T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PEDODONTİ ANABİLİMDALI

# FOTODİNAMİK ANTİMİKROBİYAL TEDAVİNİN, KOMPOMER RESTORASYONLARIN SÜT DİŞİ DENTİN DOKUSUNA BAĞLANMA KUVVETİNE VE MİKROSIZINTISINA ETKİSİNİN İNCELENMESİ

DOKTORA TEZİ

Hazırlayan
Süheyla GÖKYAR

Danışman
Doç. Dr. Gül TOSUN

KONYA-2012

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PEDODONTİ ANABİLİMDALI

# FOTODİNAMİK ANTİMİKROBİYAL TEDAVİNİN, KOMPOMER RESTORASYONLARIN SÜT DİŞİ DENTİN DOKUSUNA BAĞLANMA KUVVETİNE VE MİKROSIZINTISINA ETKİSİNİN İNCELENMESİ

DOKTORA TEZİ

Hazırlayan
Süheyla GÖKYAR

Danışman
Doç. Dr. Gül TOSUN

KONYA-2012

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 11102017 nolu proje ile desteklenmiştir.

# ÖNSÖZ

Tezimin hazırlanması sırasında bana yol gösteren ve desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Doç. Dr. Gül TOSUN'a, Mikrobiyoloji konusunda yardımlarını esirgemeyen sayın Doç. Dr. H. Hüseyin HADİMLİ'ye, istatistiksel analizlerin yapılmasında ve yorumlanmasında yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Bora ÖZTÜRK'e, doktora eğitimim süresince bilgilerinden faydalandığım, S.Ü. Diş hekimliği Fakültesi Pedodonti anabilim dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Yağmur ŞENER ve Yrd. Doç. Dr. Murat Selim BOTSALI'ya, tez izleme komitesinde yer alan değerli hocam Prof. Dr. Nilgün ÖZTÜRK'e, doktora tez çalışmam sırasında değerli yardımlarını gördüğüm Pedodonti bölümündeki sayın asistan arkadaşlarıma ve çalışanlarına, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen sevgili eşime ve biricik aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.

**İÇİNDEKİLER**


Sayfa

KISALTMALAR v

1. GİRİŞ 1

1. 1. Diş Çürüğü 1

1. 1. 1. Çürük Teorileri 1

1. 1. 2. Çürük Etiyolojisi 2

1. 1. 3. Mikroflora ve Diş Çürüğünün Bakteriyolojisi 6

1. 1. 4. Mine Çürüğü 12

1. 1. 5. Dentin Çürüğü 14

1. 2. Fotodinamik Terapi 16

1. 2. 1. Tarihçe 16

1. 2. 2. Fotodinamik Tedavinin Etki Mekanizması 18

1. 2. 3. Fotosensitizör Maddeler 22

1. 2. 4. Fotodinamik Tedavide Işık 26

1. 2. 5. Fotodinamik Tedavide Oksijen 28

1. 2. 6. Fotodinamik Tedavinin Kullanım Alanları 28

1. 3. Çürük ve Fotodinamik Tedavi 29

2. GEREÇ-YÖNTEM 33

2.1. Gereç 33

2.1.1. Kullanılan Fotosensitizörler ve Işık Kaynakları 33

2.2. Yöntem 35

2.2.1. Fotosensitizörlerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelemesi 35

2.2.2. Fotosensitizörlerin Mikrogerilme Bağlanma Dayanımı Üzerine Etkisi 44

2.2.3. Fotosensitizörlerin kompomerin mikrosızıntısı üzerindeki etkisine ait bulgular 49

2.2.4. Sem analizi 52

2.3. İstatistiksel değerlendirme 52

3. BULGULAR 53

3.1. Fotosensitizörlerin antimikrobiyal aktivitelerine ait bulgular 53

3.2. Fotosensitizörlerin kompomerin mikrogerilme bağlanma dayanımına etkisine ait bulgular 55

3.3. Kırılma tipi analizine ait bulgular 57

3.4. FS'lerin kompomer dolgu materyalinin mikrosızıntısı üzerine etkisine ait bulgular 58
3.5. SEM Analizine Ait Görüntüler 65
3.5.1. Kontrol Grubuna Ait SEM Görüntüleri 65
3.5.2. TB Uygulanan Gruba Ait SEM Görüntüleri 67
3.5.3. RB Uygulanan Gruba Ait SEM Görüntüleri 69
3.5.4. HYP Uygulanan Gruba Ait SEM Görüntüleri 71
4. TARTIŞMA 70
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 90
6. ÖZET 92
7. SUMMARY 94
8. KAYNAKLAR 95
9. ÖZGEÇMİŞ 107

## KISALTMALAR

**cfu:** Colony forming unit

**FDT:** Clearfil Photo Posterior

**FS:** fotosensitizörün

**HYP:** Hypericin

**RB:** Rose bengal

**SEM:** Scanning electron microscopy, taramalı elektron mikroskobu

**TB:** Toluidine Blue

# 1.GİRİŞ

Diş çürüğü, etiyolojisinde birçok faktörün rol oynadığı, mineralize diş dokusunun enfeksiyöz bir hastalığıdır. Plak bakterilerinin diyetle alınan karbonhidratları fermente etmesi sonucu oluşan organik asitlerin diş yapısındaki mineralleri çözmesiyle oluşmaktadır (Mc Donald ve Avery 1994, Yalçın Çakır ve ark 2010). Fusayama ve Terachıma (1972) yaptıkları histolojik çalışma sonucu koronal çürük dentini yapısal olarak iç ve dış tabakadan oluşan iki farklı bölüme ayırmışlardır. Dış tabaka çürük atağına en uzun süre maruz kalan ve geri dönüşümü olmayan demineralize dentinden oluşur. Bu yumuşak, enfekte dentinden oluşan dış çürük tabakası, kavite preparasyonu sırasında uzaklaştırılmalıdır. İç tabaka ise çürük atağına uğramış ve uygun koşullarda kendini tamir edebilecek dentinden oluşur (Banerjee ve ark 2000). Ancak lezyonun en derin kısmında yer alan ve dentinin minimal etkilendiği bu bölgede, bakterilerin inaktif olarak kalabileceği tartışma konusudur (Kidd 2004). Ayrıca bu iki bölgenin klinik olarak ayrımı oldukça zor olabilmektedir (Banerjee ve ark 2000, Neves ve ark 2011) . Tedavi sırasında bu iki tabakanın birlikte kaldırılması nedeniyle pulpa perforasyonuyla sonuçlanan durumlar ortaya çıkabilmektedir (Banerjee ve ark 2000). Bu nedenle mikroorganizmaların eliminasyonu için çürüğün mekanik yöntemlerle kaldırılması, uygun bir yaklaşım olmamaktadır (Özel ve ark 2005). Bu gibi durumların önüne geçmek amacıyla antibakteriyel etkili restoratif materyallerin, dentin bağlayıcı sistemlerin, etching preparatlarının ve kavite dezenfektanlarının kullanımı gündeme gelmiştir. Ayrıca bu amaca yönelik geliştirilen ve geniş bir antimikrobiyal etkisi bulunan fotodinamik tedavinin (FDT) bakteriler üzerindeki öldürücü etkisinden yararlanmak için kullanılması uygun bir yaklaşım olabilir (Lima ve ark 2009).

## 1. 1. Diş Çürüğü

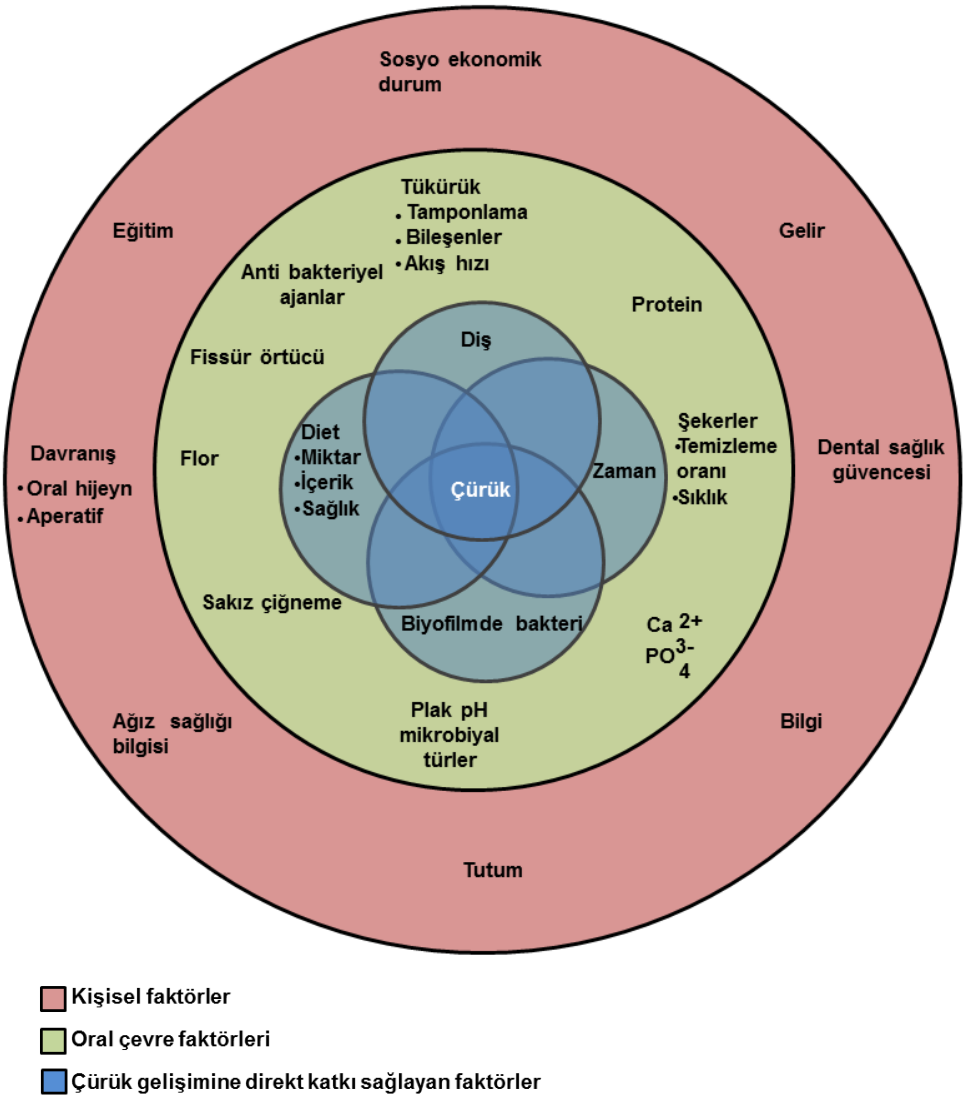
### 1. 1. 1. Çürük Teorileri

Diş çürüğünün meydana geliş mekanizması eskiden beri pek çok araştırıcının ilgisini çekmiş ve bu konuda Magitot, Miller, Fargin-Fayolle, Bereta, Gottlieb, Pincus gibi araştırıcılar değişik fikir ve teoriler ileri sürmüşlerdir. Bu teorilerden bazıları; vital, kimyasal, parazitik ve septik, proteolitik, proteoliz-şelasyon ve şimiko-paraziter teorilerdir. En çok kabul gören ve 1882 yılında Miller WD. tarafından açıklanan şimiko-paraziter teori, günümüzde plak mikrobiyolojisi ve biyokimyası

ilave edilerek bu teorinin savunucuları tarafından modernize edilmiştir. Bu teoriye göre diş çürüğü iki ayrı aşamada meydana gelen şimiko-paraziter bir hastalıktır. Birinci aşamada besinlerden asit üretme gücündeki mikroorganizmaların faaliyeti ile doku dekalsifiye olmakta, ikinci aşamada ise albüminli maddeleri parçalama gücündeki oral mikroorganizmalarının faaliyeti ile yumuşayan kalıntılar parçalanmaktadır (Koray 1981, Touger-Decker ve Loveren 2003).

### 1. 1. 2. Çürük Etiyolojisi

Diş çürüğü, etiyolojisinde pek çok etkenin rol oynadığı multifaktöriyel bir hastalıktır (Pinkham ve ark 2009). Çürük gelişimine katkı sağlayan risk faktörleri şemada gösterildiği gibidir (Selwitz ve ark 2007).




**Şekil 1.1.** Çürüğün oluşumuna ait venn diyagramı (Selwitz ve ark 2007)

**Konağa (Diş ve Tükrük) Ait Özellikler:**

**a. Dişe Ait Özellikler:**

Dişlerin morfolojisi bakteri plağının oluşumu, tükürüğün dişleri temizleyebilmesi ve ağız hijyeninin etkin olabilmesi açısından büyük önem taşır (Koray 1981).

Pit ve fissür çürükleri, bütün diş çürükleri içinde en yaygın görülme sıklığına sahiptir. Bu pit ve fissürler organizmalar (*S.sanguis* ve diğer streptokoklardan baskın topluluklar) için mükemmel mekanik sığınma alanları sağlar (Yalçın Çakır ve ark 2010).

Ara yüz mine bölgeleri, kontak alanlarının hemen altındaki dişeti bölgesi çürüğe yatkın ikinci alanlardır. Bu bölgeler fiziksel olarak korunmuştur ve çiğneme etkilerinden, tükürük akışından ve dil hareketlerinden nispeten uzaktadır Bu durum o bölgede çürük ve dişeti hastalıklarının meydana gelmesine zemin hazırlar. (Yalçın Çakır ve ark 2010).

Diş dizilimindeki bozukluklar çürük oluşumunu hazırlayıcı bir faktör olarak kabul edilirler. Çene kavsindeki düzensizlik, özellikle çapraşıklıklar ya da erken çekimlere bağlı olarak ortaya çıkan diş uzun aksındaki eğimler retansiyon bölgelerinin oluşmasına neden olur. Ayrıca dişlerin mikromorfolojik ve kristal yapıları da çürük oluşumunu etkileyen, dişe ait önemli yapısal özelliklerdendir (Newbrun 2000, Koray 1981).

**b. Tükürüğe Ait Özellikler:**

Çürüğün gelişiminde etkili en önemli faktörlerden birisi tükürüktür. Tükürük Ph' sı, tamponlama kapasitesi, akış hızı, içerdiği komponentlerin konsantrasyonu gibi çeşitli fizikokimyasal özellikleri çürük gelişiminde büyük role sahiptir (Preethi ve ark 2010).

Dilüe bir sıvı olan tükürük inorganik ve organik bileşenler oluşturmaktadır. Karbonhidratlar, proteinler ve lipitlerden oluşan organik kısım glikoproteinler, IgA, laktoperoksidaz, laktoferrin, üre, ürik asit ve kreatinin gibi tükürük bileşenlerinin yapısında olabilir (Chiappin ve ark 2007). İnorganik kısım ise majör bileşenler olarak sodyum, potasyum, magnezyum, kalsiyum, klorit, bromit, inorganik fosfat, bikarbonat ve flordan oluşmaktadır (Caranza 1990, Chiappin ve ark 2007**).**

Normal bir birey 24 saat içinde en az 500 mL tükürük üretir. Bu süre içindeki tükürük akış miktarları bireyin fizyolojik durumuna bağlı olarak farklılık gösterir. Dinlenme halinde stimüle olmayan tükürük akışı 0.3 mL/dk, uyurken 0.1 mL/dk, çiğnerken ve yemek yerken 4-5 mL/dk'ya yükselir (Keçeci ve Özdemir 2005).

Ağız sağlığı için yeterli miktarda olması gereken tükürük bazı nitelikleri ile çürük oluşumunu önler (Welbury 1997, Dodds ve ark 2005). Tükürüğün yeterli miktarda olmaması ise çürüğün hızla ilerlemesine neden olabilir. İçerdiği kalsiyum, fosfat ve flor sayesinde tükürük, çürük yüzeylerinin remineralizasyonunda önemli rol oynar (Featherstone 2000). Ayrıca başlangıç çürük lezyonunun remineralizasyonunda da önemli role sahip olan kalsiyum ve fosfat iyonları için rezervuar görevi görür (Preethi ve ark 2010).

Tükürük proteinleri bir dizi etkileyici antimikrobiyal ürün üretirler. Bu ürünlerden lizozim, laktoperoksidaz, laktoferrin ve IgA antibakteriyel aktiviteye sahiptir. Bu proteinlerin antibakteriyel özelliğinden dolayı tükürük yokluğu oral dokularda ülserasyonlara, enfeksiyona ve diş çürüklerine neden olmaktadır (Amerongen ve ark 2004, Roberson ve ark 2010).

**Lizozim:** Birçok organizma için öldürücü olan lizozim bakterilerin hücre duvarına yapışarak bakteri lizisine neden olur. Diş yüzeyinde plak formasyonunu baskılar. Böylece çürük ile lizozim arasında negatif bir korelasyon ortaya çıkar (Amerongen ve ark 2004, Roberson ve ark 2010).

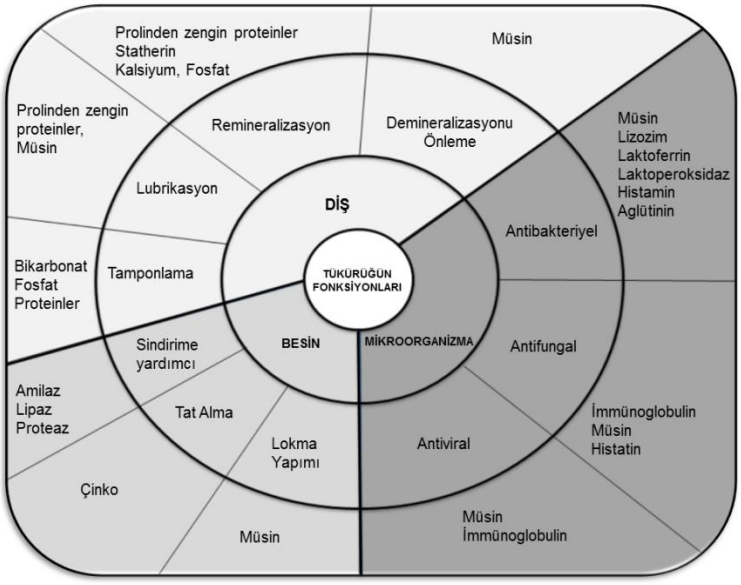
**Laktoperoksidaz:** Hidrojen peroksit oksidasyonunu katalize eder ve aktif olarak hidroksiapatite yapışır. Birçok mikroorganizma için öldürücüdür. Diş yüzeyinde plak formasyonunu baskılar (Amerongen ve ark 2004, Roberson ve ark 2010).

**Laktoferrin:** Serbest demiri bağlama kapasitesine sahip olduğundan bakterisidal etkisi vardır. Demire bağımlı mikroorganizmaların çoğalmasını inhibe eder (Amerongen ve ark 2004, Roberson ve ark 2010).

**IgA:** Tükürükte bulunan salgısal IgA, bakteri ve virüslere karşı etkilidir. Bakteri hücresinin salgısal IgA ile sarılması bakteri enzimlerini inhibe eder. Bakterilerin tükrükteki sayılarını azaltıp çoğalmalarını yavaşlatır (Featherstone 2000, Amerongen ve ark 2004, Roberson ve ark 2010).

Tükürük sekresyonuyla alınan yiyecekler içerisindeki şekerin dilüe olması sağlanır ve yiyecekleri mikroorganizmaların fermantasyonu için kullanılabilir hale getirir. Ancak bununla birlikte yutkunmayla ağız temizliğini sağlar ve böylece mikroorganizmaların şeker kullanımını azaltır (Touger-Decker ve Loveren 2003, Kumar ve ark 2011).

Tükürük mekanik yıkama etkisiyle yiyecek artıklarının, plağa tam yapışmamış bakterilerin, şekerin ve plak bakterileri tarafından üretilen asidin ağızdan fiziksel olarak uzaklaşmasını sağlar (Welbury 1997, Featherstone 2000, Samaranayake 2002, Preethi ve ark 2010,). Buna ek olarak plak pH'sının tamponlanmasında önemli bir role sahiptir (Welbury 1997, Featherstone 2000, Samaranayake 2002). Tükürüğün genel fonksiyonları şu şekilde şematize edilebilir.




**Şekil 1.2.** Tükürüğün genel fonksiyonları (Amerongen ve ark 2004).

**Diyet (Substrat):**

Diş çürüğü oluşmasında ana etken, karyojenik mikroorganizmaların fermente olabilen karbonhidratları kullanarak asit oluşturmasıdır. Şekerden zengin diyet diş plağı içerisindeki mutans streptokokların başlangıç kolonizasyonuna yardımcı olur. Asidürik bakteriler olan mutans streptokok ve laktobasil uzun süre karbonhidratlarla karşılaştıkça çoğalırlar ve ağız ortamında pH'nın düşmesine neden olurlar. Uzun süre pH'nın düşmesi ile birlikte minede hızlı bir demineralizasyon görülür (Touger-Decker ve Loveren 2003, Roberson ve ark 2010).

Çürük etiyolojisinde önemli rol oynayan, fakat besleyici ve tatlandırıcı özellikleri nedeniyle de beslenmenin vazgeçilmez unsurlarından olan sukroz günlük yiyeceklerimiz arasında en fazla karyojenik özelliğe sahip olan şekerdir. Bu karbonhidrat plakta zarar verici iki önemli etkiye sahiptir. Birincisi; sukroz içeren besinlerin sık tüketimi, daha güçlü bir MS kolonizasyonu neden olur ve plağın çürük yapma potansiyelini arttırır. İkincisi sıkça sukroza maruz kalan olgun plak onu organik asitlere daha hızlı metabolize eder ki bu da yoğun ve uzun süre plak pH'sının düşük olmasına neden olur. Çürük aktivitesi tüketilen sukrozun miktarından çok kullanım sıklığı ile ilişkilidir (Touger-Decker ve Loveren 2003, Roberson ve ark 2010).

**Zaman:**

Çürüğün oluşumunda rol oynayan etkenlerden biri de zamandır. Çürüğün etiyolojisi içinde bulunan konak, diyet ve karyojenik mikroorganizmaların çürüğü oluşturabilmesi için bu etkenlerin yeterli bir süre etkileşim içinde bulunması gereklidir. Karyojenik gıdaların ağızda uzun süre kalması ya da sık alınması bu etkileşimin uzun süreli olmasını sağlamakta ve çürük riskini arttırmaktadır (Touger-Decker ve Loveren 2003).

### 1. 1. 3. Mikroflora ve Diş Çürüğünün Bakteriyolojisi

Oldukça kompleks olan ağız florası 500 türden fazla mikroorganizma içermektedir. (Whittaker ve ark 1996). Bu mikroorganizmalar oldukça karmaşık bir

yapıya sahip olmalarına rağmen ortam içerisindeki doğal dengeleri sayesinde herhangi bir hastalığa ya da bozukluğa neden olmazlar (Koray 1981).

Birçok mikroorganizma türü müköz membranın ve dişlerin yüzey özelliklerine bağlı olarak bu bölgelerde kolonize olabilmektedirler. Oral mukoza yüzeyinde yoğun olarak bulunan streptokoklar epitelin devamlı olarak yenilenmesiyle dökülerek uzaklaşır. Ancak böyle bir durum dişler için geçerli değildir. Mekanik ya da kimyasal bir etkene maruz kalmaksızın mikroorganizmalar bu bölgelerde çoğalabilirler (Baehni ve Takeuchi 2003, Stamatova ve ark 2009).

Dental plağa yapışarak çürük oluşumuna neden olan bakterilerin asidojenik (asit üretim kabiliyeti) olmasa da asidürik (asit ortamda varlığını sürdürme yeteneği) olması gerekir (Lingström ve ark 2000). Yapılan mikrobiyolojik incelemelerde Mutans streptokoklar, laktobasiller, ve bazı Actinomyces türlerinin çürük oluşumunda en etkili mikroorganizma grupları olduğu belirlenmiştir. Mutans streptokoklar minede çürük başlangıcından, Laktobasiller dentin çürüklerinden ve Actinomycesler ise kök çürüğü lezyonlarından sorumludur (Huang ve ark 2011).

**Streptokoklar:**

Vücudun normal florasında bulunabilen streptokoklar fırsatçı patojenlerdendir (Hardie ve Whıley 2006). Deride geçici kolonizasyon gösterebilen ancak müköz membranların kalıcı florasında yer alan streptokokların birçok türü vardır ve ölümle sonuçlanabilen ciddi infeksiyonlara neden olurlar (Aktaş ve ark 2008).

Genellikle hareketsiz olup endosporları yoktur ve gram pozitiftirler. Kanlı agarda tipik hemolitik reaksiyonları gerçekleştirirler. Aerob ve fakültatif anaerob mikroorganizmalardır (Ceyhan 2008, Samaranayake 2002, Çakır ve ark 2010).

Oral mikroorganizmalar doğumdan hemen sonra yeni doğan ağzında kolonize olmaya başlamaktadır. *S. salivarius* ,*S. mitis* ve *S. oralis* yeni doğan oral kavitesinde ilk tespit edilen ve en baskın olan mikroorganizmalardır (Law ve ark 2007)

Oral florada geniş yer tutan streptokoklar: supragingival ve gingival plaktan kültüre edilebilen bakterilerin %25'ini ve dil ve tükürükten kültüre edilebilen bakterilerin ise yarısını oluşturmaktadırlar (Aktaş ve ark 2008). *S.salivarius, S. oralis* ve *S. mitis* yumuşak dokuda kolonize olabilirken; *S. mutans* , *S. sobrinus* and *S. gordonii* sert dokuda kolonize olabilir. *S. gordonii, S. mitis* ve *S. sanguinis* gibi viridans streptokoklar dental plak formasyonunu başlatan öncü bakterilerdendir (Lemos ve ark 2005).

Oral streptokoklar geleneksel olarak basit biyokimyasal ve fizyolojik testlerle ayırt edilirken günümüzde pek çok farklı tipi hücre protein profillerinin incelenmesi, DNA yapılarının araştırılması ve glikozidaz aktivitelerinin değerlendirilmesi ile birbirinden ayırt edilebilmektedir (Beighton 2005). Oral streptokoklar dört gruba ayrılırlar: *S.mutans, S.salivarius, S.anginosus, S.mitis* (Aktaş ve ark 2008).

**Çizelge 1.1.** Oral streptokokların günümüzde kabul edilen türleri (Çakır ve ark 2010).

| **Grup** | **Türler** |
|---|---|
| mutans grubu | *S. mutans, serotip c,e,f*<br>*S. sobrinus, serotip d,g*<br>*S. cricetus, serotip a*<br>*S.rattus, serotip b*<br>*S. ferus*<br>*S. macacae*<br>*S. downei, serotip h* |
| salivarius grubu | *S. salivarius*<br>*S. vestibularis* |
| anginosus grubu | *S. constellatus*<br>*S. intermedius*<br>*S. anginosus* |
| mitis grubu | *S. sanguis*<br>*S. gordonii*<br>*S. parasanguis*<br>*S. oralis*<br>*S. mitis*<br>*S. crista* |

– ***Streptococcus mutans:***

Dental plakta mikroorganizmaların varlığı, 1683'te Leeuwenhoek tarafından mikroskop altında görüldüğünden beri bilinmektedir. 1924'te İngiliz doktor J.K. Clark bir çocuktaki çürük lezyonundan Streptococcus izole etmiştir. Bunu *Streptococcus mutans (S. mutans)* olarak adlandırmıştır (Loesche 1986, Balakrishnan ve ark 2000).

Gram pozitif, fakültatif anaerob bir bakteri olan *S. mutans* oral kavitede yaşamakta ve diş çürüğünün primer patojeni olarak bilinmektedir (Merritt ve Qi 2012). Buzlu cama benzeyen pürüzlü, kabarık ve düzensiz koloniler şeklinde ürer. Kanlı agarda beyaz, gri ya da sarı renkte 0.5–2.0 mm çapında koloniler oluştururlar (Hardie ve Whıley 2006).

Deney hayvanlarında ve insanda diş çürüğüne eşlik eden yedi tür *streptococcus* toplu olarak *'mutans streptococci'* olarak bilinir (Çizelge 1.1). Diş çürüğünün başlıca etkeni olarak kabul gören bu grup içerisinde *S. mutans* and *S.sobrinus* insanda en yaygın olarak bulunan iki türdür (Balakrishnan ve ark 2000). Birçok immünolojik ve epidemiyolojik çalışmada *mutans streptococci* çürükle ilişkilendirilmiştir (Hamada ve Slade 1980, Balakrishnan ve ark 2000). *Mutans streptococci* ağırlıklı olarak plak içerisinde bulunur. Anterior dişlerden daha çok molar diş üzerinde özellikle fissürlerde kolonize olmaktadır. (Balakrishnan ve ark 2000). Düz diş yüzeylerine tutunabilen *S. mutans*'ın karyojenik plak formasyonunda rol aldığı ileri sürülmektedir (Hamada ve Slade 1980).

Çürük florasında, neredeyse tamamen *S. mutans* varlığı söz konusudur. *S. mutans*'ın çürük lezyonunun ilerlemesinde olduğu kadar başlangıcında da etkili olduğu gösterilmiştir (Poureslami ve Van Amorengen 2009).Yapılan çalışmalarda *S. mutans*'ın oral kavitede çok zayıf kolonize olabilme yeteneği olduğu ve kolonizasyon için dişlerin sağladığı gibi sert, desquamatif olmayan bir yüzey gerektirdikleri ileri sürülmüştür (Caufıeld ve ark 1993). Çocukların plak florasında gerek biberon çürüklerinde, gerekse aktif çürüklerde son derece baskın olan *S. mutans*'ın dişlerin sürmesi ve böylece retansiyon bölgelerinin oluşması ile ağızdaki

yerini aldığı ortaya atılmıştır (Van Houte 1994). Ancak daha sonra yapılan çalışmalarda bu organizmanın mukozal yüzeylerde koloniler oluşturarak ya da tükürük içerisinde serbest yaşayarak çocuklarda diş sürmesinden önce ağız içerisindeki varlığı tespit edilmiştir. *S. mutans*'ın erken kolonizasyonu ise erken çocukluk çağı çürüğü kadar ileriki dönemlerdeki diş çürükleri içinde önemli bir risk faktörü oluşturmaktadır (Berkowitz 2003).

Bu mikroorganizmaların en önemli virulans özelliği ekstrasellüler polisakkarit (EPS) yapabilmesidir (Hamada ve Slade 1980, Banas ve Vickerman 2003, Beighton 2005). *S. mutans* sükrozdan suda çözünen ve çözünmeyen ekstrasellüler polisakkaritler (glukan ve levan) oluşturarak bakteriyel plağın bir arada tutulmasını sağlar (Banas ve Vickerman 2003). Aynı zamanda ortamda karbonhidratların mevcut olmadığı durumlarda intrasellüler polisakkarit oluşturarak bunları enerji kaynağı olarak kullanır ve asit oluşumuna sebep olurlar. Asidojenik ve asidürik olan *S. mutans* fermente olabilen karbonhidratlardan çok hızlı bir biçimde asit oluşturabilir. Bu özellikler *S. mutans*'ın çürük oluşturma potansiyellerinin yüksek olduğunun bir kanıtıdır (Marsh 2003).

**Laktobasiller:**

Gram pozitif, fakültatif anaerob, spor oluşturmayan çubuk şeklinde bakterilerdir. Oral mikrofloranın %1'inden az kısmını oluşturan laktobasiller, genellikle ağız boşluğundan izole edilirler (Piwat ve ark 2012, Çakır ve ark 2010). Vajina ve bağırsak florasında da bulunabildikleri gibi laktik asit bakterilerinin bulunduğu ticari ürünlerdende elde edilebilirler (Sutula ve ark 2012).Asidofilik ve asidojeniktirler (Piwat ve ark 2012, Çakır ve ark 2010). İnsan oral kavitesi dahil olmak üzere düşük pH'a sahip çeşitli ekosistemlerde yaşayabilmektedirler. Çoğu Laktobasil homofermentatiftir. Yani fermentasyonları sonucunda metabolik son ürün olarak laktik asit oluştururlar (Piwat ve ark 2012). Heterofermentatif olanlar ise yarısı laktik asit olmak üzere değişik miktarda asetik asit ve etil alkol oluştururlar (Newbrun 2000).

Laktobasiller sağlıklı ağızda bulunmakla birlikte çürüklü ağızda ise tükürükte, dilin dorsumunda, vestibüler mukozada ve sert damakta yüksek miktarda;

diş yüzeyinde ise az miktarda bulunurlar (Straetemansl ve ark 1998, Ahumada ve ark 2003). Görülme sıklığı çürük lezyon sayısına ve retansiyon yerine bağlı olarak artış gösterir. Örneğin besinlerin tutunması için retansiyon bölgelerinin bulunmadığı dişsiz ağızlarda laktobasil sayısı çok az veya hiç yoktur. Ancak erişkin bireye protez uygulandıktan sonra ya da çocukta dişler sürdükten sonra laktobasil sayısı artış gösterir (Koray 1981). Çürüğün başlamasından çok hastalığın ilerlemesinde büyük bir role sahip olduğuna inanılmaktadır (Balakrishnan ve ark 2000, Çakır ve ark 2010). Fırsatçı bir mikroorganizma olup tek başına çürük etkeni değildir (Çakır ve ark 2010).

Piwat ve arkadaşlarının (2012) laktobasil suşları üzerinde yaptığı çalışmada *L. rhamnosus , L. salivarius, L. casei/paracasei ve L. plantarum'*un değişik miktarlarda kuvvetli asitler oluşturduğu tespit edilmiştir. Oluşturdukları bu asitlerinde çürük oluşumunda büyük role sahip olduğu düşünülmektedir (Piwat ve ark 2012).

– ***Lactobacillus casei:***

*Lactobacillus casei* konveks ve yuvarlak şekilli, 2-5 mm çapında, pürüzsüz, parlak görünümlüdür (Wen ve ark 2010, Sutula ve ark 2012). Süte önemli bir tad veren bu mikroorganizma süt ve süt ürünlerinde bulunmaktadır (Martínez-Cuesta ve ark 2001). Karyojenik plaktan sıklıkla izole edilen bu bakteri karbonhidratları fermente ederek yüksek miktarda asit üretebilme yeteneğine sahiptir (Wen ve ark 2010, Huang ve ark 2011). Lactobacill üzerinde yapılan çalışmalarda *L. casei*'nin çocuklarda diğer türlere göre daha baskın olduğu tespit edilmiştir (Badet ve Thebaud 2008).

**Actinomycesler:**

Actinomycesler gram pozitif, hareketsiz, filamentöz bakterilerdir (Smith ve ark 2005, Çakır ve ark 2010). Actinomycesi insan oral kavitesinde ilk tespit eden Bergey (1907) olmuştur.

Actinomycesler abseleşme, fistülleşme ve doku fibrozisi ile karakterize kronik, ilerleyici bir enfeksiyon hastalığı olan aktinomikoza neden olmaktadır. Orafarinks, gastrointestinal ve kadın genital mikroflorasında bulunan actinomycesin insanda enfeksiyon yapan en yaygın türü *Actinomyces israeli'dir*. Ayrıca servikofasiyal, torasik, abdominal ve pelvik yerleşimli enfeksiyonlar da oluşturabilir (Smith ve ark 2005).

Oral mukozal membran, mikrobiyal dental plak, diştaşı, nekrotik pulpa, dişeti oluğunda tespit edilen (Sakallıoğlu ve ark 2003) Actinomyces türleri dental plak formasyonunu başlatan öncü bakterilerdendir (Lemos ve ark 2005). Supragingival plaktaki baskın bakteriler arasında olan Actinomyces türleri bu bölgedeki çürük oluşma riskini artırmaktadır (Takahashi 2005). *Actinomyces naeslundii* temiz bir diş yüzeyine kolonize olan ilk bakteriler arasındadır (Rosan ve Lamont 2000). *A. Gerensceriae* ve diğer Actinomyces türlerinin başlangıç çürük lezyonundan sorumlu olduğu bilinmektedir (Beighton 2005).

### 1. 1. 4. Mine Çürüğü

Düz mine yüzeyinde çürüğün en erken görülebilen belirtisi saydamlığın kaybolması sonucu oluşan opak, tebeşirimsi beyaz leke (white spot)'dir (Roberson ve ark 2010). Yüzey altı minenin demineralizasyonu ile artan pörözite nedeniyle mine dış yüzeyinde minerallerin birikmesi bu lezyonun karakteristik özelliğidir (Kidd ve Fejerskov 2004).

Başlangıç çürüğü olarak da adlandırılan bu lezyonlar sıklıkla kole bölgesinde gözlenir. Ayrıca pit ve fissürler gibi çürüğe daha yatkın bölgelerde ve dişlerin düz yüzeylerinde de oluşabilir. Lezyonun yüzeyel yapısı sağlıklı mineden daha pörözlü olmasına rağmen sond lezyon üzerinde gezdirildiğinde sağlam, sıkı, kesintisiz bir yüzey hissi elde edilir (Uzer Çelik ve ark 2011). Sondla muayenede minenin yumuşak olması çürüğün dentine ilerlediğinin göstergesidir (Koray 1981, Kudiyirickal ve Ivancaková 2008).

Histolojik olarak incelendiğinde, başlangıç çürük lezyonunda dört tabaka tespit edilmiştir. Bu tabakalar dıştan içe doğru aşağıdaki gibi sıralanmıştır (Newbrun 2000, Roberson ve ark 2010):

**1-Yüzeyel tabaka:** Yüzeyel tabaka çürük ataklarından nispeten etkilenmemiştir. Lezyon gövdesinden daha düşük pöröz hacmine (<%5) ve etkilenmemiş komşu mineye yakın radyoopasiteye sahiptir. Mine yüzeyi tükürükle ilişkisinden dolayı hipermineralizedir ve florür iyonu konsantrasyonu alttaki komşu mineden daha fazladır (Roberson ve ark 2010, Kudiyirickal ve Ivancaková 2008). Mikroradyografilerde radyoopak görülen bu tabaka altındaki radyolusent alanlardan keskin sınırlarla ayrılır (Newbrun 2000).

**2-Lezyon gövdesi:** Mine çürüğünün en geniş kısmını oluşturan bu tabaka sağlam mineyle karşılaştırıldığında %24 oranında mineral kaybı gösterir. Mikroradyografide radyolusent görülür. Retzius çizgileri belirgindir ve genişlemiştir (Newbrun 2000). Periferde %5'ten merkezde %25'e kadar değişiklik gösteren en geniş pöröz hacmine sahiptir. Pöröz boyutu girişe izin verecek ölçüde genişse bu bölgede bakteriler bulunabilir (Roberson ve ark 2010).

**3-Karanlık tabaka:** Bu tabaka polarize ışığı geçirmediği için karanlık tabaka olarak bilinir. Bu ışık blokajı kinolini absorbe edemeyecek kadar küçük, çok miktarda pörözün varlığı nedeniyle meydana gelir. Bu daha küçük hava veya buhar dolu pörözler bölgeyi opak gösterir. Toplam gözenek hacmi %2-4 arasındadır (Roberson ve ark 2010). Kalınlığı değişken olan bu tabakada mineral kaybı ortalama % 6'dır. (Newbrun 2000). Karanlık tabakanın boyutlarında artış olduğunda lezyon gövdesinde de artış olur (Roberson ve ark 2010).

**4-Saydam tabaka:** En derin tabakadır ve mine lezyonunun ilerlemişliğini tanımlar. Çürük süreci boyunca hidrojen iyonu penetrasyonu kolaylıkla olduğundan bu tabakada mine prizmaları sınırları boyunca gözenek ya da boşluklar oluşur. Mine çürüğünün saydam tabakasının pöröz hacmi % 1'dir ki bu oran normal mineden 10 kat fazladır. Lezyonların yaklaşık yarısında tespit edilir (Newbrun 2000, Roberson ve ark 2010).

### 1. 1. 5. Dentin Çürüğü

Çürüğün dentinde ilerlemesi dentinin yapısal farklılıkları nedeniyle minedekinden farklıdır. Mine dentin sınırı çürük ataklarına karşı en az dirence sahip olan bölgedir ve çürük dentine penetre olduğunda hızlı lateral yayılmaya izin verir. Daha az mineralize içeriğinden ve asit ataklarına karşı çok daha az direnç gösterdiğinden dolayı dentinde çürük mineden daha hızlı ilerler (Koray 1981, Roberson ve ark 2010).

Çürüğün mine-dentin birleşimine ulaşması ile dentinde ilk demineralizasyon çürükten etkilenen mine rodlarının en derin bölgesinde oluşur. Lezyon dentinde ilerledikçe dentin tübüllerinin yönünü takip eder. Oluşan lezyon, tabanı mine-dentin birleşiminde, tepesi pulpada olan koni şeklindedir. Çürükten etkilenen bu dentin dokusu, kahverengiden koyu kahverengiye hatta siyaha kadar değişen farklı derecelerde renklenme gösterir **(**Whiley ve Beighton 1998**).**

Dentin çürüğünde 6 ayrı bölge tanımlanmıştır. Bu bölgeler arasındaki farklılıklar yavaş ilerleyen lezyonlarda hızlı ilerleyenlere oranla daha belirgindir (Koray 1981). Bu tabakalar dıştan içe doğru aşağıdaki gibi sıralanmıştır.

**1-Yumuşama bölgesi:** Dentin çürüğünün en dış tabakası dentinin tümüyle yıkılmış olduğu yumuşama bölgesidir. Bu bölgede asit ortam nedeniyle dentinin inorganik yapısı yani hidroksiapatit kristalleri yıkılmıştır. Mikroorganizmaların proteolitik enzimlerinin etkisiyle kollajen lifler ve mukopolisakkaritlerden oluşan organik yapı da parçalanmıştır. Histolojik incelemelerde, dentin tübüllerinde ve intertübüler dentin bölgesinde bol miktarda mikroorganizma ve ileri derecede demineralize olmuş dentin dokusu görülür. Sonuç olarak bu bölgede dentin yapısı tamamen bozulmuştur (Koray 1981, Roberson ve ark 2010).

**2-Bakteriden zengin bölge:** Bakteriler tarafından işgal edilen dentin kanallarının harabiyeti ve genişlemesiyle karakterizedir. İntertübüler dentin bölgesinde demineralizasyonun yanı sıra kollajen lifçikler ufak parçalara bölünmüştür. Yalnız bu bölgede hipermineralize yapıdaki tubulus duvarı yapısı bozulmadan kalmıştır (Koray 1981, Roberson ve ark 2010).

**3-Bakteriden fakir bölge:** Bu tabakada dentinin organik yapısı belirgin bir yıkıma uğramamıştır. Demineralizasyon oranı azalan bu tabakada derine doğru bakteriler azalır (Koray 1981).

**4-Demineralizasyon bölgesi (bulanık bölge):** Bu bölgede çoğunlukla hiç bakteri bulunmaz. Bu kısımlarda dentin kanalcığı içindeki odontoblast hücresinin uzantısı ya da tübüller içindeki mukopolisakkaritler ve çeşitli organik maddeler depolimerize olmuşlardır. Bu nedenle histolojik preparatlarda bu bölge bulanık olarak görülür (Koray 1981).

**5-Saydam (transparan, skleroze) dentin bölgesi:** Lezyonun en derin bölgesidir. Bu tabakada dentin tübülleri içine kristallerin çökeldiği, yığıldığı ve tübüllerin tıkandığı izlenilmektedir. Dentinde intertübüler alanın yanı sıra intratubuler alanda da kalsiyum tuzu kristallerinin bulunması ile dentin kalsifikasyon açısından homojen olur. Bu durumda ışığı her bölümünde aynı kırdığından saydam özellik kazanır. Bu nedenle bu tabakaya saydam dentin tabakası denir (Koray 1981, Newbrun 2000).

**6-Sekonder dentin bölgesi:** Bu tabaka çürük, atrizyon, kavite preparasyonu, restorasyonların çevresindeki mikrosızıntı ve travma nedeniyle oluşabilir (Berkovitz ve ark 2002). Bu bölgede dentin kanalları düzensiz ve sayıca çok daha azdır. Bu kanalların içini dolduran odontoblast hücrelerinin uzantıları dejenere olmuştur. Yer yer atipik kristal çökelmeler ve protoplazmik uzantılarda yağlanmalar görülür (Koray 1981).

Dentin çürüğünün histolojik olarak 6 ayrı bölgede incelendiği bu sınıflandırmanın yanı sıra Kato ve Fusayama (1970), köpeklerde yapay olarak dekalsifiye edilmiş yumuşak dentinde iki ayrı tabaka tanımlamışlardır. Araştırmacılar yüksek derecede dekalsifiye olan dış tabakanın nekrotik olduğunu ve yeniden kalsifiye olamayacağını, bunun altındaki orta derecede dekalsifiye olan iç tabakanın ise canlı olduğunu ve yeniden kalsifiye olabileceğini bildirmişlerdir (Kato ve Fusayama 1970). Newbrun (2000), dentin çürüğünün iç tabakasının demineralizasyon sonucu kısmen yumuşamış olmasına ve bir miktar bakteri

içerebilmesine rağmen, remineralizasyon potansiyeli olduğunu ve bu nedenle korunması gerektiğini belirtmiştir.

İnsan dişlerindeki doğal çürük üzerinde çalışan Fusayama ve Terachima (1972) ise bu iki tabakanın varlığını tespit etmiş ve % 0,5'lik bazik fuksin-propilen glikol solüsyonu ile boyanarak belirgin bir şekilde ayırt edilebileceğini belirtmişlerdir. Ancak klinik şartlarda enfekte olmuş dentini belirlemek için renk değişimini ve sertliği saptamak oldukça zordur. Bu nedenle derin lezyonlar için bu klinik kanıtların eksikliği pulpanın ekspoz olma riski ile sonuçlanabilir (Roberson ve ark 2010).

Bu bağlamda dişin canlılığını korumak ve uzun ömürlü olmasını sağlamak amacıyla remineralizasyon potansiyeli olan dentin tabakasının bırakıldığı durumlarda kaviteye antibakteriyel etkili materyallerin uygulanması residüel çürük oluşumunu da önlemeye yardımcı olacaktır (Özer ve ark 2003, Imazato ve ark 2006).

Bu alanında kullanılan antibakteriyel etkili restoratif materyallerin, dentin bağlayıcı sistemlerin, etching preparatlarının ve kavite dezenfektanlarının yanı sıra antimikrobiyal etkisinden yararlanmak amacıyla günümüzde geliştirilmeye çalışılan FDT'de ümit verici bir geleceğe sahiptir.

## 1. 2. Fotodinamik Tedavi

### 1. 2. 1. Tarihçe

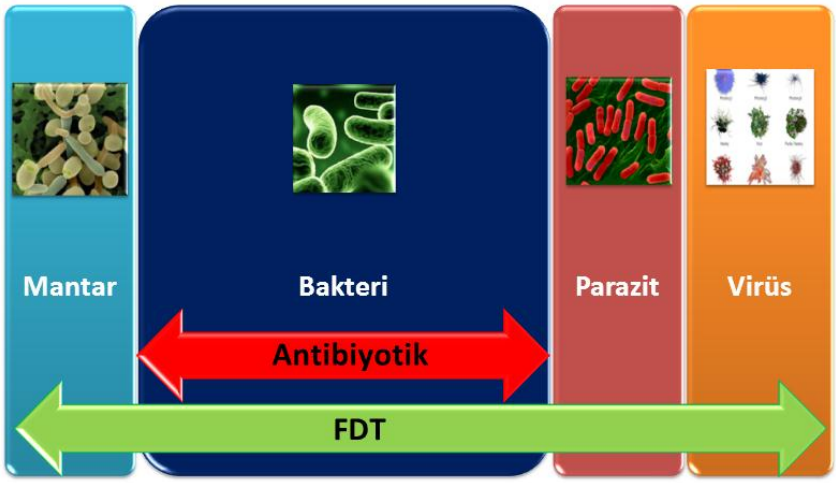
Yüzyıllardır güneş ışığının sağlık üzerindeki etkisi bilinmektedir (Jurczyszyn ve ark 2007). M.Ö. 6. yy.'da Herodotus güneş ışığının kemik gelişimi üzerindeki etkisi üzerinde dururken, Hippocrates (M.Ö. 460-370) güneş ışığının kronik hastalıklar üzerinde iyileştirici etkisi olduğunu savunmuştur.

Modern fototerapinin temelleri 19.yy'ın başında atılmıştır. Oskar Raab tezinde akridin ve eosin gibi bazı kimyasal bileşiklerin ışık altında toksik etki oluşturduğunu kanıtlamıştır (Jurczyszyn ve ark 2007). Tesadüfen akridinin Paramecia üzerine gün ışığı altında lethal etki oluşturduğunu ancak karanlıkta bu

etkiyi göstermediğini gözlemlemiştir (Allison 2004). Niels Ryberg Finsen, bu alanda yapmış olduğu çalışmasıyla 1903 yılında Nobel Ödülü almıştır. Finsen bu çalışmada ark lambasından elde ettiği ışığı kullanarak deri tüberkülozu (lupus vulgaris)'nu tedavi etmeyi başarmıştır (Finsen 1901). Daha sonra ise Jodlbaner ve Von Tappeiner ışığın duyarlılaştırıcı bir ajan ve oksijen ile kombinasyonunun hücreleri hasara uğratması durumunu 'fotodinamik etki' olarak isimlendirmişlerdir (Jodlbaner ve Von Tappeiner 1904).

Meyer-Betz'in 1913 yılında fareler üzerinde yaptığı çalışmada hematoporfirin türevlerinin tümör tedavisinde kullanılabileceğini bildirmiştir. Modern fotodinamik tedavi (FDT), 1960'da Lipson ve Schwartz'ın hematoporfirin derivesini neoplastik lezyona uygulaması ile başlamıştır (Sibata ve ark 2000). Daha sonra bu tedavi şekli dermatoloji, oftalmoloji, gastroenteroloji, kardiyoloji alanlarında birçok klinik çalışmada kullanılmıştır (Konapka ve Goslinski 2007).

Geçen yüzyılın ortalarında antibiyotiklerin keşfedilmesiyle birlikte antimikrobiyal fotodinamik tedavi önemini kaybetmiştir. Ancak lokalize enfeksiyonlarda sistemik bir tedavinin gerekli olmaması ve antibiyotiklere karşı mikroorganizmaların geliştirmiş olduğu "direnç" sorunu FDT'yi yeniden gündeme getirmiştir (Wainwright ve Crossley 2004, Maisch 2007).



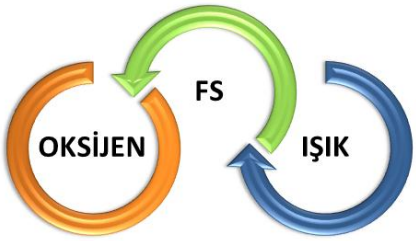

**Şekil 1.3.** FDT'nin Antibiyotiğe karşı avantajının şematik olarak gösterimi (Dai ve ark 2009).

Bakteriler, virüslar, protozoonlar ve mantarlar gibi birçok mikroorganizma üzerine etkili olan bu yaklaşım özellikle lokalize ve yüzeyel enfeksiyonlarda oldukça etkilidir (Dai ve ark 2009). Bu nedenle "Fotodinamik Antimikrobiyal Terapi" olarak da isimlendirilen (Lima ve ark 2009) FDT günümüzde özellikle mukozal ve endodontik enfeksiyonlar, periodontal hastalıklar, çürük ve periimlantitis gibi oral kavite içerisindeki enfeksiyonlar için potansiyel bir tedavi yaklaşımıdır (Konapka ve Goslinski 2007).

### 1. 2. 2. Fotodinamik Tedavinin Etki Mekanizması

FDT, fotosensitizör (FS) bir ajan varlığında, uygun dalga boyunda ve dozunda bir ışık uygulamasıyla reaktif oksijen türleri oluşturularak hedef hücrelerin canlılığının son bulması olarak tanımlanmaktadır (Konapka ve Goslinski 2007).

Fotodinamik tedavinin temel prensibi, bir seri mekanizma ile meydana gelen "öldürme etkisidir". Fotodinamik tedavi FS, ışık ve oksijen olmak üzere 3 komponent içermektedir (Şekil 1.3) (Hayata ve ark 1982, Konapka ve Goslinski 2007).




**Şekil 1.4.** FDT'nin üç temel unsuru.

FS'ler görünür ışığı absorbe ederek electron transferine neden olan veya ışık enerjisini çevresine aktarabilen ışığa duyarlı ajanlardır. Oksijen varlığında mikroorganizmalar için toksik olan oksidatif reaksiyonlara neden olurlar (Wainwright ve Crossley 2004).

Uygun dalga boyunda ve dozunda ışık etkisi ile fotosensitizör varlığında meydana gelen bir dizi fotokimyasal reaksiyon sonucu ortaya çıkan toksik ürünler, oksidatif hasar yolu ile hedef hücre ölümünü gerçekleştirmektedir (Meisel ve Kocher 2005, Konapka ve Goslinski 2007).

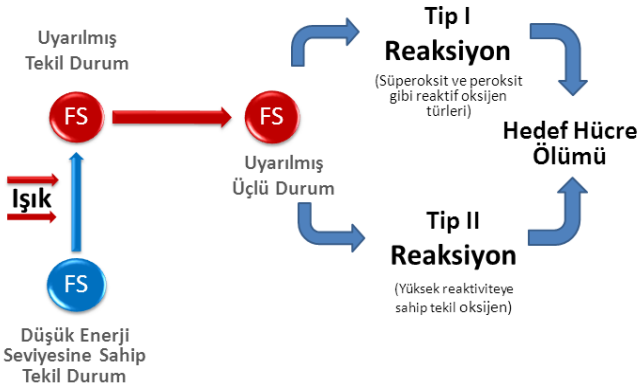
Fotosensitizasyon reaksiyonlarının ilk basamağı ışık kaynağından gelen foton enerjsinin FS tarafından absorbe edilmesidir (Şekil 1.4). FS'ler, en düşük enerji seviyesinde stabil bir elektronik konfigürasyona sahiptirler. Hedef bölgede ışığa duyarlı ilaç ışık enerjisine maruz bırakıldığında bir takım enerji dağılımlarının ardından enerji seviyesini yükseltir (Konopka ve Goslinski 2007, Maisch 2007).




**Şekil 1.5.** FDT'nin etki mekanizması. FS hedef dokuya uygulanır (1) ve daha sonra uygun dalga boyundaki ışığı absorbe eden (2) FS uyarılmış duruma geçer (3). Bundan sonraki aşamada FS ışıktan aldığı enerjiyi moleküler oksijene transfer ederek (4) yüksek reaktiviteye sahip tekil oksijen ve serbest radikallerin meydana gelmesini sağlar. (5) Bu da hedef hücre ölümü ile sonuçlanır (6) (Soukos ve Goodson 2000).

Uygun dalga boyundaki ışığı absorbe eden FS düşük enerji seviyesine sahip olan tekil durumundan uyarılmış tekil duruma geçer. Daha sonra FS uyarılmış tekil durumdan ışığın emisyonu sonucu tekil duruma dönebilir ya da yüksek enerji seviyesine sahip uyarılmış üçlü durumuna geçer. Uyarılmış üçlü durum yüksek reaktiviteye sahip tekil oksijen ve diğer serbest radikalleri oluşturarak hedef dokuda hızlı ve selektif bir yıkıma neden olur. Fotosensitizörün uyarılmış üçlü durumun

biyomoleküller ile etkileşiminde iki mekanizma meydana gelmektedir (Konopka ve Goslinski 2007).




**Şekil 1.6.** PDT'de Tip I ve Tip II reaksiyonları (Raghavendra ve ark 2009).

Tip I reaksiyonda, FS'den doğrudan elektron/hidrojen transferi, iyonların oluşumu, redoks reaksiyonları veya substrat molekülden elektron/hidrojen ayrılması ile serbest radikaller oluşur. Bu radikallerin oksijen ile hızlı bir şekilde tepkimeye girmesi sonucunda süperoksit, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türleri oluşur (Konopka ve Goslinski 2007).

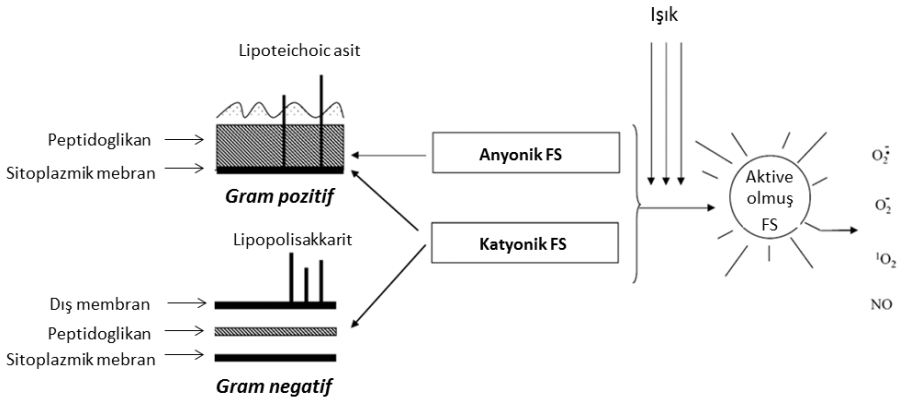
Tip II reaksiyonda, FS uyarılmış üçlü formunun enerjisini moleküler oksijene aktarması sonucu elektronik olarak uyarılmakta ve oksijenin yüksek reaktif formu olarak bilinen tekil oksijen oluşmaktadır. FDT'de bu iki mekanizmanın ayrımı oldukça zordur. Ancak bilinmesi gereken iki mekanizmanın da oluşturduğu zararın oksijene ve FS'ün konsantrasyonuna bağlı olduğudur (Konopka ve Goslinski 2007).

Fotooksidatif mikrobiyal hücre hasarına yol açan ana mekanizmanın tip II reaksiyonlar olduğu kabul edilmektedir (Redmond ve Gamblin 1999). Fotodinamik etki ise esas olarak oksijene bağlı olan tip II fotoreaksiyonları tanımlamaktadır (Konopka ve Goslinski 2007, Wainwright 1998).

FDT'ye duyarlılık bakterilerin hücre duvar yapılarına bağlı olarak değişiklik gösterir (Jori 2002, Nagata ve ark 2011). Gram pozitif bakterilerin sitoplazmik membranındaki peptidoglikan ve lipoteiotik olan porları sayesinde FS'ün hücre

içerisindeki duyarlı bölgelere nüfuzu gerçekleşir. Gram negatif bakterilerin dış membranı ise hücre ve dış çevresi arasında fiziksel ve fonksiyonel bir bariyer görevi görür (Konapka ve Goslinski 2007) (Şekil 1.4).

Katyonik fotosensitizörler ile hem gram pozitif hem gram negatif bakterilerde fotodinamik inaktivasyon sağlanabilmektedir (Hamblin ve ark 2002, Nagata ve ark 2011). Gram negatif bakterilerde dış membrandaki lipopolisakkarit tabakasından kaynaklanan güçlü negatif yük, nötral veya anyonik fotosensitizörlerin gram negatif bakteri hücresine girmesini engeller (O'Riordan ve ark 2005, Maisch ve ark 2009). Nötral veya anyonik fotosensitizörler ise sadece gram pozitif bakterilere etkili olmaktadır (O'Riordan ve ark 2005, Maisch ve ark 2009, Nagata ve ark 2011).




**Şekil 1.7.** Gram pozitif ve Gram negatif bakteri üzerine uygulanan FDT'nin şematik gösterimi (O'Riordan ve ark 2005).

Bakterilerde FDT hücre içi organelleri ve biyomolekülleri fotohasar yoluyla etkileyerek sitotoksik etki meydana getirir. Mitokondri, lizozom, sitoplazmik membran ve nükleik asit FDT için potansiyel hedeflerdir (Konapka ve Goslinski 2007).

FDT'nin oluşturduğu hücresel hasar ile ilgili olarak iki mekanizma ileri sürülmektedir. Birincisi DNA hasarı, ikincisi ise hücresel içeriğin dışarı çıkmasına neden olan sitoplazmik membran hasarı ya da hücre zarı geçirgenliğinin ve enzimlerin inaktivasyonudur (Hamblin ve Hasan 2004).

Antibiyotikler bakteriler üzerine selektif toksisite gösterirler. Bir antibiyotiğin bir bakteri üzerine bakterisid veya bakteriyostatik olabilen selektif toksisite gösterebilmesi için bakteride bu antibiyotiğin bağlanabileceği bir hedef olmalıdır. Bakteride bulunan bu hedef spontan mutasyonlarla değişebilir veya bakteri antibiyotiği etkisizleştirecek çeşitli enzim ve mekanızmaları başka bakterilerden gen aktarılması ile kazanabilir. Böylece belirli bir antibiyotiğe duyarlı bulunan bir bakterinin bazı suşları zamanla bu antibiyotiğe dirençli hale gelebilir (Kaygusuz 2000). FDT sonucunda ortaya çıkan tekil oksijen ve serbest radikaller ise bir çok hücre yapısını etkiler ve etkinliğini değişik metabolik yollar izleyerek gösterir. Bu nedenle mikrobiyal hücreler FDT'ye direnç geliştiremez (Konapka ve Goslinski 2007).

FDT'nin antibiyotiklere bir diğer üstünlüğü de proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasına yol açmamasıdır. FDT ile hücre membranında meydana gelen hasarın lipid peroksidasyonu ve protein hasarı yolu ile olduğu gözlenmiştir (Hamblin ve Hasan 2004). Ancak antibiyotikler proinflamatuvar sitokinlerin hücrelerden salınmasına yol açarak doku hasarı ile sonuçlanan bir seri patolojik olayın gelişmesine neden olmaktadır (Foster ve Medzhitov 2009).

### 1. 2. 3. Fotosensitizör Maddeler

FDT' nin üç komponentinden biri olan fotosensitizörler ışığı absorbe ederek hücre için toksik etki oluştururlar. FS olarak çeşitli doğal ve sentetik maddelerden oluşan binlerce fotoaktif bileşik bilinmektedir. (Konopka ve Goslinski 2007). FS'ler fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak çeşitli özellikler taşımalıdır. İdeal bir FS non-toksik olmalı, lokal bir toksisite göstermeli ve sadece ışık altında aktive olmalıdır (Konopka ve Goslinski 2007).

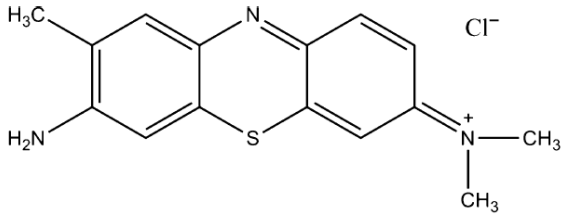
Mikrobiyal enfeksiyonların tedavisinde kullanılacak potansiyel fotosensitizör ajanlar;

- Etkisini seçici olarak hedef dokuda göstermeli,
- Enfeksiyon etkeni olan mikrobiyal hücreleri öldürürken, enfeksiyon alanındaki konak dokularında minimal hasara yol açmalı ve bu bölgeden hızlı bir şekilde elimine olmalı,

- ❖ Yüksek miktarda uzun ömürlü triplet form ve sitotoksik tekil oksijen oluşturma özelliklerine sahip olmalı,
- ❖ Maliyeti düşük olmalı ve ticari olarak elde edilebilir olmalı,
- ❖ Su içerisinde yüksek çözünürlüğe sahip olmalı,
- ❖ Uzun süreli saklanabilmelidir (DeRosa ve Crutchley 2002, Konopka ve Goslinski 2007).

**Toluidine Blue**

Toluidine blue antimikrobiyal alanda uzun yıllardır kullanılan temel bir ilaçtır (Vahabi ve ark 2011). Mavi renkli, katyonik bir boyadır (Wainwright 1998). Toluidine blue metisiline dirençli Staphylococcus aureus da dâhil olmak üzere geniş bir bakteri öldürme yeteneğine sahiptir (Wainwright 1998). Kimyasal yapısı Sekil 1.5'de görülmekte olan Toluidine blue, 630 nm dalga boyu aralığındaki ışık altında tekil oksijen üreterek etkisini gösterir (Vahabi ve ark 2011).




**Şekil 1.8.** Toluidine Blue'nun kimyasal yapısı (Wainwright ve ark 1997).

Cerrahi tanı amacıyla kullanılabilen toluidine blue, yüksek konsantrasyonlarda herhangi bir toksisiteye neden olmaz (Iwersen-Bergmann ve Schmoldt 2000). Ağız enfeksiyonlarının tedavisinde toluidine blue topikal olarak uygulanabilir. Topikal uygulamada toluidine blue'nun epitelin tüm tabakalarına penetre olduğu ancak bağ dokusuna önemsenmeyecek miktarlarda penetre olduğu gösterilmiştir (Kömerik ve ark 2002).

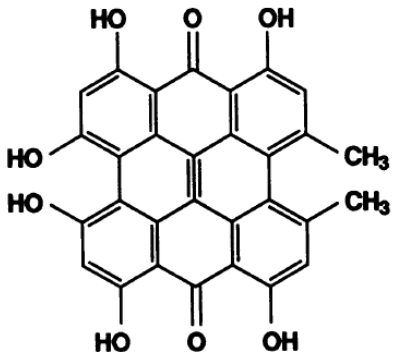
Mikroorganizmalar üzerine etkisini hızlı bir şekilde göstermekte olan toluidine blue'nun diğer FS'lere göre maliyeti daha düşüktür (Lin ve ark 2010).

Dentin örnekleri kullanılarak yapılan bir çalışmada toluidine blue'nun *L. casei* ve *S. mutans* üzerine öldürücü etkisi olduğu bulunmuştur (Giusti ve ark 2008).

**Hypericin**

Hypericum türü bitkilerden doğal olarak elde edilen hypericinin doğada bulunan en güçlü FS ajan olduğu düşünülmektedir. Yapılan araştırmalar sonucunda hipericin, 36 Hypericum türünün 27'sinde bulunmuştur ve bu nedenle bu bitki cinsinin hipericin için önemli bir sekonder metabolit olduğu düşünülmektedir (Kitanov 2001).

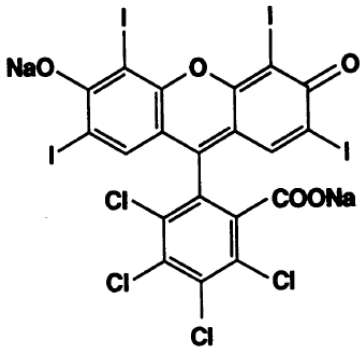
Bu ilaç günümüzde tıp alanında hafif depresyona karşı kullanılan en popüler ilaçlar arasındadır (Lüthi ve ark 2009). Kanser tedavilerinde de uzun yıllardır başarıyla kullanılan bir materyaldir. (Agostinis ve ark 2002). Birçok çalışmada bu materyalin çeşitli gram pozitif bakteri üzerine etkili olduğu bulunmuştur (Avato ve ark 2004). Lüthi ve arkadaşlarının (2009) yaptığı bir çalışmada da S. mutans ve S. sobrinus üzerinde antibakteriyel etkinliği olduğu tespit edilmiştir. Ancak diş dokuları ile ilgili günümüzde yapılan herhangi bir çalışma henüz bulunmamaktadır. Maksimum dalga boyu aralığı 460 nm olan Hypericinin kimyasal yapısı Şekil 1.6'da görülmektedir (Lenard 1993).




**Şekil 1.9.** Hypericin'nin kimyasal yapısı (Lenard 1993).

**Rose Bengal**

Rose bengal oksijenin yüksek reaktif formu olarak bilinen tekil oksijen oluşturabilmektedir (DeRosa ve Crutchley 2002). Oftalmoloji dalında göz hastalıklarının tanısında (Rossoni ve ark 2009) ve karaciğer fonksiyonlarının teşhisinde güvenli bir şekilde kullanılan bu FS'ün kimyasal yapısı şekil 1.7 de görülmektedir (Wachter ve ark 2003). Aktive olduğu dalga boyu aralığı 450-500 nm olup diş hekimliğinde restoratif materyallerin polimerizasyonunda kullanılan ışık kaynaklarının dalga boyu aralığı ile benzerlik göstermektedir (Paulinoa ve ark 2005).




**Şekil 1.10.** Rose Bengal'in kimyasal yapısı (Lenard 1993).

Rose bengal'in yapısında yüksek oranda halojen bulunması ve bu halojenlerinde yüksek molekül ağırlığına sahip olması diğer halojenli türevlerine göre bu FS'ün daha etkili olmasını sağlar. Bunun nedeni halojen miktarının artması ve FS'ün ağırlıkça daha yüksek halojenleri içermesi hedef dokuda hızlı ve selektif bir yıkıma neden olan yüksek reaktiviteye sahip tekil oksijen ve diğer serbest radikalleri oluşturacak olan uyarılmış üçlü durumun oluşmasını kolaylaştırır (DeRosa ve Crutchley 2002).

Piyasada bulunan fotosensitizör ajanların aksine RB'in çok az yan etkisi bulunmaktadır. Örneğin Rose bengal ışığa karşı uzun süren duyarlılık artışına neden olmamaktadır (Wachter ve ark 2003).

Paulinoa ve arkadaşlarının (2005) yapmış olduğu bir çalışmada bu materyalin S. mutans üzerinde % 100 öldürücü etkisi olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca Costa ve arkadaşları (2010) tarafından S. mutans üzerinde yapılan başka bir çalışmada da Rose bengal'in erythrosine'den daha etkili olduğu bulunmuştur.

### 1. 2. 4. Fotodinamik Tedavide Işık

FDT'de fotobiyolojik reaksiyonun gerçekleşebilmesi için FS'ün absorbsiyon spektrumu ile uygunluk gösteren, FS'ü etkinleştirebilen düşük güçte görünür ışık kaynağı gerekir (Konapka ve Goslinski 2007). Günümüzde kullanılan FS'ler 630-660 dalga boyu arasında kırmızı ışıkla aktive olur (Kömerik 2002).

FDT'de standart ışık kaynağı olarak kullanılan lazerler, yüksek enerji sağlayabilmeleri, monokromatik ışık üretebilmeleri ve fiber optikler vasıtası ile istenilen bölgeye ulaşım kolaylığı nedeniyle sıradan ışığa üstünlük sağlarlar. Işık kaynağı olarak daha önceleri komplike boya lazer sistemleri kullanılmaktaydı ancak son yıllarda taşınabilir, çok daha ucuz ve kullanımı son derece kolay olan diyot lazerler geliştirilmiştir. Ayrıca lazer olmayan ışık kaynakları da kullanıma girmiştir (Kömerik 2003).

Kullanılan ışığın dalga boyu ile FS'ün aktivasyon doruğunun birbiriyle uyumlu olması gerekmektedir (Brancaleon ve Moseley 2002). Bu anlamda geniş bir dalga boyu aralığına sahip LED ve filtreli lambaların bu alanda kullanımı çok sayıda FS'ün aktivasyonuna olanak sağlayacaktır (Wilson ve Patterson 2008).

FDT'de lazer kaynakları dışında klinik ortamda çeşitli yüksek enerjili filtreli lambalar kullanılmaktadır (Brancaleon ve Moseley 2002). Geniş bölgelerin tedavisinde tungsten filament, quartz halogen, xenon arc ve fosfor-kaplı sodyum lambaları gibi ışık kaynakları kullanılmaktadır (Konapka ve Goslinski 2007). Bu ışık kaynakları ucuz olmakla birlikte genel bakımı da daha kolaydır. Lazerler ile karşılaştırıldığında filtreli lambalar çok daha geniş dalga boyu aralığına sahiptirler. Çeşitli filtreler ile kombine edilerek spesifik dalga boyunda ışık yaymaktadırlar. Ancak bu durum ışık gücünde azalmaya neden olmaktadır. Bu nedenle de kullanımı

deri lezyonlarında sınırlı, endoskopik FDT uygulamalarında ise endike değildir (Brancaleon ve Moseley 2002).

Diş hekimliğinde rutin olarak kullanılan LED'ler ve halojen ışık kaynakları aynı zamanda FS'ün aktivasyonunda kullanılacak temel ışık kaynaklarını oluşturmaktadır (Nagata ve ark 2011).

Halogen ışık kaynakları diş hekimliğinde uzun yıllardır fissür sealant, bonding ajan, rezin siman ve kompozit rezinlerin polimerizasyonu için kullanılmıştır. Bu materyalleri polimerize etmek için kullanılan ışığın dalga boyunun 400-500nm civarında olması yeterlidir (Munksgaard ve ark 2000). Bu dalga boyunda aktive olan Rose bengal Paulinoa ve arkadaşları tarafından halogen ışık kaynağı kullanılarak FDT'nin etkinliği kanıtlanmıştır (Paulinoa ve ark 2005).

Son yıllarda LED'lerin geliştirilmesiyle birlikte bu ışık kaynakları FDT'de kullanılmaya başlanmıştır. Klinik ortamda çeşitli avantajları bulunan LED'ler ulaşılması zor anatomik bölgelerde (örneğin baş ve yüz bölgelerinde) kullanım kolaylığı sağlamaktadır (Brancaleon ve Moseley 2002). Bu ışık kaynakları daha ucuz ve daha küçük olmakla birlikte daha hafif ve kullanımı da kolaydır (Konapka ve Goslinski 2007). Dalga boyu aralığı 350 nm ile 1100 nm arasında değişmektedir (Brancaleon ve Moseley 2002). Lima ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada FS'ün LED cihazı kullanılarak aktive edilmesiyle dentin çürüğündeki mikroorganizmalar elimine edilmiştir ( Lima ve ark. 2009).

FDT'de ışığın doku içinde ulaşabildiği derinlik (penetrasyon), kullanılan ışığın dalga boyuna bağlıdır ve ışığın dalga boyunun artmasıyla dokulara penetrasyonu da artar. Bugün FDT'de çoğunlukla kırmızı ışık kullanılmakla birlikte bu ışığın yoğunluğu doku içerisinde azalarak 1 cm'ye kadar penetre olabilmektedir. Yakın kızılötesi ışık (700- 850 nm) kullanıldığında ise doku penetrasyonu yaklaşık olarak iki katına çıkar. Bu amaçla bu dalga boyunda aktive olabilen yeni FS'lerin geliştirilme çalışmaları devam etmektedir (Kömerik 2002).

### 1. 2. 5. Fotodinamik Tedavide Oksijen

FDT'nin gerçekleşebilmesi için oksijen varlığı gereklidir ve mikroorganizmaların inaktivasyonu hücrelerdeki biyomoleküllerin foto-oksidasyonu ile meydana gelir (Moan ve ark 1979).

Fotosensitizörün triplet formunun biyomoleküller ile etkileşiminden sonra meydana gelen tip I reaksiyonda, fotosensitizörden doğrudan elektron/hidrojen transferi, iyonların oluşumu, redoks reaksiyonları veya substrat molekülden elektron/hidrojen ayrılması ile hidroksil radikalleri, süperoksit ve peroksit anyonları gibi reaktif oksijen türlerinin oluşması ile sonuçlanır. Tip II reaksiyonda ise elektronik olarak uyarılmış ve oksijenin yüksek reaktif formu olarak bilinen tekil oksijen oluşmaktadır. Bu iki reaksiyonun hedef dokuda oluşturduğu zarar hem oksijenin enerji seviyesine hem de FS'in konsantrasyonuna bağlıdır (Konapka ve Goslinski 2007).

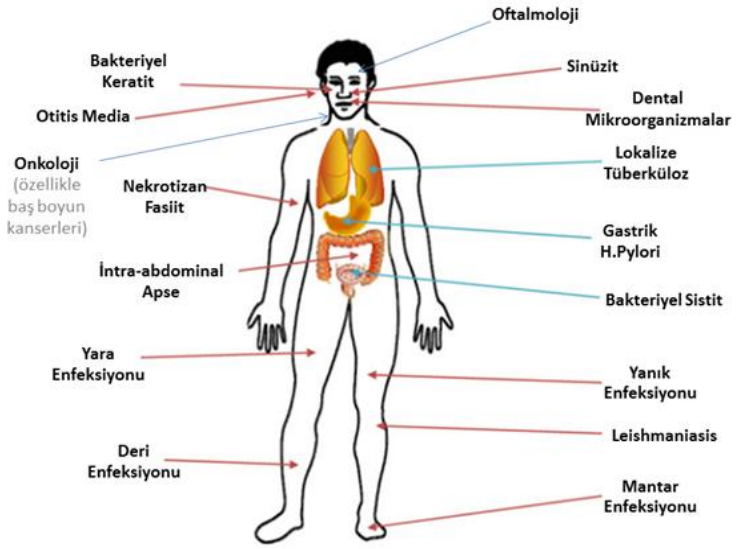
Tip II reaksiyonda rol oynayan primer toksik ürün tekil oksijendir (Aveline 2001). Tekil oksijen virüsler, mantarlar, protozoalar ve bakteriler üzerine etkili olarak mikrobiyal hücre ölümüne neden olmaktadır (Meisel ve Kocher 2005). Ayrıca superokit, dismutaz and katalaz gibi anti-oksidan enzimler bazı oksijen radikallerine karşı hücreyi koruyabilirken tekil oksijene karşı koruyamazlar (Konopka ve Goslinski 2007).

### 1. 2. 6. Fotodinamik Tedavinin Kullanım Alanları

Günümüzde esas olarak kanser olgularında kullanılan FDT, ayrıca dermatoloji, oftalmoloji, gastroenteroloji, kardiyoloji alanlarının yanı sıra antimikrobiyal etkisi nedeniyle de kan ürünlerinin dekontaminasyonu, yanık ve yara enfeksiyonları, oral kandidiyazis, Helicobacter pylori enfeksiyonları gibi çeşitli enfeksiyonların tedavisinde deneysel veya rutin olarak kullanılmaktadır (Dai ve ark 2009).

Antibiyotiklere karşı direncin gelişmesiyle birlikte alternatif bir tedavi yöntemi olarak geliştirilen FDT, özellikle yüzeysel ve lokalize enfeksiyonlarda

oldukça etkili bir yaklaşım olarak görülmektedir. Bu özelliği nedeniyle oral mukozal lezyonlar, periodontal hastalıklar, endodontik enfeksiyonlar, çürük ve periimplantitis gibi oral kavite içerisindeki enfeksiyonlar FDT'nin uygulanabileceği temel alanlar arasında gösterilmektedir (Konapka ve Goslinski 2007).




**Şekil 1.11.** FDT'nin kullanım alanları (Dai ve ark 2009).

### 1. 3. Çürük ve Fotodinamik Tedavi

Ağız boşluğu kompleks, nispeten özel ve yüksek oranda mikro-organizmalarla ilişkili, gram pozitif ve gram negatif bakteriler, mantar, mikoplazma, protozoa ve virüsleri içermektedir (Konapka ve Goslinski 2007).

Biyofilm diş yüzeyine yapışarak belirli bir yapısal bütünlük içerisinde toplu halde yaşayan ve birbirleriyle haberleşerek varlıklarının devamı için gerekli işlevlerin yerine getirilmesini sağlayan, ekstrasellüler matrikste bulunan mikroorganizmaların oluşturduğu karmaşık bir organizasyondur. Ekstrasellüler moleküllere direkt etkide bulunan FS antimikrobiyal etkisini yüksek kimyasal reaktiviteye sahip tekil oksijen aracılığı ile gösterir. FS'ün plağın ekstrasellüler matriksindeki polisakkaritler üzerine de etkili olması antibiyotiklerle karşılaştırıldığında FDT'nin avantajları arasında yer almaktadır. Bu sayede biyofilmi parçalayarak plazmid değişimini inhibe eden FDT'ye karşı antibiyotiklere karşı

geliştirilen direnç gelişmemiş olur (Konapka ve Goslinski 2007). Bilindiği gibi antibiyotikler, mikroorganizmaların belirli bölgelerinde hasara yol açmak suretiyle etkilerini gösterirler. Buna karşılık FDT oksidatif hasar yolu ile hücrenin birden çok bölgesinde yıkıma neden olur. Bu nedenle hasara uğrayan tüm bölgelerin FDT'ye direnç kazanması oldukça düşük bir olasılıktır (Hamblin ve Hasan 2004).

Diş hekimliğinde plaktaki mikroorganizmaları hedef alan FDT koruyucu yöntem olarak ve çürük kavitesindeki bakterileri elimine ederek noninvaziv bir yöntem olarak kullanılabilir (Soukos ve Goodson 2000, Konapka ve Goslinski 2007). Kısa süren ışıkla aktivasyon işleminden sonra hızlı bir bakteri ölümü gerçekleştiren FDT'de reaktif oksijen türlerinin yarılanma ömrü kısa ve difüzyon mesafesi kısıtlıdır. Ayrıca ışınlama alanı da sınırlıdır. Bu da FDT'nin belli bir bölgede uygulanabilmesine olanak sağlamaktadır (Soukos ve Goodson 2000). Böylece çevredeki sağlıklı dokuya zarar vermeden enfekte dokuya etkili bir şekilde uygulanabilmektedir (Konan ve ark 2002).

Oral mikroorganizmalar üzerinde yapılan birçok çalışma bulunmaktadır (Çizelge 1.2). Lima ve arkadaşları tarafından (2009) *in situ* olarak oluşturulan dentin çürüğüne uygulanan toluidine blue'nun mikroorganizmalar üzerine etkili olduğu bulunmuş ve FDT'nin restorasyondan önce dentin çürüğündeki mikroorganizmaları elimine etmek için kullanılabilecek yararlı bir yaklaşım olacağı sonucuna varılmıştır. Yine başka bir çalışmada *L. acidophilus* ve *S. mutans* üzerine uygulanan photogem, hematoporphyrin ve toluidine blue LED ışık kaynağı ile aktive edilmiş ve toluidine blue'nun bu üç materyal arasında en etkili FS olduğu bulunmuştur (Giusti ve ark 2008). Hypericin ve Foslipos (FOS) *S. mutans* and *S. sobrinus* üzerine uygulanmıştır. Yapılan bu çalışmada FS'leri aktive etmek için diş hekimliğinde polimerizasyon için kullanılan halojen ışık kaynağı kullanılmış ve etkili sonuçlar elde edilmiştir (Lüthi ve ark 2009). Ancak yapılan arştırmalar arasında süt dişleri üzerine uygulanan herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu alanda uygulanabilecek en etkili yöntemin bulunabilmesi için araştırmaların devam etmesi gerekmektedir.

**Çizelge 1.2.** Oral mikroorganizmalar üzerinde FDT ile yapılan bazı çalışmalar.

| Çalışma | Fotosensitizör | Işık kaynağı (nm) | Mikroorganizma |
|---|---|---|---|
| Burns ve ark (1993) | Toluidine blue | helium/neon (HeNe) laser 632.8 | *S. mutans, L. casei S. sobrinus, A. Viscosus* |
| O'Neill ve ark (2002) | Toluidine blue | HeNe laser 632 | Multi-species biofilms |
| Paulinoa ve ark (2005) | Rose bengal | QTH 400–500 | *S. mutans* |
| Zanin ve ark (2005) | Toluidine blue | HeNe laser 632.8 LED 638.8 | *S. mutans* |
| Wood ve ark (2006) | erythrosine methylene blue photofrin | QTH 500-650 | *S. mutans* |
| Giusti ve ark (2008) | Photogem, Toluidine blue, hematoporphyrin | LED 630 | *S. mutans, L. acidophilus* |
| Lüthi ve ark (2009) | Hypericin, FOS | QTH 400–505 | *S. mutans, S. sobrinus* |
| Lima ve ark (2009) | TB | LED 638.8 | *M. streptococci, lactobacil* |
| Costa ve ark (2010) | Rose bengal | LED 440-460 | *S. mutans* |

Derin çürüklerde dentinin minimal etkilendiği bölgede, bakterilerin inaktif olarak kalabileceği tartışma konusudur (Kidd 2004). Bu bağlamda FDT'nin bakteriler üzerindeki öldürücü etkisinden yararlanmak için kullanılması uygun bir yaklaşım olabilir (Lima ve ark 2009).

Derin çürüklü dişlerin tedavisi hasta için daha az travmatik, hekim için ise daha hızlı olacaktır. Bu tedavi yaklaşımı ile fazla madde kaybı olmayacağından daha güçlü bir diş yapısı sağlanacaktır (Wilson 2004).

Özellikle çocuk hastada koltukta oturma süresinin sınırlı olması, çocuğun kooperasyonunda karşılaşılan güçlükler açılan kavitelerde rezidüel mikroorganizma kalmasına sebep olabilmektedir. Dolayısı ile bu durumun önlenmesi için, restorasyon öncesinde kaviteye antibakteriyel etkili olan FS'lerin uygulanması doğru bir yaklaşım olabilmektedir. Ancak bu uygulamaların önerilebilmesi için FDT'de kullanılan ajanların restoratif materyalin diş dokusuna bağlanma ve sızıntı gibi önemli özellikleri üzerindeki etkilerini bilmek gerekmektedir. Bu konuları inceleyen yeterli sayıda çalışma bulunmaması nedeniyle bu alanda yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu tez çalışmasında üç farklı FS'ün süt dişlerindeki olası antibakteriyel etkinliklerinin in vitro incelenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca bu materyallerin süt dişi kompomer restorasyonları ile birlikte kullanılmalarının restorasyonun bağlanma ve sızdırmazlık değerlerine olan etkisinin in-vitro şartlarda değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## 2. GEREÇ-YÖNTEM

Bu çalışmada, fotodinamik tedavinin süt dişi dentin dokusu üzerindeki antimikrobiyal etkinliği ve bu uygulamanın kompomer restorasyonların süt dişi dentin dokusuna bağlanma dayanımı ve kenar sızıntısı üzerine etkisi araştırıldı. Ayrıca fotodinamik tedavi sonrası rezin-dentin bağlanma ara yüzeyleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) (LEO 440, Leike Zeiss, K61n, Almanya) ile incelendi.

### 2.1. GEREÇLER

#### 2.1.1. Kullanılan Fotosensitizörler ve Işık Kaynakları

Çalışmada bakterilerin eliminasyonu için FS madde olarak Hypericin (HYP) (Sigma-St. Louis, MO , USA), Toluidine Blue (TB) (Sigma-St. Louis, MO , USA) ve Rose Bengal (RB) (Sigma-St. Louis, MO , USA) kullanıldı (Çizelge 2.1) (Resim 2.1).

**Çizelge 2.1.** Fotosensitizörlere ait özellikler.

| *Ticari Adı* | *Üretici Firma Ürün No.* | *Molekül Ağırlığı (gr/mol)* | *Molekül Formülü* | *Aktive olduğu dalga boyu aralığı (nm)* |
|---|---|---|---|---|
| **HYP** | Sigma-Aldrich 00190180 | 504.44 | $C_{30}H_{16}O_8$ | 460 |
| **RB** | Sigma-Aldrich 198250 | 1017.64 | $C_{20}H_2Cl_4I_4Na_2O_5$ | 450-500 |
| **TB** | Sigma-Aldrich 89640 | 373.97 | $C_{15}H_{16}ClN_3S \cdot 0.5ZnCl_2$ | 630 |




**Resim 2.1.** Çalışmada kullanılan FS maddeler.

TB'nun aktivasyonu için LED (Light Emitting Diodes) (FotoSan, CMS Dental, Copenhagen, Danimarka) ışık kaynağı (Resim 2.2), RB ve HYP'nin aktivasyonu içinse QTH (Quarts tungsten halogen lights) (Astralis 3, Ivoclar Vivadent, Schaan, Lıechtenstein) ışık kaynağı kullanıldı (Resim 2.3) (Çizelge 2.2).

**Çizelge 2.2.** Işık kaynaklarına ait özellikler.

| *Ticari adı* | *Üretici firma* | *Dalga boyu* | *Işık gücü* |
|---|---|---|---|
| **FotoSan** | CMS Dental Danimarka | 625-635 nm | 2000 mW/cm$^2$ |
| **Astralis 3** | Ivoclar Vivadent Lıechtenstein | 400–500 nm | 530 mW/cm$^2$ |







**Resim 2.2.** FotoSan ışık kaynağı (LED). **Resim 2.3.** Astralis 3 ışık kaynağı (QTH).

## 2.2. YÖNTEM

Bu çalışmada, S.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Kliniği'ne başvuran hastaların, daimi diş indifasına bağlı olarak düşme zamanı gelmiş ve radyolojik olarak da çekim endikasyonu konulmuş 160 adet çürüksüz, restorasyonu olmayan, kronunda çatlak ya da kırık bulunmayan sağlam süt azı dişi ve 40 adet oklüzal çürüğe sahip, çürük kavitasyon boyutunun en az 2 mm olduğu ve çürüğün dentin dokusu içerisinde sınırlı olduğu süt azı dişi kullanıldı. S.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Etik Kurulu'nun onayı alınarak (06.04.2011 Tarih ve 8/28 sayılı karar) yürütülen bu tez çalışması;

- Fotosensitizörlerin antimikrobiyal aktivitelerinin incelenmesi,
- Fotosensitizörlerin kompomer dolgu materyalinin mikrogerilme bağlanma dayanımı üzerine etkisi
- Fotosensitizörlerin kompomer dolgu materyalinin mikrosızıntısı üzerine etkisi ve
- SEM incelemesi olmak üzere 4 kısımda gerçekleştirildi.

### 2.2.1. Fotosensitizörlerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi

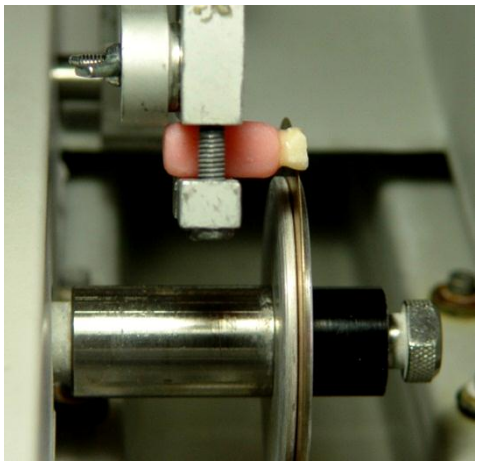
**Diş kavite yöntemi**

Çalışmanın bu kısmında üç farklı FS'ün (TB, HYP, RB) antimikrobiyal etkinliğinin Ankara Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsü'nden temin edilen *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) (RSKK 676) ve *Lactobacillus casei (L. casei*) (RSKK 706) bakteri suşları kullanılarak test edilmesi amaçlandı. Bu amaçla Ohmori ve ark (1999) tarafından sığır dişlerinde uygulanan diş kavite yöntemi modifiye edilerek kullanıldı. Her bir grup için 10'ar diş olacak şekilde planlanan 80 adet süt dişi distile su içinde +4°C'de muhafaza edildi. Çalışmada test edilen materyaller ve örnek sayıları Çizelge 2.3'de gösterilmiştir.

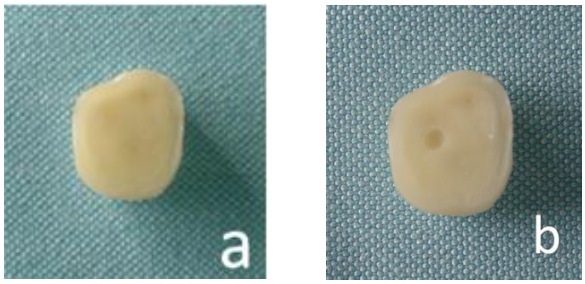
**Çizelge 2.3.** Antibakteriyel etkinlikleri test edilen materyaller ve örnek sayıları.

| ***Test edilen materyaller*** | ***Test edilen mikroorganizma*** | ***Örnek sayıları*** |
|---|---|---|
| **HYP** | *S. mutans* | 10 |
| | *L. casei* | 10 |
| **RB** | *S. mutans* | 10 |
| | *L. casei* | 10 |
| **TB** | *S. mutans* | 10 |
| | *L. casei* | 10 |
| **Kontrol** | *S. mutans* | 10 |
| | *L. casei* | 10 |

Dişlerin üzerindeki debris ve yumuşak doku eklentileri, kretuvar ve pomza-lastik yardımıyla uzaklaştırıldı. Dişler akrilik bloklara sabitlenerek akrilik bloklar Isomet cihazına (Buehler, Lake Bluff, IL, ABD) yerleştirildi. Dişlerin oklüzal kısmındaki mine tabakası düşük devirde dönen elmas separe ile su soğutması altında kaldırıldı (Resim 2.4, 2.5 (a)). Ardından dentin tabakası açığa çıkarılan dişlerin oklüzal yüzeyine su soğutması altında, elmas frezlerle (Diatech Swiss Dental Instruments, Switzerland 881-012-8 ML) tek bir araştırıcı tarafından 2 mm derinliğinde 1 mm çapında standart kaviteler açıldı (Resim 2.5 (b)). Kavitelerin standardizasyonunu sağlamak amacıyla periodontal sodla ölçümler yapılmıştır.



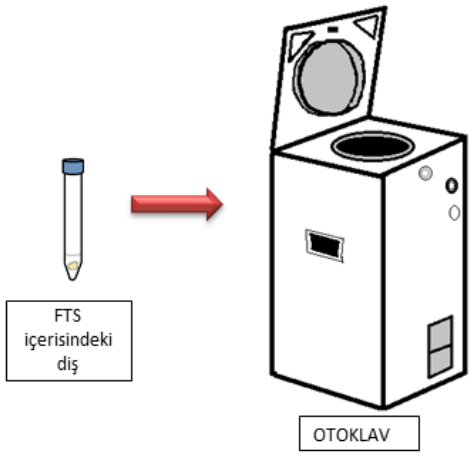
**Resim 2.4.** Dişlerin oklüzal mine tabakasının elmas separe ile kaldırılması



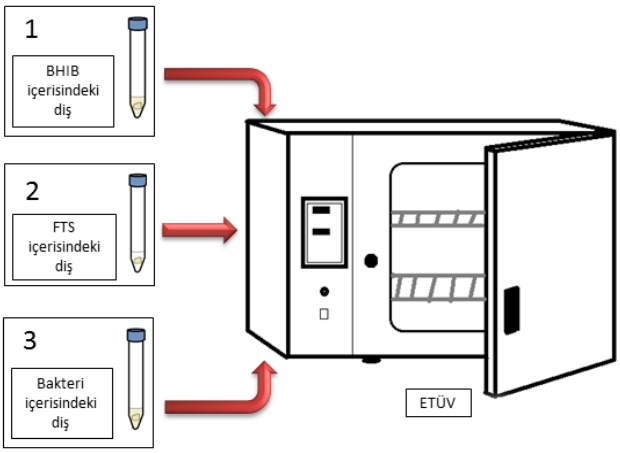

**Resim 2.5. (a)** Dentin yüzeyi açığa çıkarılmış diş **(b)** Dentin yüzeyine açılan standart kavite örneği.

**Dişlerin test edilecek mikroorganizma ile inoküle edilmesi**

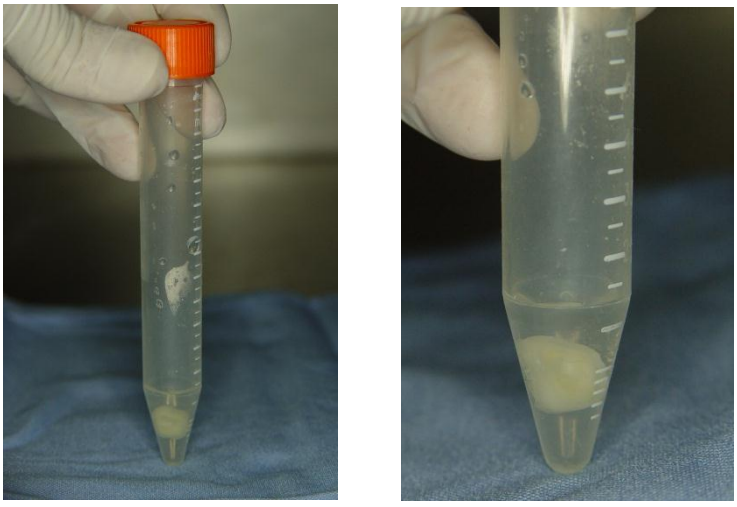
Kavite açma işlemi tamamlanan dişler içinde 2'şer ml fizyolojik tuzlu su (FTS) bulunan ayrı ayrı tüplerde 121$^{o}$C'de 15 dakika boyunca otoklavda steril edildi (Şekil 2.1). Sterilite kontrolü için her bir diş ayrı ayrı 2'şer ml steril Brain Heart Infusion Broth (BHIB) (Difco Laboraties, Amerika) içeren tüplere aktarıldı ve etüvde 37$^{o}$C'de 24 saat inkübe edildi (Şekil 2.1). Daha sonra diş örneklerini buyyon kalıntılarından arındırmak ve dehidratasyonu önlemek için yine her diş ayrı ayrı ve içlerinde 2'şer ml steril FTS bulunan tüplere aktarıldı ve etüvde 37$^{o}$C'de 24 saat inkübe edildi (Şekil 2.1). Bütün bu işlemler tamamlandıktan sonra ise dişler önce iki ana gruba ayrıldı (n=40) (Çizelge 2.3) ve birinci grup dişler BHIB'da üretilmiş olan *S. mutans* içeren tüplere, ikinci grup dişler yine BHIB'da üretilmiş olan *L. casei* içeren tüplere transfer edildi ve etüvde 37$^{o}$C'de 24 saat inkübe edildi (Resim 2.6) (Şekil 2.1).




**Şekil 2.1.** FTS içine konan dişlerin otoklavda 121$^{o}$C'de 15 dakika boyunca steril edilmesi.




**Şekil 2.2.** Sterilite kontrolü için dişlerin BHIB içeren tüplerde, etüvde inkübe edilmesi (1). Dişlerin buyyon kalıntılarından arındırılması ve dehidratasyonu önlemek için FTS bulunan tüplere aktarılıp inkübe edilmesi (2). Dişlerin BHIB'da üretilmiş olan bakterileri içeren tüplere transfer edildikten sonra inkübe edilmesi (3).



**Resim 2.6.** Test edilecek mikroorganizma ile kontamine edilmiş süt dişi örneği.

**FS'lerin dişlere uygulanması**

Mikroorganizmalar ile inoküle edilen dişler inkübasyonun ardından her bir grup kendi içerisinde, gruplarda 10'ar tane diş bulunacak şekilde 4 alt gruba ayrıldı (Çizelge 2.3). Dişler güvenlik kabini altında (Resim 2.7) (Labgard 427 BSC, Class II, Tip B1, NuAire Biological Safety Cabinets, Plymouth, Minnesota, Amerika) hafif hava akımıyla kurutuldu. Kontrol grubundaki 10 adet dişe hiçbir antibakteriyel ajan uygulanmadan kaviteleri geçici dolgu materyali (Cavit-G, ESPE, Seefeld, Germany) ile kapatıldı. Diğer gruplara ise FS'ler kavitelerin tüm duvarlarına temas edecek şekilde uygulandı (Resim 2.8) ve daha sonra dişler geçici dolgu materyali ile kapatıldı (Resim 2.10, Resim 2.11). Çalışmada test edilen materyallerin hazırlanma şekilleri ve uygulama koşulları aşağıda anlatıldığı gibidir:

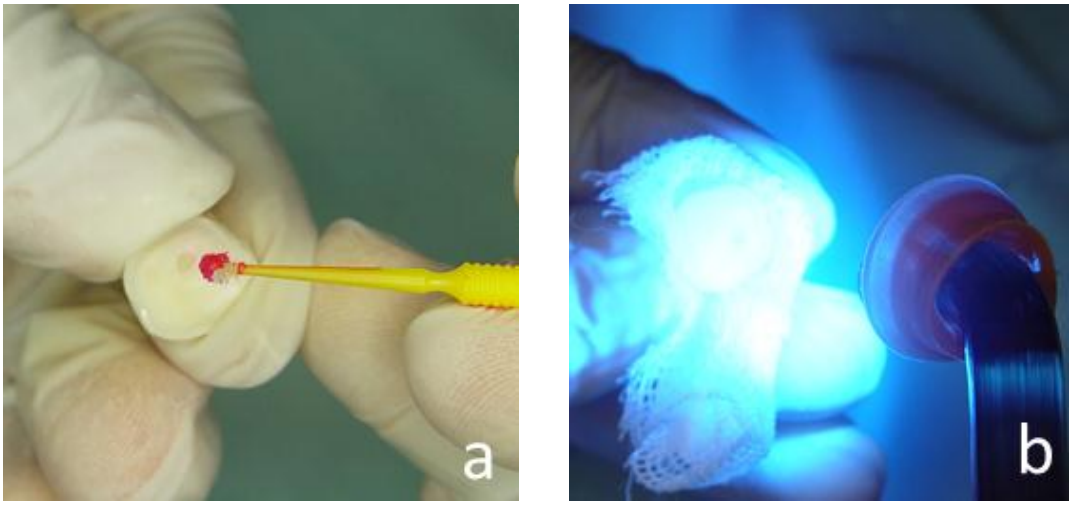
- **HYP:** Ethanol içinde 1mg/ml konsantrasyonda olacak şekilde çözünerek $4^{o}$C'de karanlıkta muhafaza edildi. Daha sonra bu çözelti 10 µg/ml olacak şekilde FUM (fluid universal medium)'la seyreltilerek $37^{o}$C'de karanlıkta muhafaza edildi. HYP kaviteye tek kullanımlık fırça yardımıyla uygulandı 30 dk boyunca beklendi. Daha sonra QTH (Astralis 3) ışık kaynağı 4 dk uygulandı (Lüthi ve ark 2009).

- **RB:** RB fosfat tampon solüsyonu (PBS) içinde çüzünerek (pH 7.4) filtre edildi (0.22 µm) ve $-20^{o}$C de muhafaza edildi (0.5 µM). Daha sonra bu solusyon tek kullanımlık fırça yardımıyla 10 dk boyunca kaviteye uygulandı ve yaklaşık 11 cm uzaklıktan 40 sn boyunca QTH (Astralis 3) ışık kaynağı uygulandı (Resim 2.9) (Paulinoa ve ark 2005).

- **TB:** Deiyonize su içinde çözündü (100 µg $ml^{-1}$) ve karanlıkta muhafaza edildi. Tek kullanımlık fırça yardımıyla kaviteye uygulanan TB'ya ardından 10 dk boyunca LED (635 nm) ışık kaynağı uygulandı (Lima ve ark 2009).



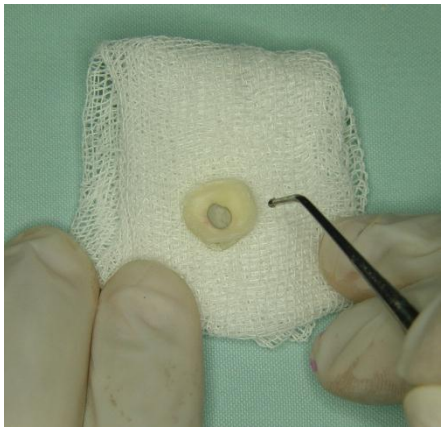

**Resim 2.7.** Güvenlik kabini.




**Resim 2.8. (a)** Fotosensitizörün kaviteye uygulanması **(b)** Fotosensitizörün aktivasyonu için ışık kaynağının uygulanması.




**Resim 2.10.** Kavitelerin kapatılması için kullanılan geçici dolgu materyali.

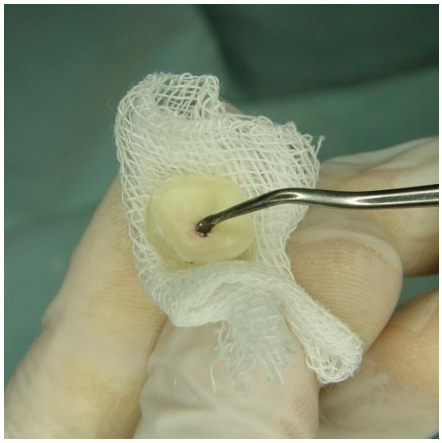


**Resim 2.11.** Materyallerle işlem gören kavitelerin geçici restoratif materyal ile örtülenmiş hali.

**Kaviteden dentin talaşının toplanması ve mikrobiyolojik inceleme**

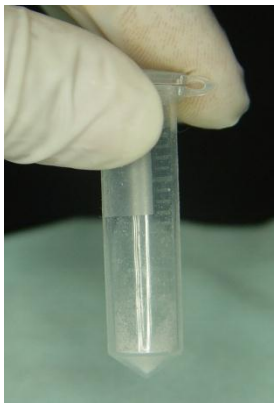
Kaviteleri geçici dolgu materyali ile kapatılan dişler steril serum fizyolojiğin içinde ayrı ayrı tüplere alınarak 37 $^{o}$C'de 72 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından güvenlik kabini altında dişler serum fizyolojik içeren tüplerin içinden alınarak steril tüplere aktarıldı ve -20 $^{o}$C'de 1 saat bekletilerek soğutuldu. Ardından güvenlik kabini altında geçici dolgu maddesi ekskavatör yardımıyla kaviteden çıkarıldı (Resim 2.12). Daha sonra kavite duvarlarından pulpayı perfore etmeden düşük devirde dönen mikromotora takılmış olan tungsten karbid frezle dentin talaşları toplandı (Resim 2.13(a)). Toplanan dentin talaşları ağırlığı önceden tartılmış olan steril ependorf tüpler içine aktarıldı (Resim 2.13b). Dentin talaşı toplama aşamasında frezin uzun süreli kullanımına bağlı olarak oluşan ısı nedeniyle meydana gelebilecek olan mikroorganizma ölümünü önlemek ve kontaminasyona engel olmak

amacıyla her bir kavite için ayrı steril frez kullanıldı. Toplanan dentin talaşları 4 mg olacak şekilde hassas terazide (Shimadzu AY220, Shim adzu Corp., Kyoto, JAPAN) tartılarak standardize edildi. Daha sonra ependorf tüpler içerisindeki dentin talaşları üzerine 2 ml steril FTS eklenerek dilue edildi ve steril buyyonda $10^{-1}$, $10^{-2}$, $10^{-3}$'lük sulandırmalar hazırlandı.



**Resim 2.12.** Geçici restoratif materyalin steril bir ekskavatör ile uzaklaştırılması.

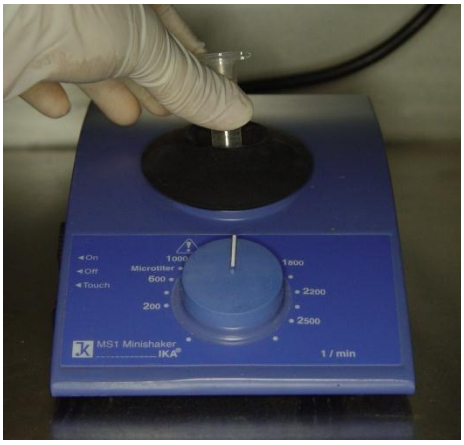




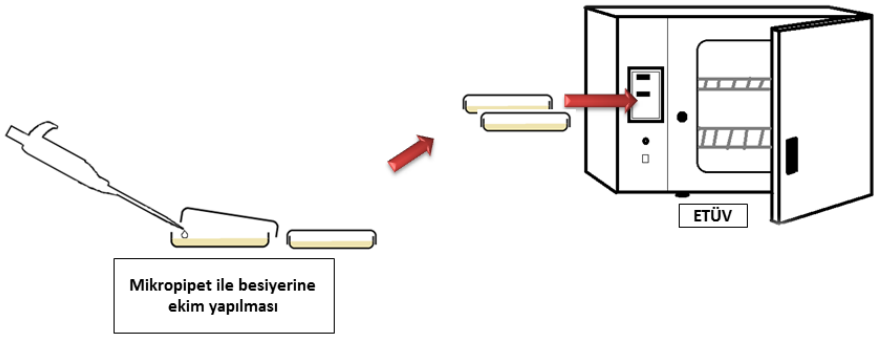
**Resim 2.13. (a)** Kaviteden dentin talaşı örneğinin toplanması **(b)** Ependorf tüp içine toplanan dentin talaş örneği.

Dentin talaşlarını içeren örnekler 30 sn boyunca vortekslenerek (Fisions Scientific Equipment, UK) homojenize edildi (Resim 2.14). Bu sulandırmaların 0.1 ml'si koyun kanlı agar (OXOID CM 55, Basingstoke, İngiltere) üzerine ekilerek 37 $^{o}$C'de 72 saat inkübe edildi. Ekimler her sulandırma için 2 kez tekrarlandı. Ardından ml başına düşen bakteri miktarını (colony forming unit - CFU- koloni oluşturan birim cinsinden sayımları yapıldı) hesaplamak amacıyla koloni sayma

metodu kullanılarak her bir sulandırmadaki canlı bakteri sayıları belirlendi ve aritmetik ortalamaları alındı.




**Resim 2.14.** Ependorf tüp içinde dilue edilmiş dentin talaşlarının vortekslenerek homojenize edilmesi.



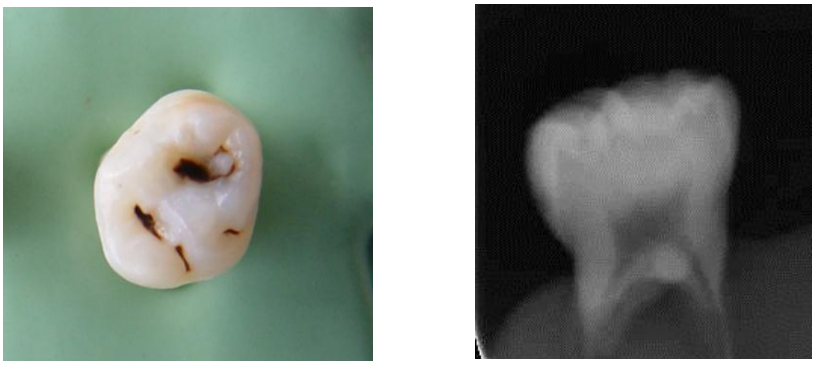

**Şekil 2.3.** Dentin talaşı içeren örneklerin 0.1 ml'i koyun kanlı agar üzerine ekilerek etüvde (37 $^{o}$C'de 72 saat) inkübe edilir.

### 2.2.2. Fotosensitizörlerin Mikrogerilme Bağlanma Dayanımı Üzerine Etkisi

Çalışmanın ikinci kısmında, kavite dezenfeksiyonu amacıyla uygulanan FS'lerin kompomer dolgu maddesinin çürükten etkilenmiş ve sağlam dentin dokusuna bağlanma dayanımına etkisi incelendi. Bu amaçla ortodontik, patolojik veya fizyolojik nedenlerle çekilmiş 40 adet sağlam süt azı dişi ve 40 adet, çürüğün dentin dokusu içerisinde sınırlı olduğu, oklüzal çürüğe sahip süt azı dişi kullanıldı. Çekilen çürüklü dişlerden radyografiler alınarak benzer boyutlarda kavitasyona sahip dişler çalışmaya dahil edildi. Pereira ve arkadaşları (2009) tarafından belirlenen radyografik değerlendirme skorlaması esas alınan çalışmamızda oklüzal yüzeylerinde D3 skoruna (dentinin dış yarısına ulaşmış) sahip çürük bulunan süt azı dişleri kullanıldı (Çizelge 2.4) (Resim 2.15). Çekilmiş dişler +4$^{o}$C distile suda bekletildi.

**Çizelge 2.4.** Radyolojik değerlendirme kriterleri

| **Skorlar** | **Kriterler** |
|---|---|
| 0 | Çürük yok |
| 1 | Minenin dış yarısına kadar uzanan radyolusensi (D1) |
| 2 | Minenin iç yarısına kadar uzanan radyolusensi (D2) |
| 3 | Dentinin dış yarısına kadar uzanan radyolusensi (D3) |
| 4 | Dentinin iç yarısına kadar uzanan radyolusensi (D4) |



**Resim 2.15. (a)** Oklüzal çürüklü süt dişi **(b)** Resim 2.15 (a)'daki dişin röntgen görüntüsü.

**Diş Yüzeylerinin Hazırlanması**

Çalışmaya dahil edilen çürüklü ve çürüksüz dişlerin üzerlerindeki debris ve yumuşak doku eklentileri, kretuvar ve pomza-lastik yardımıyla uzaklaştırıldı. Dişler akrilik bloklara sabitlendi ve daha sonra bu akrilik bloklar Isomet cihazına yerleştirildi. Dişlerin oklüzal kısmındaki mine tabakası düşük devirde dönen elmas separe ile su soğutması altında kaldırıldı (Resim 2.4). Daha sonra smear tabakası oluşturulmak amacıyla sağlam dentin yüzeyleri su altında 1 dk boyunca 600 gritlik zımpara ile aşındırıldı.

Çürüklü dişler çürükten etkilenmiş bölgeyi açığa çıkarmak ve yüzeyi düzleştirmek için, dişin uzun aksına dik olacak şekilde oklüzal yüzey 320 derecelik silikon karbid zımpara ile aşındırıldı. Göz ile (dentinin rengi) ve sond ile (dentinin sertlik muayenesi) yapılan değerlendirmeye ek olarak çürük belirleyici ajan (Caries Detector Kuraray Medical Inc) kullanılarak çürük uzaklaştırıldı. Böylelikle çürükten etkilenmiş dentin yüzeyi elde edildi. Dentin yüzeyi en son 600 gritlik zımpara ile aşındırılarak hazır duruma getirildi. Daha sonra deney için hazır hale getirilen dişler her grupta 10 adet sağlam, 10 adet çürükten etkilenmiş dentin yüzeyi olmak üzere diş sayısı 80 olacak şekilde gruplara ayrıldı (Çizelge 2.5).

**Çizelge 2.5.** Çalışma grupları ve uygulamalar.

| ***Gruplar*** | ***Uygulamalar*** | ***Test edilen dentin tipi (n=10)*** |
|---|---|---|
| **I** | TB | Çürükten etkilenmiş dentin |
| | | Sağlam dentin |
| **II** | HYP | Çürükten etkilenmiş dentin |
| | | Sağlam dentin |
| **III** | RB | Çürükten etkilenmiş dentin |
| | | Sağlam dentin |
| **IV** | Kontrol grubu | Çürükten etkilenmiş dentin |
| | | Sağlam dentin |

**Fotosensitizörlerin dişlere uygulanması ve dişlerin restore edilmesi**

**Grup I:** HYP diş üzerine aplikatör yardımıyla uygulandı ve 30 dk boyunca beklendi. Daha sonra QTH (Astralis 3) ışık kaynağı yaklaşık 3 cm uzaklıktan 4 dk boyunca uygulandı. Diş yüzeyi yıkanarak hava spreyi ile düşük basınç altında 5 saniye kurutuldu. Hazırlanan dentin yüzeyine tek kullanımlık fırça ile Clearfil SE Bond'un primeri uygulandı, 20 saniye beklendi. Hava spreyi kullanılarak düşük basınç ile solventin uzaklaşması sağlandı. İkinci aşamada adeziv bond uygulanıp hafif hava basıncı ile tüm dentin yüzeyine yayıldıktan sonra 10 saniye polimerize edildi. Dyract Extra 2mm'lik tabakalar halinde uygulanıp her bir tabakanın 40 saniye polimerize olması sağlandı. Bu şekilde tüm oklüzal dentin yüzeyi 4-5 mm yükseklikte Dyract Extra ile kaplandı (Resim 2.16).

**Grup II:** RB aplikatör yardımıyla 10 dk boyunca diş üzerine uygulandı ve yüzeye yaklaşık 11 cm uzaklıktan 40 sn boyunca QTH (Astralis 3) ışık kaynağı uygulandı. Diş yüzeyi yıkanarak hava spreyi ile düşük basınç altında 5 saniye kurutuldu. Clearfil SE Bond ve Dyract Extra yukarıda anlatıldığı gibi uygulandı.

**Grup III:** Aplikatör yardımıyla kaviteye uygulanan TB'ya ardından 10 dk boyunca LED (635 nm) ışık kaynağı uygulandı. Diş yüzeyi yıkanarak hava spreyi ile düşük basınç altında 5 saniye kurutuldu. Clearfil SE Bond ve Dyract Extra yukarıda belirtildiği gibi uygulandı.

**Grup IV:** Kaviteye herhangi bir fotosensitizör uygulanmadan diş yüzeyi kurutularak Clearfil SE Bond ve Dyract Extra yukarıda belirtildiği gibi uygulandı.

Çürüklü dişlerde ise çürükten etkilenmiş dentin bölgesi işaretlenerek sadece bu bölgeye yukarıda anlatılan işlemler sırasıyla uygulandı. Çalışma grupları ve yapılan uygulamalar Çizelge 2.5'de gösterilmiştir.



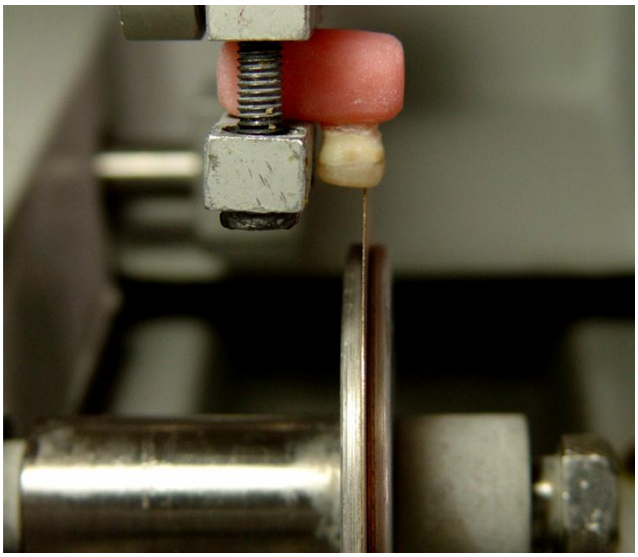

**Resim 2.16.** Çalışmada kullanılan kompomer dolgu materyali (Dyract Extra)

Restorasyonları tamamlanan dişlerin yüzeyleri polisaj lastikleri ile düzeltildi ve 24 saat boyunca 37˚C'de distile suda karanlık ortamda bekletildi.

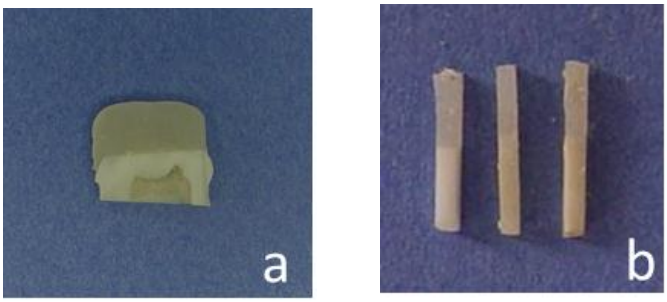
Dişlerin kökleri, dişin uzun aksına dik olacak şekilde kronal üçlüsünden elmas separe yardımıyla kesildi. Kompomer blokların üst yüzeyi yer düzlemine paralel olacak şekilde, siyano akrilat yapıştırıcı yardımıyla akrilik bloklar üzerine sabitlendi ve akrilik bloklar Isomet cihazına yerleştirildi (Resim 2.17). Önce bağlanma yüzeyine dik olacak şekilde bukko-palatinal/lingual yönde dik dilimler elde edilecek şekilde separe yardımı ile düşük hızda (200 RPM) yaklaşık 1 mm kalınlığında vertikal kesitler elde edildi (Resim 2.18, Resim 2.19a). Bu dilimler sirkolant mum yardımı ile yer düzlemine paralel olacak şekilde akrilik bloklara sabitlendi ve yaklaşık 1mm ara ile kesim yapılarak 1 $mm^2$'lik dentin çubukları elde edildi (Resim 2.19b).




**Resim 2.17.** Isomet kesme cihazı.



**Resim 2.18.** Dişte bağlanma yüzeyine dik kesimler yapılması.




**Resim 2.19. (a)** Dentin çubuğu elde etmek için oluşturulan kesit **(b)** Dentin çubuk örnekleri.

Elde edilen dentin çubukları, mikrogerilme test cihazına (Disko, Microtensile tester, ABD) yerleştirildi ve Bencor Multi T aparatına (Resim 2.20) siyanoakrilat adeziv (Zapit, DVA, Corona, CA, ABD) ile iki ucundan yapıştırıldı. Test cihazının yükleme hızı 1 mm/dk olarak belirlendikten sonra örnekler mikrogerilim testine tabi tutuldu.




**Resim 2.20.** Mikrogerilme test cihazı.

Kırılmanın gerçekleştiği kuvvet Newton cinsinden kaydedildi ve örneklerin kırılma yüzey alanı dijital kumpaslar kullanılarak hesaplandı. Her bir örnek için kuvvetin yüzey alanına bölümü ile MPa cinsinden kırılma değerleri hesaplandı ve kaydedildi.

$$MPa = F\ (Newton)/Alan\ (mm^2)$$

Diş yüzeyinde gerçekleşen kırılmanın cinsinin tayin edilmesi amacıyla örnekler X25 büyütmeli stereooptik mikroskopta (Olympus SZ4045 TRPT, Osaka, Japonya) incelendi. Kırılma tipinin tayininde aşağıda verilen sınıflandırma kullanıldı:

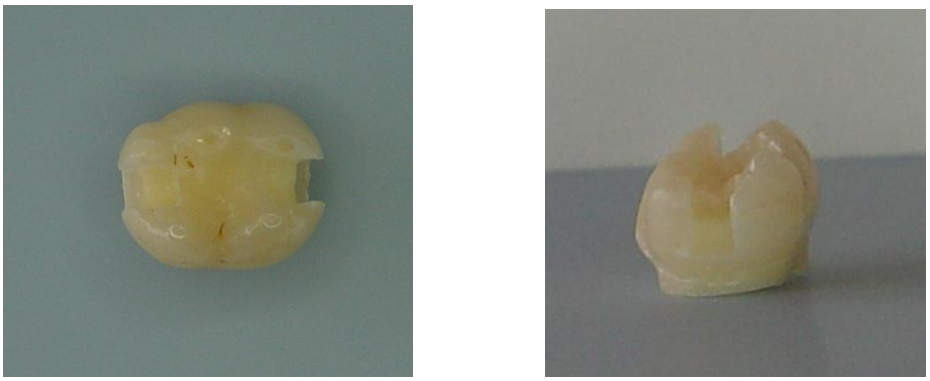
1. Kırılma adeziv ara yüzeyden olmuşsa adeziv başarısızlık,
2. Kırılma materyallerden birinin içinde gerçekleşmişse koheziv başarısızlık,
3. Hem adeziv hem de koheziv kırılma birlikte ise karışık (miks) tip başarısızlık olarak belirlendi (Can-Karabulut ve ark 2009, Profeta ve ark 2012).

### 2.2.3. Fotosensitizörlerin Kompomer Dolgu Materyalinin Mikrosızıntısı Üzerine Etkisi

Çalışmanın bu kısmında, restorasyon öncesi kaviteye uygulanan üç farklı FS'ün kompomer ile restore edilen süt dişlerinin mikrosızıntısına etkisi incelendi. Bu amaçla, 40 adet çürüksüz süt azı dişi toplandı ve distile su içinde +4°C'de saklandı.

### 2.3.1. Diş Yüzeylerinin Hazırlanması ve Test Aşamalarının Gerçekleştirilmesi

Toplanan dişler her bir grupta 20 kavite olmak üzere, toplam 4 gruba (n=20) ayrıldı ve işlemler tek bir operatör tarafından gerçekleştirildi. Dişlerin mezial ve distal yüzeylerinde oklüzal genişliği bukko-lingual tüberküller arası mesafenin 1/3'ü, aproksimal bölgedeki genişliği bukko-lingual mesafenin 1/3'ü kadar, oklüzal kavite derinliği 2 mm, aproksimal kavite derinliği mine-sement sınırının 1 mm kronalinde olacak şekilde Sınıf II simetrik kaviteler açıldı (İnce ve ark 2009) (Resim 2.21). Kavitelerin hazırlanmasında standart bir fissür frez kullanıldı.



**Resim 2.21.** Dişlerin mezial ve distal yüzlerinde açılan sınıf II kaviteler.

Kontrol grubunda kavitelere herhangi bir FS uygulanmaksızın Clearfil SE Bond ve Dyract Extra ile mikrogerilme bağlanma testinde bildirildiği gibi restore edildi ve mikrosızıntı testine tabi tutuldu. Diğer üç gruba ise test edilecek olan FS'ler mikrogerilme çalışmasında uygulandığı gibi dişlerin her iki yüzünde hazırlanan kavitelere uygulandı ve dişler Clearfil SE Bond ve Dyract Extra ile restore edildi.

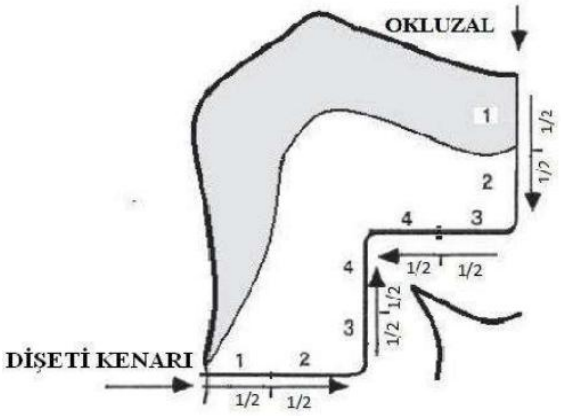
Restorasyonları tamamlanan dişlerin yüzeyleri polisaj lastikleri ile düzeltildikten sonra 24 saat boyunca 37°C'de distile suda karanlık ortamda bekletildi ve ardından 5°C (± 1°C) ile 55°C (± 1°C) sıcaklığındaki su banyoları arasında 500 kez termal siklus (Nüve San. Mal. İmalat ve Tic. AŞ, Türkiye) işlemine tabi tutuldu. Restorasyon dışındaki bölgelerden boya penetrasyonu olmaması için, dişlerin apeksleri kompozit rezin ile kapatıldı. Daha sonra restorasyon kenarına 1 mm'lik mesafeye kadar tüm diş yüzeyi iki kat tırnak cilası ile kaplandı. Dişler 48 saat % 2'lik metilen mavisi solüsyonunda bekletildikten sonra çeşme suyu altında yıkanarak fazla boyanın uzaklaşması sağlandı. Dişler, düşük hızda çalışan elmas separe yardımıyla restorasyonları ortadan ikiye ayıracak şekilde, mezio-distal yönde kesildi ve restorasyonların her iki kesiti de skorlandı. Boya penetrasyonu stereooptik mikroskopta bağımsız bir araştırıcı tarafından X 25 büyütmede incelenip skorlar kaydedildi. Mikrosızıntı değerlendirmesinde kullanılan boya penetrasyon skorları (Lucena-Martin ve ark 2001) Şekil 2.5'de gösterilmiştir.

**Oklüzal bölgede boya penetrasyonunun değerlendirilmesi için aşağıdaki skala kullanıldı:**

0= Boya penetrasyonu yok
1= Kavite derinliğinin ½'si veya daha azı ile sınırlı boya penetrasyonu
2= Kavite derinliğinin ½'sinden fazlasını içeren boya penetrasyonu
3= Kavite tabanının ½'sini içeren boya penetrasyonu
4= Kavite tabanının ½'sinden fazlasını içeren boya penetrasyonu

**Dişeti kenarındaki boya penetrasyonunun değerlendirilmesinde ise şu skala kullanıldı:**

0= Boya penetrasyonu yok
1= Kavite tabanının ½'sini içeren boya penetrasyonu
2= Kavite tabanını içeren boya penetrasyonu
3= Aksiyal duvarın ½'sini içeren boya penetrasyonu
4= Aksiyal duvarın ½'sinden fazlasını içeren boya penetrasyonu




**Şekil 2.5.** Oklüzal ve gingival duvardaki boya penetrasyon skorları (Karaarslan ve ark 2011).

### 2.2.4. SEM Analizi

Çalışmanın bu aşamasında her bir grup için birer adet olmak üzere toplam 4 adet diş kullanıldı. SEM analizi yapılacak olan dişlere bağlanma dayanımı testindeki prosedürlere göre fotodinamik tedavi uygulandı ve ardından daha önce anlatıldığı şekilde resore edildi. Hazırlanan örnekler bukkolingual yönde bağlantı ara yüzeyine dik olacak şekilde düşük hızda çalışan elmas separe ile su soğutması altında kesilerek her bir grup için 2 adet örnek elde edildi.

Restoratif materyal-dentin ara yüzeylerini değerlendirmek amacıyla hazırlanan örneklerin yüzeyleri 600-1000-1200 gritlik silikon karpit zımpara ile parlatıldı. Parlatma işleminden sonra yüzeye dekalsifikasyon amacıyla %37'lik fosforik asit 10 sn uygulandı ve bunu takiben deproteinizasyon işlemi için örnekler 1 dakika sodyum hipoklorit içerisinde bekletildi. Bu şekilde hazırlanan dişler 2-3 saat süre ile 45-50$^{o}$ C kuru sıcak havada kurutulup yüzeyleri havasız bir ortamda altın film ile kaplandı. İncelemeler X 1000 büyütmede SEM (LEO 440, Leike Zeiss, K61n, Almanya) ile yapıldı (Pisani-Proença ve ark 2011).

## 2.3. İstatistiksel Değerlendirme

Test edilen üç farklı fotosensitizörün iki ayrı mikroorganizma üzerindeki etkinlikleri Kruskal-Wallis testi ile değerlendirilirken, materyaller arasındaki ikili karşılaştırmalar için ise Mann-Whitney U testi ile yapıldı.

Mikrogerilme testine ait bulguların değerlendirilmesinde, çürükten etkilenmiş ve sağlam dentin örneklerinin genel karşılaştırılması Bağımsız Örneklem t – Testi ile yapıldı. Çürükten etkilenmiş ve sağlam dentin gruplarının ayrı ayrı kendi içinde karşılaştırılması Tek Yönlü Varyans Analizi testi ile yapıldı.

FS'lerin mikrosızıntı değerlerinin incelenmesinde (oklüzal ve gingival) Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Materyaller arasındaki ikili analizlerde ise Mann-Whitney U testi kullanıldı.

## 3. BULGULAR

Bu çalışmadan elde edilen bulgular beş ana başlık altında sunuldu.

- Fotosensitizörlerin antimikrobiyal aktivitelerine ait bulgular
- Fotosensitizörlerin kompomerin mikrogerilme bağlanma dayanımına etkisine ait bulgular
- Kırılma tipi analizine ait bulgular
- Fotosensitizörlerin kompomerin mikrosızıntısı üzerindeki etkisine ait bulgular
- SEM analizine ait görüntüler

### 3.1. Fotosensitizörlerin Antimikrobiyal Aktivitelerine Ait Bulgular

Süt dişlerine açılan kavitelere uygulanan 3 farklı FS'ün, iki farklı mikroorganizma üzerine antibakteriyel etkinliklerinin araştırıldığı bu çalışmada materyallerin uygulanmasından sonra kavitelerden izole edilen *S. mutans* sayılarının ortalama değerleri ve standart sapmaları Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Kavitelerden izole edilen *S. mutans* sayılarının ortalama ± standart sapmaları (Ort ± SS) (CFU/ml) (n=10).

| ***Mikroorganizma Grubu*** / ***Materyaller*** | ***S. mutans*** **(Ort ± SS)** |
|---|---|
| **TB** | $5 \times 10^1 \pm 1{,}6 \times 10^2$ |
| **RB** | $1{,}0 \times 10^1 \pm 1{,}7 \times 10^1$ |
| **HYP** | $2{,}6 \times 10^1 \pm 6{,}4 \times 10^1$ |
| **Kontrol grubu** | $2 \times 10^4 \pm 4{,}2 \times 10^4$ |

Süt dişi dentin kavitelerinde FS'lerin *S. mutans* üzerindeki etkisi incelendiğinde tüm gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede antibakteriyel etkinlik gözlendi ($p<0.05$) (Çizelge 3.2). RB'nin *S. mutans* üzerindeki antibakteriyel etkinliği TB ve HYP gruplarına göre daha fazla olmakla birlikte aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$) (Çizelge 3.2).

TB, HYP ve RB birbirleri ile karşılaştırıldığında ise aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi (p>0.05) (Çizelge 3.2).

**Çizelge 3.2.** Gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalara ait p değerleri

| ***Gruplar*** | **Kontrol grubu** | **HYP** | **RB** |
|---|---|---|---|
| **TB** | 0.02* | 0.627 | 0,197 |
| **RB** | 0.004* | 0.576 | |
| **HYP** | 0.005* | | |

* = p <0.05

Süt dişlerine açılan kavitelere uygulanan 3 farklı FS'ün, iki farklı mikroorganizma üzerine antibakteriyel etkinliklerinin araştırıldığı bu çalışmada materyallerin uygulanmasından sonra kavitelerden izole edilen *L. casei* sayılarının ortalama değerleri ve standart sapmaları Çizelge 3.3'de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.3.** Kavitelerden izole edilen *L. casei* sayılarının ortalama ± standart sapmaları (Ort ± SS) (CFU/ml) (n=10).

| ***Mikroorganizma Grubu*** / ***Materyaller*** | ***L. casei* (Ort ± SS)** |
|---|---|
| **TB** | $3,5 \times 10^1 \pm 6,9 \times 10^1$ |
| **RB** | $2,5 \times 10^1 \pm 7,9 \times 10^1$ |
| **HYP** | $1,5 \times 10^2 \pm 3,4 \times 10^1$ |
| **Kontrol grubu** | $1 \times 10^5 \pm 4,5 \times 10^4$ |

Süt dişi dentin kavitelerinde FS'lerin *L. casei* üzerindeki etkisi incelendiğinde tüm gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede antibakteriyel etkinlik gözlendi (p<0.05) (Çizelge 3.4). RB'nin *L. casei* üzerindeki antibakteriyel etkinliği TB ve HYP gruplarına göre daha fazla olmakla birlikte aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0.05) (Çizelge 3.4).

TB, HYP ve RB birbirleri ile karşılaştırıldığında ise aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi (p>0.05) (Çizelge 3.4).

**Çizelge 3.4.** Gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalara ait p değerleri

| *Gruplar* | Kontrol grubu | HYP | RB |
|---|---|---|---|
| **TB** | 0.000* | 0.551 | 0,358 |
| **RB** | 0.000* | 0.627 | |
| **HYP** | 0.000* | | |

* = p <0.05

### 3.2. Fotosensitizörlerin Kompomerin Mikrogerilme Bağlanma Dayanımına Etkisine Ait Bulgular

Sağlam süt dişi dentin örnekleri ile çürükten etkilenmiş süt dişi dentin örneklerinin bağlanma dayanımı değerleri genel olarak karşılaştırıldığında dentin tipine göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p>0.05) (Çizelge 3.5).

**Çizelge 3.5.** Sağlam süt dişi dentin örnekleri ile çürükten etkilenmiş süt dişi dentin örneklerinin bağlanma dayanımı ve p değerlerinin genel olarak karşılaştırılması (Mpa) (n=80).

| | Çürükten etkilenmiş dentin | Sağlam dentin | p |
|---|---|---|---|
| **Ort ± SS** | 32,09 ± 10,31 [a] | 31,80 ± 7,15 [a] | 0,841 |

Aynı harfi taşıyan değerler arasında istatistiksel olarak fark yoktur.

Üç farklı FS'ün kavite dezenfektanı olarak kullanılması sonrasında kompomer ile restore edilen çürükten etkilenmiş dentine sahip süt dişlerine ait bağlanma dayanımı değerleri Çizelge 3.6'de görülmektedir.

**Çizelge 3.6.** Çürükten etkilenmiş dentin örneklerinin mikrogerilim bağlanma dayanım testine ait ortalama ± standart sapma (Mpa) ve p değerleri (n=20).

| Dentin tipi | FS | Ort ± SS | p |
|---|---|---|---|
| **Çürükten etkilenmiş dentin** | TB | 36,01 ± 10,56 [a] | 0.079* |
| | RB | 28,34 ± 8,09 [a] | |
| | HYP | 33,75 ± 7,90 [a] | |
| | Kontrol grubu | 30,24 ± 12,83 [a] | |

* = p>0.05

Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur.

Çürükten etkilenmiş dentinde, bağlanma dayanımı değerleri fotosensitizörlere göre değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p>0.05) (Çizelge 3.6).

Üç farklı FS'ün kavite dezenfektanı olarak kullanılması sonrasında kompomer ile restore edilen sağlam süt dişi dentine ait bağlanma dayanımı değerleri Çizelge 3.7'de görülmektedir.

**Çizelge 3.7.** Sağlam dentin örneklerinin mikrogerilim bağlanma dayanım testine ait ortalama ± standart sapma (Mpa) ve p değerleri (n=20).

| Dentin tipi | FS | Ort ± SS | p |
|---|---|---|---|
| **Sağlam dentin** | TB | 33,89 ± 7,19 [a] | 0.202* |
| | RB | 29,31 ± 7,86 [a] | |
| | HYP | 30,10 ± 6,13 [a] | |
| | Kontrol grubu | 33,12 ± 8,55 [a] | |

* = p>0.05

Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur.

Sağlam dentin grubunda bağlanma dayanımı değerleri de kendi içinde değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$) (Çizelge 3.7).

### 3.3. Kırılma Tipi Analizine Ait Bulgular

Stereomikroskop görüntülerinden elde edilen sonuçlara göre çürükten etkilenmiş dentin TB grubunda % 45 adeziv, % 45 miks ve % 10 koheziv tip kırılma, RB grubunda, % 55 adeziv, % 45 miks tip kırılma, HYP grubunda, % 65 adeziv, % 15 koheziv, % 20 miks tip kırılma, Kontrol grubunda ise, % 95 adeziv, % 5 miks tip kırılma gözlendi (Çizelge 3.8).

Sağlam dentin TB grubunda % 80 adeziv, % 5 miks ve % 15 koheziv tip kırılma, RB grubunda, % 70 adeziv, % 25 miks, % 5 koheziv tip kırılma, HYP grubunda, % 85 adeziv, % 15 miks tip kırılma, Kontrol grubunda ise, % 80 adeziv, % 5 miks ve % 15 koheziv tip kırılma gözlendi (Çizelge 3.8).

**Çizelge 3.8**. Gruplara ait kırılma tipleri.

| Dentin tipi | FS | Adeziv | Koheziv | Miks |
|---|---|---|---|---|
| **Çürükten etkilenmiş dentin** | **TB** | 9 | 2 | 9 |
| | **RB** | 11 | 0 | 9 |
| | **HYP** | 13 | 3 | 4 |
| | **Kontrol grubu** | 19 | 0 | 1 |
| **Sağlam dentin** | **TB** | 16 | 3 | 1 |
| | **RB** | 14 | 1 | 5 |
| | **HYP** | 17 | 0 | 3 |
| | **Kontrol grubu** | 16 | 3 | 1 |

### 3.4. Fotosensitizörlerin Kompomerin Mikrosızıntısı Üzerindeki Etkisine Ait Bulgular

Bu tez çalışmasında süt dişlerine açılan sınıf II kavitelerin kompomer ile restorasyonu öncesinde, kavite dezenfektanı olarak FS kullanılmasının, okluzal ve gingival kenarlardaki sızıntı değerlerine etkisi incelendi. Mikrosızıntı değerlerine ait örnek kesitler Resim 3.1-3.6'da gösterilmiştir.

Elde edilen sızıntı verileri, okluzal ve gingival kenarlar için ayrı ayrı kaydedilip istatistiksel olarak değerlendirildi. Her bir grup için okluzal ve gingival kenarlarda gözlenen sızıntı değerleri sırasıyla Çizelge 3.9 ve 3.10'da gösterilmiştir.

**Çizelge 3.9.** Okluzal kenardaki mikrosızıntı skorları (n= 20)

| Gruplar | Okluzal kenar sızıntısı skorları | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| **TB** | 4 | 11 | 4 | 1 | 0 |
| **HYP** | 0 | 4 | 3 | 1 | 12 |
| **RB** | 0 | 1 | 3 | 6 | 10 |
| **Kontrol grubu** | 2 | 4 | 4 | 3 | 7 |

**Çizelge 3.10.** Gingival kenardaki mikrosızıntı skorları (n= 20)

| Gruplar | Gingival kenar sızıntısı skorları | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| **TB** | 7 | 10 | 3 | 0 | 0 |
| **HYP** | 2 | 7 | 5 | 0 | 6 |
| **RB** | 4 | 7 | 4 | 0 | 5 |
| **Kontrol grubu** | 2 | 7 | 2 | 3 | 6 |

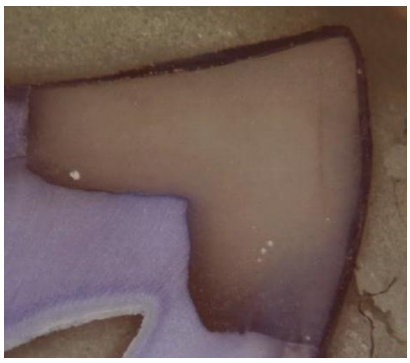
**Mikrosızıntı skorlarına ait resimler:**



**Resim 3.1.** TB

Gingival mikrosızıntı skoru : 0

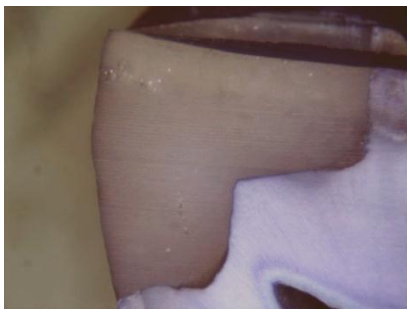
Okluzal mikrosızıntı skoru: 0



**Resim 3.2.** HYP

Gingival mikrosızıntı skoru: 4

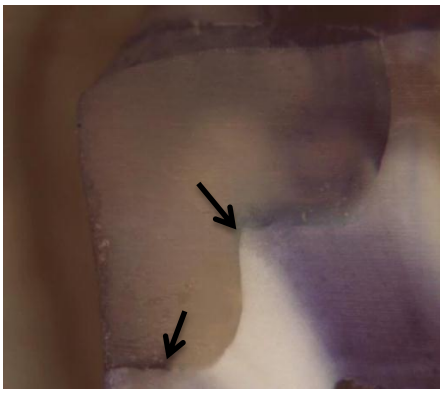
Okluzal mikrosızıntı skoru: 4



**Resim 3.3.** Kontrol grubu

Gingival mikrosızıntı skoru: 4

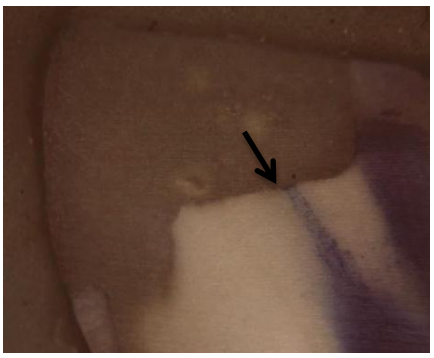
Okluzal mikrosızıntı skoru: 4



**Resim 3.4.** Kontrol grubu

Gingival mikrosızıntı skoru: 1

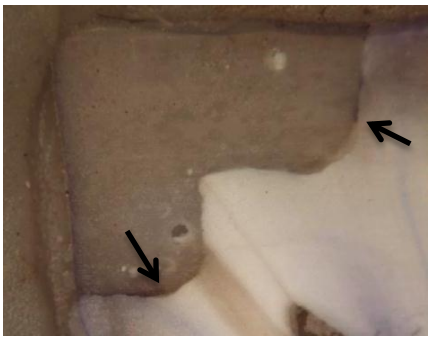
Okluzal mikrosızıntı skoru: 4



**Resim 3.5.** RB

Gingival mikrosızıntı skoru: 0

Okluzal mikrosızıntı skoru: 3



**Resim 3.6.** HYP

Gingival mikrosızıntı skoru: 1

Okluzal mikrosızıntı skoru: 1

Restorasyonların okluzal ve gingival kenarlarına ait mikrosızıntı değerleri istatistiksel olarak incelendiğinde materyaller arası farkın anlamlı olduğu ($p<0.05$), ayrıca okluzal ve gingival bölgeden elde edilen mikrosızıntı değerleri arasındaki farkın da anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Sızıntı bölgesi ve FS etkileşimleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) (Çizelge 3.11).

**Çizelge 3.11**. FS uygulaması sonrasında okluzal ve gingival kenar mikrosızıntı test değerlerinin İki Yönlü Varyans Analizi (Two Way ANOVA) sonuçları.

| | **df** | **Mean square** | **F** | **p** |
|---|---|---|---|---|
| **Corrected Model** | 7 | 14,771 | 9,823 | ,000 |
| **Intercept** | 1 | 693,056 | 460,926 | ,000 |
| **Sızıntı bölgesi** | 1 | 23,256 | 15,467 | ,000 |
| **FS** | 3 | 23,123 | 15,378 | ,000 |
| **Sızıntı bölgesi * FS** | 3 | 3,590 | 2,387 | ,071 |

Okluzal kenardaki mikrosızıntı değerleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark olduğu saptandı ($p<0.05$). Farkın hangi gruplar arasında olduğunu tespit etmek amacıyla yapılan değerlendirmeye göre; HYP ile TB arasında, RB ile TB arasında, TB ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.05$) ve TB'nun diğer gruplara göre daha az mikrosızıntı gösterdiği tespit edildi. TB dışındaki gruplar arasında ise anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$) (Çizelge 3.12).

**Çizelge 3.12.** Oklüzal kenar grupları arasındaki ikili karşılaştırmalara ait p değerleri

| ***Gruplar*** | **Kontrol grubu** | **HYP** | **RB** |
|---|---|---|---|
| **TB** | 0.002* | 0.000* | 0,000* |
| **RB** | 0.078 | 0.917 | |
| **HYP** | 0.153 | | |

* = $p<0.05$

Gingival kenardaki mikrosızıntı değerleri karşılaştırıldığında FS'ler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı ($p<0.05$). Farkın hangi gruplar arasında olduğunu tespit etmek amacıyla yapılan değerlendirmeye göre; TB'nun diğer gruplara göre istatistiksel olarak daha az gingival sızıntı gösterdiği tespit edildi. TB dışındaki gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$) (Çizelge 3.13).

**Çizelge 3.13.** Gingival kenar grupları arasındaki ikili karşılaştırmalara ait p değerleri

| ***Gruplar*** | **Kontrol grubu** | **HYP** | **RB** |
|---|---|---|---|
| **TB** | 0.002* | 0.003* | 0,040* |
| **RB** | 0.362 | 0.455 | |
| **HYP** | 0.833 | | |

* = p <0.05

Her bir grup için restorasyonların gingival ve okluzal kenarlarındaki mikrosızıntı skorları kendi içinde karşılaştırıldığında; HYP ve RB gruplarının gingival kenardaki mikrosızıntı değerlerinin okluzal kenardaki mikrosızıntı değerlerinden daha düşük olduğu tespit edildi. Diğer grupların okluzal ve gingival mikrosızıntı değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$) (Çizelge 3.14).

**Çizelge 3.14.** Her bir grup için restorasyonların gingival ve okluzal kenarlarındaki mikrosızıntı skorlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi

| | **TB** | **HYP** | **RB** | **Kontrol grubu** |
|---|---|---|---|---|
| **p** | 0.235 | 0.032* | 0.002* | 0.567 |

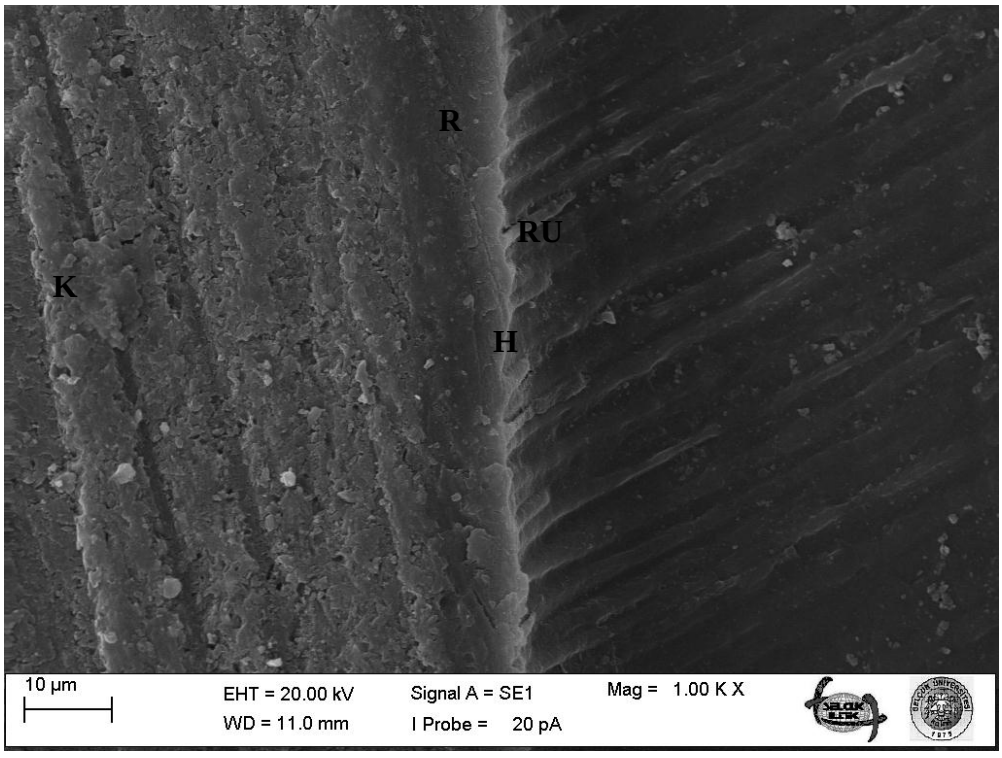
* = p <0.05

### 3.5. SEM Analizine Ait Görüntüler

Uygulanan FS'lerin restoratif materyal - çürükten etkilenmiş ve sağlam dentin ara yüzeylerinde oluşturabileceği etkileri değerlendirmek amacıyla yapılan SEM analizi görüntüleri aşağıda verilmiştir. SEM ile değerlendirilen rezin uzantıları ve hibrit tabakası X 1000 büyütmede incelendi.

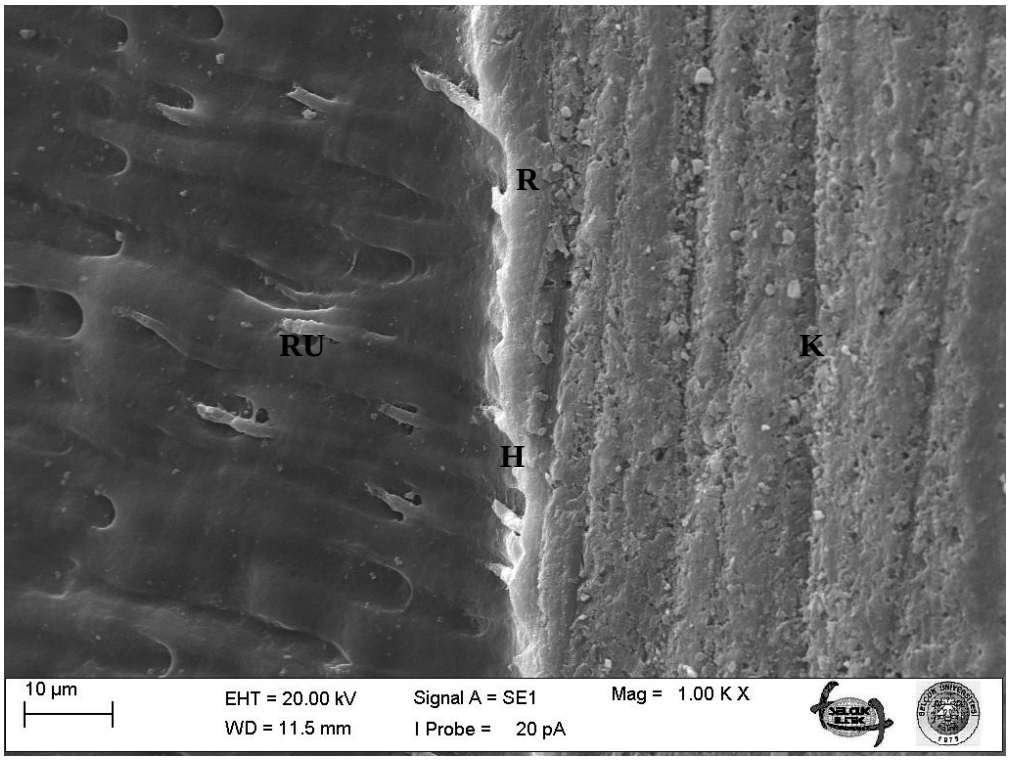
#### 3.5.1. Kontrol Grubuna Ait SEM Görüntüleri

Kontrol grubu sağlam süt dişi dentininin bağlantı ara yüzeyi görüntülerinde; homejen hibrit tabaka (H) ve yer yer rezin uzantıları (RU) izlendi (K : Kompomer). Rezin uzantılarının yaklaşık 10 µm olduğu görüldü (Resim 3.7).




**Resim 3.7.** Sağlam süt dişi dentini - kontrol grubuna ait SEM görüntüsü.

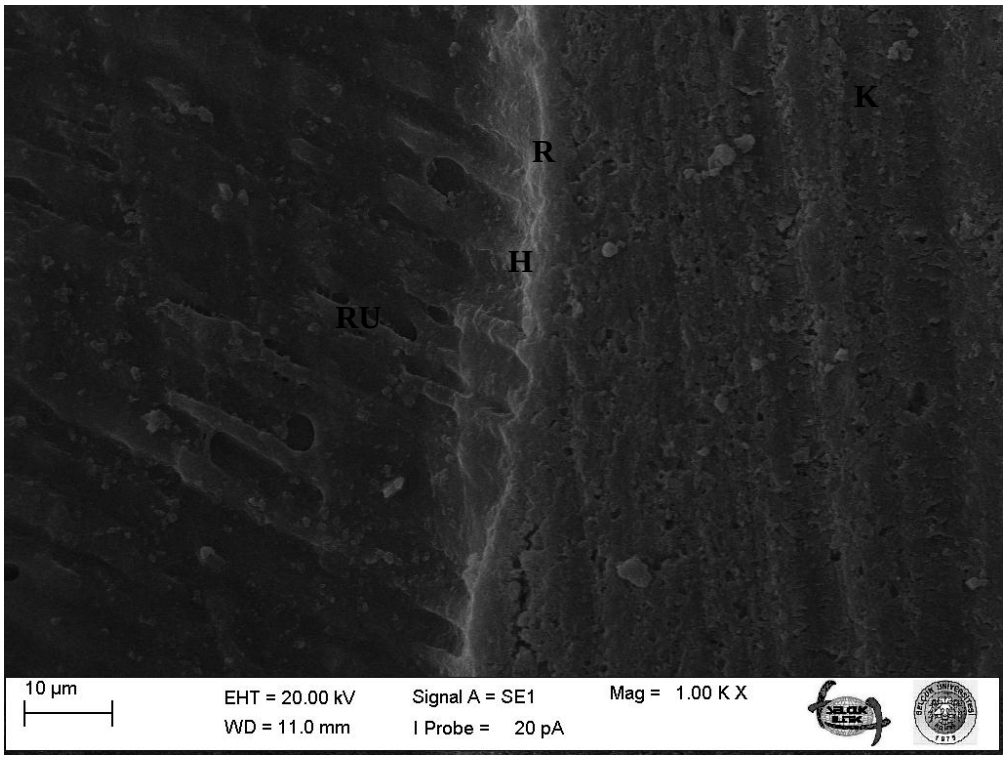
Kontrol grubu çürükten etkilenmiş süt dişi dentininin bağlantı ara yüzeyi görüntülerinde; homojen hibrit tabaka ve yer yer rezin uzantıları izlendi. Rezin uzantılarının yaklaşık 40 µm olduğu gözlemlendi (Resim 3.8).




**Resim 3.8.** Çürükten etkilenmiş süt dişi dentini - kontrol grubuna ait SEM görüntüsü.

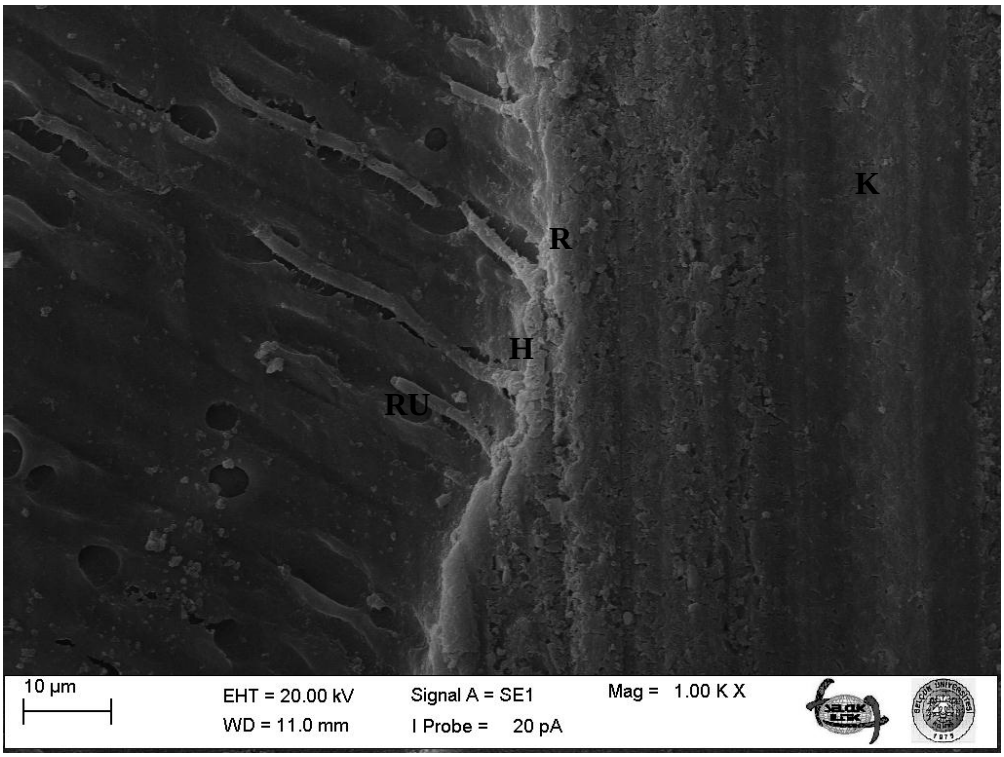
### 3.5.2. TB Uygulanan Gruba Ait SEM Görüntüleri

TB uygulanmış sağlam süt dişi dentininin bağlantı ara yüzeyi görüntülerinde; ince bir rezin tabaka, hibrit tabaka ve yer yer rezin uzantıları izlendi. Rezin uzantılarının yaklaşık 40 μm ve dentin tübüllerine oranla ince olduğu gözlendi (Resim 3.9).




**Resim 3.9.** Sağlam süt dişi dentini - TB uygulanan gruba ait SEM görüntüsü.

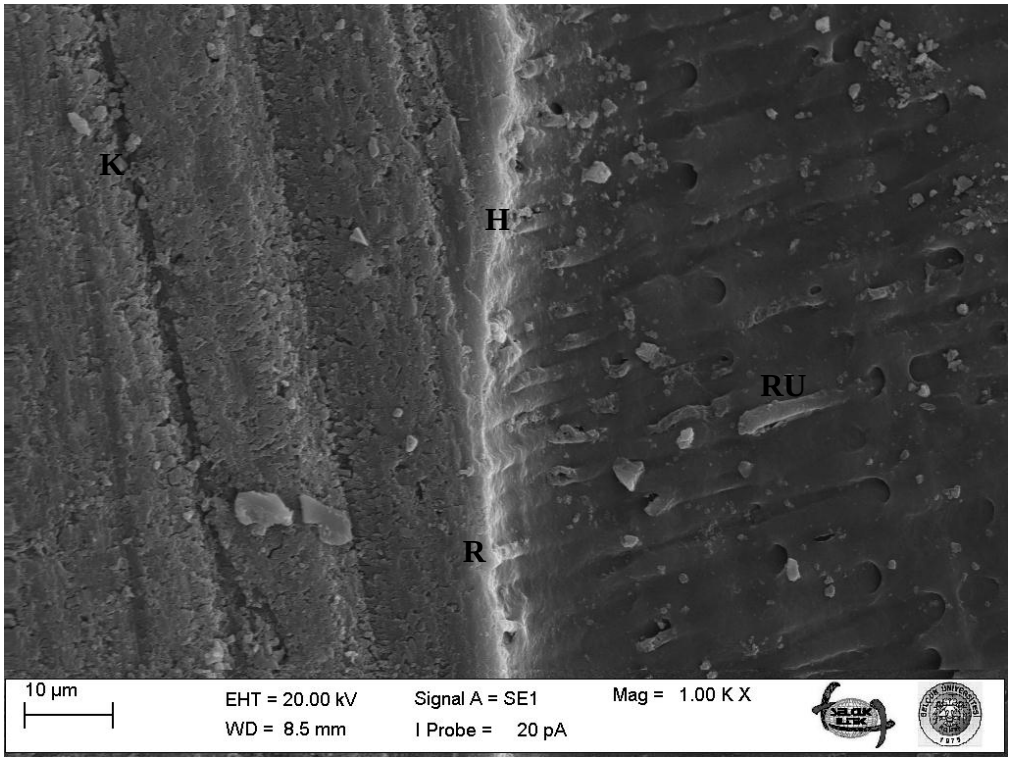
TB uygulanmış çürükten etkilenmiş süt dişi dentininin bağlantı ara yüzeyi görüntülerinde; düzensiz bir rezin tabaka, hibrit tabaka ve yer yer rezin uzantıları izlendi. Yaklaşık 60 µm olduğu tespit edilen Rezin uzantılarının yer yer kırılmış olduğu gözlendi (Resim 3.10).




**Resim 3.10.** Çürükten etkilenmiş süt dişi dentini - TB uygulanan gruba ait SEM görüntüsü.

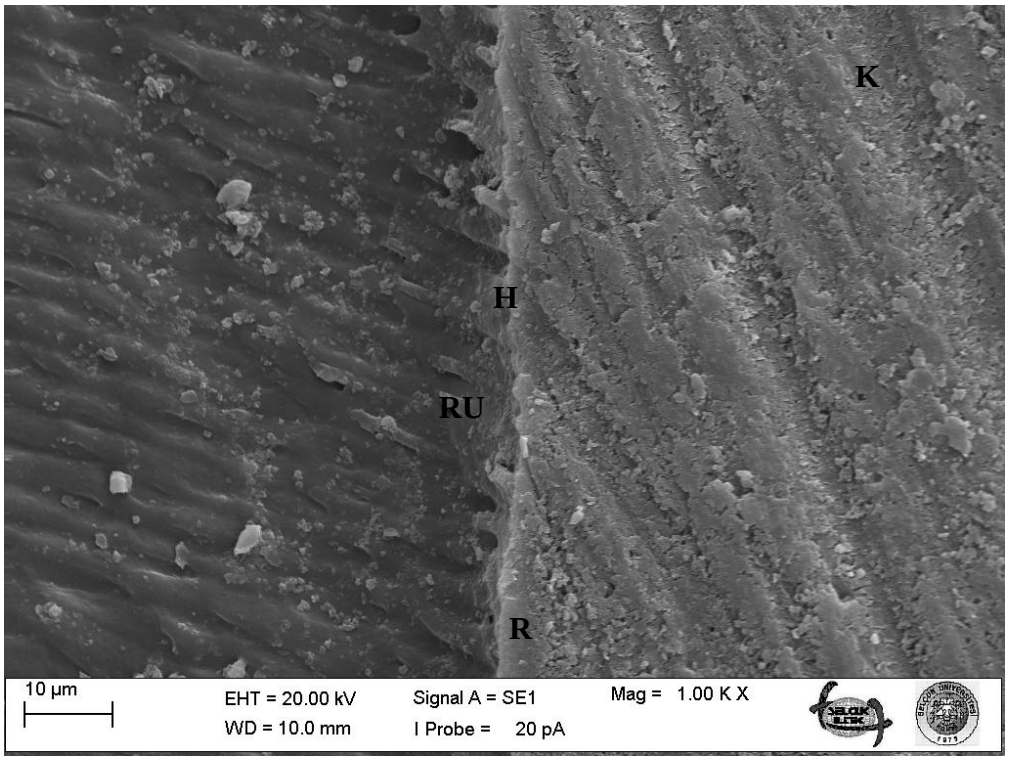
### 3.5.3. RB Uygulanan Gruba Ait SEM Görüntüleri

RB uygulanmış sağlam süt dişi dentininin bağlantı ara yüzeyi görüntülerinde; rezin tabaka, hibrit tabaka ve diğer gruplara nazaran daha fazla sayıda rezin uzantıları izlendi (Resim 3.11).




**Resim 3.11.** Sağlam süt dişi dentini - RB uygulanan gruba ait SEM görüntüsü.

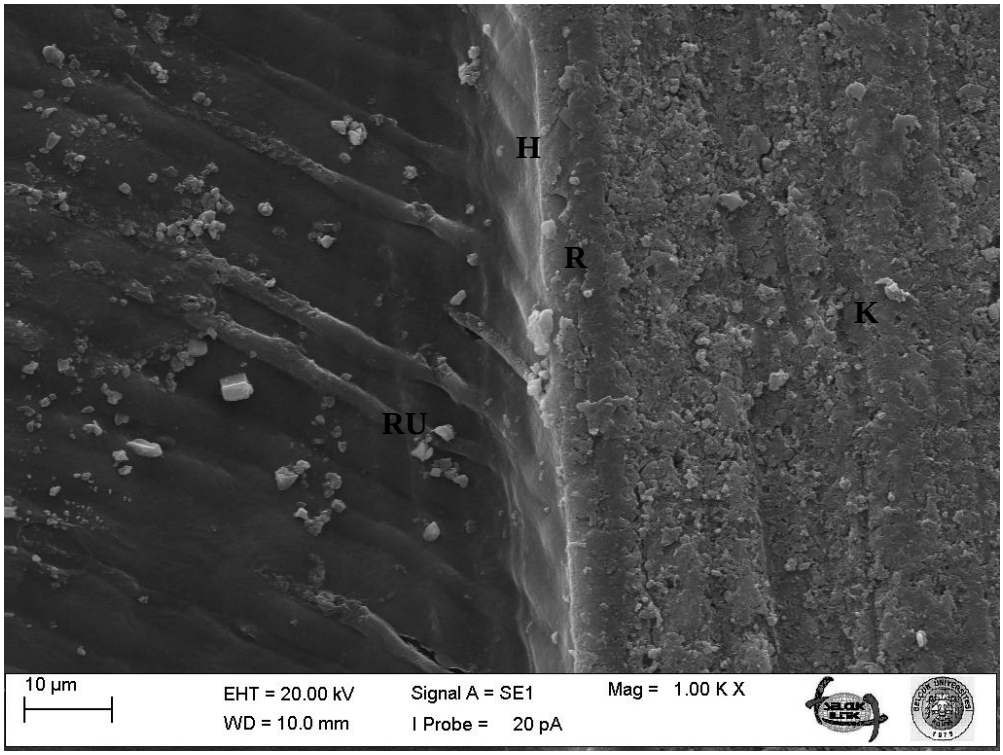
RB uygulanmış çürükten etkilenmiş süt dişi dentininin bağlantı ara yüzeyi görüntülerinde; düzensiz bir rezin tabaka, hibrit tabaka ve diğer gruplara nazaran oldukça kısa rezin uzantıları izlendi. (Resim 3.12).




**Resim 3.12.** Çürükten etkilenmiş süt dişi dentini - RB uygulanan gruba ait SEM görüntüsü.

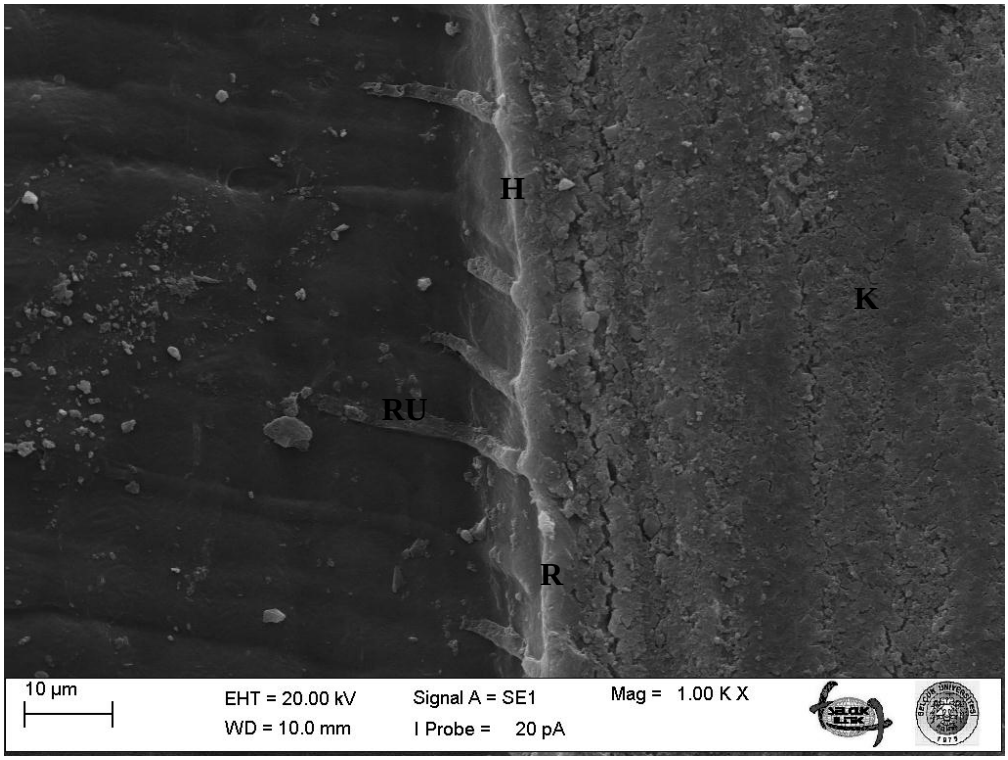
### 3.5.4. HYP Uygulanan Gruba Ait SEM Görüntüleri

HYP uygulanmış sağlam süt dişi dentininin bağlantı ara yüzeyi görüntülerinde; homojen hibrit tabaka, kalın bir rezin tabaka ve yaklaşık 30 µm kalınlığında rezin uzantıları izlendi (Resim 3.13).




**Resim 3.13.** Sağlam süt dişi dentini - HYP uygulanan gruba ait SEM görüntüsü.

HYP uygulanmış çürükten etkilenmiş süt dişi dentininin bağlantı ara yüzeyi görüntülerinde; hibrit tabaka, yaklaşık 3 µm kalınlığında düzenli bir rezin tabaka ve rezin uzantıları izlendi. Rezin uzantılarının kısa ve konik olduğu gözlemlendi (Resim 3.14).




**Resim 3.14.** Çürükten etkilenmiş süt dişi dentini - HYP uygulanan gruba ait SEM görüntüsü.

## 4. TARTIŞMA

Bu çalışmada, uzun yıllardır tıp alanında tedavi amaçlı kullanılan fotodinamik antimikrobiyal tedavinin, çürük oluşumunda önemli rol oynayan *S. mutans* ve *L. casei* üzerine antimikrobiyal etkisi ve bu tedavinin kompomer restorasyonların süt dişi dentin dokusuna bağlanma kuvvetine ve mikrosızıntısına etkisi in vitro olarak araştırıldı.

Çürük residivini önlemek için dişin restorasyonundan önce enfekte dentin dokusunun tamamı uzaklaştırılmalıdır (Banerjee ve ark 2000). Çünkü bu enfekte dentin dokusu bakterilerle kontamine olmuştur (Lundeen ve Roberson 1995). Ancak bu enfekte dokunun, klinik koşullarda tamamıyla kaldırılıp kaldırılmadığının tespiti oldukça zor olabilmektedir (Banerjee ve ark 2000, Neves ve ark 2011). Kavite preparasyonunun sonrasında çürük dokunun görsel olarak saptanabilmesi amacıyla ayna-sond ya da çürük belirleyici boyalar kullanılmaktadır. Ancak çürük tespitinde objektif bir yöntem olduğu düşünülen çürük belirleyici boyalar ile tespit edilen enfekte dokuların uzaklaştırılmasından sonra bile sağlam olduğu düşünülerek bırakılan dentin yapısında halen mikroorganizmaların kaldığı, bu boyaların kavite içerisindeki bütün mikroorganizmaların elimine edilmesinde kullanılabilecek bir yöntem olmadığı gösterilmiştir (Boston ve Graver 1994, Türkün ve ark 2003, Imazato ve ark 2006). Enfekte dentin dokusunun saptanmasında kullanılan başka bir yöntem de DİAGNOdent cihazıdır (Yonemoto ve ark 2005, Pretty 2006). Lazer ışığından yararlanan bu cihaz çürüğü diş dokularının floresansını ölçerek tespit etmektedir (Pretty 2006). Ancak floresans özelliği artan doku çürük olduğu düşünülerek algılanabileceğinden korunması gereken bu tabakanın kaldırılmasına neden olunabilir (Krause ve ark 2007).

Bu bağlamda çürüğün minimal invaziv teknikle kaldırılması sonrasında bir miktar bakteri içerebilmesine rağmen, remineralizasyon potansiyeli olan çürükten etkilenmiş dentin tabakasının bırakıldığı durumlarda kaviteye antibakteriyel etkili materyallerin uygulanması rezidüel çürük oluşumunu önlemeye yardımcı olacak ve restore edilen dişin uzun ömürlü olmasını sağlayacaktır (Özer ve ark 2003, Imazato ve ark 2006). Bu amaçla antibakteriyel etkinliğe sahip dentin bonding sistemler, restoratif materyaller ve çeşitli kavite dezenfektanlarının kullanımı önerilmektedir

(Imazato ve ark 1998, Türkün ve ark 2003, Imazato ve ark 2006, Tüzüner ve ark 2012).

Antibakteriyel özelliği olduğu söylenen çeşitli adeziv sistemler piyasada mevcuttur. Ancak bu adeziv sistemlerin antibakteriyel özelliklerinin çeşitli faktörlerden etkilenebildiği bildirilmektedir (Türkün ve ark 2003). Örneğin bakteriyel inhibisyonda önemli rol oynadığı düşünülen faktörlerden birisi self-etch adeziv sistemlerin primerlerinin asidik özelliklerinin olmasıdır (Imazato ve ark 2002). MDP (10-methacryloxydecyl dihydrogen phosphate) self-etch adeziv sistemlerin içeriğinde bulunan ana asidik monomerlerdendir (Gondim ve ark 2008). Imazato ve ark (2006), dentin bloklarını kullanarak MDP'nin antibakteriyel etkinliğini incelemişlerdir. MDP'nin çok düşük bir antibakteriyel etkisi olduğu bulunmuştur (Imazato ve ark 2006). Bunun nedeninin dentinin asidik ajanlara karşı oluşturduğu tamponlama etkisi olduğunu bildirmişlerdir (Imazato ve ark 2006, Gondim ve ark 2008).

Gondim ve ark (2008), Clearfil Protect Bond , Clearfil SE Bond, Clearfil Tri-S Bond ve Xeno-III adeziv sistemlerin polimerizasyondan önce ve sonra gerçekleşen antibakteriyel etkilerini değerlendirmişlerdir. Polimerizasyondan sonra materyallerin antibakteriyel etkilerinin önemli derecede azaldığını tespit etmişlerdir (Gondim ve ark 2008). Bunun nedeninin polimerizasyonun antibakteriyel komponentleri polimer matriks içinde hapsederek antibakteriyel bileşenlerin salınımını düşürmesinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Imazato ve ark 2002).

Piyasada çeşitli formları mevcut olan klorheksidin diş hekimliğinde son 20-30 yıldır sıklıkla tercih edilen başka bir antibakteriyel ajandır (Dallı ve ark 2009). Lessa ve ark (2010), klorheksidinin değişik konsantrasyonlarda *S. mutans* üzerinde etkili olduğunu agar difüzyon testi ve transdentinal difüzyon test yöntemi ile göstermişlerdir. AL-Bayaty ve ark (2011), hyaluronik asit (Gengigel) ve klorheksidin (Oradex) bazlı kimyasal ajanları karşılaştırdıkları çalışmalarında bu iki materyalin de diş hekimliği alanında ağız ile ilişkili bakterilere karşı antibakteriyel etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Ancak yapılan çalışmalarda kavite dezenfeksiyonu amacıyla kullanılan klorheksidin, hyaluronik asit, aleo vera içerikli materyallerin adeziv sistemlerin dentine olan bağlantısını olumsuz yönde etkilediği bildirilmektedir (Tüzüner ve ark 2012). Örneğin Tüzüner ve ark (2012), ticari olarak piyasada yer alan klorheksidin (Corsdoyl gel - % 1 klorheksidin ve Cervitec gel - %0,2 klorheksidin + % 0,2 sodyum fluori), aleo vera (Forever Bright) ve hyaluronik asit (Gengigel) içerikli ticari antibakteriyel jel formülasyonlarını test ettikleri çalışmalarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında antibakteriyel amaçlı kullanılan tüm jeller daha düşük bağlanma dayanımı değerleri göstermişlerdir.

Darabi ve ark (2009), self-etch adeziv sistem olan Adhese uygulaması öncesinde kavite dezenfektanı olarak Concepsis (2% klorheksidin digluconate) kullanımının mikrosızıntıyı anlamlı düzeyde artırdığını bildirmişlerdir. Klorheksidin kullanımı sonrasında dentinin yüzey enerjisinin artışı olsa da dentinin gereğinden fazla nemlenmesi bağlantının olumsuz yönde etkilenmesine neden olmaktadır (Tüzüner ve ark 2012).

Yapılan bu çalışmalar gösteriyor ki henüz tam anlamıyla kavite dezenfeksiyonu amacıyla kullanılabilecek bir yöntem tespit edilememiştir. Bu amaçla kullanılması önerilen bir yöntemde fotodinamik tedavi (FDT)'dir (Pereira ve ark 2012). FDT, 1900'lü yıllarda keşfedilmiş (Finsen 1901) ve daha sonra geliştirilerek dermatoloji, oftalmoloji, gastroenteroloji ve kardiyoloji olmak üzere birçok tıbbi alanda kullanılmıştır (Konapka ve Goslinski 2007). FDT, fotosensitizör (FS)'ün ışıkla aktivasyonu sonucunda oluşan reaktif oksijen türlerinin hedef hücrelerin ölümüne neden olması şeklinde tanımlanmaktadır (Konapka ve Goslinski 2007). FDT sonucunda oluşan tekil oksijenin bakteriler, virüslar, protozoonlar ve mantarlar gibi mikroorganizma grupları üzerinde öldürücü etkisi vardır (Gürsoy ve ark 2012). Ayrıca FDT antimikrobiyal etkisini değişik metabolik yollar izleyerek ve birçok hücre yapısını etkileyerek gösterdiği için mikroorganizmalar FDT'ye direnç geliştiremez (Konapka ve Goslinski 2007). Yapılan çalışmalarda FDT'nin oral enfeksiyonlar gibi lokalize mikrobiyal enfeksiyonlar için güvenle kullanılabilecek bir yöntem olduğu bildirilmekte (Gürsoy ve ark 2012) ve çürükten etkilenmiş dentinde bulunan bakterileri elimine etmek için restoratif materyalden önce kullanılabilecek yararlı bir teknik olduğu iddia edilmektedir (Nammour ve ark 2010). Bu tez

çalışması da FDT'nin diş hekimliği alanında antibakteriyel ajan olarak kullanımının araştırılması düşüncesi ile kurgulanmıştır.

FDT, mikroorganizmaların FS ve ışık vasıtası ile oksijen varlığında yok edilmesi esasına dayanır (Konapka ve Goslinski 2007). Uygulanan çeşitli FS'lerin her birinin absorbsiyon spektrumu farklıdır ve kullanılacak ışık kaynağı FS'ün aktive olmasını sağlayabilecek uygun dalga boyu aralığına sahip olmalıdır (Kutlubay ve ark 2011).

FDT'nin antimikrobiyal etkinliğinin araştırıldığı çeşitli çalışmalarda ışık kaynağı olarak değişik dalga boyu aralığına sahip lazer sistemleri kullanılmıştır (Lima ve ark 2009). Burns ve ark (1993) tarafından HeNe lazer ile Toluidine blue (TB) aktive edilerek bu yöntemin *S. mutans, S. sobrinus, L. casei* ve *A. viscosus* üzerinde etkili olup olmadığı araştırılmıştır. Yalnız HeNe lazer uygulaması bakteriler üzerinde etkili olmazken TB ve HeNe lazer birlikte kullanıldığında bu yöntemin etkili olduğu tespit edilmiştir (Burns ve ark 1993). Bunun yanında ekonomik olmaları nedeniyle LED ışık kaynaklarının da kullanıldığı çalışmalar mevcuttur (Lima ve ark 2009). Zanin ve ark (2005), HeNe lazer ve LED ışık kaynaklarının TB üzerindeki etkinliğini araştırmışlardır. Yapılan bu çalışmaya göre her iki ışık kaynağının da TB'yu aktive ederek hidroksiapatit diskleri üzerinde üretilen biyofilm içerisindeki *S. mutans*'ı yaklaşık % 99 antimikrobiyal etkinlik sağladığı tespit edilmiştir (Zanin ve ark 2005). Rios ve ark (2011) TB'yu 625-635 nm dalga boyuna sahip kırmızı ışık yayan LED ışık kaynağı ile aktive etmişlerdir. Vahabi ve ark (2011) da TB'yu 630 nm dalga boyuna sahip ışık altında tekil oksijen üreterek antibakteriyel etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Bu tez çalışmasında TB aktivasyonu için, daha önceki çalışmalarda TB'yu aktive etmede yeterli olduğunun kanıtlanmasından dolayı, 625-635 nm dalga boyu aralığına sahip, FDT için özel olarak üretilmiş, kırmızı ışık yayan LED ışık kaynağı (FotoSan, CMS Dental, Copenhagen, Danimarka) kullanıldı.

Çalışmamızda kullanılan diğer FS'ler Rose Bengal (RB) ve Hypericin (HYP)'dir. RB'in aktive olduğu dalga boyu aralığı 450-600 nm (Paulinoa ve ark 2005) ve HYP'nin ise 460 nm olup diş hekimliğinde restoratif materyallerin polimerizasyonunda kullanılan QTH (Quarts tungsten halogen lights) ışık

kaynaklarının (400–500 nm) dalga boyu aralığı ile uygunluk göstermektedir (Lüthi ve ark 2009). Paulinoa ve ark (2005), RB'li 400-500 nm dalga boyu aralığına sahip QTH ışık kaynağı ile aktive ederek, bu FS'ün *S. mutans* üzerinde antibakteriyel etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Lüthi ve ark (2009) da 400-505 nm dalga boyu aralığında QTH ışık kaynağı ile HYP'nin *S. mutans* üzerine etkinliğini kanıtlamışlardır. Bu amaçla çalışmamızda RB ve HYP'nin aktivasyonu için, diş hekimliğinde polimerizasyon amacıyla rutin kullanılmaları, kullanımlarının kolay ve ucuz olmaları nedeniyle QTH ışık kaynağı (Astralis 3, Ivoclar Vivadent, Schaan, Lıechtenstein) kullanıldı.

Oral bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkinliklerinin test edildiği çeşitli FS'ler vardır (Lima ve ark 2009, Lüthi ve ark 2009, Costa ve ark 2010). Rolim ve ark (2012)'nın yaptığı çalışmada aynı konsantrasyonda (163,5 μM) farklı FS'ler kullanılarak FDT'nin *S.mutans* üzerindeki antimikrobiyal etkinliği araştırılmıştır. Methylene blue, TB, malachite green 636 nm dalga boyuna sahip LED (Light Emitting Diodes) ışık kaynağı ile aktive edilirken; eosin, erythrosine, rose bengal 570 nm dalga boyuna sahip QTH ışık kaynağı ile aktive edilmiştir. 0,1 ml *S. mutans* süspansiyonu üzerine 0,1 ml FS uygulanmış ve sonrasında uygun dalga boyunda ışık kaynağı ile aktive edilmiştir (Rolim ve ark 2012). Mililitre başına düşen bakteri sayısı hesaplandığında mikroorganizma sayısının en fazla TB uygulanan grupta azaldığı tespit edilmiştir (Rolim ve ark 2012). Yani TB'nun yukarıda adı geçen FS'ler arasında en fazla antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Rolim ve ark 2012).

TB ve Methylene blue benzer kimyasal yapıya sahiptir ve ışık altında benzer fotokimyasal aktivite gösterirler (Usacheva ve ark 2003). Ancak Usacheva ve ark (2003)'ı MB (1 mM) ve TB (1 mM)'nun bakterilerin bulunduğu süspansiyon (*Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Enterococcus faecalis, Hemophilus influenzae, Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*) üzerindeki etkilerini karşılaştırdıkları çalışmalarında TB'nun daha etkili bir materyal olduğunu tespit etmişlerdir. TB'nun hücre membranından diffüze olabilme yeteneğinin daha iyi olduğunu ve hücre membranının hidrofobik bölgelerinde birikerek daha fazla bakterisidal etki gösterdiğini bildirmişlerdir (Usacheva ve ark 2003).

Lima ve ark (2009) in situ olarak oluşturdukları çürük dentin dokusu üzerine, 5 µl TB (100 µg $ml^{-1}$ konsantrasyonda)'yu LED ışık kaynağı (620-660 nm) ile aktive ederek uygulamışlardır. Daha sonra örneklerden dentin talaşı toplanarak gram başına düşen bakteri (toplam streptococ, *S. mutans* ve lactobacil) miktarı belirlenmiştir (Lima ve ark 2009). Sonuç olarak, dentin çürüğü içerisindeki mikroorganizmaların eliminasyonunda kullanılabilecek etkili bir yöntem olduğu bildirilmiştir. Oral mikroorganizmalar üzerinde antibakteriyel etkili olduğu tespit edilen TB, bu bağlamda tez çalışmamıza dahil edilmiştir. Lima ve ark (2009)'nın yapmış olduğu çalışma baz alınarak 100 µg $ml^{-1}$ konsantrasyonda TB, LED ışık kaynağı ile aktive edilerek bu tez çalışmasında kullanılmıştır.

Kanser hücreleri üzerinde etkili olduğu bulunan HYP'nin ışıkla aktivasyonu sonucu reaktif oksijen türleri oluşur (Wang ve ark 2010). Reaktif oksijen türleri hücre DNA'sı ve mitokondrial membrana etkide bulunur ve bunun sonucunda hücre ölümü gerçekleşir (Wang ve ark 2010). Lüthi ve ark (2009) yaptıklar çalışmada HYP'nin *S. mutans* üzerinde etkinliğini test etmişlerdir. Çalışmada 10 µg/ml konsantrasyonda HYP, QTH ışık kaynağı ile aktive edilerek FDT'nin *S. mutans* üzerinde %99,9 oranında antibakteriyel etkili olduğu tespit edilmiştir (Lüthi ve ark 2009). Çalışmamızda, yukarıda adı geçen çalışmadan farklı olarak, HYP süt dişi dentin dokusuna uygulanmıştır ve dentin tübülleri içine penetre olan bakteriler üzerindeki etkinliği araştırılmıştır. Çalışmamızda Lüthi ve ark (2009)'nın çalışmasında kullandığı konsantrasyonda (10 µg/ml) HYP kullanılmıştır.

Paulinoa ve ark (2005), değişik konsantrasyonlardaki (0-50 µM) RB'i 0-40 sn arasında değişen sürelerde QTH ışık kaynağı (455 ± 20 nm) ile aktive ederek *S. mutans* ve fibroblast hücreleri üzerinde öldürücü etkisi olup olmadığını araştırmışlardır (Paulino ve ark 2005). Sonuç olarak yalnız ışığın herhangi bir etkinliğinin olmadığını, yalnız RB'in karanlık ortamda 5 µM konsantrasyon üzerinde antibakteriyel etkili olduğunu, RB'e ışık uygulanarak aktive edildiğinde ise daha düşük (0,5 µM) konsantrasyonda bütün bakteriler ölürken fibroblast hücreleri üzerinde toksik etki göstermediği bulunuyor (Paulino ve ark 2005). Materyallerin in vivo olarak kullanımında potansiyel yararlarının yanı sıra oluşturabileceği yan etkiler de göz önünde bulundurulmalıdır (Terzi ve Kansu 2010). Bu bağlamda çalışmamızda

oral mikroorganizmalar üzerinde RB'nin en düşük konsantrasyonu (0,5 μM) tercih edilmiştir.

Literatür taraması yapıldığında çalışmamızda kullandığımız FS'lerin süt dişi dentin dokusu üzerine uygulanarak yapılan herhangi bir mikrobiyolojik çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak materyal diş dokuları üzerine uygulandığında FS'lerin penetrasyonu, daha önce de belirtildiği gibi, dentin dokusu tarafından sınırlandırılabileceği için klinik koşullarda bu materyallerin uygulanması sonucunda FS'ler aynı antibakteriyel etki göstermeyebilir (Williams ve ark 2004). Ayrıca daha önce yapılan çalışmalara göre bakterilerin dentin içindeki penetrasyon derinliği bakteriler arasında çeşitlilik göstermektedir (Williams ve ark 2004). Berkiten ve ark (2000) bakterilerin dentin tübüllerine penetrasyon derinliklerini incelemişlerdir. Dentin tübüllerine *S.sanguis* 382.3 μm penetre olabilirken *P. intermedia'*nın 25.9 μm penetre olduğu gözlenmiştir (Berkiten ve ark 2000). Ayrıca *P. intermedia*'nın her dentin tübülüne penetre olamadığı bildirilmiştir (Berkiten ve ark 2000).

Williams ve ark (2004), çürük dentin dokusu ve kollojen doku üzerinde TB'nun antimikrobiyal etkinliğini araştırmışlardır ve FS'ün dentin dokusunda kollojen dokuya göre daha az etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Dentin dokusu içerisine invaze olan bakterilerin penetrasyon derinliği tam olarak tespit edilememektedir (Özer ve ark 2003). FS'lerin dentin dokusu üzerine uygulanması sonrasında, FS'ün bakterilerin penetre olduğu bölgelere ulaşıp ulaşmadığı tam olarak bilinmemektedir (Williams ve ark 2004). Ayrıca FS bakteriye ulaşsa bile, FS'ün aktivasyonu için gerekli olan ışık bu bölgeye ulaşmayabilir (Williams ve ark 2004). Bu nedenden dolayı FDT'nin diş dokuları üzerinde etkinliği değişebilir (Williams ve ark 2004). Bu bağlamda çalışmamızda kullanılan TB, HYP ve RB'in diş dokuları üzerine direkt uygulanarak antimikrobiyal etkinliği araştırılmıştır.

Antibakteriyel materyallerin test edilmesi amacıyla in vitro koşullarda çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (Özer ve ark 2003, Özel ve ark 2005, Lewinstein ve ark 2005, Imazato ve ark 2006, Naorungroj ve ark 2010). Agar difüzyon testi dişhekimliğinde kullanılan materyallerin antibakteriyel etkinliklerinin test

edilmesinde en sık tercih edilen yöntemdir (Özer ve ark 2003, Özel ve ark 2005, Lewinstein ve ark 2005, Imazato ve ark 2006, Naorungroj ve ark 2010).

Bu yöntem ucuz ve kolay uygulanabilir olduğundan pek çok materyalin antibakteriyel etkisinin aynı anda karşılaştırılmasına olanak tanımaktadır (Özel ve ark 2005). Direk agar difüzyon yönteminde seçilen mikroorganizma ile inoküle olmuş agar içine açılmış çukurlar içine antibakteriyel etkinliği test edilecek materyal direkt olarak yerleştirilirken, agar disk difüzyon yönteminde antibakteriyel materyal kağıt ya da mine/dentin disklerine emdirilerek agar içinde hazırlanan çukurlara yerleştirilir (Gondim ve ark 2008, Vaidyanathan ve ark 2009). Materyalin antibakteriyel etkisinin olup olmadığı bu çukurların etrafında oluşturduğu bakteriyel inhibisyon zonunun çapı ölçülerek belirlenir (Lewinstein ve ark 2005, Özel ve ark 2005, Imazato ve ark 2006, Naorungroj ve ark 2010).

Gondim ve ark (2008) yaptıkları çalışmada, dentin diskleri kullanarak Clearfil Protect Bond, Clearfil SE Bond, Clearfil Tri-S Bond and Xeno-III self etch adeziv sistemlerin karyojenik bakterilere karşı göstermiş olduğu etkisini incelenmiştir. Adeziv sistemden ayrılan antibakteriyel monomerlerin dentin disklerinden diffüze olma yeteneklerinin sınırlı olduğunu bildirmişlerdir. Kağıt disk kullandıkları deney grupları ile karşılaştırdıklarında bu gruplardan elde ettikleri inhibisyon zon çaplarının dentin diski kullandıkları gruplara göre daha geniş olduğunu saptamışlar ve materyallerin karyojenik bakteriler üzerindeki etkilerini test etmek amacıyla bu yöntemlerin kullanılmasının klinik uygulamalar için rehberlik edeceğini bildirmişlerdir (Gondim ve ark 2008).

Ancak agar difüzyon testlerinde, ölçülen inhibisyon zon çaplarının genişliği, antibakteriyel ajanın, testin uygulandığı mikroorganizma türü üzerindeki toksik etkisine ilave olarak, antibakteriyel materyalin hidrofilik agar içine diffüze olabilme yeteneğine ve bu ajanın viskozitesine bağlıdır (Lewinstein ve ark 2005). Bu yöntemle test edilen materyallerin sadece başlangıçtaki antibakteriyel özelliklerinin saptanabilmekte, uzun vadede antibakteriyel etkisinin olup olmadığı tespit edilememektedir (Karanıka-Kouma ve ark 2001). Ohmori ve ark (1999) diş hekimliğinde kullanılan antibakteriyel materyallerin etkinliklerinin test edilmesi amacıyla sığır dişlerinde ‘diş kavite model yöntemini’ kullanmışlardır. Araştırıcılar

klinik prosedürler simule edilebildiği için, diş kavite modeli yönteminin etkili bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir (Ohmori ve ark 1999).

Daha sonra Özer ve ark (2003), bu yöntemi daimi dişlerde kullanarak modifiye etmişlerdir. Özer ve ark (2003)'nın yaptıkları çalışmada da çukur agar metodu ve diş kavite modeli ile antibakteriyel özelliği bulunan iki farklı dentin bonding sistemini karşılaştırmışlar ve iki yöntemden de farklı sonuçlar elde etmişlerdir. Çukur agar metodunda ABF primer - bondun ve flor içeren Reactmer Bondun inhibisyon zon çaplarının genişliğinin aynı olduğunu yani benzer antibakteriyel etkiler tespit ettiklerini fakat, aynı materyaller diş kavite modeli metodunda kullanıldığında, ABF primerin diğer materyale göre çok daha kuvvetli antibakteriyel etki sergilediğini bildirmişlerdir (Özer ve ark 2003). Bunun nedeninin test edilen materyallerin içeriğindeki antibakteriyel komponentlerin agar içerisindeki difüzyonuna bağlı olduğunu belirtmişlerdir (Özer ve ark 2003). Bu bağlamda diş kavite yönteminin diş hekimliğinde kullanılan maddelerin antibakteriyel özelliklerinin test edilmesinde kullanılabilecek uygun bir yaklaşım olacağını bildirmişlerdir (Özer ve ark 2003).

Üç farklı fotosensitizörün antibakteriyel etkinliklerinin araştırıldığı bu çalışmada da, yukarıdaki çalışmalar rehber alınarak klinik prosedürlere en yakın simulasyonunun yapılabilmesi amacıyla süt dişi kavite modeli kullanılmıştır.

FS'lerin, *S. mutans* üzerine etkisi incelendiğinde; en az mikroorganizmanın RB uygulanan kaviteden izole edildiği tespit edilmiş olup, bunu sırasıyla HYP ve TB izlemiştir. İstatistiksel olarak *S. mutans* uygulanan kavitelerdeki kalan bakteri sayısı karşılaştırıldığında gruplar arasında fark olduğu tespit edilmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmeye göre; kontrol grubu (herhangi bir FS uygulanmayan grup) ile kavite dezenfeksiyonu amacıyla TB, HYP ve RB uygulanan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. TB, HYP ve RB birbirleri ile karşılaştırıldığında ise aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

FS'lerin, *L. casei* üzerine etkisi incelendiğinde ise; en az mikroorganizmanın RB uygulanan kaviteden izole edildiği gözlenmiştir. Bunu sırasıyla TB ve HYP izlemiştir. İstatistiksel olarak *L. casei* uygulanan kavitelerdeki kalan bakteri sayısı

karşılaştırıldığında gruplar arasında fark olduğu tespit edilmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmeye göre; kontrol grubu (herhangi bir FS uygulanmayan grup) ile kavite dezenfeksiyonu amacıyla TB, HYP ve RB uygulanan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. TB, HYP ve RB birbirleri ile karşılaştırıldığında ise aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

Bu çalışmada, kullanılan tüm FS'ler, kontrol grupu ile kıyaslandığında, her iki mikroorganizmanında sayıca azalmasını sağlayarak antibakteriyel aktivite göstermişlerdir. Elde ettiğimiz bu bulgular daha önce FS'lerin antibakteriyel özelliklerini test etmek amacıyla yapılan çalışmaların sonuçları ile uyum göstermektedir (Paulinoa ve ark 2005, Lüthi ve ark 2009, Lima ve ark 2009) Her üç FS'ün de *L. casei* ve *S. mutans* üzerinde etkili olması, hazırlanan dentin kavitelerinde rezidüel mikroorganizmanın elimine edilmesi açısından önemli bir avantaj sağlayabileceğini düşündürmektedir.

Bu mikrobiyolojik araştırmanın sonuçları, her üç FS'ün *L. casei* ve *S. mutans* eliminasyonunda, kavite dezenfeksiyonu amacıyla etkili bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir. Ancak bu materyallerin klinik uygulamada, kavitede preparasyon sonrasında kalabilen bakterilerin elimine edilmesi amacıyla restorasyon öncesinde kullanımlarının tavsiye edilebilmesi için restoratif materyal ile diş arasındaki adezyona etkilerinin de öncelikle in vitro koşullarda bağlanma dayanımı testleri ile değerlendirilmesi gerekmektedir.

Adeziv materyallerin dentin yada mineye bağlanma dayanımının ölçüldüğü çeşitli yöntemler mevcuttur (Burrow ve ark 2002). Makaslama ve çekme testleri, bu kuvvetin incelenmesinde sıklıkla kullanılan testlerdir (Burrow ve ark 2002). Bu yöntemlerde hazırlanan her bir örnek ara yüzde kopma meydana gelene kadar teste tabi tutulmaktadır (Burrow ve ark 2002). Ancak geleneksel bağlanma dayanım testleri örnekler arasında büyük farkların oluşmasına neden olmakta ve diş dokuları ile restoratif materyallerin bağlanma dayanımlarının ölçümünde gereken yeterli hassasiyeti sağlamamaktadır (Burrow ve ark 2002). Ayrıca bu test yöntemlerinde materyaller içinde kırılmalar (koheziv tip başarısızlık) meydana gelmesi karşılaşılan başka bir problemdir (Ünlü ve ark 2010). Koheziv tip kopma materyalin diş dokularına olan bağlanma dayanımının tam olarak ölçülebilmesini engellemekte

(Cebe 2011) ve klinik koşullarda bu tip kopma ile karşılaşılmamaktadır (Poitevin ve ark 2007).

Bir dişten çok sayıda örnek elde edilebilen, çok küçük yüzey alanlarının oluşturulduğu örneklerin kullanıldığı ve bu nedenle de oluşabilecek hataların en aza indirildiği düşünülen "mikrogerilme test yöntemi" araştırmacılar tarafından önerilmektedir (Burrow ve ark 2002).

Mikrogerilme test yöntemi restoratif materyal ile diş arasındaki adezyonun başarısının test edilmesi amacıyla kullanılan güvenilir bir metottur (Scherrer ve ark 2010, Ma ve ark 2011). Bu test yönteminde örneklerin küçük boyutta olması ile (yüzey alanı yaklaşık 1 $mm^2$); rezin/dentin ara yüzeyinde optimal stres dağılımının sağlanması, daha fazla sayıda adeziv ve daha az sayıda koheziv kırılmanın gerçekleşmesi, daha yüksek arayüz bağlanma dayanımlarının ölçülebilmesi gibi avantajlar oluşturmaktadır (Sano ve ark 1994).

Escrıbano ve ark (2003), bağlanma yüzey alanının bağlanma dayanımı değerlerine etkisini değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmalarında bağlanma yüzey alanının boyutunun bağlanma dayanımı değerlerini etkilediğini bildirmişlerdir. Yüzey alanının küçülmesi dentin-adeziv bağlanma ara yüzeyinde olma ihtimali olan defektlerin önüne geçmekte ve böylece daha yüksek bağlanma değerleri oluşmaktadır (Escrıbano ve ark 2003, Armstrong ve ark 2010). Bu bağlamda mikrogerilim bağlanma dayanımı testinde yaklaşık 1 $mm^2$'lik dentin çubukları oluşturulması bu yöntemi kullananlar için avantaj sağlamaktadır.

Ma ve ark (2011)'nın süt dişi dentin dokusu ile yaptıkları mikrogerilme bağlanma dayanım testinde çok az sayıda koheziv kırılmanın gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Bunu örneklerin yüzey alanının çok küçük olmasına bağlamaktadırlar. Örneklerin yüzey alanının küçülmesi restoratif materyal uygulandıktan sonra ara yüzeyde oluşabilecek olan hataları en aza indireceğinden bağlanma kuvvetinde artışa neden olacağı söylenmiştir (Burrow ve ark 2002).

Yöntemin avantajları göz önüne alınarak, FDT'nin kavite dezenfeksiyonunda kullanımının kompomer restorasyonların süt dişi dentin dokusuna bağlanma

dayanımına etkisinin incelendiği bu çalışmada mikrogerilme bağlanma testinden yararlanılmıştır.

Mikrogerilim bağlanma dayanımı testinin uygulanabilmesi için testin tabi tutulacağı ara yüzün içinde bulunduğu değişik şekilde örnekler hazırlanmaktadır. Çubuk (sticks,non-trimming teknik), kum saati (hourglass) ve haltere benzer şekilde (dumbbell) hazırlanabilen örneklerin yapım aşamasında hassas davranılması oldukça önemlidir (Ghassemieh 2008, Raposo ve ark 2012). Kum saati şeklinde hazırlanan örneklerde bağlanma ara yüzeyinde şekillendirme için preparasyon yapılması bu bölgede stres birikimine neden olur (Hosoya ve ark 2006, Ghassemieh 2008, Raposo ve ark 2012). Kum saati ya da halter şekilli örneklerin hazırlaması aşamasında örnekler de kırılmalar olabilmektedir (Hosoya ve ark 2006, Ghassemieh 2008). Ayrıca bu örneklerin şekillerinin simetrik ve standart olması oldukça zordur (Hosoya ve ark 2006). Çubuk örneklerin teknik olarak hazırlanması daha kolay olmakta ve diğer örneklere göre bir dişten çok daha fazla sayıda örnek elde edilebilmektedir (Hosoya ve ark 2006).

Hosoya ve ark (2006)'nın yaptığı bir çalışmada ise örnek hazırlama aşamasında frezin oluşturacağı vibrasyonun ve basıncın, süt dişi dentininin zayıf fiziksel özellikleri nedeniyle, bağlantı ara yüzeyine zarar verebileceğini bildirmiş ve süt dişinin kullanılacağı bağlanma dayanımı testlerinde çubuk şeklindeki örneklerin kullanılmasını tavsiye etmişlerdir (Hosoya ve ark 2006). Bu avantajlar göz önünde bulundurularak bu çalışmada non-trimming tekniği kullanılarak çubuk şeklinde örnekler hazırlanmıştır.

Literatür incelendiğinde diş hekimliğinde kullanılan restoratif materyallerin bağlanma dayanımlarını araştırmak amacıyla yada restoratif materyal uygulandıktan sonra arayüzde olması ihtimal sızıntıyı değerlendirmek amacıyla süt yada daimi dişin kullanıldığı çeşitli çalışmalar mevcuttur (Sardella ve ark 2005, Hosoya ve ark 2006, Karaarslan ve ark 2012). Bilindiği gibi, morfolojik ve yapısal olarak daimi diş dentininden farklılık gösteren süt dişi dentini mineral içeriği bakımından da daimi dişlerden farklılık arz etmektedir (Sönmez ve Akbayoba 2008). Bu bağlamda FS'lerin, restoratif materyallerin süt dişlerindeki adezyonuna etkilerinin ayrıca

değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu nedenle bu çalışmada da ortodontik, patolojik veya fizyolojik nedenlerle çekilmiş süt molar dişler kullanıldı.

Çalışmalarda kullanılacak olan dişlerin, çekildikten sonra çalışmada kullanılıncaya kadar dehidratasyonu engellemek amacıyla saklama solüsyonunda tutulması gerekir (Tosun ve ark 2005). Ayrıca saklama solusyonunun kimyasal içeriği diş yapısını etkileyebilir ve böylece test edilecek materyalin diş üzerinde olan etkisini değiştirebilir (Tosun ve ark 2005). Bu nedenle saklama koşulları önemlidir. ISO TR 11450 standartlarının (1991), dental materyallerin diş yapısına adezyon testiyle ilgili rapor yayınlamıştır. Bu rapora göre dişlerin akan suda kan ve diğer doku artıkları temizlendikten sonra, distile su içerisinde saklanmasının uygun olduğu bildirilmiştir (ADA Winter 2007). Bizim çalışmamızda da dişler üzerlerindeki organik artıklar uzaklaştırdıktan sonra +4 °C de distile su içerisinde saklandı (Karaarslan ve ark 2012, Raposo ve ark 2012).

Adeziv sistemlerin dentine bağlanma dayanımı ve mikrosızıntısı uygulandığı dentin tipine göre farklılık göstermektedir (Ünlü ve ark 2010). Çürükten etkilenmiş dentin morfolojik yapısı kimyasal yapısı ve fiziksel özellikleri bakımından sağlam dentin farklıdır (Nakajima ve ark 2011). Çoğu in vitro çalışmada substrat olarak sağlam dentin kullanılmıştır (Sonoda ve ark 2005, Nakajima ve ark 2011). Ancak klinikte karşılaşılan durumlar düşünülünce sağlam dentinle yapılan çalışmaların klinik şartları tam olarak yansıtmadığı görülmektedir (Sonoda ve ark 2005). Ayrıca kısmen demineralize olan çürükten etkilenmiş dentinin mineral/organik içeriği, morfolojik ve kimyasal yapısı sağlam dentinden farklı olduğu için ve preparasyon sonrasında oluşan smear tabakası her iki dentin tipinde farklı olmakta, bu farklılık da bağlanma dayanımını etkilemektedir (Nakajima ve ark 2011). Çalışmamızın mikrogerilim bağlanma dayanımı kısmında FS'lerin hem sağlam hem de çürükten etkilenmiş dentin üzerindeki etkileri karşılaştırarak incelendi.

Yapılan literatür taramasında FS'lerin adeziv sistemlerin dentine bağlanma dayanımına olan etkisinin değerlendirildiği sadece bir çalışma olduğu tespit edilmiştir. Cebe (2011), farklı dezenfeksiyon yöntemlerinin iki farklı adeziv sistemin dentine olan bağlantısı üzerine etkilerini araştırmıştır. Aproksimal çürüklü insan molar dişlerinin kullanıldığı bu çalışmada, dişler önce farklı dezenfeksiyon

yöntemleri için (Frez, Nd:YAG lazer, Klorheksidin ve TB+LED) 4 ana gruba ve daha sonra bu ana gruplar da tek aşamalı self-etch (Clearfil $S^3$ bond) veya iki aşamalı self-etch adeziv rezin (Adper SE Plus) uygulanması için 2 alt gruba ayrıldı. Bu çalışmada hem Adper SE Plus grubunda hem de Clearfil $S^3$ bond grubunda kavite dezenfeksiyonu amacıyla TB+LED uygulamasının, enfekte dentin dokusunu kaldırmak amacıyla sadece frez kullanılan, herhangi bir dezenfeksiyon yapılmayan, gruplara göre düşük bağlanma dayanımı oluşturduğu bulunmuştur. Ayrıca kavite dezenfeksiyonu amacıyla TB+LED uygulanan gruplarda, kullanılan adeziv sisteme göre bağlanma dayanımının değişebildiğini bildirmişlerdir. TB+LED +Adper SE Plus'ın bağlanma dayanımı TB+LED + Clearfil $S^3$ Bond'un bağlanma dayanımından yüksek bulunmuştur. TB+LED + Adper SE Plus ve TB+LED + Clearfil $S^3$ Bond grubu ve diğer yöntemler karşılaştırıldığında her iki grubunda, Nd:YAG lazer gruplarından daha yüksek bağlanma dayanımı oluşturduğu tespit edilmiştir.

Cebe (2011)'nin yapmış olduğu çalışmada çürük daimi dişler kullanılırken, bu çalışmada çürük ve sağlam süt dişi kullanılmıştır. Çalışmamızın sonuçlarına göre TB uygulaması sonrasında restoratif materyalin çürükten etkilenmiş ve sağlam süt dişi dentin dokusuna bağlanma dayanımı değerleri karşılaştırıldığında, çürükten etkilenmiş ve sağlam süt dişi dentin grupları arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. FS uygulaması sonrası elde edilen bağlanma değerlerinin, klinik olarak kabul edilebilir olan bağlanma değerinden (20 MPa) (Cebe 2011) yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca çalışmamızın sonuçlarına göre TB uygulanan gruplar (çürükten etkilenmiş ve sağlam süt dişi dentin grupları) kontrol grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. Yani Cebe (2011)'nin yapmış olduğu çalışmanın aksine bu tez çalışmasında TB'nun bağlanma dayanımı değerleri üzerinde olumsuz bir etkisi bulunmamıştır. Bunun nedeninin çalışmamızda süt dişi dentininin kullanılmasından ve de restoratif materyalin farklılığından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Daha önce de belirtildiği gibi süt ve daimi dişlerin morfolojik, yapısal ve mineral içeriği bakımından farklılık göstermesi yapılan bağlanma dayanımı testinde aynı materyaller kullanılsa bile sonuçlarda değişikliklere neden olabilmektedir (Gateva ve ark 2012).

Bu tez çalışmasında antibakteriyel özellikleri olduğu kanıtlanarak kompomer dolgu maddesinin süt dişi dentinine bağlanma dayanımına etkisinin test edildiği diğer

FS'ler HYP ve RB'dir. Her bir materyalin sağlam ve çürükten etkilenmiş dentin örnekleri kendi içinde istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, dentin yüzeyine FS uygulaması ile, kompomer dolgu maddesinin süt dişi dentinine bağlanma dayanımı değerlerinin dentin tipine göre (Sağlam ve çürükten etkilenmiş) farklılık göstermediği bulunmuştur.

Sağlam süt dişi dentin örnekleri kendi içinde değerlendirildiğinde HYP ve RB uygulanan gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir. Yani kavite dezenfeksiyonu amacıyla HYP ve RB uygulanan grupların bağlanma dayanımı değerleri kontrol grubu ile benzer bulunmuştur. Ayrıca HYP ve RB, TB ile karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir.

Aynı şekilde çürükten etkilenmiş süt dişi dentin örnekleri de kendi içinde değerlendirildiğinde TB, HYP, RB uygulanan gruplar ve kontrol grubunun ikili karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir.

TB dışında, kullanılan HYP ve RB'in bağlanma dayanımına ait bir çalışmaya rastlanılmamasından dolayı sonuçlarımızı karşılaştırma imkanı bulamadık. Ancak elde ettiğimiz bulgular neticesinde TB, HYP ve RB'in restoratif maddelerin dentine bağlanma dayanımını olumsuz yönde etkilemediğini düşünmekteyiz. Çalışmamızın birinci bölümünde elde edilen sonuçlarda bu 3 FS'ün antibakteriyel etkinlik gösterdiği bulunmuştur. Çalışmamızın hem mikrobiyolojik sonuçları hem de bağlanma dayanımına ait sonuçları göz önüne alındığında FDT'nin kavite dezenfeksiyonu amacıyla kullanılabilecek bir yöntem olduğu söylenilebilir.

Adeziv sistemlerin bağlanma dayanımlarının güvenilirliğini yansıtması nedeniyle bağlanma dayanımı testinden sonra yapılan kırılma analizleri önemlidir. Mine, dentin veya kompozit rezinin içinde oluşan koheziv tip kopma ile klinik şartlarda karşılaşılmamaktadır (Poitevin ve ark 2007). Bu nedenle in vitro deneylerde gerçekleşebilen çeşitli kırılma tipleri içerisinde ara yüzeydeki asıl bağlanma dayanımını adeziv tip başarısızlıklar yansıtmaktadır (Poitevin ve ark 2007). Ayrıca koheziv başarısızlıklar in vitro çalışmalarda örnekler hazırlanırken dentin ya da restoratif materyalin içinde oluşturulan stres birikiminden olabilmektedir (Armstrong

ve ark 2010). Bu nedenlerden dolayı çalışmalarda bağlanma dayanımlarını daha doğru yansıtabilen adeziv tipte başarısızlıkların olması istenmektedir (Poitevin ve ark 2007).

Bu tez çalışmasında genel olarak kırılma tipleri incelendiğinde adeziv tip başarısızlığın koheziv tip başarısızlığa oranla daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Dentin örneklerine ait adeziv tip başarısızlık %71.875 olarak belirlenmiştir. Adeziv tip kopmanın daha fazla gerçekleşmiş olması çalışma sonucunda bulunan bağlanma dayanımı değerlerinin klinik koşulları daha çok yansıttığını göstermektedir (Poitevin ve ark 2007).

SEM çalışmaları diş hekimliğinde restoratif materyal-dentin ara yüzünün değerlendirilmesi amacıyla kullanılan önemli bir görüntüleme tekniğidir. SEM mikro seviyede sırasıyla restoratif materyalin, rezin tabakanın, hibrit tabakasının, rezin uzantılarının, dentin tübüllerinin ayrı ayrı yapılarını ve birbirleriyle olan ilişkisini değerlendirmek için kullanılmaktadır. Bu çalışmada FS'lerin adeziv sistemler ile dentin dokusu arasındaki ilişkiye olan etkisi SEM ile incelenmiştir.

Hsu ve ark (2007) self-etch adeziv sistem olan Clearfil SE Bond ile yaptıkları çalışmalarında elde ettikleri SEM görüntülerine göre çürükten etkilenmiş dentindeki hibrit tabakanın sağlam dentindekine göre daha ince olduğunu bildirmişlerdir.

Tosun ve ark (2008)'ın çürükten etkilenmiş ve sağlam süt dişi dentini ile yaptıkları çalışmalarında SEM görüntülerini incelemişlerdir. Çürükten etkilenmiş ve sağlam dentin gruplarından benzer SEM görüntüleri elde ettiklerini bildirmişlerdir (Tosun ve ark 2008). Bu tez çalışmasında da Tosun ve ark (2008)'nın yapmış olduğu çalışmaya paralel olarak çürükten etkilenmiş ve sağlam dentin gruplarından benzer SEM görüntüleri elde edilmiştir. Literatür taraması yapıldığında FS'lerin diş dokuları üzerindeki etkisini inceleyen herhangi bir SEM çalışmasına rastlanmamıştır.

Örnekleri SEM ile incelemenin bir diğer amacıda FS'lerin dentin yüzeyindeki etkilerini görmektir. Dentin yüzeyine asidik yüzey düzenleyici uygulandıktan sonra, demineralize dentin alanlarına düşük viskoziteli monomerlerin infiltre olması ve polimerize olmasıyla diş sert dokularında oluşan yapıya hibrid tabakası adı

verilmektedir (Karabulut 2009, Shashikiran ve ark 2002) ve bu rezin monomerin demineralize dentin derinliğince infiltrasyonu bağlanma kuvvetinin anahtarıdır (Shashikiran ve ark 2002). Demineralize bölgenin aşırı derin olması, primer ve adeziv rezinin o derinlikteki fibrillere ulaşamasına engel olabilir (Nör ve ark 1996, Karabulut 2009). Bu da hibrid tabakasının tabanında zayıf bir alan oluşmasına ve böylece kırılmaya daha yatkın bir bölge olmasına neden olur (Nör ve ark 1996). Çalışmamızda kullandığımız FS'lerin dentin yüzeyinde oluşturacağı herhangi bir etki primer ve adeziv rezinin bu bölgeye infiltre olmasını etkileyebilir. Bu amaçla çalışmamızda çürükten etkilenmiş ve sağlam süt dişi dentin yüzeyi üç farklı FS uygulaması ardından kompomer ile restore edildi ve SEM incelemesi için kesitler alındı. Yapılan dentin - rezin arayüz incelemesinde deney grupları ile kontrol grubu arasında benzer görüntüler elde edildi. Bu görüntüler sağlam ve çürükten etkilenmiş dentin gruplarında bu uygulamanın dentin yüzeyinde olumsuz bir değişikliğe neden olmadığı şeklinde yorumlanabilir.

Restoratif materyalin dişe uygulanmasının asıl amacı açığa çıkan dentin dokusunu oral çevreden gelebilecek zararlardan korumaktır (De Munck ve ark 2005). Bu bağlamda restorasyonun sızdırmaz olması dişin uzun ömürlü olması açısından önemlidir (Gonzalez ve ark 1997). Mikrosızıntı, restorasyon kenarları ve kavite duvarı arasında oluşan boşluklardan oral sıvılar, moleküller ve bakterilerin geçişi olarak tanımlanır (De Munck ve ark 2005, Gupta ve ark 2011). Mikrosızıntı sonucunda dişte hassasiyet ve ya pulpal enflamasyon, restorasyon kenarlarında ise renklenmeler ya da çürükler olabilmektedir (Schmid-Schwap ve ark 2011, Heintze 2012).

Mikrosızıntıyı değerlendirmek için geliştirilen ve kullanılan çeşitli test yöntemleri mevcuttur (Gonzalez ve ark 1997). Tarama elektron mikroskobu analizleri, kimyasal işaretleyiciler, otoradyografi, radyoaktif izotop penetrasyon analizleri ve boya sızıntı yöntemleri bu amaçla kullanılan metotlardır (Karaarslan ve ark 2011, Schmid-Schwap ve ark 2011). Boya penetrasyon yöntemi sızıntıyı tespit etmek amacıyla yaygın olarak kullanılan in vitro yöntemdir (Manhart ve ark 2001, De Munck ve ark 2005). Bazik fuksin, gümüş nitrat, metilen mavisi bu yöntemde kullanılan boyalardır (Heintze 2012). Çalışmamızda yaygın bir yöntem olması nedeniyle % 2'lik metilen mavisi kullanılmıştır.

Dentine tutunan adeziv sistemlerin etkinliğinin araştırıldığı çalışmalarda verileri doğru yorumlayabilmek için dentin tübüllerinin yapısının iyi bilinmesi gerekir (Keklikoğlu ve Balcıoğlu 2004). Bu noktada kullanılan örneklerin uygunluğunun saptanmasında dentin tübüllerinin seyri, sayısı, çapı ve konumları önemlilik arz etmektedir (Keklikoğlu ve Balcıoğlu 2004, Şirin Karaarslan 2012). Ayrıca mine prizmalarının düzensiz olması ve gingival bölgedeki minenin ince olması da adeziv materyallerin diş dokularına olan bağlantısını etkileyen faktörlerdendir (İlday ve ark 2009, Şirin Karaarslan 2012). Bu nedenle materyallerin etkinliği ile ilgili daha geniş bilgi elde edebilmek amacıyla çalışmamızın mikrosızıntı bölümünde sınıf II kavite dizayn edilerek materyallerin hem okluzal hem de gingival bögedeki sızıntı skorları değerlendirilmiştir.

Literatür taraması yapıldığında FDT ile ilgili yapılan çok az sayıda mikrosızıntı çalışması olduğu tespit edilmiştir. Şirin Karaarslan ve ark (2010) kavite dezenfeksiyonu amacıyla kullanılan, LED ışık kaynağı ile aktive edilen TB'nun, seramik inley restorasyonların mikrosızıntısı üzerine etkisini in vitro olarak değerlendirmişlerdir. Çürüksüz, insan 3. molar dişlerine, standart inley kaviteler hazırlanmıştır ve mikrosızıntı testi sonucunda okluzal ve gingival sızıntı skorları kaydedilmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmeye göre dişeti kenarlarında okluzal kenarlara göre daha fazla sızıntı olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar bu sonucu dişeti kenarında minenin daha ince ve kırılgan olmasına, dentin kanallarının konumunun ve yoğunluğunun farklı, dentin kanal sayısının daha az ve organik yapının daha fazla olmasına bağlamışlardır. TB+LED uygulanan seramik inleylerde uygulanmayanlara göre dişeti bölgesinde daha az sızıntı izlenmiştir. Çalışmaya göre FDT ile yapılan kavite dezenfeksiyon işlemi sonrasında özellikle dişeti kenarında başarılı sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir. Çalışmanın sonucunda TB+LED uygulaması nedeniyle örneklerde belirgin ölçüde daha az mikrosızıntı olduğu bildirilmekte ve FDT'nin bu amaçla klinikte kullanımı tavsiye edilmektedir.

Cebe (2011), tarafından yapılan çalışmada farklı dezenfeksiyon yöntemlerinin adeziv sistemlerin mikrosızıntısına etkisi değerlendirilmiştir. Çalışmada çürüklü daimi insan molar dişleri kullanılmış olup, toplanan dişler önce biri kontrol grubu olmak üzere toplam 4 gruba (Frez, Nd:YAG lazer, Klorheksidin ve TB+LED)

ayrılmıştır. Daha sonra bu gruplar 2 farklı self-etch adeziv rezin (Clearfil $S^3$ bond, Adper SE Plus) uygulanmak üzere ikişer gruba ayrılmıştır. Dezenfeksiyon yöntemlerin okluzal ve gingivaldeki mikrosızıntı değerleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; TB+LED grubunda anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ayrıca her iki adeziv sistemde kullanılan TB+LED uygulanan gruplar, kontrol grupları (Frez) ile karşılaştırıldığında, TB+LED uygulamasının mikrosızıntı üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Araştırmacı bu çalışmanın sonuçlarına dayanarak Şirin Karaarslan ve ark'larının (2010) yapmış olduğu çalışmanın aksine, TB+LED uygulamasının sızıntıyı azaltmadığını bildirmiştir ve Şirin Karaarslan ve ark'larının (2010) yapmış olduğu çalışmanın sonuçlarından farklı olmasını çürüklü dişler kullanılmasına, ayrıca kullanılan materyallerin farklı olmasına bağlamıştır.

Çalışmamızda okluzal ve gingival bölgedeki mikrosızıntı skorları kendi içinde istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, Şirin Karaarslan ve ark (2010)'nın yapmış olduğu çalışmaya paralel olarak, TB grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hem gingival bölgede hem de okluzal bölgede mikrosızıntıyı azalttığı bulunmuştur. HYP ve RB uygulanan gruplar ile istatistiksel olarak karşılaştırıldığında ise TB ile bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmış olup, TB'nun diğer gruplara göre daha az gingival ve okluzal sızıntı gösterdiği tespit edilmiştir. TB dışındaki gruplar, HYP,RB ve kontrol grubu, arasında istatistiksel olarak yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda gruplar arasında fark saptanmamıştır. Bu sonuç HYP ve RB'in mikrosızıntı üzerinde olumsuz herhangi bir etkisinin olmadığını göstermiştir. Mikrosızıntı çalışmasının sonuçları düşünüldüğünde bütün materyallerin mikrosızıntıyı olumsuz yönde etkilemediği görülmektedir. Bu bağlamda bütün materyallerin, kavite dezenfeksiyonu amacıyla, kullanımı önerilebilir. Buna ilave olarak TB uygulanan örneklerde belirgin ölçüde daha az mikrosızıntı görülmüş olması bu materyalin kavite dezenfeksiyonu amacıyla kullanımında avantaj sağlayacaktır.

Dentine tutunan adeziv sistemlerin etkinliğinin araştırıldığı çalışmalarda verileri doğru yorumlayabilmek için dentin tübüllerinin yapısının iyi bilinmesi gerekir (Keklikoğlu ve Balcıoğlu 2004). Bu noktada kullanılan örneklerin uygunluğunun saptanmasında dentin tübüllerinin seyri, sayısı, çapı ve konumları önemlilik arz etmektedir (Keklikoğlu ve Balcıoğlu 2004, Şirin Karaarslan 2011).

Restoratif materyallerin kenar sızdırmazlığının incelendiği çalışmaların çoğunda, gingival kenarda okluzal kenara oranla daha yüksek mikrosızıntı değerleri izlendiği bildirilmiştir (Altun ve ark 2008). Ancak bu tez çalışmasında her bir grubun kendi içinde gingival ve okluzal kenar mikrosızıntı skorları karşılaştırıldığında; HYP ve RB gruplarının gingival kenardaki mikrosızıntı değerleri okluzal kenardaki mikrosızıntı değerlerinden daha az olduğu tespit edilirken, kontrol grubu ve TB uygulanan grubun okluzal ve gingival mikrosızıntı değerleri benzer bulunmuştur. Çalışmamızda test ettğimiz FS'lerin rezin dentin arayüzündeki etkileri günümüzde yeni araştırılan bir konudur. Yapılan literatür taramasında bu konu ile ilgili bir bilgiye rastlanmamıştır. Ancak elde ettiğimiz veriler ışığında HYP ve RB uygulanan gruplarda gingival bölgede mikrosızıntının daha az olmasını uygulanan FS'ün farklı bölgelerde, dentin ve mine yapısının farklılığından dolayı, farklı etkinlik gösterebileceğini düşünmekteyiz.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kavite dezenfeksiyonu amacıyla kullanılan TB, HYP ve RB'in antimikrobiyal etkinliklerinin, bu FS'lerin kompomer restorasyonların süt dişi dentin dokusuna bağlanma kuvvetine ve mikrosızıntısına etkisinin in vitro olarak araştırıldığı çalışmamızdan aşağıdaki sonuçları ve önerileri çıkarabiliriz:

- Yapılan mikrobiyolojik inceleme sonucunda TB, HYP ve RB'in ışıkla aktivasyonu sonucunda *S. mutans, L. casei*'ye karşı antibakteriyel etkinlik göstermiştir.
- Diş kavite yönteminde, FS'lerin, *S. mutans* üzerine etkisi incelendiğinde; en az mikroorganizmanın RB uygulanan kaviteden izole edildiği ve bunu sırasıyla HYP ve TB'nun izlediği, ancak yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda aralarında fark olmadığı tespit edilmiştir.
- Diş kavite yönteminde, FS'lerin, *L. casei* üzerine etkisi incelendiğinde ise; en az mikroorganizmanın RB uygulanan kaviteden izole edildiği gözlenmiştir. Bunu sırasıyla TB ve HYP 'nin izlediği, ancak yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda aralarında fark olmadığı tespit edilmiştir.
- Mikrogerilme bağlanma dayanımı testi sonuçlarına göre, kavite dezenfeksiyonu amacıyla TB, HYP ve RB ile uygulanan kompomer restorasyonların, sağlam ve çürükten etkilenmiş süt dişi dentinine mikrogerilme bağlanma dayanımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur. TB, HYP ve RB uygulanan gruplar, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında FS'lerin bağlanma dayanımı değerlerine olumsuz yönde etkilemediği tespit edilmiştir.
- Yapılan istatistiksel analizler sonucunda TB, çalışmada kullanılan diğer FS'ler ile benzer antibakteriyal etki ve benzer bağlanma dayanım değerleri göstermiştir. Ancak diğer FS'lerden farklı olarak TB uygulanan örneklerde, hem okluzal hem de gingival bölgede belirgin ölçüde daha az mikrosızıntı görülmüştür.
- Okluzal ve gingival mikrosızıntı açısından HYP ve RB uygulanan gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı

tespit edilmiştir. Yani HYP ve RB'nin mikrosızıntıyı olumsuz yönde etkilemediği bulunmuştur.

Kavite içerisinde bulunan mikroorganizmaların eliminasyonu için çürüğün mekanik yöntemlerle kaldırılmasının yeterli görülmediği günümüzde, kavite dezenfeksiyonu amacıyla antibakteriyel solusyonların kullanılmasının uygun bir yaklaşım olduğu söylenmektedir. FDT'nin antimikrobiyal özelliğine dayanarak özellikle kavite hazırlanmasının ve temizlenmesinin zor olduğu çocuk diş hekimliğinde kavite dezenfeksiyonunda kullanımının yararlı olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca kavite dezenfeksiyonu amacıyla uygulanan TB'nun, yapılan restorasyonun mikrosızıntısını azaltması nedeniyle, diğer dezenfektanlara alternatif bir materyal olarak kullanılabileceği görüşündeyiz. Ancak diş hekimliğinde yeni olan FDT'nin klinik koşullarda kullanılabilmesi için in vitro koşullarda yapılan çalışmaların yanı sıra ilerleyen dönemlerde çalışmaların in vivo çalışmalar ile desteklenmesi gerekmektedir.

# 6.ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

## Fotodinamik Antimikrobiyal Tedavinin, Kompomer Restorasyonların Süt Dişi Dentin Dokusuna Bağlanma Kuvvetine ve Mikrosızıntısına Etkisinin İncelenmesi

**Süheyla Gökyar**

**Pedodonti Anabilim Dalı**

**DOKTORA TEZİ / KONYA-2012**

Çalışmamızın amacı; fotodinamik tedavinin süt dişi dentin dokusu üzerindeki antimikrobiyal etkinliği ve bu tedavinin kompomer restorasyonların süt dişi dentin dokusuna bağlanma dayanımına ve kenar sızıntısı üzerine etkisinin araştırılması ve rezin-dentin bağlanma ara yüzeyleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmesidir.

Çalışmanın birinci kısmında, 80 adet süt dişinde diş kavite yöntemiyle 3 farklı fotosensitizörün (FS); Hypericin (HYP), Rose bengal (RB), Toluidine Blue (TB)'nun *Streptococcus mutans* ve *Lactobacillus casei* üzerine antimikrobiyal etkinliği araştırıldı. Dişlerin oklüzal kısmındaki mine tabakası elmas separe ile kaldırıldı ve oklüzal yüzeylerine standart kaviteler açıldı. Daha sonra steril edilen dişler mikroorganizma ile inoküle edildi. Daha sonra FS'ler kaviteye uygulanarak geçici restoratif materyal ile örtülendi. İnkübasyon periyodu sonunda kavitelerden dentin talaşları toplanarak uygun besiyerlerine ekildi ve mikroorganizma sayımları yapıldı.

Çalışmanın ikinci kısmında, FS'lerin kompomer dolgu maddesinin çürükten etkilenmiş ve sağlam dentin dokusuna bağlanma dayanımına etkisi incelendi. Bu amaçla 40 adet sağlam ve 40 adet oklüzal çürüğe sahip süt azı dişi kullanıldı. Dişlerin oklüzal kısmındaki mine tabakası elmas separe ile kaldırıldı ve düz dentin yüzeyi açığa çıkana kadar aşındırıldı. Dentin yüzeyine FS'ler uygulandıktan sonra kompomer ile diş restore edildi. Restorasyonun ardından elde edilen çürükten etkilenmiş ve sağlam dentin çubukları mikrogerilim testine tabi tutuldu.

Çalışmanın üçüncü kısmında, üç farklı FS'nin kompomer ile restore edilen süt dişlerinin mikrosızıntısına etkisi incelendi. Toplanan dişler her bir grupta 20 kavite olmak üzere, toplam 4 gruba ayrıldı. Dişlere Sınıf II simetrik kaviteler açıldı ve FS'ler uygulandı. Kompomer ile restore edilen dişler 500 kez termal siklus işlemine tabi tutuldu. Metilen mavisi ile boyanan dişlerden kesitler alınarak stereomikroskopta incelendi.

SEM incelenmesinde kullanılmak üzere her bir grup için birer adet olmak üzere toplam 8 adet diş kullanıldı.

Mikrobiyoloji ve mikrosızıntı testlerinin bulgularını istatistiksel olarak değerlendirmek için Kruskal-Wallis testi ve Mann-Whitney U testi kullanıldı. Mikrogerilme testine ait bulguları değerlendirmek için de Bağımsız Örneklem t – Testi ile Tek Yönlü Varyans Analizi testi kullanıldı.
İstatistiksel değerlendirme sonucunda TB, HYP ve RB'in her iki mikroorganizma üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Çürükten etkilenmiş ve sağlam dentin çubuk örnekleri genel olarak karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Çürükten etkilenmiş ve sağlam dentin

çubuk örnekleri kendi içinde değerlendirildiğinde TB, HYP ve RB uygulanan gruplar ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak fark tespit edilmemiştir. Yani FS'ler kompomer dolgu maddesinin bağlanma dayanımını olumsuz etkilememektedir. Mikrosızıntı testine göre TB ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. TB'nin hem oklüzal hem de gingival bölgede sızıntıyı azalttığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, FDT'nin oral mikroorganizmalar üzerinde etkili olduğu bulunmuştur ve kavite dezenfeksiyonu amacıyla kullanılabilecek yararlı bir yöntem olduğu sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Sözcükler:** Fotodinamik antimikrobiyal tedavi; mikrogerilim bağlanma dayanımı; mikrosızıntı

# 7. SUMMARY

## Effect of Photodynamic Antimicrobial Therapy on Bond Strength and Microleakage of Compomer Restorations in Primary Teeth


The aim of this study was to evaluate the antibacterial efficacy of photodynamic therapy on primary tooth and to search its effect on microtensile bond strength and microleakage of compomer restorations on primary tooth dentin and to observe resin-dentin interface with Scanning electron microscopy (SEM).

In the first part of the study, antibacterial effect of three different photosensitizer (PS); Hypericin (HYP), Rose bengal (RB), Toluidine Blue (TB) on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus casei* was evaluated by tooth cavity method using 80 primary teeth. The enamel was removed from the occlusal part of the teeth by using a diamond saw and standart cavities were prepared in the flat surface of each tooth. And the sterilized teeth were then inoculated with the microorganism. After the application of PS, cavity was sealed with a temporary restorative material. At the end of the incubation period Dentin chips were collected from the cavity and cultured on the appropriate broth and the number of bacteria recovered (cfu/ml) was determined.

In the second part of the study, the effect of PS's, on the microtensile bond strength of compomer restorations was evaluated on caries-affected and sound primary molar tooth dentin. For this purpose, 40 sound primary molar and 40 molar teeth with occlusal caries were used. The enamel was removed from the occlusal part of the teeth by using a diamond saw and by grinding flat dentin surfaces were obtained. After the application of PS on dentin surface, teeth were restored with compomer restorations. After the restorations sound and caries affected dentin sticks used for microtensile bond strength test.

In the third part of the study, the effect of the three different PS on the microleakage of compomer restorations was examined. Collected teeth, 20 cavity in each group, were divided into 4 groups. Symmetric Class II cavities were prepared and PS's were applied. Teeth restored with compomer were thermocycled for 500 times. Teeth were stained with methylene blue, sectioned for microleakage evaluation and examined under stereomicroscope.

Totally 8 teeth were used (l tooth for each group) and investigated at x 1000 magnification with SEM.

Kruskall-Wallis and Mann-Whitney U tests were used for statistically evaluation of the microleakage and microbiology tests data. After micro-tensile bond strength test, the data was analyzed by Independent-Sample T Test and one way ANOVA.

As a result of statistical analysis, TB, HYP and RB showed significant antibacterial effect on both microorganisms. No significant difference was detected between microtensile bond strength of caries affected or sound dentin samples. And no significant difference was detected between microtensile bond strength of compomer restorations applied on caries affected or sound dentin for all group. PS's were not adversely effect on bond strength. statistically evaluation of the microleakage test data was significantly difference between TB and the others groups. TB has been found to reduce occlusal and gingival microleakage.

To conclude, Photodynamic Therapy was effective in killing oral microorganisms and may be a useful technique for in disinfecting cavity before restoration.



**Keywords:** Microleakage; microtensile bond strength; photodynamic antimicrobial therapy.

# KAYNAKLAR


1. ADA. ADA Professional product review online bonding agents: laboratory testing methods. Winter 2007:2.

2. Ahumada MC, Bru E, Colloca ME, López ME, Nader-Macías ME. Evaluation and comparison of lactobacilli characteristics in the mouths of patients with or without cavities. Journal of Oral Science, 2003;Vol. 45, No. 1, 1-9.

3. Agostinis P, Vantieghema A, Merlevede W, Witte PAM. Hypericin in cancer treatment: more light on the way. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2002; 34:221-241.

4. Aktaş A, B Giray, D Menemenlioğlu, M Hayran. %0.2 Klorheksidin diglukonat gargara kullanımının oral flora üzerine kısa dönem etkileri . Hacettepe diş hekimliği fakültesi dergisi. Cilt: 32, Sayı: 4, Sayfa: 81-93, 2008.

5. AL-Bayaty FH, TB Taiyeb-Ali, Abdulla MA, ZB Mahmud. Antibacterial effects of Oradex, Gengigel and Salviathymol-n mouthwash on dental biofilm bacteria. African Journal of Microbiology Research, 2011;5(6):636-642.

6. Allison RR, Downie GH, Cuenca R, Hu XH, Childs CJH, Sibata CH. Photosensitizers in clinical PDT. Photodiag Photodynamic, 2004;1:27-42.

7. Altun C, Güven G, Başak F, Akbulut E. Süt dişi sınıf v kavitelerde akışkan kompomer uygulamasının Mikrosızıntı üzerine etkileri. Dicle Dişhekimliği Dergisi, 2008;9 (2):13-23.

8. Amerongen AVN, Bolscher JGM, Veerman ECI. Caries Salivary Proteins: Protective and Diagnostic Value in Cariology? Caries Res, 2004;38:247–253.

9. Avato P, Raffo F, Guglielmi G, Vitali C, Rosato A. Extracts from St. John's Wort and their antimicrobial activity. Phytother Res, 2004;18(3):230-232.

10. Aveline B. Primary processes in photosensitization mechanisms. Compr Ser Photosci, 2001; 2:17-34.

11. Armstrong S, Saulo Geraldeli, Rodrigo Maia, Luís Henrique Araújo Raposo,Carlos José Soares, Junichiro YamagawaAdhesion to tooth structure: A critical review of "micro" bond strength test methods. Dental materials, 2010;26: 50– 62.

12. Badet C, Thebaud NB. Ecology of Lactobacilli in the Oral Cavity: A Review of Literature. The Open Microbiology Journal, 2008; 2: 38-48.

13. Baehnı PC, Taekeuchı Y. Anti-plaque agents in the prevention of biofilm-associated oral diseases. Oral Dis, 2003; 1:23-29.

14. Balakrishnan M, Simmonds R.S, Tagg J.R.Dental caries is a preventable infectious disease Australian Dental Journal. 2000;45:(4):235-245.

15. Banas JA, Vıckerman MM. Glucan-binding proteins of the oral streptococci. Crit. Rev. Oral Biol. Med, 2003; 14:89-99.

16. Banerjee A, Watson TF, Kidd EAM. Dentine caries excavation: a review of current clinical techniques. British Dental Journal, 2000; 188:476-482.

17. Bergey H. 1907 Aktinomyces der Mundhohle. Zentr. Bakteriol. Parasitenk., 40, 361.

18. Beighton D. The complex oral microflora of high-risk individuals and groups and its role in the caries process. Community Dent, Oral Epidemiol, 2005; 33:248-255.

19. Berkowitz RJ. Causes, Treatment and Prevention of Early Childhood Caries: A Microbiologic Perspective. Journal of the Canadian Dental Association. 2003, Vol. 69, No. 5

20. Berkiten M, Okar I, Berkiten R: In vitro study of the penetration of Streptococcus sanguis and Prevotella intermedia strains into human den-tine tubules. J Endod, 2000; 26: 236–239.

21. Boston DW, Graver HT. Histobacteriological analysis of acid–red dye-stainable dentin found beneath intact amalgam restorations. Oper Dent, 1994; 19(2): 65-69.

22. Brancaleon L, Moseley H. Laser and non-laser light sources for photodynamic therapy. Lasers Med Sci, 2002; 17:173-186.

23. Burns T, Wılson M, Pearson G J. Sensitisation of cariogenic bacteria to killing by light from helium-neon laser. J. Med. Microbiol, 1993; 38:401-405.

24. Burrow MF, Nopnakeepong U, Phrukkanon S. a comprasion of microtensile bond strengths of several dentin bonding systems to primary and permanent dentin. Dental Materials,2002; 18: 239-245.

25. Can-Karabulut DC, Tulga Oz F, Karabulut B, Batmaz İ, Özlem İlk. Adhesion to Primary and Permanent Dentin and a Simple Model Approach. Eur J Dent, 2009;3:32-41.

26. Caranza FA. Glicman's clinical Periodontology, Seventh Edition, WB Saunders Company Harcourt Brace Jovanovich Inc Philadelphia,1990; 100-101.

27. Caufield PW, Cutter GR, Dasanayake AP. Initial acquisition of mutans streptococci by ınfants: evidence for a discrete window of ınfectivity. J Dent Res, 1993; 72: 37.

28. Cebe MA, Farklı kavite preparasyonları ve dezenfeksiyon yöntemlerinin adeziv sistemlerin dentine bağlanma dayanımına ve mikrosızıntısına etkisinin değerlendirilmesi, 2011; Doktora tezi.

29. Ceyhan N. Klinikte Biyofilmlerin önlenmesi için antibiyofilm stratejileri. Turkish J. İnfection, 2008; 22(4): 227-240.

30. Chiappin S, Antonelli G, Gatti R, Elio De Palo F. Saliva specimen: A new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. Clinica Chimica Acta, 2007;383: 30 – 40.

31. Costa ACBP, Junior JC, Pereira CA, Machado AKS, Junior MB, Junqueira JC, Jorge AOC. Susceptibility of planktonic cultures of streptococcus mutans to photodynamic therapy with a light-emitting diode. Braz Oral Res, 2010; 24(4):413-418.

32. Dai T, Huang Y, Hamblin MR. Photodynamic therapy for localized infections-State of the art. Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 2009;6: 170-188.

33. Dallı M, İnce B, Şahbaz C, Bahşi E, Çolak H, Zorba YO, Ercan E. Sınıf v kavitelerde dezenfektanların mikrosızıntı üzerine etkisi: in vitro çalışma. Atatürk Üniv. Di ş Hek. Fak. Derg, 2009;19(1): 14-19.

34. Darabi F, Eftekhari M. Effect of chlorhexidine on microleakage of composite restorations. Journal of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences, 2009; 6: 1.

35. De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, Van Meerbeek B. A Critical Review of the Durability of Adhesion to Tooth Tissue: Methods and Results. J DENT RES, 2005; 84: 118

36. De Rosa MC, Crutchley RJ. Photosensitized singlet oxygen and its applications Coordination Chemistry Reviews, 2002;233-234:351-371.

37. Dodds MWJ, Johnson DA., Yeh CK. Health benefits of saliva: a review. Journal of Dentistry, 2005; 33: 223–233.

38. Escribano NI, Del-Nero MO, Macorra JC. Inverse relationship between tensile bond strength and dimensions of bonded area. J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater, 2003;66B (1): 419– 24.

39. Featherstone JDB. The scıence and practıce of carıes preventıon. JADA, 2000;131: 887-899.

40. Finsen NF. Phototherapy. London: Arnold; 1901.

41. Foster SL, Medzhitov R. Gene-specific control of the TLR-induced inflammatory response. Clin Immunol, 2009; 130:7-15.

42. Fusayama T, Terachıma S. Differentiation of two layers of carious dentin by staining. J Dent Res, 1972; 51:866.

43. Gateva N, Dikov V. Bond strength of self-etch adhesıves wıth prımary and permanent teeth dentın– ın vıtro study.Journal of IMAB - Annual Proceeding (Scientific Papers), 2012;18: 2.

44. George D, Bhat SS, Antony B. Comparative evaluation of the antimicrobial efficacy of aloe vera tooth gel and two popular commercial toothpastes: an in vitro study. Gen Dent, 2009;57:238-241.

45. Ghassemieh E. Evaluation of sources of uncertainties in microtensile bond strength of dental adhesive system for different specimen geometries. Dental materials, 2008;24: 536–547.

46. Giusti JSM, Santos-Pinto L, Pizzolito AC, Helmerson K, Carvalho-Filho E, Kurachi C and Bagnato VS. Antimicrobial photodynamic action on dentin using a light-emitting diode light source. Photomedicine and Laser Surgery, 2008; 26: 281-287.

47. Gondim JO, Duque C, Hebling J, Giro EMA. Influence of human dentine on the antibacterial activity of self-etching adhesive systems against cariogenic bacteria. Journal of Dentistry, 2008;36(4):241-248.

48. Gonzalez NAG, Kasim NHA, Aziz RD. Microleakage Testing, Annals Dent. Univ. Malaya, 1997; 4:31-37.

49. Gupta KV, Verma P, Trivedi A. Evaluation of Microleakage of Various Restorative Materials: An in Vitro Study. J Life Sci, 2011;3(1): 29-33.

50. Gursoy H, Ozcakir Tomruk C, Tanalp J, Yılmaz S. Photodynamic therapy in dentistry: a literature review. Clin Oral Invest. 2012;27.

51. Hamada S, Slade HD. Biology, ımmunology and cariogenicity of streptococcus mutans. Microbiological Reviews, 1980; 44(2):331-384.

52. Hamblin MR, O'Donnell DA, Murthy N, et al. Polycationic photosensitizer conjugates: effects of chain length and Gram classification on the photodynamic inactivation of bacteria. J Antimicrob Chemother 2002;49:941-51.

53. Hamblin MR, Hasan T. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? Photochem Photobiol Sci, 2004; 3(5):436-450.

54. Hardie JM, Whıley RA. The Genus Streptococcus —Oral. Prokaryotes, 2006; 4 :76–107.

55. Hayata Y, Kato H, Konaka C, Ono J, Takizawa N. Hematoporphyrin derivative and laser photoradiation in the treatment of lung cancer. Chest, 1982; 81(3): 269-77.

56. Heintze SD. Clinical relevance of tests on bond strength, microleakage and marginal adaptation. Dental materials, 2012.

57. Hsu KW, Marshall SJ, Pinzon LM, Watanabe L, Saiz E, Marshall GW. SEM evaluation of resin-carious dentin interfaces formed by two dentin adhesive systems. Dental materials, 2008;24:880–887.

58. Hosoya Y, Kawada E, Ushigome T, Oda Y, Garcia- Godoy F. Micro-tensile bond strength of sound and caries-affected primary tooth dentin measured with original designed jig. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, 2006;77(2): 241–248.

59. Huang R, Li M, Gregory RL. Bacterial interactions in dental biofilm. Virulence, 2011;2:5, 435-444.

60. Imazato S, Kuramoto A, Kaneko T, Ebisu S, Russell RR.Comparison of antibacterial activity of simplified adhesive systems. American Journal of Dentistry, 2002;15:356–60.

61. Imazato S. Kuramoto A, Takahashi Y, Ebisu S, Peters MC.In vitro antibacterial effects of the dentin primer of Clearfil Protect Bond.Dental Materials, 2006;22 (6):527–532.

62. Iwersen-Bergmann S, Schmoldt A. Acute intoxication with aniline: detection of cetaminophen as aniline metabolite. Int J Legal Med, 2000; 113:171-174.

63. İnce B, Dallı M, E Bahşi, Ahbaz C, Çolak H Ercan E Sınıf II kavitelerdeki üç farklı adeziv sistemin mikrosızıntılarının sem ile in vitro olarak incelenmesi. Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 2009;12 (2).

64. Jodlbauer A, von Tappeiner H. Über die wirkung photodynami-scher (fluoreszierender) stoffe auf Bakterien. Munch Med Wochenschr, 1904;51:1096–1097.

65. Jori G, Fabris C, Soncin M, Ferro S, Coppellotti O, Dei D, Fantetti L, Chiti G, Roncucci G. Photodynamic therapy in the treatment of microbial ınfections: basic principles and perspective applications. Lasers in Surgery and Medicine, 2006; 38:468-481.

66. Jurczyszyn K, Zıółkowskı P, Gerber H, Osıecka BJ. Potentiality of Photodynamic Therapy in Dentistry – Literature Review. Dent. Med. Probl. 2007, 44; 2. 255–258.

67. Karabulut B, Can-Karabulut DC, Tulga Öz F. Süt ve sürekli dentin uygulanan farklı dentin bağlayıcı sistemlerin taramalı elektron mikroskobunda incelenmesi. Gülhane Tıp Dergisi 2009; 51: 205-211.

68. Karanıka-Kouma A, Dıonysopoulos P, Kolınıotou-Koubıa E, Kolokotronıs A. Antibacterial properties of dentin bonding systems,polyacid-modified composite resins and composite resins. Journal of Oral Rehabilitation, 2001 28; 157 – 160.

69. Kato S, Fusayama T. Recalcification of artificially decalcified dentin in vivo. J. Dent. Res, 1970; 49:1060-1067.

70. Kaygusuz A. Antibiyotik seçimini etkileyen mikroorganızmaya ait faktörler. Ankem Derg. 2000; 14: 497-501.

71. Keçeci AD, Özdemir F. Ağız kuruluğunun etiyolojisi ve tedavisinde günümüzdeki yaklaşım. S.D.Ü. Týp Fak. Derg, 2005;12(4): 58-67.

72. Keklikoğlu H, Balcıoğlu HA. Dentin tübüllerinin dalları ve klinik önemi. İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 2004; 38:1-2.

73. Kidd EAM. How ‘clean’ must a cavity be before restoration? Caries Res, 2004; 38:305-313.

74. Kidd EAM, Fejerskov O. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. J Dent Res. 2004;83(1):C35-C38.

75. Kitanov GM. Hypericin and pseudohypericin in some hypericum species, Biochem. Syst. Ecol, 2001; 29:171-178.

76. Konan YN, Gurny R, Allemann E. State of the art in the delivery of photosensitizers for photodynamic therapy. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2002;66: 89–106.

77. Konapka K, Goslinski T. Photodynamic therapy in dentistry. J Dent Res, 2007; 86:694.

78. Koray F. Diş çürükleri. Dünya Tıp Kitapevi, İstanbul, 1981.

79. Kömerik N, Curnow A, MacRobert AJ, Hopper C, Speight PM. and Wilson M. Fluorescence biodistribution and photosensitising activity of toluidine blue o on rat buccal mucosa. Lasers Med Sci, 2002; 17:86-92.

80. Kömerik N. A novel approach to cancer treatment: photodynamic therapy. Turk J Cancer, 2002; 32(3): 83-91.

81. Kömerik N. Ağız enfeksiyonlarının tedavisinde yeni bir yaklaşım: antimikrobiyel fotodinamik terapi. GÜ Dişhek.Fak. Derg. 2003; 20(1) : 67-71,.

82. Kudiyirickal MG, Ivancaková R. Early enamel lesion part I. Classification and detection. Acta Medica (Hradec Kralove), 2008; 51(3): 145-149.

83. Kudiyirickal MG, Ivancaková R. Early enamel lesion part II. Histo-morphology and prevention. Acta Medica (Hradec Kralove), 2008;51(3):151-6.

84. Kumar A, Hedge R, Dixit U. Role of plaque in the clearance of salivary sucrose and its influence on salivary ph. J Indian Soc Pedod Prev Dent, 2011;29(4):310-314.

85. Kutlubay Z, Pehlivan Ö, Engin B. Fotodinamik Tedavi. Dermatoz, 2011; 2(4) : 391-404.

86. Krause F, Braun A, Eberhard J, Jepsen S. Laser Fluorescence Measurements Compared to Electrical Resistance of Residual Dentine in Excavated Cavities in vivo. Caries Research, 2007; 41: 2.

87. Law V, Seow WK, Townsend G. Factors influencing oral colonization of mutans streptococci in young children Australian Dental Journal 2007;52:(2):93-100.

88. Lemos JAC, Abranches J, Burne RA. Responses of cariogenic streptococci to environmental stresses. Curr. Issues Mol. Biol. 2005; 7: 95-108.

89. Lenard J, Rabson A, Vanderoef R. Photodynamic inactivation of infectivity of human immunodeficiency Virus and other enveloped viruses using hypericin and rosebengal: Inhibition of fusion and syncytia formation. MedicalSciences, 1993;90:158-162.

90. Lessa FC, Nogueira I, Vargas Fda S, Spolidorio DM, Hebling J, García-Godoy F, Costa CA.Direct and transdentinal antibacterial activity of chlorhexidine. Am J Dent. 2010;23(5):255-9.

91. Lewinstein I, Matalon S, Slutzkey S, Weiss EI. Antibacterial properties of aged dental cements evaluated by direct-contact and agar diffusion tests. The journal of prosthetıc dentıstry, 2005; 93 (4):364-371.

92. Lima JPM, Sampaio de Melo MA, Borges FMC, Teixeira AH, Steiner-Oliveira C, Nobre dos Santos M, Rodrigues LKA, Zanin ICJ. Evaluation of the antimicrobial effect of photodynamic antimicrobial therapy in an in situ model of dentine caries. Eur J Oral Sci, 2009; 117:568-574.

93. Lin J, Bi LJ, Zhang ZG, Fu YM, Dong TT. Toluidine blue-mediated photodynamic therapy of oral wound infections in rats. Lasers Med Sci, 2010; 25:233-238.

94. Lingstrom P, Van Ruyven FO, Van Houte J, Kent R. The pH of dental plaque in its relation to early enamel caries and dental plaque flora in humans. J. Dent. Res, 2000; 79:770-777.

95. Loesche WJ. Role of streptococcus mutans in human dental decay. Microbiol. Rev, 1986; 50(4):353-380

96. Lucena-Martin C, Gonzalez-Rodriguez MP, Ferrer-Luque CM, Robles-Gijon V, Navajas JM. Influence of time and thermocycling on marginal sealing of several dentin adhesive systems. Oper Dent, 2001;26(6):550-5.

97. Lundeen, T.F., Roberson T.M. Cariology: the lesion, etiology, prevention and control. In: The Art and Science of Operative Dentistry, 1995;Ed.: C.M. Sturdevant. 3rd Ed. St. Louis: Mosby C, Chapter 3.

98. Lüthi M, Gyenge EB, Engström M, Bredell M, Grätz K, Walt H, Gmür R, Maake C. Hypericin and mTHPC-mediated photodynamic therapy for the treatment of cariogenic bacteria. Medical Laser Application, 2009; 24:227-236.

99. Ma L, Zhou J, Tan J, Jing Q, Zhao J, Wan K. Effect of multiple coatings of one-step self-etching adhesive on microtensile bond strength to primary dentin. Chin.Med.Sci.J. 2011; 26(3):146-151.

100. Maisch T. Anti-microbial photodynamic therapy: useful in the future? Lasers Med Sci, 2007; 22:83–91.

101. Maisch T, Wagner J, Papastamou V, Nerl HJ, Hiller KA, R.-M. Szeimies and G. Schmalz. Combination of 10% EDTA, Photosan, and a blue light hand-held photopolymerizer to inactivate leading oral bacteria in dentistry in vitro. Journal of Applied Microbiology, 2009; 107: 1569–1578.

102. Manhart J, Chen HY, Mehl A, Weber K, Hickel R. Marginal quality and microleakage of adhesive class V restorations. Journal of Dentistry, 2001;29: 123-130.

103. Marsh PD. Are dental diseases examples of ecologic al catastrophes? Microbiology,2003; 149 : 279–294.

104. Martínez-Cuesta MC, Palencia PF, Requena T, Palaez C. Enzymatic ability of Lactobacillus casei subsp. casei IFPL731 for flavour development in cheese. International Dairy Journal. 2001; 11: 577-585.

105. Mc Donald RE, Avery DR. Dentistry for children and adolescent Mosby-Year Book, Inc Couries Westford Inc, USA, 1994.

106. Meisel P, Kocher T. Photodynamic therapy for periodontal diseases: state of the art. J Photochem Photobiol B, 2005; 79(2):159-70.

107. Merritt J, Qi F. The mutacins of Streptococcus mutans :regulation and ecology. molecular oral microbiology, 2012;27: 57–69.

108. Moan J, Pettersen EO, Chritensen T. The mechanism of photodynamic inactivation of human cells in vitro in the presence of haematoporphyrin. Br. J. Cancer, 1979; 39:398.

109. Munksgaard EC, Peutzfeldt A, Asmussen E. Elution of TEGDMA and BisGMA from a resin and a resin composite cured with halogen or plasma light. Eur J Oral Sci. 2000; 108(4):341-5.

110. Nagata JY, Hioka N, Kimura E, BatistelaV R, Terada RSS, Graciano AX, Baesso ML, Hayacibara MF. Antibacterial photodynamic therapy for dental caries: Evaluation of the photosensitizers used and light source properties. Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 2011.

111. Nakajima M, Kunawarote S, Prasansuttiporn T, Tagami J. Bonding to caries-affected dentin. Japanese Dental Science Review, 2011; 47: 102-114.

112. Nammour S, Zeinoun T, Bogaerts I, Lamy M, Geerts SO, Bou Saba S, Lamard L, Peremans A, Limme M. Evaluation of dental pulp temperature rise during photo-activated decontamina tion (PAD) of caries: an in vitro study. Lasers Med Sci, 2010; 25:651–654.

113. Naorungroj S, Wei H, Arnold RR, Swift Jr EJ, Walter R. Antibacterial surface properties of fluoride-containing resin-based sealants. journal of dentistry, 2010;38: 387–391.

114. Neves AA, Coutinho E, Munck JD, Meerbeek BV. Caries-removal effectiveness and minimal-invasiveness potential of caries-excavation techniques: A micro-CT investigation. journal of dentistry, 2011; 39 : 154–162.

115. Newbrun E. Cariology. Quintessence Publishing Co, Inc, USA, 2000.

116. Ohmori K, Maeda N, Kohno A (1999) Evaluation of antibacterial activity of three dentin primers using an in vitro tooth model. Oper Dent., 24:279-85.

117. O'Neill JF, Hope CK, Wilson M. Oral Bacteria in Multi- pecies Biofilms Can be Killed by Red Light in the Presence of Toluidine Blue. Lasers in Surgery and Medicine, 2002; 31:86-90.

118. O'Riordan K, Akilov OE, Hasan T. The potential for photodynamic therapy in the treatment of localized infections. Photodiagn Photodyn Therapy. 2005; 2: 247-262.

119. Özel E, Yurdagüven H, Can Saye, Kocagöz S. Fosforik Asit ve Dezenfektan Solüsyonların Streptococcus Mutans'a Karşı Antibakteriyel Etkisinin Saptanması. Hacettepe Dişhekimliği Fakültesi Dergisi, 2005; 29 (4): 8-14.

120. Özer F, Karakaya Ş, Ünlü N, Erganiş O, Kav K, Imazato S. Comparison of antibacterial activity of two dentinbonding systems using agar well technique and tooth cavity model. Journal of Dentistry. 2003; 31: 111–116.

121. Paulinoa TP, Ribeiroa KF, Thedei GJ, Tedescoa AC, Ciancaglinia P. Use of hand held photopolymerizer to photoinactivate streptococcus mutans. Archives of Oral Biology, 2005; 50:353-359.

122. Pereira AC, Eggertsson H, Martinez-Mier EA, Mialhe FL, Eckert GJ, Zero DT. Validity of caries detection on occlusal surfaces and treatment decisions based on results from multiple caries-detection methods. Eur J Oral Sci. 2009;117(1):51-7.

123. Pereira CA, Costa ACBP, Carreira CM, Junq ueira JC, Jorge AOC. Photody namic inactiva tion of Streptoco ccus mutans and Streptococcu s sanguinis biofilms in vitro. Lasers Med Sci. 2012 (31).

124. Pinkham JR, Casamassimo PS, Fields HW, Mc Tigue DJ, Nowak AJ. Pediatric dentistry: Infancy Thorough Adolescence, 2009; 2:199.

125. Pisani-Proença J, Carolina M, Erhardt G, Amaral R, Valandro LF, Bottino MA, Castillo-Salmerón RD. Influence of different surface conditioning protocols on microtensile bond strength of self-adhesive resin cements to dentin. The Journal of Prosthetic Dentistry, 2011;105(4): 227-235.

126. Piwat S, Teanpaisan R, Dahlen G, Thitasomakul S, Douglas CW. Acid production and growth by oral Lactobacillus species in vitro Journal of Investigative and Clinical Dentistry, 2012; 3: 56–61.

127. Preethi BP, Reshma D, AnandInd P. Evaluation of Flow Rate, pH, Buffering Capacity, Calcium, Total Proteins and Total Antioxidant Capacity Levels of Saliva in Caries Free and Caries Active Children: An In Vivo Study. J Clin Biochem, 2010; 25(4):425–428.

128. Profeta AC, Mannocci F, Thompson RMFI, Watson TF, Sauro S. Bioactive effects of a calcium/sodium phosphosil icate on the resin–dentine interface: a microtensile bond strength , scanning electron microscopy, and confocal microscopy study. Eur J Oral Sci, 2012; 120: 353–362.

129. Poitevin A, De Munck J, Van Landuyt K, Coutinho E, Peumans M, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Influence of Three Specimen Fixation Modes on the Micro-Tensile Bond Strength of Adhesives to Dentin. Dent Mater J, 2007;26:694-699.

130. Poureslami HR, Van Amerongen WE. Early Childhood Caries (ECC): an infectious transmissible oral disease. Indian J. Pediatr, 2009; 76:191-194.

131. Raghavendra M, Koregol A, Bhola S. Photodynamic therapy: a targeted therapy in periodontics. Australian Dental Journal, 2009; 54:102-109.

132. Raposo LHA, Armstrong SR, Maia RR, Qian F, Geraldeli S, Soares CJ.Effect of specimen gripping device, geometry and fixation method on microtensile bond strength, failure mode and stress distribution: Laboratory and finite element analyses. Dental materials, 2012;28:50– 62.

133. Redmond RW, Gamlin JN. A compilation of singlet oxygen yields from biologically relevant molecules. Photochem Photobiol, 1999; 70:391-475.

134. Rios A, He J, Glickman GN, Spears R, Schneiderman ED, Honeyman AL. Evaluation of Photodynamic Therapy Using a Light-emitting Diode Lamp against Enterococcus faecalis in Extracted Human Teeth. JOE, 2011; 37; 6.

135. Rolim JPML, de-Melo MAS, Guedes SF, Albuquerque-Filho FB, de Souza JR, Nogueira NAP, Zanin IJZ, Rodrigues LKA. The antimicrobial activity of photodynamic therapy against Streptococcus mutansusing different photosensitizers. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2012;106: 40–46.

136. Roberson TM, Heymann OH, Swift EJ. Sturdevant's Art and Science of Operative Dentistry, Gürgan S, Yalcin Cakir F, 3. Bölüm: Karyoloji: Lezyon, Etyoloji, Önleme ve Kontrol (Cariology: The Lesion, Etiology, Prevention and Control), Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2010;67- 134.

137. Rosan B, Lamont RJ. Dental plaque formation. Microbes and Infection, 2, 2000, 1599−1607.

138. Rossoni RD, Vilela SFG, Forte LFBP, Jorge AOC, Junqueira JC. Photoinactivation of escherichia coli usıng xanthene dyes and light-emitting diodes. Braz Dent Sci, 2009; 12 (4): 6-11.

139. Sakallıoğlu U, Açıkgöz G, Kırtıloğlu T, Karagöz F. Rare lesions of the oral cavity: case report of an actinomycotic lesion limited to the gingiva. Journal of Oral Science, 2003;45(1):39-42.

140. Samaranayake LP. Essential Microbiology for Dentistry. Second Edition, Elsevier, China, 2002.

141. Sano H, Ciucchi B, Matthews WG. Tensile properities of mineralized and demineralized human and bovine dentine.J Dent Res, 1994; 73:1205-11.

142. Sardella TN, Castro FLA, Sanabe ME, Hebling J. Shortening ofprimary dentin etching time and its implication on bond strength. J Dent. 2005;33:355–362.

143. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. Lancet, 2007; 369: 51–59.

144. Sibata CH, Colussi VC, Oleinick NL, Kinsella TJ. Photodynamic therapy: a new concept in medical treatment. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 2000; 33: 869-880.

145. Scherrer SS, Cesar PF, Swain MV. Direct comparison of the bond strength results of the different test methods: A critical literature review. dental materials, 2010;26: 78– 93.

146. Schmid-Schwap M, Graf A, Preinerstorfer A, Watts DC, Piehslinger E, Schedle A. Microleakage after thermocycling of cemented crowns—A meta-analysis. Dental materials, 2011;27:855–869.

147. Shashikiran ND, Gunda S, Subba Reddy VV. Comparison of resin-dentine interface in primary and permanent teeth for three different durations of dentine etching. J Indian Soc Pedod Prev Dent 2002; 20: 124-131.

148. Smith AJ, Hall V, Thakker B, Gemmell CG. Antimicrobial susceptibility testing ofActinomycesspecies with 12 antimicrobia agents. Journa l of Antimicr obial Chemo therapy, 2005; 56, 407–409.

149. Sonoda H, Banerjee A, M Sherriff, Tagami J, Watson TF. An in vitro investigation of microtensile bond strengths of two dentine adhesives to caries-affected dentine. Journal of Dentistry, 2005; 33: 335–342.

150. Soukos NS, Goodson JM. Photodynamic therapy in the control of oral biofilms. Periodontology, 2000; 55:143-166.

151. Sönmez IŞ, Akbayoba A. Self-Etch bir adezivin süt dişi dentinine makaslama bağlanma direncinin değerlendirilmesi. Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 2008; 32(1): 49-54.

152. Stamatova I, Karı K, Vladımırov S, Meurman JH. In vitro evaluation of yoghurt starter lactobacilli and lactobacillus rhamnosus gg adhesion to saliva-coated surfaces. oral microbiol. Immunol, 2009; 24:218-223.

153. Straetemansl MME, van Loveren C, de Soet JJ, de Graaff J, ten Cate JM. Colonization with Mutans Streptococci and Lactobacilli and the Caries Experience of Children after the Age of Five. J Dent Res, 1998;77(10): 1851-185.

154. Sutula J, Coulthwaite L, Verran J. Culture media for differential isolation of Lactobacillus caseiShirota from oral samples. Journal of Microbi ological Methods, 2012;90: 65 – 71.

155. Şirin Karaarslan E, Yildiz E, Cebe MA, Yegin Z, Ozturk B. Evaluation of micro-tensile bond strength of caries-affected human dentine after three different caries removal techniques. Journal of dentistry, 2012;40:793 – 801.

156. Şirin Karaarslan E, Altıntaş S, Cebe Ma, Üşümez A. Işıkla aktive edilen dezenfeksiyon (pad) işlemi uygulanmış seramik inley restorasyonlarda mikrosızıntının değerlendirilmesi. Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg2011; 21(2):108-114.

157. Takaı T, Hosaka K, Kambara K, Thıtthaweerat S, Matsuı N, Takahashı M, Kıshıkawa R, Nakajıma M, Otsukı M, Foxton R, Tagamı J. Effect of air-drying dentin surfaces on dentin bond strength of a solvent-free one-step adhesive. Dental Materials Journal, 2012; 31(4): 558–563.

158. Takahashi N. Microbial ecosystem in the oral cavity: Metabolic diversity in an ecological niche and its relationship with oral diseases. International Congress Series, 2005;1284: 103 – 112.

159. Terzi ÜT, Kansu G. Diş hekimliği ve biyouyumluluk. Dicle Dişhekimliği Dergisi, 2010;11(1): 66-70.

160. Tosun G, Koyuturk AE , Şener Y, Sengun A. Bond strength of two total-etching bonding systems on caries-affected and sound primary teeth dentin. International Journal of Paediatric Dentistry, 2008; 18: 62-69.

161. Tosun G, Şener Y, Şengün A. Kompozit rezinin mineye bağlanma dayanımı üzerine farklı saklama solüsyonlarının etkisi. Haccetepe Üniv. Dişhek. Fak. Derg. 2005;29:2-6.

162. Türkün LŞ, Türkün M, Ateş M. "MDPB" içeren self-etchıng adeziv sistemin antibakteriyal aktivitesi. GÜ Dişhek Fak Derg. 2003;20 (3):41-46.

163. Tüzüner T, Ulusoy AT, Baygin Ö, Yahyaoğlu G, Yalçın İ. Kavite dezenfeksiyonu amacı ile kullanılabilen ticari antibakteriyel jellerin mikro -gerilme bağlanma dayanımı üzerine etkinliklerinin değerlendirilmesi Cumhuriyet Dent J. 2012.

164. Touger-Decker R, Loveren CV. Sugars and dental caries. Am J Clin Nutr2003;78:881–92.

165. Usacheva MN, Teichert MC, Biel MA. The role of the methylene blue andtoluidine blue monomers and dimers in the photoinactivation of bacteria. J.Photochem. Photobiol. B: Biol. 2003;71: 87–98.

166. Uzer Çelik E, Yazkan B, Katırcı G. Başlangıç çürük lezyonlarının tedavisi. Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg. 2011;21(1): 48-56.

167. Ünlü N, Çetin AR, Cebe MA, Karabekiroğlu S. Farklı adeziv sistemlerin hemostatik ajanlarla kontamine edilen dentin yüzeylerine mikro gerilim bağlanma dayanımlarının karşılaştırılması. Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi,2010;34(3-4):5-13.

168. Vaidyanathan M, Sheehy EC, Gilbert SC, Beighton D. Antimicrobial properties of dentine bonding agents determined using in vitro and ex vivo methods Journal of Dentistry, 2009;37(7):514-521.

169. Vahabi S, Fekrazad R, Ayremlou S, Taheri S, Zangeneh N. The Effect of Antimicrobial Photodynamic Therapy with Radachlo-rin and Toluidine Blue on Streptococcus Mutans: An in Vitro Study. Journal of Dentistry, Tehran University of Medical, 2011; 8: 2.

170. Van Houte J, Gıbbons RJ, Pulkkınen AJ. Ecology of human oral lactobacilli. Infect. Immun, 1972; 6:723-729.

171. Van Houte J. Role of micro-organisms in caries etiology. J Dent Res, 1994; 73(3):672-681.

172. Wainwright M, Phoenix DA, Marland J, Wareing DRA, Bolton FJ. A study of photobactericidal activity in the phenothiazinium series. Fems Immunology and Medical Microbiology, 1997; 19(1):75-80.

173. Wainwright M. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 1998; 42:13-28.

174. Wainwright M, Crossley KB. Photosensitising agents-circumventing resistance and breaking down bio'lms: a review. International Biodeterioration & Biodegradation, 2004; 53:119-126.

175. Wachter E, Dees C, Harkins J, Scott T, Petersen M, Rush RE, Cada A. Topical Rose Bengal: Pre-Clinical Evaluation of Pharmacokinetics and Safety. Lasers in Surgery and Medicine, 2003; 32:101-110.

176. Wahab KF, Firas JS, Morgano SM. The effect of thermocycling on microleakage of several commerciallyavailable composite Class V restorations in vitro. DMD The journal of prosthetıc dentıstry, 2003; 90: 2.

177. Wang X, Guo Y, Yang S, Wang C, Fu X, Wang J, Mao Y, Zhang J, Li Y.Cellular and molecular mechanisms of photodynamic hypericin therapy for nasopharyngeal carcinoma cells. The journal of pharmacology andexperımental therapeutıcs. 2010; 334:847–853.

178. Welbury RR. Paediatric Dentistry. Oxford University Press, Hong Kong, 1997.

179. Wen ZT, Yates D, Ahn SJ, Burne RA. tion and virulence expression by Streptococcus mutans are altered when grown in dual-species model. BMC Microbiol, 2010; 10:111.

180. Williams JA, Pearson GJ,CollesMJ,WilsonM. The photo-activated antibacterial action of toluidina blue O in a collagen matrix and carious dentine. Caries Res, 2004; 38: 530–536.

181. Wilson M. Lethal photosensitisation of oral bacteria and its potential application in the photodynamic therapy of oral infections. Photochem. Photobiol. Sci, 2004; 3: 412-418.

182. Wilson BC, Patterson MS. The physics, biophysics and tech-nology of photodynamic therapy. Phys Med Biol 2008;53: 61—109.

183. Whiley RA, Beinghton. Current classification of the oral streptococci. Oral Microbiol immunol, 1998;13: 195-216.

184. Whittaker CJ, Klier CM, Kolenbrander PE. Mechanisms of adhesıon by oral bacterıa. Annual Review of Microbiology, 1996; 50: 513-552.

185. Yalçın Çakır F, Gürgan S, Attar N. Çürük Mikrobiyolojisi Hacettepe. Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 2010; 34(3-4):78-91.

186. Yonemoto K, Eguro T, Maeda T, Tanaka H. Application of DIAGNOdent was a guide for removing carious dentin with Er:YAG laser. Journal of Dentistry, 2006; 34: 269–27.

187. Zanin ICJ, Gonçalves RB, Junior AB, Hope CK, Pratten J. Susceptibility of Streptococcus mutans biofilms to photodynamic therapy: an in vitro study. Journal of Antimicrobial Chemotherapy,2005; 56: 324–330.

# 9. ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Erzincan'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Antalya'da tamamladı. 2003 yılında girmeye hak kazandığı Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesinden 2007 yılında mezun oldu. Aynı yıl Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Pedodonti Anabilim Dalında doktora eğitimine başladı. Halen eğitimine devam etmektedir. Evli ve bir çocuk annesidir.Yabancı dili ingilizcedir.

Süheyla GÖKYAR