa lazerleri kullanmışlardır. Genel diş hekimliğinde 1990'da Nd:YAG lazer kullanımıdır. Hibst ve Keller (73) 1989'da deneysel olarak Er:YAG lazerin mine, dentin ve kemiği kesmede etkili olduğunu göstermiştir. Diş hekimliğinde 1990'larda kompozit polimerizasyonu, diş beyazlatma, koronal pulpa çıkartılması ve mine çürüklerinin temizlenmesi gibi lazerin kullanım alanları tanıtılmıştır.

2.3.3 Lazerlerin Sınıflandırılması

1. Yayım şekline göre: Fasilalı lazer, devamlı lazer, atımlı lazer.
2. Gücüne göre: Yüksek güçlü lazer, orta güçlü lazer, düşük güçlü lazer.
3. Yayım materyaline göre: Gaz lazer, katı fazlı lazer, boya lazer, yarı iletken diyot lazer, halka lazer.
4. Uygulanan dokuya göre:
 - a. Sert doku lazerler: Kemik ve diş dokularını kesmede, diş yüzeyini bonding hazırlamada, küçük miktarda diş dokusunu uzaklaştırmada ve dental restorasyonlarda kullanılmaktadır.
 - b. Yumuşak doku lazerler: Damar ve sinir sonlarının kapatılması amacıyla yumuşak dokuya uygulanmaktadır.
5. Biyolojik zarar potansiyeline göre:
 - a. Sınıf I: Bu lazerler lazer çürük tespit edicilerde ve CD çalarlarda bulunur. Bu lazerlere çıplak göz ile bakmanın riski yoktur. Bu grup lazerlerin maksimum kuvvet çıkışı mavi ışık için 40 μ W ve kırmızı ışık için 400 μ W tır (74).
 - b. Sınıf II: Bu lazerler lazer pointer'larda bulunur. Çıplak göz ile bakmada riskleri vardır (75, 76). Bu grup lazerlerin maksimum çıkışı 1mW tır.
 - c. Sınıf III: Sınıf IIIa, IIIb ve IIIr olmak üzere 3 alt tipi vardır. Sınıf IIIa lazerler, herhangi bir dalga boyunda yayılabilir. Korumasız göz için zararlı değildir. Sınıf IIIb lazerlerin, maksimum çıkışı 0,5 mW tır. Örnek olarak soft medikal lazerler, lazer ölçüm cihazları, lazer ışık cihazları verilebilir. Çevresel kontroller, koruyucu gözlükler ve lazer güvenliği için bilgilendirilme gerekmektedir. Korumasız gözler için zararlıdır. Sınıf IIIr lazerler, IIIa'dan daha az çıkışa sahiptir ve sınıf IIIb ile aynı güvenlik önlemlerini gerektirdiği bildirilmiştir (77).
 - d. Sınıf IV: Tüm yüksek güç lazerleri, cerrahi ve diğer kesici lazerleri içerir. Güç çıkışının üst sınırı yoktur. Diş hekimliğinde ve oral-maksillofasiyal cerrahide

kullanılan tüm cerrahi lazerler bu gruba girer. Bu grup lazerler korunmasız personele en büyük zararı verirler (78).

2.3.4 Diş Hekimliğinde Kullanılan Lazer Tipleri

Argon Lazer: Aktif maddesi argon olan lazerdir. İki dalga boyu vardır; 488 nm (mavi) ve 514 nm (mavi-yeşil). Her iki dalga boyu da dental sert dokular ve su tarafından daha az emilir. Böylece gingival cerrahiler sırasında diş sert dokularına zarar vermeme avantajına sahiptir(79).

CO₂ lazer: Bir gaz-aktif madde lazeridir. Dalga boyu 10.600 nm'dir. Su tarafından iyi emilir. Hızlı bir yumuşak doku uzaklaştırıcısıdır. Yoğun fibröz doku kesmede çok başarılıdır. Hidroksiapatit emilimi diğer dental dokulardan daha yüksektir (72, 80-86).

Diyot Lazer: Katı-fazlı semikondüktör bir lazerdir. Elektrik enerjisini ışık enerjisine dönüştürmek için alüminyum-galyum-arsenit birleşimi kullanılmaktadır. Dental uygulamalarda 800 ile 900 nm arasındaki dalga boyları kullanılır. Diyot lazer çok iyi bir yumuşak doku lazeridir. Sulkuler enfekte doku temizlenmesinde ve gingival cerrahi işlemlerde kullanılır. Diş sert dokuları tarafından emilimi azdır. Avantajı küçük boyutlu cihaz olmasıdır (87).

Er,Cr:YSGG ve Er:YAG Lazerler: Er,Cr:YSGG (2790 nm) lazer katı itriyum-skandiyum-granat aktif maddesine sahiptir. Er:YAG (2940 nm) lazer ise itriyum-alüminyum-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 (88, 89).

Ho:YAG Lazer: İttriyum-alüminyum-granat aktif maddesine sahiptir. Dalga boyu 2120 nmdir. Su tarafından emilimi Nd:YAG lazerlerden fazladır. Fakat pigmente dokulara afinitesi azdır. Emilimi diş sert dokuları tarafından düşüktür. Temporomandibuler eklemin artroskopik cerrahisinde kullanılmaktadır (90).

Nd:YAG lazer: Katı aktif ortamı vardır. Diş hekimliği için geliştirilen ilk lazerdir. Dalga boyu 1064 nm'dir. Su ve pigment dokular tarafından yüksek emilim gösterir. Diş sert dokuları tarafından emilimi çok azdır. Bu lazer, çeşitli periodontal uygulamalarda ve sulkuler enfekte doku temizlenmesinde kullanılmaktadır (91, 92).

Tablo 2.2 Lazelerin aktif maddesine göre sınıflandırılması

	Diş Hekimliğinde Kullanım Alanı	Avantajı
Argon Lazer	Gingival cerrahiler	Sert dokulara zararı az
CO₂ Lazer	Yumuşak doku cerrahisi	Yoğun fibröz doku kesme
Diyot Lazer	Yumuşak doku cerrahisi Sulkuler enfekte doku temizleme Gingival cerrahi	Sert doku emilimi az Küçük cihazla kullanım
Er,Cr:YSGG Lazer Er:YAG Lazer	Diş çürüğünün uzaklaştırılması Diş preparasyonu	Gingivaya yakın çürükler rahatlıkla tedavi edilebilir
Nd:YAG Lazer	Periodontal uygulamalarda Sulkuler enfekte doku temizlenmesinde	Su ve pigmente dokular tarafından yüksek emilim gösterir.
Ho:YAG Lazer	Temporomandibuler eklemin artroskopik cerrahisi	Diş dokuları tarafından emilimi düşük

2.3.5 Lazerlerin Biyofiziksel Etkileri

- * Analjezik etki (67)
- * Biyomodülasyon etki, dokuda etki yaratmayacak kadar düşük seviyede lazer enerjisinin doku hücrelerinin mitokondri ve endoplazmik retikulum gibi organellerine ulaşarak protein sentezi artışı, hücre membranı elektrik yük dağılımı farklılıkları gibi etkilerin görülmesidir (67).
- * Koagülasyon etkisi
- * Vaporizasyon etkisi

* Karbonizasyon etkisi

* Ablasyon etkisi, su moleküllerinin lazer enerjisini absorbe etmesi nedeniyle çok kısa zamanda ısının artmasına ve buharlaşması ile aniden hacminin artması sonucu patlayarak doku moleküllerini uzaklaştırabilmesidir (93).

2.4 Endodontide Lazer Kullanımı

2.4.1 Pulpa Diağnozu

Lazer Doppler Flowmetry (LDF) cihazı pulpanın canlı olup olmadığını lazer ışını ile saptanabilmesi amacı ile kullanılmaktadır. Bu aletin çalışmasındaki temel prensip pulpa dokusundaki kırmızı kan hücrelerinde kan akışında olan değişiklik prensibine dayanmaktadır. Pulpa dokusu üzerine gönderilen lazer ışınının kırmızı kan hücrelerinin yansıyan değerlerinin monitörize edilmesi sonucu pulpanın canlı olduğu sonucuna varılır (94).

Bu yöntem, objektif, doğru sonuç verir ve zararsızdır. Özellikle diğer hassasiyet testlerine cevap vermeyen geniş pulpalı genç travmaya uğramış dişlerde etkilidir (94).

Bu cihaz ile her dişin pulpasının canlılığını saptamak güçtür, çünkü mine ve dentin dokusunun kalın olduğu arka dişler grubunda gönderilen lazer ışınının yansımından elde edilen değerler her zaman doğru sonuçlar vermemektedir. Ancak mine ve dentin dokusunun her zaman ince olduğu ön diş grubunda pulpa canlılık testleri için lazer doppler flowmetry cihazının kullanımı güvenilir sonuçlar vermektedir. Bu yöntem için kullanılan lazer tipi dalga boyu 632,8 nm olan helyum neon (He-Ne) ya da dalga boyu 780-820 nm olan GaAlAs yarı iletken diod lazerdir (94)

2.4.2 Dentin Hassasiyeti

Dentin hassasiyeti, hatalı fırçalama, dişeti çekilmesi, hatalı beslenme gibi çeşitli faktörler sonucu oluşmaktadır. Ağrı genelde kök yüzeyinde sonlanan dentin tübül ağzlarının smear tabakası ile kaplanamaması, açık kalması sonucu oluşmaktadır. Dentin hassasiyeti tedavisinde düşük güçlü He-Ne ve diyet lazerler ve orta güçlü Nd:YAG ve CO₂ lazerler kullanılmaktadır (95).

Hassasiyetin azaltılmasını sağlayan mekanizmalar tam olarak bilinmemesine rağmen her lazer için farklıdır. Düşük güçlü lazerlerin enerjisinin çok az bir kısmı mine veya dentinden geçerek pulpa dokusuna ulaşır. He-Ne lazer, hassasiyeti elektrik aktivitesini etkileyerek azalttığı fakat periferel ağrı ile ilgili A α veya C-fiber reseptörlerini etkilemediği saptanmıştır (96). Diod lazer ise aferent C-fiber sinir liflerinin depolarizasyonunu bloke ederek ağrıyı baskıladığı gösterilmiştir (87). Nd:YAG lazer dentinden geçerek termal etki sonucu pulpa dokusunda analjezi oluşturduğu saptanmıştır (91). Karbondioksit lazer ise dentin tübül ağzlarını kapatarak geçirgenliği azaltır (80).

2.4.3 Pulpa Kaplaması ve Pulpotomi

Apeksi kapanmamış, immatür dişlerde devitalizasyon ve kök kanal tedavisi yapılamadığı için pulpotomi önerilmektedir. Pulpotominin lazerle yapılması dokunun vaporize ve koagüle olmasını sağlar. Dolayısıyla operasyon bölgesinde kanama olmaz. Ayrıca lazer uygulanmış yara yüzeyi steril edilmiş olur (95).

Melcer ve ark. (81) köpeklerde ekspoz olmuş pulpa dokusuna CO₂ lazeri ilk defa uygulayarak hemostazisi sağlamışlardır. Moritz ve ark. (82) CO₂ lazeri insanlarda direkt pulpa kaplamasında uygulamış ve direkt kuafaj olan dişlerde %89 başarı sağlamışlardır.

Shoji ve ark. (83) köpeklerde CO₂ lazer uygulayarak ilk defa pulpotomi yapmışlardır ve çalışmalarında radiküler pulpada herhangi bir zarar gözlemlenmemişlerdir. Wilder-Smith ve ark. (84) ve Dang ve ark. (85) köpeklerde CO₂ lazer ile pulpotomi yapmışlar ve pulpaya etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmalarda lazer uygulamasından 1 hafta sonra lazer uygulanmış grupta kontrol grubuna göre pulpada daha fazla yara iyileşmesi bulmuşlar ve lazerle ablaze edilen dokuların altında düzenli odontoblast tabakası içeren sekonder dentin oluşumu saptamışlardır.

2.4.4 Kök Kanal Duvarlarının Modifikasyonu

Endodontik enstrümantasyon sonrası kök kanal duvarlarında smear tabakası oluşmaktadır. Bu tabaka, inorganik maddelerin yanı sıra nekrotik debrisin oluşturduğu

organik maddelerden, bakteri ve bakteriyel yan ürünlerden oluşmaktadır (94). Dolayısıyla smear tabakasının uzaklaştırılması veya dentin yüzeyinin füzyonu amacımız olmalıdır (95).

Weichman & Johnson (72) apikal forameni kapatmak için ilk defa CO₂ lazeri kök kanalında uygulamışlardır. Bu çalışma amacına ulaşamamış olmasına rağmen sonraki çalışmalara öncül olmuştur. Pashley ve ark. (86) CO₂ lazerin uygulanması sonrası dentin geçirgenliğinde azalma ve çeşitli morfolojik değişiklikler saptamışlardır. Önal ve ark.(97) CO₂ lazer ışığını 9,3-10,49 µm alanda etkili olduğunu, yüzeyel tabakayı eriterek dentinde lezyonun ilerlemesini engellediğini ve kompozit rezinin dentine bağlanma dayanımını arttırdığını tespit etmişlerdir.

Weichman ve ark. (92) Nd:YAG lazer ile kök kanalının apikal girişini kapatmak amacıyla *in vitro* çalışma yapmışlardır. Nd:YAG lazer için geliştirilen ince fiber uçlarının, kanal içerisinden uygulanması sonucunda pek çok çalışma yapılmıştır (98). Koba ve ark. (99) uygun parametrelerde Nd:YAG lazer ile kök kanalından debris ve smear tabakasını uzaklaştırmışlardır. Moshonov ve ark. (79) prepare edilmiş kök yüzeylerinden etkin bir biçimde smear tabakası ve debris uzaklaştırmayı başarmışlardır. Takeda ve ark. (88, 100, 101) Er:YAG lazerin, argon ve Nd:YAG lazere göre smear tabakasını daha etkili uzaklaştırdığını tespit etmişlerdir.

Diod lazerlerin 940 nm ve 980 nm olan her 2 dalga boyunun su bazlı ortamlarda şok dalga oluşturduğu gösterilmiştir. Kavitasyon etkisi, frekans ve atım aralığından ziyade lazerin gücü ile ilgilidir. Diod lazerle aktive edilen %3'lük peroksit solüsyonu suya göre daha fazla kavitasyon etkisi meydana getirdiği saptanmıştır (89).

Er,Cr:YSGG (102) ve Er:YAG (103) lazerlerin kök kanlından debris ve smear tabakası uzaklaştırılması ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır.

2.4.5 Kök Kanallarının Sterilizasyonu

Diş hekimliğinde kullanılan lazer sistemlerinde lazerin, mikroorganizmaları öldürme potansiyeli olduğu fikri yaygındır. Nd:YAG lazerin dar kök kanallarına girebilen fiber optik uçlarının varlığı, bu lazerleri daha popüler yapmıştır.

Schoop ve ark. (6) çekilmiş tek köklü dişlerde 72 saat *Enterococcus faecalis*, *Prevotella buccae*, *Peptostreptococcus micros*, *Escherichia coli* ve *Bacteroides fragilis* suşlarını inoküle etmişlerdir. Er:YAG lazeri 1 W enerji seviyesinde uyguladıktan sonra *E. faecalis* suşu hariç diğer tüm suşlarda %99,99 eliminasyon sağlamışlardır. Lazeri 1,3 W enerji seviyesine arttırmalarına rağmen *E. faecalis* suşunu tamamen elimine edememişlerdir.

Schoop ve ark. (104) 0,5 ile 6 watt arası uyguladıkları Er,Cr:YSGG lazerin dezenfeksiyon etkisinin enerji seviyesine bağlı olmadığını tespit etmişlerdir.

Near-infrared spektrumda olan diod ve Nd:YAG lazerlerin antibakteriyel etkisi ısı ile oluşmaktadır. Near-infrared lazerlerle elde edilen antibakteriyel etki *P. gingivalis* gibi pigmente bakterilerde fazla iken, pigmente olmayan bakterilerde çok az bulunmuştur (105).

Hardee ve ark. (106) çekilmiş tek köklü dişlerde *Bacillus stearothermophilus* sporlarını 24 saat inoküle ettikten sonra, %0,5 NaOCl ile konvansiyonel irrigasyon, Nd:YAG lazer ile dezenfeksiyon veya her iki irrigasyon yöntemini kombine ederek antimikrobiyal etkinliklerini kıyaslamışlardır. Hiç bir grupta sterilizasyon tespit edememişlerdir. Fakat Nd:YAG lazer ile dezenfeksiyon süresini 2 dakikaya çıkarttıkları zaman %99 sterilizasyon elde etmişlerdir.

Moritz ve ark. (107) kök kanal enfeksiyonu olan 40 hastayı diod lazer uygulayarak *in vivo* tedavi etmişlerdir. Konvansiyonel irrigasyon tekniğine göre diod lazerle yapılan sterilizasyon sonrası kanal içerisinde yüksek oranda bakteriyel eliminasyon sağlanmışlardır.

Kuvvetli ve ark. (108) çekilmiş tek köklü dişlerde 24 saat *Enterococcus faecalis* suşunu inoküle ettikten sonra, diod lazer ve Er:YAG lazer ile yapılan dezenfeksiyon yöntemlerini, %5,25 NaOCl kullanılarak yapılan konvansiyonel irrigasyon tekniğiyle kıyaslamışlardır. Diod lazer ve %5,25 NaOCl ile yapılan konvansiyonel irrigasyon teknikleri ile etkili bakteriyel eliminasyon sağlamışlardır. Er:YAG lazerin antibakteriyel etkinliğini diğer 2 tekniğe göre daha az tespit etmişlerdir.

Noiri ve ark. (109) Er:YAG lazerin, hidroksiapatit disklerde modifiye Robbins cihazı kullanılarak oluşturulan *Actinomyces naeslundii*, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus casei*, *Propionibacterium acnes*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* ve *Prevotella nigrescens* biyofilmleri üzerine etkinliğini araştırmışlardır. Er:YAG lazer 0,38-0,98 J/cm² arasında değişen enerji yoğunluklarında uygulandığında *Lactobacillus casei* suşu dışında diğer 6 farklı bakteri biyofilmleri üzerinde etkili bulmuşlardır. Lazer uygulaması sonrası biyofilmdeki hücre sayısında ve biyofilm hücre yoğunluğunda azalma, bakteriyel hücrelerde atrofik değişiklikler tespit etmişlerdir.

2.4.6 Kök Kanallarının Şekillendirilmesi ve Doldurulması

Kök kanalının preparasyonu endodontik tedavide en önemli basamaktır. Bu sayede kök kanalından organik dokuların uzaklaştırılması, irrigasyonun kolay yapılması ve obturasyon aşaması için kök kanal duvarlarının hazırlanması sağlanmaktadır (95).

Erbium lazerlerin dentin ablyasyonu ve debrisini uzaklaştırma etkileri vardır. Roper ve ark. (110) Er:YAG lazerin kökün koronal kısmında orta ve apikal bölgeye göre daha fazla dentin ablyasyonu yaptığı ve orta ve apikal bölgede yoğun smear tabakası oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Buldukları bu sonuçların prosedürel hatalardan kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir.

Minas ve ark. (111) Er,Cr:YSGG lazerlerin farklı enerji seviyelerinde ve çeşitli endodontik uçlar kullanarak kanal içi ablyasyon hızı ve etkinliğini araştırmışlardır. Uygulanan enerji gücünün ve kullanılan endodontik uçlarının çaplarının artması ile lazerin ablyasyon hızının ve etkinliğinin fazlaştığını saptamışlardır. Kullanılan endodontik uçların uygulanan güce göre, lazerin ablyasyon hızı ve etkinliği üzerine daha fazla etkisi olduğunu tespit etmişlerdir. Soares ve ark. (112) kök kanalından debrisin uzaklaştırılması ve şekillendirilmesinde kullanılan el eğeleri ve döner aletler ile Er,Cr:YSGG lazeri karşılaştırmışlardır. Hiçbir tekniğin kök kanalından tamamen debrisini uzaklaştıramadığını saptamışlardır. Fakat Er,Cr:YSGG lazerin döner aletlere göre daha fazla debrisini uzaklaştırdığı, bu 2 tekniğinde el aletlerine göre daha üstün olduğunu,

ayrıca Er,Cr:YSGG lazer ile yapılan kanal preparasyonu, el ve döner aletlerle yapılan instrümantasyona göre daha az sürede uygulandığını tespit etmişlerdir.

Potts ve ark. (113) obtürasyon materyali olarak kullandıkları camphorequinone içeren rezin materyalini, 477 ve 488 nm dalga boyunda argon lazer ile başarılı bir şekilde polimerize etmişlerdir. Optik fiber ile uygulanan argon lazerin endodonti pratiğinde obtürasyon amaçlı kullanılabileceğini savunmuşlardır. Anic ve ark. (114) kompozit rezini lateral veya vertikal kondensasyon yöntemleri kullanarak 488 nm dalga boyunda argon lazer ile polimerize ederek kanal içinde obtürasyon sağlamışlardır. Lateral kondensasyon yöntemi ile doldurulan kompozit rezin materyalleri arasında daha az boşluk olduğunu tespit etmişlerdir. Anic ve ark. (115) başka bir çalışmada çekilmiş tek köklü dişlerde 4 farklı obtürasyon tekniğini karşılaştırmışlardır. Gutta-perka ile yapılan lateral kondensasyonu, düşük ısı ile termoplastize edilen gutta perka (Ultrafil) ile yapılan obtürasyonu, 3 farklı lazer (argon, CO₂ ve Nd:YAG) kullanılarak gutta perkanın yumuşatılması ile yapılan vertikal kondensasyonu ve argon lazer ile kompozit rezinin polimerizasyonu sonucu yapılan obtürasyon tekniklerini kıyaslamışlardır. Argon lazer kullanılarak gutta perkanın yumuşatılması ile yapılan vertikal kondensasyonun apikal uyumluluğunun, lateral kondensasyon ve Ultrafil ile yapılan obtürasyon kadar başarılı olduğunu saptamışlardır.

2.4.7 Kök Kanal Tedavisinde Kullanılması

Nd:YAG lazer uygulandıktan sonra kök kanalı doldurulmuş enfekte dişlerin 3 veya 6 aylık klinik takibi sonucu, lazer uygulanmamış dişlere göre postoperatif rahatsızlık veya ağrı çok az saptanmıştır (99, 116). Nd:YAG lazer uygulaması sonrası anında oluşan kurutucu etki, kök kanal içerisindeki eksudanın buharlaşması sonucu duvarlara süspanse formdaki materyallerin çökmesinden kaynaklanmaktadır. Dolayısıyla hemostazis sonrası periapikal lezyonun inhibisyonunu sağlayan iyileşme etkisi gözlenmektedir. Gutknecht ve ark. (117) lazer kullanımı sonrası %82 oranında başarı tespit etmişlerdir. Tedavi sonrası çiğneme sırasında ağrının kalktığını, perküsyon

hassasiyeti ve 3 ile 12 ay arasında periapikal bölgede radyolusent görüntüde azalma saptamışlardır.

2.4.8 Endodontik Cerrahi

Apisektomi, kök ucunun komşu periapikal dokular ile birlikte çıkartılıp kürete edilmesidir. Apikal rezeksiyon konvansiyonel kanal tedavisine cevap vermeyen, başarısız kanal tedavili dişlerde endikedir. Endodontik cerrahi lazer ile yapıldığı zaman, kansız cerrahi bölgesinin oluşması sonucu dokular daha kolaylıkla vaporize edilmekte ve koagülasyon ve kan damarlarının uçları pıhtılaşabilmektedir. Kesilen yüzeye lazer uygulanırsa, yüzey steril edilebilmekte ve pıhtılaşabilmektedir. Er:YAG lazerin termal veya yapısal zarar oluşturmadan sert dokuları kesmesi, frez kullanımına gerek duyulmamasını sağlamaktadır (95).

Miserendino (118) ilk defa CO₂ lazer ile apisektomi yapmıştır. CO₂ lazerin apikal bölgedeki dentin tübüllerini kapattığını ve enfekte alanı steril ettiğini tespit etmiştir. Ardından CO₂ lazer ile *in vitro* çekilmiş dişlerde çalışılmıştır (119). Bader ve Lejeune (120) CO₂ lazer ile klinik olarak apisektomi yapmış fakat yara iyileştirme etkisinin olmadığını saptamışlardır.

Maillet ve ark. (121) Nd:YAG lazeri *in vitro* çekilmiş dişlerde veya *in vivo* tavşanlarda apikal rezeksiyon cerrahisinde kullanmış fakat cerrahinin frezle yapıldığı kontrol grubuna göre yara iyileşmesinde gecikme saptamışlardır.

Paghdiwala (122) çekilmiş dişlerde Er:YAG lazer ile kök rezeksiyonu yaptığı çalışmada, rezeke edilmiş kök yüzeylerini karbonizasyon olmadan düzgün ve temiz saptamışlardır. Komori ve ark. (123) Er:YAG lazeri klinik olarak uyguladıkları zaman yara iyileşmesinde artma ve postoperatif şikayetlerde azalma tespit etmişlerdir. Er:YAG lazerin apikal biyofilmin eliminasyonunda etkili olduğu gösterilmiştir (124).

2.4.9 Lazerlerin Farklı Endodontik İşlemlerde Kullanım Alanları

Rocca ve ark. (125) 504 nm dalga boyu olan ve böbrek taşlarını parçalamak için kullanılan atımlı lazeri, kalsifiye yapışık dentikellerin çıkartılmasında kullanmışlardır.

Arakawa ve ark. (126) Nd:YAG ve CO₂ lazerleri kök kırıklarının tedavisinde kullanmışlardır. Reaprosimasyon tekniğine, kullanılan lazerin tipi, enerjisi ve parametrelerine bakılmaksızın kırık parçalarının kaynaşmasını başarısız saptamışlardır.

Tachinami ve Katsuumi (127) Er:YAG lazeri çeşitli enerji seviyelerinde uygulayarak gutta perka ve lateral kondensasyon ile doldurulmuş çekilmiş ön dişlerden, perforasyon ve kök kanal duvarlarından fazla miktarda dentin ablyasyonu olmadan kanal dolgu materyalini çıkarmışlardır.

Nagase ve ark. (128) lazer uygulanmış kök kanalları ile fiber postlar arasındaki bağlanma dayanımını araştırmışlardır. Bu çalışmada Nd:YAG uygulanmış grupta en az tutuculuk bulunmuştur. Tüm gruplarda, dentin ile rezin ara yüzeylerinde kırıklar tespit edilmiştir.

2.5 Sert Doku Lazer Biyofiziği

Lazer ışığının dental dokularda biyolojik etkileri bazı faktörlere bağlıdır. Bu faktörler; lazerin dalga boyu, enerjinin yoğunluğu, lazer ışınlanmasının atım zamanı ve ışık ile etkileşime giren dokunun özelliklerine bağlıdır. Bu özellikler lazer enerjisinin absorpsiyonu, iletimi, dağılması ve yansımalarını kapsar (93).

Tüm erbium lazerler su, hidrosiapatit ve kollajen tarafından yüksek oranda absorbe edilen dalga boyuna sahiptir. Er:YAG lazer 300 mikrosaniye atım süresinde kullanıldığında, penetrasyon derinliği 5µm civarındadır (73).

Günümüzde minenin ablyasyonu konusunda erbium lazerlerin her iki dalga boyu için de geçerli olan fotoakustik etki kabul edilmiştir. Minerallerden oluşan substratta dokular arasında hapsolmuş suyun yüzey altından hızla genişmesi, yoğun hacimsel genişlemeye neden olur. Bu genişleme çevresindeki materyalin parçalanmasını sağlar. Su spreji ve kısa atım zamanının kullanımı sonucu, diş yapısında geriye kalan komşu dokulara minimum ısı iletimi olur (129). Tüm erbium lazerlerin dental dokularla etkileşimi pop sesi oluşumunu sağlar. Aslında bu pop sesi, lazer enerjisinin patlayıcı şekilde yayılması sonucu oluşan şok dalgasıdır. Bu pop sesi oluşumu fotoakustik etki olarak adlandırılır. Oluşan bu ses dalgasının atım aralığı ve yankısı, çürüğün olup

olmamasına göre değişmektedir. Fotoakustik etki kısa atım zamanı (100-250 mikrosaniye) ve yüksek enerji yoğunluğunun sonucu oluşan bir özelliktir (130).

Erbium lazerlerin fotoakustik etkisine ilave olarak bakterisidal etkisi diğer dalga boylarına benzemektedir. Erbium dalga boyu, bakteri hücrelerinde bulunan su tarafından absorbe edilir ve sert doku ablyasyonunda görüldüğü gibi hücreler benzer biçimde sıvıdan buhar fazına dönüşür. Bakterilerin bu yıkımı sert ve yumuşak doku işlemlerinde kullanılan lazerlere avantaj sağlamaktadır (131).

2.6 Irrigasyon Solüsyonlarının Lazer ile Aktivasyonu

Lazer ışının tek yönlü yayılımı, lazerlerin tüm kök kanal duvarlarına etkinliğini sınırlandırmaktadır. Lazer ışınlarının tüm kök kanal duvarlarına yayılımını sağlamak amacıyla fiber ucun kök kanal boyunca spiral olarak hareket ettirilmesi gerekmektedir. Buna rağmen lazer ışınları kök kanal duvarlarının bütününe ulaşamamaktadır. Diğer alternatif yaklaşım ise; lateral yönlere ışın saçan fiber uçların kullanımudur. Fakat bu uçların büyüklüğü kullanımlarını kısıtlamaktadır (132). Tüm bu lazer kullanımı ile ilgili dezavantajlar yeni irrigasyon tekniklerinin geliştirilmesini sağlamıştır.

Lazerle aktive edilen irrigasyon (LAI) erbium lazerlerle yapılan ve irrigasyon solüsyonunu aktive eden bir metod olarak tanımlanır. Blanken & Verdaasdonk (9-10) 2007 yılında Er,Cr:YSGG lazer ile düz endodontik lazer ucunu (Biolase Z4 Endotip) kanal içerisinde kullandıkları çalışmada; lazerin her atımı sonrası kök kanal içerisinde sıvı akışını ilk gözlemleyen bilim adamlarıdır. Bu etki kavitasyon oluşumuna dayanmaktadır. Lazerin subablatif düzeyde ayarlanarak suda aktivasyonu, geniş eliptik buhar kabarcıklarının oluşmasıyla sonuçlanır. Daha sonra oluşan bu kabarcıklar genişleşip büzülür. Bu buhar kabarcıkları orijinal hacminden 1600 katı hacim genişlemesine neden olur. Böylece basınç artar ve sıvının kanaldan taşmasına neden olur. Kabarcık 100 ile 200 mikrosaniye sonra büzüldüğünde, basınç düşer ve sıvı kanal içerisine geri gelerek sekonder kavitasyon etkisi oluşturur. Dolayısıyla lazer sıvı pompası olarak çalışır (11).

2.7 Sodyum Hipoklorit

Sodyum hipoklorit (NaOCl), kanalların mekanik preperasyonunda lubrikasyon sağlamaktadır. Renkleşmiş dişler üzerinde beyazlatma etkisi vardır. Dentin tübüllerinin geçirgenliğini arttırarak ilaçların kanal içinde difüzyonunu kolaylaştırır (133). Antibakteriyel özellikleri üstündür. Organik doku varlığında etkinliği çok az etkilenir. Nekrotik doku artıklarını etkin bir şekilde çözer (134). Ayrıca %5,25 NaOCl'nin vital pulpa üzerinde de çözücü etkisi olduğu ve dentin tübüllerine penetre olup, tübül içeriklerini de çözebildiği belirtilmiştir (135, 136). Klinik kullanımda etkinliği ısısının arttırılması, ultrasonik enerji ile birlikte kullanılması veya EDTA gibi yüzeylere difüzyonunu arttıracak ajanlarla birlikte kullanılması ile arttırıldığı tespit edilmiştir. Etkinliğini azaltan faktörler ise, dilüsyonunun azaltılmasıdır (137).

NaOCl'in endodontide kullanımı ilk defa 1936 yılında Walker tarafından önerilmiştir. 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 üzerideyken hipoklorit iyonu (OCl⁻) halindedir. NaOCl'in pH'sı, tamponlanmadığı zaman yaklaşık 11-12'dir. NaOCl çoğunlukla %0,5 ve %6 arasında değişen konsantrasyonlarda kullanılmaktadır (94).

Solüsyonun antibakteriyel etkinliğini açıklayan iki temel görüş vardır.

Birinci görüşe göre: Solüsyonun dezenfektan etkinliği, içerisindeki tepkimeye girmemiş hipokloröz asit (HClO) miktarına bağlıdır. Hipokloröz asit bakteri enzimlerinin sülfürhidril grupları üzerine oksidatif etki yaratarak germisidal etki gösterir. Böylece bu mekanizma ile hayati enzimleri inhibisyona uğrayan bakteriler ölmektedir (94).

İkinci görüşe göre: Solüsyonun hipertonic olması, hücre içi sıvısının bir miktar osmotik olarak hücre dışına çıkmasını sağlar. Sodyum hipoklorit doku proteinleriyle temasa geçtiğinde çok kısa bir süre içinde nitrojen, formaldehit ve asetaldehit oluşur ve peptid bağlarının yıkımı ile proteinlerin çözünmesi meydana gelir. Bu reaksiyon sırasında amino grubundaki (-HN⁻) hidrojen, klorin (-NCl⁻) ile yer değiştirerek kloramin oluşur. Bu madde solüsyonun antimikrobiyal aktivitesinde önemli bir rol oynar (94).

Sodyum hipokloritin organik dokular üzerindeki etkisi, hipokloröz aside bağlıdır. Hipokloröz asid insolübl proteinlerle reaksiyona girerek, solübl yapıda polipeptid, amino asit ve diğer yan ürünlerin oluşumunu sağlayarak etkisini göstermektedir (94).

NaOCl'in dezavantajları smear tabakasını tek başına uzaklaştırması, periapikal dokulara taşırıldığı zaman toksik etki göstermesi, kötü bir tada ve kokuya sahip olmasıdır (138). Kök kanal sisteminin karmaşık anatomik yapıda olması, *in vivo* koşullarda inflamatuvar eksuda, doku artıkları ve mikrobiyal toplulukların varlığı NaOCl'in etkinliğini azaltmaktadır

Pek çok *in vitro* çalışmada NaOCl'in mikroorganizmaların biyofilm formlarını elimine etmede en etkili irrigasyon solüsyonu olduğu saptanmıştır (139-144).

Kök kanal tedavisi başarısızlıklarında önemli rolü olan *Enterococcus faecalis'e* karşı, endodontide kullanılan farklı irrigasyon tekniklerinin etkinliğinin saptanması bu bakteriyi elimine etmek için bir adım olacaktır.

Literatürde çeşitli lazer tipleri kullanılarak, lazerlerin kök kanalında antimikrobiyal etkinlikleri *in vitro* olarak incelenmiştir. Sodyum hipoklorit kullanılarak yapılan konvansiyonel irrigasyonun dentin tübüllerinde ancak 200 ile 300 µm derinliğe kadar ulaştığını (145), lazerlerin ise dentin tübüllerinde 1 mm'ye kadar antimikrobiyal etkinliğinin olduğu savunulmuştur (146).

Bu çalışmanın amacı, erbium lazer aktivasyonu ile yapılan irrigasyonun, Nd:YAG lazerin kök kanal dezenfeksiyonunun ve konvansiyonel irrigasyon yöntemlerinin kanal içerisinde oluşturulan *Enterococcus faecalis* biyofilmleri üzerine antimikrobiyal etkinliklerinin taramalı elektron mikroskobu ile *in vitro* değerlendirilmesidir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Örneklerin Hazırlanması

Yüz on adet çekilmiş tek köklü anonimize dişler, otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildi. Dişlerin kuronları kesildi ve kökler 16 mm uzunluğunda standardize edildi. Apikal açıklık 10 numara K-tipi paslanmaz çelik eğe (VDW, Antaeos, Germany) ile sağlandı. Kök kanallarının koronal preparasyonuna 5 numara Gates-glidden frezler (Dentsply Maillefer) ile başlandı ve koronal genişletme sırasıyla 4 ve 3 numara gates-glidden frezler kullanılarak devam edildi. Kök kanalları, ProTaper rotary eğeler (Dentsply Maillefer) ile apikalde görülen 10 numara eğeyle ölçülen mesafeden 1 mm kısa olacak şekilde prepare edildi. F3 ProTaper rotary eğenin kullanımı sonrası, apikal preparasyon 50 numara K-tipi nikel titanyum el eğeleri (Dentsply, Maillefer) kullanılarak yapıldı. Enstrümantasyon sırasında %1'lik NaOCl (Aklar Kimya, Ankara, Türkiye) irrigasyon solüsyonu olarak kullanıldı. Prepare edilen kök kanalları en son steril serum fizyolojik solüsyonu (Doğa ilaç, İstanbul, Türkiye) ile irrigate edildi. Her kök silikon ölçü maddesi kullanılarak 12 küçük kavanoz içeren plastik kaplar içerisine yerleştirildi (Şekil 3.1). Prepare edilen kök kanallarının koronal bölgesinin üst yüzeyi, silikon ölçü maddesinin yüzeyi ile aynı seviyede olmasına dikkat edildi.



Şekil 3.1 Plastik kavanozlar içerisine gömülmüş prepare edilmiş kökler

Silikon ölçü maddesi sertleştikten sonra, her kök ve o köke ait silikon ölçü bloğu numaralandırıldı. Böylece köklerin karıştırılmadan kendi silikon indeksine yerleştirilmesi sağlanmış oldu. Tüm kök boyunca bukkal ve palatinal yüzeylerde elmas disk ile çentik açıldı ve keski ile kökler ikiye ayrıldı. En uniform yarım kök biyofilm oluşumu için seçildi. Kök parçacıkları silikon indeks içerisine tekrar yerleştirildi ve biyofilm oluşumu için seçilen kök ve ona tekabül eden silikon blok yüzeyi işaretlendi. Böylece her kök parçasının gerçek oryantasyonu belirlendi. Kök parçaları silikon indekslerinden çıkartıldı ve 1 dakika boyunca %17'lik EDTA solüsyonunda smear tabakasını uzaklaştırmak için bekletildikten sonra su ile yıkandı. Kök parçaları 121°C derecede 15 dakika otoklavda steril edildi.



Şekil 3.2 Biyofilm oluşumu için seçilen yarım kök



Şekil 3.3 Biyofilm oluşumu için seçilen kök ve ilgili silikon blok yüzeyinin işaretlenmesi

Otoklav işlemi sonrası, biyofilm oluşumunda kullanılmayan yarım kök parçaları önceden numaralandırılmış steril endorff tüplerinde % 100 nemli ortamda bekletildi.



Şekil 3.4 Kök parçalarının sterilizasyonu ve kontrolü



Şekil 3.5 Biyofilm oluşumunda kullanılmayan yarım kök parçalarının ependorf tüplerinde steril halde bekletilmesi

3.2 Bakteri Süspansiyonunun Hazırlanması

Biyofilm oluşumu, vidalı bir şekilde kapanan steril hücre kültür flaskları (Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Germany) içinde gerçekleştirildi. Böylece besiyeri değişimi yapılırken oluşabilecek kontaminasyon riski en aza indirildi.

Çalışmada American Type Culture Collection (ATCC)'a kayıtlı standart suşlardan *Enterococcus 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 (Şekil 3.6). McFarland cihazında (PhoenixSpec, BD, NJ, USA) 4 ml serum fizyolojik solüsyonu içinde üreyen *E. faecalis* suşu bulanıklık değeri 0,5 olarak ayarlandı (Şekil 3.7). Sonra 47,5 ml Brain Heart Infusion (BHI) broth ve 2,5 ml

McFarland 0,5 bulanıklık değerine sahip *E. faecalis* karıştırıldı ve 1/20 oranında bakteri süspansiyonu hazırlandı.



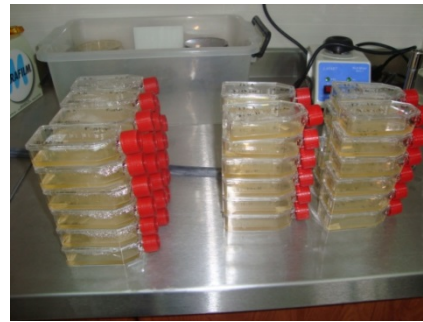
Şekil 3.6 *E. faecalis* (ATCC 29212) suşu



Şekil 3.7 McFarland cihazı (PhoenixSpec, BD, NJ, USA)

3.3 Biyofilm Oluşumu

Steril edilen ve biyofilm oluşumu için seçilmiş tüm yarım kökler tek tek steril hücre kültür flasklarına yerleştirildi. Hazırlananmış olan BHI besiyeri ve bakteri süspansiyonu karışımından 8'er ml yarım kökü örtecek şekilde hücre kültür flasklarına koyuldu (Şekil 3.8). Hücre kültür şişeleri 37°C' lik etüvde dört hafta boyunca matür biyofilm oluşumu için bekletildi. Mevcut besiyerleri birer hafta arayla boş enjektörlerle çekilerek yerine 8 ml taze BHI besiyeri koyuldu. Besiyeri değişimi sırasında besiyerinden alınan örneklerin kanlı agara ekimi yapıldı ve 37°C' de etüvde 24 saat inkübe edilerek kontaminasyon yönünden değerlendirildi. Grupların hiçbirinde *E. faecalis* dışında bir bakteri üremesi gözlemlenmedi.



Şekil 3.8 Besiyerinin örneği örtecek şekilde dağıtılması

Dört haftanın sonunda *E. faecalis* biyofilminin kolonizasyon paternini görüntülemek için biyofilm oluşmuş yarım köklerden 2 tanesi SEM ile incelendi.

3.4 Antimikrobiyal Testlerin Uygulanması

Dört haftalık *E. faecalis* biyofilmi oluşumunu takiben hücre kültür şişeleri içindeki yarım kökler irrigasyon işlemlerinin gerçekleştirilmesi amacıyla tekrar silikon indeksleri içine yerleştirildi ve her grup 12 diş içecek şekilde rastlantısal olarak 9 gruba ayrıldı. Dokuz grup aşağıdaki şekilde irrigate edildi.

Deney grubu I: Serum fizyolojik ile 40 saniye yapılan konvansiyonel irrigasyon sonrası yeni dizayn edilmiş 14 mm uzunluğunda, 400 µm çapında, PIPS (Photon initiated photoacoustic streaming) endodontik fiber uç kullanılarak, 15 Hz ve 35 mJ enerji seviyesinde, 2940 nm dalga boyu olan Er:YAG lazer ile SSP (Super short pulse) modunda, 50 µs atım süresinde kanal içerisindeki irrigasyon solüsyonu aktive edildi. Fiber uç, apikal preparasyondan 5 mm uzaklıkta, 20 saniye boyunca sabit tutuldu. Uçtan 9 mm uzaklıkta lastik stopper takılan fiber ucun kök kanalı içerisinde doğru uzaklıkta konumlandırılması sağlandı.

Deney grubu II: Irrigasyon solüsyonu olarak %1'lik sodyum hipoklorit kullanıldı ve grup I ile aynı irrigasyon prosedürü uygulandı.

Deney grubu III: Serum fizyolojik ile 40 saniye yapılan konvansiyonel irrigasyon sonrası, yeni dizayn edilmiş 14 mm uzunluğunda, 400 µm çapında, PIPS endodontik fiber uç kullanılarak, 15 Hz ve 35 mJ enerji seviyesinde, 2940 nm dalga boyu olan Er:YAG lazer ile SSP modunda, 50 µs atım süresinde kanal içerisindeki irrigasyon solüsyonu aktive edildi. Bu kez farklı olarak fiber uç, kök kanalının koroneline yerleştirildi ve 20 saniye aktive edildi. Irrigasyon solüsyonu, sadece kök kanalı içerisinde irrigasyon solüsyonu azaldığı durumlarda ilave edildi.

Deney grubu IV: Irrigasyon solüsyonu olarak %1'lik sodyum hipoklorit kullanıldı ve grup III ile aynı irrigasyon prosedürü uygulandı.

Deney grubu V: Serum fizyolojik ile 40 saniye konvansiyonel irrigasyon yapıldıktan sonra kanal kağıt konilerle kurutuldu. İki yüz μm çapında endodontik fiber uç kullanılarak, 15 Hz ve 1,5 watt enerji seviyesinde 1062 nm dalga boyu olan Nd:YAG lazer ile VSP (Very Short Pulse) modunda, 100 μs atım süresinde kanal içerisine uygulandı. Fiber uç apikalden koronale doğru yukarı, saniyede 2 mm olacak şekilde, sirküler hareketlerle çekildi. Bu işlem 4 kez tekrarlandı.

Deney grubu VI: Irrigasyon solüsyonu olarak %1'lik sodyum hipoklorit kullanıldı ve grup V ile aynı irrigasyon prosedürü uygulandı.

Deney grubu VII: Konvansiyonel irrigasyon 5 ml %1'lik sodyum hipoklorit ile 1 dakika boyunca yapıldı.

Negatif kontrol deney grubu VIII: Konvansiyonel irrigasyon 5 ml %6'lik sodyum hipoklorit ile 1 dakika boyunca yapıldı.

Pozitif kontrol deney grubu IX: Konvansiyonel irrigasyon 5 ml steril serum fizyolojik solüsyonu ile 1 dakika boyunca yapıldı.



Şekil 3.9 Fidelis Plus-III AT; Fotana, Ljubljana, Slovenia



Şekil 3.10 Er:YAG lazer ve Nd:YAG lazerin uygun parametrelerde uygulanması

Konvansiyonel irrigasyon işlemleri 27 gauge büyüklükte iğne ve 2,5 ml'lik şırınga kullanılarak yapıldı. Şırıngalar önceden ölçülerek her seferinde doğru miktarda irrigasyon solüsyonu miktarının kullanılması sağlanmış oldu. Irrigasyon iğnesi kök kanalı içerisinde 14 mm uzaklıktan daha derine yerleştirilmedi. Irrigasyon işlemi sırasında iğne, kanal içerisinde kök kanal duvarlarına temas etmeden nazikçe yukarı ve aşağı hareket ettirildi. Irrigasyon işleminin hızı, 30 saniye boyunca irrigasyon solüsyonunun hacminin yarısı kullanılmış olacak şekilde ayarlandı.

Irrigasyon işlemlerinin tamamlanmasından hemen sonra, kanal içerisinde kalan sodyum hipokloritin etkisinin devam etmemesi için, NaOCl ile irrigasyon yapılmış gruplar %5 sodyum tiyosülfat ile 1 dakika boyunca nötralize edildi.

3.5 Scanning Electron Microscope (SEM) İncelemesi

Örnekler 3 kez 0,1 M Sorensen's fosfat tamponlanmış solüsyonu (PBS) ile yıkandı ve %2,5'lük gluteraldehit (Sigma Aldrich, Germany) içeren 0,1 M PBS (pH 7,4) solüsyonunda 4°C'de 24 saat bekletildi. Fiksasyondan sonra yarım kökler 0,1 M PBS ile tekrar 3 kere yıkandı. Örnekler, 15'er dakika artan konsantrasyonlarda %20, %40, %60, %80, %90 ve en son 2 kez %100 etanolde bekletildi. Dehidrate örnekler critical point dryer (Tousimis 815B, Rockville, Maryland, USA) ile kurutulduktan sonra (Şekil 3.11) 80 µm kalınlıkta altın-palladyum (Model 682, Gatan) ile kaplandı (Şekil 3.12) ve SEM ile incelendi. Görüntüleme işlemi Bilkent Üniversitesi, Ulusal Nanoteknoloji Araştırma

Merkezi (UNAM) laboratuvarında bulunan Quanta 200 F marka (FEI Company, Eindhoven, Netherlands) ESEM cihazında yapıldı.



Şekil 3.11 Critical point dryer sonrası dehidrate örneklerin elde edilmesi



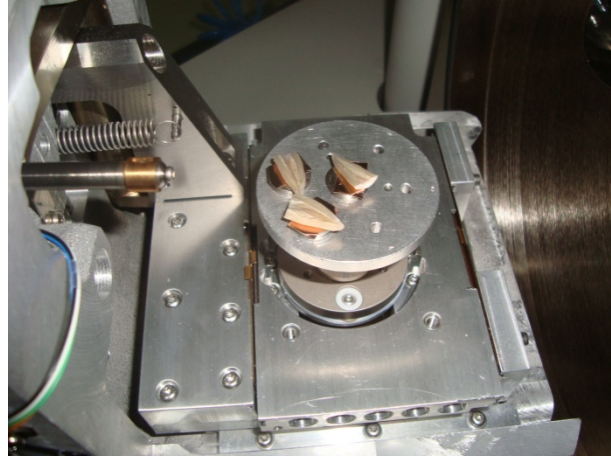
Şekil 3.12 Örneklerin altın-palladyum ile kaplanması

3.6 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Gözlemleri

Her yarım kök, kanalının orta hattı boyunca aşağıda belirtilen seviyelerden 3 farklı SEM görüntüsü elde edildi.

1. Koronal sınırdan 4 mm aşağı seviye – Koronal bölge
2. Koronal sınırdan 7 mm aşağı seviye – Orta bölge
3. Koronal sınırdan 10 mm aşağı seviye – Apikal bölge

Her örnekte aynı bölgeleri incelemek amacıyla bu 3 referans noktası önceden belirlenip, bistüri ile işaretlendi. Kök kanalının uzun aksı vertikal olacak şekilde taramalı elektron mikroskobunun optik ekranında konumlandırıldı. Kök kanalının koronal kısmı optik ekranda merkezde az büyütme (40x) ile yerleştirildi. Böylece gözlemlenecek alanların kök kanalının uzun aksı boyunca orta hatta olması sağlandı. Kök kanalında önceden işaretlenmiş ilk gözlemlenecek alan (koronal bölge) optik ekranda belirlendi. Kök kanalının uzun aksı ile yatay koronal referans çizgisinin kesiştiği nokta ekranda sabitlendi. Magnifikasyon ayarlandı ve görüntüye odaklandırıldı. Bu metot kullanılarak örneklerin benzer bölgeleri incelenmiş oldu. Bu işlem orta ve apikal bölgeler için de yapıldı. (şekil 3.13)



Şekil 3.13 Örneklerin ESEM de incelenmek üzere yerleştirilmesi

3.7 Skorum Sistemi

Üç gözlemci SEM den elde edilen görüntüleri aşağıdaki sıra ile inceledi:

Bölüm 1- Kalibrasyon Bölümü

Bölüm 2- Randomize SEM görüntüleri

Dört puanlı skorum sistemi *E. faecalis* biyofilmlerinin semi-kantitatif değerlendirilmesi için planlandı. SEM görüntülerinin skorlanması aşağıdaki gibidir:

1. Kök kanal duvarını kaplayan biyofilm alanı %5'ten az

2. Kök kanal duvarını kaplayan biyofilm alanı %5 ile 33 arası
3. Kök kanal duvarını kaplayan biyofilm alanı %34 ile 66 arası
4. Kök kanal duvarını kaplayan biyofilm alanı %67 ile 100 arası

Üç gözlemci ön çalışma sırasında oluşturulan veri tabanında bulunan görüntülerden elde edilen skorlama ile eğitildi. Her skorlama puanından değişik görüntüler incelenerek, gözlemcilere biyofilmin görünüşündeki değişiklikler öğretildi.

Gözlemciler elde edilen görüntülerin hangi gruba ait olduğunu bilmeden değerlendirdiler. Herhangi bir görüntüde ortak bir skor oluşturulmadığı zaman sonuç oy birliği ile kabul edildi. Birinci skorlamadan 3 gün sonra 2. skorlama yapıldı. Bu sayede grup içi ve gruplar arası gözlem farkları değerlendirildi.

3.8 İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin analizi SPSS 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programı kullanılarak yapıldı ve $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı düzey kabul edildi. Sürekli değişkenlerin dağılımının normale yakın olup olmadığı Shapiro Wilk testi ile araştırıldı. Varyansların homojenliği ise Levene testiyle incelendi. Tanımlayıcı istatistikler ortalama, standart sapma, ortanca, en küçük ve en büyük olarak gösterildi.

Gruplar arasında biyofilm eliminasyon miktarını tespit etmek için elde edilen görüntü skorlarının dağılımı her örnekte koronal, orta ve apikal bölge olmak üzere 3 farklı seviyede ayrı ayrı Ki-Kare testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

Gözlemciler arası ve gözlemci içi uyum düzeyleri Kappa İstatistiği kullanılarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmamızda 3 farklı irrigasyon solüsyonunun ve 2 farklı lazer sisteminin 2 farklı konumda uygulanması sonucu oluşan antimikrobiyal etkinlikleri, taramalı elektron mikroskobu kullanılarak elde edilen görüntülerin skorlanması ile değerlendirilmiştir.

4.1 Skorlama Değerlerine Ait İstatistiksel Bulgular

Tablo 4.1’de, çalışmamızda test edilen 3 farklı irrigasyon tekniği olan; erbium lazer aktivasyonu ile irrigasyon, Nd:YAG lazerin kök kanal dezenfeksiyonu ve konvansiyonel irrigasyonun biyofilm eliminasyon miktarlarına ait ortalama, standart sapma, ortanca, en küçük ve en büyük değerleri gösterilmiştir.

Tablo 4.1 Grupların biyofilm eliminasyon etkinliklerinin değerlendirildiği görüntü skorlarına ait tanımlayıcı istatistikler

Grup	Koronal Bölge		Orta Bölge		Apikal Bölge	
	Ort ± SS	Ortanca (Min-Maks)	Ort ± SS	Ortanca (Min-Maks)	Ort ± SS	Ortanca (Min-Maks)
1	2.08±1.1	2 (1-4)	1.08±0.3	1 (1-2)	1±0	1 (1-1)
2	1.42±0.7	1 (1-3)	1.42±0.7	1 (1-3)	1.25±0.5	1 (1-2)
3	2.17±0.6	2 (1-3)	2.58±0.8	3 (1-4)	2.92±0.7	3 (2-4)
4	1.08±0.3	1 (1-2)	1.5±0.7	1 (1-3)	1.67±0.7	2 (1-3)
5	1.92±0.8	2 (1-3)	1.67±0.5	2 (1-2)	1.50±0.5	1.5 (1-2)
6	1.83±0.7	2 (1-3)	1.75±0.6	2 (1-3)	1.58±0.5	2 (1-2)
7	2±1.0	2 (1-4)	2.5±0.9	3 (1-4)	2.17±0.6	2 (1-3)
8	1.92±0.7	2 (1-3)	2±0.4	2 (1-3)	2.17±0.4	2 (2-3)
9	3.4±0.7	3.5 (2-4)	3.5±0.5	3.5 (3-4)	3.7±0.5	4 (3-4)

Orta; Aritmetik Ortalama, SS; Standart Sapma, Min; En küçük, Maks; En büyük

Tablo 4.2 Grupların Antimikrobiyal Etkinliklerinin Değerlendirilmesi İçin Apikal, Orta ve Koronal Bölgelerden Alınan Görüntü Skorlarının Dağılımı

GRUP	Apikal Bölge				Orta Bölge				Koronal Bölge			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)
1	12(100)	0(0)	0(0)	0(0)	11(91.7)	1(8.3)	0(0)	0(0)	4(33.3)	5(41.7)	1(8.3)	2(16.7)
2	9(75)	3(25)	0(0)	0(0)	8(66.7)	3(25)	1(8.3)	0(0)	8(66.7)	3(25)	1(8.3)	0(0)
3	0(0)	3(25)	7(58.3)	2(16.7)	1(8.3)	4(33.3)	6(50)	1(8.3)	1(8.3)	8(66.7)	3(25)	0(0)
4	5(41.7)	6(50)	1(8.3)	0(0)	7(58.3)	4(33.3)	1(8.3)	0(0)	11(91.7)	1(8.3)	0(0)	0(0)
5	6(50)	6(50)	0(0)	0(0)	4(33.3)	8(66.7)	0(0)	0(0)	4(33.3)	5(41.7)	3(25)	0(0)
6	5(41.7)	7(58.3)	0(0)	0(0)	4(33.3)	7(58.3)	1(8.3)	0(0)	4(33.3)	6(50)	2(16.7)	0(0)
7	1(8.3)	8(66.7)	3(25)	0(0)	2(16.7)	3(25)	6(50)	1(8.3)	4(33.3)	6(50)	0(0)	2(16.7)
8	0(0)	10(83.3)	2(16.7)	0(0)	1(8.3)	10(83.3)	1(8.3)	0(0)	3(25)	7(58.3)	2(16.7)	0(0)
9	0(0)	0(0)	4(33.3)	8(66.7)	0(0)	0(0)	6(50)	6(50)	0(0)	1(8.3)	5(41.7)	6(50)

Er:YAG lazer gruplarının koronal bölgede biyofilm eliminasyon etkinliklerinin değerlendirilmesi

- Grup I ve grup III biyofilm eliminasyon etkinliği bakımından koronal bölgede istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,181$, $p>0,05$).
- Grup II ve grup IV biyofilm eliminasyon etkinlikleri bakımından koronal bölgede istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,321$, $p>0,05$).
- Grup I ve grup II biyofilm eliminasyon etkinlikleri bakımından koronal bölgede istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,404$, $p>0,05$).
- Grup IV biyofilm eliminasyon etkinliği kök kanalının koronal bölgesinde, grup III'e göre fazla bulundu ($p<0,001$).

Er:YAG lazer gruplarının orta bölgede biyofilm eliminasyon etkinliklerinin değerlendirilmesi

- Grup I biyofilm eliminasyon etkinliği kök kanalının orta bölgesinde, grup III'e göre fazla bulundu ($p<0,0001$).
- Grup II ve grup IV biyofilm eliminasyon etkinlikleri bakımından orta bölgede istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=1$, $p>0,05$).
- Grup I ve grup II biyofilm eliminasyon etkinlikleri bakımından orta bölgede istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,315$, $p>0,05$).
- Grup IV biyofilm eliminasyon etkinliği kök kanalının orta bölgesinde, grup III'e göre fazla bulundu ($p<0,05$).

Er:YAG lazer grupların apikal bölgede biyofilm eliminasyon etkinliklerinin değerlendirilmesi

- Grup I biyofilm eliminasyon etkinliği kök kanalının apikal bölgesinde, grup III'e göre fazla bulundu ($p<0,0001$).

- Grup II ve grup IV biyofilm eliminasyon etkinlikleri bakımından apikal bölgede istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,219$, $p>0,05$).
- Grup I ve grup II biyofilm eliminasyon etkinlikleri bakımından apikal bölgede istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,217$, $p>0,05$).
- Grup IV biyofilm eliminasyon etkinliği kök kanalının apikal bölgesinde, grup III'e göre fazla bulundu ($p<0,01$).

Nd:YAG lazer gruplarının kök kanal dezenfeksiyon etkinlikleri bakımından değerlendirilmesi

- Grup V ve grup VI biyofilm eliminasyon etkinlikleri bakımından apikal, orta ve koronal bölgede istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,05$).

S F solüsyonunun Er:YAG lazerle aktivasyonu ile Nd:YAG lazerin kök kanal dezenfeksiyonu etkinliklerinin karşılaştırılması

- Koronal bölgede grup V ile grup I in biyofilm eliminasyon etkinliği benzer bulundu. Bu 2 grubun antimikrobiyal etkinliği grup III e göre daha fazla olmasına rağmen; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık bulunmadı ($p=0,311$, $p>0,05$).
- Orta bölgede biyofilm eliminasyonu en iyi grup I ile sağlanırken, grup V ikinci, grup III'ün etkinliği ise diğer 2 gruba göre en kötü bulundu. Grup III antimikrobiyal etkinliği diğer gruplara göre istatistiksel olarak daha azdır ($p<0,001$).
- Apikal bölgede biyofilm eliminasyonu en iyi grup I ile sağlanırken, grup V ikinci, grup III'ün etkinliği ise diğer 2 gruba göre en kötü bulundu. Grup III'ün antimikrobiyal etkinliği diğer gruplara göre istatistiksel olarak daha azdır ($p<0,001$).

NaOCl solüsyonunun Er:YAG lazerle aktivasyonu ile Nd:YAG lazerin kök kanal dezenfeksiyonu etkinliklerinin karşılaştırılması

- Koronal bölgede biyofilm eliminasyonu en iyi grup IV ile sağlanırken, bu yöntem grup II ve grup VI'a göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,039$, $p<0,05$).

- Orta bölgede biyofilm eliminasyon etkinlikleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmadı ($p=0,497$, $p>0,05$).
- Apikal bölgede biyofilm eliminasyon etkinlikleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmamasına rağmen ($p=0,236$, $p>0,05$), grup II diğer iki gruba göre daha fazla biyofilm elimine ettiği belirlendi.

Farklı konsantrasyonlarda NaOCl Solüsyonları ile yapılan konvansiyonel irrigasyon gruplarının biyofilm eliminasyon etkinliklerinin karşılaştırılması

- Grup VII ve grup VIII biyofilm eliminasyon etkinliği bakımından koronal bölgede istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,329$, $p>0,05$).
- Orta bölgede grup VIII ile yapılan konvansiyonel irrigasyon tekniğinin biyofilm eliminasyon etkinliği grup VII ye göre daha fazladır ($p=0,017$, $p<0,05$).
- Grup VII ve grup VIII biyofilm eliminasyon etkinliği bakımından apikal bölgede istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,644$, $p>0,05$).

NaOCl solüsyonunun Er:YAG lazerle aktivasyonu, Nd:YAG lazerin kök kanal dezenfeksiyonu ve konvansiyonel irrigasyon gruplarının biyofilm eliminasyon etkinliklerinin karşılaştırılması

- Koronal bölgede biyofilm eliminasyon etkinliği açısından yöntemlerin başarı sırası grup IV, grup II, grup VI ve grup VII şeklindedir ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p=0,015$, $p<0,05$). Farklılığı yaratan grup konvansiyonel irrigasyon tekniğidir ve diğer yöntemlerden anlamlı derecede daha az biyofilm eliminasyon etkinliği mevcuttur.
- Orta bölgede grup II ve grup IV biyofilm eliminasyon etkinlikleri benzer olmasına rağmen, bu gruplar diğer iki gruptan istatistiksel olarak daha iyi saptandı ($p=0,039$, $p<0,05$). Nd:YAG lazer grubu, Er:YAG lazer gruplarından daha az biyofilm elimine ettiği bulundu. Fakat farklılığı yaratan konvansiyonel irrigasyon tekniğidir.

- Apikal bölgede en iyi biyofilm eliminasyonu grup II ile elde edildi ve grup IV, grup VI ve grup VII 'e göre antimikrobiyal etkinliği istatistiksel olarak daha fazla saptandı ($p=0,017$, $p<0,05$). Grup IV ile grup VI yöntemlerinin biyofilm eliminasyon etkinliği benzer bulundu. En kötü ve farklılığı yaratan grup ise konvansiyonel irrigasyon tekniğidir.

Negatif ve pozitif kontrol gruplarının biyofilm eliminasyon etkinlikleri bakımından karşılaştırılması

- Koronal bölgede negatif ve pozitif kontrol grupları arasında biyofilm eliminasyon etkinlikleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,001$, $p<0,001$).
- Orta bölgede negatif ve pozitif kontrol grupları arasında biyofilm eliminasyon etkinlikleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,000$, $p<0,001$).
- Apikal bölgede negatif ve pozitif kontrol grupları arasında biyofilm eliminasyon etkinlikleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,001$, $p<0,001$).

4.2 Kappa istatistiklerine ait bulgular

Gözlemciler arasındaki uyum düzeylerini ve gözlemcilerin 2 farklı zamanda yaptığı skorlamaların güvenilirliğini ölçmek için Kappa İstatistiği kullanılmıştır. Gözlemciler 2 tane endodonti asistanı ile uzman endodontistten oluşmaktadır. Gözlemciler 3 gün arayla 2 farklı skorlama yapmışlardır. Uzman endodontisttin skorlama sonuçlarına göre gözlemciler arası uyum düzeyleri değerlendirilmiştir.

Tablo 4.3 Gözlemcilerin iki farklı değerlendirmesi arasındaki uyumu belirlemek için yapılan kapa istatistiği

Gözlemci 1	1. ölçüm	2. ölçüm				
		Koronal	Orta	Apikal		
Gözlemci 1	1. ölçüm	κ	0.573			
		Koronal	p	0.000		
		κ		0.483		
		Orta	p		0.000	
		κ				0.451
		Apikal	p			0.000
Gözlemci 2	1. ölçüm	κ	0.545			
		Koronal	p	0.000		
		κ		0.408		
		Orta	p		0.000	
		κ				0.448
		Apikal	p			0.000
Gözlemci 3	1. ölçüm	2. ölçüm				
			Koronal	Orta	Apikal	
		κ	0.800			
		Koronal	p	0.000		
		κ		0.735		
		Orta	p		0.000	
		κ				0.757
Apikal	p			0.000		

- Gözlemci 1'in kök kanalının koronal bölgesi için yaptığı değerlendirmeler arasındaki uyum düzeyi $\kappa=0,573$ ($p=0,000$) iken, orta bölge için yapılan değerlendirmeler arasındaki uyum düzeyi $\kappa=0,483$ ($p=0,000$) ve apikal bölge değerlendirmeleri arasındaki uyum düzeyi $\kappa=0,451$ ($p=0,000$) 'dir ve tümü istatistiksel olarak anlamlı düzeydedir.

- Gözlemci 2'nin kök kanalının koronal bölgesi için yaptığı değerlendirmeler arasındaki uyum düzeyi $\kappa=0,545$ ($p=0,000$) iken, orta bölge için yapılan değerlendirmeler arasındaki uyum düzeyi $\kappa=0,408$ ($p=0,000$) ve apikal bölge değerlendirmeleri arasındaki uyum düzeyi $\kappa=0,448$ ($p=0,000$) 'dir ve tümü istatistiksel olarak anlamlı düzeydedir.

- Uzmanın farklı irrigasyon yöntemlerinin kök kanalının koronal bölgesi için yaptığı değerlendirmeler arasındaki uyum düzeyi $\kappa=0,800$ ($p=0,000$) iken, orta bölge için yapılan değerlendirmeler arasındaki uyum düzeyi $\kappa=0,735$ ($p=0,000$) ve apikal bölge değerlendirmeleri arasındaki uyum düzeyi $\kappa=0,757$ ($p=0,000$) 'dir ve tümü istatistiksel olarak anlamlı düzeydedir.

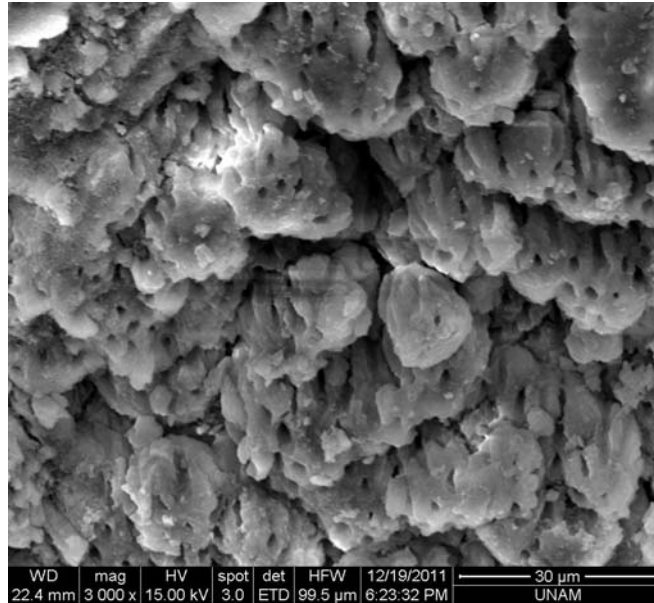
Tablo 4.4 Gözlemciler arası değerlendirmelerin uyumunu ölçmek için yapılan Kappa İstatistiği

Birinci Değerlendirme			Uzman			Gözlemci 2		
			Koronal Bölge	Orta Bölge	Apikal Bölge	Koronal Bölge	Orta Bölge	Apikal Bölge
Gözlemci 1	k	0.121	0.199	0.237	0.250	0.233	0.286	
								p
	k	0.329	0.353	0.339				
								p
İkinci Değerlendirme			Uzman			Gözlemci 2		
			Koronal Bölge	Orta Bölge	Apikal Bölge	Koronal Bölge	Orta Bölge	Apikal Bölge
Gözlemci 1	k	0.286	0.445	0.237	0.343	0.339	0.326	
								p
	k	0.430	0.403	0.537				
								p

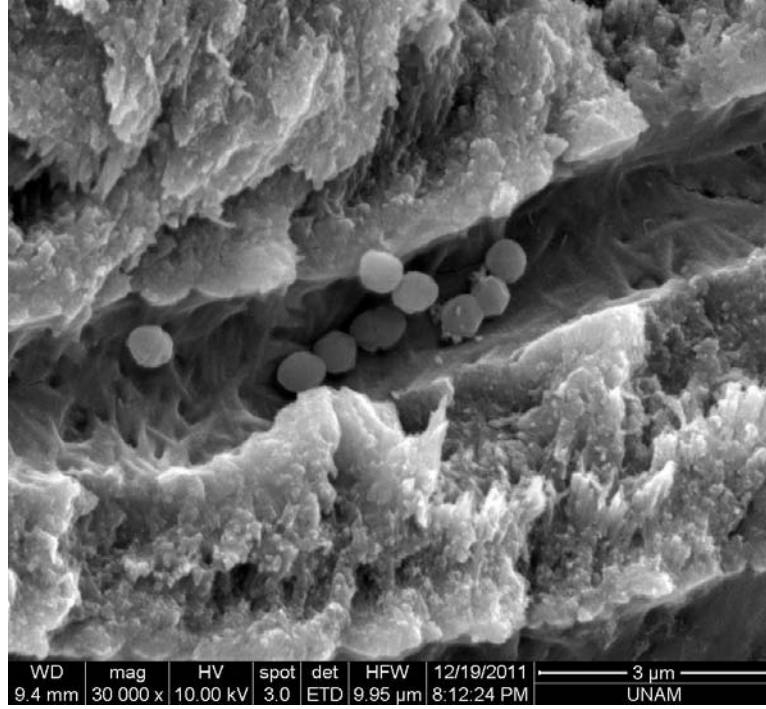
- Gözlemciler arasında 1. skorlama sonuçlarının birbirleri ile uyum düzeyinin değerlendirilmesi için yapılan Kappa istatistiği 0,121 ile 0,353 arasında değişmekte olup istatistiksel olarak anlamlı düzeydedir.
- Gözlemciler arası 2. Skorlama sonuçlarının birbirleri ile uyum düzeyinin değerlendirilmesi için yapılan Kappa istatistiği 0,237 ile 0,537 arasında değişmekte olup istatistiksel olarak anlamlı düzeydedir. Gözlemciler arasında 1. değerlendirmelere göre 2. değerlendirmelerde uyumun daha fazla olması beklenmektedir ki bu çalışmada da benzer sonuçlar bulunmuştur. Deneyimle gözlemciler daha tutarlı değerlendirmeler yapmaktadır.

4.3 SEM Görüntülerine ait bulgular

Dördüncü haftanın sonunda mikrobiyoloji laboratuvarında yarım kök yüzeyinde oluşturulan *Enterococcus faecalis* biyofilmleri SEM ile tespit edildi. *Enterococcus faecalis*'in dentin tübülllerinde 1 mm derinliğe kadar invaze olduğunu tespit etmek için örnekler 45°C açıyla keski ve çekiç yardımıyla kırıldı ve SEM de görüntülendi. (Şekil 4.1 ve 4.2)

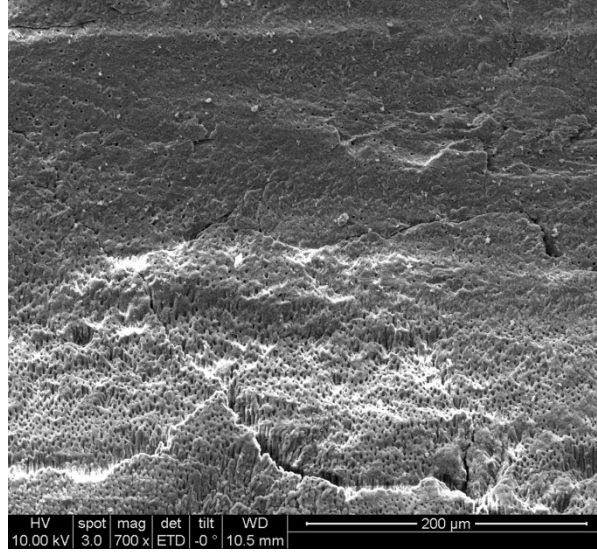


Şekil 4.1 Dört haftalık *Enterococcus faecalis* biyofilmlerinin 3.000x büyütmedeki SEM görüntüleri

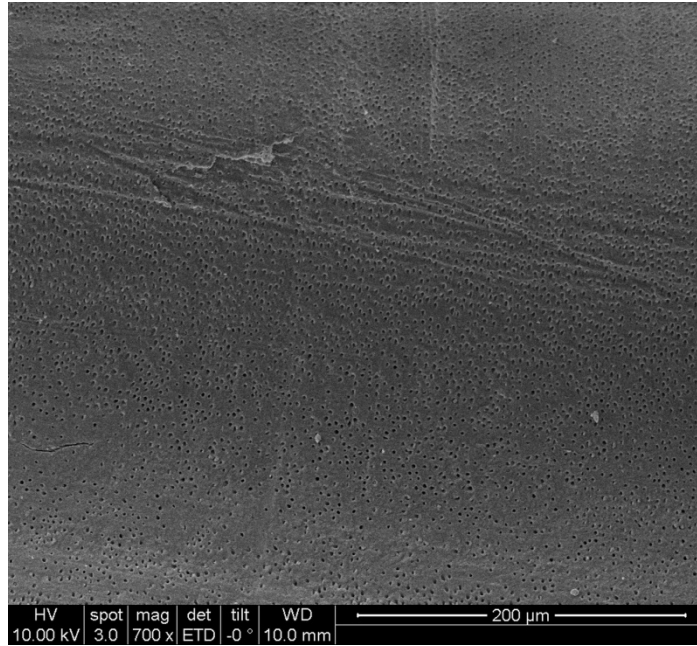


Şekil 4.2 Dentin tübüllerinde 1 mm derinliğe invaze olmuş *Enterococcus faecalis*'in 30.000x büyütmedeki SEM görüntüleri

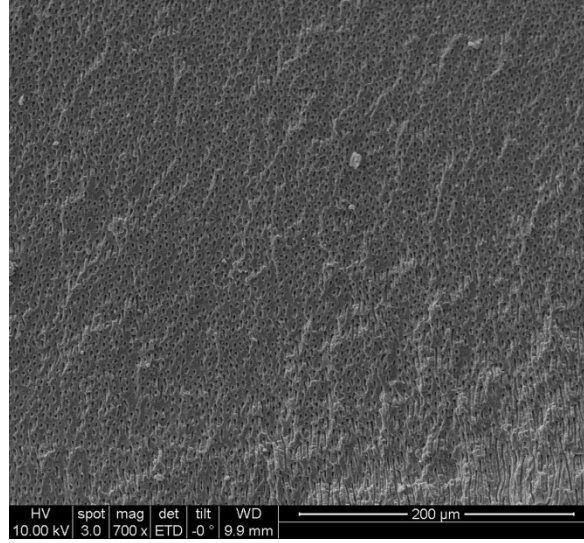
Er:YAG lazerin antibakteriyel etkisinin yanında, debris uzaklaştırma ve smear tabakasını kaldırma özelliği de mevcuttur. Literatürde Er:YAG lazerin smear tabakasını uzaklaştırma etkinliği ile ilgili pek çok çalışma mevcuttur. Çalışmamızda da benzer şekilde Er:YAG lazerin dentini pul pul soyduğu gözlemlenmiştir. Lazer uygulaması sonrası kökte dentin yüzeyinde ablasyon, intertübüler ve peritübüler dentinde vaporezasyon ve dentin tübüllerinin ekspoza gibi farklı morfolojik değişiklikler SEM incelemesinde tespit edilmiştir (Şekil 4.3)



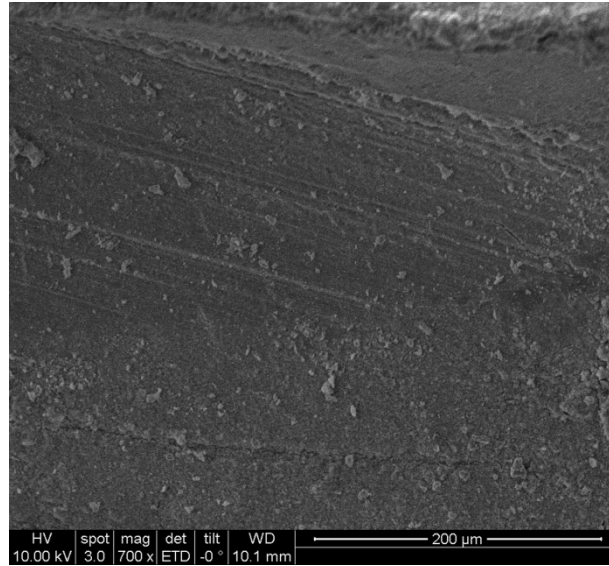
Şekil 4.3 Er:YAG lazerin dentin ablasyonu 700x büyütmedeki SEM görüntülerinde gözlemlenmesi



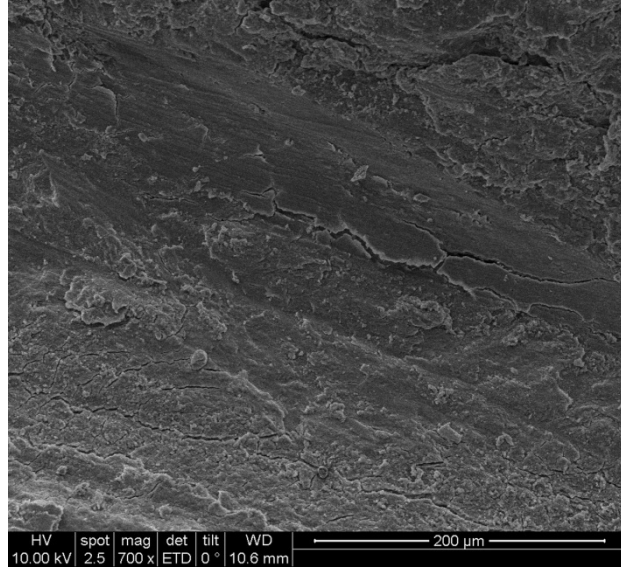
Şekil 4.4 Apikalde uygulanan Er:YAG lazerin S F solüsyonu aktivasyonu sonucu apikal bölgede kök kanal duvarlarında *Enterococcus faecalis* biyofilmlerini tamamen elimine ettiği 700x büyütmedeki SEM görüntülerinde gözlemlenmesi



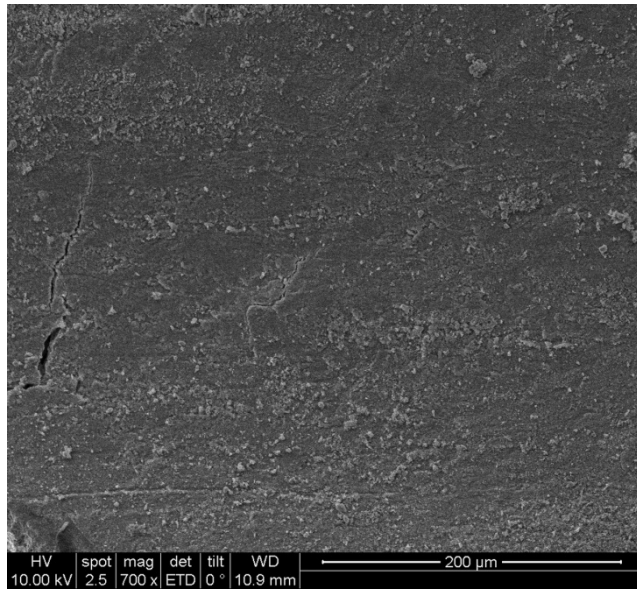
Şekil 4.5 Apikalde uygulanan Er:YAG lazerin NaOCl solüsyonu aktivasyonu sonucu apikal bölgede kök kanal duvarlarında *Enterococcus faecalis* biyofilmlerini tamamen elimine ettiği ve dentin yüzeyinde ablasyona neden olduğu 700x büyütmedeki SEM görüntülerinde gözlemlenmesi



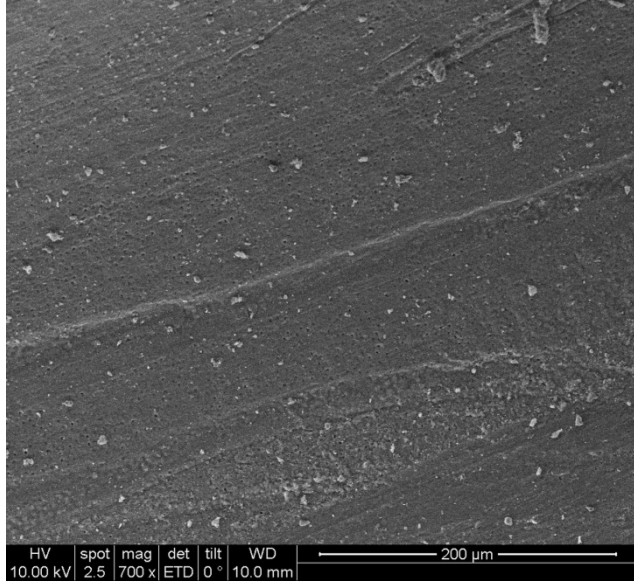
Şekil 4.6 Koronalde uygulanan Er:YAG lazerin S F solüsyonu aktivasyonu sonucu apikal bölgede kök kanal duvarlarında *Enterococcus faecalis* biyofilmlerini kısmen elimine ettiği 700x büyütmedeki SEM görüntülerinde gözlemlenmesi



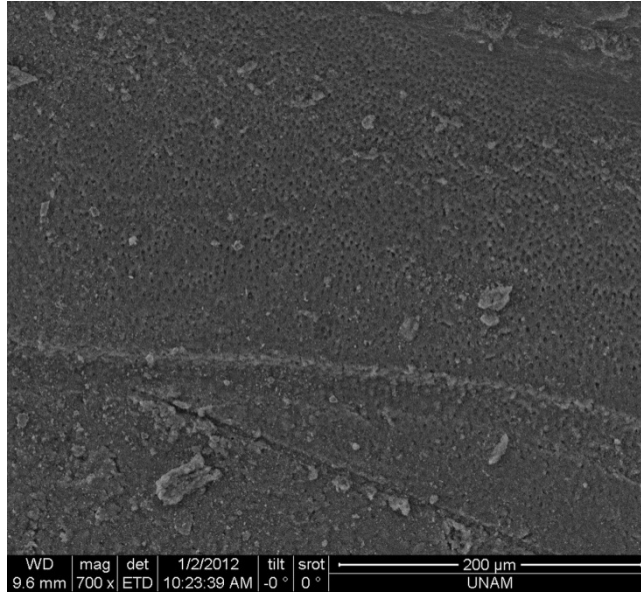
Şekil 4.7 Koronalde uygulanan Er:YAG lazerin NaOCl solüsyonu aktivasyonu sonucu apikal bölgede kök kanal duvarlarında *Enterococcus faecalis* biyofilmlerini kısmen elimine ettiği ve dentin yüzeyinde ablyasyona neden olduğu 700x büyütmedeki SEM görüntülerinde gözlemlenmesi



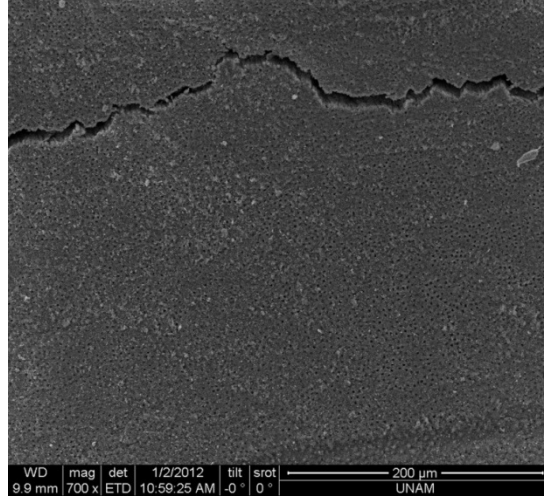
Şekil 4.8 S F ile yapılan konvansiyonel irrigasyon sonrası uygulanan Nd:YAG lazerin apikal bölgede kök kanal duvarlarında *Enterococcus faecalis* biyofilmlerini kısmen elimine ettiği 700x büyütmedeki SEM görüntülerinde gözlemlenmesi



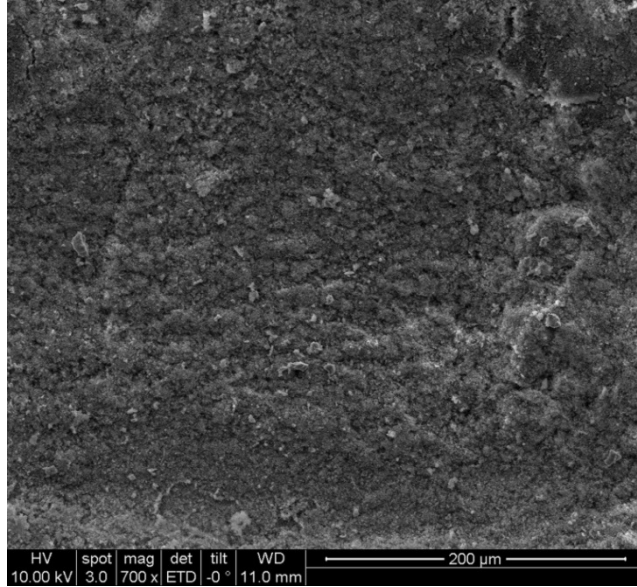
Şekil 4.9 NaOCl ile yapılan konvansiyonel irrigasyon sonrası uygulanan Nd:YAG lazerin apikal bölgede kök kanal duvarlarında *Enterococcus faecalis* biyofilmlerini kısmen elimine ettiği 700x büyütmedeki SEM görüntülerinde gözlemlenmesi



Şekil 4.10 Yüzde 1 NaOCl ile 1 dakika uygulanan konvansiyonel irrigasyonun apikal bölgede kök kanal duvarlarında *Enterococcus faecalis* biyofilmlerini kısmen elimine ettiği 700x büyütmedeki SEM görüntülerinde gözlemlenmesi



Şekil 4.11 Yüzde 6 NaOCl ile 1 dakika uygulanan konvansiyonel irrigasyonun apikal bölgede kök kanal duvarlarında *Enterococcus faecalis* biyofilmlerini kısmen elimine ettiği 700x büyütmedeki SEM görüntülerinde gözlemlenmesi



Şekil 4.12 S F ile 1 dakika uygulanan konvansiyonel irrigasyonun apikal bölgede kök kanal duvarlarında *Enterococcus faecalis* biyofilmlerinin varlığı 700x büyütmedeki SEM görüntülerinde gözlemlenmesi

5. TARTIŞMA

Bu çalışmanın amacı, erbium lazer aktivasyonu ile yapılan irrigasyonun, Nd:YAG lazerin kök kanal dezenfeksiyonunun ve konvansiyonel irrigasyon yöntemlerinin kanal içerisinde oluşturulan *Enterococcus faecalis* biyofilmleri üzerine antimikrobiyal etkinliklerinin taramalı elektron mikroskobu ile *in vitro* değerlendirilmesidir. Er:YAG lazerin solüsyonları aktivasyonu ile yapılan irrigasyonun, Nd:YAG lazer kullanılarak yapılan kök kanal dezenfeksiyonu ve konvansiyonel irrigasyona göre biyofilm eliminasyon etkinliğinin daha fazla olduğu ve kök kanalının apikal bölgesinden daha fazla negatif örnek elde edildiği saptanmıştır.

Bu çalışmada çekilmiş tek köklü dişlerin kök kanal duvarlarında mono kültür olarak *Enterococcus faecalis* biyofilmleri 1 ay süreyle *in vitro* olarak oluşturulmuştur. Taramalı elektron mikroskobu ile ilk aşamada, oluşturulan *Enterococcus faecalis* biyofilmlerinin varlığı ve *E. faecalis'in* dentin tübüllerinde penetrasyonu belirlenmiştir. İkinci aşamada ise 2 farklı lazer sistemi ve konvansiyonel irrigasyon ile yapılan kök kanal dezenfeksiyonunun, kanal içerisinde oluşturulan *Enterococcus faecalis* biyofilmleri üzerine biyofilm eliminasyon etkinliği saptanmıştır.

Bakterilerin biyofilm oluşturabilmeleri için ilk aşamada bir yüzeye tutunmaları gerekmektedir *In vitro* mikrobiyoloji çalışmalarında substrat olarak çok farklı yüzeyler kullanılmıştır. Polisiteren yüzeyler (147), nitroselüloz membran filtreler (148, 149), cam yüzeyler (141), çekilmiş dişler (150), çekilmiş dişlerden hazırlanan dentin örnekleri (151-153) ve hidroksiapatit diskler (109) kullanılan substratlar arasındadır. Bu çalışmada çekilmiş dişlerden hazırlanan yarım kökler biyofilm oluşumunda kullanılmıştır. Dolayısıyla lazer ışığı ile kök kanal duvarındaki dentinin arasındaki etkileşim incelenmiştir. Klinik şartlara en yakın koşullar sağlanmıştır.

Araştırmaların çoğunda kullanılan mikroorganizma olan *E. faecalis* bu çalışmada tercih edilmiştir. *E. faecalis* antimikrobiyal ajanlara ve endodontik medikamentlere karşı direnç geliştirir ve 160 ile 1000 µm derinliğine kadar dentin tübüllerine invaze olma kapasitesi vardır (146). Dentin tübüllerine invaze olan bu

mikroorganizmalar kanal tedavisi öncesi enfeksiyonlara ve tedavi sonrası sekonder enfeksiyonlara neden olur (154). Bu mikroorganizmalar dentin tübüllerinde buldukları süre boyunca konakçı savunma mekanizmalarından, sistemik antibiyotik uygulamalarından ve mekanik preparasyon ve kimyasal irrigasyondan korunmaktadır (145). Kronik apikal periodontitis vakalarında sıklıkla izole edilmektedir.

Bakteriyel kolonizasyonun ve tübül invazyonunun ilk basamağı bakterilerin adezyonudur ve adezin olarak adlandırılan bakteriyel hücre yüzey komponentleri tarafından sağlanır (155). Ace, enterokokları ekstrasellüler matrikse ve tip 1 kollajene bağlayan bir proteindir. Dentinin ana organik maddesi tip 1 kollajendir ve *E. faecalis*'i dentine bağlayan ana substrat olarak düşünülmektedir (156).

Literatürde daha çok planktonik formda üretilen bakteriler kullanılarak antimikrobiyal ajanlara karşı duyarlılık çalışmaları mevcuttur. Mikroorganizmalar sulu ortamlarda genelde yüzeylere tutunarak biyofilm oluşturma eğilimindedir. Dolayısıyla planktonik mikroorganizmalarla yapılan çalışmalar *in vivo* koşulları tam anlamıyla yansıtmaz (149). Biyofilmde üreyen belirli bakteri türleri sıvı kültürde bulunan aynı bakteri suşundan daha virulan hale dönüştüğü ve antimikrobiyal ajanlara karşı dirençlerinin arttığı bulunmuştur (61). *E. faecalis* biyofilm oluşturarak antimikrobiyal ajanlara karşı 2 ile 1000 kat arası daha dirençli hale gelir (4).

Bu çalışmada oluşturulan *in vitro* biyofilm yapısı, *in vivo* polimikrobiyal biyofilm yapıları kadar dirençli değildir. Apikal periodontitisli dişlerde *in vivo* oluşan biyofilm yapıları daha matür ve daha çok dentinal tübül penetrasyonu içermektedir. Dolayısıyla *in vivo* oluşan biyofilmlerin yapıları daha kuvvetli ve kemomekanik preparasyona daha dirençlidir (157).

Substrat yüzeylerine biyofilmin adezyonu, polimikrobiyal kök kanal enfeksiyonu ile arttırılabilir. Polimikrobiyal biyofilm topluluklarında gözlemlenen quorum sensing mekanizması ve gen transferleri, bakteriyel topluluğun fenotipik özelliklerinde değişikliklere neden olur. Bu hücreler arası aktarım, biyofilmin fenotipinde değişikliğe

neden olur ve biyofilmin antibakteriyal ajanlara karşı savunma mekanizmalarından sorumludur (158).

Literatürde biyofilm ile ilgili yapılan çalışmalarda, biyofilm oluşturma süresi çok farklılık göstermektedir. Yirmi dört saatten 6 haftaya kadar değişen sürelerde biyofilm oluşturulmuş ve antimikrobiyal ajanların etkinlikleri değerlendirilmiştir (142-144). Biyofilm oluşum süresine ilişkin bir standardizasyon belirlenememiştir. Bu çalışmada matür biyofilm oluşturmak amacıyla hazırlanan yarım kökler 4 hafta boyunca, haftada bir besiyeri değişimi yapılarak, *E. faecalis* süspansiyonu içinde bekletilmiştir.

Taramalı elektron mikroskobu, kanal içerisinde oluşturulan biyofilmlerin incelenmesinde sıklıkla literatürde kullanılmıştır (6, 55-58, 104, 110). Taramalı elektron mikroskobu, oluşturulan biyofilmlerin doğal ortamları ile birlikte incelenmesini sağlayan bir yöntemdir çünkü SEM ile geniş yüzeylerin yüksek çözünürlükte ve yüksek magnifikasyonda topografik olarak incelenmesi sağlanır. SEM ile elde edilen görüntüler 2 boyutludur. Dolayısıyla çok tabakalı olan biyofilm topluluklarının 3 boyutlu derinliği bu teknik ile incelenememektedir.

SEM'de inceleme yapılırken referans alınan noktalar, yarım kökler üzerinde koronal, orta ve apikal seviyelerde önceden işaretlenmiş horizontal çizgiler ile kök kanalının uzun aksının çakıştığı alanlardır. Bu sayede gözlemci tarafından her yarım kökün benzer bölgelerinin incelenmesi sağlanmıştır. Bu metotta gözlemlenen alanlar tüm kök yüzeyinde olan biyofilmin dağılımını yansıtmasa da, çok fazla görüntüleme yapılmış olması bu limitasyonu kompanse etmektedir (157).

İrrigasyon protokollerinin etkinliği kök kanallarında 3 farklı seviyede SEM ile gözlemlenmiştir. Koronal üst sınırdan apikale doğru sırasıyla 4 mm aşağı alan koronal bölgenin, 7 mm orta bölgenin ve 10 mm apikal bölgenin değerlendirilmesi için referans noktaları olarak seçilmiştir.

Görüntüler SEM'de 700 büyütmede çalışılarak elde edilmiştir. Bu büyüklükte elde edilen görüntülerin yüzey alanları, oluşan biyofilmlerin incelenip skorlanması için gerekli olan magnifikasyondur (157).

Er:YAG lazer ile kök kanal dezenfeksiyonu 2 farklı yöntemle uygulanmaktadır. Birinci yöntem nemli olan kök kanallarının etkin biçimde lazer enerjisini absorbe etmesidir. Böylece kök kanal duvarlarından dentinal debrisin uzaklaştırılması ve bakteri eliminasyonu direkt olarak lazerin vaporizasyon etkisi ile oluşturulmaktadır. İkinci yöntem ise lazerle aktive edilen irrigasyon tekniğidir. Bu tekniğin antibakteriyel etkisi; irrigasyon solüsyonunun buharlaşması sonucu oluşan buhar kabarcıklarının çok defa genişmesi ve kollabe olmasından kaynaklanmaktadır. Buhar kabarcıklarının ilk kollabe olması sonucu oluşan sıvı akışı, akustik akıntı ile birleşince; daha küçük titreşen buhar kabarcıklarının meydana gelmesini sağlar ve bu şekilde temizleme etkinliği oluşur (12).

Er:YAG lazer ile irrigasyon solüsyonlarının aktive edilmesi direkt şok dalga oluşumuna bağlıdır ve bu etki spesifik Er:YAG lazer cihazlarının özel ayarlarda uygulanması ile sağlanmaktadır. Şok dalga oluşumu ısı sonucu oluşmamaktadır. Dolayısıyla bu etki kanal preparasyon büyüklüğüne bağlı değildir çünkü lazerin ucu kök kanal duvarlarına temas etmeden kök kanalının ortasından tutularak uygulanmaktadır (159).

Bu çalışmada Er:YAG lazer (Fidelis-III AT; Fotona, Ljubljana, Slovenia), SSP modunda, 50 µs atım süresinde, 15 Hz darbe frekansında, 30 mJ ve 0,5 Watt ortalama güçte uygulanmış ve yeni dizayn edilmiş 14 mm uzunluğunda, 400 µm çapında, PIPS endodontik fiber uç kullanılmıştır. Bu şekilde lazer enerjisinin sıvı ortamda kullanılması sonucu fotomekanik etki oluşmaktadır (11, 12, 103, 160). Er:YAG lazer dalga boyunun suda fazla miktarda absorpsiyonu ve kısa atım süresinde (50 mikrosaniye) oluşan yüksek lazer gücünün elde edilmesi sonucu kök kanal içerisindeki sıvının Er:YAG lazer ile aktivasyonu fotomekanik fenomen olarak adlandırılır.

Grup I ve grup II'de Er:YAG lazerin fiber ucu, apikal preparasyondan 5 mm uzaklıkta tutulmuştur. Matsuoka ve ark. (161) fiber uçların anatomik apekten 2 veya 3 mm uzaktan tutulması gerektiğini önermişlerdir. Goerge ve Wash, (7) apikal stoptan 5 mm uzaklıkta tutulan fiber ucun, 4 mm uzaklıktan tutulan uca göre apikal bölgede

daha az boya penetrasyonu olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada da, Goerge ve Wash'ın saptadığı sonuçlar baz olarak alınmıştır.

Er:YAG lazer aktivasyonu ile oluşan buhar kabarcığı, her atımda ve sulu ortamlarda tekrarlanabilmektedir. Başlangıçta lazer enerjisi, kanal içerisinde olan fiber ucun çevresindeki su tarafından 10 µm derinliğe kadar absorbe edilir. Bu su tabakası yüksek basınçta kaynama derecesine (100°C) kadar hızla ısınır ve buhar kabarcığı meydana gelir. Yüksek basınçta oluşan bu buhar kabarcığı çok hızlı genleşmeye başlar ve fiberin ucunda lazer ışığı için alan oluşturur. Lazer enerjisi devam ettikçe, ışık oluşan buhar kabarcığından geçer ve buhar kabarcığının ön yüzeyinde bulunan suyun buharlaşmasını sağlar. Lazerin atım süresi bitene kadar, sıvı içinde kanal oluşur. Lazerin atım süresi bitince buhar kabarcığı soğur ve kondanse olmaya başlar. Buhar kabarcığının basıncı düşer ve büzülme meydana gelir ve sonra yok olur (10).

Kök kanalı içerisinde aktive edilen irrigasyon solüsyonunun fiber uçtan koronale doğru olan akış hızı Reynolds katsayısı ile hesaplanmıştır. Fiber uçta buhar kabarcığının akış hızı 1 m/saniye olarak yüksek hızlı fotoğrafıma teknikleri ile saptanmıştır. Lazer atım süresi bittiği zaman, buhar kabarcığı 1 m/saniye hızla kollabe olur. Buhar kabarcığının kollabe olduğu bölgede, çoğunlukla apeks bölgesinde oluşan negatif basınç sonucu daha büyük buhar kabarcığı meydana gelir. Bu olay şok dalga oluşumu ile sonuçlanır. Oluşan bu kavitasyon kabarcığı tekrar kollabe olur ve bu döngü birkaç milisaniye süresince kabarcık yok oluncaya kadar devam eder (250 mJ enerjide, 6 ms süre kadar devam eder). Çapı 10 µm olan tipik hava kabarcıkları su yüzeyinde ve kök kanalının apikal ucunda uzun süre hatta bir sonraki atıma kadar gözlemlenir (12).

Buhar kabarcığının apekte oluşma derinliği, fiber ucun pozisyonuna ve lazerin enerjisine bağlıdır. Apekte oluşan buhar kabarcığı, lazer aktivasyonu ile oluşturulan buhar kabarcığının kollaps fazında büyür ve tekrar kollabe olur, daha sonra tekrar lazer aktivasyonu ile oluşturulan buhar kabarcığının anti-fazında oluşur (12).

Bu çalışmada lazerin fiber ucunun kök kanalının koronal bölgesinde ya da apikal bölgesinde uygulanmasının biyofilm eliminasyonu üzerine etkinliği karşılaştırılmış ve

kök kanal dezenfeksiyonu bakımından anlamlı düzeyde farklılık bulunmuştur. Apikal bölgede uygulanan Er:YAG lazerin aktivasyonunun (Grup I ve Grup II), koronal bölgede uygulanan Er:YAG lazerin aktivasyonuna (Grup III ve Grup IV) göre kök kanalının orta ve apikal bölgelerinde daha fazla antimikrobiyal etki oluşturduğu saptanmıştır.

Peters ve ark. (160) ağız içinde uyguladıkları apareylerden elde ettikleri polimikrobiyal örnekler ile çekilmiş tek köklü dişleri kontamine ederek, farklı irrigasyon tekniklerini kıyaslamışlardır. Çalışmalarında konvansiyonel irrigasyon, pasif ultrasonik irrigasyon ve lazer ile aktivasyon yöntemlerini antimikrobiyal özellikleri bakımından kıyaslamışlardır. Er:YAG lazeri 30 saniye süreyle, 10 Hz ve 50 mJ enerji seviyesinde %6 NaOCl solüsyonunu aktive ederek uygulamışlardır. Lazerin fiber ucunu kök kanalının koronal bölgesinde uygulayarak aktive ettikleri örneklerde, %99 oranında bakteri eliminasyonu sağlamışlardır. Fakat irrigate edilmiş örneklerin dekalsifikasyonu sonrası apikal bölgede dentin tübüllerinde mikroorganizma tespit etmişlerdir. Çalışmamızda da benzer sonuçlar bulunmuştur. Koronal bölgede uygulanan Er:YAG lazer ile (Grup III ve Grup IV) daha çok koronal bölgede biyofilm eliminasyonu tespit edilmiştir. Kök kanalının orta ve apikal bölgelerinde antimikrobiyal etkinlik, apikal bölgede uygulanan Er:YAG lazer aktivasyonu ile (Grup I ve Grup II) daha fazla sağlandığı saptanmıştır. De Groot ve ark. (12) lazerle aktive edilen irrigasyon tekniğinin etkinliğini en çok fiber ucun olduğu bölgede tespit ederek benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Kök kanal çapının koronale doğru artması sonucu akış hızının azaldığını, dolayısıyla en fazla kesme stresinin lazer fiber ucunun olduğu alanda görüldüğünü saptamışlar ve formülle hesaplamışlardır. Sonuç olarak temizleme etkinliğinin fiber uçtan koronale doğru azaldığını savunmuşlardır.

De Groot ve ark. (12) NaOCl'in lazer ile aktivasyonu sonucu oluşan buhar kabarcığını daha büyük bulmuş ve suyun aktivasyonu ile oluşan buhar kabarcığına göre daha uzun sürede kollabe olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca irrigasyon solüsyonu olarak NaOCl uygulanarak yapılan lazer aktivasyonu sonrası daha çok buhar kabarcıklarının oluştuğunu belirlemişlerdir. Matsumoto ve ark. (162) lazer ile farklı irrigasyon solüsyonlarının aktivasyonu sonucu oluşan buhar kabarcıklarının ve sıvı

akışının fiziksel mekanizmasını belirlemek amacıyla Er:YAG lazer ile yeni nesil konik endodontik fiber uçları farklı enerji seviyelerinde uygulamışlardır. Kök kanalında oluşan buhar kabarcığının kanal duvarı boyunca vertikal yönde ilerlediği ve kabarcığın 700 µs'den daha fazla sürede genişlediğini saptamışlardır. Kaviteye kabarcıkları NaOCl ile dolu kanalda suya göre daha fazla sıklıkta oluştuğunu tespit etmişlerdir.

Macedo ve ark. (163) aktivasyon metodu (ultrason veya lazer), NaOCl'nin konsantrasyonu, pH'sı ve kök kanal sisteminde dentin duvarlarında temasta kalma süresinin NaOCl'nin reaksiyon hızı üzerine etkisini incelemek amacıyla benzer bir çalışma yapmışlardır. NaOCl'nin reaksiyon hızı, klorinin tüketilme hızı olarak tanımlanır ve NaOCl'nin kullanım öncesi ve sonrası arasındaki konsantrasyon farkının, toplam konsantrasyonuna bölümü ile hesaplanır. Çalışmalarında 2 farklı konsantrasyonda (%2 ve %10) NaOCl, 2 farklı irrigasyon süresi (1 ve 4 dakika) ve 2 farklı aktivasyon metodunu (ultrason veya lazer) kıyaslanmıştır. Sonuç olarak aktivasyon metodu, NaOCl'nin konsantrasyonu ve kök kanal sisteminde dentin duvarlarında temasta kalma süresinin NaOCl'nin reaksiyon hızı üzerine etkili olduğu, fakat pH'nın etkisinin olmadığını saptamışlardır. Aktivasyon metodunun, reaksiyon hızı üzerine en önemli etken olduğu, 3 dakikalık bekleme süresinde klorin tüketiminin lazerle aktivasyon sonrası çok fazla olduğunu tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda da De Groot ve ark. (12) ve Macedo ve ark. (163) çalışmalarına benzer sonuçlar bulunmuştur. Koronal bölgede uygulanan Er:YAG lazerin NaOCl solüsyonu aktivasyonunun (Grup IV), S F solüsyonu aktivasyonuna (Grup III) göre daha fazla antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir. Fakat apikal bölgede uygulanan Er:YAG lazerin NaOCl solüsyonu aktivasyonunun (Grup II), S F solüsyonu aktivasyonu ile (Grup I) kıyasladığımızda ise anlamlı bir fark bulunamamıştır. Çalışmamızda kullanılan NaOCl irrigasyon solüsyonunun konsantrasyonunun düşük olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Apikal bölgede uygulanan Er:YAG lazerin aktivasyonunun (Grup I ve Grup II), koronal bölgede uygulanan Er:YAG lazer aktivasyon yöntemine göre (Grup III ve Grup IV) kullanılan irrigasyon solüsyonlardan bağımsız olarak antimikrobiyal etkinliğinin daha üstün olduğu tespit edilmiştir.

Schoop ve ark. (164) Nd:YAG, Er:YAG, diod ve Er,Cr:YSGG lazerleri değişik parametrelerde uygulayarak yaptıkları çalışmada, yüksek enerjide (1,5 watt) kullanılan Er:YAG ve diod lazerlerin antibakteriyel etkinliğini diğer lazerlere göre daha fazla bulmuşlardır. Antibakteriyel etkinin, termal etki sonucu olmadığını, bakterilerde bulunan spesifik kromoforların lokal olarak lazer ışığııı absorbe etmesi sonucu olduğunu saptamışlardır. Odor ve ark. (165) mine prizmaları ve dentin tübüllerinin optik fiber özelliğinde olduğunu ve lazer ışığııı kökün periferinde olan dentin tübüllerine yansıtması sonucu derin antibakteriyel etkinin olduğunu savunmuşlardır.

Literatürde Er:YAG lazerin vaporezasyon sonucu oluşturduğu antibakteriyel etkisi üzerine yapılan çalışmalar da mevcuttur. Bu alışmalarda Er:YAG lazerin güçlü antibakteriyel etkisi olduğu gösterilmiştir. Antonio ve ark. (166) ekilmiş dişlerde kanal içerisine 72 saat süreyle inkübe ettikleri *E. faecalis* ATCC 29212 suşunu, Er:YAG lazeri 100 mJ, 10 Hz darbe frekansında uygulayarak %99 oranında elimine etmeyi başarmışlar ise de lazer uygulamasından 48 saat sonra alınan örneklerde *E. faecalis*'i dentin tübüllerinde tespit etmişlerdir. Dostalova ve ark. (167) 44 premolar ve molar dişlerde Er:YAG lazeri 4 Hz darbe frekansında ve 70-130 mJ enerji seviyeleri arasında kanal içerisinde ve çevreleyen dokularda kök kanal dezenfeksiyonunu sağlamak için *in vivo* uygulamışlardır. Er:YAG lazerin 100 mJ enerji seviyesinde 4 Hz darbe frekansında uygulanması sonrası kök kanal sisteminde %100 sterilizasyon elde etmişlerdir. Ayrıca dişi çevreleyen evre dokularda da antibakteriyel etki tespit etmişlerdir.

Noiri ve ark. (109) Er:YAG lazerin, hidroksiapatit disklerde modifiye Robbins cihazı kullanılarak oluşturulan *Actinomyces naeslundii*, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus casei*, *Propionibacterium acnes*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* ve *Prevotella nigrescens* biyofilmleri üzerine etkinliğini araştırmışlardır. Er:YAG lazeri 0,38-0,98 J/cm² arasında değişen enerji yoğunluklarında uygulandığında *Lactobacillus casei* suşu dişında diğer 6 farklı bakteri biyofilmleri üzerinde etkili bulmuşlardır. Lazer uygulaması sonrası biyofilmdeki hücre sayısında ve biyofilm hücre yoğunluğunda azalma, bakteriyel hücrelerde atrofik değişiklikler tespit etmişlerdir.

Nd:YAG lazerler smear tabakasının kaldırılmasında, debrisin uzaklaştırılmasında, kök kanal sisteminin temizleme, şekillendirme ve dezenfeksiyonunda, apisektomi sonrası apikal bölgenin kaplanmasında sıklıkla tercih edilen cihazlardır. Bu lazerin periapikal enflamasyonu azalttığı, kök kanal lümeninin kurummasını hızlandırdığı ve dentini uzaklaştırırken bakterisidal etki oluşturduğu tespit edilmiştir (168, 169). Klinker ve ark. (5) Nd:YAG lazerin dentin tübüllerinde 1000 µm derinliğe kadar dezenfeksiyon etkisi olduğunu tespit etmişlerdir. Moritz ve ark. (170) Nd:YAG lazeri 2 farklı parametrede (1 ve 1,5 Watt), Gram (-) mikroorganizma olarak *E. coli* ve Gram (+) mikroorganizma olarak *E. faecalis* üzerinde uygulayıp, SEM'de mikroorganizmaların hücre duvarlarında oluşan değişiklikleri incelemişlerdir. Nd:YAG lazerin 1,5 Watt ve 2 kez uygulanması sonrası *E. coli* hücreleri tamamen yok edilirken, birkaç *E. faecalis* hücrenin duvarında ise sadece morfolojik değişiklikler saptamışlardır. Lazer tedavisinin başarısının bakterilerin hücre duvarlarının yapısına bağlı olduğunu savunmuşlardır. Bergmans ve ark. (171) *E. faecalis* inokülasyonu ile hazırlanan kök kanallarına 15 Hz ve 1,5 Watt enerji seviyesinde Nd:YAG lazer uygulamıştır. Nd:YAG lazer uygulaması ile %99,7 oranında bakteriyel azalma saptamışlar fakat sterilizasyon tespit edememişlerdir. Sonuç olarak Nd:YAG lazerin kanal dezenfeksiyon protokolünde alternatif bir tedavi olamayacağı fakat Nd:YAG lazer ışığının dentin tübüllerinde 1 mm derinliğe kadar etkili olmasından dolayı konvansiyonel kanal tedavisine ek olarak kullanılması gerektiğini savunmuşlardır.

Çalışmamızda 1062 nm dalga boyu olan Nd:YAG lazer, VSP modunda, 100 µs atım süresinde 200 µm çapında endodontik fiber uç kullanılarak, 15 Hz ve 1,5 watt enerji seviyesinde kanal içerisinde uygulandı. Fiber uç apikalden koronale doğru yukarı, saniyede 2 mm olacak şekilde, sirküler hareketlerle çekildi. Bu işlem 4 kez tekrarlandı. Çalışmamızda 2 farklı solüsyon kullanılarak yapılan konvansiyonel irrigasyon sonrası, Nd:YAG lazer uygulanmıştır. Nd:YAG lazer ile yapılan kök kanal dezenfeksiyonu, konvansiyonel irrigasyon tekniğine göre daha üstün bulunmasına rağmen, Er:YAG lazerin antimikrobiyal etkinliğinin Nd:YAG lazere göre daha fazla olduğu saptanmıştır. Ayrıca farklı irrigasyon solüsyonlarının Nd:YAG lazerin antibakteriyel etkinliğini artırıcı bir özelliğinin olmadığı tespit edilmiştir. Literatürde de

bizim bulgularımıza benzer çalışmalar mevcuttur. Gutknecht ve ark. (117) 1,5 W enerji seviyesinde 15 Hz darbe frekansında uyguladıkları Nd:YAG lazerin %97,12 - 99,91 oranında *in vitro* antibakteriyel etki oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Franzen ve ark. (172) ise Nd:YAG lazeri 1,75 W enerji seviyesinde, 0,7 Hz darba frekansında, 15 ms atım süresinde uyguladıkları zaman *E. faecalis*'i dentin tübüllerinde 500 µm derinlikte %49 ve 1000 µm derinlikte %29 oranında elimine ettiğini tespit etmişlerdir. Lazerin atım süresi 25 ms'ye arttırıldığı zaman, *E. faecalis*'in dentin tübüllerinde sırasıyla %70 (500 µm) ve %50 (1000 µm) oranında eliminasyonunu saptamışlardır.

Literatürde çalışmamızda bulduğumuz sonuçları desteklemeyen çalışmalar da mevcuttur. Bu çalışmalarda konvansiyonel irrigasyonun, Nd:YAG lazerin oluşturduğu kök kanal dezenfeksiyonuna göre daha üstün olduğu tespit edilmiştir. Folwaczny ve ark. (169) ve Piccolomini ve ark. (168) Nd:YAG lazerlerin bakteri eliminasyonu sağladığını fakat NaOCl'in daha etkili olduğunu saptamışlardır. Wang ve ark. (173) 1 Watt ya da 1,5 Watt enerji seviyelerinde 40 saniye uyguladıkları Nd:YAG ve Er,CR:YSGG lazerleri, 2 dakika %2,5 NaOCl kullanarak yaptıkları konvansiyonel irrigasyon tekniği ile karşılaştırmışlardır. . Nd:YAG lazerin 1,5 Watt enerji seviyesinde uygulanması ile %98, 1 Watt enerji seviyesinde ise %77 oranında biyofilm eliminasyonu oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Nd:YAG lazerin antibakteriyel etkisinin, Er,CR:YSGG lazere göre daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Fakat %2,5 NaOCl kullanılarak yapılan konvansiyonel irrigasyonun lazerlere göre daha başarılı olduğunu saptamışlardır. Moshonov ve ark. (79) 4,5 Watt gibi yüksek güçte ve 60 saniye uyguladıkları Nd:YAG lazeri, konvansiyonel NaOCl irrigasyon tekniğine göre daha az etkili bulmuşlardır. Meire ve ark. (174) Nd:YAG ve KTP, PAD (ışık aktivasyonu ile yapılan dezenfeksiyon) lazer sistemleri ile konvansiyonel irrigasyonu, enfekte kök modelinde antibakteriyel etkinlikleri bakımından kıyaslamışlardır. Konvansiyonel irrigasyonun %2,5 NaOCl solüsyonu ile 5 dakika uygulandığı bu çalışmada, diğer lazer gruplarına göre daha etkin olduğunu tespit etmişlerdir.

Moritz ve ark. (175) Nd:YAG, Er:YAG ve Ho:YAG lazerleri antibakteriyel özellikleri bakımından enfekte kök modelinde *in vitro* karşılaştırmışlardır. Kullanılan

tüm lazerlerin enerji seviyesini 1,5 Watt olarak ayarlamışlardır. Bakteri eliminasyonunu sırasıyla Er:YAG lazerde %99,64, Nd:YAG lazerde %99,16 ve Ho:YAG lazerde %99,05 tespit etmişlerdir. Kullanılan tüm lazerlerde kuvvetli antibakteriyel etki saptamış olmalarına rağmen Er:YAG lazerin daha üstün olduğunu savunmuşlardır. Çalışmamızda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Er:YAG lazer gruplarının antimikrobiyal etkinliği, Nd:YAG lazere göre daha fazla bulunmuştur. Er:YAG lazerin S F ya da NaOCl gibi farklı irrigasyon solüsyonları kullanılarak yapılan aktivasyonunun antimikrobiyal etkinliği, Nd:YAG lazerden daha başarılı saptanmıştır. Koronelde uygulanan Er:YAG lazer koronal bölgede, apikalde uygulanan Er:YAG lazer ise apikal bölgede Nd:YAG lazere göre daha üstün olduğu belirlenmiştir.

Lazerle aktive edilen irrigasyon tekniğinin temizleme etkinliği; darbe atımları 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. Çalışmamızda da tüm lazer grupları, konvansiyonel irrigasyona göre antimikrobiyal etkinlikleri bakımından daha başarılı bulunmuştur.

Literatürde bulgularımıza ters çalışmalar da mevcuttur. Perin ve ark. (176) çekilmiş tek köklü dişleri 24 saat 5 farklı mikroorganizma ile inoküle ettikten sonra kök kanal dezenfeksiyonu amacıyla Er:YAG lazeri 7 Hz, 100 mJ enerji seviyesinde kullanmışlardır. Diğer grupta ise kemomekanik preparasyon yapılırken her eğe değişiminde %1 NaOCl solüsyonunu kullanmışlardır. Toplam 15 dakika konvansiyonel irrigasyon uygulamışlardır. Mikrobiyolojik inceleme sonrası her 2 grupta da antimikrobiyal etki tespit etmişlerdir. Bu çalışmada metodolojik farklılıklar vardır. Sadece 24 saatlik mikrobiyal inkübasyon oluşturulmuştur. Er:YAG lazerin ise dokuları vaporeze etmesi sonucu oluşturduğu antibakteriyel etkisi incelenmiştir.

Çalışmamızda kök kanalları 50 numara apikal büyüklüğe kadar genişletildi. Yapılan bu preparasyon enjektör ucunun tüm kök kanal boyunca penetrasyonunu sağlamıştır. Chow (177) iğne ucunun derinliğinin, kök kanal irrigasyonunun etkinliğini etkileyen tek ve en önemli faktör olduğunu göstermiştir. Literatürde apikal büyüklüğü

fazla olan kanallarda daha etkili konvansiyonel irrigasyon yapıldığını gösteren çalışmalar mevcuttur (178, 179).

Çalışmamızda 5 ml %6 NaOCl ve %1 NaOCl solüsyonları 1 dakika boyunca konvansiyonel irrigasyon yapılarak uygulandı. Farklı konsantrasyonlarda NaOCl solüsyonları kullanılarak yapılan konvansiyonel irrigasyon grupları arasında biyofilm eliminasyon etkinlikleri bakımından anlamlı bir fark bulunamadı. Irrigasyon sonrası, dentin tübüllerinden etkin biçimde bakteri eliminasyonu sağlanamadığı gözlemlendi. Aktivasyon süresinin 1 dakika olması irrigasyon solüsyonlarının dentin tübüllerine penetrasyonu için çok az bir süredir. Pozitif kontrol grubunda 5 ml steril serum fizyolojik solüsyonu kullanılarak konvansiyonel irrigasyon uygulandı. Bu şekilde antibakteriyel ve doku çözücü etkisi olmayan solüsyonunun, mekanik olarak kök kanal irrigasyonuna etkisi incelenmiş oldu. Pozitif kontrol grubu ile negatif kontrol grubu arasında anlamlı derecede fark bulundu.

Literatürde kök kanal irrigasyon solüsyonlarının hangi konsantrasyon, pH ve hacimde daha etkin olduklarını araştıran pek çok çalışma bulunmaktadır (180). Gulabivala ve ark. (181) irrigasyon solüsyonunun etkinliğinde; konsantrasyon, uygulama hacmi, uygulama süresi, sıcaklık ve pH seviyesinin önemli olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda test edilen irrigasyon solüsyonlarının hepsi oda sıcaklığında, aynı hacimde ve aynı konsantrasyonlarda taze olarak hazırlanmıştır.

Çalışmamızda %6 NaOCl ve %1 NaOCl solüsyonları kullanılarak yapılan konvansiyonel irrigasyonun *E. faecalis* biyofilmlerini tam olarak elimine edemediği tespit edilmiştir. Kök kanalının koronal ve apikal bölgesinde grup VII ve grup VIII arasında biyofilm eliminasyon etkinlikleri bakımından fark bulunmamış olmasına rağmen, orta bölgede %6 NaOCl solüsyonunun biyofilm eliminasyon etkinliği daha fazla bulunmuştur. Apikal üçlüde irrigasyon solüsyonlarının mikroorganizmalarla teması için yeterli sürenin olmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Literatürde elde ettiğimiz sonuçlara benzer çalışmalar mevcuttur. Carpio-Perochena ve ark. (151) dentin örneklerinde %1, %2,5 ve %5,25 NaOCl solüsyonlarını

5, 15 ve 30 dakika sürelerde uygulayarak kıyaslamışlardır. Yüzde 5,25 NaOCl'in zamandan bağımsız olarak biyofilmleri elimine ettiği, %1 ve %2,5'lük NaOCl solüsyonlarının %5,25'lik NaOCl solüsyonu ile aynı etkiyi oluşturabilmesi için 30 dakika gerektiğini saptamışlardır.

Retamazo ve ark. (152) dentin blok modelde %5,25'lik NaOCl solüsyonu uygulayarak negatif kültür elde etmek için 40 - 60 dakika gerektiğini saptamışlardır.

Siqueira ve ark. (150) *E. faecalis* ile enfekte edilen dişlerde, kemomekanik preparasyon işlemi sırasında farklı grupları sırasıyla %1, %2,5 ve %5,25'lik NaOCl solüsyonları ile irrigate etmişlerdir. Yüzde 1 NaOCl ile yapılan irrigasyonda %97,1, %2,5 NaOCl ile yapılan irrigasyonda %99,6 ve %5 NaOCl ile yapılan irrigasyonda %99,8 oranında bakteriyel azalma saptamış olmalarına rağmen, tamamen *E. faecalis* kontaminasyonunun elimine edilemediğini savunmuşlardır.

Shabahang ve ark. (182) 48 saat *E. faecalis* ile kontamine edilmiş diş örneklerini %1,3 ve %5,25 NaOCl solüsyonları ile irrigate etmişler ve gruplarda *E. faecalis*'i elimine edilemediğini belirlemişlerdir. Fakat örnekler ilave 5 dakika MTAD solüsyonuna maruz bırakıldığı zaman negatif kültür elde etmişlerdir.

Vianna ve ark. (180) tüplerde *E. faecalis*, *Candida albicans*, *Staphylococcus* ve gram (-) anaerob mikroorganizmalar olan *P.gingivalis*, *P.endodontalis* ve *Prevotella intermedia* 48 saat, 37°C inoküle ettikten sonra %0,5, %1, %2,5, %4, %5,25 NaOCl solüsyonlarında bekletmişlerdir. Irrigasyon solüsyonlarının mikroorganizmaları öldürme zamanlarını belirlemişlerdir. Yüzde 5,25'lik NaOCl solüsyonunun tüm mikroorganizmaları 15 saniyede öldürerek en yüksek performansı gösterdiğini belirlemişlerdir. Yüzde 0,5 ve %1'lik NaOCl solüsyonlarının fakültatif ve aerobik mikroorganizmaları sırasıyla 30 ve 20 dakikada öldürdüğünü tespit etmişlerdir. Irrigasyon solüsyonlarının antimikrobiyal etkisinin irrigasyon solüsyonunun tipine, konsantrasyonuna, uygulama zamanına ve mikroorganizmaların duyarlılığına bağlı olduğunu vurgulamışlardır.

Gomes ve ark. (183) %0,5 NaOCl solüsyonunu 30 dakika uygulayarak *E. faecalis*'in üremesinin durduğunu, %5,25 NaOCl solüsyonu ile irrigasyon sonrası 30 saniyeden az sürede *E. faecalis*'i inhibe ettiğini tespit etmişlerdir.

Literatürde irrigasyon solüsyonu olarak kullanılan NaOCl'in *E. faecalis* biyofilmleri elimine edebildiğini gösteren çalışmalar da mevcuttur. Haapasalo ve ark. (153) dentin tozu olmadığı durumda %1'lik NaOCl solüsyonunun 5 dakikadan az sürede tüm *E. faecalis* suşunu elimine ettiğini saptamışlardır. Dentin tozunun tüm antimikrobiyal ajanların etkisinin inhibe edici özelliğinin olduğunu ve bu etkinin medikamentlerin konsantrasyonuna bağlı olduğunu savunmuşlardır.

Abdullah ve ark. (148) nitroselüloz membran filtrelerde oluşturulan 48 saatlik *E. faecalis* biyofilmlerini %3'lük NaOCl solüsyonu ile 3 dakika maruz bırakarak elimine etmeyi başarmışlardır. Planktonik formdaki mikroorganizmaları ise %3'lük NaOCl solüsyonu ile 1 dakikada elimine etmişlerdir.

Hope ve ark. (149) enfekte diş modelinde 48 saat sürede oluşturdukları biyofilmleri %1'lik NaOCl solüsyonu ile 1 dakika boyunca irrigate etmişler ve kök kanallarında bakteriyel eliminasyonu sağlamışlardır. Endodontik enfeksiyonlarda dezenfeksiyondaki başarısızlığın bakterilerin intrensek direncinden olmadığını, irrigasyon solüsyonlarının kökte ve aksesuar kanallarda olan mikroorganizmalara ulaşamamasından kaynaklandığını savunmuşlardır.

Dunavant ve ark. (184) akışkan hücre sistemlerinde 24 saat inoküle ettikleri *E. faecalis* biyofilmlerini %1 ve %6'luk NaOCl solüsyonları ile 1 ve 5 dakika maruz bırakmışlardır. Biyofilm elimine etme yüzdeleri sırasıyla %6'luk NaOCl (> %99,99) ve %1'lik NaOCl (%99,78) olarak tespit etmişlerdir. Sonuç olarak *E. faecalis* biyofilmlerinin eliminasyonunun, irrigasyon solüsyonunun konsantrasyonu ve uygulama zamanından bağımsız olduğunu savunmuşlardır.

Chavez de Paz ve ark. (147) polisiteren yüzeyleri 24 saat 5 farklı mikroorganizma ile inkübe ettikten sonra %1'lik NaOCl ve %2,5'luk klorheksidin solüsyonları ile 5 dakika maruz bırakmışlardır. Yüzde 1'lik NaOCl'in

mikroorganizmaların membran bütünlüğünü bozduğunu ve tüm biyofilm hücrelerini elimine ettiğini saptamışlardır.

Arias-Moliz ve ark. (141) ATCC 29212 *E. faecalis* suşunu Calgary biyofilm cihazında 24 saat süreyle inoküle etmişlerdir. NaOCl'in minimum biyofilm yok etme konsantrasyonunu %0,00625 ve 1 dakika olarak tespit etmişlerdir.

Williamson ve ark. (143) klinik olarak elde ettikleri *E. faecalis* suşunu cam yüzeylerde 48 saat 37°C'de inkübe ederek monokültürler elde etmişlerdir. Bu monokültürleri %6 NaOCl ve % 2CHX solüsyonları ile 1,3 ve 5 dakika maruz bırakmışlardır. Yüzde %6'lık NaOCl'in zamana bağlı olmaksızın tüm *E. faecalis* biyofilmlerini elimine ettiğini saptamışlardır.

Oliveria ve ark. (185) tek köklü dişleri 7 gün boyunca *E. faecalis* ile enfekte ettikten sonra, %2 CHX jel, %1,5 ve %5,25'lik NaOCl solüsyonları ile irriga ederek kemomekanik preparasyon yapmışlardır. Mikrobiyolojik örnekleri kemomekanik preparasyon öncesi, preparasyon bitiminden hemen sonra ve 7 gün sonra almışlardır. Preparasyon bitiminden hemen sonra ve 7 gün sonra alınan örneklerde *E. faecalis* eliminasyonu %2 CHX jel ve %5,25'lik NaOCl solüsyonu ile sağlanırken, %1,5'luk NaOCl solüsyonunu yetersiz bulmuşlardır.

Clegg ve ark. (186) kronik apikal periodontitis teşhisi konmuş 10 hastanın dişlerinden kanal içerisinden örnek olarak oluşturdukları polimikrobiyal biyofilmleri, çekilmiş dişlerden hazırlanan apikal kök örneklerinde 24 saat süreyle inoküle etmişlerdir. Apikal kökte oluşturulan biyofilm örnekleri %6 NaOCl, %3 NaOCl, %1 NaOCl ve %2 CHX solüsyonlarında 15 dakika bekletildikten sonra SEM'de incelemişlerdir. Yüzde 6 ve %3'lük NaOCl'in biyofilmleri uzaklaştırdığı ve elimine ettiği, %1'lik NaOCl'in biyofilmleri uzaklaştırdığı fakat elimine edemediği, %2 CHX solüsyonunun ise biyofilmleri uzaklaştıramadığını saptamışlardır.

Tüm bu çalışmalar arasındaki farklılıklar dentinin NaOCl'in etkisini inhibe etmesi, *E. faecalis* ile irrigasyon solüsyonları arasındaki direkt temas sonucu

solüsyonların etkinliğinin azalması, *E. faecalis'in* tübüllere penetre olma özelliği ve enstrümantasyondaki eksiklikler olarak sayabiliriz.

Yüksek magnifikasyonda elde edilen görüntülerde *E. faecalis'in* kök kanal duvarlarında yapışık biyofilm toplulukları oluşturduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.1, Şekil 4.2). Konvansiyonel irrigasyonunun kısmen dentin tübüllerinde etkili olduğu ve persiste bakterilerin varlığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.10, Şekil 4.11).

Lazer uygulaması sonrası kökte dentin yüzeyinde ablyasyon, intertübüler ve peritübüler dentinde vaporezasyon ve dentin tübüllerinin ekspozu gibi farklı morfolojik değişiklikler SEM incelemesinde tespit edilmiştir (Şekil 4.3).

Bu çalışmada, gözlemciler arasında ve yapılan gözlemlerin kendi içinde yüksek seviyede fikir birliği olduğu kapa istatistiği ile gösterilmiştir. Dolayısıyla, semi-kantitatif skorlama gözlemciler tarafından doğru yorumlanmıştır.

Çalışmamızda Er:YAG lazerin aktivasyonu sonucu kök kanalında tamamen bakteriyel biyofilm eliminasyonu sağlanamamış olmasına rağmen, apikal bölgeden daha fazla negatif örnek elde edilmiştir. Literatürde yapılan *in vitro* çalışmalar ile benzer sonuçlar bulunmuştur. Er:YAG lazerin aktivasyonu süresince, irrigasyon solüsyonuna daha fazla enerji aktarılmaktadır. Dolayısıyla sadece 20 saniye apikal ya da koronalde uygulanan Er:YAG lazerin aktivasyonu, Nd:YAG lazer ile yapılan kök kanal dezenfeksiyonuna ve konvansiyonel irrigasyona göre daha etkili bulunmuştur.

6. SONUÇLAR

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

1. Uygulanan 3 yöntemden hiçbirinin *E. faecalis* biyofilmlerini tamamen elimine edemediği saptandı. Er:YAG lazerin aktivasyonu ile yapılan irrigasyonun, Nd:YAG lazer ile yapılan kök kanal dezenfeksiyonuna ve konvansiyonel irrigasyona göre daha fazla biyofilm elimine ettiği bulundu.
2. Er:YAG lazer ve Nd:YAG lazer ile yapılan kök kanal dezenfeksiyonu sonucu oluşan biyofilm eliminasyon etkinliği konvansiyonel irrigasyon tekniğine göre daha fazla bulundu.
3. S F solüsyonunun apikal ya da koronalde Er:YAG lazer ile aktivasyonu ile Nd:YAG lazerin kök kanal dezenfeksiyonunun sonuçlarını karşılaştırdığımızda, en iyi biyofilm eliminasyon etkinliği kök kanalının tüm bölgelerinde apikalde uygulanan Er:YAG lazer ile elde edildi. Nd:YAG lazerin kök kanal dezenfeksiyonunu ikinci, koronalde uygulanan Er:YAG lazerin etkinliği ise en kötü bulundu.
4. NaOCl solüsyonunun apikal ya da koronalde Er:YAG lazer ile aktivasyonu ile Nd:YAG lazerin kök kanal dezenfeksiyonunu karşılaştırdığımızda, apikal bölgede en iyi biyofilm eliminasyon etkinliği apikalde uygulanan Er:YAG lazer ile sağlandı. Kök kanalının koronal bölgesinde ise koronalde uygulanan Er:YAG lazerin en etkin yöntem olduğu, apikalde uygulanan Er:YAG lazerin ikinci, Nd:YAG lazer tekniğinin biyofilm eliminasyon etkinliği ise en kötü bulundu.
5. Farklı irrigasyon solüsyonlarının kanal içerisinde uygulanmasının Nd:YAG lazerin biyofilm eliminasyonu üzerine arttırıcı etkisi olmadığı bulundu.
6. Apikalde uygulanan Er:YAG lazerin S F solüsyonu aktivasyonu sonucu oluşan biyofilm eliminasyon etkinliği, koronal bölgede Er:YAG lazerin S F solüsyonu aktivasyonuna göre kök kanalının orta ve apikal bölgelerinde daha fazla bulundu.
7. Apikalde uygulanan Er:YAG lazerin NaOCl solüsyonu aktivasyonu sonucu oluşan biyofilm eliminasyon etkinliği, koronal bölgede Er:YAG lazerin NaOCl solüsyonu aktivasyonu ile kıyasladığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamış

olmasına rağmen, apikal bölgede uygulanan Er:YAG lazerin NaOCl solüsyonunun aktivasyonu sonucu oluşan biyofilm eliminasyon etkinliği apikal ve orta bölgede üstün iken, koronal bölgede uygulanan Er:YAG lazerin NaOCl solüsyonunun aktivasyonu sonucu koronal bölgede daha fazla biyofilm eliminasyonu olduğu bulundu.

8. Sodyum hipoklorit solüsyonunun koronal bölgede Er:YAG lazer ile aktivasyonunun, koronal bölgede S F solüsyonu ile yapılan aktivasyonla kıyaslandığında biyofilm eliminasyon etkinliği kök kanalının tüm bölgelerinde daha fazla saptandı.

9. Sodyum hipoklorit solüsyonunun apikal bölgede Er:YAG lazer ile aktivasyonu sonucu oluşan biyofilm eliminasyon etkinliği apikal bölgede S F solüsyonu ile yapılan aktivasyona göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak farklılık bulunmadı.

10. Yüzde 1 NaOCl ya da %6 NaOCl solüsyonlarının 1 dakika süreyle konvansiyonel olarak uygulanması sonucu oluşan biyofilm eliminasyon etkinlikleri kıyaslandığı zaman kök kanalının koronal ve apikal bölgelerinde fark bulunmadı. Fakat orta bölgede %6 NaOCl solüsyonu ile yapılan konvansiyonel irrigasyon sonucu daha fazla biyofilm eliminasyonu olduğu bulundu.

11. Pozitif kontrol (S F ile yapılan konvansiyonel irrigasyon) ve negatif kontrol (%6 NaOCl ile yapılan konvansiyonel irrigasyon) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık bulundu.

7. KAYNAKLAR

1. NAIR, P. N., SJOGREN, U., KREY, G., KAHNBERG, K. E., SUNDQVIST, G. (1990). Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. *J Endod.* 16:580-588.
2. BERUTTI, E., MARINI, R., ANGERETTI, A. (1997). Penetration ability of different irrigants into dentinal tubules. *J Endod.* 23:725-727.
3. ROCAS, I. N., JUNG, I. Y., LEE, C. Y., SIQUEIRA, J.F., Jr. (2004). Polymerase chain reaction identification of microorganisms in previously root-filled teeth in a South Korean population. *J Endod.* 30:504-508.
4. STUART, C.H., SCHWARTZ, S., BEESON, T. J., OWATZ, C. B. (2006). Enterococcus faecalis: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment. *Journal of Endodontics*, 32:93-98.
5. KLINKE, T., KLIMM, W., GUTKNECHT, N. (1997). Antibacterial effects of Nd:YAG laser irradiation within root canal dentin. *J Clin Laser Med Surg.* 15:29-31.
6. SCHOOP, U., MORITZ, A., KLUGER, W., ve ark. (2002). The Er:YAG laser in endodontics: results of an in vitro study. *Lasers Surg Med.* 30:360-364.
7. GEORGE, R., WALSH, L. J. (2008). Apical extrusion of root canal irrigants when using Er:YAG and Er,Cr:YSGG lasers with optical fibers: an in vitro dye study. *J Endod.* 34:706-708.
8. GEORGE, R., MEYERS, I. A., WALSH, L. J. (2008). Laser activation of endodontic irrigants with improved conical laser fiber tips for removing smear layer in the apical third of the root canal. *J Endod.* 34:1524-1527.
9. BLANKEN, J. W., VERDAASDONK, R. M. (2007). Cavitation as a Working Mechanism of the Er,Cr:YSGG Laser in Endodontics: A Visualization Study. *The Journal of Oral Laser Applications*, 7: 97-106.

10. BLANKEN, J., De MOOR, R. J., MEIRE, M., VERDAASDONK, R. (2009). Laser induced explosive vapor and cavitation resulting in effective irrigation of the root canal. Part 1: a visualization study. *Lasers Surg Med.* 41:514-519.
11. DE MOOR, R. J., BLANKEN, J., MEIRE, M., VERDAASDONK, R. (2009). Laser induced explosive vapor and cavitation resulting in effective irrigation of the root canal. Part 2: evaluation of the efficacy. *Lasers Surg Med.* 41:520-523.
12. DE GROOT, S. D., VERHAAGEN, B., VERSLUIS, M., ve ark. (2009). Laser-activated irrigation within root canals: cleaning efficacy and flow visualization. *Int Endod J.* 42:1077-1083.
13. FIGDOR, D., SUNDQVIST, G. (2007). A big role for the very small--understanding the endodontic microbial flora. *Aust Dent J.* 52:38-51.
14. KAKEHASHI, S., STANLEY, H.R., FITZGERALD, R. J. (1965). The Effects of Surgical Exposures of Dental Pulp in Germ-Free and Conventional Laboratory Rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 20:340-349.
15. MOLLER, A. J., FABRICIUS, L., DAHLEN, G., OHMAN, A. E., HEYDEN, G. (1981). Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scand J Dent Res.* 89:475-484.
16. PORTNEIER, I., WALTIMO, T. M. T., HAAPASALO, M. (2003). Enterococcus faecalis - the root canal survivor and 'star' in post - treatment disease. *Endodontic Topics*, 6: 135-159.
17. SVENSATER, G., BERGENHOLTZ, G. (2004). Biofilms in endodontic infections. *Endodontic Topics*, 9: 27-36.
18. NAIR, P. N., SJOGREN, U., FIGDOR, D., SUNDQVIST, G. (1999). Persistent periapical radiolucencies of root-filled human teeth, failed endodontic treatments, and periapical scars. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 87:617-627.

19. NAIR, P. N., HEMRY, S., CANO, V., VERA, J. (2005). Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 99:231-252.
20. JONES RN, MARSHALL SA, PFALLER MA, ve ark. (1997). Nosocomial enterococcal blood stream infections in the SCOPE Program: antimicrobial resistance, species occurrence, molecular testing results, and laboratory testing accuracy. *SCOPE Hospital Study Group. Diagn Microbiol Infect Dis.* 29:95-102.
21. RUOFF, K. L., de la MAZA, L., MURTAGH, M. J., SPARGO, J.D., FERRANO, M. J. (1990). Species identities of enterococci isolated from clinical specimens. *J Clin Microbiol.* 28:435-437.
22. MURRAY, B. E. (1990). The life and times of the Enterococcus. *Clin Microbiol Rev.* 3:46-65.
23. BHORADE, S. M., CHRISTENSON, J., POKLMAN, A. S., ARNOW, P. M., HALL, J. B. (1999). The incidence of and clinical variables associated with vancomycin-resistant enterococcal colonization in mechanically ventilated patients. *Chest.* 115:1085-1091.
24. HARTKE, A., GIARD, J. C., LAPLACE, J. M., AUFFRAY, Y. (1998). Survival of *Enterococcus faecalis* in an oligotrophic microcosm: changes in morphology, development of general stress resistance, and analysis of protein synthesis. *Appl Environ Microbiol.* 64:4238-4245.
25. FLAHAUT, S., FRERE, J., BOUTIBONNES, P., AUFFRAY, Y. (1996). Comparison of the bile salts and sodium dodecyl sulfate stress responses in *Enterococcus faecalis*. *Appl Environ Microbiol.* 62:2416-2420.
26. DUNNY, G. M., LEONARD, B. A., HEDBERG, P. J. (1995). Pheromone-inducible conjugation in *Enterococcus faecalis*: interbacterial and host-parasite chemical communication. *J Bacteriol.* 177:871-876.

27. KREFT, B., MARRE, R., SCHRAMM, U., WIRTH, R. (1992). Aggregation substance of *Enterococcus faecalis* mediates adhesion to cultured renal tubular cells. *Infect Immun.* 60:25-30.
28. SUSSMUTH, S. D., MUSCHOLL-SILBERHORN, A., WIRTH, R., ve ark. (2000). Aggregation substance promotes adherence, phagocytosis, and intracellular survival of *Enterococcus faecalis* within human macrophages and suppresses respiratory burst. *Infect Immun.* 68:4900-4906.
29. RAKITA, R. M., VANEK, N. N., JACQUES-PALAZ, K., ve ark. (1999). *Enterococcus faecalis* bearing aggregation substance is resistant to killing by human neutrophils despite phagocytosis and neutrophil activation. *Infect Immun.* 67:6067-6075.
30. CHOW, J. W., THAL, L.A., PERRI, M. B., ve ark. (1993). Plasmid-associated hemolysin and aggregation substance production contribute to virulence in experimental enterococcal endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother.* 37:2474-2477.
31. TOLEDO-ARENA, A., VALLE, J., SOLANO, C., ve ark. (2001). The enterococcal surface protein, Esp, is involved in *Enterococcus faecalis* biofilm formation. *Appl Environ Microbiol.* 67:4538-4545.
32. HASSE, C. C., FINKELSTEIN, R. A. (1993). Bacterial extracellular zinc-containing metalloproteases. *Microbiol Rev.* 57:823-837.
33. GILMORE, M. S., SEGARRA, R. A., BOOTH, M. C. (1990). An HlyB-type function is required for expression of the *Enterococcus faecalis* hemolysin/bacteriocin. *Infect Immun.* 58:3914-3923.
34. MUNDY, L. M., SAHM, D. F., GILMORE, M. (2000). Relationships between enterococcal virulence and antimicrobial resistance. *Clin Microbiol Rev.* 13:513-522.
35. LAPLACE, J. M., THUAULT, M., HARTKE, A., BOUTIBONNES, P., AUFFRAY, Y. (1997). Sodium hypochlorite stress in *Enterococcus faecalis*: influence of antecedent growth conditions and induced proteins. *Curr Microbiol.* 34:284-289.

36. RINCE, A., FLAHAUT, S., AUFRAY, Y. (2000). Identification of general stress genes in *Enterococcus faecalis*. *Int J Food Microbiol.* 55:87-91.
37. FLAHAUT, S., HARTKE, A., GIARD, J. C., AUFRAY, Y. (1997). Alkaline stress response in *Enterococcus faecalis*: adaptation, cross-protection, and changes in protein synthesis. *Appl Environ Microbiol.* 63:812-814.
38. GIARD, J. C., HARTKE, A., FLAHAUT, S., BOUTIBONNES, P., AUFRAY, Y. (1997). Glucose starvation response in *Enterococcus faecalis* JH2-2: survival and protein analysis. *Res Microbiol.* 148:27-35.
39. LLEO, M. M., BONATI, B., TAFI, M. C., ve ark. (2001). Resuscitation rate in different enterococcal species in the viable but non-culturable state. *J Appl Microbiol.* 91:1095-1102.
40. COSTERTON, J. W. (2001). Cystic fibrosis pathogenesis and the role of biofilms in persistent infection. *Trends Microbiol.* 9:50-52.
41. O'TOOLE, G., KAPLAN, H. B., KOLTER, R. (2000). Biofilm formation as microbial development. *Annu Rev Microbiol.* 54:49-79.
42. COSTERTON, J. W. (1999). Introduction to biofilm. *Int J Antimicrob Agents.* 11:217-221; discussion 237-219.
43. ÜNVER S. (2011). Farklı irrigasyon solüsyonlarının ve ışıkla aktive olan dezenfeksiyon sistemlerinin *Enterococcus faecalis* biyofilmi üzerindeki antimikrobiyal etkinliklerinin in vitro olarak incelenmesi. Doktora Tezi, Başkent Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
44. BUSSCHER, H. J., VAN DER MEI, H. C. (2000). Initial microbial adhesion events: mechanisms and implications. *SGM symposium 59: Community structure and co-operation in biofilms.* 59: 25-36.

45. KOLENBRANDER, P. E., ANDERSEN, R. N., BLEHERT, D. S., ve erk. (2002). Communication among oral bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev.* 66:486-505, table of contents.
46. AYSCHILL, T. M., ARTWEÏLLER, N. B., NETUSCHIL, L., BREEX, M., REICH, E. (2001). Spatial distribution of vital and dead microorganisms in dental biofilms. *Archives of oral biology.* 46: 471-476.
47. MARSH, P. D., BOWDEN, G. H. W. (2000). Microbial community interactions in biofilms. *Cambridge: Cambridge University Press.* 2167–2198.
48. LI, Y., BURNE, R. A. (2001). Regulation of the *gtfBC* and *ftf* genes of *Streptococcus mutans* in biofilms in response to pH and carbohydrate. *Microbiology.* 147:2841-2848.
49. MILLER, M. B., BASSLER, B. L. (2001). Quorum sensing in bacteria. *Annu Rev Microbiol.* 55:165-199.
50. CVITKOVITCH, D. G., LI, Y.H., ELLEN, R. P. (2003). Quorum sensing and biofilm formation in Streptococcal infections. *J Clin Invest.* 112:1626-1632.
51. SCHEIE, A. A., PETERSEN, F. C. (2004). The Biofilm Concept: Consequences for Future Prophylaxis of Oral Diseases? *Crit Rev Oral Biol Med.* 15:4-12.
52. BERGENHOLTZ, G., LEKHOLM, U., MILTHON, R., ENGSTROM, B. (1979). Influence of apical overinstrumentation and overfilling on re-treated root canals. *J Endod.* 5:310-314.
53. SAUNDERS, W. P., SAUNDERS, E. M. (1994). Coronal leakage as a cause of failure in root-canal therapy: a review. *Endod Dent Traumatol.* 10:105-108.
54. NAIR, P. N. (1987). Light and Electron Microscopic Studies of Root Canal Flora and Periapical Lesions. *J Endod.* 13:29-39.
55. SEN, B. H., PISKIN, B., DEMIRCI, T. (1995). Observation of bacteria and fungi in infected root canals and dentinal tubules by SEM. *Endod Dent Traumatol.* 11:6-9.

56. TRONSTAD, L., BARNETT, F., CERVONE, F. (1990). Periapical bacterial plaque in teeth refractory to endodontic treatment. *Endod Dent Traumatol.* 6:73-77.
57. LOMÇALI, G., SEN, B. H., ÇANKAYA, H. (1996). Scanning electron microscopic observations of apical root surfaces of teeth with apical periodontitis. *Endod Dent Traumatol.* 12:70-76.
58. SIQUEIRA, J. F., Jr., LOPES, H. P. (2001). Bacteria on the apical root surfaces of untreated teeth with periradicular lesions: a scanning electron microscopy study. *Int Endod J.* 34:216-220.
59. TRONSTAD, L., SUNDE, P. T. (2003). The evolving new understanding of endodontic infections. *Endodontic Topic.* 6: 57-77.
60. JOHNSON, S. A., GODDARD, P. A., ILIFFE, C., ve ark. (2002). Comparative susceptibility of resident and transient hand bacteria to para-chloro-meta-xyleneol and triclosan. *J Appl Microbiol.* 93:336-344.
61. DONLAN, R.M., COSTERTON, J. W. (2002). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev.* 15:167-193.
62. LEWIS, K. (2001). Riddle of biofilm resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 45:999-1007.
63. COSTERTON, J. W., STEWART, P. S., GREENBERG, E. P. (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science.* 284:1318-1322.
64. STEWART, P. S. (1996). Theoretical aspects of antibiotic diffusion into microbial biofilms. *Antimicrob Agents Chemother.* 40:2517-2522.
65. ENSTEIN, A. (1994). Fiziğin evrimi: İlk Kavramlardan İlişkinliğe Kuantumlara. İçinde: EINSTEIN, A., INFELD, L. 3.Baskı. Ankara: Onur.
66. SMITH, W. V., SOROKIN, P. P. (1966). The Laser. İçinde: SMITH, W. V., SOROKIN, P. P, 1. baskı. New York: McGraw-Hill Book Company Press 1996

67. GUTKNECHT, N., MADEN, İ., KAZAK, Z. (2011). Diş Hekimliğinde Uygulamalı Lazer Sunumu. İstanbul: Vestiyerakademi.
68. GOLDMAN, L., GRAY, J. A., GOLDMAN, J., GOLDMAN, B., MEYER, R. (1965). Effect of Laser Beam Impacts on Teeth. *J Am Dent Assoc.* 70:601-606.
69. PECARO, B. C., GAREHİME, W. J. (1983). The CO2 laser in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 41:725-728.
70. FRAME, J. W. (1985). Carbon dioxide laser surgery for benign oral lesions. *Br Dent J.* 158:125-128.
71. PICK, R. M., PECARO, B. C., SILBERMAN, C. J. (1985). The laser gingivectomy. The use of the CO2 laser for the removal of phenytoin hyperplasia. *J Periodontol.* 56:492-496.
72. WEICHMAN, J. A., JOHNSON, F. M. (1971). Laser use in endodontics. A preliminary investigation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 31:416-420.
73. HIBST, R., KELLER, U. (1989). Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances: I. Measurement of the ablation rate. *Lasers Surg Med.* 9:338-344.
74. PARKER, S. (2007). Laser regulation and safety in general dental practice. *Br Dent J.* 202:523-532.
75. SETHI, C.S., GREY, R. H., HART, C. D. (1999). Laser pointers revisited: a survey of 14 patients attending casualty at the Bristol Eye Hospital. *Br J Ophthalmol.* 83:1164-1167.
76. ROBERTSON, D. M., MCLAREN, J. W., SALOMAO, D. R., LINK, T. P. (2005). Retinopathy from a green laser pointer: a clinicopathologic study. *Arch Ophthalmol.* 123:629-633.
77. REIDENBACH, H. D., DOLLINGER, K., HOFMANN, J. (2002). Field trials with low power lasers concerning the blink reflex. *Biomed Tech (Berl).* 47 Suppl 1 Pt 2:600-601.

78. SCHUELE, G., RUMOHR, M., HUETTMAN, G., BRINKMANN, R. (2005). RPE damage thresholds and mechanisms for laser exposure in the microsecond-to-millisecond time regimen. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 46:714-719.
79. MOSHONOV, J., SION, A., KASIRER, J., ROTSTEIN, I., STABHOLZ, A. (1995). Efficacy of argon laser irradiation in removing intracanal debris. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 79:221-225.
80. BONIN, P., BOIVIN, R., POULARD, J. (1991). Dentinal permeability of the dog canine after exposure of a cervical cavity to the beam of a CO2 laser. *J Endod.* 17:116-118.
81. MELCER, J., CHAUMETTE, M. T., ZEBOULON, S., ve ark. (1985). Preliminary report on the effect of the CO2 laser beam on the dental pulp of the *Macaca mulatta* primate and the beagle dog. *J Endod.* 11:1-5.
82. MORITZ, A., SCHOOP, U., GOHARKHAY, K., SPERR, W. (1998). The CO2 laser as an aid in direct pulp capping. *J Endod.* 24:248-251.
83. SHOJI, S., NAKAMURA, M., HORIUCHI, H. (1985). Histopathological changes in dental pulps irradiated by CO2 laser: a preliminary report on laser pulpotomy. *J Endod.* 11:379-384.
84. WILDER-SMITH, P., PEAUVY, G. M., NIELSEN, D., ARRASTIA-JITOSHO, A. M. (1997). CO2 laser treatment of traumatic pulpal exposures in dogs. *Lasers Surg Med.* 21:432-437.
85. DANG, J., WILDER-SMITH, P., PEAUVY, G. M. (1998). Clinical preconditions and treatment modality: effects on pulp surgery outcome. *Lasers Surg Med.* 22:25-29.
86. PASHLEY, E. L., HORNER, J. A., LIU, M., KIM, S., PASHLEY, D. H. (1992). Effects of CO2 laser energy on dentin permeability. *J Endod.* 18:257-262.
87. WAKABAYASHI, H., HAMBA, M., MATSUMOTO, K., TACHIBANA, H. (1993). Effect of irradiation by semiconductor laser on responses evoked in trigeminal caudal neurons by tooth pulp stimulation. *Lasers Surg Med.* 13:605-610.

88. TAKEDA, F. H., HARASHIMA, T., KIMURA, Y., MATSUMOTO, K. (1998). Efficacy of Er:YAG laser irradiation in removing debris and smear layer on root canal walls. *J Endod.* 24:548-551.
89. HMUD, R., KAHLER, W. A., GEORGE, R., WALSH, L. J. (2010). Cavitation effects in aqueous endodontic irrigants generated by near-infrared lasers. *J Endod.* 36:275-278.
90. AKÇAM, Ö. U. (2010). Ortodonti Pratiğinde Lazerler. *ADO Klinik Bilimleri Dergisi* .3; 4: 488-495
91. WHITTERS, C. J., HALL, A., CREANOR, S. L., ve ark. (1995). A clinical study of pulsed Nd: YAG laser-induced pulpal analgesia. *J Dent.* 23:145-150.
92. WEICHMAN, J. A. JOHNSON, F. M., NITTA, L. K. (1972). Laser use in endodontics. II. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 34:828-830.
93. VAN AS, G. (2004). Erbium lasers in dentistry. *Dent Clin North Am.* 48:1017-1059, viii.
94. ÇALIŞKAN, K. M. (2006). Endodontide Tanı ve Tedaviler. İçinde: ÇALIŞKAN, K. M. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. s: 1-30, 315-350
95. KIMURA. Y., WILDER-SMITH, P., MATSUMOTO, K. (2000). Lasers in endodontics: a review. *Int Endod J.* 33:173-185.
96. JARVIS, D., MACLVER, M. B., TANELIAN, D. L. (1990). Electrophysiologic recording and thermodynamic modeling demonstrate that helium-neon laser irradiation does not affect peripheral Adelta- or C-fiber nociceptors. *Pain.* 43:235-242.
97. ÖNAL, B., ERTL, T., SIEBERT, G., MULLER, G. (1993). Preliminary report on the application of pulsed CO2 laser radiation on root canals with AgCl fibers: a scanning and transmission electron microscopic study. *J Endod.* 19:272-276.
98. DEDERICH, D. N., ZAKARIASEN, K. L., TULIP, J. (1984). Scanning electron microscopic analysis of canal wall dentin following neodymium-yttrium-aluminum-garnet laser irradiation. *J Endod.* 10:428-431.

99. Koba, K., Kimura, Y., Matsumoto, K., ve ark. (1999). A histopathological study of the effects of pulsed Nd:YAG laser irradiation on infected root canals in dogs. *J Endod.* 25:151-154.
100. Takeda, F. H., Harashima, T., Eto, J. N., Kimura, Y., Matsumoto, K. (1998). Effect of Er:YAG laser treatment on the root canal walls of human teeth: an SEM study. *Endod Dent Traumatol.* 14:270-273.
101. Takeda, F. H., Harashima, T., Kimura, Y., Matsumoto, K. (1999). A comparative study of the removal of smear layer by three endodontic irrigants and two types of laser. *Int Endod J.* 32:32-39.
102. Peeters, H. H., Suardita, K. (2011). Efficacy of smear layer removal at the root tip by using ethylenediaminetetraacetic acid and erbium, chromium: yttrium, scandium, gallium garnet laser. *J Endod.* 37:1585-1589.
103. De Moor, R. J., Meire, M., Goharkhay, K., Moritz, A., Vanobbergen, J. (2010). Efficacy of ultrasonic versus laser-activated irrigation to remove artificially placed dentin debris plugs. *J Endod.* 36:1580-1583.
104. Schoop, U., Goharkhay, K., Klimescha, J. ve ark. (2007). 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.* 138:949-955.
105. Pirnat, S., Lukac, M., Ihan, A. (2011). Study of the direct bactericidal effect of Nd:YAG and diode laser parameters used in endodontics on pigmented and nonpigmented bacteria. *Lasers Med Sci.* 26:755-761.
106. Hardee, M. W., Miserendino, L. J., Kos, W., Walia, H. (1994). Evaluation of the antibacterial effects of intracanal Nd:YAG laser irradiation. *J Endod.* 20:377-380.
107. Moritz, A., Gutknecht, N., Schoop, U., ve ark. (1997). Irradiation of infected root canals with a diode laser in vivo: results of microbiological examinations. *Lasers Surg Med.* 21:221-226.

108. KUVVETLİ, S. S., SANDALLI, N., TOPÇUOĞLU, N., KULEKÇİ, G. (2009). Antibacterial efficacy of diode and Er:YAG laser irradiation in experimentally contaminated primary molar root canals. *J Clin Pediatr Dent.* 34:43-48.
109. NOIRI, Y., KATSUMOTO, T., AZAKAMI, H., EBISU, S. (2008). Effects of Er:YAG laser irradiation on biofilm-forming bacteria associated with endodontic pathogens in vitro. *J Endod.* 34:826-829.
110. ROPER, M. J., WHITE, J. M., GOODIS, H. E., GEKELMAN, D. (2010). Two-dimensional changes and surface characteristics from an erbium laser used for root canal preparation. *Lasers Surg Med.* 42:379-383.
111. MINAS, N. H., MEISTER, J., FRANZEN, R., GUTKNECHT, N., LAMPERT, F. (2010). In vitro investigation of intra-canal dentine-laser beam interaction aspects: I. Evaluation of ablation capability (ablation rate and efficiency). *Lasers Med Sci.* 25:835-840.
112. SOARES, F., VARELLA, C. H., PILEGGI, R., ADEWUMI, A., GUELMANN, M. (2008). Impact of Er,Cr:YSGG laser therapy on the cleanliness of the root canal walls of primary teeth. *J Endod.* 34:474-477.
113. POTTS, T. V., PETROU, A. (1990). Laser photopolymerization of dental materials with potential endodontic applications. *J Endod.* 16:265-268.
114. ANIC, I., SHIRASUKA, T., MATSUMOTO, K. (1995). Scanning electron microscopic evaluation of two compaction techniques using a composite resin as a root canal filling material. *J Endod.* 21:594-598.
115. ANIC, I., MATSUMOTO, K. (1995). Comparison of the sealing ability of laser-softened, laterally condensed and low-temperature thermoplasticized gutta-percha. *J Endod.* 21:464-469.
116. KOBAYASHI, K., KIMURA, Y., MATSUMOTO, K., ve ark. (1999). Post-operative symptoms and healing after endodontic treatment of infected teeth using pulsed Nd:YAG laser. *Endod Dent Traumatol.* 15:68-72.

117. GUTKNECHT, N., MORITZ, A., CONRADS, G., SIEVERT, T., LAMPERT, F. (1996). Bactericidal effect of the Nd:YAG laser in in vitro root canals. *J Clin Laser Med Surg.* 14:77-80.
118. MISERENDINO, L. J. (1988). The laser apicoectomy: endodontic application of the CO2 laser for periapical surgery. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 66:615-619.
119. MORITZ, A., GUTKNECHT, N., GOHARKHAY, K., ve ark. (1997). The carbon dioxide laser as an aid in apicoectomy: an in vitro study. *J Clin Laser Med Surg.* 15:185-188.
120. BADER, G., LEJEUNE, S. (1998). Prospective study of two retrograde endodontic apical preparations with and without the use of CO2 laser. *Endod Dent Traumatol.* 14:75-78.
121. MAILLET, W. A., TORNECK, C. D., FRIEDMAN, S. (1996). Connective tissue response to root surfaces resected with Nd:YAG laser or burs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 82:681-690.
122. PAGHDİWALA, A. F. (1993). Root resection of endodontically treated teeth by erbium: YAG laser radiation. *J Endod.* 19:91-94.
123. KOMORI, T., YOKOYAMA, K., MATSUMOTO, Y., MATSUMOTO, K. (1997). Erbium:YAG and holmium:YAG laser root resection of extracted human teeth. *J Clin Laser Med Surg.* 15:9-13.
124. ARAKI, A.T., IBRAKI, Y., KAWAKAMI, T., LAGE-MARQUES, J.L. (2006). Er:Yag laser irradiation of the microbiological apical biofilm. *Braz Dent J.* 17:296-299.
125. ROCCA, J. P , JASMIN, J.R., DUPREZ, J.P. (1994). Removal of calcified attached denticle with a pulsed dye laser. A case report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 77:281-284.
126. ARAKAWA, S., COBB, C. M., RAPLEY, J.W., KILLOY, W.J., SPENCER, P. (1996). Treatment of root fracture by CO2 and Nd:YAG lasers: an in vitro study. *J Endod.* 22:662-667.

127. TACHINAMI, H., KATSUUMI, I. (2010). Removal of root canal filling materials using Er:YAG laser irradiation. *Dent Mater J.* 29:246-252.
128. NAGASE, D. Y., De FREIRAS, P. M., MORIMOTO, S., ODA, M., VIEIRA, G.F. (2011). Influence of laser irradiation on fiber post retention. *Lasers Med Sci.* 26:377-380.
129. FREIBERG, R. (2002). Pulsed erbium laser ablation of hard dental tissue: the effects of atomized water spray vs water surface film. *Lasers in Dentistry VIII*, 4610:4674-4684.
130. GIMBEL, C.B. (2000). Hard tissue laser procedures. *Dent Clin North Am.* 44:931-953, viii.
131. BORNSTEIN, E. S., LOMKE, M. A. (2003). The safety and effectiveness of dental Er:YAG lasers. A literature review with specific reference to bone. *Dent Today.* 22:129-133.
132. STABHOLZ, A., SAHAR-HELFT, S., MOSHONOV, J (2004). Lasers in endodontics. *Dent Clin North Am.* 48:809-832, vi.
133. ALAÇAM, T. (2000). Kök kanallarının irrigasyonu. İçinde:Alaçam, T. ed. Endodonti 2. baskı. Ankara: Barış Yayınları Fakülteler Kitapevi. 2002, 289-312.
134. HAUMAN, C.H., LOVE, R.M. (2003). Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 2. Root-canal-filling materials. *Int Endod J.* 36:147-160.
135. BAUMGARTNER, J. C., CUENIN, P. R. (1992). Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigation. *J Endod.* 18:605-612.
136. ANDERSEN, M., LUND, A., ANDREASEN, J.O., ANDREASEN, F.M. (1992).In vitro solubility of human pulp tissue in calcium hydroxide and sodium hypochlorite. *Endod Dent Traumatol.* 8:104-108.

137. ABOU-RASS, M., OGLESBY, S.W. (1981). The effects of temperature, concentration, and tissue type on the solvent ability of sodium hypochlorite. *J Endod.* 7:376-377.
138. SPANGBERG, L., ENGSTROM, B., LANGELAND, K. (1973). Biologic effects of dental materials. *Oral Surg.* 34: 856-871.
139. SPRATT, D. A., PRATTEN, J., WILSON, M., GULABIVALA, K. (2001). An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates. *Int Endod J.* 34:300-307.
140. GIARDINO, L., AMBU, E., SAVOLDI, E., ve ark. (2007). Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of sodium hypochlorite, MTAD, and Tetraclean against *Enterococcus faecalis* biofilm. *J Endod.* 33:852-855.
141. ARIAS-MOLIZ, M. T., FERRER-LUQUE, C.M., ESPIGARES-GARCIA, M., BACA, P. (2009). *Enterococcus faecalis* biofilms eradication by root canal irrigants. *J Endod.* 35:711-714.
142. BRYCE, G., O'DONNELL, D., READY, D., ve ark. (2009). Contemporary root canal irrigants are able to disrupt and eradicate single- and dual-species biofilms. *J Endod.* 35:1243-1248.
143. WILLIAMSON, A. E., CARDON, J. W., DRAKE, D. R. (2009). Antimicrobial susceptibility of monoculture biofilms of a clinical isolate of *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 35:95-97.
144. PRABHAKAR, J., SENTHILKUMAR, M., PRIYA, M. S., ve ark. (2010). 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.* 36:83-86.
145. ORSTAVIK, D., HAAPASOLA, M. (1990). Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endod Dent Traumatol.* 6:142-149

146. SIQUEIRA, J. F. Jr., DE UZEDA, M., FONSECA, M. E. (1996). A scanning electron microscopic evaluation of in vitro dentinal tubules penetration by selected anaerobic bacteria. *J Endod.* 22:308-310.
147. CHAVEZ DE PAZ, L. E., BERGENHOLTZ, G., SVENSATER, G. (2010). The effects of antimicrobials on endodontic biofilm bacteria. *J Endod.* 36:70-77.
148. ABDULLAH, M., NG, Y. L., GULABIVALA, K., MOLES, D. R., SPRATT, D.A. (2005). Susceptibilities of two *Enterococcus faecalis* phenotypes to root canal medications. *J Endod.* 31:30-36.
149. Hope, C. K., GARTON, S. G., WANQ, Q., BURNSIDE, G., FARRELLY, P.J. (2010). A direct comparison between extracted tooth and filter-membrane biofilm models of endodontic irrigation using *Enterococcus faecalis*. *Arch Microbiol.* 192:775-781.
150. SIQUEIRA, J. F. Jr., ROCAS, I.N., FAVIERI, A., LIMA, K. C. (2000). 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.* 26:331-334.
151. DEL CARPIO-PEROCHENA, A. E., BRAMANTE, C. M., DUARTE, M. A., ve ark. (2011). Biofilm dissolution and cleaning ability of different irrigant solutions on intraorally infected dentin. *J Endod.* 37:1134-1138.
152. RETAMOZO, B., SHABAHANG, S., JOHNSON, N., APRECIO, R.M., TORABINEJAD, M. (2010). Minimum contact time and concentration of sodium hypochlorite required to eliminate *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 36:520-523.
153. HAAPASALO, H. K., SIREN, E. K., WALTIMO, T. M., ORSTAVIK, D., HAAPASALO, M. P. (2000). Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. *Int Endod J.* 33:126-131.
154. PETERS, L. B., WESSELINK, P. R., BUIJS, J.F., VAN WINKELHOFF, A. J. (2001). Viable bacteria in root dentinal tubules of teeth with apical periodontitis. *J Endod.* 27:76-81.

155. PATTI, J. M., ALLEN, B. L., MCGAVIN, M. J., HOOK, M.(1994). MSCRAMM-mediated adherence of microorganisms to host tissues. *Annu Rev Microbiol.* 48:585-617.
156. NALLAPAREDDY, S.R., QIN, X., WEINSTOCK, G.M., HOOK, M., MURRAY, B. E. (2000). 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.
157. BHUVA, B., PATEL, S., WILSON, R., ve ark. (2010). The effectiveness of passive ultrasonic irrigation on intraradicular Enterococcus faecalis biofilms in extracted single-rooted human teeth. *Int Endod J.* 43:241-250.
158. SIQUEIRA, J. F. Jr., ROCAS, I. N. (2009). Community as the unit of pathogenicity: an emerging concept as to the microbial pathogenesis of apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 107:870-878.
159. DIVITO, E., PETERS, O. A., OLIVI, G. (2012). 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.* 27:273-280.
160. PETERS, O. A., BARDSLEY, S., FONG, J., PANDHER, G., DIVITO, E. (2011). Disinfection of root canals with photon-initiated photoacoustic streaming. *J Endod.* 37:1008-1012.
161. MATSUOKA, E., JAYAWARDENA, J. A., MATSUMOTO, K. (2005). Morphological study of the Er,Cr:YSGG laser for root canal preparation in mandibular incisors with curved root canals. *Photomed Laser Surg.* 23:480-484.
162. MATSUMOTO, H., YOSHIMIBE, Y. AKAMINE, A.(2011). Visualization of irrigant flow and cavitation induced by Er:YAG laser within a root canal model. *J Endod.* 37:839-843.

163. MACEDO, R. G., WESSELINK, P. R., ZACCHEO, F., FANALI, D., VAN DER SLUIS, L. W. (2010). Reaction rate of NaOCl in contact with bovine dentine: effect of activation, exposure time, concentration and pH. *Int Endod J.* 43:1108-1115.
164. SCHOOP, U., KLUGER, W., MORITZ, A., ve ark. (2004). Bactericidal effect of different laser systems in the deep layers of dentin. *Lasers Surg Med.* 35:111-116.
165. ODOR, T. M., CHANDLER, N. P., WATSON, T. F., FORD, T. R., MCDONALD, F. (1999). Laser light transmission in teeth: a study of the patterns in different species. *Int Endod J.* 32:296-302.
166. DOS SANTOS ANTONIO, M. P., MOURA-NETTO, C., CAMARGO, S. E., ve ark. (2011). Bactericidal effects of two parameters of Er:YAG laser intracanal irradiation: ex-vivo study. *Lasers Med Sci.*
167. DOSTALOVA, T., JELINKOVA, H., HOUSOVA, D., ve ark. (2002). Endodontic treatment with application of Er:YAG laser waveguide radiation disinfection. *J Clin Laser Med Surg.* 20:135-139.
168. PICCOLOMINI, R., D'ARCANGELO, C., D'ERCOLE, S., ve ark. (2002). Bacteriologic evaluation of the effect of Nd:YAG laser irradiation in experimental infected root canals. *J Endod.* 28:276-278.
169. FOLWACZNY, M., MEHL, A., JORDAN, C., HICKEL, R. (2002). Antibacterial effects of pulsed Nd:YAG laser radiation at different energy settings in root canals. *J Endod.* 28:24-29.
170. MORITZ, A., JAKOLITHSCH, S., GOHARKHAY, K., ve ark. (2000). Morphologic changes correlating to different sensitivities of Escherichia coli and enterococcus faecalis to Nd:YAG laser irradiation through dentin. *Lasers Surg Med.* 26:250-261.
171. BERGMANS, L., MOISIADIS, P., TEUGHEL, W., ve ark. (2006). Bactericidal effect of Nd:YAG laser irradiation on some endodontic pathogens ex vivo. *Int Endod J.* 39:547-557.

172. FRANZEN, R., GUTKNECHT, N., FALKEN, S., HEUSSEN, N., MEISTER, J. (2011). Bactericidal effect of a Nd:YAG laser on *Enterococcus faecalis* at pulse durations of 15 and 25 ms in dentine depths of 500 and 1,000 μm . *Lasers Med Sci.* 26:95-101.
173. WANG, Q. Q., ZHANG, C. F., YIN, X. Z. (2007). Evaluation of the bactericidal effect of Er,Cr:YSGG, and Nd:YAG lasers in experimentally infected root canals. *J Endod.* 33:830-832.
174. MEIRE, M. A., DE PRIJCK, K., COENYE, T., NELIS, H. J., DE MOOR, R. J. (2009). Effectiveness of different laser systems to kill *Enterococcus faecalis* in aqueous suspension and in an infected tooth model. *Int Endod J.* 42:351-359.
175. MORITZ, A., SCHOOP, U., GOHARKHAY, K., ve ark. (1999). 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.* 17:161-164.
176. PERIN, F. M., FRANCA, S. C., SILVA-SOUSA, Y. T., ve ark. (2004). Evaluation of the antimicrobial effect of Er:YAG laser irradiation versus 1% sodium hypochlorite irrigation for root canal disinfection. *Aust Endod J.* 30:20-22.
177. Chow, T. W. (1983). Mechanical effectiveness of root canal irrigation. *J Endod.* 9:475-479.
178. ALBRECHT, L. J., BAUMGARTNER, J. C., MARSHALL, J. G. (2004). Evaluation of apical debris removal using various sizes and tapers of ProFile GT files. *J Endod.* 30:425-428.
179. USMAN, N., BAUMGARTNER, J. C., MARSHALL, J. G. (2004). Influence of instrument size on root canal debridement. *J Endod.* 30:110-112.
180. VIANNA, M. E., GOMES, B.P., BERBER, V. B., ve ark. (2004). In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 97:79-84.

181. GULABIVALA, K., PATEL, B., EVANS, G., NG, Y. L. (2005). Effects of mechanical and chemical procedures on root canal surfaces. *Endodontic Topics*. 10: 103-122.
182. SHABAHANG, S., POURESMAIL, M., TORABINEJAD, M. (2003). In vitro antimicrobial efficacy of MTAD and sodium hypochlorite. *J Endod*. 29:450-452.
183. GOMES, B.P., FERRAZ, C.C., VIANNA, M. E., ve ark. (2001). In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J*. 34:424-428.
184. DUNAVANT, T.R., REGAN, J.D., GLICKMAN, G. N., SOLOMON, E.S., HONEYMAN, A.L. (2006). Comparative evaluation of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilms. *J Endod*. 32:527-531.
185. OLIVEIRA, D. P., BARBIZAM, J. V., TROPE, M., TEIXEIRA, F. B. (2007). In vitro antibacterial efficacy of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 103:702-706.
186. CLEGG, M. S., VERTUCCI, F. J., WALKER, C., BELANGER, M., BRITTO, L.R. (2006). The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentin biofilms in vitro. *J Endod*. 32:434-437.