T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI ENDODONTİK İRRİGASYON MATERYALLERİNİN TEK VE KOMBİNE KULLANIMLARINDA *E. faecalis*'e KARŞI ETKİNLİKLERİNİN İN VİTRO OLARAK İNCELENMESİ

Dt. Hatice BÜYÜKÖZER ÖZKAN

DOKTORA TEZİ

ENDODONTİ ANABİLİM DALI

Danışman

Doç.Dr. Funda KONT ÇOBANKARA

KONYA–2009

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI ENDODONTİK İRRİGASYON MATERYALLERİNİN TEK VE KOMBİNE KULLANIMLARINDA *E. faecalis*'e KARŞI ETKİNLİKLERİNİN İN VİTRO OLARAK İNCELENMESİ

Dt. Hatice BÜYÜKÖZER ÖZKAN

DOKTORA TEZİ

ENDODONTİ ANABİLİM DALI

Danışman

Doç.Dr. Funda KONT ÇOBANKARA

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 8102006 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA–2009

ÖNSÖZ

Beni yetiştirerek bu günlere gelmemi sağlayan, maddi ve manevi olarak her zaman bana destek olan annem **İlknur BÜYÜKÖZER** ve babam **Mesut BÜYÜKÖZER**'e,

Bilgi ve deneyimleri ile bana daima yol gösteren ve doktora öğrenimimde sevgi, ilgi ve bilgisini benden hiçbir zaman esirgemeyen danışmanım Sayın **Doç. Dr. Funda KONT ÇOBANKARA**'ya,

Mikrobiyoloji alanındaki bilgi, tecrübe ve yardımlarıyla bana yol gösteren Sayın **Prof. Dr. Osman ERGANİŞ'**e,

Mikrobiyoloji deneylerindeki yardımlarından dolayı Sayın **Araş. Gör. Zafer SAYIN**'a,

İstatistiksel analizlerdeki yardımlarından dolayı Sayın **Prof. Dr. Ali Murat SÜNBÜL**'e,

Doktora eğitimimdeki katkılardan ve tez aşamasındaki yardımlarından dolayı Sayın **Prof. Dr. Füsun ÖZER**'e,

Doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübesi yanı sıra farklı bakış açıları ile yolumu aydınlatarak eğitimime katkıda bulunan Sayın **Prof. Dr. Sema BELLİ**'ye,

Sabrı ve sınırsız sevgisi ile her zaman yanımda olan sevgili eşim **Dt. Umut ÖZKAN**'a

En içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER Sayfa

SİMGELER VE KISALTMALAR v

1. GİRİŞ
   1.1. Kök Kanal Tedavisinde İrrigasyon 2
      1.1.1. Hidrojen peroksit (H_2O_2) 4
      1.1.2. Sodyum hipoklorit (NaOCl) 6
      1.1.3. Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) ve SmearClear (SC) 9
      1.1.4. Klorheksidin glukonat (CHX) 12
      1.1.5. MTAD 15
      1.1.6. Klorindioksit (ClO_2) 18
   1.2. Kök Kanalı Mikroflorası 19
      1.2.1. Enterokoklar ve *Enterococcus faecalis* 21
   1.3. Endodontik Mikrobiyoloji Çalışmalarında Kullanılan Deneysel Yöntemler 24
      1.3.1. Agar Diffüzyon Testi ve Direkt Kontakt Test Yöntemleri 24
      1.3.2. Histolojik yöntem 25
      1.3.3. Radyoaktif olarak işaretlenmiş bakteri görüntüleme Yöntemi 25
      1.3.4. Gerçek zamanlı optik biyofotonik görüntüleme ve luminometre Yöntemi 25
      1.3.5. Mikrobiyolojik sayım yöntemleri 26
         Direkt Metotlar 28
         İndirekt Metotlar 28
         Kültür Metotları 30
2. GEREÇ VE YÖNTEM 32
   2.1. Örneklerin Seçimi ve Hazırlanması 32
   2.2. Mikrobiyolojik İşlemler 33
   2.3. Deneyde kullanılan irrigasyon solüsyonları ve çalışma dizaynı 35
   2.4. Kök Kanallarının İrrigasyonu 37
   2.5. İstatistiksel Değerlendirme 40
3. BULGULAR 41
   3.1. Kök kanallarındaki smear tabakası için yapılan SEM incelemesi 41

3.2. Deneyde kullanılan tüm irrigasyon solüsyon ve kombinasyonlarının değerlendirilmesi 42
3.2.1. Deneyde kullanılan temel irrigasyon solüsyonlarının tek olarak kullanımlarında elde edilen bulgular 45
3.2.2 CHX ve CHX kombinasyonları 46
3.2.3. NaOCl ve NaOCl kombinasyonları 48
3.2.4. ClO_2 ve ClO_2 Kombinasyonları 50
3.2.5. MTAD ve MTAD Kombinasyonları 51
3.2.6. SC ve SC Kombinasyonları 52
3.2.7. H_2O_2 ve H_2O_2 Kombinasyonları 54
3.2.8. EDTA ve EDTA Kombinasyonları 56
4. TARTIŞMA 58
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 75
6. ÖZET 78
7. SUMMARY 79
8. KAYNAKLAR 81
9. ÖZGEÇMİŞ 90

KISALTMALAR

°C: santigrat derece

µ: mikron

BHI: Brain heart infusion broth

BSL 2: Biosafety level 2

$Ca(OH)_2$: Kalsiyum hidroksit

cc*:* Cubic centimeter

CHX: Klorheksidin glukonat

ClO_2: Klorindioksit

cm^2: santimetrekare

dk: dakika

E.faecalis: *Enterococcus faecalis*

EDTA: Etilen daimin tetra asetik asit

FTS: Fizyolojik tuzlu su

gr: gram

H_2O_2: Hidrojen peroksit

lt: litre

ml: mililitre

mm: milimetre

mm^3: milimetreküp

NaOCl: Sodyum hipoklorit

NaOH: sodyum hidroksit

NiTi: Nikel titanyum

nm: Nanometre

OD_{450}: Optik $density_{450}$

pH: Hidrojen gücü (power of hydrogen)

PKA: Para kloro anilin

S.faecalis: *Streptococcus faecalis*

SC: SmearClear

SEM: Scanning electron microscope (taramalı elektron mikroskobu)

sn: saniye

µl: mikrolitre

1. GİRİŞ

Pulpa ve periapikal doku hastalıklarının patogenezinde mikroorganizmalar önemli etyolojik faktörlerdir (Kakehashi ve ark. 1965, Möller ve ark. 1981, Sundqvist 1992). Bu nedenle kök kanal tedavisi esnasında enfekte kök kanal sisteminden mikroorganizmaların tamamen uzaklaştırılması başarılı bir endodontik tedavi için temel amaç olarak kabul edilmekte ve bu amaca yönelik olarak çeşitli preparasyon teknikleri, farklı irrigasyon materyalleri ve irrigasyon uygulama sistemleri ile özellikle enfekte kök kanallı dişlerde olmak üzere farklı kanal içi medikamentler kullanılmaktadır.

Kök kanal anatomisinin kompleks yapısı nedeni ile mekanik preparasyonun tek başına kök kanallarını bakterilerden ve onlara besin kaynağı olabilecek enfekte ve/veya enfekte olmayan doku artıklarından tamamen temizleyemediği, yapılan *ex vivo* ve klinik çalışmalarda kök kanal duvarlarında mekanik preparasyon sırasında hiç dokunulmamış alanların kaldığı ve dolayısıyla sadece mekanik preparasyon ile kök kanallarının tamamen temizlenemediği gösterilmiş ve irrigasyon işleminin son derece önemli olduğu belirtilmiştir (Byström ve Sundqvist 1981, Abou-Rass ve Piccinino 1982, Peters ve ark. 2001, Nair ve ark. 2005, Mohammadi ve Abbott 2009).

İrrigasyonun önemi anlaşıldıktan sonra hem irrigasyon materyalleri hem de uygulama yöntemleri konularında yapılan yeniliklerle irrigasyon işleminin etkinliği arttırılmaya çalışılmıştır (Kimura ve ark. 2000, Weber ve ark. 2003, Soukos ve ark. 2006, Virtej ve ark. 2007, Ferreira ve ark. 2007, Nudera ve ark. 2007, Murray ve ark. 2008, Desai ve Himel 2009). *Enterococcus (E) faecalis* gibi, antimikrobiyal ajanlara karşı son derece dirençli olduğu bilinen ve inatçı endodontik enfeksiyonlarda sıklıkla izole edilen mikroorganizmaların (Molander ve ark. 1998, Peciuliene ve ark. 2000, Stuart ve ark. 2006) eliminasyonunda kullanılacak irrigasyon materyalinin antimikrobiyal özelliğinin güçlü olması son derece önemli olduğu için irrigasyon konusunda günümüzde özellikle daha iyi antibakteriyel etki elde edebilme amacı ön plana çıkmıştır.

Antibakteriyel etkinlik elde etmeye yönelik olarak, farklı irrigasyon materyalleri ve irrigasyon uygulama yöntemleri dışında gündeme gelen bir başka konu ise farklı irrigasyon materyallerinin kombine kullanılması olmuştur. Farklı özelliklerde ve dolayısıyla farklı antimikrobiyal spektruma sahip irrigasyon materyallarinin kombine kullanılması, kök kanal mikroflorasını oluşturan yüzlerce çeşit mikroorganizmanın (Sundqvist 1992) eliminasyonu için sinerjik ve/veya additive etkiyle tek bir solüsyonunun sağladığı antibakteriyel etkiyi daha da arttırabilir. Literatürde endodontik irrigasyonda sıklıkla kullanılan materyallerin kombine kullanılmasını antibakteriyel özellik yönünden değerlendiren sınırlı sayıda çalışma mevcuttur (Byström ve Sundqvist 1985, Heling ve Chandler 1998, Kuruvilla ve Kamath 1998, Kho ve Baumgartner 2006, Vianna ve Gomes 2009).

Bu araştırmada; antimikrobiyal ajanlara karşı oldukça dirençli olduğu bilinen *E.faecalis*'e karşı, sodyum hipoklorit (NaOCl), klorheksidin (CHX), etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi sık kullanılmış ve kullanılmakta olan irrigasyon solüsyonlarının yanı sıra MTAD, SmearClear (SC) ve klorindioksit (ClO_2) gibi rutin endodontik tedavilerde kullanımı henüz yaygın olmayan yeni birkaç irrigasyon solüsyonunun hem tek hem de birbirleriyle kombine kullanımlarındaki antibakteriyel etkinlik özelliklerinin araştırılması planlanmıştır.

1.1. Kök Kanal Tedavisinde İrrigasyon

Endodontide irrigasyon, basit şekliyle kök kanallarının çeşitli sıvıların yardımı ile ıslatılması ve/veya yıkanması olarak tarif edilebilir. Bu işlemde amaç (Günaydın 2002, Zehnder 2006, Koylu 2007);

- Kök kanallarından organik ve inorganik debrisleri, enfekte materyalleri, yumuşak ve sert doku artıklarını hem fiziksel hem de kimyasal olarak uzaklaştırmak ve bu sayede bu materyallerin apikal bölümde birikmesi, apikali tıkaması ve bu bölgenin ulaşılamaz hale gelmesine engel olmak,
-Antibakteriyel özellikleri sayesinde kök kanalındaki mikroorganizmaları uzaklaştırmak,
- Kök kanallarını ıslatarak ve kayganlaştırarak mekanik preparasyonunun daha rahat yapılmasına olanak sağlamak,

- Kanal aletlerinin ulaşamadığı bölgeleri temizlemek ve dezenfekte etmek,
- Kök kanal dezenfeksiyonu için ara seanslarda kullanılan maddelerin etkisini arttırmak,
- Smear tabakayı çıkarmak,
- Ağartıcı özellikleri ile renklenmiş dişlerin ağartılmasına yardımcı olmaktır.

Bu amaçlara ulaşabilmek için kullanılacak ideal bir irrigasyon solüsyonunda bulunması gereken özellikler ise şu şekilde sıralanabilir (Chow 1983, Sundqvist ve Figdor 1998, Alaçam 2000, Torabinejad ve ark. 2002, Koylu 2007):

1) Kök kanalındaki artık organik ve inorganik doku ve debrisleri eritebilmeli,
2) Dişin çevre dokularına antijenik, toksik ve karsinojenik etki göstermemeli,
3)Düşük yüzey gerilimi göstererek mekanik preparasyonla ulaşılamayan kök kanal yüzeylerine etki edebilmeli,
4)Lubrikasyon özelliği ile kanal aletlerinin kanalda rahat çalışmasını sağlamalı,
5) Mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etki gösterebilmeli ve bu özelliğini kullanım sonrası kök kanallarında bir süre daha devam ettirebilmeli,
6) Endotoksinleri etkisiz hale getirebilmeli
7)Smear tabakasını kaldırabilmeli, dentin dokusuna olumsuz etkisi olmamalı,
8)Kanalda kolay nötralize olmamalı,
9)Kanal dolgu maddesine olumsuz etkisi olmamalı,
10)Daimi restorasyonların pulpa odası duvarına bağlanma kuvvetine olumsuz etkisi olmamalı,
11) Dişin rengini değiştirmemeli,
12) Kolay elde edilebilmeli,
13) Uygulanması kolay olmalı,
14) Maliyeti düşük olmalı,
15) Raf ömrü uzun olmalı,
16) Kolay saklanabilmelidir.

İrrigasyon amacı ile geçmişten günümüze çok farklı solüsyonlar kullanılmıştır. Fizyolojik tuzlu su (FTS), çeşitli anestezik solüsyonlar, sodyum hipoklorit (NaOCl), klorheksidin (CHX), MTAD, Tetraclean, klorindioksit (ClO_2),

hidrojen peroksit (H_2O_2), doksisiklin, morinda citrifolia, ve etilen daimin tetra asetik asit (EDTA), REDTA, Rc-Prep, SmearClear (SC) gibi şelasyon ajanları, asitler ve lubrikantlar farklı özellikleriyle tek başlarına veya birkaçı bir arada kullanılmış olan önemli solüsyonlar arasında sayılabilir (Eddy ve ark. 2005, Dunavant ve ark. 2006, Zehnder 2006, Murray ve ark. 2008).

Farklı özelliklerde ancak aynı irrigasyon amaçları için kullanılan bu çeşitli irrigasyon materyallerinin hiçbiri tek başına ideal bir irrigasyon materyalinden beklenen tüm özellikleri sağlayamadığı için bir yandan ideal solüsyona ulaşma çabaları devam ederken bir yandan da mevcut olanlarla ideal özelliklere ulaşma adına farklı irrigasyon uygulama metotları (elektro-kimyasal olarak aktive edilmiş su, ultrasoniklerle kullanım, ozonlu su, lazerler, oksidatif potansiyelli su, fotodinamik terapi, Endox sistemi gibi…) geliştirilmeye çalışılmaktadır (Kimura ve ark. 2000, Hata ve ark. 2001, Weber ve ark. 2003, Soukos ve ark. 2006, Virtej ve ark. 2007, Desai ve Himel 2009). Bu araştırmalar devam ederken irrigasyondan beklenen tüm amaçlara ulaşabilme amacıyla gündeme gelen bir diğer önemli konu da, farklı özellikteki irrigasyon solüsyonlarının kombine kullanılması fikridir (Heling ve Chandler 1998, Kuruvilla ve Kamath 1998, Kho ve Baumgartner 2006, Vianna ve Gomes 2009).

Günümüzde mevcut ve sıklıkla kullanılan irrigasyon solüsyonlarının tek başlarına ideal bir irrigasyon materyali özellikleri taşımaması ve bunların kombinasyonlarının antibakteriyel etkinlikleri ile ilgili yapılmış çalışma sayısının yetersizliği nedenleriyle **H_2O_2, NaOCl, EDTA** ve **CHX** gibi sık kullanılmış ve kullanılmakta olan irrigasyon solüsyonları yanı sıra **SC, MTAD** ve **ClO_2** gibi rutin endodontik tedavilerde kullanımı henüz yaygın olmayan yeni irrigasyon solüsyonlarının, ideal irrigasyon için önemli bir özellik olan antibakteriyel etkinlik yönünden araştırılması bu alandaki eksikliği gidermek adına önemli bir aşama olabilir.

1.1.1. Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Endodontide kullanılan diğer bir irrigasyon solüsyonu da H_2O_2'dir. Renksiz, şeffaf bir sıvı olup diş hekimliğinde %1-30 arasında değişen farklı

konsantrasyonlarda kullanılmaktadır. Bu oksitleyici solüsyonun etki mekanizması, süperokside iyonların reaksiyonu ile bilinen en güçlü oksidan olan hidroksil radikallerinin meydana gelmesiyle açıklanır. Bu radikal; membran lipitlerine, DNA'ya ve diğer temel hücre bileşenlerine saldırır. Bu maddenin antimikrobiyal etkisinin sülfidril gruplarının oksidasyonu ve protein, yağ ve yüzey zarlarındaki çifte bağların oksidasyonu sonucu olduğu ileri sürülmektedir (Block 1991).

Möller (1966) %30'luk H_2O_2'in mekanik temizlikten sonra diş yüzeyinin dezenfeksiyonu için kullanımını önermiştir. Grossman (1943) NaOCl'in ardından H_2O_2'in kök kanal irrigasyonu amacı ile kullanımının kök kanalının dezenfeksiyonunu ve tamamen temizlenmesini arttırabilecek bir köpürme meydana getireceğini belirtmiştir (Svec ve Harrison 1977). Genellikle pulpa odasındaki artıkları ve kanı temizlemek için kullanılsa da kanal içi irrigan olarak da kullanılmaktadır (Haapasalo ve ark. 2005).

H_2O_2'in doku eritici özelliği yoktur ve nispeten sınırlı antimikrobiyal etkiye sahiptir. Gram (+) bakteriler üzerinde gram (-)'lere göre daha az etki gösterir. Özellikle katalaz aktivitesi olmayan bakteriler peroksiti kıramadıkları için bu ajana oldukça hassastırlar. Katalaz aktivitesi bakteriyi oksidatif hasardan yeterince korusa da bu savunma mekanizması H_2O_2'nin yüksek konsantrasyonu ile maskelenir. Güçlü bir oksidan olan hidroksil radikalleri bakterinin ölümüne neden olan hücre zarı yağları ve DNA gibi makromoleküller ile kolayca tepkimeye girebilir (Block 1991).

Heling ve Chandler (1998) yaptıkları *in vitro* çalışmada H_2O_2 ve CHX'in kombine kullanımlarının *E.faecalis* üzerine CHX'in yalnız başına kullanımından daha fazla antibakteriyel etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Heling ve Chandler (1998) bu çalışmada ayrıca, %3 H_2O_2 ve %1 NaOCl solüsyonunun kombine kullanımlarının antibakteriyel etkilerine herhangi bir etkisinin bulunmadığını ve bu kombinasyonun %1 NaOCl'in etkisinden daha etkili olmadığını fakat %3 H_2O_2'in yalnız başına olan etkinliğinden anlamlı derecede daha fazla etkin olduğunu bildirmişlerdir. Steinberg ve ark. (1999) da, H_2O_2 ve CHX'in çeşitli kombinasyonlarının antibakteriyel sinerjik etki gösterdiğini belirtmiş, bu sinerjik etkinin de CHX'in hücre yüzeyinde değişime neden olup daha fazla H_2O_2'in bakteri hücresindeki organellerle reaksiyona girmesiyle oluştuğunu ileri sürmüşlerdir.

Siqueira ve ark. (1997a) tarafından yapılan *in vitro* bir çalışmada NaOCl ve H_2O_2 solüsyonlarının ultrasoniklerle desteklenerek kullanılmasının *E.faecalis* üzerine antibakteriyel etkinliği araştırılmıştır. Araştırmada, birinci grupta %4 NaOCl solüsyonu ultrasonikler ile desteklenmeden uygulanırken, ikinci grupta %4 NaOCl ultrasonikler ile desteklenerek uygulanmış, üçüncü grupta %4 NaOCl ve %3 H_2O_2 kombinasyonu uygulanırken, dördüncü grupta kontrol amaçlı olarak sadece fizyolojik tuzlu su (FTS) kullanılmıştır. Sonuç olarak NaOCl'in tek başına ve H_2O_2 ile kombine olarak kullanıldığı gruplar arasında herhangi bir fark bulunamamıştır. NaOCl'in ultrasonikler ile desteklenerek kullanıldığı grupta ise anlamlı şekilde daha az pozitif kültür elde edilmiştir.

H_2O_2'in ucuz, kolay bulunur ve kokusuz olması, beyazlatma etkisinin bulunması (Shiozawa 2000), mantarlar ve anaerobik bakterilere karşı etkili olması (Block 1991) , köpürme etkisiyle kök kanalındaki debrisleri mekanik olarak daha rahat uzaklaştırabilmesi (Svec ve Harrison 1977) gibi avantajlarının yanında kök kanalında rezidüel olarak kaldığında basınç meydana getirerek ağrıya sebep olması, *E.faecalis* gibi dirençli mikroorganizmaları elimine edememesi, organik veya inorganik doku çözücü etkisinin bulunmaması gibi bazı dezavantajları mevcuttur (Ercan 2004, Shiozawa 2000)

1.1.2. Sodyum hipoklorit (NaOCl)

NaOCl'in "Dakin solüsyonu" olarak bilinen tamponlanmış %0.5'lik konsantrasyonu ilk kez etkin olarak I. Dünya Savaşı sırasında bir kimyager olan Henry Drysdale Dakin ve bir cerrah olan Alexis Carrel tarafından kontamine olmuş yaraların temizlenmesi amacıyla kullanılmıştır (Zehnder 2006). NaOCl'in endodontik tedavide kullanımı ise 1920'li yılların başında gündeme gelmiş (Crane 1920) ve o günden bu yana hala kullanılmaya devam edilen bir irrigasyon solüsyonu olmuştur. Kemomekanik preparasyon esnasında organik artıklara karşı çözücü etki göstermesi, antiseptik olması, düşük yüzey gerilimi ile dentin duvarlarına kolayca diffüze olabilmesi, kolay elde edilebilmesi ve ucuz olması nedenleriyle çok fazla tercih edilen bir irrigasyon solüsyonudur (Kaufman ve Greenberg 1986, Sundqvist ve Figdor 1998, Alaçam 2000, Wesselink ve Bergenholtz 2003).

Alkali bir solüsyon olan NaOCl'in tedavi amacıyla kullanılan ticari formlarının pH'sı genellikle 10–12 civarındadır. Bu pH değeri solüsyonun kimyasal olarak daha stabil olmasını sağlamaktadır (Sassone ve ark. 2003). Endodontide genel olarak %0.5 ile %5.25 arası değişen konsantrasyonları tercih edilmektedir (Haapasalo ve ark. 2005). NaOCl'in konsantrasyonu ile toksisitesi doğru orantılıdır (Clarkson ve Moule 1998). NaOCl'in toksisitesi ile ilgili çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmekle birlikte çok sayıda olgu bildiriminde periapikal dokular, göz, maksiler sinüs gibi çevre doku ve organlarla teması sonucu gelişen, dayanılmaz ağrılarla karakterize şiddetli doku yıkımları rapor edilmiştir (Becking 1991, Yeşilsoy ve ark. 1995, Türkün ve Cengiz 1997, Alaçam 2000, Chang ve ark. 2001, Frais ve ark. 2001, Ercan ve ark. 2004). Solüsyonun istenmeyen bu etkilerini en aza indirme çabası ile araştırmacılar etkili olduğu bilinen %2.6–5.25 arasındaki konsantrasyonlar yerine çok daha düşük konsantrasyonlarının kullanılmasını önermişlerdir (Türkün ve ark. 1998, Hülsman ve Hahn 2000). Ancak düşük konsantrasyonlarda sitotoksik ve irrite edici özellikleri yanında, doku çözücü ve antibakteriyel etkilerinin de belirgin biçimde azaldığı gözlenmiştir (Türkün ve Cengiz 1997, Türkün ve ark.1998).

Yeşilsoy ve ark. (1995), kök kanallarında çok sık karşılaşılan *Streptococcus mutans, Peptostreptococcus micros, Prevotella intermedius,* and *Porphyromonas gingivalis*'e karşı %0.5, %2.5, %5.25 konsantrasyonlarındaki NaOCl'in etkisini değerlendirmişler, %5.25 konsantrasyondaki NaOCl'in araştırmada test edilen tüm mikroorganizmalar üzerine etkili olduğunu ve %0.5 konsantrasyonda ise etkinliğin en az olduğunu bildirmişlerdir.

NaOCl solüsyonu, kök kanalındaki organik artıklar ile reaksiyona girerek organik dokuları çözmektedir; ancak bu reaksiyon sırasında hipoklorit, aktivasyonunu kaybetmekte ve basitçe sodyum ve klorür iyonları gibi parçalanma ürünlerine ayrışmaktadır. NaOCl solüsyonunun smear tabakasının uzaklaştırılmasında yetersiz kalması ve inatçı *Enterococcus*, *Actinomyces* ve *Candida* türleri üzerinde etki gösterememesi nedenleriyle sıklıkla NaOCl'in birden fazla solüsyon ile bir arada kullanılması gündeme gelmiştir (Cohen ve Hargreaves 2006).

NaOCl solüsyonunun antibakteriyel etkinliği bilinmekle birlikte bakterileri öldürme işlevinin gerçek mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır. NaOCl'in antibakteriyel etkinliğini açıklayan iki temel görüş vardır (Çalışkan 2006). İlk görüşe göre, solüsyonun dezenfektan etkinliği içerisindeki tepkimeye girmemiş hipoklorik asit (HOCl) miktarına bağlıdır. Hipoklorik asit bakteri enzimlerinin sülfidril gruplarında irreversibl oksidasyona neden olarak hücrenin metabolik fonksiyonlarını bozmakta ve böylece hayati enzimleri inhibisyona uğrayan bakteriler ölmektedir (Siqueira ve ark. 1997a, Heling ve Chandler 1998, Siqueira ve ark. 2000, Gomes ve ark. 2001, Çalışkan 2006). İkinci görüşe göre ise solüsyonun antibakteriyel etkinliği hücre proteinlerini hidrolize ve okside etmesi yeteneğinin yanı sıra hipertonikliğinden dolayı bir miktar hücre içi sıvının osmotik olarak hücre dışına çıkmasına bağlıdır (Pashley ve ark. 1985). Yaklaşık pH değeri 11-12 olan NaOCl, doku proteinleri ile temasa geçtiğinde çok kısa bir süre içinde nitrojen, formaldehit ve asetaldehit oluşur ve peptit bağlarının yıkımı ile de proteinlerin çözünmesi meydana gelir. Bu reaksiyon sırasında amino grubundaki hidrojen, klorin ile yer değiştirerek kloramin oluşturur. Kloramin ise NaOCl'in antibakteriyel aktivitesinde önemli bir role sahiptir. Nekrotik doku ve pü formasyonu bu şekilde eriyerek antibakteriyel ajanın enfekte bölgelere ulaşmasını ve bu bölgelerin daha iyi bir şekilde temizlenmesini sağlar (Çalışkan 2006).

Johnson ve Remeikis (1993) de NaOCl'in doku çözücü ve antimikrobiyal etkilerinden sorumlu özelliklerini şu şekilde sıralamışlardır:

- Hücre proteinlerini okside ve hidrolize etme yeteneği
- Hipoklorik asit oluşturarak Cl^- açığa çıkarması
- Osmotik aktivite ile belli bir miktar hücre sıvısını dışarı çekmesi.

Antibakteriyel etkinlik sağlayan aktif klor konsantrasyonu, zamana ve NaOCl'in sulandırılmasına bağlı olarak azalmakta ve ısıtma sonucu materyalin yapısındaki suyun buharlaşmasından dolayı ısıtılma süresi ile doğru orantılı olarak bu etkinlik artmaktadır (Gomes ve ark. 2001). Isı ve pH gibi faktörler sabit tutularak NaOCl konsantrasyonu arttırıldığında antibakteriyel etkinlik de artmaktadır (Siqueira ve ark. 1997a, 2000).

NaOCl'in farklı konsantrasyonlarının etkinliğini değerlendiren çalışmalarda süre faktörü göz önüne alındığında ise, konsantrasyonunun azalmasıyla bakterileri öldürebilmesi için gerekli sürenin uzadığı da belirtilmiştir (Haapasalo ve ark. 2005). Siqueira ve ark. (2000) yaptıkları *in vitro* çalışmada %1, %2.5 ve %5.25 konsantrasyonlardaki NaOCl solüsyonunun *E. faecalis* üzerindeki antibakteriyel etkinliğini karşılaştırmışlar; enfekte kök kanalında kullanılan üç ayrı NaOCl konsantrasyonunun antibakteriyel etkinliği arasında bir fark olmadığını ancak irrigasyon solüsyonunun konsantrasyonu arttıkça antibakteriyel etki hızının arttığını bulmuşlardır. Vianna ve ark. (2004), %0.5'lik NaOCl'nin *Candida (C) albicans'*ı öldürmesi için 30 dakika gerektiğini, oysa %5.25'lik NaOCl'in 15 saniyede tüm mantar hücrelerini öldürdüğünü belirtmişlerdir. Gomes ve ark. (2001) tarafından yapılan bir çalışmada da çeşitli konsantrasyonlardaki NaOCl'in *E. faecalis* üzerine etkisine bakılmış ve bakterinin %5.25'lik NaOCl ile 30 saniyede, %2.5'lik NaOCl ile 10 dakikada ve % 0.5'lik NaOCl ile 30 dakikada öldürüldüğü belirtilmiştir. Yine Berber ve ark. (2006) tarafından yapılan bir başka *in vitro* çalışmada da, %0.5, %2.5 ve %5.25 olmak üzere NaOCl'nin üç farklı konsantrasyonunun *E.feacalis* üzerine antibakteriyel etkinliğine bakılmış ve en etkili konsantrasyonun %5.25 olduğu tespit edilmiştir.

Byström ve Sundqvist 1985 yılında yaptıkları çalışmalarında %0.5 ve %5'lik NaOCl solüsyonlarının enfekte kök kanallarındaki antibakteriyel etkinliklerini 60 hasta üzerinde klinik olarak değerlendirmiş ve sonuç itibariyle iki solüsyonun antibakteriyel etkinlikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamışlardır. Ancak araştırıcılar %5 NaOCl ile %15 EDTA solüsyonlarının ard arda olacak şekilde kombine kullanılmalarının NaOCl'in tek başına kullanımından daha etkili olduğunu belirtmişlerdir.

1.1.3. Etilen daimin tetra asetik asit (EDTA) ve SmearClear (SC)

EDTA, kök kanallarının şekillendirilmesi sırasında kullanılan dekalsifiye edici bir şelasyon ajanıdır. Şelat kelimesi yunanca yengeç kıskacı anlamına gelen "chele" kelimesinden türemiştir (Çalışkan 2006). Şelatlar yüzük şekilli bağlar sonucunda metal iyonları ile organik maddeler arasında oluşan kısmen kararlı komplekslerdir. Şelatörlerin bu yetenekleri tıpta metal zehirlenmeleri, bakır

metabolizmasında meydana gelen bozulmaların tedavilerinde tehlikeli iyonların vücut sıvıları ile atılmasında kullanılmaktadır. Şelasyon ajanları, dentindeki Ca^{+2} iyonları ile birleşerek şelat tuzları oluşturmaktadır.

Endodontide EDTA ilk kez, %15'lik EDTA kullanımı ile Nygaard-Ostby tarafından 1957 yılında önerilmiştir (Nygaard-Ostby 1957). EDTA'nın, kök kanal dentinindeki kalsiyum iyonları ile oluşturduğu şelasyon özelliği sayesinde dentinin inorganik yapısını uzaklaştıracağı ve bu etkileşimin sonucu olarak da kök kanalının şekillendirilmesi sırasında daha az dirençle karşılaşılacağı ve temizlemenin kolaylaşacağı düşünülmüştür (Alaçam 2000). Şelatör ajanlar, temizleme yeteneklerine ek olarak kök kanal duvarına yapışmış olan biofilm tabakasını çözebilmektedirler (Gulabivala ve ark. 2005). Bu da EDTA'nın sınırlı antibakteriyel kapasitesine rağmen kanal içi mikrobiyotanın azalmasında serum fizyolojiğe göre neden daha etkili olduğunu açıklamaktadır (Yoshida ve ark. 1995).

EDTA preparasyonları sıvı veya jel tip olmak üzere iki şekilde piyasaya sürülmüştür. Sıvı tiplere SmearClear (SybronEndo, Orange, CA), Calcinase (lege artis, Dettenhausen, Almanya), REDTA (Roth International Chigaco, ABD), EDTAC ve DTPAC, EDTA-T (Formula & Açao Farmaçia, Sao Paulo, Brezilya), EGTA (Sigma, St. Louis, MO, ABD), Largal Ultra (Septodont, Paris, Fransa), Salvizol (Ravenz Konstanz, Almanya); pasta tiplere ise Calsinase slide (lege artis, Dettenhausen, Almanya), RC-Prep (Premier Dental, Philadelphia, PA, ABD) ve Glyde file (DeTrey Dentsply, Konstanz, Almanya) örnek olarak verilebilir (Hülsmann ve ark. 2003).

EDTA'nın sınırlı da olsa belli bir antibakteriyel aktivitesi vardır (Patterson 1963). EDTA'nın antibakteriyel etkisinin ancak bakteri ile uzun süre direkt temas sonucu meydana geldiği ve EDTA'nın bu etkisinin bakterilerin hücre duvarındaki katyonların şelasyonu nedeniyle olduğu düşünülmektedir (Haapasalo ve ark. 2005). Aynı zamanda EDTA veya sitrik asit kullanılarak smear tabakasının uzaklaştırılmasıyla dentinin derin tabakalarında, kullanılan lokal antiseptiklerin etkisinin arttığı da gösterilmiştir (Haapasalo ve Orstavik 1987).

Siqueira ve ark. (1998) agar diffüzyon testi kullanarak yaptıkları çalışmada EDTA'nın siyah pigmentli bazı anaerop ve *E.faecalis* gibi bazı fakültatif bakterilere karşı antibakteriyel etkinliğinin olduğunu bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar EDTA'nın antibakteriyel etkisinin esas olarak kontamine smear tabakasının kaldırılması ile alakalı olduğunu da ileri sürmüşlerdir.

Şen ve ark. (2000) agar diffüzyon testi kullanarak yaptıkları *in vitro* araştırmada EDTA'nın *C.albicans* üzerine çeşitli antifungal ajanlara göre daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

NaOCl çok kullanılan bir endodontik irrigant olmasına rağmen inorganik dentin parçalarını çözemediği için kök kanalının şekillendirilmesi sırasında oluşan smear tabakasını tek başına ortadan kaldıramamaktadır (Lester ve Boyde 1977). Smear tabaka kaldırılmasında sıklıkla EDTA veya sitrik asit gibi inorganik doku çözme özelliğine sahip materyallerle kullanılmaktadır (Zehnder 2006). Ancak hem sitrik asit hem de EDTA'nın, NaOCl solüsyonundaki klorini azalttığı ve böylece NaOCl'in nekrotik dokular ve bakteriler üzerinde etkisizleştiği bildirilmiş, bu yüzden de sitrik asit veya EDTA'nın hiçbir zaman NaOCl ile karıştırılmaması gerektiği ileri sürülmüştür (Zehnder ve ark. 2005b). Grawehr ve ark. (2003) da NaOCl ile EDTA etkileşimini araştırmışlar ve EDTA'nın NaOCl solüsyonundaki serbest klorini yok ederek hipoklorit solüsyonlarının antibakteriyel özelliklerini baskılayabileceğini ve NaOCl'in doku çözücü etkisinin azalabileceğini bildirmişlerdir.

Rasimick ve ark. (2008) CHX ile EDTA arasındaki etkileşimi araştırmışlar ve bu iki materyalin bir araya gelmesi sonucu beyaz bir tortu oluştuğunu bildirmişler ve bu oluşan beyaz tortunun bir kimyasal reaksiyon sonucu değil CHX'in EDTA ile tuz oluşturmasına bağlı olarak oluştuğunu ileri sürmüşlerdir.

SmearClear (SC) (SybronEndo, Orange, CA), smear tabakasını kaldırmak için NaOCl'le birlikte kullanılmak üzere üretilmiş, %17'lik EDTA içerisine yüzey gerilimini düşürmek amacıyla katyonik (setrimit) ve anyonik yüzey aktif maddelerin ilave edildiği bir EDTA preparatıdır (Lui ve ark. 2007, Khedmat ve Shokouhinejad 2008). Abou-Rass ve Piccinino (1982) kullanılan irrigasyon solüsyonlarının yüzey gerilimi düşürüldüğünde dar kök kanallarına akışının arttığını söylemişlerdir. Bu

nedenle EDTA'nın apikal bölgelere daha kolay penetre olabilmesini sağlamak amacıyla içerisine yüzey aktif madde katılması ile ilgili araştırmalar yapılmıştır. Khedmat ve Shokouhinejad (2008) yaptıkları *in vitro* bir çalışmada SC içerisine katılmış olan yüzey aktif maddelerin smear tabakasını kaldırmada tek başına EDTA kullanımına göre farklı bir etki oluşturmadığını bulmuşlardır. Da Silva ve ark. (2008) tarafından yapılan bir başka *in vitro* araştırmada da yine SC ile EDTA'nın smear tabakasını kaldırma etkisi arasında fark olmadığı tespit edilmiştir. Bu konuda yapılmış diğer çalışmalarda benzer şekilde, endodontik şelatörler içerisine katılan yüzey gerilimini düşürücü maddelerin şelatörlerin kalsiyum şelasyon kabiliyetlerini arttırmadığı belirtilmiştir (Scelza ve ark. 2003, Zehnder ve ark. 2005a, De-Deus ve ark. 2008).

Dunavant ve ark. (2006) yaptıkları *in vitro* bir çalışmada irrigasyon solüsyonlarının *E.faecalis*'in biofilmi üzerine etkisini araştırmışlardır. Kullanılan test solüsyonlarının biofilm üzerine antibakteriyel etkinliğini iyiden kötüye sırasıyla %6 NaOCl, %1 NaOCl, SC, %2 CHX, REDTA ve BioPure MTAD olarak belirlemişler ve SC'in yine bir başka EDTA preparatı olan REDTA'ya oranla daha fazla antibakteriyel özellik göstermesinin içerisinde bulunan yüzey aktif madde ve katyonik surfaktan olan setrimitten kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir. Zira katyonik surfaktanların bakterisid ve fungusid özelliklerinin olduğu önceden de rapor edilmiştir (Gainor ve ark. 1997).

1.1.4. Klorheksidin glukonat (CHX)

CHX; geniş spektrumlu, antimikrobiyal, yavaş salınan ve nispeten düşük toksisiteli bir ajandır. CHX; 5.5–7.0 pH'ya sahip, santral bir heksametilen zincirine bağlı iki adet bisguanidine grubu ve iki adet 4-klorofenil halkası içeren simetrik, katyonik bir moleküldür. En stabil hali tuz formu olduğundan çoğunlukla glukonat, diglukonat, asetat ve hidroklorat formları kullanılmaktadır (Fardal ve Turnbull 1986, Leonardo ve ark. 1999, Hauman ve Love 2003). Neomisin, gentamisin gibi bazı antibiyotikler ile sinerjistik etkisi bulunmaktadır. Diş hekimliğinde özellikle periodontoloji ve cerrahi alanlarında ağız antiseptiği olarak uzun zamandır kullanılmaktadır (Haapasalo ve ark. 2005). CHX solüsyonu deri antiseptiği olarak da

kullanılmaktadır. Özellikle üroloji ve jinekolojide su veya alkoldeki %0.5'lik çözeltisi uygulanmaktadır.

CHX molekülü gram (-) ve gram (+) organizmalara, mantarlar, fakültatif anaerob ve aeroblar, bakteriyel sporlar, lipofilik virüsler ve dermatofitlere karşı oldukça aktiftir (Fardal ve Turnbull 1986, Vahdaty ve ark. 1993). CHX solüsyonunun antibakteriyel etkinliğinde birçok mekanizma rol oynamaktadır. CHX bakteriler üzerindeki negatif alanlara elektrostatik olarak bağlanmaktadır. Bakterilerin sitoplazmik membranlarına tutunarak osmotik dengenin bozulmasına ve sonuçta da hücre içi komponentlerin hücre dışına sızmasına neden olmaktadır. Düşük konsantrasyonlarda CHX fosfor gibi düşük molekül ağırlıklı maddelerin hücre dışına çıkması sonucu bakteriostatik etki, yüksek konsantrasyonlarda ise proteinin çapraz bağı sonucu sitoplazmanın koagülasyonu nedeniyle bakterisid etki gösterir. CHX'in bu etkisinin, yavaş salınmasından dolayı bakterostatik etkisinden daha az önemli olduğu düşünülmektedir (Çalışkan ve ark. 1994, Leonardo ve ark.1999).

CHX'in aktivitesi organik madde varlığında azalmaktadır (Portenier ve ark. 2006). Çok iyi bir antiviral ajan değildir ve aktivitesi yağ kaplı zarları olan virüsler ile sınırlıdır (Park ve Park 1989). CHX aynı zamanda hidroksiapatite ve yumuşak dokulara bağlanabilmekte ve böylece, bu dokuların elektriksel alanlarını bakteri tutunmasını önleyecek şekilde değişime uğratmaktadır (Heling ve Chandler 1998).

Son yıllarda bu önemli özellikleri dolayısıyla kök kanal tedavisinde kullanımı da yaygınlaşmıştır (Ringel ve ark. 1982). Tadı ve kokusu yönünden çok fazla dezavantaj oluşturmayan CHX tek başına kullanılabileceği gibi, CHX çözeltisine katyonik ve yüzey aktif bir deterjan olan setrimit ilave edilerek hazırlanmış bir preparat olan setreksidinin de kök kanal tedavisinde kullanımı önerilmiştir (D'Arcangelo ve Varvara 1998).

Delaney ve ark. (1982), CHX'in kanal içi ilaç (%0.2) ve irrigasyon solüsyonu (%0.2) olarak kullanımının, çekilmiş insan dişleri kök kanal florası üzerine olan etkilerini araştırmışlar ve her iki uygulamada da CHX'in bakteri sayısını azalttığını göstermişlerdir. Ohara ve ark. (1993) da %0.2'lik CHX'in anaerobik mikroorganizmalara en etkili irrigasyon solüsyonu olduğunu bildirmişlerdir. Siqueira

ve ark. (1998) %2 ve %0.2'lik CHX'in antimikrobiyal etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamışlardır. Araştırıcılar ayrıca, bu farklı yoğunluktaki CHX'in *E.faecalis*'i inhibe ettiğini, bunların %0.5'lik NaOCl'den daha fazla ve %2.5'lik NaOCl'den daha az antimikrobiyal etkili olduğunu da belirtmişlerdir.

Kuruvilla ve Kamath (1998) CHX ve NaOCl solüsyonlarının birlikte kullanılmasının tek başlarına kullanılmalarından daha fazla antimikrobiyal etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Araştırıcılar bu etkinin nedeninin, CHX'in bir baz oluşu ve birkaç adet organik asit ile tuz oluşturabilmesi; NaOCl'nin bir oksidasyon ajanı olması ve CHX'in glukonat bölümünü okside ederek glukronik asite çevirmesi ile CHX molekülünün guanidin bileşenine kloro grubu eklenerek klorheksidinklorit oluşumu olabileceğini belirtmişlerdir.

Jeansonne ve White (1994) çeşitli nedenlerle çekilmiş dişler üzerinde yaptıkları bir *in vitro* çalışmada %2'lik CHX ile %5.25'lik NaOCl'in antibakteriyel etkisini karşılaştırmışlar ve istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte CHX'in daha etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Türkün ve ark. (1998), farklı irrigasyon solüsyonlarının toksik ve nekrotik doku çözücü etkileri üzerine yaptıkları *in vitro* bir çalışmada, %0.2'lik CHX'in %5.25'lik NaOCl'e oranla daha az toksik olduğunu belirtmişler ve bunun CHX'in antibakteriyel etkisine ilaveten önemli bir avantaj olduğunu, nekrotik doku çözücü etkiye sahip olmamalarının ise %5.25'lik NaOCl'ye alternatif olarak kabul edilmelerine engel olabilecek bir eksiklik olduğunu belirtmişlerdir.

Basrani ve ark. (2007) NaOCl ile CHX'in etkileşimini araştırmışlar ve iki ajan karıştırıldığında bir tortu oluştuğunu ve tortu kıvamının NaOCl konsantrasyonu artmasına bağlı olarak arttığını belirlemişlerdir. Bu iki maddenin sulu çözeltisinde CHX yavaşça hidrolize olmakta ve toksik bir materyal olan para-kloroanilin (PKA) açığa çıkmaktadır. Aromatik amin olan bu maddenin birincil toksik etkisi methemoglobin oluşumudur (Chhabra ve ark. 1991). Bu madde insanda kısa süreli temas durumunda, methemoblobin oluşumunun belirtisi olan siyanoza neden olur. Bu sebeplerle kök kanal tedavisi sırasında bu iki materyalin PKA oluşumunu

engellemek amacıyla kullanımı konusunda tedbirli olunması gerektiği belirtilmiştir (Basrani ve ark. 2007).

Önçağ ve ark. (2003) yaptıkları bir seri *in vivo* ve *in vitro* deneylerde %5.25 NaOCl, %2 CHX ve %0.2 CHX ile %0.2 setrimit karışımı olan setreksidinin antibakteriyel ve sitotoksik özelliklerini karşılaştırmışlardır. Bu çalışmaların sonuçlarına göre *E.faecalis*'e karşı setreksidin ve CHX, NaOCl'den daha iyi antibakteriyel etki göstermiş ve daha az sitotoksik bulunmuştur. CHX ve setreksidinin rezidüel antibakteriyel etki gösterdiğini de belirten araştırıcılar, CHX'in daha az sitotoksik özellik göstermesinden dolayı özellikle açık apeksli dişlerde kullanımını önermişlerdir.

1.1.5. MTAD

Doksisiklin, sitrik asit ve yüzey aktif deterjan (Tween-80) içeren ve pH derecesi 2.15 civarında olan MTAD; Torabinejad ve ark. tarafından dentini dezenfekte edip smear tabakayı çıkarabilme özelliklerinin olduğu iddialarıyla 2003 yılında endodontik irrigasyon amacıyla geliştirilmiş (Torabinejad ve ark. 2003a, 2003b) ve BioPure MTAD ticari ismiyle piyasaya sürülmüş bir irrigasyon materyalidir (Dentsply, Tulsa Dental, Oklahoma, ABD).

Torabinejad ve Shabahang (2003) tarafından yapılan *in vitro* bir çalışmada *E.faecalis*'e karşı MTAD'nin antimikrobiyal etkisi NaOCl ve EDTA ile karşılaştırılmış ve MTAD'nin daha etkili olduğu belirtilmiştir. Shabahang ve Torabinejad (2003) yaptıkları bir başka çalışmada ise, %1.3 NaOCl ile MTAD'nin kombine kullanımının *E.faecalis*'e karşı NaOCl'in tek başına ve EDTA ile kombine kullanımlarından daha etkili olduğunu belirtmiş ve MTAD'nin %1.3 NaOCl'in ardından son irrigasyon solüsyonu olarak kullanımını önermişlerdir. Ancak Tay ve ark. (2006b), kök kanal dentininin %1.3 NaOCl ve ardından da MTAD ile irrige edildiğinde ışığa maruz kalması durumunda bu iki materyalin kırmızı-eflatun bir renklenme oluşturduğunu rapor etmişlerdir. Yine aynı araştırıcılar tarafından yapılan bir başka çalışmada ise kök kanal dentininin MTAD uygulanmadan önce NaOCl ile irrige edilmesi durumunda MTAD'nin antimikrobiyal etkisinin devamlılığının azaldığı bildirilmiş ve kök kanal dentinine NaOCl uygulandıktan sonra bölgenin

serum ile irrige edilip daha sonra MTAD ile irrigasyonu önerilmiştir (Tay ve ark. 2006a).

Clegg ve ark. (2006) değişik konsantrasyonlardaki NaOCl, MTAD ve %2 CHX'in apikal dentindeki biofilm üzerindeki etkinliklerini karşılaştırmışlar ve %6 ve %3'lük NaOCl solüsyonlarının biofilm tabakasını bozduğunu, %2 CHX solüsyonunun bu tabakayı bozmadığını ve %1 NaOCl ve hemen sonrasında uygulanan MTAD kombinasyonunun biofilm tabakasını bozduğunu fakat mikroorganizmaları elimine edemediğini bildirmişlerdir. Shabahang ve ark. (2003) tükürükle kontamine kök kanallarının dezenfeksiyonunda MTAD ve NaOCl etkisini incelemiş, MTAD'nin bakterileri ortadan kaldırmada %5.25'lik NaOCl'den daha etkili olduğu belirtmişlerdir. Shabahang ve ark. (2003) ve Shabahang ve Torabinejad (2003), çekilmiş insan dişlerinde *E.faecalis* veya tükürük ile kontamine edilmiş kök kanallarında MTAD'yle iyi antibakteriyel aktivite sonuçları aldıklarını rapor etmişlerdir. Minimal inhibisyon konsantrasyon metodu kullanılarak antibakteriyel aktivitenin değerlendirildiği bir başka çalışmada da, MTAD'nin 200 kere dilüe edildiğinde bile *E.faecalis*'e karşı etkinliğini koruduğu gösterilmiştir (Torabinejad ve ark. 2003).

Ardizzoni ve ark. (2009) MTAD ve Tetraclean gibi antibiyotik esaslı yeni jenerasyon endodontik irrigasyon materyallerinin antibakteriyel özelliklerini değerlendirdikleri çalışmalarında, her iki solüsyonun *E.faecalis*'i elimine etmede %93-100 oranında başarılı olduğunu belirtmiş ve bunların bakterisidal etkilerinin hem içeriklerindeki antibiyotik komponentinden hem de formülasyonlarındaki diğer materyaller arasındaki sinerjik etkiden kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Ruff ve ark. (2006) yaptıkları *in vitro* bir çalışmada %6 NaOCl ve %2 CHX'in MTAD'den daha yüksek antifungal etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Koylu (2007), yaptığı bir seri *in vitro* testlerde MTAD'nin antifungal etkinliğini kendi geliştirdiği deney solüsyonları ile karşılaştırmıştır. Bu çalışmalar sonucunda MTAD'nin 1 ve 5 dakikalık uygulamalarda *C.albicans* üzerinde herhangi bir etki oluşturamadığını ancak MTAD ve deney solüsyonu I'in NaOCl ile kombine kullanımlarının *C.albicans* üzerindeki etkisini arttırdığını belirtmiştir.

Çeşitli çalışmalarda MTAD'nin smear tabakasını etkili şekilde uzaklaştırma potansiyeline sahip olduğu belirtilmiştir (Beltz ve ark. 2003, Shabahang ve Torabinejad 2003, Torabinejad 2003a, 2003b, Torabinejad ve Shabahang 2003, Mozayeni ve ark. 2009). Ancak, Mancini ve ark. (2009) yaptıkları *in vitro* araştırmada kök kanallarının apikal üçlü bölgesinde MTAD, %17'lik EDTA ve %42'lik sitrik asit solüsyonlarının smear tabakasını uzaklaştırmadaki etkinliklerini incelemişler ve MTAD ile EDTA solüsyonlarının kontrol grubu olarak kullanılan %5.25'lik NaOCl'den daha etkin olmasına rağmen test solüsyonlarının hiçbirisinin apikal üçlü bölgesindeki smear tabakasını tam olarak temizleyemediğini bildirmişlerdir.

MTAD'nin de kullanıldığı ve çeşitli endodontik materyallerin L929 fare fibroblast hücreleri üzerine sitotoksik özelliklerinin karşılaştırıldığı bir *in vitro* çalışmada, MTAD'nin öjenol, %3 hidrojen peroksit, $Ca(OH)_2$, %5.25 NaOCl, Peridex ve EDTA'dan daha az toksik olduğu ancak %2.63, %1.31 ve %0.66 NaOCl'den daha fazla sitotoksik olduğu bulunmuştur (Zhang ve ark. 2003).

Pappen ve ark. (2009); MTAD, EDTA, Tetraclean ve SmearClear'i içeren farklı şelasyon ajanlarının fare peritoneal makrofajlarıyla teması sonrasında salınan nitrikoksit konsantrasyonu ölçümüyle belirledikleri proenflamatuar etki değerlendirmesinde, MTAD en düşük olmak üzere daha sonra sırasıyla Tetraclean, EDTA ve SmearClear'in proenflamatuar özellik gösterdiğini tespit etmişlerdir.

MTAD smear tabakasını kaldırabilme, inatçı bir mikroorganizma olan *E.faecalis*'i elimine edebilme, içerdiği doksisiklinden dolayı sert dokulara bağlanabilme avantajları yanı sıra piyasada kolay bulunamama, nispeten pahalı olma, solüsyon hazırlandıktan sonra 48 saat içinde tüketilme gereksinimi (Dentsply, Tulsa Dental), ışık ile temas neticesinde dişte renklenmeye sebep olma, *C.albicans* üzerine zayıf etki gösterme gibi bazı dezavantajlara da sahiptir (Tay ve ark. 2006b, Koylu 2007).

1.1.6. Klorindioksit (ClO_2)

ClO_2, NaOCl'e benzeyen ve içme suyu dezenfeksiyon işleminde, veterinerlikte ve yüzey dezenfeksiyonunda kullanılan antibakteriyel özelliğe sahip bir materyaldir (Eddy ve ark. 2005). Kuvvetli bir oksitleyici ajan özelliği gösteren bu materyal bakterileri hücre duvarından besin geçişini bozarak öldürmektedir (EPA 2002). Bu özellikleri dolayısıyla endodontik tedavide potansiyel kullanım alanı olduğu düşünülmüştür (Eddy ve ark. 2005).

ClO_2, +IV oksidasyon seviyesindeki klorinin nötr bileşiğidir. Oksidasyon ile dezenfeksiyon yapar ancak klorlama yapmaz. Nispeten küçük, uçucu ve yüksek derecede enerjik bir moleküldür ve seyreltik sulu çözeltisinde kapalı bir kutu içerisinde ışık olmadan bile serbest bir radikaldir (AWWA 1990, EPA 2002).

ClO_2 bileşiğinin gaz formu ilk olarak Humphrey Davy tarafından 1811 yılında hidroklorik asit ile potasyum klorat'ın reaksiyonu ile üretilmiş ve ürün "euklorin" olarak isimlendirilmiştir (Alliger 2006). Alkalin pulpa (ağaç özü) beyazlatılmasını 1834 yılında icat eden Watt ve Burgess ilk patentlerinde euklorinden beyazlatma ajanı olarak bahsetmişlerdir. ClO_2 bundan sonra iyi bilinen bir beyazlatma daha sonra da dezenfektan ajanı olmuştur. Yirminci yüzyılın başlarından bu yana Belçika'nın Ostend şehrinde bir kaplıcada ilk kullanıldığından beri ClO_2 suların dezenfeksiyonu için kullanılan kuvvetli bir ajan olarak bilinmektedir (Alliger 2006).

Eddy ve ark. (2005) *E.faecalis* kullanarak yaptıkları *in vitro* bir araştırmada ClO_2'in *E.faecalis'e* karşı antimikrobiyal etkinlik gösterdiğini tespit etmişlerdir. Nishikiori ve ark. (2008) ise, yaptıkları *in vitro* bir çalışmada H_2O_2, NaOCl ve ClO_2'in insan dişeti fibroblast hücreleri üzerindeki hücre döngüsü ve hücre ölümünü araştırmışlar ve H_2O_2'in apoptozise neden olduğunu, NaOCl ve ClO_2'in ise herhangi bir apoptotik etki göstermediğini belirtmişlerdir.

Bhasin ve ark. (2008) yaptıkları bir araştırmada %10 ClO_2 ile %3 NaOCl'in antibakteriyel etkinliklerini hem *in vivo* hem de *in vitro* deneylerle karşılaştırmışlardır. Çalışmanın *in vitro* kısmında, tek köklü insan dişlerinden elde

edilen 5 mm yüksekliğindeki silindirik diskler *E.faecalis* ile enfekte edilerek 5, 15 ve 30 dk süresince test solüsyonlarında bekletilmiş ve disklerden elde edilen dentin talaşları kanlı agar besiyerinde 24 saat inkübe edilmiştir. Sonuçta ClO_2'in *E.faecalis* eliminasyonunda NaOCl solüsyonundan daha etkili olduğunu ve 30 dk sonrasında her iki grubun da benzer antibakteriyel etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Çalışmanın *in vivo* kısmında ise asemptomatik, yetersiz kanal dolgulu ve iyileşmeyen periapikal radyolüsensi görülen dişlere sahip hastalar deneye dahil edilmiş ve prosedürden önce ve irrigasyon işleminden 5 dk sonra kök kanallarından bakteriyolojik örnekler alınmıştır. Burada da yine, *E.faecalis* eliminasyonunda ClO_2 solüsyonu daha etkili bulunmuş, NaOCl ile irrige edilmiş dişlerden alınan örneklerde 2 gün sonra daha fazla bakteri ürediği, ClO_2 ile irrige edilen grupta ise hiç üremenin olmadığı belirlenmiştir.

1.2. Kök Kanalı Mikroflorası

Pulpa ve periapikal doku hastalıklarının oluşmasında, bakteri ve bakteri ürünlerinin büyük rol oynadığı bilinmektedir. Kakehashi ve ark. (1965) germ-free fareler üzerinde yaptıkları bir çalışmada, pulpa nekrozu ve periapikal lezyon oluşması için mutlaka bakteri varlığının gerektiğini göstermişlerdir. Aynı şekilde, Sundqvist (1976) de insan dişleri üzerinde yaptığı bir çalışmada, bakterilerin sadece periapikal bölgede kemik yıkımı gerçekleşmiş olan nekrotik kök kanallarında bulunduğunu göstermiş ve bu sayede periapikal lezyon gelişiminde bakterilerin rolünü bir kez daha kanıtlamıştır.

Oral kavitede yaşayan yaklaşık 500 çeşit bakteri türü tanımlanmasına rağmen, enfekte pulpa kavitelerinden bunların nispeten daha küçük bir grubu (~150) yaygın şekilde izole edilmektedir (Sundqvist 1992, Walton ve Torabinejad 2002). Kök kanallarında zorunlu anaerobik bakteriler çoğunlukta olmasına rağmen bazı fakültatif anaeroblar ve çok nadiren aerop bakteriler de bulunabilmektedir. Dolayısıyla kök kanal sistemi, sadece kısıtlı bir grup bakterinin yaşayabilmesi için gerekli çevresel koşulları sağlayan özel bir ortam oluşturmaktadır (Walton ve Torabinejad 2002). Mikroorganizmalar için gerekli temel besinler, doku sıvıları ve nekrotik dokulardan parçalanmış hücrelerdir. Bu besinlerle birlikte kök kanalındaki düşük oksijen gerilimi ve bakteriler arası etkileşimler kanal içerisindeki bakteriler

için ekolojik belirleyicilerdir. Bu ortam, besin olarak karbonhidratlardan ziyade peptit ve aminoasitleri kullanan anaerop bakteriler için uygundur (Walton ve Torabinejad 2002). Bu da endodontik tedaviye dirençli olan ve periapikal bölgede kemik rezorpsiyonuna neden olacak anerobik ve/veya fakültatif anaerobik bakteriyel kaynaklı enfeksiyonların gelişmesine neden olmaktadır (Seltzer ve Farber 1994). Sundqvist ve ark. (1989) periapikal lezyonu bulunan ve pulpa odaları kapalı olan nekroze dişlerin kök kanallarından aldıkları örnekleri hem aerop hem de anaerob inkübasyon yöntemleri kullanarak ekmişler ve izole ettikleri bakterilerin %90'dan fazlasının zorunlu anaerop olduğunu bildirmişlerdir.

Yapılan çalışmalarda endodontik tedavi görmemiş dişlerin mikroflorası ile başarısız endodontik tedavili dişlerin mikroflorası arasında da belirgin farklılıklar olduğu gösterilmiştir (Molander ve ark. 1998, Sundqvist ve ark. 1998). Nekrotik kök kanallarındaki mikroflorada genellikle anaerob bakterilerin dominant ve aynı zamanda gram (+) ve gram (-) bakterilerin eşit oranda bulunduğu gözlenirken (Sundqvist ve ark. 1998), başarısız olmuş inatçı periapikal lezyonlu dişlerde dominant olarak gram (+) mikroorganizmalardan oluşan ve hemen hemen eşit oranda fakültatif ve zorunlu anaerop bakteriler içeren monoenfeksiyonlar izlenmiştir (Molander ve ark. 1998, Sundqvist ve ark. 1998, Hancock ve ark. 2001).

Hiç tedavi edilmemiş nekrotik pulpa dokusu bulunan kök kanallarından izole edilen bakteriler içerisinde sayıları çok az olmasına rağmen, başarısız olmuş endodontik tedavili ve periapikal lezyonlu dişlerin kök kanallarından en sık izole edilen bakterilerin *E.faecalis* olduğu pek çok çalışmada gösterilmiş (Molander ve ark. 1998, Gomes ve ark. 1996, Peciuliene ve ark. 2000, Hancock ve ark. 2001) ve bu nedenle de *E.faecalis* endodontide çok fazla ilgi çekip özellikle endodontik materyallerin antibakteriyel özelliklerinin araştırıldığı *in vitro* çalışmalarda sıklıkla kullanılan mikroorganizma olmuştur (Radcliffe ve ark. 2004, Roças ve ark. 2004a, Schäfer ve Bössmann 2005, Sedgley ve ark. 2006, Krause ve ark. 2007).

1.2.1. Enterokoklar ve *Enterococcus faecalis*

Enterokok terimi ilk kez 1899 yılında bağırsak kaynaklı gram (+) diplokoklar için kullanılmıştır (Kayaoğlu 2007). Andrewes ve Horder (1906) endokarditli bir hastadan aldıkları streptokok cinsinden birkaç patojenik bakteriyi *Streptococcus (S) faecalis* olarak sınıflandırmışlardır. Sherman (1937) tarafından Streptokokus türü için hazırlanmış bir sınıflandırma şemasında da, *S.faecalis* enterokok grubu içerisine yerleştirilmiştir. Schleifer 1984 yılında, kullanılan nükleik asit hibridizasyon teknikleri ile *S.faecalis*'in diğer streptokok türlerinden farklı olduğunu göstermiş ve ayrı bir tür olarak *Enterococcus faecalis* adı verilmesini önermiştir.

Enterokoklar gram (+) fakültatif anaerob olup, tipik olarak mikroskopta çiftler veya zincirler oluşturmuş biçimde görülürler. Enterokoklar mide-bağırsak sisteminde, ağız boşluğunda ve vajina'da kommensalist olarak yaşarlar. Bununla beraber insanda üriner sistem enfeksiyonu, kan dolaşımı, endokard, karın, safra yolları, yara yanıkları ve çok çeşitli hastalıklara neden olabilirler (Jett ve ark. 1994). Enterokoklar, nazokomial bakteri patojenleri arasında ilk üçtedir (Richards ve ark. 2000, Wisplinghoff ve ark. 2003) ve türlerin antibiyotiklere karşı duyarlılığı tedavilerinde zorluklar yaratmaktadır. Enterokokların insanlarda neden olduğu enfeksiyonların %90'nından *E.faecalis* sorumludur. Diğer kalan enfeksiyonların çoğunluğuna ise *E.faecium* neden olmaktadır (Jett ve ark. 1994).

Enterokoklar sert çevresel koşullara dayanabilirler. Bu mikroplar 10- 45°C'de ve 9.6 pH'da gelişebilir, 60°C'de 30 dk boyunca hayatta kalabilirler (Sherman 1937).

E.faecalis en uygun 35°C'de üreyebilir ve 24 saatlik inkübasyon sonrası kanlı agar besi yerinde geniş-beyaz non-hemolitik koloniler oluşturur. Fakat alfa-hemolitik veya beta-hemolitik de olabilirler (Murray ve ark. 1998). *E.faecalis* diğer enterokok türlerinde olduğu gibi, elverişsiz koşullara kolaylıkla adapte olabilir. Sodyum dodesil sülfat, safra tuzları, hiperosmolarite, ısı, etanol, hidrojen peroksit (H_2O_2), asidite ve alkalinitenin normal öldürücü düzeylerine diğer mikroorganizma türlerinden daha az hassastır (Flahaut ve ark. 1996a, 1996b,1996c 1997). *E.faecalis,* UV ışınına karşı da direnç gösterebilmektedir (Giard ve ark. 1996, Hartke ve ark. 1998).

E.faecalis'in, primer ve inatçı enfeksiyonları içeren periradiküler enfeksiyonların değişik formlarıyla ilişkisi tespit edilmiş ve primer endodontik enfeksiyonlar kategorisinde de, akut periradiküler periodontitis veya akut periradiküler apselerden ziyade asemptomatik kronik periradiküler lezyonlarla daha fazla ilişkili olduğu belirtilmiştir (Sundqvist 1992, Sundqvist ve ark. 1998, Peciuliene ve ark. 2000, Hancock ve ark. 2001, Siqueira ve ark. 2002, Sunde ve ark. 2002, Roças ve ark. 2004a, Gomes ve ark. 2006, Pinheiro ve ark. 2006). Kronik apikal periodontitis işareti gösteren kök kanal dolgulu dişlerin %30-70'inde *E.faecalis*'in pozitif kültürünün elde edildiği gösterilmiştir (Kayaoğlu ve Orstavik 2004). *E.faecalis*'in primer endodontik enfeksiyonlarda görülme sıklığı %4-40 olarak bildirilirken, inatçı periradiküler lezyonlarda bulunma sıklığının çok daha fazla olduğu da belirtilmiştir (Roças ve ark. 2004a). Ayrıca; *E.faecalis*'in başarısız kök kanal tedavili dişlerde bulunma sıklığının primer endodontik enfeksiyonlardan 9 kat daha fazla olduğu da bildirilmiştir (Roças ve ark. 2004a). Moleküler teknikler, başarısız endodontik tedavili dişlerde yüksek düzeyde *E.faecalis* olduğunu onaylamış ve bu başarısız vakaların %60–90'ında türe ait gen parçaları saptanmıştır (Roças ve ark. 2004a, 2004b, Siqueira ve Roças 2004, Sedgley ve ark. 2006).

E.faecalis; litik enzimler, sitolizin, feromonlar ve lipoteikoik asit gibi belirli virulans faktörlere sahiptir (Roças ve ark. 2004a). *E.faecalis'*in konak hücrelere bağlanabildiği, diğer bakteri hücreleri ile yarışabilmesini sağlayan proteinleri sağlayabildiği ve konak cevabını değiştirebildiği de belirtilmiştir (Love 2001, Roças ve ark. 2004a). *E.faecalis,* lenfositlerin etkilerini bastırmak suretiyle de endodontik başarısızlığa neden olabilmektedir (Lee ve ark. 2004).

Bu mikroorganizmanın çok çeşitli genetik polimorfizimler sergilediği görülmekte (Sedgley ve ark. 2004b) ve serine proteaz, jelatinaz ve dentine bağlanmayı kolaylaştıran kollojen bağlayan protein (Ace) gibi birkaç enzime sahip olduğu bilinmektedir (Hubble ve ark. 2003). Bu özelliklerinden dolayı dentine bağlanabilme özelliği de gösterebilen *E.faecalis*, dentin tübüllerine 400-1000 μm ilerleyebilecek kadar küçük boyutlu olup dentin tübülleri içerisinde de yaşayabilmektedir (Love 2001, Haapasalo ve Orstavik 1987). Uygun besin ortamı oluşuncaya kadar uzun süre açlığa dayanabilme kapasitesine ve serum gibi besin

kaynaklarını kullanarak normal hallerine dönebilme kabiliyetine de sahiptir (Figdor ve ark. 2003). Yapılan bir araştırmada *E.faecalis*'in kök kanalında ek besin olmadan 12 ay boyunca canlılığını sürdürebildiği de gösterilmiştir (Sedgley ve ark. 2005b). *E.faecalis*'in biofilm oluşturarak bu yapıyı oluşturamayan bakterilere kıyasla 1000 kat daha dirençli hale geldiği belirtilmiştir (Distel ve ark. 2002). *İn vitro* çalışmalarda *E.faecalis*'in dentin tübüllerini 24 saat gibi çok kısa sayılabilecek bir sürede istila ettiği de gösterilmiştir (Haapasalo ve Orstavik 1987, Orstavik ve Haapasalo 1990, Peters ve ark. 2000, Love 2001, Weiger ve ark. 2002). *E.faecalis* monoenfeksiyon oluşturma yeteneğine de sahiptir. Sobrinho ve ark. (1998) tarafından rat dişleri üzerinde yapılan bir çalışmada, kök kanallarına çeşitli bakteriler ayrı ayrı ve birlikte ekilmiş ve *E.faecalis*'in diğerler bakterilerden farklı olarak, pek çok vakada kök kanalında diğer bakterilerin desteği olmadan tek başına kolonize olabildiği bulunmuştur.

E.faecalis'in kanal içi antiseptik materyal olarak sıklıkla kullanılan ve güçlü bir alkalin dezenfektan olan kalsiyum hidroksitin ($Ca(OH)_2$) antimikrobiyal etkisine karşı dirençli olduğu da pek çok çalışmada gösterilmiştir (Stevens ve Grossman 1983, Haapasalo ve Orstavik 1987, Orstavik ve Haapasalo 1990, Siqueira ve Uzeda 1996, Distel ve ark. 2002, Siren ve ark. 2004).

E.faecalis yukarıda belirtilen özellikleri dolayısıyla endodontide, dişin dentin tübülleri ve kök kanalları içinde bulunan ve kanal tedavisinin etkilerine karşı hayatta kalabilme kabiliyeti yüksek inatçı bir patojen olarak kabul edilmektedir. İyi aseptik tekniklerin kullanılması, kök kanal preparasyonu sırasında apikal preparasyon boyutunun arttırılması ve *E.faecalis*'e karşı antibakteriyel özellikleri gösterilmiş olan NaOCl ve CHX gibi irrigasyon solüsyonlarının bu sürece dahil edilmesi *E.faecalis*'in eliminasyonunda günümüzdeki etkili metotlar olarak gösterilebilir (Stuart ve ark. 2006). Endodontik tedavide başarıyı arttırma yolundaki ilerlemelerde *E.faecalis'in* tam eliminasyonun sağlanması önemli bir aşama olarak kabul edileceği için, özellikle yeni irrigasyon materyalleri ve uygulama yöntemleriyle yapılan çalışmalarda sıklıkla *E.faecalis* kullanılmakta ve bu da sonuçların yorumlanıp karşılaştırılmasını kolaylaştırmaktadır.

1.3. Endodontik Mikrobiyoloji Çalışmalarında Kullanılan Deneysel Yöntemler

Endodontide kullanılan irrigasyon solüsyon ve/veya irrigasyon uygulama yöntemlerinin çeşitli mikroorganizmalar üzerine antibakteriyel etkinliklerinin araştırılmasına yönelik olarak yapılan *in vitro* çalışmalarda; sıklıkla agar diffüzyon testi, direkt kontakt test ve mikrobiyolojik sayım yöntemleri kullanılırken bazı çalışmalarda histolojik kesit yöntemi, gerçek zamanlı optik biyofotonik görüntüleme ve luminometre yöntemi ve radyoaktif olarak işaretlenmiş bakteri görüntüleme yöntemleri gibi farklı değerlendirme yöntem ve tekniklerinin de kullanılmış olduğu görülmektedir (Safavi ve ark. 1990, Berkiten ve ark. 2000, Rollison ve ark. 2002, Sedgley ve ark. 2004a).

Çalışma sonuçlarının birbirleriyle daha kolay kıyaslanabilmesi açısından bu tür çalışmalarda kullanılmak üzere geliştirilmiş ve kabul edilmiş tek bir yöntemden bahsedilememesi büyük bir dezavantaj oluşturmakla birlikte bu konuda en iyiye ulaşma adına çalışmaların devam ettiğini göstermesi açısından da önemlidir.

1.3.1. Agar Diffüzyon Testi ve Direkt Kontakt Test Yöntemleri

Agar diffüzyon test yönteminde, test edilen bakterinin kolaylıkla üreyebileceği; kan, serum vb. besleyici maddelerle zenginleştirilmiş agar besiyeri kullanılır. Bu amaçla en yaygın kullanılan besiyeri %5-10 defibrine koyun kanlı agardır. Agar içerinde kesilmek suretiyle veya kalıp boncuklar yardımıyla belirli çaplarda standart çukurlar oluşturulur. Etkinliği araştırılan materyal bu çukurlar içerisine doldurulur ve agar yüzeyine test bakterisi yayılır. 37°C'de 1-2 gün süreyle inkübe edilerek, antibakteriyel etki bakteri üremesinin önlenimi/inhibisyonu ile ortaya konur (Erganiş ve Öztürk 2002). Agar yüzeyindeki bakteri inhibisyon çapı/zonu mm olarak ölçülür ve araştırılan maddelerin antibakteriyel etkinliği burada elde edilen çap veya zonların büyüklüklerine göre karşılaştırılır. Etkide, kullanılan maddelerin agar içerisinde diffüze olabilme özellikleri ve test edilen yoğunluğu (mg / ml) son derece önemlidir (Estrela ve ark. 2003).

Direkt kontakt test yönteminde ise, sıvı besi yeri içerisinde belli sayıda (turbidimetrik, spektrofotometrik, bakteri sayımı vs.) bakteri ile belirli

miktar/konsantrasyon/yoğunluktaki antiseptik bir araya getirilerek inkübasyona bırakılır ve üreme oluşup oluşmadığı veya üreme miktarı spektrofotometrik olarak değerlendirilir (Carson ve ark. 2005, Vianna ve Gomes 2009, Sassone ve ark. 2008).

1.3.2. Histolojik yöntem

Bu yöntem basit şekliyle, antibakteriyel ajan ile muamele edilmiş dişlerin formalin ile fikse edilip nitrik asit ile demineralizasyonu yapıldıktan sonra etanol kullanılarak dehidrate edilip histolojik kesitler alınması ve bu kesitlerin ışık mikroskobu veya SEM ile değerlendirilmesi esasına dayanmaktadır (Berkiten ve ark. 2000, Safavi ve ark. 1990). Histolojik kesit yöntemi kullanılarak kesit alınan bölgedeki mikroorganizmaların varlığı belirlenmekte fakat canlılıkları hakkında herhangi bir bilgi elde edilememektedir (Zapata ve ark. 2008).

1.3.3. Radyoaktif olarak işaretlenmiş bakteri görüntüleme yöntemi

İlk defa Rollison ve ark. (2002) tarafından, kök kanal preparasyonunun antibakteriyel etkinliğinin araştırıldığı *in vitro* bir çalışmada gösterilmiştir. Bu yöntemde araştırıcılar, öncelikle *E.faecalis*'i radyoaktif bir boya (^{3}H-timidin) ile muamele etmiş ve kök kanallarını enfekte etmek için bunları kullanmışlardır. Enfekte edilmiş kök kanalları çeşitli preparasyon teknikleri uygulandıktan sonra steril FTS ile muamele edilmiş ve sonrasında da steril kağıt konlarla kök kanallarından örnek alınarak, alınan örneğin radyoaktivitesi sıvı sintilasyon spektrometre ile ölçülmüştür.

1.3.4. Gerçek zamanlı optik biyofotonik görüntüleme ve luminometre yöntemi

Endodontik araştırmalarda kullanılmak üzere ilk kez Sedgley ve ark. (2004a) tarafından tanıtılan bu yöntemde kök kanallarını enfekte etmek için bioluminesent bir bakteri olan *Pseudomonas fluorescens* kullanılmıştır. Kök kanalları enfekte edildikten sonra hassas düşük ışıklı kameralar ile bakteriden foton yayılımı görüntülenmiş ve miktarı belirlenmiştir. Enfekte edilmiş kök kanallarında bulunan bakteri miktarı ölçüldükten sonra antibakteriyel etkinliği araştırılan materyal, enfekte kanallara uygulanmış ve kalan bakteri miktarı tekrar ölçülerek karşılaştırılmıştır.

Gerçek zamanlı optik biyofotonik görüntüleme yöntemi literatürde daha çok kök kanallarını mekanik olarak temizlemek için kullanılan aparatların etkinliğinin araştırıldığı çalışmalarda kullanılmış olup (Sedgley ve ark. 2004a, 2004b, Falk ve Sedgley 2005) bu yöntem kullanılarak kök kanalı antiseptiklerinin antibakteriyel etkinliklerini araştıran bir çalışma henüz bulunmamaktadır. Bunun sebebi klinik olarak enfekte kök kanallarında, bu yöntemde hedef mikroorganizma olarak seçilen *Pseudomonas fluorescens'*in bulunmasının beklenmemesi olabilir (Falk ve Sedgley 2005).

1.3.5. Mikrobiyolojik sayım yöntemleri

Mikrobiyolojik sayım yöntemleri için öncelikle enfekte edilmiş ve antibakteriyel materyal ile muamele görmüş dişten mikrobiyolojik örnek toplanması gerekmektedir. Örneklerin toplanması ya antibakteriyel ajan ile muamele edilmiş enfekte dentin talaşı örneğinin (Tanrıverdi ve ark. 1997, Lee ve ark. 2008) ya da steril kağıt konların kanal içerisine yerleştirilmesi ve belli bir süre kanalda bekletilen bu konların aseptik şartlarda alınarak besiyerine transfer edilmesiyle (Möller metodu) (Jeansonne ve White 1994, Siqueira ve ark. 1997a, Aydın 2004, Ercan ve ark. 2004) sağlanabilir. Kök kanalından bakteri örnekleri alındıktan sonra bu örnekler uygun besiyerlerine transfer edilerek kullanılan bakteri türü için uygun ortamda inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonucu üremiş olan bakterilerin sayı veya yoğunlukları çeşitli mikrobiyolojik teknikler kullanılarak belirlenir.

Bir sıvı besiyerine bakteri ekildikten sonra belirli bir zaman diliminde bakterilerin sayısı düzenli bir şekilde artmaz. Test edilmesi istenen örnekteki bakterilerin uygun sıvı besiyerine transfer edilmesinden sonra bakteri sayısının zamana bağlı artışı "*bakteri üreme eğrisi*" olarak ifade edilen standart bir grafikle gösterilir (Grafik 1.1). Bu grafikte bakterilerin sıvı besiyerindeki ortalama inkübasyon sürecindeki üremelerinin latent, logaritmik, durağan ve ölüm fazları olmak üzere dört fazda olduğu görülür (Arda 2000) :

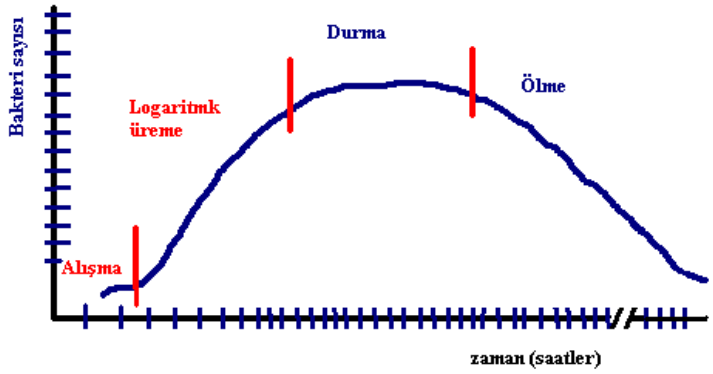
A) *Latent faz (Alışma)*: Bakteriler yeni bir ortama girdiklerinde öncelikle o ortama adapte olma süreci geçirirler. Bu süreçte metabolik olarak aktif olan ve bölünmeye hazırlanan bakterilerde yeni enzim sentezleri oluşur. Bakterilerin yeni bir

ortama girdikten sonra çoğalmaya başlayıncaya kadar geçirdikleri bu sürece latent faz denir. Bu fazda, sıvı kültür ortamındaki bakteri sayısında herhangi bir artış olmaz. Yeni ortama adapte olamayan bakteriler çoğalamaz ancak canlı olarak kalıp hastalık için potansiyel bir kaynak oluştururlar.

B) *Logaritmik faz*: Kültürdeki tüm bakterilerin maksimum bir hızla ikiye bölündükleri faza logaritmik faz denir. Bu evrede bakterilerdeki metabolik aktivite yoğundur ve bakteriler bu evrede antibiyotiklere karşı oldukça hassastır.

C) *Durağan faz(Durma)*: Durağan fazda bakteri topluluğunun sayısında bir artış olmaz. Bu evrede ikiye bölünen ve ölen bakteri sayısı birbirine eşittir. Bakterilerdeki metabolik aktivite en az düzeye inmiştir.

D) *Ölüm fazı*: Kültür ortamında gelişen olumsuz koşullar sonucunda yaşlanan bakteri hücreleri ölürler. Ancak bu bakteriler yeni bir kültür ortamına aktarılırlarsa, yeniden çoğalabilirler (Grafik 1.1).



Grafik 1.1: Bakteri üreme eğrisi.

Bu eğrideki fazların süresi mikroorganizmalar arasında ve farklı çevresel ortamlar arasında farklılık gösterir (Erganiş ve Öztürk 2003).

Üreme sürecinin sonunda ne kadar bakteri ürediğinin tespit edilmesi için ise direkt, indirekt veya kültür metotlarından faydalanılır:

Direkt Metotlar

1. *Bakteri sayımı*: Mikroorganizmaları, aynen kan sayımında olduğu gibi, doğrudan doğruya sayabilmek için hemositometreler (Petroff-Hauser tipi) kullanılmaktadır. Bu yöntemde, hareketli veya çok yoğun olan bakterileri saymada güçlükler meydana gelmektedir. Aynı zamanda canlı ve ölmüş mikroorganizmaları ayırmak da olanak dışıdır.

2. *Froti sayımı (Breed metodu)*: Mikrop kültüründen veya mikrobu sayılacak materyalden 10 µl alınarak bir lam üzerinde 1 cm^2 'lik bir sahaya iyice yayılır ve kuruduktan sonra tespit edilir. Uygun bir boya ile boyandıktan sonra immersiyon yağı damlatılarak x100 objektifle sayım yapılır. Objektifte görülen her saha bir alan kabul edilir. Mikroskop sahasından mikroplar sayılırken, 10-15 alandaki bakteri sayımı yapılılarak ortalaması alınır ve orijinal materyaldeki mikrop sayısı belirlenir.

3. *Karşılaştırma usulü*: Normal bir kanın 1 mm^3'ünde 5 x 10^6 kadar alyuvar bulunur. Mikroorganizma miktarı sayılacak sıvıdan 100 µl alınarak aynı miktarda kanla karıştırılıp lâma yayılarak kurutulur, tespit edilir ve boyanır. Mikroskopta 10-15 saha sayılır. Her sahada görülen alyuvar ve bakteri sayılarının ortalaması alınır ve orijinal sıvıdaki bakteri miktarı belirlenir.

4. *Elektronik sayım*: Son senelerde elektronik aletlerle yapılan sayımlarda birkaç saniyede sonuç alınabilmektedir. Alet pahalı olduğu için henüz çok yaygın olarak kullanılmamaktadır.

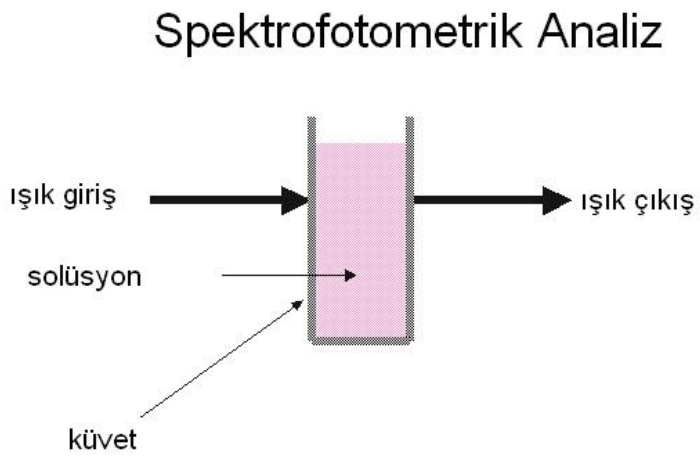
Direkt sayma metotlarında canlı ve ölü mikroplar ayırt edilemezler ve her ikisi birden sayıma iştirak ederler. Bazen de çeşitli maddeler bakteri gibi göründüğünden sayım sonucunu etkileyebilir.

İndirekt Metotlar

1. *Total hacim tayini*: Kültürlerden 10 veya 15 cc alınarak dipleri daralan ve ölçülü santrifüj tüplerine (Hopkins tüpü) konularak kuvvetlice santrifüje edilir. Dipte

toplanan sedimentin hacmi mm^3 olarak okunur. Bu suretle muayyen bir süre sonra ne kadar miktarda (hacimde) mikrobun ürediği hesap edilir.

2. *Türbidimetrik metot*: Kültürlerde mikroplar üredikçe bulanıklık da artar. Sıvı besiyerlerindeki bulanıklığı tayin etmek için fotoelektrik türbidimetre (veya spektrofotometre) kullanılmaktadır (Resim 1.1). Bu metodun esası ışık üzerine kurulmuştur. Bir ortam ne kadar berrak olursa, o kadar fazla ve ne kadar bulanık olursa o kadar az ışık geçirir. Bulanıklılık sayesinde üremenin meydana gelip gelmediği ve derecesi öğrenilmektedir. Spektrofotometrede bulanıklığı ölçülen sıvının emdiği ışık miktarına "optik densite" (OD) veya "absorbans" adı verilir. OD herhangi bir çözeltiye gönderilen bir ışığın çözelti tarafından tutulmasıdır. Mikrobiyolojide OD değerindeki artışlar, bakteri hücrelerinin bölünerek çoğalmasını ifade eder (Heling ve Chandler 1998, Lee ve ark. 2008).



Resim 1.1: Spektrofotometrik analizin şematik görüntüsü

3. *McFarland standart tüpleri ile tayin*: Bir ortamdaki mikropların sayısı yaklaşık olarak, McFarland standart tüplerinin bulanıklık skalası yardımı ile tayin edilebilir. Fakat her mikrop için bu metot uygulanamaz. Çünkü her mikroorganizmanın, standart bulanıklık tüplerine göre meydana getirdiği yoğunluktaki miktarları aynı değildir. Ayrıca, bakteri türlerine göre mikroorganizmaların sayısında da değişme olur.

4. *Kimyasal metot*: Bu metotta, bakterilerdeki nitrojen, fosfor asiti, karbon, DNA, RNA ve diğer maddelerin miktarları ölçülerek üreme hakkında fikir elde edilir.

5. *Biyokimyasal metot*: Mikroorganizmaların glukoz kullanması, amonyak asimilasyonu, asit teşkili, karbondioksit oluşturması, oksijen alması, v.s. metobolizma aktivitesi ölçülerek üreme tespit edilir.

6. *Kuru ağırlık tayini*: Bu metotta, bakteri kütlesinin ağırlığı sabit kalıncaya kadar 120 °C 'de 3'er saat bırakılır ve her seferinde ağırlık tespit edilir. Sabit bir ağırlık elde edilince kurutmaya son verilir.

Kültür Metotları

Direkt ve indirekt metotlar dışında canlı bakteri sayımı için kullanılabilecek bir başka yöntem ise kültür metotlarıdır. Bunlar da 5 farklı şekilde yapılabilir:

1. *Dilusyonla sayma*: Sayımı yapılacak numunenin 10 cc'lik sıvı besiyerinde 10 katlı dilusyonları (10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}....) hazırlanır. Uygun sıcaklıkta belli bir zaman inkübasyona konduktan sonra içinde bakteri üreyen ve üremeyen tüpler kaydedilir ve orijinal kültürdeki (1 cc'de) mikroorganizma miktarı tahmin edilir.

2. *Roller tüp metodu*: Bu teknikte özel küçük şişeler kullanılmaktadır. Bu şişelerin içinde belli miktarda ve 42-45 °C'ye kadar ılıtılmış agar besiyeri vardır. Kültür (veya numune) bu şişelerdeki agar içinde 10 katlı olarak dilue edilir. Sonra her şişe özel döndürme apareyine yerleştirilerek santrifüj edilir. Böylece şişedeki agar kenarlarda katılaşır. Bundan sonra, şişeler etüve uygun bir süre için yerleştirilir. Üreyen bakteri kolonileri şişenin kenarlarında kolayca görülerek sayılır ve yukarıda belirtildiği şekilde hareket edilerek mikrop adedi bulunur.

3. *Frost'un lam metodu*: Mikrop ihtiva eden sıvının, içinde 42-45 °C'ye kadar ılıtılmış agar besiyeri olan tüplerde, 10 katlı seri dilusyonları yapılır. Son dilusyondan 0.5 cc alınarak bir lama yapılır. Etüvde 37 °C'de 6-8 saat tutulduktan

sonra tespit edilerek uygun bir boya ile boyanır. Üreyen mikrop kolonileri mikroskop altında sayılır.

4. *Selüloz filtreleri ile sayım*: Selüloz asetattan yapılmış ince ve 1 cm^2'sinde takriben 50 milyon kadar, 0.5 μ veya daha küçük çapta, deliklere sahip milipolar filtreler mikroorganizma saymada kullanılmaktadır. Bu filtreler sterilize edildikten sonra kendi özel aletine takılır ve içinde mikrop bulunan sıvı süzülür. Filtrasyon bittikten sonra, filtre steril bir pensle çıkarılır ve içinde sıvı besiyeri olan bir petri kutusuna konur. Uygun bir ısıda inkübasyona konduktan sonra, filtrelerin üzerinde üreyen koloniler sayılır.

5. *Koloni sayımı*: Mikrobiyolojide sayım denildiğinde, genel olarak anlaşılan yöntemdir. Sadece canlı hücreler sayılır. Bununla beraber, yeni terminolojide koloni oluşturan birim (colony forming unit (cfu)) deyiminin kullanılma nedeni canlı tüm hücrelerin değil, sadece sayım yapılan besiyerinde gelişebilerek koloni oluşturan hücrelerin sayılabildiğidir (Arda 2000).

Bu metotlarda sadece canlı mikroorganizmalar sayılır. Ölüler üremedikleri için sayımda herhangi bir değere sahip olamazlar.

Bir endodontik irrigasyon materyalinin seçimi ve kullanılmasında onun güçlü antibakteriyel özellik göstermesi önemli kriterlerden birisi olarak kabul edilmektedir. Günümüzde kullanılan materyallerin antibakteriyel özelliklerinin değerlendirilmesinde kullanılabilecek çok farklı mikrobiyolojik uygulama ve değerlendirme yöntemi olmasına rağmen test mikroorganizması olarak sıklıkla antimikrobiyal ajanlara karşı oldukça dirençli olduğu bilinen *E.faecalis* kullanılmaktadır. İrrigasyon materyallerinin bu bakteriye karşı gösterdiği antibakteriyel etkinlik derecesi neredeyse onun antibakteriyel özelliğinin derecesini de belirlemekte ve bu bakteri, antibakteriyel etkinlik üzerine yapılan çalışmalarda bir "gold standart" olarak kabul edilebilir nitelik kazanmaktadır. Dolayısıyla bu mikroorganizmaya karşı yüksek derece antibakteriyel özellik gösteren irrigasyon solüsyon ve/veya solüsyon kombinasyonunun belirlenmesi bu alanda hala sorun teşkil etmekte olan problemi elimine etme yolunda önemli bir adım olacaktır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Kök kanal tedavisinde irrigasyon amacıyla kullanılan 6 farklı irrigasyon solüsyonunun tek ve kombine kullanımlarındaki antibakteriyel etkinliklerini belirlemek ve karşılaştırmak amacıyla planlanan bu çalışmaya, Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı tarafından 06.06.2007 tarihli ve 2007/10–01 sayılı toplantıdaki 203 no'lu etik kurul onay raporu alınarak başlanmıştır. Çalışmanın örnek hazırlanma kısmı Selçuk Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Araştırma Merkezi, mikrobiyolojik deneyler kısmı Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, SEM incelemeleri ise Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi Araştırma laboratuarında gerçekleştirilmiştir.

2.1. Örneklerin Seçimi ve Hazırlanması

Çalışmada ortodontik veya periodontal nedenlerle çekilmiş, çürüksüz ve restorasyonsuz, 280 adet daimi insan alt premolar dişleri kullanıldı. Dişlerin tek kök ve tek kanallı olup olmadıkları radyografik olarak değerlendirilerek birden fazla kanallı olan dişler çalışmaya dahil edilmedi. Dişlerin üzerindeki sert ve yumuşak doku artıkları ekskavatör yardımıyla temizlendikten sonra laboratuvar çalışması yapılıncaya kadar +4 ^{o}C'de ve %100 nemli bir ortamda bekletildi.

Dişlerin koronal kısımları mine-sement birleşim seviyesinden aşağıda ve her bir kökün boyu 14±0.5 mm olacak şekilde su soğutması altında elmas diskler kullanılarak kesildi. Daha sonra kök kanallarına #15 K-File (Mani Inc., Tochigi, Japonya) el aletleri ile girilerek kanal yolu belirlenmesi yapıldı. Kanal aletinin ucu apikal açıklıkta görülene kadar ilerletilip kanal aletinin boyu ölçüldü ve ölçülen bu boydan 1 mm geri çekilmek suretiyle lastik rondel yardımıyla her bir kök için çalışma boyu belirlendi. Daha sonra kök kanalları crown-down yöntemi kullanılarak ve üretici firma talimatları doğrultusunda bir elektrikli motora (X Smart, Dentsply, Maillefer, Ballaigues, İsviçre) takılan ProTaper (Dentsply, Tulsa Endodontics, OK,

ABD) NiTi döner kanal aletleri ile 300 devir/dk'da şekillendirilmeye başlandı. Öncelikle SX eğesi ile köklerin koronal üçlüsü genişletildi. Daha sonra S1 ve S2 eğeleri ile köklerin apikal üçlü bölgesine ulaşıldı. Apikal üçlü ise sırasıyla F1, F2 ve F3 numaralı eğeler kullanılarak ve tüm kanalların apikal genişlikleri # F3 olacak şekilde şekillendirildi. Preparasyon boyunca kanallar her bir eğe kullanımından sonra 1 ml %5.25'lik NaOCl (Çağlayan Kimya San., Konya, Türkiye) solüsyonu ile irrige edildi.

Kök kanallarında preparasyon sırasında oluşan smear tabakasını kaldırmak için kökler daha sonra sırasıyla %17'lik EDTA (AppliChem GmbH, Almanya), %5.25 NaOCl ve distile su kullanılarak, her bir solüsyonda ve sırasıyla olmak üzere 10'ar dakika boyunca ultrasonik banyoya (USG 4000 Ultraschall, Dentaurum, Almanya) tabi tutuldu (Berber ve ark. 2006). Deneysel işlemler öncesinde, smear tabakanın çıkarılıp çıkarılmadığını kontrol etmek amacıyla deneysel kök kanallarına benzer şekilde prepare edilen fazladan hazırlanmış 4 adet örnekte ayrıca SEM incelemesi yapıldı. Bu işlem için su soğutması altında olmak üzere bir elmas separe yardımıyla, köklerin öncelikle bukkal ve lingual yüzeylerinde dikey yönde sığ oluklar açıldı ve geniş bir siman spatülü yardımıyla köklerin bu oluklar sayesinde dikey olarak ikiye ayrılması sağlandı. Daha sonra örnekler, SEM incelemesi amacıyla Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi Araştırma Laboratuarı'nda %10'luk fosforik asitte 5 sn, %5.25'lik NaOCl'de 5 dk bekletilip vakumlu bir ortamda Polaron Sc7620 Sputter Coater (VG Microtech Inc., Japonya) cihazı kullanılarak ince bir tabaka altın film tabakası ile kaplanarak x500 büyütmede SEM (Leo 440, Oxford Microscopy Ltd., Cambridge, İngiltere) altında incelendi.

2.2. Mikrobiyolojik İşlemler

Mikrobiyolojik uygulamaların kolay yapılabilmesini sağlamak için kök kanallarından smear tabakası çıkarılıp kanalları kağıt konlarla kurulanan örnekler, öncelikle uzun akslarına dik olacak şekilde ayrı ayrı 3x5x6 cm ebatlarındaki silikon ölçü maddeleri (Zetaplus, Zhermack SpA, İtalya) içerisine gömüldü. Bu şekilde hazırlanmış örnekler her bir kapta 10 adet olacak şekilde kapaklı ve içi örneklerin

üzerini örtecek şekilde distile su dolu metal kaplar içerisine yerleştirildi ve daha sonra bunlar tam sterilizasyon sağlamak amacıyla otoklava yerleştirilerek 121˚C' de ve 20 dk süresince steril edildi (Hirayama, Saitama, Japonya). Silikon kalıplara gömülü örneklerin içinde bulunduğu ve steril edilmiş olan metal kaplar, kontaminasyonu engellemek amacıyla Biosafety Level 2 (BSL 2) lamin air-flow kabin içerisinde açıldı.

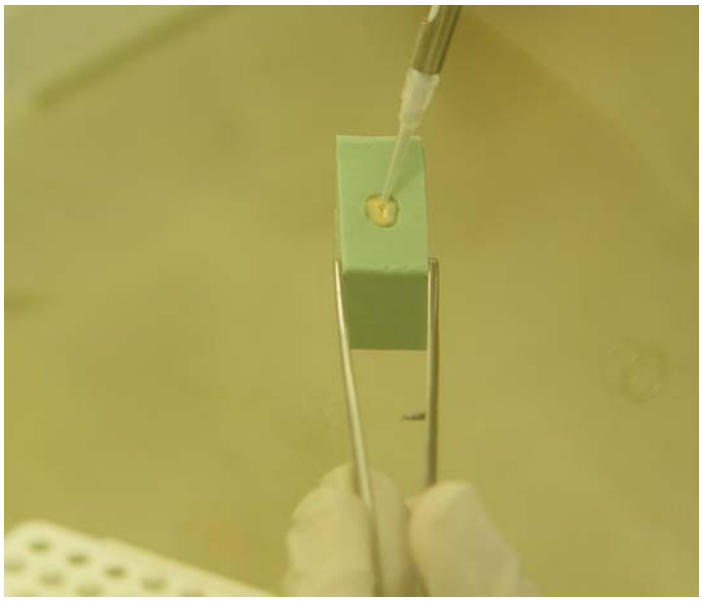
Metal kap içinde silikonlara gömülü durumdaki köklerin her biri, sonraki deneysel işlemler esnasındaki bakteriyel sızıntıyı önlemek amacıyla silikon içerisinden çıkarıldı ve kök uçları da dahil tüm kök yüzeyleri iki kat tırnak cilası (Loreal Jet-Set Diamond, Paris, Fransa) ile kaplandı ve kökler daha sonra tekrar aynı silikon bloklar içerisine yerleştirildi (Resim 2.1).



Resim 2.1: Steril edilmiş ve silikon bloklara gömülmüş köklerin içinde bulunduğu metal kap

Deneyde kullanılmak üzere endodontik araştırmalarda sıklıkla kullanıldığı bilinen *E.faecalis* ATCC 29212 suşu (Behnen ve ark. 2001, Estrela ve ark. 2003, Baker ve ark. 2004, Eddy ve ark. 2005, Sassone ve ark. 2008), Ankara Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitiüsü'nden (Ankara, Türkiye) temin edildi. Steril edilen kök kanallarını deneysel amaçlı olarak *E.faecalis*'le kontamine etmek amacıyla, Brain Heart Infusion Broth (BHI) (bioMerieux® sa 69280 Marcy I'Etoile, Fransa) içerisinde *E. faecalis* (ATCC 29212) mikroorganizmalarının 24 saat inkübasyon

sonrasında elde edilen taze kültürleri kullanıldı. BHI içerisindeki *E. faecalis* süspansiyonunun optik densitesi (OD), yaklaşık $1.5x10^8$ koloni/ml olacak şekilde McFarland No: 0.5 standardına göre karşılaştırılarak ayarlandı. Daha sonra kökler çalışma dizaynına uyacak şekilde 2 adet kontrol (pozitif ve negatif) ve 26 adet deney grubu olmak üzere ve her bir grupta 10'ar adet örnek olacak şekilde toplam 28 gruba ayrıldı. Negatif kontrol grubundaki örnekler hariç, diğer gruplardaki örneklerin kök kanallarına hazırlanan *E. faecalis* süspansiyonundan, steril 1 ml'lik tüberkülin şırıngası yardımıyla 10 µl ekildi (Resim 2.2). Daha sonra içerisinde örneklerin gömülü olduğu silikon bloklar, kapaklı ve önceden steril edilmiş metal kaplara yerleştirilerek 37˚C'de ve 24 saat süre ile inkübe edildi. İnkübasyonun ardından *E.faecalis* ile enfekte edilmiş köklerin bulunduğu metal kaplar BSL 2 air-flow kabin içerisinde açıldı ve deneysel solüsyonlarla irrigasyon işlemine geçildi.



Resim 2.2: Steril 1 ml tüberkülin şırıngası ile kök kanallarına *E.faecalis* süspansiyonu ekimi

2.3. Deneyde kullanılan irrigasyon solüsyonları ve çalışma dizaynı

Deneyde kullanılan ve kombinasyonları yapılan temel irrigasyon solüsyonları şunlardır:

- %5.25 Sodyum hipoklorit (NaOCl) (Çağlayan Kimya San., Konya, Türkiye)

- %2 Klorheksidin glukonat (CHX) (Klorhex, Drogsan İlaç San., Ankara, Türkiye)
- %13.8 Klorindioksit (ClO_2) (Bioclenz, Frontier Pharmaceutical, Melville, NY, ABD)
- BioPure MTAD (Dentsply, Tulsa Dental, Oklahoma, ABD)
- SmearClear (SC) (Sybron Endo, Orange, CA, ABD)
- %3 Hidrojen peroksit (H_2O_2) (Kimpa İlaç Lab. ve Tic. Ltd. Şti., İstanbul, Türkiye)
- % 17 Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA)

Çalışmada EDTA dışındaki tüm solüsyonlar kullanıma hazır olarak yukarıda her biri için ayrı ayrı verilen üretici firmalarından temin edilirken, %17'lik EDTA solüsyonu laboratuarda hazırlandı. Bunun için; 1 lt distile su içerisine 170 gr EDTA (etilendiamin tetra asetik asit disodyum tuzu) (AppliChem GmbH, Almanya) ve 18.5 gr sodyum hidroksit (NaOH) (MERC, KGaA 64271 Darmstadt, Almanya) ilave edildi (Şen ve ark. 2000). NaOH, solüsyon pH'ının 7'ye ayarlanması amacıyla kullanıldı. Karışımın suda çözülmesini kolaylaştırmak için manyetik karıştırıcı (Nüve, MK 418, Ankara, Türkiye) kullanıldı ve hazırlanan solüsyon kullanım öncesinde 121°C'de 20 dk süresince otoklavda steril edildi.

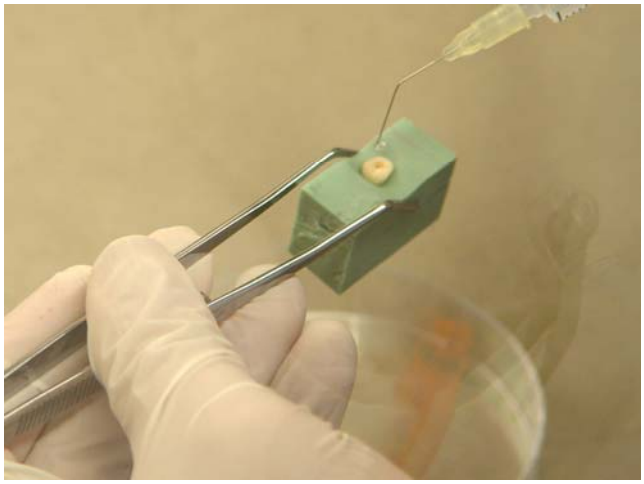
Çalışmada, irrigasyon solüsyonlarının tek ve kombine kullanımlardaki antibakteriyel etkinliklerinin belirlenmesi amaçlandığı için yukarıda da bahsedildiği gibi solüsyonlar ve bunların birbirleriyle kombinasyonlarını içeren deney ve kontrol grupları Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1: Deney grupları ve uygulanan irrigasyon rejimleri

Grup	Solüsyon
Grup 1 (Pozitif Kontrol)	*E.faecalis* ekilmiş kök kanalları 5 ml fizyolojik tuzlu su (FTS) ile irrige edildi
Grup 2 (Negatif Kontrol)	Steril edilmiş dişler 5 ml FTS ile irrige edildi
Grup 3	5 ml %5.25 Sodyum hipoklorit (NaOCl)
Grup 4	5 ml %2 Klorheksidin glukonat (CHX)
Grup 5	5 ml %13.8 Klorindioksit (ClO_2)
Grup 6	5 ml MTAD
Grup 7	5 ml SmearClear (SC)
Grup 8	5 ml %17 Etilen daimin tetra asetik asit (EDTA)
Grup 9	5 ml %3 Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Grup 10	2.5 ml NaOCl + 2.5 ml CHX
Grup 11	2.5 ml NaOCl + 2.5 ml MTAD
Grup 12	2.5 ml SC + 2.5 ml NaOCl
Grup 13	2.5 ml EDTA + 2.5 ml NaOCl
Grup 14	2.5 ml H_2O_2+ 2.5 ml NaOCl
Grup 15	2.5 ml ClO_2 + 2.5 ml CHX
Grup 16	2.5 ml CHX + 2.5 ml MTAD
Grup 17	2.5 ml SC + 2.5 ml CHX
Grup 18	2.5 ml EDTA + 2.5 ml CHX
Grup 19	2.5 ml H_2O_2 + 2.5 ml CHX
Grup 20	2.5 ml ClO_2 + 2.5 ml MTAD
Grup 21	2.5 ml SC + 2.5 ml ClO_2
Grup 22	2.5 ml EDTA + 2.5 ml ClO_2
Grup 23	2.5 ml H_2O_2 + 2.5 ml ClO_2
Grup 24	2.5 ml SC + 2.5 ml MTAD
Grup 25	2.5 ml EDTA + 2.5 ml MTAD
Grup 26	2.5 ml H_2O_2 + 2.5 ml MTAD
Grup 27	2.5 ml SC + 2.5 ml H_2O_2
Grup 28	2.5 ml EDTA+ 2.5 ml H_2O_2

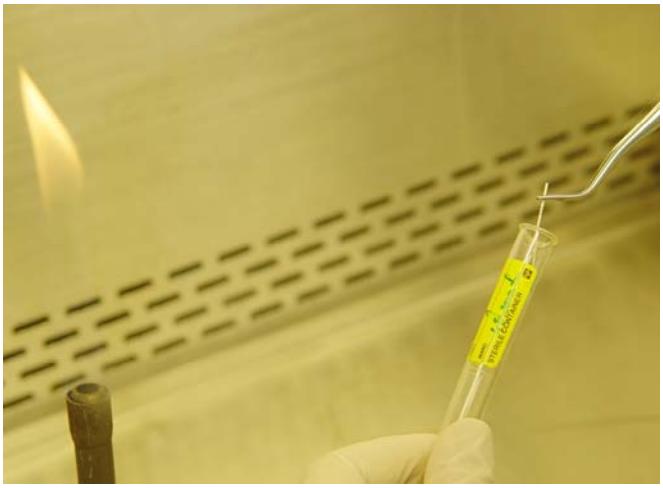
2.4. Kök Kanallarının İrrigasyonu

Örneklerin gruplara ayrılmasının ardından her bir kök kanalı 5 dk süreyle ve 30 gauge endodontik irrigasyon iğneleri (KerrHawe SA, Biggio, İsviçre) kullanılarak Çizelge 1'de belirtilen irrigasyon rejimlerine göre irrige edildi (Resim 2.3). İrrigasyon yapılırken solüsyonun kombine edilmeden tek başına uygulandığı gruplarda her bir kök toplam 5 ml solüsyon ile ve 5 dk süreyle irrige edildi. İki farklı irrigasyon solüsyonunun kombine edilerek uygulandığı gruplarda ise, ilk solüsyon 2.5 ml hacimde ve 2.5 dk süreyle kullanıldıktan sonra ikinci solüsyon yine 2.5 ml ve 2.5 dk süreyle uygulanarak her bir kökün yine toplamda 5 ml solüsyon ile ve 5 dk boyunca irrige edilmesi sağlandı.



Resim 2.3: Kök kanallarının deney solüsyonu ile irrigasyonu

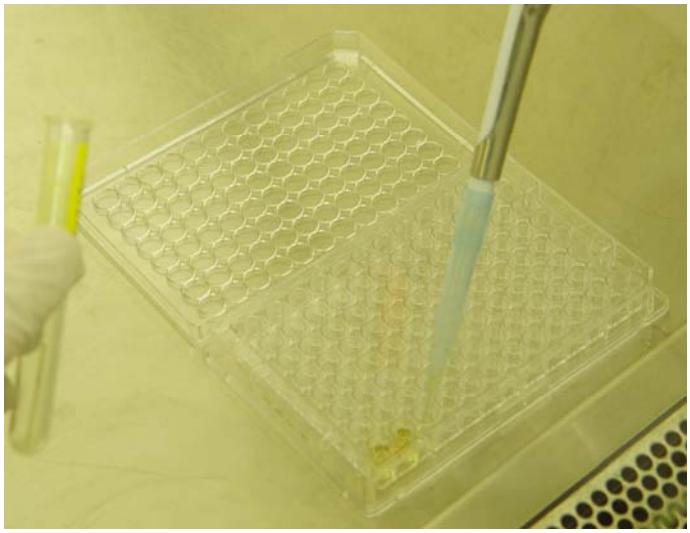
Yukarıda belirtilen gruplara irrigasyon rejimleri uygulandıktan sonra; kök kanallarından standart şekilde mikrobiyolojik örnek almak için, her bir kök kanalı 1 ml steril serum fizyolojik ile tekrar irrige edildi. Ardından steril F3 no'lu kağıt kon (Dentsply, Maillefer) kök kanalına yerleştirildi ve kanal içeriğini tamamen emmesi için 1 dk süre ile bekletildi. Daha sonra kağıt kon, steril 1 ml BHI içeren tüp içerisine konuldu (Resim 2.4) ve tüp Vortex cihazına (Ms1 Minishaker IKA^{O}) yerleştirilerek 5 dk boyunca çalkalandı.



Resim 2.4: Alınan örneğin steril tüp içerisindeki BHI besiyerine taşınması

Çalkalanan besiyerinden 200 µl örnek sıvı alınarak, 96 kuyucuklu steril ELISA pleyti (Costar 3599, Corning, NY, ABD) içerisindeki bir kuyucuğa aktarıldı. İşlem, aynı tüpten tekrar 200 µl örnek alınıp ikinci bir kuyucuğa yerleştirilmek üzere

2 kez tekrarlanarak her bir kök kanalı için ölçüm sonucunda ortalaması alınmak üzere 2 kuyucuk kullanılmış oldu (Resim 2.5).



Resim 2.5: Besiyerinden mikropleyt içerisindeki kuyucuklara sıvı aktarılması

Tüplerden pleytteki kuyucuklara sıvı aktarım işlemi tamamlanınca, ilk ölçümlerini (0. saat) yapmak üzere pleytler ELISA okuyucusuna (BioTek ELx800, Absorbance Microplate Reader, ABD) yerleştirildi (Resim 2.6). Pleytlerin 450 nm dalga boyunda ilk optik yoğunluk (OD) ölçümleri yapılarak kaydedildi. 6. ve daha sonra da 48. saate kadar olan süre boyunca her 6 saatteki ölçümler arasında örnekleri içeren pleytler 37°C ve %100 nemli ortamda bekletilmek üzere inkübatöre yerleştirildi.



Resim 2.6: Deneyde optik yoğunluk ölçümleri (OD) için kullanılan ELISA okuyucusu

Pleytlerin her 6 saatte bir ELISA okuyucusunda ölçümleri yapıldı. Her ölçüm iki kez tekrar edildi. Böylece her bir örnek için 0., 6., 12., 18., 24., 30., 36., 42. ve 48. saat verileri elde edildi. Her grup için ayrı ayrı olmak üzere her ölçümde toplanan verilerin ortalamaları hesaplandı ve ölçüm yapılmış olan her zaman dilimi için ortalama bir OD değeri belirlendi. Tüm bu işlemler sonucunda her bir örnek için ve her bir zaman diliminde elde edilen ortalama OD verileri kullanılarak her bir deneysel grup için zamana bağlı OD değişim grafiği oluşturuldu (Grafikler 3.1 - 3.11).

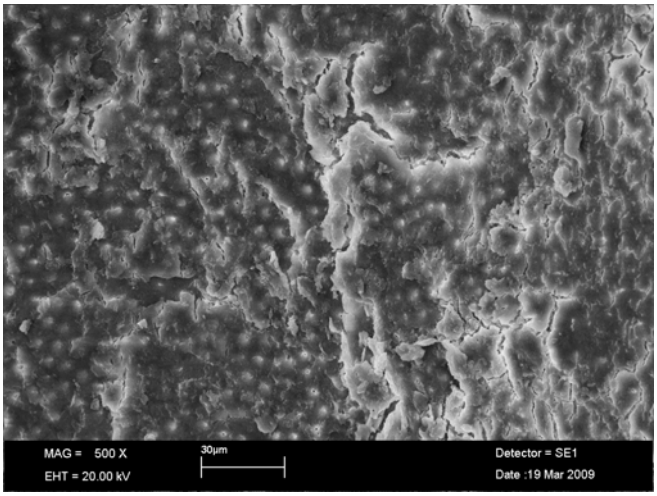
2.5. İstatistiksel Değerlendirme

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi Selçuk Üniversitesi Eğitim Fakültesi, Eğitim Programları ve Öğretimi Bölümü'nde SPSS 15.0 bilgisayar programı kullanılarak yapıldı. İstatistiksel analiz için her bir grupta 6., 12., 18., 24., 30., 36., 42. ve 48. saatlerde elde edilen OD değerleri veri olarak kullanıldı. Her bir zaman dilimi için gruplar arasında farklılık olup olmadığı Kruskall Wallis testi ile değerlendirildi. Hangi gruplar lehine anlamlı farklılık olduğunu belirlemek için de Mann Whitney U testi kullanıldı. Yapılan istatistiksel değerlendirmelerde anlamlılık düzeyi $p>0.05$ kabul edildi.

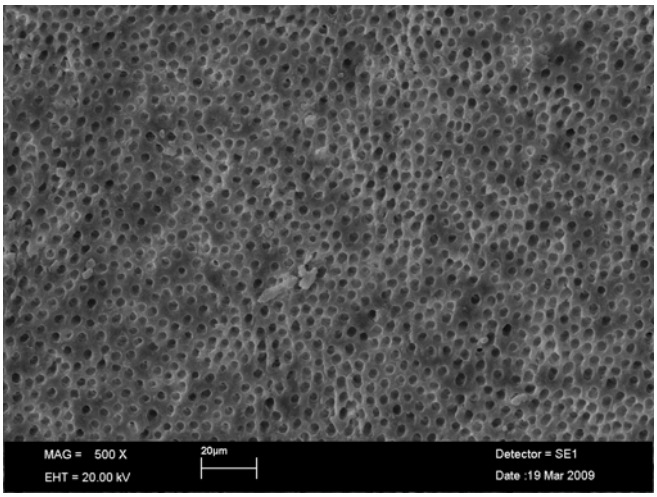
3. BULGULAR

3.1. Kök kanallarındaki smear tabakası için yapılan SEM incelemesi

Kök kanallarında preparasyon sırasında oluşan smear tabakasını kaldırmak için her bir kök kanalı, 10'ar dakika olmak üzere sırasıyla %17'lik EDTA ve %5.25 NaOCl solüsyonlarıyla ultrasonik banyoya tabi tutulmuş ve deneysel işlemler öncesinde smear tabakasının çıkarılıp çıkarılmadığını kontrol etmek amacıyla 4 adet örnekte ayrıca SEM incelemesi yapılmıştır. SEM incelemesi sonucunda preparasyondan hemen sonra kök kanal duvarlarında smear tabakası oluştuğu gözlenirken (Resim 3.1), smear tabaka çıkarılmasına yönelik olarak yukarıda bahsedilen işlemler sonrasında kök kanal duvarlarındaki smear tabakasının tamamen uzaklaştırıldığı izlenmektedir (Resim 3.2)



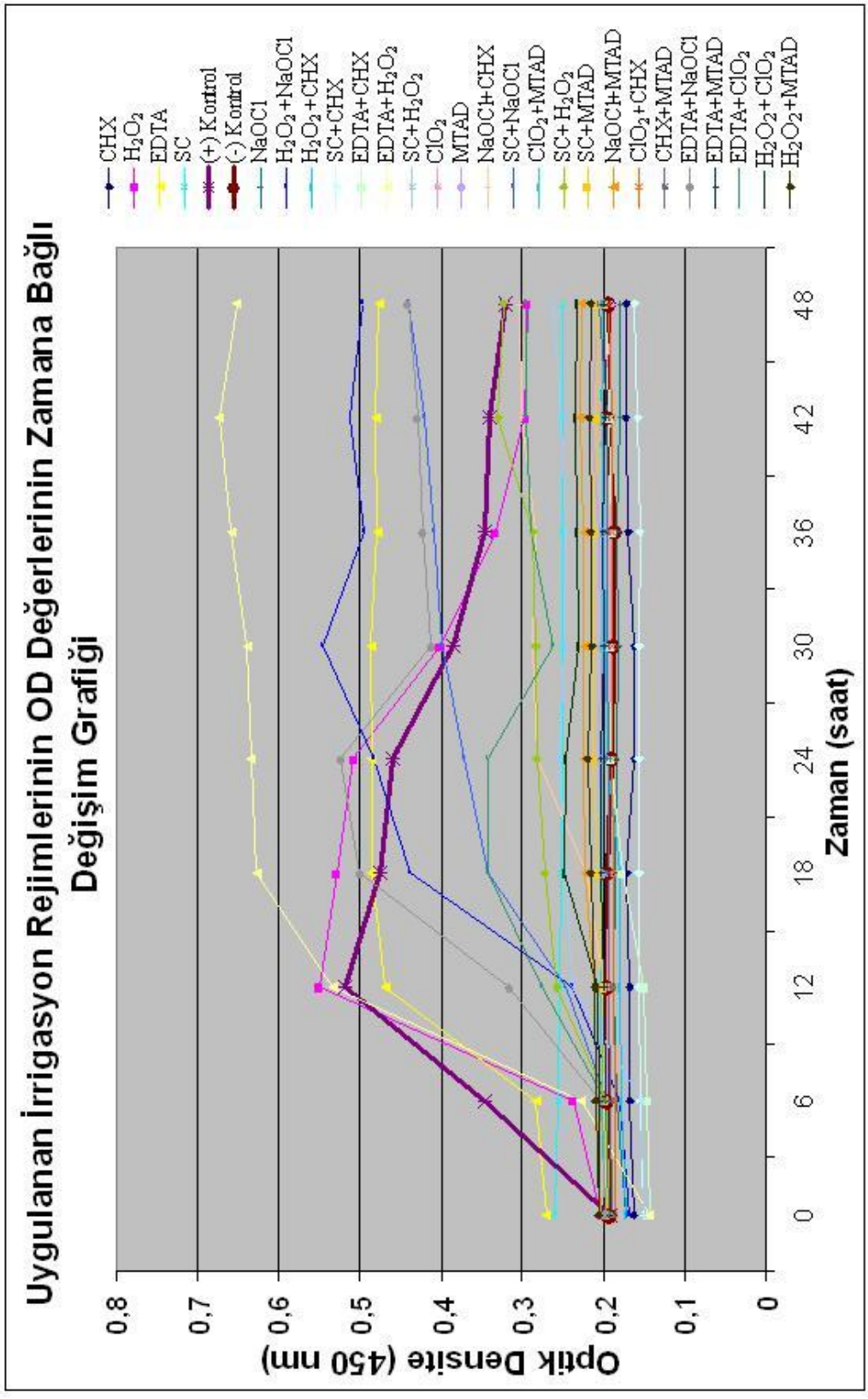
Resim 3.1: Kök kanalında preparasyon sonrasında oluşan smear tabakasının SEM görüntüsü (x500)



Resim 3.2: Kök kanalının %17 EDTA ve %5.25 NaOCl'le ultrasonik banyo sonrasında smear tabakasının kaldırılması ile dentin tübüllerinin SEM görüntüsü (x500)

3.2. Deneyde kullanılan tüm irrigasyon solüsyon ve kombinasyonlarının değerlendirilmesi

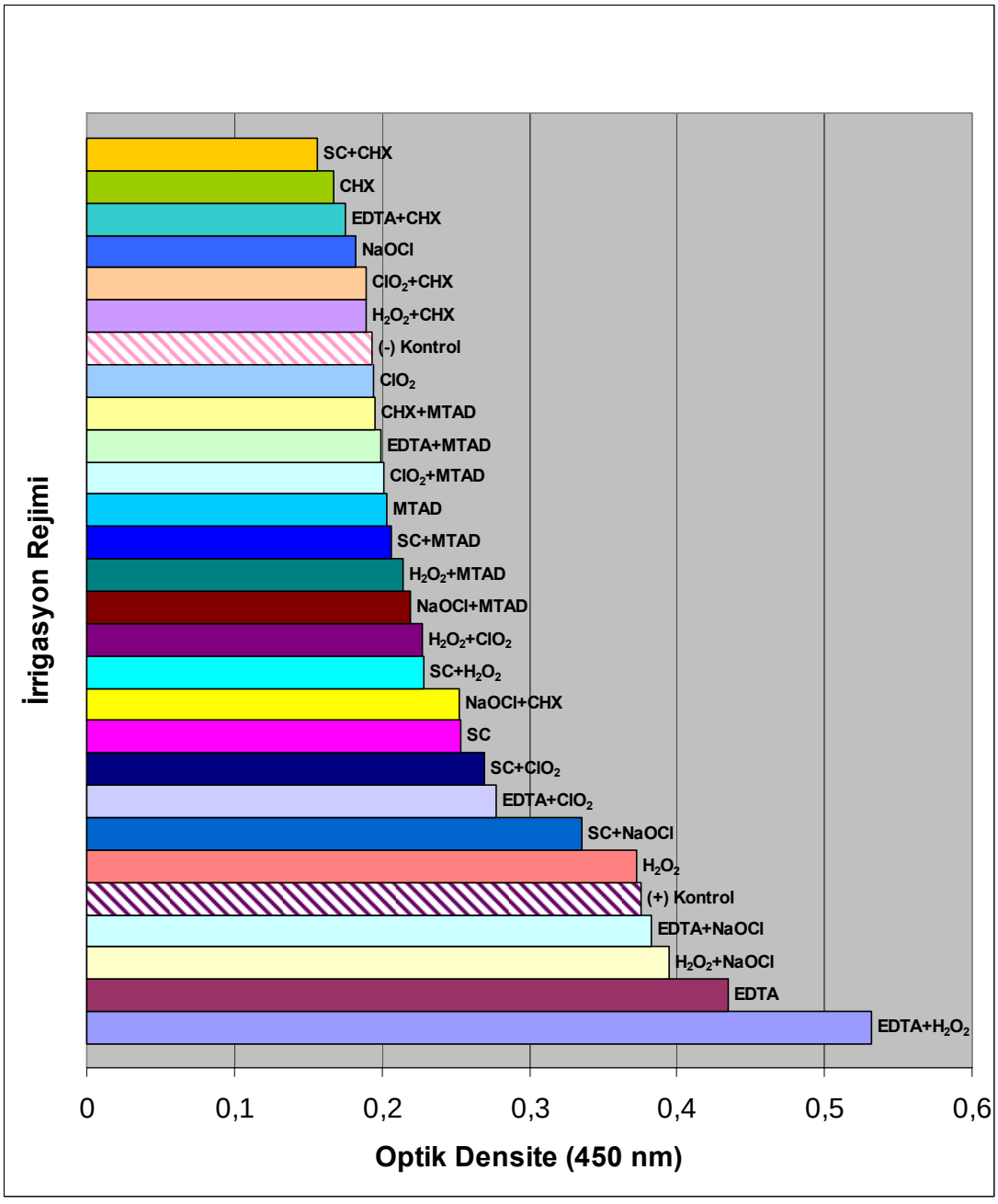
Çalışmada kullanılan kök kanal irrigasyon solüsyonlarının tek ve kombine kullanımlarından sonra antibakteriyel etkinlik özelliklerinin belirlenmesi ve karşılaştırılması amacıyla deneysel olarak *E.feacalis* ile enfekte edilen kök kanallarından spektrofotometrik değerlendirme için alınan örneklerin inkübasyonu sonucu zamana bağlı olarak (0, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 ve 48. saatler) ve 450 nm'de elde edilen OD değerleri Grafik 3.1'de gösterilmiştir.



Grafik 3.1: Tüm irrigasyon solüsyonlarının tek olarak ve diğer irrigasyon solüsyonlarıyla kombine kullanımlarından sonra alınan örneklerde zaman bağlı olarak elde edilen OD değerleriyle ortaya çıkan bakteri üreme eğrileri

Deneyde kullanılan irrigasyon solüsyonlarının tek olarak ve diğer irrigasyon solüsyonlarıyla kombine kullanımlarından sonra tüm zamanlardaki (0, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 ve 48. saatler) OD değerleri ortalamaları ayrıca grafiksel olarak da Grafik 3.2'de gösterilmiştir.

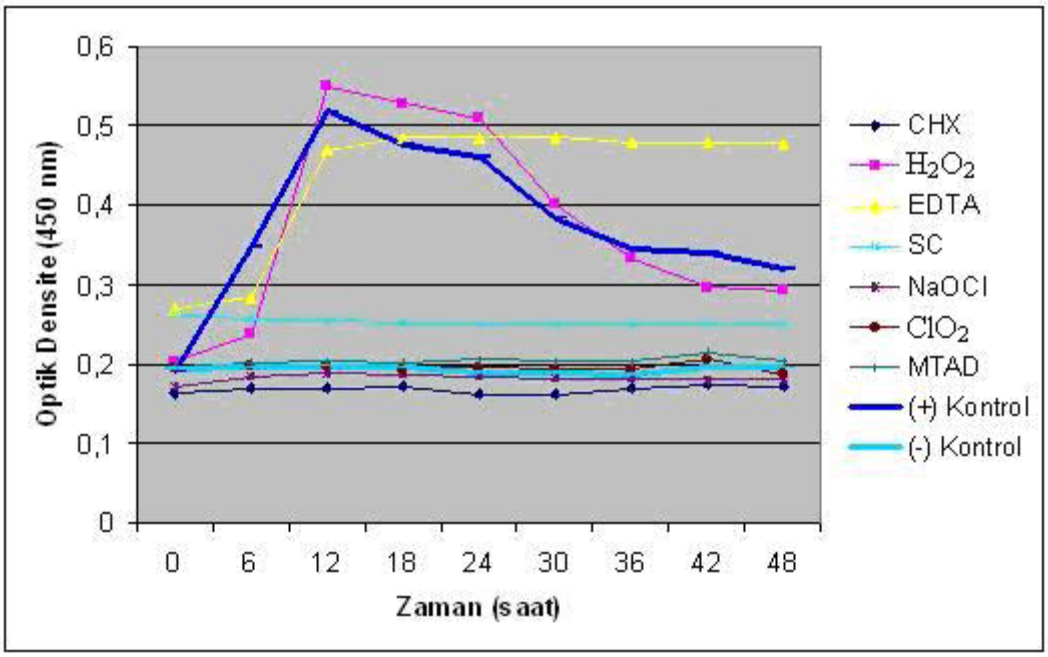
Grafik 3.2: Deneyde kullanılan irrigasyon rejimlerinin tüm zamanlardaki (0 - 48 saat) OD değerleri ortalamaları



Deney süresi boyunca tüm irrigasyon rejimleri bir arada değerlendirildiğinde ortalama OD değerinin en az olduğu grup SC+CHX, ortalama OD değerinin en yüksek olduğu grup ise EDTA+H_2O_2 olarak gözlendi (Grafik 3.1 ve 3.2).

3.2.1. Deneyde kullanılan temel irrigasyon solüsyonlarının tek olarak kullanımlarında elde edilen bulgular

Deneyde kullanılan temel irrigasyon solüsyonlarının tek olarak kullanımlarında elde edilen OD değerlerinin zamana bağlı değişimleriyle oluşan bakteri üreme eğrisi Grafik 3.3'de görülmektedir.

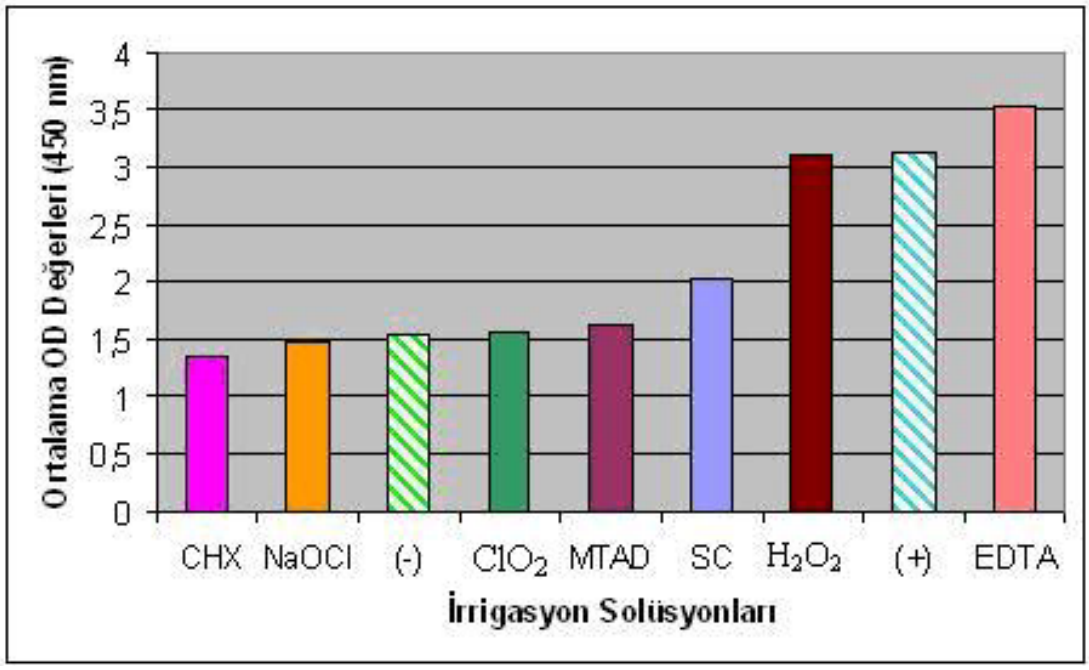


Grafik 3.3: Deneylerde kullandığımız irrigasyon solüsyonlarının kök kanallarını irrige etmek için tek olarak uygulanışlarından sonra alınan örneklerde OD değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği

Yukarıdaki grafikte (Grafik 3.3) CHX, NaOCl, ClO_2, MTAD ve SC ile irrige edilen örneklerin OD değerlerinde zamanla herhangi bir artış meydana gelmediği izlenirken, H_2O_2 ve EDTA ile irrige edilen örneklerde OD değerlerinin pozitif kontrol grubunda olduğu gibi zamana bağlı artış gösterdiği tespit edildi.

Solüsyonlar tek başlarına kullanıldıklarında tüm zamanlarda elde edilen ortalama OD değerlerine bakıldığında, *E.feacalis*'e karşı antibakteriyel etkinlik

yönünden en iyiden en zayıf etkiliye doğru CHX, NaOCl, ClO_2, MTAD, SC, H_2O_2 ve EDTA şeklinde sıralanabilir (Grafik 3.4)



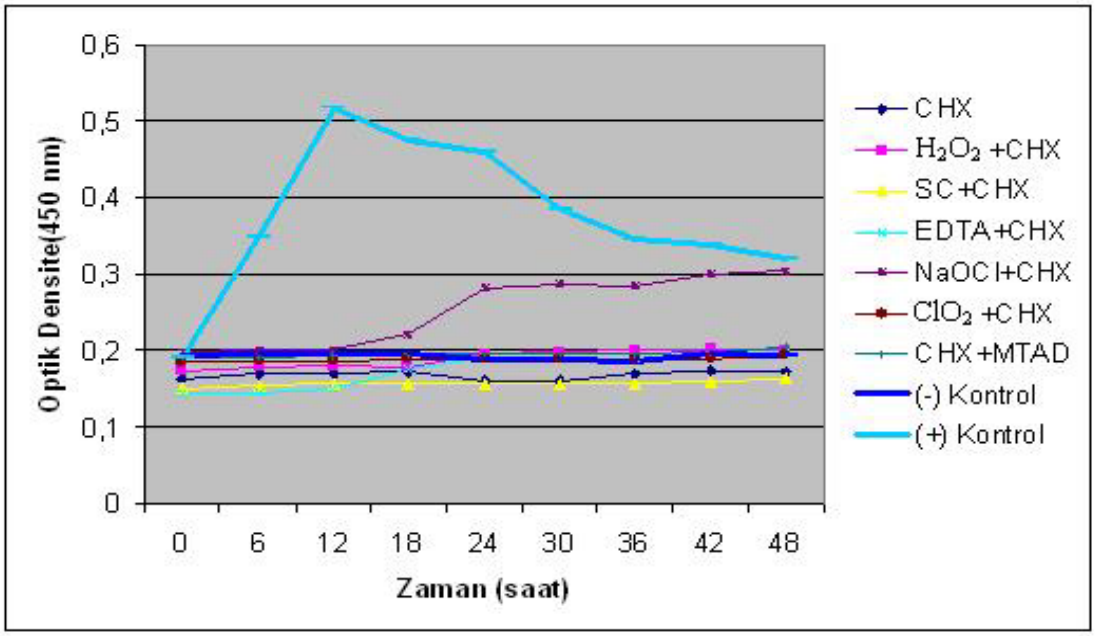
Grafik 3.4: Deneyde kullanılan tüm irrigasyon solüsyonlarının tek kullanımlarından sonra tüm zamanlardaki (0, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 ve 48. saatler) OD değerleri ortalamaları

Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesi sonucunda ise; CHX, NaOCl, MTAD, SC ve ClO_2 ile irrige edilmiş kök kanallarından alınan örneklerin OD değerlerinde negatif kontrol grubu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi ($p>0.05$). H_2O_2 ve EDTA ile irrige edilen kök kanallarından alınan örneklerin OD değerleri ile pozitif kontrol grubu OD değerleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı benzerlik olduğu belirlendi ($p>0.05$).

3.2.2 CHX ve CHX kombinasyonları

CHX solüsyonu ve onun diğer solüsyonlarla kombine edilerek kullanılması sonrasında alınan örneklerle elde edilen bakteri üreme eğrisi incelendiğinde 12. saatten sonra artış gözlenen CHX+NaOCl ile irrige edilen grup dışındaki diğer tüm grupların (CHX, CHX+H_2O_2, CHX+SC, CHX+EDTA, CHX+ClO_2 ve

CHX+MTAD) OD değerlerinde deney süresi boyunca herhangi bir artışın meydana gelmediği izlendi (Grafik 3.5).



Grafik 3.5: CHX solüsyonu ve onun diğer solüsyonlarla kombine edilerek kullanılması sonrasında alınan örneklerde OD değerlerine bağlı olarak ortaya çıkan bakteri üreme eğrisi

Yapılan istatistiksel analizler sonucunda ise Grafik 3.5'te artış izlenen CHX+NaOCl grubu da dahil olmak üzere CHX ve kombinasyonlarının tüm zamanlarda (6., 12., 24., 36. ve 48. saatler) negatif kontrol grubu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$) (Çizelge 3.1). Ancak burada her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı fark olmasa da sadece bakteri üreme eğrisi göz önüne alınarak bir değerlendirme yapılması durumunda, CHX+NaOCl kombinasyonunun diğer kombinasyonlardan daha az antibakteriyel etki gösterdiği söylenebilir.

Çizelge 3.1: CHX ve kombinasyonlarının OD değerleri ortalamalarının istatistiksel değerlendirmesi (n=10)

CHX ve Kombinasyonları	6. Saat OD Ort±SD*	12. Saat OD Ort±SD*	24. Saat OD Ort±SD*	36. Saat OD Ort±SD*	48. Saat OD Ort±SD*
CHX	0.169±0.017 ab	0.169±0.016 a	0.161±0.013 ab	0.169±0.025 ab	0.171±0.031 a
CHX +SC	0.155±0.003 a	0.158±0.004 a	0.157±0.004 a	0.156±0.004 a	0.162±0.003 a
CHX+EDTA	0.147±0.004 a	0.150±0.005 a	0.190±0.127 ab	0.189±0.122 ab	0.198±0.132 a
CHX+H_2O_2	0.178±0.009 ab	0.180±0.007 ab	0.196±0.063 ab	0.199±0.018 ab	0.199±0.084 a
CHX+ClO_2	0.187±0.003 abc	0.188±0.003 ab	0.190±0.004 ab	0.189±0.003 ab	0.195±0.004 a
CHX+NaOCl	0.199±0.003 abc	0.199±0.003 ab	0.283±0.163 abcd	0.284±0.157 abcd	0.303±0.202 abc
CHX+MTAD	0.191±0.004 abc	0.193±0.004 ab	0.195±0.004 ab	0.196±0.004 ab	0.204±0.008 a
(-) Kontrol	0.166±0.015 abc	0.196±0.016 ab	0.189±0.013 ab	0.187±0.015 ab	0.194±0.026 a
(+) Kontrol	0.347±0.167 e	0.517±0.141 c	0.459±0.136 cdef	0.346±0.106 bcde	0.320±0.063 abc

OD: Optik Density (450 nm)
*Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0.05$).

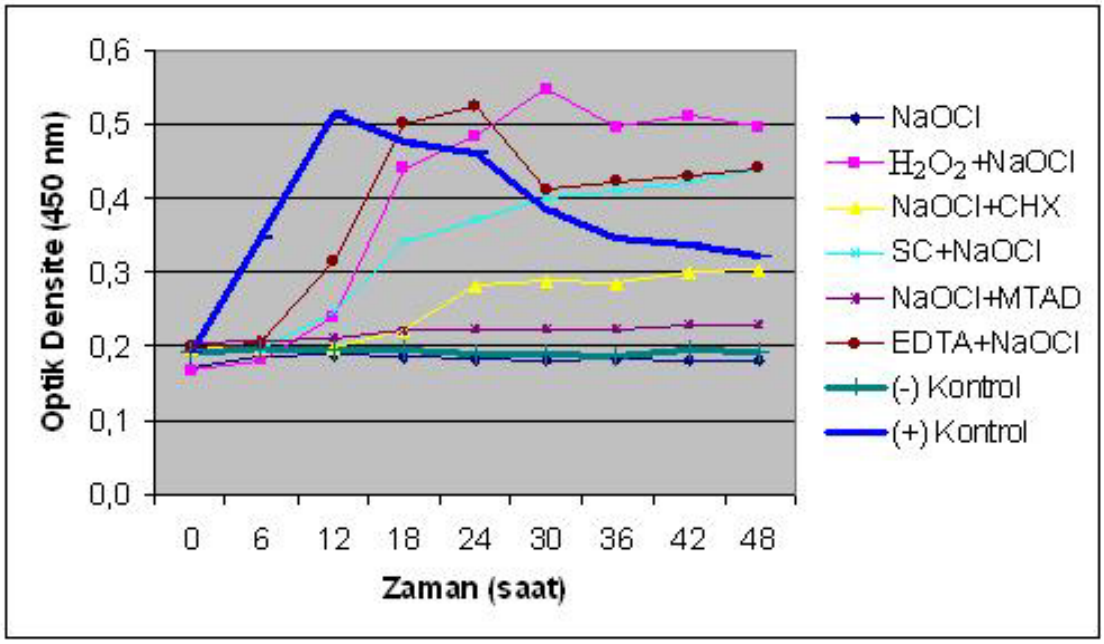
3.2.3. NaOCl ve NaOCl kombinasyonları

NaOCl solüsyonu ve onun diğer solüsyonlarla kombine edilerek kullanılması sonrasında alınan örneklerle elde edilen bakteri üreme eğrisi (Grafik 3.6) incelendiğinde sadece NaOCl ve NaOCl+MTAD ile irrige edilen örneklerin OD değerlerinin sabit kaldığı ve zamanla herhangi bir değişim göstermediği izlendi. Yapılan istatistiksel analizlerde NaOCl ve NaOCl+MTAD kombinasyonu kullanılarak irrige edilen gruplarda zamana bağlı olarak elde edilen OD değerleri ile negatif kontrol grubu OD değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı, yani bu grupların diğer gruplardan daha fazla antibakteriyel etkinlik gösterdikleri tespit edildi ($p>0.05$) (Çizelge 3.2).

NaOCl+H_2O_2 ve NaOCl+EDTA ile irrige edilmiş örneklerin OD değerlerinde ise zamana bağlı bir artış izlendi (Grafik 3.6) ve bu kombinasyonlar ile irrige edilen deney gruplarının OD değerleri 6. ve 12. saatlerdeki ölçümler hariç (24., 36. ve 48. saatlerdeki), pozitif kontrol grubu ile istatistiksel olarak benzer bulundu ($p>0.05$) (Çizelge 3.2).

NaOCl+CHX ile irrige edilen örneklerde 12. saatten sonra OD değerlerinde artışın meydana geldiği gözlendi (Grafik 3.6). Fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$) (Çizelge 3.2).

NaOCl ile SC'in kombine kullanıldığı grubun (NaOCl + SC) 6. saatten sonraki OD değerinde artış meydana geldiği görüldü (Grafik 3.6). Ancak bu artışın 36. saatten sonra istatistiksel olarak negatif kontrol grubundan anlamlı derecede farklı olduğu tespit edildi ($p<0.05$) (Çizelge 3.2).



Grafik 3.6: NaOCl solüsyonu ve onun diğer solüsyonlarla kombine edilerek kullanılması sonrasında alınan örneklerde OD değerlerine bağlı olarak ortaya çıkan bakteri üreme eğrisi

Çizelge 3.2: NaOCl ve kombinasyonlarının OD değerleri ortalamalarının istatistiksel değerlendirmesi (n=10)

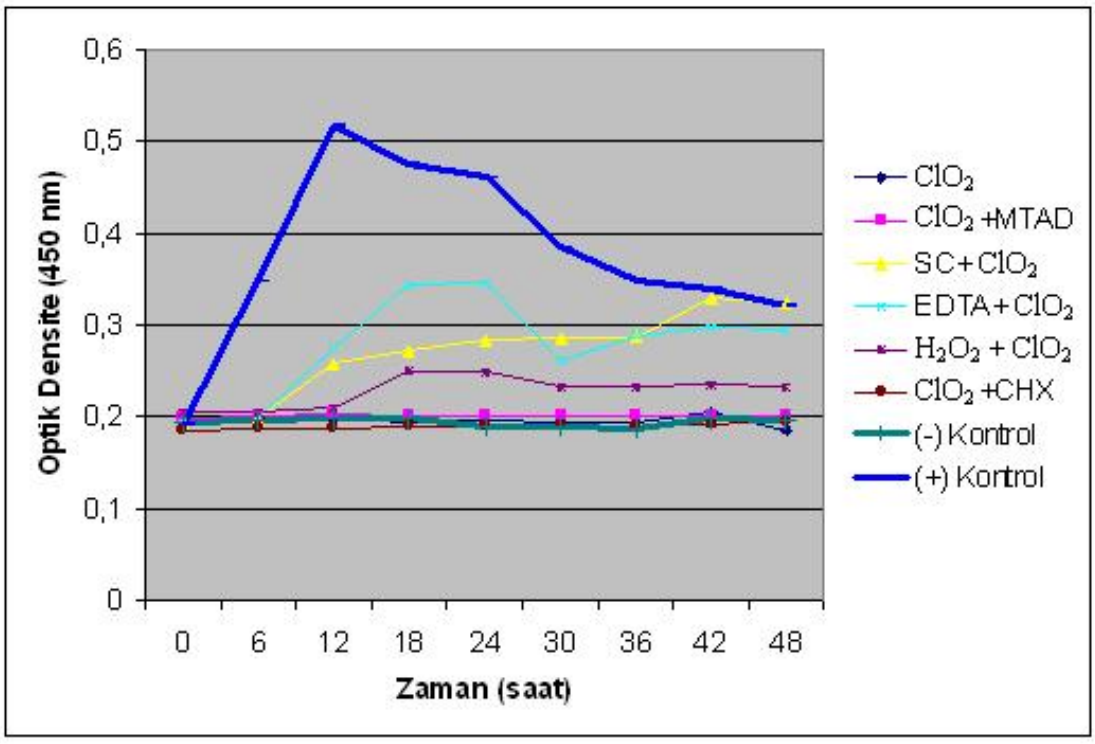
NaOCl ve Kombinasyonları	6.saat OD Ort±SD*	12.saat OD Ort±SD*	24.saat OD Ort±SD*	36.saat OD Ort±SD*	48.saat OD Ort±SD*
NaOCl	0.186±0.008 abc	0.190±0.008 ab	0.241±0.179 ab	0.239±0.178 abcd	0.239±0.187 ab
NaOCl+MTAD	0.210±0.006 abc	0.212±0.004 ab	0.225±0.005 ab	0.224±0.005 abc	0.228±0.006 a
NaOCl +EDTA	0.203±0.007 abc	0.316±0.174 b	0.523±0.285 ef	0.421±0.188 de	0.441±0.184 bc
NaOCl+H_2O_2	0.180±0.006 ab	0.239±0.089 ab	0.483±0.182 def	0.495±0.188 ef	0.496±192 cd
NaOCl+CHX	0.199±0.003 abc	0.199±0.003 ab	0.283±0.163 abcd	0.284±0.157 abcd	0.303±0.202 abc
NaOCl+SC	0.197±0.004 abc	0.247±0.137 ab	0.371±0.215 bcde	0.410±0.231 cde	0.441±0.232 bc
(-) Kontrol	0.166±0.015 abc	0.196±0.016 ab	0.189±0.013 ab	0.187±0.015 ab	0.194±0.026 a
(+) Kontrol	0.347±0.167 e	0.517±0.141 c	0.459±0.136 cdef	0.346±0.106 bcde	0.320±0.063 abc

OD: Optik Density (450 nm)
*Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0.05$).

3.2.4. ClO_2 ve ClO_2 Kombinasyonları

ClO_2 solüsyonu ve onun diğer solüsyonlarla kombine edilerek kullanılması sonrasında alınan örneklerle elde edilen bakteri üreme eğrisi (Grafik 3.7) incelendiğinde, ClO_2+H_2O_2, ClO_2+EDTA ve ClO_2+SC ile irrige edilen grupların OD değerlerinde bir miktar artış meydana geldiği izlendi. Yapılan istatistiksel değerlendirmede ise ClO_2+H_2O_2, ClO_2+EDTA ve ClO_2+SC grupları tüm zamanlarda (0., 6., 12., 24., 36. ve 48. saatler) negatif kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı şekilde benzer bulundu ($p>0.05$) (Çizelge 3.3).

ClO_2, ClO_2+MTAD ve ClO_2+CHX ile irrige edilen grupların OD değerlerinde herhangi bir değişim gözlenmedi (Grafik 3.7) ve bu gruplar tüm zamanlarda (0., 6., 12., 24., 36. ve 48. saatlerde) negatif kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı şekilde benzer bulundu ($p>0.05$) (Çizelge 3.3). Dolayısıyla bu gruplardaki antibakteriyel etkinlik özelliğinin istatiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte diğer gruplardan daha iyi olduğu tespit edildi.



Grafik 3.7: ClO_2 solüsyonu ve onun diğer solüsyonlarla kombine edilerek kullanılması sonrasında alınan örneklerde OD değerlerine bağlı olarak ortaya çıkan bakteri üreme eğrisi

Çizelge 3.3: ClO_2 ve kombinasyonlarının OD değerleri ortalamalarının istatistiksel değerlendirmesi (n=10)

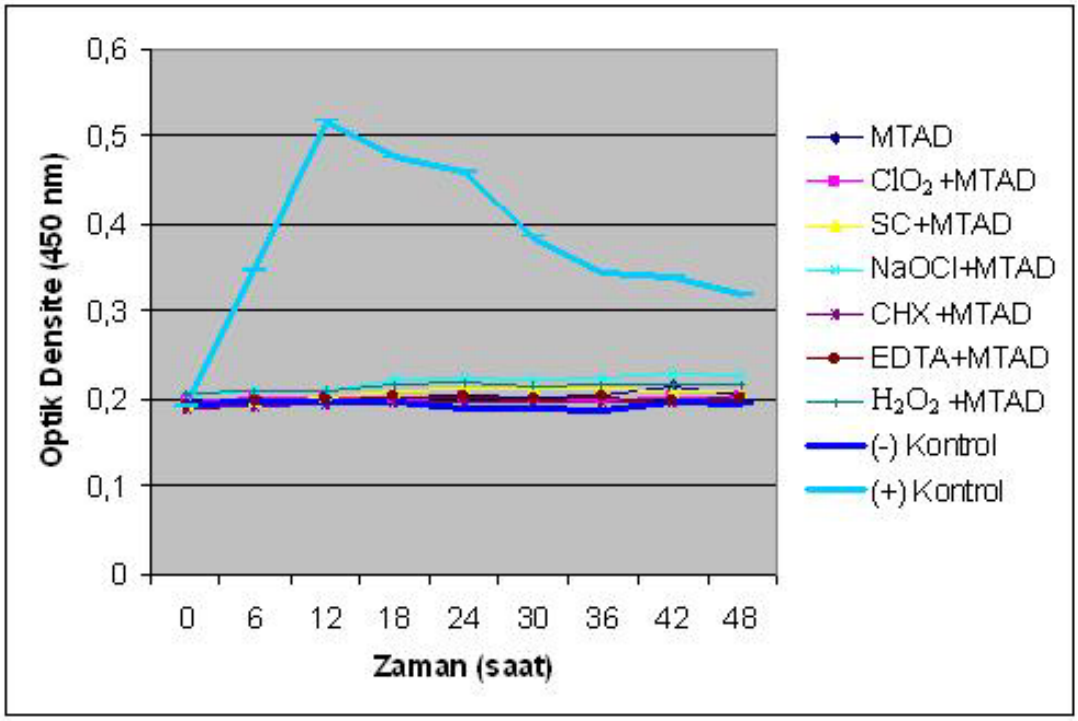
ClO_2 ve Kombinasyonları	6.saat OD Ort±SD*	12.saat OD Ort±SD*	24.saat OD Ort±SD*	36.saat OD Ort±SD*	48.saat OD Ort±SD*
ClO_2	0.197±0.003 abc	0.196±0.003 ab	0.195±0.004 ab	0.192±0.005 ab	0.186±0.01 a
ClO_2+MTAD	0.201±0.005 abc	0.203±0.005 ab	0.201±0.006 ab	0.201±0.006 ab	0.201±0.007 a
ClO_2+EDTA	0.198±0.008 abc	0.275±0.138 ab	0.344±0.229 abcde	0.289±0.151 abcd	0.295±0.17 abc
ClO_2+H_2O_2	0.205±0.013 abc	0.207±0.013 ab	0.247±0.105 abc	0.233±0.073 abc	0.233±0.074 ab
ClO_2+CHX	0.187±0.003 abc	0.188±0.003 ab	0.190±0.004 ab	0.189±0.003 ab	0.195±0.004 a
ClO_2+SC	0.196±0.008 abc	0.257±0.144 ab	0.283±0.162 abcd	0.287±0.171 abcd	0.324±0.264 abc
(-) Kontrol	0.166±0.015 abc	0.196±0.016 ab	0.189±0.013 ab	0.187±0.015 ab	0.194±0.026 a
(+) Kontrol	0.347±0.167 e	0.517±0.141 c	0.459±0.136 cdef	0.346±0.106 bcde	0.320±0.063 abc

OD: Optik Density (450 nm)

*Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0.05$).

3.2.5. MTAD ve MTAD Kombinasyonları

MTAD solüsyonu ve onun diğer solüsyonlarla kombine edilerek kullanılması sonrasında alınan örneklerden elde edilen bakteri üreme eğrisi (Grafik 3.8) incelendiğinde MTAD ve onun tüm kombinasyonlarının OD değerlerinde zamana bağlı herhangi değişim olmadığı izlendi. Yapılan istatistiksel analizlerde de hem tek başına MTAD hem de onun diğer solüsyonlarla oluşturduğu tüm kombinasyonların OD değerleri ile negatif kontrol grubu OD değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi ($p>0.05$) (Çizelge 7). Yani MTAD ve tüm MTAD kombinasyonları *E.faecalis*'e karşı antibakteriyel etkinlik gösterdi.



Grafik 3.8: MTAD solüsyonu ve onun diğer solüsyonlarla kombine edilerek kullanılması sonrasında alınan örneklerde OD değerlerine bağlı olarak ortaya çıkan bakteri üreme eğrisi

Çizelge 3.4: İrrigasyon amacıyla kullanılan MTAD ve tüm kombinasyonlarının OD değerleri ortalamalarının istatistiksel değerlendirmesi (n=10)

MTAD ve Kombinasyonları	6.saat OD Ort±SD*	12.saat OD Ort±SD*	24.saat OD Ort±SD*	36.saat OD Ort±SD*	48.saat OD Ort±SD*
MTAD	0.201±0.001 abc	0.203±0.001 ab	0.205±0.003 ab	0.204±0.004 ab	0.204±0.007 a
MTAD+NaOCl	0.210±0.006 abc	0.212±0.004 ab	0.225±0.005 ab	0.224±0.005 abc	0.228±0.006 a
MTAD+EDTA	0.198±0.003 abc	0.199±0.003 ab	0.202±0.003 ab	0.201±0.003 ab	0.199±0.003 a
MTAD+H_2O_2	0.209±0.008 abc	0.211±0.008 ab	0.219±0.01 ab	0.216±0.008 ab	0.216±0.007 a
MTAD+CHX	0.191±0.004 abc	0.193±0.004 ab	0.195±0.004 ab	0.196±0.004 ab	0.204±0.008 a
MTAD+SC	0.198±0.005 abc	0.202±0.005 ab	0.213±0.005 ab	0.212±0.006 ab	0.208±0.006 a
MTAD+ClO_2	0.201±0.005 abc	0.203±0.005 ab	0.201±0.006 ab	0.201±0.006 ab	0.201±0.007 a
(-) Kontrol	0.166±0.015 abc	0.196±0.016 ab	0.189±0.013 ab	0.187±0.015 ab	0.194±0.026 a
(+) Kontrol	0.347±0.167 e	0.517±0.141 c	0.459±0.136 cdef	0.346±0.106 bcde	0.320±0.063 abc

OD: Optik Density (450 nm)

*Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0.05$).

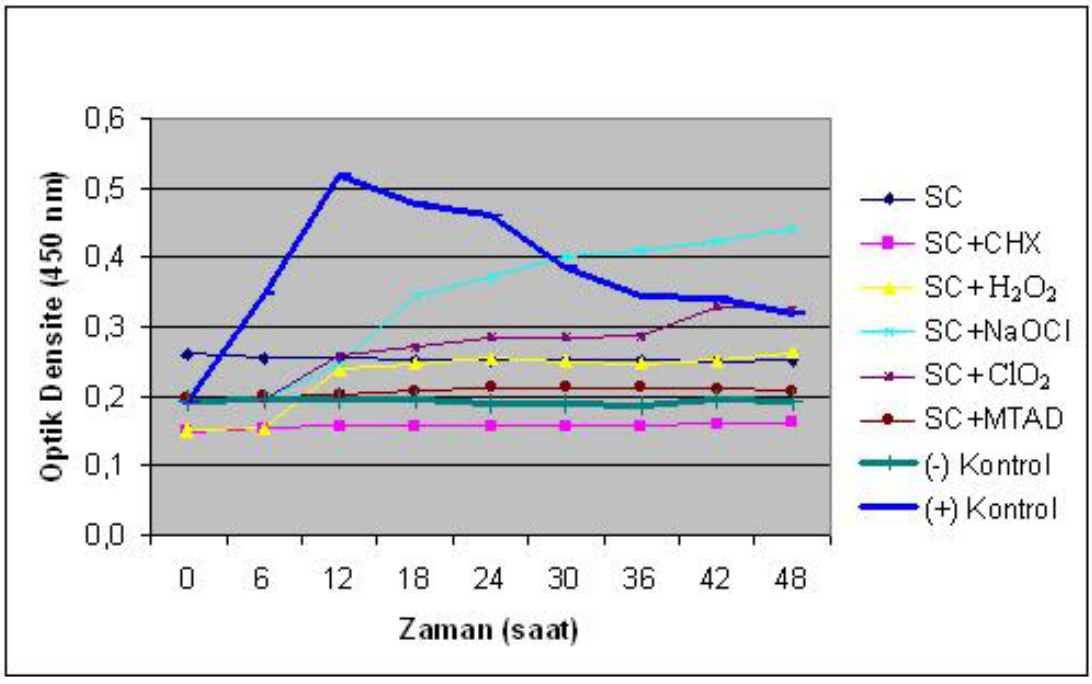
3.2.6. SC ve SC Kombinasyonları

SC solüsyonu ve onun diğer solüsyonlarla kombine edilerek kullanılması sonrasında alınan örneklerden elde edilen bakteri üreme eğrisi (Grafik 3.9) incelendiğinde SC+CHX, SC+MTAD ve tek başına SC ile irrige edilen grupların OD

değerlerinde zamana bağlı herhangi bir değişim olmadığı izlendi. Yapılan istatistiksel analizlerde de bu gruplar ile negatif kontrol grubunun istatistiksel olarak benzer oldukları görüldü ($p>0.05$) (Çizelge 3.5).

$SC+H_2O_2$ ile irrige edilen grupta 6.saatten sonra bir miktar artış olduğu ancak daha sonraki ölçümlerde (18., 24., 30., 36., 42. ve 48. saatlerdeki) OD değerinin sabit kaldığı görüldü (Grafik 3.9). Ancak yapılan istatistiksel analizde $SC+H_2O_2$ ile irrige edilen grubun OD değerleri ile negatif kontrol grubu OD değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi ($p>0.05$) (Çizelge 3.5).

$SC+ClO_2$ ve SC+NaOCl ile irrige edilen grupların 6.saatten sonraki ölçümlerinde (18., 24., 30., 36., 42. ve 48. saatler) OD değerlerinde devamlı bir artış olduğu izlendi (Grafik 3.9). Bu artış, $SC+ ClO_2$ ile irrige edilen grupta istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p>0.05$) (Çizelge 3.8), SC+NaOCl ile irrige edilen grupta 30., 36., ve 48. saatlerdeki ölçümler için negatif kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulundu ($p<0.05$) (Çizelge 3.8).



Grafik 3.9: SC solüsyonu ve onun diğer solüsyonlarla kombine edilerek kullanılması sonrasında alınan örneklerde OD değerlerine bağlı olarak ortaya çıkan bakteri üreme eğrisi

Çizelge 3.5: İrrigasyon amacıyla kullanılan SC ve tüm kombinasyonlarının OD değerleri ortalamalarının istatistiksel değerlendirmesi (n=10)

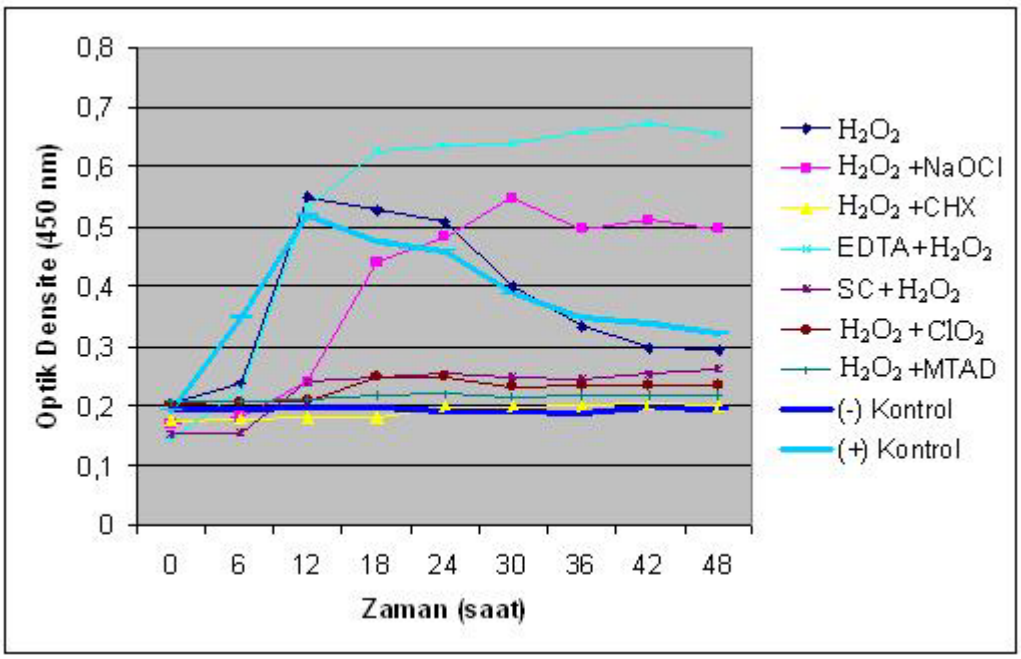
SC ve Kombinasyonları	6.saat OD Ort±SD*	12.saat OD Ort±SD*	24.saat OD Ort±SD*	36.saat OD Ort±SD*	48.saat OD Ort±SD*
SC	0.256±0.189 cd	0.255±0.018 ab	0.251±0.018 abc	0.251±0.019 abcd	0.251±0.019 ab
SC+MTAD	0.198±0.005 abc	0.202±0.005 ab	0.213±0.005 ab	0.212±0.006 ab	0.208±0.006 a
SC+NaOCl	0.197±0.004 abc	0.247±0.137 ab	0.371±0.215 bcde	0.410±0.231 cde	0.441±0.232 bc
SC+H_2O_2	0.154±0.011 a	0.240±0.142 ab	0.255±0.133 abc	0.246±0.119 abcd	0.263±0.113 ab
SC+CHX	0.155±0.003 a	0.158±0.004 a	0.157±0.004 a	0.156±0.004 a	0.162±0.003 a
SC+ClO_2	0.196±0.008 abc	0.257±0.144 ab	0.283±0.162 abcd	0.287±0.171 abcd	0.324±0.264 abc
(-) Kontrol	0.166±0.015 abc	0.196±0.016 ab	0.189±0.013 ab	0.187±0.015 ab	0.194±0.026 a
(+) Kontrol	0.347±0.167 e	0.517±0.141 c	0.459±0.136 cdef	0.346±0.106 bcde	0.320±0.063 abc

OD: Optik Density (450 nm)
*Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0.05$).

3.2.7. H_2O_2 ve H_2O_2 Kombinasyonları

H_2O_2 solüsyonu ve onun diğer solüsyonlarla kombine edilerek kullanılması sonrasında alınan örneklerle elde edilen bakteri üreme eğrisi (Grafik 3.10) incelendiğinde H_2O_2 +SC, H_2O_2+ClO_2, H_2O_2+CHX ve H_2O_2+MTAD ile irrige edilen gruplarda OD değerlerinin tüm zamanlar için sabit kaldığı izlendi (Grafik 3.9 ve 3.10). Yapılan istatistiksel analizlerde de tüm bu gruplar için OD değerlerinin negatif kontrol grubu OD değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği belirlendi (Çizelge 3.6).

Tek başına H_2O_2, H_2O_2+EDTA ve H_2O_2+NaOCl ile irrige edilen kök kanallarından alınan örneklerin OD değerlerinde zamana bağlı artış gözlendi (Grafik 3.10). Tek başına H_2O_2 ile irrige edilen grubun OD değerlerinin zamana bağlı değişimi pozitif kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı şekilde benzer bulundu ($p>0.05$) (Çizelge 3.6). H_2O_2+EDTA ve H_2O_2+NaOCl ile irrige edilen kök kanallarından alınan örneklerin OD değerlerinin ilk 24 saatlik periyottaki artışı, pozitif kontrol grubu ile benzerdi ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$) (Çizelge 3.6). Ancak, H_2O_2+EDTA ve H_2O_2+NaOCl ile irrige edilen gruplarda 24. ve 48. saatlerde gözlenmeye devam eden artış pozitif kontrol grubundan da istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı idi ($p<0.05$) (Çizelge 3.6).



Grafik 3.10: H_2O_2 solüsyonu ve onun diğer solüsyonlarla kombine edilerek kullanılması sonrasında alınan örneklerde OD değerlerine bağlı olarak ortaya çıkan bakteri üreme eğrisi

Çizelge 3.6: İrrigasyon amacıyla kullanılan H_2O_2 ve tüm kombinasyonlarının OD değerleri ortalamalarının istatistiksel değerlendirmesi (n=10)

H_2O_2 ve Kombinasyonları	6. Saat OD Ort±SD*	12. Saat OD Ort±SD*	24. Saat OD Ort±SD*	36.saat OD Ort±SD*	48.saat OD Ort±SD*
H_2O_2	0.237±0.093 bcd	0.549±0.131 c	0.508±0.149 ef	0.334±0.062 abcde	0.294±021 abc
H_2O_2+CHX	0.178±0.009 ab	0.180±0.007 ab	0.196±0.063 ab	0.199±0.018 ab	0.199±0.084 a
H_2O_2+MTAD	0.209±0.008 abc	0.211±0.008 ab	0.219±0.010 ab	0.216±0.008 ab	0.216±0.007 a
H_2O_2+SC	0.154±0.011 a	0.240±0.142 ab	0.255±0.133 abc	0.246±0.119 abcd	0.263±0.113 ab
H_2O_2+ClO_2	0.205±0.013 abc	0.207±0.013 ab	0.247±0.105 abc	0.233±0.073 abc	0.233±0.074 ab
H_2O_2+NaOCl	0.180±0.006 ab	0.239±0.089 ab	0.483±0.182 def	0.495±0.188 ef	0.496±192 cd
H_2O_2+EDTA	0.228±0.144 bcd	0.533±0.150 c	0.634±0.062 f	0.658±0.067 f	0.652±0.124 d
(-) Kontrol	0.166±0.015 abc	0.196±0.016 ab	0.189±0.013 ab	0.187±0.015 ab	0.194±0.026 a
(+) Kontrol	0.347±0.167 e	0.517±0.141 c	0.459±0.136 cdef	0.346±0.106 bcde	0.320±0.063 abc

OD: Optik Density (450 nm)
*Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0.05$).

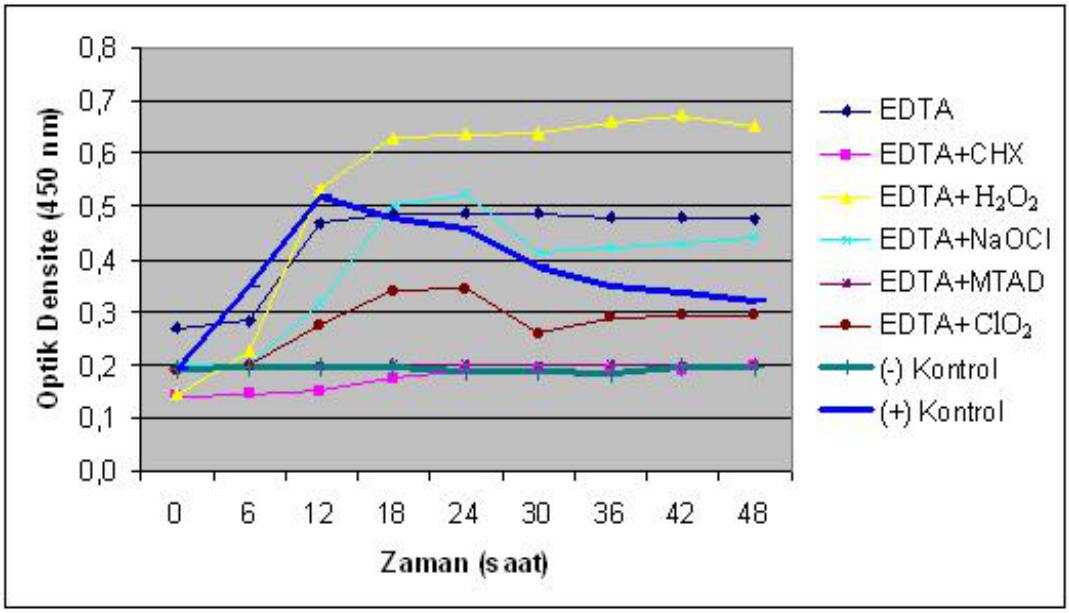
3.2.8. EDTA ve EDTA Kombinasyonları

EDTA ve onun diğer solüsyonlarla kombine edilerek kullanılması sonrasında elde edilen bakteri üreme eğrisi (Grafik 3.11) incelendiğinde EDTA ve EDTA+H_2O_2 ile irrige edilmiş grupların OD değerlerinde zamana bağlı artış meydana geldiği gözlendi. Bu artış, EDTA için tüm zaman gruplarında pozitif kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı şekilde benzer olarak bulundu ($p>0.05$)(Çizelge 3.7). EDTA+H_2O_2 grubunda ise ilk 6 saatlik dönem için gözlenen artış istatistiksel olarak negatif kontrol grubuyla benzerlik gösterecek derecede önemsizken ($p>0.05$), 6. ve 24. saatlerde pozitif kontrol grubuyla benzerlik gösterdi ($p>0.05$). Bundan sonraki dönemlerde ise elde edilen OD değerleri artışı, istatistiksel olarak anlamlı şekilde pozitif kontrol grubu değerlerinden de farklıydı ($p<0.05$).

Grafik 3.11 incelendiğinde; EDTA+ClO_2 ile irrige edilen grubun OD değerlerinde bir miktar artışın meydana geldiği görüldü. Yapılan istatistiksel değerlendirmede de EDTA+ClO_2 tüm zamanlarda (6., 12., 24., 36. ve 48. saatler) negatif kontrol grubu ile anlamlı olarak benzer bulundu ($p>0.05$) (Çizelge 3.3-3.7).

EDTA+NaOCl ile irrige edilen grupta OD değerinde 6. saatten sonra zamana bağlı artış gözlendi. Bu artış negatif kontrol grubu ile kıyaslandığında 18.saatten sonra istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıydı ($p<0.05$) (Grafik 3.11) (Çizelge 3.7).

EDTA+CHX ve EDTA+MTAD ile irrige edilmiş grupların OD değerlerinde ise herhangi bir değişiklik gözlenmedi (Grafik 3.11). Yapılan istatistiksel analizlerde de EDTA+CHX ve EDTA+MTAD ile irrige edilen gruplar ile negatif kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$) (Çizelge 3.7).



Grafik 3.11: EDTA solüsyonu ve onun diğer solüsyonlarla kombine edilerek kullanılması sonrasında alınan örneklerde OD değerlerine bağlı olarak ortaya çıkan bakteri üreme eğrisi

Çizelge 3.7: İrrigasyon amacıyla kullanılan EDTA ve tüm kombinasyonlarının OD değerleri ortalamalarının istatistiksel değerlendirmesi (n=10)

EDTA ve Kombinasyonları	6.saat OD Ort±SD*	12.saat OD Ort±SD*	24.saat OD Ort±SD*	36.saat OD Ort±SD*	48.saat OD Ort±SD*
EDTA	0.284±0.016 de	0.467±0.139 c	0.485±0.146 def	0.478±0.15 ef	0.477±0.146 cd
EDTA+MTAD	0.198±0.003 abc	0.199±0.003 ab	0.202±0.003 ab	0.201±0.003 ab	0.199±0.003 a
EDTA+NaOCl	0.203±0.007 abc	0.316±0.174 b	0.523±0.285 ef	0.421±0.188 de	0.441±0.184 bc
EDTA+H_2O_2	0.228±0.144 bcd	0.533±0.15 c	0.634±0.062 f	0.658±0.067 f	0.652±0.124 d
EDTA+CHX	0.147±0.004 a	0.150±0.005 a	0.190±0.127 ab	0.189±0.122 ab	0.198±0.132 a
EDTA+ClO_2	0.198±0.008 abc	0.275±0.138 ab	0.344±0.229 abcde	0.289±0.151 abcd	0.295±0.170 abc
(-) Kontrol	0.166±0.015 abc	0.196±0.016 ab	0.189±0.013 ab	0.187±0.015 ab	0.194±0.026 a
(+) Kontrol	0.347±0.167 e	0.517±0.141 c	0.459±0.136 cdef	0.346±0.106 bcde	0.320±0.063 abc

OD: Optik Density (450 nm)
*Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0.05$).

4. TARTIŞMA

Kök kanal antiseptiklerinin antimikrobiyal etkinliklerinin değerlendirilmesinde yapılan işlemlere karşı en fazla direnç gösteren mikroorganizmalarla çalışılması o materyalle ilgili elde edilen verilerin diğer pek çok mikroorganizma içinde geçerli olması yönünden oldukça önemlidir. *E.faecalis'*in birçok antimikrobiyal ajana karşı yüksek seviyede direnç gösterdiği (Stuart ve ark. 2006) ve inatçı apikal periodontitis vakalarından izole edilen birkaç fakültatif bakteri arasında yer aldığı bilinmekte (Nair ve ark. 2005) ve eliminasyonu zor olduğu için bu mikroorganizmanın eşlik ettiği endodontik enfeksiyonların tedavilerinde genellikle problemler meydana gelmektedir (Siqueira ve ark. 1997a, Stuart ve ark. 2006). Bundan dolayı da kök kanal irrigasyonunda kullanılan antibakteriyel solüsyonlar ve kanal içi medikamentlerin antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi amacıyla yapılan çalışmaların pek çoğunda kök kanallarını deneysel olarak enfekte etmek üzere mikroorganizma olarak sıklıkla *E.faecalis* kullanılmaktadır (Eddy ve ark. 2005, Siqueira ve ark. 1997a, Kho ve Baumgartner 2006, Krause ve ark. 2007, Davis ve ark. 2007, Meire ve ark. 2009). Bu çalışmada da, elde edilen verilerin diğer çalışma sonuçlarıyla karşılaştırılmasını kolaylaştırmak amacıyla test mikroorganizması olarak *E.faecalis*'le çalışılması uygun bulunmuştur.

E.faecalis kullanılan *in vitro* çalışmalarda inokülasyon sürelerinin 24 saatten 1 aya kadar değiştiği görülmektedir (Behnen ve ark. 2001, Eddy ve ark. 2005, Oliveira ve ark. 2007, Kho ve Baumgartner 2006, Krause ve ark. 2007). Haapasalo ve Orstavik (1987) sığır dişlerinden hazırladıkları 4 mm'lik silindirik örnekler üzerinde yaptıkları *in vitro* bir çalışmada, smear tabakasını kaldırdıktan sonra hazırladıkları blokları üç hafta boyunca *E.faecalis*'le enfekte etmişlerdir. Araştırmacılar bu örneklerden aldıkları SEM görüntülerinde kanal lümeninden dentin kanallarının içerisine doğru 500 µm derinlikte bakterilerin mevcut olduğunu, hatta bazı dentin bloklarında bakteri penetrasyonunu 1000 µm'ye kadar ulaştığını rapor etmişlerdir. Bu araştırmacılar *E.faecalis*'in 24 saat içinde dentin kanallarına 300–400 µm kadar ulaşabildiğini ve daha fazla inkübe edilmiş olan dentin kanallarındaki bakteri penetrasyonu arasında fark olmadığını bildirmişlerdir. Bu sebeple de deneysel çalışmalarda daha kısa süreli inkübasyon sürelerinin kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Behnen ve ark. (2001) da yaptıkları *in vitro* bir çalışmada

hazırladıkları 5 mm yükseklikteki silindirik örnekleri 24 saat boyunca *E.faecalis* ile inkübe etmişler ve bu sürenin dentin tübüllerini enfekte etmek için yeterli olduğunu söylemişlerdir. Mevcut çalışmada da, bu çalışmalara benzer şekilde inkübasyon süresi 24 saat olarak belirlenmiştir.

Kök kanallarından mikroorganizmaların eliminasyonunda kullanılan antibakteriyel ajanların etkinliklerinin değerlendirildiği *in vitro* çalışmaların pek çoğunda insan veya hayvan diş modeli kullanılmış ve araştırmacılar kök kanallarını test mikroorganizması ile enfekte etmeden önce preparasyon sırasında oluşan smear tabakasını uzaklaştırarak, dentin kanallarının tamamen temizlenip ağızlarının açılmasını sağlamışlar ve smear tabakası kaldırılmasına gerekçe olarak ta dentin kanallarının açık olduğu dişlerde bakteri inokülasyonu sırasında pulpa yönünden dentin kanallarının içerisine doğru gelişen enfeksiyonda önemli ölçüde artış sağlanabilmesini göstermişlerdir (Safavi ve ark. 1985, Orstavik ve Haapasalo 1990, Behnen ve ark. 2001, Ferraz ve ark. 2001, Oliveira ve ark. 2007, Mercade ve ark. 2009). Smear tabakası kaldırmak için bazı araştırmacılar dişleri ultrasonik banyoda 4'er dakika boyunca önce %17 EDTA, daha sonra %5.25 NaOCl solüsyonunda bekletirken (Perez ve ark. 1993, Heling ve Chandler 1998, Behnen ve ark. 2001, Ferraz ve ark. 2001), bazıları da aynı solüsyonlarla ve irrigasyon iğneleri kullanarak kanal içi irrigasyon yapmak suretiyle smear tabakasını kaldırmışlardır (Estrela ve ark. 2007, Garcez ve ark. 2007, George ve Kishen 2008). Mevcut çalışmada dentin kanalları içerisine bakteri invazyonunu kolaylaştırmak amacıyla preparasyon esnasında oluşan smear tabaka, kökler 10'ar dakika süre ile önce %17 EDTA ve ardından %5.25 NaOCl solüsyonu içeren ultrasonik banyoda tutulmak suretiyle çıkarılmış, (Berber ve ark. 2006) ardından artık solüsyonların tamamen uzaklaştırılması amacıyla örnekler 10 dk süre ile tekrar distile su ile ultrasonik banyoya tabi tutulmuştur. Çalışmada kullanılan yöntemle kök kanalı dentin yüzeyindeki smear tabakasının tamamen uzaklaştırılıp uzaklaştırılmadığının kontrolü amacıyla işlemin uygulandığı 4 örnek SEM ile de kontrol edilmiştir (Resim 3.1 ve 3.2).

Çalışmada kök kanalları *E.faecalis* ile enfekte edilmeden önce, kullanılan köklerin dış yüzeyleri, dentin tübüllerini tıkamak ve oluşabilecek herhangi bir sızıntıyı önlemek amacıyla tırnak cilası ile kaplanmıştır. Haapasalo ve Orstavik

(1987), yaptıkları *in vitro* bir deneyde dentin tübüllerini kapatmak amacıyla uygulanan tırnak cilası içerisindeki çözücülerin de bir miktar antibakteriyel etkiye sahip olabileceğini belirtmiş fakat ayrıca yaptıkları kontrol deneyleriyle bu etkinin önemsiz olduğunu da bildirmişlerdir.

Kök kanal sisteminin etkili bir şekilde temizlenebilmesi için kullanılan irrigasyon solüsyonlarının basınçsız olarak periradiküler dokulara taşmadan kök kanallarının apikal üçlüsüne ulaşabilmeleri gerekir (Baker ve ark. 1975, Moorer ve Wesselink 1982). Bu amaç için, apikal üçlü bölgesine kadar uzanabilen özel endodontik iğne uçları tasarlanmış ve bu uçların klasik iğnelere kıyasla daha etkin temizleme yaptığı da pek çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Goldman ve ark. 1979, Abou-Rass ve Piccinino 1982, Sedgley ve ark. 2005a). Mevcut çalışmada endodontik iğne uçlarının irrigasyon solüsyonlarının antibakteriyel etkinliği üzerine etkisi göz önüne alınarak irrigasyon işlemlerinin tamamı, özel endodontik iğne uçları kullanılarak yapılmıştır.

Endodontik tedavi sırasında kullanılan çeşitli materyallerin antibakteriyel etkinliklerinin araştırılmasında insan ve/veya hayvan diş modeli, direkt kontakt test, agar diffüzyon testi gibi pek çok yöntemler kullanılmıştır (Tanrıverdi ve ark. 1997, Heling ve Chandler 1998, Çobankara ve ark. 2004, Eddy ve ark. 2005, Oliveira ve ark. 2007). Bunlardan en sıklıkla kullanılan yöntemlerden olan agar diffüzyon ve direkt kontakt test metotlarında mikroorganizma ile test edilecek antibakteriyel ajan direkt temastadır. Ancak *in vivo* şartlar altında aynı madde diş dokusuna uygulandığında dentinin tamponlayıcı etkisi, serum albümini gibi çeşitli organik dokular, dişin apikal bölgesine antibakteriyel ajanın zayıf müdahalesi, antibakteriyel ajanın daha küçük hacimlerde kullanılması gibi faktörler devreye girebileceği ve kök kanalı antiseptiklerinin etkisini inhibe edebileceği bildirilmiştir (Haapasalo ve ark. 2000, Portenier ve ark. 2006, Haapasalo ve ark. 2007). Bu nedenlere bağlı olarak da, endodontide genel olarak kullanılan NaOCl, CHX, iyodin potasyum iyodid (IKI), MTAD ve toz $Ca(OH)_2$ gibi dezenfekte edici ajanların kök kanalı içerisinde antimikrobiyal etkilerini hızlı bir şekilde kaybettikleri belirtilmiştir (Haapasalo ve ark. 2000, Portenier ve ark. 2001, 2002, 2006). Dolayısıyla bu test metotlarıyla yapılan çalışma sonuçlarının değerlendirmesinde bu dezavantajların göz önüne alınması faydalı olacaktır. Sassone ve ark. (2008) test düzenine bovine serum

albumin'i (BSA) ilave ederek, agar diffüzyon testi ile direkt kontakt test yöntemlerinin dezavantajını ortadan kaldırmaya çalışmış olmalarına rağmen, BSA'nın protein içeriğinin bakteri üremesini artırıcı etkisinin olabileceği de dikkate alınması gereken bir başka konudur. Sonuç itibariyle bu test yöntemlerinin *in vivo* şartları taklit edip etmediği tartışmalı bir konu olmaya devam etmektedir. Agar diffüzyon testi ile direkt kontakt test yöntemlerinin uygulama kolaylıkları, ucuz olmaları ve bu yöntemler kullanılarak elde edilen verilerin kantitatif olması gibi avantajlarına rağmen bu çalışmada yukarıda belirtilen dezavantajların yanı sıra özellikle kombine solüsyonların antibakteriyel etkinliğinin test edilmesinde kullanımlarının uygun olmaması nedenleriyle mevcut çalışmada bu iki yöntem tercih edilmemiştir.

Kök kanal antiseptiklerinin etkinliklerinin araştırılmasında kullanılan diğer bir yöntem ise insan veya hayvan diş modelleridir. Diş modeli kullanılırken kalmış mikroorganizma varlığının değerlendirilmesi için ise histolojik kesit yöntemi, radyoaktif olarak işaretlenmiş bakteri görüntüleme yöntemi, gerçek zamanlı optik biyofotonik görüntüleme ve luminometre ve mikrobiyolojik sayım gibi pek çok farklı metot kullanılmıştır (Rollison ve ark. 2002, Sedgley ve ark. 2004a, 2004b, Nair ve ark. 2005, Zapata ve ark. 2008).

Mevcut çalışmada kök kanalları irrige edildikten sonra kalan mikroorganizmaların canlılığı ve sayısı önem arz ettiğinden histolojik kesit yöntemi kullanılmamıştır. Çünkü histolojik kesit yönteminde canlı kalmış bakteri sayısı belirlenememektedir (Zapata ve ark. 2008). Radyoaktif olarak işaretlenmiş bakteri görüntüleme yönteminde ise antibakteriyel ajan ile muamele görmüş ve radyoaktif olarak işaretlenmiş *E.faecalis*'in canlılığını yitirdiğinde bile hala radyoaktivitesini devam ettirip ettirmediği veya *E.faecalis*'in özeliklerinde herhangi bir değişiklik olup olmadığı ile ilgili herhangi bir bilgi elde edilememektedir. Dolayısıyla bu yöntemin antibakteriyel ajanların etkinliğinin belirlenmesinde araştırmacıyı yanıltıcı sonuçlar vermesi ihtimali söz konusudur ve dolayısıyla bu araştırmada kullanılmak üzere bu yöntem de tercih edilmemiştir. Gerçek zamanlı optik biyofotonik görüntüleme ve luminometre yönteminde ise test mikroorganizması olarak sadece biyoluminesent özelliğine sahip *Pseudomonas fluorescens'*in kullanılıyor olması (Falk ve Sedgley 2005) nedeniyle mevcut araştırma için uygun bulunmamıştır.

İnsan veya hayvan diş modellerinde antibakteriyel ajanların etkinliği araştırılırken en çok kullanılan değerlendirme yöntemi çeşitli mikrobiyolojik tekniklerle kök kanallarından elde edilen örneklerdeki canlı kalmış mikroorganizmaların tayininin yapıldığı mikrobiyolojik sayım yöntemleridir. Mikrobiyolojik sayımlarda kök kanalından örnek alınması sırasında sıklıkla iki yöntem kullanılmaktadır. Bunlardan ilki enfekte dentin talaşının örnek olarak alınması, ikincisi ise steril kağıt konların kanal içerisine yerleştirilmesi ve belli bir süre kanalda bekletilen bu konların aseptik şartlarda besi yerine transfer edilmesidir (Siqueira ve ark. 1997a, Heling ve Chandler 1998, Eddy ve ark. 2005, Önçağ ve ark. 2003). Mevcut çalışmada kağıt kon ile bakteriyolojik örnekleme yöntemi kullanılmıştır. Dentin tübüllerinde veya lateral kanallardaki bakterilerin örneklemenin yapılacağı kağıt kona uzaklığı dolayısıyla bu metotla belirlenebilmesi zor olmasına rağmen yöntem, pek çok klinik ve laboratuvar deneyde kullanılmıştır (Siqueira ve ark. 1997a, Hancock ve ark. 2001, Önçağ ve ark. 2003, Ercan ve ark. 2004, Kho ve Baumgartner 2006, Estrela ve ark. 2007, Mercade ve ark. 2009). Kök kanal dolgusunun hermetik şekilde yapıldığı bir başka deyişle iyi yapılmış bir kök kanal dolgusuyla dentin tübülleri içerisine hapsedilen mikroorganizmaların başarısızlıkta ki rolü hala tartışmalı bir konu olmaya devam ettiği için, kök kanal boşluğundaki planktonik mikroorganizmaların tamamen elimine edilmiş olması daha öncelikli ve önemli bir konu gibi görünmektedir (Sundqvist ve Figdor 1998, Wu ve ark. 2006). Üstelik dentin talaşlarıyla yapılan mikrobiyolojik örnekleme yönteminde tüm kök kanal duvarları yüzeyinden ve tüm kök kanal duvarı yüzeyine eşit mesafeden örnek alınması her zaman mümkün olmayabileceği için uygulanması ve standardizasyonu zor bir yöntem gibi görünmektedir. Bu yöntemin, dentin talaşı alınması sırasında kullanılan döner aletlerin oluşturduğu ısı sonucu toplanan örneklerdeki bakteri sayısında azalma meydana getirme ihtimali ve çok küçük miktarlarda alınan örneklerde standardizasyon sağlamadaki zorluklar gibi ilave dezavantajları da olabilir.

Antibakteriyel ajan ile muamele edilmiş köklerden örnekler toplandıktan sonra canlı kalmış bakteriler; koloni sayımı, türbidimetrik metod, McFarland standart tüpleri ile tayin metodu ve froti sayımı gibi çeşitli mikrobiyolojik yöntemler ile tespit edilebilir (Arda 2000). Koloni sayım metodunda çok fazla örnek varlığında

kullanılan iş gücü miktarı fazladır ve çok fazla zaman almaktadır. Froti sayım metodunda lam üzerinde belirli bölgede bulunan bakteriler sayılıp alan hesabı yapılarak örnek alınan tüpteki bakteri sayısı tahmin edilmeye çalışılmaktadır. Bu metot uygulama açısından çok fazla zaman gerektirmekte olduğu için pratik olmayıp, standart sonuç elde edilmesi de oldukça güç olabilmektedir. McFarland standart tüpleri ile tayin metodunda ise insan gözü ile değerlendirme yapılmakta ve çok hassas bir ölçüm yolu olarak kabul edilmemektedir. Mevcut çalışmada kullanılan türbidimetrik metotta ise sabit dalga boyuna sahip bir ışık kaynağının kullanıldığı spektrofotometre cihazı ile diğer metotlara nazaran daha standart veriler elde edilebilmekte ve ayrıca uygulaması pratik olup, farklı zamanlarda ölçümlerin tekrarlanabilmesi de mümkün olabilmektedir. Ayrıca tek bir dişten alınan örnekten birden fazla sayıda kültür oluşturulup çok sayıda veri elde edilebilmekte; bu da yöntemin bilimsel olarak daha güvenilir olmasını sağlayarak, bakterilerin üreme süreçleri sayısal veriler ışığı altında rahatça belirlenebilmektedir. Zira bu yöntem dışındaki hiçbir yöntemde belirli zaman aralıklarında bakterilerin üreme süreçleri izlenememektedir. Koloni sayımı, Mc Farland yöntemi ve froti sayım metotlarının tümünde örnekler, ancak belirli bir süre inkübe edilmekte ve sonrasında tek bir sayım yapılmaktadır. Bu yöntemlerde inkübasyon sürecinde hangi zaman aralığında üremenin başladığı, devam edip etmediği ya da hangi dönemlerde durup-hızlandığı tespit edilememektedir. Bu araştırmada, antibakteriyel solüsyonlar ile irrige edilmiş enfekte kök kanallarından alınan örneklerdeki bakteri üremesinin normal bakteri üremesi ile kıyaslaması yapılmış ve inkübasyon sürecinde hangi zaman aralığında üremenin gerçekleştiği, yavaşladığı ve gerilediği net bir şekilde tespit edilmiş ve sonuç itibariyle de elde edilen bu verilerle, test edilen solüsyonlarının etkinlikleri hakkında daha fazla veri kazanılmıştır.

Literatürde kök kanal irrigasyon solüsyonları ve bu solüsyonların hangi konsantrasyon, pH ve hacimde daha etkin olduklarını araştıran pek çok çalışma bulunmaktadır (Yamada ve ark. 1983, Sterrett ve ark. 1993, O'Connell ve ark. 2000, Radcliffe ve ark. 2004, Eddy ve ark. 2005, Dunavant ve ark. 2006, Mercade ve ark. 2009). Gulabivala ve ark. (2005) kök kanal irrigasyonu amacıyla kullanılacak solüsyonun etkinliğinde; konsantrasyon, uygulama hacmi, uygulama süresi, uygulama sıcaklığı ve pH seviyesinin önemli olduğunu bildirmişlerdir. Mevcut araştırmada test edilen solüsyonların hepsi oda sıcaklığında ve aynı hacimde

kullanılmalarına rağmen solüsyonların konsantrasyonları birbirinden farklı olduğu için, çalışma öncesinde yapılan literatür incelemeleri sonrasında deneyde kullanılacak solüsyonların en etkin konsantrasyonları belirlenerek (Radcliffe ve ark. 2004, Eddy ve ark. 2005, Dunavant ve ark. 2006, Mercade ve ark. 2009), her bir irrigasyon solüsyonu için en etkin konsantrasyon kullanılmaya çalışılmıştır.

MTAD için üretici firmanın önerdiği uygulama rejimi her bir kanal için 5 ml'dir. MTAD üreticileri (Dentsply Tulsa Dental, Oklahoma, ABD), tek kanal için ilk 1 ml'lik solüsyon kanala gönderildikten sonra 15 no'lu el eğesi ile kanalda ileri geri hareket yapılmasını ve daha sonra bu 1 ml'lik solüsyonun kanalda 5 dk boyunca kalması gerektiğini belirtmiş ve kalan 4 ml hacmindeki MTAD ile kanalın tekrar irrige edilmesini ve daha sonra kurulanarak başka hiçbir solüsyon kullanılmaksızın kanal tedavisinin bitirilmesini önermişlerdir. Bu çalışmada standart irrigasyon uygulaması, tüm kanallar 5 ml solüsyon ile toplam 5 dk boyunca irrige edilecek şekilde belirlenmiştir. Dolayısıyla her deney grubu için kullanılan irrigasyon solüsyonu toplam hacminin 5 ml olmasına özellikle dikkat edilmiş, buna bağlı olarak, kombine kullanımlarda da her bir solüsyon toplam hacim yine 5 ml olacak şekilde 2.5 ml + 2.5 ml şeklinde kullanılmıştır. İrrigasyonda kullanılan solüsyon kombinasyonlarının toplam hacim ve uygulama sürelerinin sabit tutulmasının sebebi, daha önce pek çok araştırmacının da belirttiği gibi, irrigasyonun hacminin ve uygulama süresinin artmasıyla antibakteriyel etkinliğinde de artma meydana gelmesinin söz konusu olabilmesidir (Kahn ve ark. 1995, Siqueira ve ark. 2000, Sedgley ve ark. 2005a, Gulabivala ve ark. 2005, Oliveira ve ark. 2007). Dolayısıyla üretici firma tarafından MTAD'nin önerilen uygulama süresi veya önerilen hacimde uygulanmadığında etkinliğinin azalacağı belirtmiş olsa da deney koşullarında bu solüsyonun diğer solüsyonlarla kıyaslanabilmesini sağlamak amacıyla MTAD de, deneyde kullanılan diğer solüsyonlarla aynı hacim ve sürelerde kullanılmıştır.

Bu araştırmada irrigasyon solüsyonlarının kombine uygulanmalarında, ilk ve son irrigasyon solüsyonu kullanılması sıralamasında önceden pek çok yazar tarafından önerilen sıra dikkate alınmıştır (Yamada ve ark. 1983, Siqueira ve ark. 1997b, Zehnder 2006). Örneğin inorganik doku çözücü özelliği bulunmayan ve sert dokulara şelasyon özelliği bulunan CHX kombinasyonları gruplarında (CHX+H_2O_2,

CHX+SC, CHX+EDTA, CHX+NaOCl, CHX+ClO_2, CHX+MTAD), son irrigasyon solüsyonu olarak CHX kullanılmıştır.

Mevcut çalışmada NaOCl+ClO_2 kombinasyonu her iki maddenin kimyasal olarak birbirine benzer özellikler göstermesi nedeniyle bir irrigasyon rejimi olarak değerlendirilmemiştir. Bir başka deyişle bu araştırmada, farklı özelliklere sahip irrigantların kombine kullanımlarında tek başlarına kullanımlarındakinden farklı bir etkinlik gösterip göstermediği araştırıldığından, birbirine çok benzer olan iki solüsyon kombinasyonunun antibakteriyel etkinlik değerlendirilmesi yapılmamıştır.

CHX'in *E.faecalis*'e karşı antibakteriyel özellik gösterdiği pek çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Jeansonne ve White 1994, Önçağ ve ark. 2003, Vianna ve ark. 2004, Sassone ve ark. 2008, Vianna ve Gomes 2009). Bu çalışmada, CHX ve CHX kombinasyonlarının kullanıldığı deney gruplarında NaOCl ile kombine kullanıldığı grup (CHX+NaOCl) haricindeki diğer gruplarda (CHX+H_2O_2, CHX+SC, CHX+EDTA, CHX+ClO_2 ve CHX+MTAD) deney süresi boyunca oluşan bakteri üreme eğrisi göz önüne alındığında OD değerlerinde herhangi bir artış olmadığı ancak CHX+NaOCl kombinasyonunda artış meydana geldiği tespit edildi. Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda ise NaOCl+CHX grubu da dahil olmak üzere tüm gruplarda, irrigasyon yapılan örneklerin zamana bağlı OD değişimlerinin negatif kontrol grubuna istatistiksel olarak anlamlı şekilde benzerlik gösterdiği belirlendi ($p>0.05$). Sonuç itibariyle her ne kadar istatistiksel olarak fark bulunmasa da CHX+NaOCl'in hem CHX hem de CHX kombinasyonlarına oranla daha az antibakteriyel etkili olduğu söylenebilir. Vianna ve Gomes (2009) yaptıkları *in vitro* bir araştırmada %2 CHX'in jel ve likit formu ile NaOCl'in farklı konsantrasyonlarının kombinasyonlarının antibakteriyel etkinliklerini agar diffüzyon testi ve direkt kontak test yöntemlerini kullanarak değerlendirmiş ve denenen tüm kombinasyonların antibakteriyel etkinliğinin CHX'in tek olarak kullanımındaki antibakteriyel etkinliğinden daha başarılı olmadığını belirtmişlerdir. Mevcut çalışma sonuçları da bu bulguyu destekler niteliktedir. Ancak Kuruvilla ve Kamath (1998) yaptıkları *in vivo* çalışma sonrasında NaOCl (%2.5) ile CHX (%0.2)'in birbiri ardı sıra kullanılması durumunda kök kanal mikrobiyal florasındaki bakterilerde %84.6 azalma tespit ederken, sadece NaOCl ile %59.4 ve sadece CHX ile %70 azalma tespit etmişlerdir. Kuruvilla ve Kamath'ın elde ettiği ve mevcut çalışma sonucundan

farklı olan bu sonuç, araştırıcıların *in vivo* olarak ve tek bir bakteri değil devital periapikal radyolusensili kök kanal mikrobiyal florasında çalışmış olmalarından kaynaklanabilir.

İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte; CHX+NaOCl'in hem CHX hem de CHX kombinasyonlarına oranla daha az antibakteriyel etkili olmasının nedeni, bu irrigasyon solüsyonlarının bir arada kullanılmasıyla oluşan bulanıklaşma bir başka deyişle de CHX ve NaOCl birbirine karıştığında meydana gelen ve parakloroanilin (PKA) de içeren turuncu renkli bir tortu açığa çıkması olabilir (Basrani ve ark. 2007). İki solüsyonun kombine kullanılmasıyla oluşan kimyasal etkileşim sonucunda meydana gelen bu turuncu renkli tortu tabakası dentin tübüllerini tıkamak suretiyle dolgunun kanal duvarı dentiniyle bağlantısında olumsuz etki yaratabileceği gibi içeriğindeki PKA'da karsinojenik bir maddedir (Bui ve ark. 2008). Bu solüsyonlar bir arada kullanıldığında birbiri ile etkileşimlerinin önlenmesi için NaOCl ile irrige edilen kök kanallarının CHX ile irrigasyonundan önce FTS veya alkol ile irrige edilmesi, kanalda kalmış NaOCl'in iğne ile aspire edilmesi veya kağıt konlar ile kurulanması önerilmiştir (Zehnder 2006, Bui ve ark. 2008). Ancak mevcut çalışmada, deney esnasında bu iki solüsyonun etkileşimini önlemek için yukarıda bahsedilen ve yapılması önerilen işlemler, deney prosedüründe farklılık meydana getirebileceği düşüncesiyle kullanılmamıştır.

CHX+NaOCl kombinasyonunun uygulandığı örneklerin bakteri üreme eğrisinde OD değerlerindeki artışta belirtilmesi gereken bir diğer önemli konu da, ilk 12 saatte herhangi bir artış meydana gelmezken, artışın 12. saatten sonra meydana gelmesidir. Bu durum, örnek alınırken kök kanalında oluşan tortu ve/veya PKA'nin *E.faecalis* için toksik etkili olma ihtimali ve 12. saatin sonunda bu etkilerin azalmasından kaynaklanmış olabilir.

Mevcut çalışmada CHX+H_2O_2 kombinasyonu ile irrige edilen örneklerin OD değerlerinde zamanla herhangi bir artışın meydana gelmediği ve negatif kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$). CHX ile H_2O_2'in bir arada kullanılmasının sinerjik etki meydana getirdiğini ve bu iki solüsyonun bir arada kullanılmasının *E.faecalis*'e karşı hem CHX hem de H_2O_2'in tek başına kullanımından daha etkili olduğunu belirten Heling ve Chandler (1998) ile

Steinberg ve ark. (1999)'nın aksine bizim çalışmamızda tek başına CHX irrigasyonu ile CHX+H_2O_2 kombinasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Ancak mevcut çalışmada bu araştırıcılara benzer olarak tek başına H_2O_2 kullanımının CHX+H_2O_2 kombinasyonundan daha düşük etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Araştırma sonuçları arasındaki farklılığın nedenlerinden birisi uygulama ve değerlendirme yöntemleri arasındaki farklılık olabileceği gibi bir diğer neden de kullanılan solüsyonlardaki konsantrasyon farklılıkları olabilir.

Bu çalışma bulgularına göre CHX+EDTA ile irrige edilen örneklerin OD değerlerinde zamanla herhangi bir artışın meydana gelmediği görüldüğünden ($p>0.05$) (Çizelge 3.1), bu kombinasyonun *E.faecalis*'e karşı antibakteriyel etkinlik gösterme potansiyeli olduğu söylenebilir. Literatürde CHX ve EDTA'nın kombine kullanımlarının antibakteriyel etkinliği hakkında yeterli bilgi bulunmamakla birlikte Gonzalez-Lopez ve ark. (2006) bu solüsyonların bir arada kullanılması durumunda pembe renkli bir tortu oluştuğunu gözlemlerken, Rasimick ve ark. (2008) bu iki materyal birbirine karıştığında beyaz renkli bir tuz oluştuğunu bildirmişlerdir. Mevcut çalışma sonuçlarına göre, CHX+EDTA kombinasyonunun *E.faecalis*'e karşı antibakteriyel özellik göstermiş olması dolayısıyla, bu iki materyalin oluşturduğu beyaz ve/veya pembe tuz/tortu formunun CHX'in antibakteriyel etkinliğini negatif yönde etkilemediği söylenebilir.

Eldeki çalışma sonuçları CHX+SC ile irrige edilen örneklerin OD değerlerinde zamanla herhangi bir artışın meydana gelmediğini ve negatif kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı göstermektedir ($p>0.05$) (Grafik 3.5). Literatürde CHX ile SC'in kombine kullanımlarının antibakteriyel etkinliğini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. SC'in antibakteriyel özellik gösterdiği önceden bildirilmiştir (Dunavant ve ark. 2006). Çalışma sonuçlarına dayanarak, CHX ile SC bir arada kullanıldıklarında herhangi bir sinerjik veya additive etki yarattıkları söylenemese de en azından birbirinin antibakteriyel etkisini azaltmadıkları ve iki solüsyon kombinasyonunun *E.faecalis*'in eliminasyonunda etkili olduğu söylenebilir.

Bu çalışmada CHX+ClO_2 ile irrige edilen örneklerin OD değerlerinde zamanla herhangi bir artışın meydana gelmediği ve negatif kontrol grubu ile arasında

istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$) (Grafik 3.5). Şimdiye kadar CHX+ClO_2 kombinasyonunun *E.faecalis*'e karşı antibakteriyel etkinlik gösterip göstermediği konusunda bir araştırma yapılmamıştır. Mevcut Çalışmada elde edilen sonuca göre, CHX+ClO_2 kombinasyonunun *E.faecalis* eliminasyonunda etkili olduğu, bu iki maddenin birbirini negatif yönde etkilemediği ve her iki ajanın kombine kullanıldıklarında da antibakteriyel etkinliklerini korudukları söylenebilir.

MTAD'nin *E.faecalis*'e karşı antibakteriyel etkisinin bulunduğu pek çok araştırmada bildirilmiş olmasına rağmen (Torabinejad ve Shabahang 2003, Ruff ve ark. 2006, Tay ve ark. 2006b) literatürde şimdiye kadar CHX+MTAD kombinasyonunun antibakteriyel özelliğini tek başına MTAD ile karşılaştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Mevcut çalışma sonuçlarına göre CHX+MTAD ile irrige edilen örneklerin OD değerlerinde zamanla herhangi bir artışın meydana gelmediği ve MTAD'nin tek başına kullanıldığı grupla benzer antibakteriyel etki gösterdiği tespit edilmiştir ($p>0.05$) (Grafik 3.8). Sonuç itibariyle bu iki solüsyon kombinasyonunun da *E.faecalis* eliminasyonunda etkili olduğunu bir başka deyişle en azından bu kombinasyonun her iki solüsyon için antibakteriyel özellikte olumsuz yönde herhangi bir değişime neden olmadığını söylemek mümkündür. Bu önemli özelliğin bilinmesi, sadece *E.feacalis* için değil, endodontik enfeksiyon nedeni olan diğer bakteri türlerinin eliminasyonu için ileri araştırmalara konu olması bakımından öncülük edebilir.

NaOCl'in %5.25'lik konsantrasyonunun *E.faecalis*'e karşı güçlü antibakteriyel etkisi pek çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Siqueira ve ark. 2000, Gomes ve ark. 2001, Buck ve ark. 2001, Radcliffe ve ark. 2004). Mevcut çalışmada, NaOCl ile irrige edilen örneklerde OD değerlerinin negatif kontrol grubuyla anlamlı şekilde benzer olduğu ($p>0.05$) (Grafik 3.6) ve sonuç itibariyle NaOCl'in *E.faecalis*'e karşı antibakteriyel özellik gösterdiği belirlenmiştir. Dolayısıyla bu araştırma sonuçları diğer araştırmacıların bulgularını destekler niteliktedir.

Çalışmada; H_2O_2+NaOCl grubunda 12.saatten sonraki OD değerinde artış gözlenmiş ve bu artışın negatif kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı

derecede farklı olduğu bulunmuştur ($p<0.05$) (Grafik 3.6). Bu iki solüsyonun kombine kullanımı köpürme etkisinden faydalanarak organik ve inorganik debrislerin kök kanalından dışarı çıkarılmasını kolaylaştırmak, dezenfekte ve beyazlatma etkilerinden faydalanmak için önerilmiştir (Grossman ve ark. 1943). Ancak yukarıda da belirtildiği şekilde, yaptığımız deney bulgularına göre, bu iki solüsyonun kombine kullanımının antibakteriyel etkinlik açısından NaOCl'nin tek başına kullanımına oranla daha etkisiz olduğu tespit edilmiştir. İrrigantın hacmi arttıkça etkinliğinin de arttığı bilindiğinden (Boutsioukis ve ark. 2007) bunun nedeni, NaOCl'in kombine kullanımındaki hacminin tek başına kullanımındakinden daha az olması olabilir. H_2O_2'in tek başına kullanımındaki antibakteriyel etkinliği mevcut çalışmada yetersiz bulunmuş ve bu iki solüsyonun (H_2O_2+NaOCl) kombine kullanılmasının birbirlerinin antibakteriyel özelliklerine olumlu yönde herhangi bir katkı sağlamadığı izlenmiştir. NaOCl ve H_2O_2 bir arada kullanıldıklarında oksijen açığa çıkarak köpürme etkisi yapmaktadır. Bu tepkimede açığa çıkan oksijen ile NaOCl'in antibakteriyel etkisini göstermesini sağlayan hidroksil radikallerinin miktarında azalma meydana getirdiği görülmektedir ($NaOCl + H_2O_2 \rightarrow NaCl + H_2O + O_2$). Dolayısıyla bu kombinasyonun antibakteriyel etkinliğinin zayıf olmasının bir başka sebebi ise, iki solüsyonun tepkimeye girmesiyle antibakteriyel etkiyi sağlayan hidroksil radikallerindeki bu azalma olabilir (Shiozawa 2000). Harrison ve Hand (1981)'da eşit miktarda kullanılan NaOCl ve H_2O_2'in birbirlerinin antibakteriyel etkinliklerini azalttıklarını bildirmişlerdir. Dolayısıyla mevcut çalışma, bu yazarların bulgularını destekler niteliktedir.

Çalışma sonuçlarına göre EDTA+NaOCl ve SC+NaOCl ile irrige edilen gruplarda 6.saatten sonraki ölçümlerinde OD değerlerinde zamana bağlı artış gözlenmiştir (Grafik 3.6). Negatif kontrol grubu ile kıyaslandığında, EDTA+NaOCl ile irrige edilen gruptaki artışın SC+NaOCl ile irrige edilen gruptaki artışa göre daha fazla olduğu da belirlenmiştir (Çizelge 3.8). Byström ve Sundqvist 1985 yılında yaptıkları çalışmalarında %5 NaOCl ile %15 EDTA solüsyonlarının ardarda olacak şekilde kombine kullanılmalarının antibakteriyel etkinlik yönünden NaOCl'in tek başına kullanımından daha etkili olduğunu belirtmişlerdir. Klinik olarak enfekte kök kanallarından irrigasyon öncesi ve sonrası alınan örneklerle yapılmış olan bu çalışmalarında elde ettikleri sonucu solüsyonların birarada kullanılmasıyla kaldırılmış olan smear tabaka eliminasyonuna bağlamışlardır. Aksine bazı

araştırıcılar da EDTA'nın NaOCl ile karıştırılmasıyla oluşan solüsyonda, aktif klorin miktarındaki azalmaya bağlı olarak NaOCl'in antibakteriyel etkisinde azalma meydana geldiğini rapor etmişlerdir (Baumgartner ve Ilbay 1987, Grawehr ve ark. 2003). Mevcut çalışma sonucunda elde edilen ve EDTA+NaOCl ve SC+NaOCl ile irrige edilen grupların zamana bağlı OD değişim grafiklerinde izlenen artışın sebebi olarak yukarıda belirtildiği gibi EDTA ile NaOCl'in bir arada kullanımları sonucunda antibakteriyel etkiyi sağlayan aktif klorin miktarındaki azalma gösterilebilir. EDTA ile NaOCl kombinasyonunda bakteri üremesinin negatif kontrol grubuna göre fazla olmasının bir başka nedeni ise, EDTA'nın inorganik doku çözücü özelliği sebebi ile dentin tübüllerinin inorganik yapısını çözüp tübül içerisine penetre olmuş bakterilerin yüzeye çıkmasına neden olması ve bu sayede tübül içerisinde canlılığını devam ettirmeyi başarmış bakterilerin besi yerine transfer edilmesiyle tekrar üremelerinin sağlanmış olması olabilir.

Çalışma bulgularına göre NaOCl+MTAD ile irrige edilen örneklerin OD değerlerinin sabit kaldığı ve negatif kontrol grubu değerleri ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi ($p>0.05$) (Grafik 3.6). NaOCl ile MTAD kombinasyonunun *E.faecalis* eliminasyonunda başarılı olduğu önceden rapor edilmiştir (Torabinejad ve ark. 2003b). Ayrıca Tay ve ark. (2006b) NaOCl ile MTAD karıştığında kahverengi bir sıvı meydana geldiğini bildirmişler ve yine aynı araştırmacılar 2006 yılında yayınladıkları bir makalede bu iki solüsyonun bir arada kullanılmasının MTAD'nin dentine substantivitesini azalttığını belirtmişlerdir (Tay ve ark. 2006a). Bu nedenlerle de iki solüsyonun kombine kullanımlarında arada FTS ile kanalların irrige edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Mevcut çalışma bulgularına göre bu iki solüsyon kombine kullanıldıklarında antibakteriyel aktivitelerinde herhangi bir azalma belirlenememiş ve dolayısıyla elde edilen bulgular Torabinejad ve ark. (2003b)'nın çalışma bulgularını desteklemiştir.

ClO_2 kuvvetli bir oksitleyici ajandır ve antibakteriyel etkinliğini bu yolla gerçekleştirir (EPA 2002c). ClO_2'in NaOCl ile benzer özellikler gösterdiği ve bu ajanın *E.faecalis*'e karşı antibakteriyel özelliğinin bulunduğu önceden rapor edilmiştir (Eddy ve ark. 2005). Bu çalışmada da ClO_2 hem tek başına kullanımda hem de çalışmada kullanılan diğer irrigasyon solüsyonlarıyla kombine kullanımlarında *E.feacalis'*e karşı NaOCl ve onun diğer solüsyonlarla kombine

kullanımlarına benzer şekilde hatta SC+ClO_2, EDTA+ClO_2, H_2O_2+ClO_2, ClO_2+CHX kombinasyonlarında NaOCl'le olan kombinasyonlara oranla göreceli olarak daha fazla antibakteriyel özellik gösterdiği izlenmiştir (Grafik 3.7). Sonuç itibariyle bu çalışma sonuçları Eddy ve ark. (2005)'nın sonuçlarını destekler niteliktedir.

Mevcut çalışma bulgularına göre ClO_2+EDTA irrige edilen grubun OD değerlerinde bir miktar artış meydana geldiği ancak istatistiksel olarak negatif kontrol grubu ile benzer olduğu görüldü ($p>0.05$) (Grafik 3.7). ClO_2+EDTA kombinasyonuyla irrige edilen örneklerin OD değerlerindeki bu artışın sebebi EDTA'nın ClO_2'in antibakteriyel etkisini zayıflatması olabilir. Literatürde ClO_2 ile EDTA'nın kombine kullanımının antibakteriyel etkinliğini inceleyen bir araştırma mevcut değildir. Fakat ClO_2'in NaOCl ile benzer özellikler göstermesi nedeni ile OD değerinde meydana gelen artış, tıpkı EDTA+NaOCl kombine kullanımında meydana gelen artış ile benzer nedenlerden kaynaklanmış olabilir. Bu konu ile ilgili literatürde yeterli bilgi mevcut olmadığından EDTA ile ClO_2'nin etkileşimlerini araştıran başka çalışmalara ihtiyaç vardır. ClO_2+EDTA kombinasyonuyla ile irrige edilen örneklerin OD değerinde meydana gelen artış istatistiksel olarak anlamlı değilken ($p>0.05$), NaOCl+EDTA kombinasyonuyla irrige edilen örneklerin OD değerindeki artışın istatistiksel olarak anlamlı olması ($p<0.05$), EDTA'nın olumsuz etkisinin ClO_2 üzerinde NaOCl'e oranla daha düşük olması olabilir.

Çalışma bulgularına göre ClO_2+SC ile irrige edilen grubun OD değerlerinde bir miktar artışın meydana geldiği ancak bu artışın tüm zamanlarda negatif kontrol grubu ile benzer olduğu görülmektedir ($p>0.05$) (Grafik 3.7). Ayrıca, ClO_2+SC kombinasyonu ile irrige edilen örneklerin OD değerinde meydana gelen bu artışın ClO_2+EDTA kombinasyonunkinden daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Grafik 3.7). Bu durum, SC içerisinde bulunan yüzey aktif maddenin (setrimit) de antibakteriyel özelliklerinin bulunmasıyla açıklanabilir (Dunavant ve ark. 2006). Yine de literatürde ClO_2+SC kombinasyonunun antibakteriyel etkinliğini araştıran bir çalışma bulunmaması dolayısıyla bu artışın sebeplerini daha iyi açıklayabilmek için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Mevcut çalışmaya göre SC+ClO_2 ve SC+NaOCl ile irrige edilen grupların 6. saatten sonraki ölçümlerinde OD değerlerinde sürekli bir artış izlenmekte (Grafik

3.9) olup, SC+ClO_2 ile irrige edilen grup istatistiksel olarak negatif kontrol grubu ile benzerken ($p>0.05$) (Grafik 3.9), SC+NaOCl ile irrige edilen grupta 30., 36., ve 48. saatlerdeki ölçümler negatif kontrol grubundan istatistiksel olarak önemli ölçüde farklıydı ($p<0.05$) (Grafik 3.9). Dolayısıyla SC+ClO_2 kombinasyonunun SC+NaOCl kombinasyonundan daha iyi antibakteriyel özellik gösterdiği söylenebilir. Bunun nedenleri, SC'in ihtiva ettiği %17'lik EDTA'nın ClO_2 üzerine NaOCl'den daha az inhibisyon etkisi göstermiş olması ve/veya SC'in ihtiva ettiği antibakteriyel özellikte olduğu düşünülen iki adet yüzey aktif maddenin etkisi olabilir.

Çalışma bulgularına göre ClO_2+CHX ile irrige edilen grupta OD değerlerinde herhangi bir değişim gözlenmedi ve negatif kontrol grubu ile istatistiksel olarak benzer bulundu ($p>0.05$) (Grafik 3.7). ClO_2+CHX kombinasyonu ile irrige edilen örneklerin OD değerlerinin sabit kalması bu iki solüsyon kombinasyonunun *E.faecalis*'e karşı etkin bir antibakteriyel özelliğinin olduğunu göstermektedir. ClO_2, NaOCl ile benzer özellikler gösteren bir madde olmasına rağmen NaOCl+CHX kombinasyonunda istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen OD değerinde bakteri üreme eğrisinde izlenen artışın, CHX+ClO_2 ile izlenmemiş olmasının nedeni; ClO_2'in CHX ile NaOCl'le oluşturduğu reaksiyonlara oranla daha düşük reaksiyonlar göstermesi olabilir.

Çalışma bulgularına göre MTAD'nin hiçbir kombinasyonun OD değerinde zamana bağlı bir değişim izlenmedi. ($p>0.05$) (Grafik 3.8). MTAD'nin ve tüm kombinasyonlarının OD değerlerinde zamana bağlı herhangi bir artış gözlenmemesi, bu solüsyon ve kombinasyonlarının *E.faecalis*'in eliminasyonunda etkili olduğunu düşündürmektedir. Bu sonuç, önceki çalışmalarda belirtildiği şekilde (Torabinejad ve Shabahang 2003, Shabahang ve ark. 2003, Shabahang ve Torabinejad 2003), MTAD'nin *E.faecalis* eliminasyonunda etkili bir solüsyon olduğunu desteklemektedir.

Dunavant ve ark. (2006) yaptıkları *in vitro* bir araştırmada SC'in *E.faecalis*'e karşı antibakteriyel özellik gösterdiğini belirtmişlerdir. Eldeki çalışma sonucuna göre SC ile irrige edilen grupta OD değerlerinde zamana bağlı herhangi bir değişim izlenmediği ve negatif kontrol grubuyla istatistiksel olarak benzer oldukları görüldü ($p>0.05$) (Grafik 3.9). SC'in tek irrigasyon solüsyonu olarak kullanıldığı grubun OD

değerinde zamana bağlı bir artma izlenmemesi bu solüsyonun antibakteriyel özellikte olduğunu göstermekte ve Dunavant ve ark. (2006)'nın sonucunu desteklemektedir. Ancak burada elde edilen sonucun SC'in sadece *E.faecalis* üzerine olan antibakteriyel etkisini gösterdiğini ve kök kanal mikroflorasında bulunan diğer mikroorganizmalar üzerindeki etkisi hakkında ileri çalışmalara ihtiyaç olduğunu belirtmekte fayda vardır.

Tek başına SC ve tek başına EDTA ile irrige edilen kök kanallarından alınan örneklerin ilk ölçülen OD değerleri (0. saat verileri) diğer tek irrigasyon solüsyonu kullanılarak irrige edilen gruplar ile kıyaslandığında daha yüksek bulunmuştur (Grafik 3.3). Bu durum SC ve EDTA'nın kök kanal dentinindeki Ca^{++} iyonları ile oluşturdukları şelat tuzlarının besiyerine transfer edilmiş olma ihtimaliyle açıklanabilir.

SC, %17'lik EDTA ve iki adet yüzey aktif madde içerdiğinden bu çalışmada SC ile EDTA kombinasyonunun antibakteriyel etkisi test edilmedi.

H_2O_2 ile irrige edilen örneklerin OD değerleri pozitif kontrol grubu ile ilk 6 saatlik dönem dışında istatistiksel olarak benzerdi ($p>0.05$). İlk 6 saatlik dönemde OD değerindeki artışın pozitif kontrol grubuna göre az olması H_2O_2'in antibakteriyel özelliğinin sınırlı olmasından kaynaklanabilir. H_2O_2'in bakteri, mantar, virüs ve sporlar gibi çok çeşitli mikroorganizmaya etki edebilen aktif bir madde olduğu bilinmekle birlikte (Block 1991) bu araştırma sonuçlarına göre H_2O_2, *E.faecalis*'e karşı etkin bir antibakteriyel etki gösterememektedir. Ercan (2004); %5 NaOCl, %2 CHX, $Ca(OH)_2$+distile su ve %3 H_2O_2 solüsyonlarının kök kanallarındaki antibakteriyel etkinliklerini *in vivo* şartlarda değerlendirmiş ve NaOCl ile CHX solüsyonlarını $Ca(OH)_2$+distile su ve H_2O_2 ile irrige edilen gruplardan istatistiksel olarak anlamlı ölçüde etkili bulmuştur. Mevcut çalışma sonuçları da bu bulguları destekler niteliktedir.

Mevcut çalışmada EDTA+H_2O_2 ile irrige edilen kök kanallarından alınan örneklerin OD değerlerinde zamana bağlı artış gözlenmiştir (Grafik 3.10). EDTA+H_2O_2 ile irrige edilen örneklerin OD değerinde ilk 18 saatlik dönemdeki artış, pozitif kontrol grubu ile istatistiksel olarak benzer olmasına rağmen ($p>0.05$), 30.

saatten sonra pozitif kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulundu ($p<0.05$). Sonuç itibariyle bu kombinasyon grubunda izlenen artışın sebebi, bu solüsyonların bir araya gelmesiyle oluşan ortamın *E.faecalis* için uygun bir ortam haline gelmiş olması olabilir. Ancak bu sonucun doğrulanması ve daha ayrıntılı şekilde açıklanabilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Araştırmada elde edilen önemli sonuçlar ve araştırma koşulları ve limitasyonları göz önünde bulundurularak bu sonuçlara ilgili yapılan öneriler aşağıda yer almaktadır:

1. Mevcut araştırmada irirgasyon solüsyon ve solüsyon kombinasyonlarının antibakteriyel özelliklerinin belirlenmesinde insan diş modeli kullanılmıştır. Bu şekilde yapılan *in vitro* araştırmalar klinik şartları tam olarak yansıtamamakla birlikte in *vivo* şartlarda; deney prosedüründe kontaminasyon riski ve zamanlama ile ilgili yaşanabilecek zorluklar, hastalardaki kök kanal mikroflorasının kompleks yapısı ve bunun standardize edilmesindeki zorluklar, kullanılacak irrigasyon solüsyonunun hacim, süre ve uygulama açısından standardizasyonunun zorluğu gibi pek çok faktörün deneysel koşullardaki gibi standart hale getirilmesi oldukça büyük problemdir. Bu tarz *in vitro* çalışmalar standardizasyon sağlanmasındaki kolaylıklar yanı sıra elde edilen sonuçların, *in vivo* çalışmalara öncülük etmesi açısından da oldukça önemli bir yere sahiptir. Örneğin; antibakteriyel özelliği hiç bilinmeyen veya diğer solüsyonlarla kombine kullanımı hakkında herhangi bir bilgi bulunmayan irrigasyon solüsyonunun direkt insan ve/veya hayvanlar üzerinde uygulanması etik açıdan da doğru değildir. Dolayısıyla bu deneyde *in vitro* insan diş modeli kullanılarak elde edilen sonuçlar ve bu sonuçlara dayanarak elde edilen ön bilgiler, klinisyenlere bu materyaller ve bunların bir arada kullanımlarından elde edilecek olumlu veya olumsuz sonuçlar hakkında bilgi vermesi açısından faydalı olabilir.

2. Bu araştırma sonucunda H_2O_2 solüsyonunun hem tek başına hem de NaOCl ve EDTA ile bir arada kullanımlarında araştırmada kullanılan diğer tüm solüsyonlarla (MTAD, ClO_2, CHX ve SC) kombinasyonları göz önüne alındığında *E.faecalis* eliminasyonunda anlamlı bir etki sağlayamadığı sonucuna varıldığından, bu solüsyonun özellikle *E.faecalis*'in eşlik ettiği inatçı endodontik vakalarda tek başına yada NaOCl veya EDTA ile değil; MTAD, ClO_2, CHX ve SC'le kombine şekilde kullanılmasının daha doğru bir tercih olacağı söylenebilir.

3. Kök kanallarından *E.faecalis* eliminasyonunda EDTA solüsyonu hem tek başına kullanıldığında hem de H_2O_2 ile kombinasyonunda başarısız bulunmuş ve

hatta sınırlı araştırma süresi içerisince bu mikroorganizmanın üremesi üzerinde pozitif katkı sağladığı da gözlenmiştir. Diğer solüsyonlarla kombinasyonları içinde en fazla antibakteriyel etki CHX ve MTAD kombinasyonlarında elde edilmiştir. Bu sonuçlara dayanarak; EDTA'nın antibakteriyel etki elde etmek için uygun bir solüsyon olmadığı ancak CHX ve MTAD ile kombinasyonlarında en azından olumsuz yönde bir etkisi bulunmadığı ve ayrıca EDTA ile H_2O_2 solüsyonlarının bir arada kullanılmasının, bakteri üremesine uygun bir ortam sağlayabilme potansiyeli gösterebileceği için, sakıncalı olacağı söylenebilir.

4. SC, %17 EDTA ve yüzey aktif madde içeren bir şelasyon ajanı olarak piyasaya sunulmuş yeni sayılabilecek bir üründür. Araştırma bulgularına göre tek başına kullanılan EDTA solüsyonunun antibakteriyel etkisinin olmadığı sonucuna varılmasına rağmen SC'in *E.faecalis* üzerinde antibakteriyel etkinlik gösterdiği belirlenmiştir. Çalışma koşulları göz önünde bulundurularak, enfekte kök kanallarının tedavisinde hem bir şelasyon ajanı hem de antibakteriyel etki gösterebilen bir irrigant olarak EDTA yerine SC kullanımı önerilebilir. SC'in NaOCl dışında çalışmada kullanılan diğer solüsyonlarla kombinasyonlarında antibakteriyel etki sağlandığı gözlenmesine veya en azından istatistiksel olarak anlamlı olabilecek olumsuz bir sonuç elde edilmemesine rağmen NaOCl ile kombinasyonunda *E.faecalis*'e karşı herhangi bir antibakteriyel etki elde edilemediği ve hatta bu kombinasyonun mikroorganizma üremesi üzerine olumlu etkisi olduğu gözlenmiştir. NaOCl'in, EDTA yerine SC ile birlikte kullanılsa dahi yeterli antibakteriyel etki oluşturamamaları dolayısıyla bu solüsyonlar smear tabakayı çıkarmak için kullanıldıktan sonra kök kanalında yeterli antibakteriyel etki sağlamak için bir başka irrigasyon solüsyon ve/veya solüsyon kombinasyonuyla ilave irrigasyon yapılması önerilebilir.

5. Bu araştırmada, CHX ve çalışmada kullanılan diğer solüsyonlarla oluşturduğu tüm kombinasyonlarının *E.faecalis*'e karşı anlamlı antibakteriyel etkinlik gösterdiği tespit edildi. Bu sonuca dayanarak CHX'in enfekte kök kanallarında tek başına kullanımının bile önemli derecede antibakteriyel özellik sağladığı ve diğer solüsyonlarla birlikte kullanıldığında da bu özelliğini koruyabildiği söylenebilir.

6. Araştırmada, *E.faecalis* eliminasyonunda tek başına NaOCl ile NaOCl+MTAD ve NaOCl+CHX kombinasyonlarının anlamlı şekilde etkili olduğu ancak NaOCl+H_2O_2, NaOCl+EDTA ve NaOCl+SC kombinasyonlarının bu etkiyi sağlayamadığı tespit edildi. Dolayısıyla yukarıda da belirtildiği gibi, klinikte NaOCl'in smear tabaka çıkarılmasına yönelik olarak EDTA veya SC ile kullanımı sonrasında yeterli antibakteriyel etki elde edilemediği göz önüne alınmalıdır. NaOCl'in daha fazla antibakteriyel etki elde etmek için H_2O_2'le kombine kullanılmasının da olumlu yönde herhangi bir faydası olmadığını bilmekte önemli olabilir.

7. Araştırma limitasyonları içerisinde *E.faecalis* eliminasyonunda ClO_2'in tek başına kullanımda etkili olduğu ancak zamanla özellikle SC ve EDTA ile kombinasyonlarında antibakteriyel özelliğinde istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte bir düşüş olduğu izlendi. Bu sonuca dayanarak ClO_2'in inatçı endodontik vakaların tedavisinde gelecek vadettiği ancak kök kanal tedavisinde rutin klinik kullanımı önerilmeden önce daha çok araştırmaya ihtiyaç olduğu söylenebilir.

8. Şimdiye kadar MTAD solüsyonunun antibakteriyel etkisi ile smear tabakasını kaldırması ile ilgili pek çok araştırma yapılmış olmasına rağmen diğer irrigasyon solüsyonları ile kombine uygulandığındaki etkinliğini araştıran bir çalışma henüz bulunmamaktadır. Mevcut araştırma, bu solüsyonun üretici firma tarafından kombine kullanılmasını önerdiği NaOCl dışında çalışmamızda kullanılan diğer solüsyonlarla kombine uygulandığında da antibakteriyel etkinliğini sürdürdüğünü veya en azından bunlarla kombine kullanıldığında antibakteriyel etkinliğinde herhangi bir azalma meydana gelmediğini göstermesi bakımından önemli olabilir.

6. ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

"Farklı endodontik irrigasyon materyallerinin tek ve kombine kullanımlarında *E. faecalis*'e karşı etkinliklerinin *in vitro* olarak incelenmesi"

"Hatice BÜYÜKÖZER ÖZKAN"

Endodonti Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ/ Konya 2009

Bu araştırmanın amacı; *E.faecalis*'e karşı, %5.25 sodyum hipoklorit (NaOCl), %2 klorheksidin (CHX), %17 etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) ve %3 hidrojen peroksit (H_2O_2), MTAD, SmearClear (SC) ve %13.8 klorindioksit (ClO_2) solüsyonlarının hem tek hem de kombine kullanımlarındaki antibakteriyel etkinliklerini değerlendirmektir.

Araştırmada, 280 adet daimi insan alt premolar tek köklü dişleri kullanıldı. Dişlerin kronları her bir kök boyu 14 mm olacak şekilde kesildi ve ProTaper kanal aletleri kullanılarak şekillendirildi. Preparasyon sırasında oluşan smear tabakasını kaldırmak için kökler %17'lik EDTA ve %5.25 NaOCl solüsyonları ile ultrasonik banyoya tabi tutuldu. Daha sonra kökler 121°C'de 20 dk süresince otoklavda steril edildi. Kökler rastgele 26 test (n=10) ve 2 kontrol grubuna (n=10) ayrıldı. Negatif kontrol grubu dışındaki tüm gruplar *E.faecalis* (ATCC 29212) ile 24 saat inkübe edildi. Negatif ve pozitif kontrol grubu örneklerinde kök kanalları sadece FTS ile irrige edildi. Deney gruplarında ise test edilen solüsyonlar ve kombinasyonları; NaOCl, CHX, ClO_2, MTAD, SC, EDTA, H_2O_2, NaOCl+CHX, NaOCl+MTAD, SC+NaOCl, EDTA+NaOCl, H_2O_2+NaOCl, ClO_2+CHX, CHX+MTAD, SC+CHX, EDTA+CHX, H_2O_2+CHX, ClO_2+MTAD, SC+ClO_2, EDTA+ClO_2, H_2O_2+ClO_2, SC+MTAD, EDTA+MTAD, H_2O_2+MTAD, SC+H_2O_2 ve EDTA+H_2O_2 şeklinde uygulandı. Daha sonra her bir kök kanalı 1 ml FTS ile irrige edildi. Kök kanalından örnek almak için F3 no'lu steril kağıt kon kullanılıp, kon daha sonra 1 ml BHI besiyeri içeren tüp içerisine aktarıldı. Bu tüpten 200 µl örnek sıvı alındı ve spektrofotometrik ölçümler için ELISA pleytine aktarıldı. Ölçümler, her bir örnek için 0., 6., 12., 18., 24., 30., 36., 42. ve 48. saatte kaydedildi. Verilerin istatistiksel olarak Kruskall Wallis testi ve Mann Whitney U testleri ile analiz edildi. Ayrıca, herbir solüsyon ve kombinasyonları için bakteriyel büyüme eğrileri oluşturuldu.

Elde edilen verilere göre, *E.faecalis* eliminasyonunda, H_2O_2 ve H_2O_2'nin NaOCl ve EDTA ile kombinasyonları, ClO_2, SC, MTAD ve CHX kombinasyonları kadar etkili bulunmadı. EDTA, hem tek başına hem de EDTA+CHX ve EDTA+MTAD kombinasyonları dışındaki diğer kombinasyonlarında herhangi bir antibakteriyel etki göstermedi. MTAD hem tek, hem de tüm kombinasyonlarında antibakteriyel etki gösterdi. SC, SC+NaOCl dışındaki tüm diğer kombinasyonlarında anlamlı antibakteriyel etki gösterdi. CHX ve tüm kombinasyonları *E.faecalis*'e karşı anlamlı derecede antibakteriyel etkinlik sağladı. NaOCl'in H_2O_2, EDTA ve SC kombinasyonlarının *E.faecalis* eliminasyonunda etkili olmadığı görüldü. ClO_2 ve tüm kombinasyonları *E.faecalis* üzerine anlamlı derecede etkili bulundu.

Bu çalışmada, kök kanal irrigasyonunda kullanılacak materyal seçiminde, solüsyonların tek veya kombine kullanımlarındaki antibakteriyel etkinlik özelliklerinin bilinmesinin önemli olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Antibakteriyel etkinlik, irrigasyon solüsyonu, *E. faecalis*

7. SUMMARY

T.C.

SELCUK UNIVERSITY

INSTUTE OF HEALT SCIENCE

"*In vitro* investigation of the effectiveness of different endodontic irrigation solutions in usage alone or combine with other irrigants against to *E.faecalis*"

"Hatice BÜYÜKÖZER ÖZKAN"

Department of Endodontics

DOCTORATE (PhD) THESIS/ Konya 2009

The aim of this study was to evaluate in vitro efficacy of the combination of 5.25% sodium hypochloride (NaOCl), 2% chlorhexidine glukonat (CHX), 17% etilen diamin tetra acetic acid (EDTA) 3% hydrogen peroxide (H_2O_2), MTAD, SmearClear (SC), 13.8% chlorinedioxide (ClO_2) against *E.faecalis* compared with the antibacterial activity of the same irrigating solutions when applied alone.

In this study 280 permanent lower single rooted human premolar teeth were used. The crowns were removed and roots were prepared by using ProTaper root canal instruments. The smear layer, which was produced by preparation, was removed by immersion in 17% EDTA solution followed by 5.25% NaOCl in an ultrasonic bath. The specimens were sterilized by autoclaving 121°C for 20 minutes. The roots were randomly divided into 26 test (n=10) and 2 control groups (n=10). Excluding the negative control group, all the roots were infected for 24 hours with *E. faecalis* (ATCC 29212). The samples of negative and positive control groups were only irrigated with physiologic saline. The tested solutions and combinations of them were as follow: NaOCl, CHX, ClO_2, MTAD, SC, EDTA, H_2O_2, NaOCl+CHX, NaOCl+MTAD, SC+NaOCl, EDTA+NaOCl, H_2O_2+NaOCl, ClO_2+CHX, CHX+MTAD, SC+CHX, EDTA+CHX, H_2O_2+CHX, ClO_2+MTAD, SC+ClO_2, EDTA+ClO_2, H_2O_2+ClO_2, SC+MTAD, EDTA+MTAD, H_2O_2+MTAD, SC+H_2O_2 and EDTA+H_2O_2. Then, each root canal was irrigated with 1 ml physiologic saline. F3 # sterile paper points were used to sample bacteria from the root canals and were transferred to tubes containing 1 ml of BHI broth. 200 µl liquid from these tubes were sampled. These samples were transferred to the ELISA plate for spectrofotometric analysis. Readings were recorded for 0., 6., 12., 18., 24., 30., 36., 42. and 48. hours for each sample. Datas were statistically analyzed by using Kruskall Wallis test and Mann Whitney U tests. Also, bacterial growth curves were formed for each solution and combination.

According to the datas, both H_2O_2 and combinations with NaOCl and EDTA of H_2O_2 were not significantly more effective than the ClO_2, SC, MTAD and CHX combinations in the elimination of *E.faecalis.* EDTA and other combinations, except for EDTA+CHX and EDTA+MTAD, were not showed any antibacterial effect. Both alone MTAD and combinations with other solutions showed antibacterial effect. SC and all other combination of SC, except NaOCl+SC, showed antibacterial effect on *E.faecalis.* CHX and all the combination of CHX showed statististically significant antibacterial efficiency on *E.faecalis.* NaOCl+H_2O_2, NaOCl+EDTA and NaOCl+SC combinations of NaOCl were not effective to eliminate *E.faecalis*. ClO_2 and all the combinations of its were significantly effective on the *E.faecalis*.

As a conclusion, it is important to know the antibacterial properties of both the solutions and combinations with each other in material choose for root canal irrigation.

Key words: Antibacterial efficiency, irrigation solution, *E. faecalis*

8. KAYNAKLAR

1. **Abou-Rass M, Piccinino MV**. The effectiveness of four clinical irrigation methods on the removal of root canal debris. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1982;54:323-8.
2. **Alaçam T**. Endodonti. Bölüm 12, Ankara: Barış Yayınları; 2000.
3. **Alliger H.** Overall View of ClO_2. 2006; available from URL: http://www.abchoofcare.com/Understandingwhatwhitelightningis.htm
4. **Andrewes FW, Horder TJ.** A study of the streptococci pathogenic for man. *Lancet* ii, 1906:708-13.
5. **Arda M.** Temel Mikrobiyoloji, Genişletilmiş İkinci Baskı. Bölüm 29, Ankara: Medisan Yayınevi; 2000.
6. **Ardizzoni A, Blasi E, Rimoldi C, Giardino L, Ambu E, Righi E, Neglia R.** An in vitro and ex vivo study on two antibiotic-based endodontic irrigants: a challenge to sodium hypochlorite. New Microbiol. 2009;32:57-66.
7. **AWWA.** Water Quality and Treatment, fourth edition. McGraw-Hill Inc.1990; New York, NY.
8. **Aydın M, Mısırlıgil A, Cengiz T.** Tıp ve Dişhekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji, Birinci baskı, Ankara, Güneş yayınevi, 2004, 219.
9. **Baker NA, Eleazer PD, Averbach RE, Seltzer S.** Scanning electron microscopic study of the efficacy of various irrigating solutions. J Endod. 1975;1:127–35.
10. **Baker NE, Liewehr FR, Buxton TB, Joyce AP.** Antibacterial efficacy of calcium hydroxide, iodine potassium iodide, betadine, and betadine scrub with and without surfactant against E faecalis in vitro. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2004;98:359-64.
11. **Basrani BR, Manek S, Sodhi RN, Fillery E, Manzur A.** Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. J Endod. 2007;33:966-9.
12. **Baumgartner JC, Ibay AC.** The chemical reactions of irrigants used for root canal debridement. J Endod. 1987;13:47–51.
13. **Becking AG.** Complications in the use of sodium hypochlorite during endodontic treatment. Report of three cases. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1991; 71: 346-8.
14. **Behnen MJ, West LA, Liewehr FR, Buxton TB, McPherson JCIII.** Antimicrobial activity of several calcium hydroxide penetrations in root canal dentin. J Endod. 2001;27: 765-7.
15. **Beltz RE, Torabinejad M, Pouresmail M.** Quantitative analysis of the solubilizing action of MTAD, sodium hypochlorite, and EDTA on bovine pulp and dentin. J Endod. 2003; 29: 334-7.
16. **Berber VB, Gomes BBPA, Sena NT, Vianna ME, Ferraz CCR, Zaia AA, Souza-Filho FJ.** Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing Enterococcus faecalis within root canals and dentinal tubules. Int Endod J. 2006; 39:10-7.
17. **Berkiten M, Berkiten R, Okar İ.** Comperative evaluation of antibacterial effects of Nd:YAG laser irradiation in root canals and dentinal tubules. J Endod. 2000; 26: 268-70.
18. **Bhasin P, Rao RN, Parande M.** Chlorine Dioxide Boon to Endodontic Re-treatment. 2008. Available from URL: http://www.authorstream.com/Presentation/raisv-108170
19. **Block, BB.** Peroxygen compounds. In: Disinfection, Sterilization, and Preservation. edn. S.S. Block, 4th edition, Lea & Febiger, Philadelphia, PA. 1991;167.
20. **Boutsioukis C, Lambrianidis T, Kastrinakis E, Bekiaroglou P.** Measurement of pressure and flow rates during irrigation of a root canal ex vivo with three endodontic needles. Int Endod J. 2007;40:504-13.
21. **Buck RA, Eleazer PD, Staat RH, Scheetz JP.** Effectiveness of three endodontic irrigants at various tubular depths in human dentin. J Endod. 2001;27:206-8.
22. **Bui TB, Baumgartner JC, Mitchell JC.** Evaluation of the interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate and its effect on root dentin. J Endod. 2008;34:181-5.
23. **Bystrom A, Sundqvist G.** Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. Scand J Dent Res. 1981;89:321– 8.
24. **Bystrom A, Sundqvist G.** The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. Int Endod J. 1985;18:35-40.

25. **Carson KR, Goodell GG, McClanahan SB.** Comparison of the antimicrobial activity of six irrigants on primary endodontic pathogens. J Endod. 2005;31:471-3.
26. **Chang YC, Huang FM, Tai KW, Chou MY.** The effect of sodyum hypochlorite and chlorhexidine on cultured human periodontal ligament cells. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2001; 92: 446-50.
27. **Chhabra RS, Huff JE, Haseman JK, Elwell MR, Peters AC.** Carcinogenicity of p-chloroaniline in rats and mice. Food Chem Toxicol. 1991;29:119-24.
28. **Chow TW.** Mechanical effetiveness of root canal irrigation. J Endod. 1983; 9: 475-9.
29. **Clarkson RM, Moule AJ.** Sodium hypochlorite and its use as an endodontic irrigant. Aust Dent J. 1998;43:250-6.
30. **Clegg MS, Vertucci FJ, Walker C, Belanger M, Britto LR.** The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentin biofilms in vitro. J Endod. 2006;32:434-7.
31. **Cohen S, Hargreaves KM.** Pathways of The Pulp. 9 th ed. St. Louis, Baltimore, Boston, Chicago, London, Madrid, Philadelphia, Sidney, Toronto: Mosby: 2006;290-357
32. **Crane AB.** A predictable root canal technique. Philadelphia: Lea & Febiger, 1920.
33. **Çalışkan MK, Türkün M, Alper S.** Allergy to sodium hypochlorite during root canal theraphy: a case report. Int Endod J. 1994;27: 163-167.
34. **Çalışkan MK.** Endodontide Tanı ve Tedaviler. Bölüm 11. Nobel Tıp Kitapevi; 2006
35. **Çobankara FK, Altinöz HC, Erganiş O, Kav K, Belli S.** In vitro antibacterial activities of root-canal sealers by using two different methods. J Endod. 2004;30:57-60.
36. **Da Silva LA, Sanguino AC, Rocha CT, Leonardo MR, Silva RA.** Scanning electron microscopic preliminary study of the efficacy of SmearClear and EDTA for smear layer removal after root canal instrumentation in permanent teeth. J Endod. 2008;34:1541-4.
37. **D'Arcangelo C, Varvara G.** A comparative in-vitro study of the bactericidal efficacy of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate plus cetrimide on root canal anaerobic bacterial flora. Minerva Stomatol. 1998;47:381-6.
38. **Davis JM, Maki J, Bahcall JK.** An in vitro comparison of the antimicrobial effects of various endodontic medicaments on Enterococcus faecalis. J Endod. 2007;33:567-9.
39. **De-Deus G, Reis C, Fidel S, Fidel R, Paciornik S.** Dentine demineralization when subjected to EDTA with or without various wetting agents: a co-site digital optical microscopy study. Int Endod J. 2008;41:279-87.
40. **Delaney GM, Patterson SS, Miller CM, Newton CW.** The effect of chlorhexidine gluconate irrigation on the root canal flora of freshly extracted necrotic teeth. Oral Surg. 1982;53: 518-523.
41. **Desai P, Himel V.** Comparative safety of various intracanal irrigation systems. J Endod. 2009;35:545-9.
42. **Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ.** Biofilm formation in medicated root canals. J Endod. 2002;28:689-93
43. **Dunavant TR, Regan JD, Glickman GN, Solomon ES, Honeyman AL.** Comparative Evaluation of Endodontic Irrigants against Enterococcus faecalis Biofilms. J Endod. 2006; 32:527-31
44. **Eddy RS, Joyce AP, Roberts S, Buxton TB, Liewehr F.** An In Vitro Evaluation of the Antibacterial Efficacy of Chlorine Dioxide on E. faecalis in Bovine Incisors. J Endod. 2005;31: 672-75
45. **EPA.** Chlorine Dioxide. U.S. Enviromental Protection Agency, Office of Pesticide Programs. April 2002.
46. **Ercan E, Özekinci T, Atakul F, Gül K.** Antibacterial activity of 2% chlorxidine gluconate and 5,25% sodium hypochlorite in infected root canal: *in vivo* study. J Endod. 2004; 30: 84-7.
47. **Ercan E.** Enfekte kök kanallarından izole edilen mikroorganizmalar üzerinde farklı yıkama solüsyonlarının antibakteriyel etkinliği. Dicle Üniversitesi, Doktora tezi, 2004.
48. **Erganiş O, Öztürk A.** Oral mikrobiyoloji ve immünoloji. Nobel tıp kitapevi. 2003.
49. **Estrela C, Estrela CR, Decurcio DA, Hollanda AC, Silva JA.** Antimicrobial efficacy of ozonated water, gaseous ozone, sodium hypochlorite and chlorhexidine in infected human root canals. Int Endod J. 2007;40:85-93.
50. **Estrela C, Ribeiro RG, Estrela CR, Pecora JD, Sousta-Neto MD.** Antimicrobial effect of %2 sonium hypochlorite and %2 chlorhexidine tested by different methods. Braz Dent J. 2003;14:58-62
51. **Falk KW, Sedgley CM.** The influence of preparation size on the mechanical efficacy of root canal irrigation in vitro. J Endod. 2005;31:742-5.

52. **Fardal O, Turnbull RS.** A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. J Am. Dent. Assoc. 1986; 112: 863-9.
53. **Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ.** In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. J Endod. 2001;27:452-5.
54. **Ferreira FB, Torres SA, Rosa OP, Ferreira CM, Garcia RB, Marcucci MC, Gomes BP.** Antimicrobial effect of propolis and other substances against selected endodontic pathogens. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2007;104:709-16.
55. **Figdor D, Davies JK, Sundqvist G.** Starvation survival, growth and recovery of *Enterococcus faecalis* in human serum. Oral Microbiol Immunol. 2003;18:234 –9.
56. **Flahaut S, Frere J, Auffray Y.** Comparison of the bile salts and sodium dodecyl sulfate stress responses in Enterococcus faecalis. Appl Environ Microbiol. 1996a;62, 2416-20
57. **Flahaut S, Benachour A, Gıard JC, Boutıbonnes P, Auffray Y.** Defense against lethal treatments and de novo protein synthesis induced by NaCl in Enterococcus faecalis. Arch Microbiol. 1996b; 165, 317- 24.
58. **Flahaut S, Hartke A, Gıard JC, Benachour A, Boutıbonnes P, Auffray Y.** Relationship between stress response towards bile salts, acid and heat treatment in Enterococcus faecalis. FEMS Microbiol Lett. 1996c;138: 49-54.
59. **Flahaut S, Hartke A, Gıard JC, Auffray Y.** Alkaline stres response in Enterococcus faecalis: adaptation, cross protection, and changes in protein synthesis. Appl Environ Microbiol. 1997;63, 812-4
60. **Frais S, Nguyen YL, Gulabivala K.** Some factors affecting the concentration of available chlorine in commercial sources of sodium hypochlorite. Int Endod J. 2001;34: 206-15.
61. **Gainor BJ, Hockman DE, Anglen JO, Christensen G, Simpson WA.** Benzalkonium chloride: a potential disinfecting irrigation solution. J Orthop Trauma. 1997;11:121-5.
62. **Garcez AS, Ribeiro MS, Tegos GP, Núñez SC, Jorge AO, Hamblin MR.** Antimicrobial photodynamic therapy combined with conventional endodontic treatment to eliminate root canal biofilm infection. Lasers Surg Med. 2007;39:59-66.
63. **George S, Kishen A.** Augmenting the Antibiofilm Efficacy of Advanced Noninvasive Light Activated Disinfection with Emulsified Oxidizer and Oxygen Carrier. J Endod. 2008;34:1119-23.
64. **Giard JC, Hartke A, Flahaut S, Benachour A, Boutibonnes P, Auffray Y.** Starvation-induced multiresistance in Enterococcus faecalis JH2-2. Curr Microbiol. 1996;32:264-71.
65. **Goldman LB, Goldman M, Kronman JH, Lin PS.** Scanning electron microscope study of a new irrigation method in endodontic treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1979;48:79-83.
66. **Gomes BP, Lilley JD, Drucker DB.**Variations in the susceptibilities of components of the endodontic microflora to biomechanical procedures. Int Endod J. 1996 ;29:235-41.
67. **Gomes BP, Pınheıro ET, Sousa EL, Jacınto RC, Zaıa, AA, Ferraz CC, De Souza-Fılho FJ.** Enterococcus faecalis in dental root canals detected by culture and by polymerase chain reaction analysis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006;102: 247-53.
68. **Gomes BPFA, Ferraz CCR, Vianna ME, Berber VE, Teixeira FB, Souza-Filho FJ.** In vitro antimicrobial activity of several consentrations of sodium hypoclorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of Enterococcus faecalis. Int. Endod J. 2001;34: 424-8.
69. **Gonzalez-Lopez S, Camejo-Aguilar D, Sanchez-Sanchez P, Bolaños-Carmona V.** Effect of CHX on the decalcifying effect of 10% citric acid, 20% citric acid, or 17% EDTA. J Endod. 2006;32:781-4.
70. **Grawehr M, Sener B, Waltimo T, Zehnder M.** Interactions of ethylenediamine tetraacetic acid with sodium hypochlorite in aqueous solutions. Int Endod J. 2003;36:411-7.
71. **Grossman LI.** Irrigation of root canals. Journal of the American Dental Association. 1943;30: 1915–17.
72. **Gulabivala K, Patel B, Evans G, Yuan-Lıng Ng.** Effects of mechanical and chemical procedures on root canal surfaces; Endodontic Topics. 2005;10, 103–22.
73. **Günaydın İT.** Kök kanalında E.faecalis'in eliminasyonunda farklı yıkama yöntemleriyle kullanılan yıkama solüsyonlarının ve kanal içi kalsiyum hidroksit uygulamasının etkinliğinin in vitro olarak incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı. Doktora tezi.2002

74. **Haapasalo HK, Siren EK, Waltimo TM, Orstavik D, Haapasalo MP.** Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. Int Endod J 2000;33:126 –31.
75. **Haapasalo M, Orstavik D.** In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. J Dent Res. 1987:8:1375-79.
76. **Haapasalo M, Qian W, Portenier I, Waltimo T.** Effects of dentin on the antimicrobial properties of endodontic medicaments. J Endod. 2007;33:917-25.
77. **Haapasalo M,Endal U, Zandi H,Coil JM.** Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. Endodon. Topics. 2005;10;77-102.
78. **Hancock HH 3rd, Sigurdsson A, Trope M, Moiseiwitsch J.** Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2001;91:579-86.
79. **Harrison JW, Hand RE.** The effect of dilution and organic matter on the anti-bacterial property of 5.25% sodium hypochlorite. J Endod. 1981;7:128-32.
80. **Hartke A, Giard JC, Laplace JM, Auffray Y.** Survival of Enterococcus faecalis in an oligotrophic microcosm: changes in morphology, development of general stress resistance, and analysis of protein synthesis. Appl Environ Microbiol. 1998; 64:4238-45.
81. **Hata G, Hayami S, Weine FS, Toda T.** Effectiveness of oxidative potential water as a root canal irrigant. Int Endod J. 2001;34:308-17.
82. **Hauman CHJ, Love RM.** Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic theraphy: a review. Part 1. Intra canal drugs and substances. Int Endod J. 2003;36: 75-85.
83. **Heling I, Chandler P.** Antimicrobial effect of irrigant combinations within dentinal tubules. Int Endod J. 1998;31: 8-14.
84. **Hubble TS, Hatton JF, Nallapareddy SR, Murray BE, Gillespie MJ.** Influence of *Enteroccocus faecalis* proteases and the collagen-binding protein, Ace, on adhesion to dentin. Oral Microbiol Immunol. 2003;18:121– 6.
85. **Hülsman M. Hahn W.** Complications during root canal irrigation-literature review and case reports. Int Endod J. 2000;33: 186-193.
86. **Hülsmann M, Heckendorff M, Lennon A.** Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use.Int Endod J. 2003;36:810-30.
87. **Jeansonne MJ, White RR.** A comparison of 2% chlorhexidine gluconate and 5,25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. J Endod. 1994;20:276-8.
88. **Jett BD, Huycke MM, Gilmore MS.** Virulence of *Enterococci*. Clin Microbiol Rev. 1994;7:462–78.
89. **Kahn FH, Rosenberg PA, Gliksberg J.** In vitro evaluation of the irrigating characteristics of ultrasonic and subsonic handpieces and irrigating needles and probes. J Endod. 1995;21:277– 80.
90. **Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ.** The effects of surgical exposure on dental pulps in germ-free and conventional labratory rats. Oral Surg. 1965;20: 340-49.
91. **Kaufman AY, Greenberg I.** Comperative study of the configuration and cleanliness level of root canals prepared with the aid of sodium hypochlorite and bis-dequalinium-acetate solutions. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1986; 62: 191-7.
92. **Kayaoglu G, Orstavik D.** Virulence factors of Enterococcus faecalis: relationship to endodontic disease. Crit Rev Oral Biol Med. 2004;15:308-20.
93. **Kayaoğlu G.** Investigation of Infection and Survival Mechanisms Held by *Enterococcus Faecalıs* (Straın A197a): wıth Respect to Endodontıc Disease. Gazi Üniversitesi, Doktora tezi, 2007.
94. **Khedmat S, Shokouhinejad N.** Comparison of the Efficacy of Three Chelating Agents in Smear Layer Removal. J Endod. 2008; 34:599-602.
95. **Kho P, Baumgartner JC.** A comparison of the antimicrobial efficacy of NaOCl/Biopure MTAD versus NaOCl/EDTA against Enterococcus faecalis. J Endod. 2006 ;32:652-5.
96. **Kimura Y, Wilder-Smith P, Matsumoto K.** Lasers in endodontics: a review. Int Endod J. 2000;33:173-85.
97. **Koylu GA.** Farklı irrigasyon solüsyonlarının antifungal ve yumusak dokudaki histopatolojik etkilerinin incelenmesi. Gazi Üniversitesi, Doktora tezi, 2007.
98. **Krause TA, Liewehr FR, Hahn CL.** The antimicrobial effect of MTAD, sodium hypochlorite, doxycycline, and citric acid on Enterococcus faecalis. J Endod. 2007;33:28-30.

99. **Kuruvilla JR, Kamath MP.** Antimicrobial activity of 2,5% sodium hypochlorite and 0,2% chlorhexidine gluconate separately and combined, as endodontic irrigants. J Endod. 1998;24:472-6.
100. **Lee W, Lim S, Son H, Bae K.** Sonicated extract of Enterococcus faecalis induces irreversible cell cycle arrest in phytohemagglutinin-activated human lymphocytes. J Endod 2004;30:209 –12.
101. **Lee Y, Han SH, Hong SH, Lee JK, Ji H, Kum KY.** Antimicrobial efficacy of a polymeric chlorhexidine release device using in vitro model of Enterococcus faecalis dentinal tubule infection. J Endod. 2008;34:855-8.
102. **Leonardo MR, Filho MT, Silva LAB, Filho PN, Bonifacio KC, Ito IY.** In vivo antimicrobial activity of % 2,0 chlorhexidine used as a root canal irrigation solution. J Endod. 1999; 25: 167-71.
103. **Lester KS, Boyde A.** Scanning electron microscopy of instrumented, irrigated and filled root canals. Br Dent J. 1977;143:359–67.
104. **Love RM.** Enterococcus faecalis--a mechanism for its role in endodontic failure. Int Endod J. 2001;34:399-405.
105. **Lui JN, Kuah HG, Chen NN.** Effect of EDTA with and without Surfactants or Ultrasonics on Removal of Smear Layer. J Endod. 2007;33:472-5.
106. **Mancini M, Armellin E, Casaglia A, Cerroni L, Cianconi L.** A comparative study of smear layer removal and Erosion İn Apical İntraradicular Dentine With Three İrrigating Solutions: A Scanning Electron Microscopy Evaluation. J Endod. 2009;35:900-3.
107. **Meire MA, De Prijck K, Coenye T, Nelis HJ, De Moor RJ.** Effectiveness of different laser systems to kill Enterococcus faecalis in aqueous suspension and in an infected tooth model. Int Endod J. 2009;42:351-9.
108. **Mercade M, Duran-Sindreu F, Kuttler S, Roig M, Durany N.** Antimicrobial efficacy of 4.2% sodium hypochlorite adjusted to pH 12, 7.5, and 6.5 in infected human root canals Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2009;107:295-8.
109. **Mohammadi Z, Abbott PV.** The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. Int Endod J. 2009;42:288-302.
110. **Molander A, Reit C, Dahlén G, Kvist T.** Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. Int Endod J. 1998;31:1-7.
111. **Moorer WR, Wesselink PR.** Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite. Int Endod J. 1982;4:187–96.
112. **Mozayeni MA, Javaheri GH, Poorroosta P, Ashari MA, Javaheri HH.** Effect of 17% EDTA and MTAD on intracanal smear layer removal: a scanning electron microscopic study. Aust Endod J. 2009;35:13-7.
113. **Möller AJ, Fabricius L, Dahlén G, Ohman AE, Heyden G.** Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. Scand J Dent Res. 1981;89:475-84.
114. **Möller AJ.** Microbiological examination of root canals and periapical tissues of human teeth Methodological studies. Odontol Tidskr. 1966: 74: 1–380.
115. **Murray PE, Farber RM, Namerow KN, Kuttler S, Garcia-Godoy F.** Evaluation of Morinda citrifolia as an endodontic irrigant. J Endod. 2008;34:66-70.
116. **Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA.** Medical Microbiology 3. Edition, Mosby 1998: 206-8.
117. **Nair PN, Henry S, Cano V, Vera J.** Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2005;99:231-52.
118. **Nishikiori R, Nomura Y, Sawajiri M, Masuki K, Hirata I, Okazaki M.** Influence of chlorine dioxide on cell death and cell cycle of human gingival fibroblasts. J Dent. 2008;36:993-8
119. **Nudera WJ, Fayad MI, Johnson BR, Zhu M, Wenckus CS, Begole EA, Wu CD.** Antimicrobial effect of triclosan and triclosan with Gantrez on five common endodontic pathogens. J Endod. 2007;33:1239-42.
120. **Nygaard-Ostby B.** Chelationin root canal therapy: ethlendiamintetraacetic acid for chleansing and widening of root canals. Ododntol Tids. 1957;65:311
121. **O'Connell MS, Morgan LA, Beeler WJ, Baumgartner JC.** A comparative study of smear layer removal using different salts of EDTA. J Endod. 2000;26:739-43.
122. **Ohara PK, Torabinejad M, Ketteing JD.** Antibacterial effects of various endodontic irrigants on selected anaerobic bacteria, Endod Dent Traumatol. 1993; 9: 95-100.

123. **Oliveira DP, Barbizam JV, Trope M, Teixeira FB.** In vitro antibacterial efficacy of endodontic irrigants against Enterococcus faecalis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2007;103:702-6.
124. **Orstavik D, Haapasalo M.** Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. Endod Dent Traumatol. 1990; 6: 142–149.
125. **Önçağ Ö, Hoşgör M, Hilmioğlu S, Zekioğlu O, Eronat C, Burhanoğlu D.** Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. Int Endod J. 2003; 36:423-32.
126. **Pappen FG, Souza EM, Giardino L, Carlos IZ, Leonardo MR, de Toledo Leonardo R.** Endodontic chelators induce nitric oxide expression by murine-cultured macrophages. J Endod. 2009;35:824-8.
127. **Park JB, Park NH.** Effect of chlorhexidine on the in vitro and in vivo herpes simplex virus infection. Oral Surg. 1989; 67: 149–153.
128. **Pashley EL, Birdsong NL, Bowman K, Pashley DH.** Cytotoxic effects of NaOCl on vital tissue. J Endod. 1985;11:525-8.
129. **Patterson SS.** In vivo and in vitro studies of the effect of the disodium slat of ethylenediamine tetra-acetate on human dentine and its endodontic implications. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1963;16:83-103.
130. **Peciuliene V, Balciuniene I, Eriksen HM, Haapasalo M.** Isolation of Enterococcus faecalis in previously root-filled canals in a Lithuanian population. J Endod. 2000; 26:593-5.
131. **Perez F, Calas P, de Falguerolles A, Maurette A.** Migration of a Streptococcus sanguis strain through the root dentinal tubules. J Endod. 1993;19:297-301.
132. **Peters LB, Wesselink PR, Buijs JF, van Winkelhoff AJ.** Viable bacteria in root dentinal tubules of teeth with apical periodontitis. J Endod. 2001;27:76-81.
133. **Peters LB, Wesselink PR, Moorer WR.** Penetration of bacteria in bovine root dentine in vitro. Int Endod J. 2000; 33:28-36.
134. **Pınheıro ET, Anderson MJ, Gomes BP, Drucker DB.** Phenotypic and genotypic identification of enterococci isolated from canals of root-filled teeth with periapical lesions. Oral Microbiol Immunol. 2006;21: 137-44.
135. **Portenier I, Haapasalo H, Orstavik D, Yamauchi M, Haapasalo M.** Inactivation of the antibacterial activity of iodide potassium iodide and chlorhexidine digluconate against *Enterococcus faecalis* by dentin, dentin matrix, type-I collagen, and heatkilled microbial whole cells. J Endod. 2002;28:634 –7.
136. **Portenier I, Haapasalo H, Rye A, Waltimo T, Orstavik D, Haapasalo M.** Inactivation of root canal medicaments by dentine, hydroxylapatite and bovine serum albumin. Int Endod J. 2001;34:184–8.
137. **Portenier I, Waltimo T, Orstavik D, Haapasalo M.** Killing of Enterococcus faecalis by MTAD and chlorhexidine digluconate with or without cetrimide in the presence or absence of dentine powder or BSA. J Endod. 2006;32:138–41.
138. **Radcliffe CE, Potouridou L, Qureshi R, Habahbeh N, Qualtrough A, Worthington H, Drucker DB.** Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms Actinomyces israelii, A. naeslundii, Candida albicans and Enterococcus faecalis. Int Endod J. 2004;37:438-46.
139. **Rasimick Bj, Nekich M, Hladek Mm, Musikant Bl, Deutsch As.** Interaction Between Chlorhexidine Digluconate And Edta. J Endod. 2008;34:1521-3.
140. **Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP.** Nosocomial infections in combined medical-surgical intensive care units in the United States. Infect Control Hosp Epidemiol. 2000; 21: 510-5.
141. **Ringel AM, Patterson SS, Newton CW, Miller CH, Mulhern JM.** In vivo evaluation of chlorhexidine gluconate solution and sodium hypochlorite solution as root canal irrigants. J Endod. 1982; 8:200–4.
142. **Roças IN, Sıqueıra JF Jr., Santos KR.** Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. J Endod. 2004a; 30, 315-20
143. **Roças IN, Jung IY, Lee CY, Siqueira JF Jr.** Polymerase chain reaction identification of microorganisms in previously root-filled teeth in a South Korean population. J Endod. 2004b; 30:504-8.
144. **Rollison S, Barnett F, Stevens RH.** Efficacy of bacterial removal from instrumented root canals in vitro related to instrumentation technique and size. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2002; 94:366-71.

145. **Ruff ML, McClanahan SB, Babel BS**. In vitro antifungal efficacy of four irrigants as a final rinse. J Endod. 2006;32:331-3.
146. **Safavi KE, Dowden WE, Introcaso JH, Langeland K.** A comparison of antimicrobial effects of calcium hydroxide and iodine-potassium iodide. J Endod. 1985;11:454-6.
147. **Safavi KE, Spangberg LSW, Langeland K.** Root canal dentinal tubule disinfection. J Endod. 1990;16: 207-10.
148. **Sassone LM, Fidel R, Fidel S, Vieira M, Hirata R.** The influence of organic load on the antimicrobial activity of different concentrations of NaOCl and chlorhexidine in vitro. Int. Endod J. 2003;36: 848-852.
149. **Sassone LM, Fidel RA, Murad CF, Fidel SR, Hirata R Jr.** Antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine by two different tests. Aust Endod J. 2008;34:19-24.
150. **Scelza MF, Teixeira AM, Scelza P.** Decalcifying effect of EDTA-T, 10% citric acid, and 17% EDTA on root canal dentin. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2003; 95:234–6.
151. **Schäfer E, Bössmann K.** Antimicrobial Efficacy of Chlorhexidine and Two Calcium Hydroxide Formulations Against Enterococcus faecalis. J Endod. 2005;31:53-6.
152. **Schleifer KH, Kilpper-Balz R.** Transfer of Streptococcus faecalis and Streptococcus faecium to the genus Enterococcus nom. rev. as Enterococcus faecalis comb. nov. and Enterococcus faecium comb. nov. Int J Syst Bacteriol. 1984;34, 31-4.
153. **Sedgley CM, Applegate B, Nagel A, Hall D.** Real-time imaging and quantification of bioluminescent bacteria in root canals in vitro. J Endod. 2004a ;30:893-8.
154. **Sedgley CM, Lennan SL, Appelbe OK.** Survival of Enterococcus faecalis in root canals ex vivo. Int Endod J. 2005b;38:735-42.
155. **Sedgley CM, Lennan SL, Clewell DB.** Prevalence, phenotype, and genotype of oral Enterococci. Oral Microbiol Immunol. 2004b; 19: 95–101.
156. **Sedgley CM, Nagel A, Dahlen G, Reit C, Molander A.** Real-time quantitative polymerase chain reaction and culture analyses of Enterococcus faecalis in root canals. J Endod. 2006;32: 173-7.
157. **Sedgley CM, Nagel AC, Hall D, Applegate B.** Influence of irrigant needle depth in removing bioluminescent bacteria inoculated into instrumented root canals using real-time imaging in vitro. Int Endod J. 2005a;38:97-104.
158. **Seltzer S, Farber PA.** Microbiologic factors in endodontology. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1994;78: 634-45.
159. **Shabahang S, Pouresmail M, Torabinejad M.** In vitro antimicrobial efficacy of MTAD and sodium hypochlorite. J Endod. 2003; 29: 450-2.
160. **Shabahang S, Torabinejad M.** Effect of MTAD on Enterococcus feacalis contaminated root canals of extracted human teeth. J Endod. 2003; 29: 576-9.
161. **Sherman JM.** The streptococci. Bacteriol Rev. 1937:1;3-97.
162. **Shiozawa A.** Characterization of reactive oxygen species generated from the mixture of NaClO and H_2O_2 used as root canal irrigants. J Endod. 2000;26:11-5.
163. **Siqueira JF Jr, Batista MM, Fraga RC, de Uzeda M.** Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented gram-negative anaerobes and facultative bacteria. J Endod. 1998;24:414- 6.
164. **Siqueira JF Jr, de Uzeda M.** Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. J Endod. 1996;22:674-6.
165. **Siqueira JF Jr, Machado AG, Silveira RM, Lopes HP, de Uzeda M.** Evaluation of the effectiveness of sodium hypochloride used with three irrigation methods in the elimination of Enterococcus faecalis form the root canal in vitro. Int Endod J. 1997a; 30:279-282.
166. **Siqueira JF Jr, de Uzeda M.** Intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. J Endod 1997b;23:167–9.
167. **Siqueira JF Jr, Roças IN, Souto R, De Uzeda M, Colombo AP.** Actinomyces species, streptococci, and Enterococcus faecalis in primary root canal infections. J Endod. 2002;28: 168-72.
168. **Siqueira JF Jr, Roças IN.** Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2004; 97: 85-94.

169. **Siqueira JF, Roças IN, Favieri A, Lima KC.** Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1 %, 2,5 %, and 5,25 % sodium hypochlorite. J Endod. 2000; 26: 331-334.
170. **Siren EK, Haapasalo MP, Waltimo TM, Orstavik D.** In vitro antibacterial effect of calcium hydroxide combined with chlorhexidine or iodine potassium iodide on Enterococcus faecalis. Eur J Oral Sci. 2004;112:326-31.
171. **Sobrinho AP, Barros MH, Nicoli JR, Carvalho MA, Farias LM, Bambirra EA, Bahia MG, Vieira EC.** Experimental root canal infections in conventional and germ-free mice. J Endod. 1998; 24:405-8.
172. **Soukos NS, Chen PS, Morris JT, Ruggiero K, Abernethy AD, Som S, Foschi F, Doucette S, Bammann LL, Fontana CR, Doukas AG, Stashenko PP.** Photodynamic therapy for endodontic disinfection. J Endod. 2006;32:979-84.
173. **Steinberg D, Heling I, Daniel I, Ginsburg I.** Antibacterial synergistic effect of chlorhexidine and hydrogen peroxide against Streptococcus sobrinus, Streptococcus faecalis and Staphylococcus aureus. J Oral Rehabil. 1999;26:151-6.
174. **Sterrett JD, Bankey T, Murphy HJ.** Dentin demineralization. The effects of citric acid concentration and application time. J Clin Periodontol. 1993;20:366-70.
175. **Stevens RH, Grossman LI.** Evaluation of the antimicrobial potential of calcium hydroxide as an intracanal medicament. J Endod. 1983;9:372-4.
176. **Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB.** Enterococcus faecalis: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. J Endod. 2006;32:93-8.
177. **Sunde PT, Olsen I, Debelian GJ, Tronstad L.** Microbiota of periapical lesions refractory to endodontic therapy. J Endod. 2002;28: 304-9.
178. **Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U.** Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1998;85:86-93.
179. **Sundqvist G, Figdor D.** Endodontic trteatment of apical periodontitis. In: Orstavik D and Pıtt Ford TR, editors. Essential Endodontology. Oxford: Blackwell Science; 1998.
180. **Sundqvist G, Johansson E,Sjögren U.** Prevalance of black-pigmented Bacteriodes species in root canal infections. J Endod. 1989;15:13-19.
181. **Sundqvist G.** Associations Between Microbial Species in Dental Root Canal Infections. Oral Microbiol Immunol. 1992; 7: 257-62.
182. **Sundqvist G.** Bacteriologic studies of necrotic dental pulps. Univercity of Umea; Sweeden: Odontological Dissertation No:7, 1976
183. **Svec TA, Harrıson JW.** Chemomechanical removal of pulpal and dentinal detritus with sodium hypochlorite and hydrogen peroxide vs normal saline solution. J Endod. 1977;3, 49–53.
184. **Şen BH, Akdeniz BG, Denizci AA.** The effect of ethylenediamine-tetraacetic acid on Candida albicans. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2000;90:651-5.
185. **Tanrıverdi F, Esener T, Erganiş O, Belli S.** An in vitro test model for investigation of disinfection of dentinal tubules infected with Enterococcus faecalis. Braz Dent J. 1997;8: 67-72.
186. **Tay FR, Hiraishi N, Schuster GS, Pashley DH, Loushine RJ, Ounsi HF, Grandini S, Yau JY, Mazzoni A, Donnelly A, King NM.** Reduction in antimicrobial substantivity of MTAD after initial sodium hypochlorite irrigation. J Endod. 2006a;32:970-5.
187. **Tay FR, Mazzoni A, Pashley DH, Day TE, Ngoh EC, Breschi L.** Potential iatrogenic tetracycline staining of endodontically treated teeth via NaOCl/MTAD irrigation: a preliminary report. J Endod. 2006b;32:354-8.
188. **Torabinejad M, Cho Y, Khademi AA, Bakland LK, Shabahang S.** The effect of various concentrations of sodium hypochlorite on the ability of MTAD to remove the smear layer. J Endod. 2003b; 29: 233–239.
189. **Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, Bakland LK**. Clinical implications of the smear layer in endodontics. a review. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2002; 94: 658-66.
190. **Torabinejad M, Khademi AA, Babagoli J, Cho Y, Johnson WB, Bozhilov K, Kim J, Shabahang S.** A new solution for the removal of the smear layer. J Endod. 2003a: 29: 170–175.
191. **Torabinejad M, Shabahang S, Aprecio RM, Kettering JD.** The antimicrobial effect of MTAD: an in vitro investigation. J Endod. 2003; 29: 400-3.

192. **Türkün M, Cengiz T.** The effects of sodium hypochlorite and calcium hydroxide on tissue dissolution and root kanal cleanliness. Int Endod J. 1997;30: 335-342.
193. **Türkün M, Gökay N, Özdemir N.** Farklı endodontik yıkama solüsyonlarının toksik ve nekrotik doku çözücü etkilerinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi. İ.Ü. Dişhekimliği Fak. Derg. 1998;32: 87-94.
194. **Vahdaty A, Pitt Ford TR, Wilson RF.** Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules in vitro. Endod Dent Traumatol. 1993; 9: 243-8.
195. **Vianna ME, Gomes BP, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza-Filho FJ.** In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2004; 97: 79–84.
196. **Vianna ME, Gomes BP.** Efficacy of sodium hypochlorite combined with chlorhexidine against Enterococcus faecalis in vitro. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2009; 107:585-9.
197. **Virtej A, MacKenzie CR, Raab WH, Pfeffer K, Barthel CR.** Determination of the performance of various root canal disinfection methods after in situ carriage. J Endod. 2007;33:926-9.
198. **Walton RE, Torabinejad M.** Principles and practice of endodontics. 3th edition. The curtis center Indipendence square west Phladelphia, Pennsylvania. 2002;282-94
199. **Weber CD, McClanahan SB, Miller GA, Diener-West M, Johnson JD.** The effect of passive ultrasonic activation of 2% chlorhexidine or 5.25% sodium hypochlorite irrigant on residual antimicrobial activity in root canals. J Endod. 2003;29:562-4.
200. **Weiger R, de Lucena J, Decker HE, Löst C.** Vitality status of microorganisms in infected human root dentine. Int Endod J. 2002; 35:166-71.
201. **Wesselink P, Bergenholtz G.** Treatment of the necrotic pulp. In: Bergenholtz G, et al. Editors. Text Book of Endodontology. Oxford: Blackwell Munksgaard, 2003.
202. **Wisplinghoff H, Seifert H, Tallent SM, Bischoff T, Wenzel RP, Edmond MB.** Nosocomial bloodstream infections in pediatric patients in United States hospitals: epidemiology, clinical features and susceptibilities. Pediatr Infect Dis J. 2003; 22: 686-91.
203. **Wu MK, Dummer PM, Wesselink PR.** Consequences of and strategies to deal with residual post-treatment root canal infection. Int Endod J. 2006;39:343-56.
204. **Yamada RS, Armas A, Goldman M, Lin PS.** A scanning electron microscopic comparison of a high volume final flush with several irrigating solutions: Part 3. J Endod. 1983;9:137-42.
205. **Yeşilsoy C, Whitaker E, Cleveland D, Philips E, Trope M.** Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. J. Endod. 1995; 21: 513-515.
206. **Yoshida T, Shibata T, Shinohara T, Gomyo S, Sekine I.** Clinical evaluation of the efficacy of EDTA solution as an endodontic irrigant. J Endod. 1995;21:592–3.
207. **Zapata RO, Bramante CM, de Moraes IG, Bernardineli N, Gasparoto TH, Graeff MS, Campanelli AP, Garcia RB.** Confocal laser scanning microscopy is appropriate to detect viability of Enterococcus faecalis in infected dentin. J Endod. 2008;34:1198-201.
208. **Zehnder M, Schicht O, Sener B, Schmidlin P.** Reducing surface tension in endodontic chelator solutions has no effect on their ability to remove calcium from instrumented root canals. J Endod. 2005a;31:590 –2.
209. **Zehnder M, Schmidlin P, Sener B, Waltimo T.** Chelation in root canal therapy reconsidered. J Endod. 2005b;31:817–20.
210. **Zehnder M.** Root canal irrigants. J Endod 2006;32:389 –390.
211. **Zhang W, Torabinejad M, Li Y.** Evaluation of cytotoxicity of MTAD using the MTT-tetrazolium method. J Endod. 2003; 29:654-7.

10. ÖZGEÇMİŞ

22 Nisan 1981 yılında Adana'nın Ceyhan ilçesinde doğdu. İlköğrenimini Ceyhan Sakarya İlkokulu, orta öğrenimini Ceyhan Anadolu Lisesi ve lise öğrenimini ise Adana Ö.Ç Bilfen Lisesinde tamamladı. 1999 yılında Selçuk Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesine girmeye hak kazandı ve aynı fakülteden 2004 yılında mezun oldu. 2005 yılında Selçuk Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalında doktora öğrenimine başladı. Evlidir.