



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
BEZMİÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ ENDODONTİ ANABİLİM DALI

ASEMPTOMATİK APİKAL PERİODONTİTİSLİ DİŞLERDE EDDY CİHAZI İLE YAPILAN SONİK
AKTİVASYONUN KÖK KANAL MİKROBİYOTASI VE POSTOPERATİF AĞRIYA ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ: PROSPEKTİF RANDOMİZE KONTROLLÜ KLİNİK ÇALIŞMA

UZMANLIK TEZİ

Abdulkadir TİFTİK

Tez danışmanı: Doç. Dr. Mehmet Burak GÜNEŞER

EKİM- 2022

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ ENDODONTİ ANABİLİM DALI

ASEMPTOMATİK APİKAL PERİODONTİTİSLİ DİŞLERDE EDDY CİHAZI İLE YAPILAN SONİK
AKTİVASYONUN KÖK KANAL MİKROBİYOTASI VE POSTOPERATİF AĞRIYA ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ: PROSPEKTİF RANDOMİZE KONTROLLÜ KLİNİK ÇALIŞMA

UZMANLIK TEZİ

Abdulkadir TİFTİK

Tez danışmanı: Doç. Dr. Mehmet Burak GÜNEŞER

EKİM- 2022

ONAY SAYFASI



TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca her anlamda desteklerini esirgemeyen, bilgisi, sevgisi, iyi niyeti ve gülümser yüzü ile benim ve tüm çalışma arkadaşlarımın gönlünde yer eden, tecrübe ve tavsiyeleri ile yol gösteren, tüm tez sürecinde yanımda olan kıymetli hocam, tez danışmanım Doç Dr. Mehmet Burak Güneşer'e,

Uzmanlık eğitimim süresince gerek klinikte gerekse masabaşında ufuk açıcı sohbetleri ve derin bilgi paylaşımları ile ve aynı zamanda hayata dair yorumları ve tavsiyeleri ile her daim yanımda olduğunu hissettiren sevgili hocam Doç Dr. Asiye Nur Şahin'e,

Eğitimim süresince özellikle ilk dönem heyecanı ve acemiliğimde bilgisi ve tecrübesi ile yanımda olan ve özgüven veren değerli hocam Dr Öğr. Üyesi Betül Aycan Uysal'a

Uzmanlık eğitimim boyunca uzun klinik sohbetlerin yanında keyifli kahve sohbetlerinde de birlikteliklerinden çok mutlu olduğum Uzm Dt. Gamze Nalcı ve Uzm Dt. Fatma Begüm Peker'e,

Uzmanlık sürecinin ilk dönemlerinde bitmek bilmeyen sorularıma sabırla ve güzellikle karşılık veren, hayata dair sohbeti ile gülümseyerek ve içtenlikle yanımda olan sevgili Dr. Fatma Kaplan'a,

Gülerek ve dertleşerek tüm süreci birlikte sırtlandığımız, bir araya gelişimizi şükür sebebi gördüğüm sevgili arkadaşlarım Uzm Dt Melike Özbek'e, Uzm Dt Gözde Kotan'a, Dt. Çağrı Ceyli'ye, Uzm Dt Günay Mammadova'ya, Dt. Fuad Sadıqlı'ya, Dt. Nurefşan Gürsoy'a,

Eğitimim için lisede ilk gençlikte ya da lisansta evden okula her ayrılışımda gözlerimin dolmasına sebep olan sonsuz sevgileri, bitimsiz güzel duaları, tertemiz kalpleri ve inanılmaz fedakarlıkları ile ne kadar takdir ve teşekkür etsem kendimi eksik bulduğum, tüm yaşadıklarımın mümkün olmasının sebebi sevgili anneciğim, babacığım ve delikanlı kardeşlerime,

Ve her koşulda derin bir sevgiyle yanımda hissettiğim, sabırla ve sonsuz destekle yalnız tez sürecimi değil, hayatımı tümüyle güzelleştiren, canımın en içi biricik eşim Rumeysa'ya,

İçtenlikle teşekkür ederim.

Ekim 2022

Abdulkadir Tiftik

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Abdulkadir TİFTİK

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEŞEKKÜR	ii
BEYAN	iii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMALAR	vi
TABLO LİSTESİ	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
ÖZET.....	ix
SUMMARY.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Apikal Periodontitis	4
2.1.1. Etiyoloji ve Prevalans	4
2.1.2. Bir Enfeksiyöz Hastalık Olarak Apikal Periodontitis	6
2.1.2.1. Mikrobiyal Patojenite ve Virülans Faktörleri	7
2.1.2.2. Mikrobiyotanın Dağılımı: Enfeksiyonun Anatomisi	9
2.1.2.3. Biyofilm Bakteri Etkileşimi	10
2.1.3. Biyofilm İlişkili Bir Hastalık Olarak Apikal Periodontitis	12
2.1.4. Mikrobiyal Tanılama İçin Teknikler	14
2.1.4.1. Endodontik Mikrobiyoloji Çalışmaları.....	17
2.1.5. Endodontik Mikrobiyotanın Zenginliği	18
2.1.5.1. Primer Kanal İçi Enfeksiyon	19
2.1.5.2. Semptomatik/Asemptomatik Enfeksiyonlar	20
2.1.6. Çalışmamızda Araştırılan Bakteri Türleri	21
2.1.6.1. Bacteriodes	21
2.1.6.2. Firmicutes	22
2.2. Apikal Periodontitis Tedavisi	22
2.2.1. Endodontide Kullanılan İrrigasyon Solüsyonları	23
2.2.1.1. Sodyum Hipoklorit	23
2.2.1.2. Klorheksidin	25
2.2.1.3. EDTA	25
2.2.2. Endodontik İrrigasyon Teknikleri	25
2.2.2.1. Pozitif Basınç İrrigasyonu	26
2.2.2.2. Apikal Negatif Basınç İrrigasyonu	27

2.2.2.3. Sonik ve Ultrasonik Cihazlar ile İrrigasyon Aktivasyonu.....	28
2.2.2.4. Çalışmamızda Sonik Aktivasyon için Kullanılan EDDY Cihazı.....	30
2.3. Postoperatif Ağrı	32
2.4. Ağrının Değerlendirilmesi ve Sayısal Derecelendirme Ölçeği	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM	34
3.1. Hasta Seçimi ve Değerlendirmesi	34
3.2. Dahil Edilmeme Kriterleri	35
3.3. Tedavi Protokolü ve Kök Kanalından Örnek Alma İşlemleri	35
3.4. Postoperatif Ağrı Değerlendirmesi	40
3.5. Örneklerin Saklanması ve Değerlendirilmesi	40
3.6. PCR Analizi	40
3.6.1. DNA İzolasyonu	40
3.6.2. Gerçek Zamanlı PCR Deneyleri	41
3.6.3. PCR Sonuçlarının Yorumlanması	42
3.7. İkinci Seans ve Tedavinin Sonlandırılması	43
3.8. İstatistiksel Analiz	44
4. BULGULAR	45
5. TARTIŞMA	49
5.1. EDDY ve İrrigasyonun Değerlendirilmesi	51
5.2. PCR Tekniği ve Laboratuvar Aşamalarının Değerlendirilmesi	52
5.3. EDDY'nin Kök Kanal Mikrobiyotasına Etkisinin Değerlendirilmesi.....	54
5.4. EDDY'nin Postoperatif Ağrıya Etkisinin Değerlendirilmesi	54
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	58
7. KAYNAKLAR	59
8. EKLER	69
9. ÖZGEÇMİŞ	77

KISALTMALAR

LPS	: Lipopolisakkarit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EPS	: Eksopolisakkarit
PCR	: Polimer zincir reaksiyonu
DGGE	: Denatüre gradyan jel elektroforezi
T-RFLP	: Terminal sınırlı fragman uzunluk polimorfizmi
FISH	: Floresans in situ hibridizasyon
EDTA	: Etilendiamintetraasetikasit
PB	: Pozitif basınç
ANB	: Apikal negatif basınç
NSAİİ	: Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar
Ct	: E�ik döngüsü

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1	: Çalışmada kullanılan primer dizileri.....	42
Tablo 2	: Gerçek zamanlı PCR deneylerinde reaksiyon içeriği.....	42
Tablo 3	: Çalışmaya dahil edilen hastaların cinsiyetlere göre dağılımı	46
Tablo 4	: Gruplara göre PCR deney sonuçlarının karşılaştırılması	47
Tablo 5	: Gruplar arası ve gruplar içi ağırlık skorlarının karşılaştırılması.....	47

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1 : Tedaviye başlanmadan önce izolasyon sağlanması.....	37
Şekil 2 : Sterilizasyon örneğinin tüpe alınması.....	37
Şekil 3 : Kağıt kon ile kanal içerisinden örnek alınması.....	38
Şekil 4 : EDDY cihazının sonik aktivasyon için kullanılması.....	39
Şekil 5 : Kök kanalından Headström tipi eğre ile örnek alınması.....	39
Şekil 6 : DNA izolasyon aşaması.....	41
Şekil 7 : Biorad CFX96 C1000 Touch Termal Döngüleyici.....	43
Şekil 8 : Çalışmaya katılan hastaların dahil olma sürecini gösteren diyagram.....	45



**ASEMPTOMATİK APİKAL PERİODONTİTİSLİ DİŞLERDE EDDY CİHAZI İLE
YAPILAN SONİK AKTİVASYONUN KÖK KANAL MİKROBİYOTASI VE
POSTOPERATİF AĞRIYA ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ: PROSPEKTİF
RANDOMİZE KONTROLLÜ KLİNİK ÇALIŞMA**

ÖZET

Bu tez çalışmasının amacı kök kanal irrigasyonunun etkinliğini artırmak amacı ile kullanılan EDDY'nin kök kanal mikrobiyotasına ve postoperatif endodontik ağrıya etkisinin geleneksel irrigasyon ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesidir. Bu amaçla kök kanallarından alınan örnekler laboratuvarında Bacteroides ve Firmicutes bakteri gruplarının primer dizilerinin kullanıldığı gerçek zamanlı PCR deneylerine tabi tutulmuş ve mikrobiyal yükteki değişim araştırılmıştır. Hastalara tedavi sonrasında dağıtılan Sayısal Analog Skala aracılığı ile postoperatif ağrı ölçülmüştür.

Çalışmamıza Bezmialem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ne tedavi olmak amacı ile başvuran hastalardan belirlenen kriterleri karşılayan gönüllüler dahil edilmiştir. Buna göre tek kök ve tek kanallı dişlerinde asemptomatik apikal periodontitis bulguları bulunan, sağlıklı, erişkin ve son dönemde antibiyotik ve non steroid antienflamatuar ilaç kullanmamış olan endodontik tedavi gereksinimi bulunan bireyler iki gruba ayrılmıştır. Bir grupta geleneksel irrigasyon tekniği kullanılmışken diğer grupta EDDY cihazı kullanılmıştır. Her iki grupta da kök kanal tedavisine başlamadan önce steril pamuk peletler ile örnek alınmıştır. Bu örnekte bakteri varlığı tespit edilirse ilgili dişin çalışma dışı bırakılmasına karar verilmiştir. Kanal tedavisi sırasında şekillendirme ve irrigasyondan önce ve sonra olacak şekilde iki örnek alınmıştır. İlk seansın sonunda hastalara hissettikleri ağrıyı not alacakları sayısal analog skala dağıtılmıştır. İkinci seans randevularda bu skalalar toplanmış ve kanal tedavileri tamamlanmıştır.

Alınan kanal içi örnekler kullanılarak gerçek zamanlı PCR deneyleri gerçekleştirilmiştir. Sonuçların değerlendirmesinde t testi ve Mann-Whitney-U testi kullanılırken postoperatif ağrı sonuçlarının değerlendirilmesinde Friedman testi kullanılmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde EDDY cihazı hem Bacteroides ($p=0,023$) hem de Firmicutes ($p=0,002$) gruplarında daha yoğun bakteri eliminasyonu sağlamıştır. Postoperatif ağrı değerlendirmesinde ise yalnızca tedavi sonrasındaki 1. saatte EDDY grubunda anlamlı düzeyde daha fazla postoperatif ağrı saptanmıştır ($p=0,010$). Bunun dışındaki zamanlarda anlamlı farklılık görülmemiştir ($p>0,05$).

Çalışmamızda EDDY cihazının geleneksel irrigasyona göre faydalı olduğu saptanmıştır. Tedavi sonrası ilk saat dışında anlamlı postoperatif ağrı farkı oluşturmadığı belirlenmiştir. EDDY kullanılan daha fazla klinik çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: EDDY, gerçek zamanlı PCR, irrigasyon, sonik aktivasyon, postoperatif ağrı

EFFECT OF SONIC ACTIVATION USING EDDY DEVICE ON ROOT CANAL MICROBIOTA AND POSTOPERATIVE PAIN IN TEETH WITH ASYMPTOMATIC APICAL PERIODONTITIS: A PROSPECTIVE RANDOMIZED CONTROLLED CLINICAL TRIAL

SUMMARY

This study aimed to evaluate the sonic activation device EDDY's effect on root canal microbiota and postoperative pain by comparing traditional side vented needle irrigation. For this purpose samples collected from root canals went under real-time PCR study using primers of Bacteriodes and Firmicutes bacteria groups and searched for a change in samples microbial load. Patients are given Numeric Analog Scale to evaluate postoperative pain.

Patients who are systemically healthy, older than 18, and haven't gone any antibiotic or NSAID treatment lately referred to Bezmialem Vakıf University Dentistry Clinic for endodontic treatment were invited to participate in this study. Only the tooth with one root and one canal that show signs of asymptomatic apical periodontitis are included. Patients were separated into 2 groups randomly and during the endodontic treatment irrigation phase, EDDY activation was used on one group while side-vented traditional needle irrigation was used on the other. Both patients' teeth were isolated using a rubber dam and a sample was taken with a cotton pellet for sterilization check after disinfection protocol. It was decided that if there was a presence of bacteria in this sample, the tooth is going to be excluded from the study. Before and after shaping and irrigation protocols samples were taken from the root canal of each tooth. After the first session patients are given a numeric analog scale and questioned about the pain sensation. In the second session, scales were gathered and treatments were completed.

Root canal samples were analyzed with the real-time PCR method. T-test and Mann-Whitney U were used for laboratory statistics and the Friedman test was used for postoperative pain evaluation.

When the data were evaluated EDDY showed significantly higher bacterial elimination comparing traditional needle irrigation. It was revealed that the EDDY group showed greater bacterial elimination both in Bacteriodes ($p=0.023$) and Firmicutes (0.002) studies. On the postoperative pain evaluation, it was shown that only after 1 hour of treatment there was a significant difference in the EDDY group which showed greater pain ($p=0.010$). From 2 hours to 1 week there was not any significant difference among the groups ($p>0.05$).

In this study, it was revealed that the EDDY device causes significantly more bacterial elimination compared with traditional needle irrigation. Even if it causes more pain after 1 hour of treatment, there was no significant difference in pain after 2 hours, 1 day, 2 days, and 1 week compared with traditional irrigation. There is a need for more clinical trials using EDDY device.

Keywords: EDDY, sonic activation, agitation, irrigation, postoperative pain, realtime PCR

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Apikal periodontitis iç ve dış kaynakların sebep olabildiği bir enflamatuvar hastalıktır. Alveolar kemik, periodontal ligament ve sementin de dahil olduğu bu hastalık temelde çürük ve başka yollarla gelişen enfeksiyonun bir sonucudur. Bu enfeksiyonun görülmesinin en yaygın sebebi oral mikroorganizmalardır. Nitekim yapılan çalışmalarda mikroorganizmalardan arındırılmış ağız ortamlarına sahip farelerde pulpa ekspozu sonucunda nekroz ya da apikal periodontitis geliştiği gözlenmiştir. Bakteriler ya da bunların toksinleri apikal dokulardan çıkarak periapekte enflamatuvar yanıt oluşumuna sebep olmaktadır.

Bağışıklık sisteminin bir yanıtı olan bu enflamatuvar süreç içerisinde önce apikal enflamasyon gerçekleşmektedir. Bu safhada vazodilatasyon, damar geçirgenliğinde artış gibi vücudun genel savunma mekanizmasına dair öğeler bulunmaktadır. Bakteri invazyonu sonrasında ise apikal enfeksiyon oluşur. Bu durum da doku hasarı ile karakterizedir.

Normal koşullarda dentin-pulpa kompleksi steril durumdadır. Mine, sement gibi doğal bariyerlerin hasar gördüğü durumlarda bu yapı içerisine mikrobiyal invazyon gerçekleşmekte ve sonucunda pulpa enfeksiyonu gelişmektedir. Bu durum mine, sement çürükleri, çatlak ve kırıklar, iatrojenik faktörler gibi çeşitli yollarla gerçekleşebilmektedir. Bu sürecin ardından mikrobiyal kaynaklı pulpa ve periapikal doku hastalıkları süreci başlamaktadır.

Primer apikal periodontitis patogenezinin dahil olan bakteriler pulpa enflamasyonunun ya da nekrozun erken süreçlerinde ya da pulpa nekrozundan sonra herhangi bir zamanda olaya katılabilmektedir. Sürecin başındaki öncü türler zamanla yerlerini daha organize ve yapısal olarak güçlü türlerin etkileşimde bulunduğu bir çevreye bırakmaktadır. Bu organizasyon içinde bulunan bakteriyel komponentlerin uyarısı ile kimyasal mediyatörlerin salınımı sonucunda karakteristik olarak asemptomatik (kronik) apikal periodontitis lezyonlarında görülen kemik yıkımı uyarılmaktadır.

Araştırmalar apikal periodontitisin tıpkı diş çürükleri ve periodontal hastalıklar gibi biyofilmlerin dahil olduğu bir hastalık olduğunu ortaya koymuştur. Bakteriler, ana

kök kanalı içerisinde sıvı fazda asılı olarak bulunsa da çoğunlukla biyofilm yapıları şeklinde organize bir yapı içerisinde yer almaktadır. Kanal içerisindeki düzensizlikler, lateral kanallar, apikal dallanmalar biyofilmler tarafından istila edilebilmektedir. Bununla birlikte apikal periodontitisli dişlerin biyofilmlerinin dentin tübüllerini de istila ettiği tespit edilmiştir.

Ana kök kanalı içerisindeki planktonik türler çeşitli enstrümanlar ve malzemeler kullanılarak rahatlıkla elimine edilebilirken, biyofilm şeklinde organize olan yapıları ya da anatomik olarak erişilmesi güç yerde bulunan bakterileri uzaklaştırmak klinik olarak zorlayıcı olabilmektedir. Dolayısıyla bu tür durumlar özel tedavi stratejileri gerektirmektedir.

Kök kanal tedavileri endodontik hastalığı iyileştirmek için kök kanal boşluğundaki bakterilerin ortadan kaldırılması amacıyla gerçekleştirilmektedir. Mevcut durumda kök kanalı dezenfeksiyonu ve doldurulmasının ana kök kanalının şekillendirilmesi yoluyla mümkün olacağı bilinmektedir. Tek başına kök kanal şekillendirmesinin ve serum fizyolojik irrigasyonunun bakteriyel eliminasyon anlamında etkili olduğu gösterilmiştir. Fakat anatomik olarak zorlu bölgeler mikrobiyal biyofilmlerin uzaklaştırılmasında güçlük oluşturabilmektedir. Mekanik enstrümantasyonun tek başına mikrobiyal yükü tamamen ortadan kaldıramadığı belirlenmiştir.

Kök kanalındaki bakteriyel yükün tamamen ortadan kaldırıldığını ifade edecek şekilde ‘kök kanalının tümüyle sterilizasyonu’ kavramının kanal tedavisi için kullanımı mümkün değildir. Bunun yerine dezenfeksiyon kavramı hekimlerin kanal tedavisindeki çabasını karşılamakta olup dezenfeksiyon sürecinin en etkin hale getirilmesi için çalışmalar sürdürülmektedir. Bu çabalardan birisi de kök kanalında sonik cihazlar kullanılarak irrigasyon solüsyonunun aktive edilmesidir. Bu enstrümanlar kök kanalı içindeki solüsyonun hareketini sağlamaktadır. Böylece kök kanal duvarında bir kesme gerilimi ortaya çıkmakta ve buraya yapışık vaziyetteki biyofilmin uzaklaştırılması hedeflenmektedir.

Yakın zamanda piyasaya sürülen EDDY cihazı sonik aktivasyon ile çalışmaktadır. Bir polimer uca sahip bu cihaz 6000 Hz frekansa kadar çalışabilmektedir. Yüksek amplitüdlü bir aktivasyon oluşturarak irrigasyon etkinliğinin artırılması hedeflenmektedir.

Kök kanal tedavisinin amacı hastalığın ortadan kaldırılması ile birlikte hastaların ağrı gibi şikayetlerinin de yok edilmesidir. Fakat endodontik tedavide postoperatif ağrı klinikte rastlanan istenmeyen bir durumdur. Postoperatif endodontik ağrıyı araştıran bazı çalışmalarda insidansın %15-20 aralığında olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmamızda amacımız asemptomatik apikal periodontitis tanısı konmuş tek kanallı dişlerde EDDY cihazı kullanılarak sonik güçle aktive edilmiş irrigasyonun kanal içerisindeki bakteriyel eliminasyona ve postoperatif ağrıya olan etkilerini belirlemektir. Bu bağlamda endodontik tedavi endikasyonu konmuş tek kanallı dişlere sahip hastaların kanal tedavileri gerçekleştirilmiş ve deney grubunda EDDY cihazı kullanılarak aktivasyon gerçekleştirilmiştir. Kök kanalı içerisinde örnekler alınarak PCR analizi gerçekleştirilmiştir. Kanal tedavisi seans arasında hastalara dağıtılan Sayısal Analog Skala yardımı ile postoperatif ağrı takibi gerçekleştirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Apikal Periodontitis

Periradiküler dokuların herhangi bir hasara karşı tepkisi, vücudun başka bölgelerindeki bağ dokularında görülen yanıtta farklı değildir. Yanıt, doğal ve kazanılmış bağışıklık sistemlerinin düzenlediği inflamatuvar reaksiyon şeklinde açığa çıkar. Kök kanalları içerisindeki pulpanın mikrobiyal enfeksiyonu apikal periodontitisin primer sebebi olsa da periapikal dokuların patolojik değişimleri genellikle direkt olarak mikroorganizmaların kendileri ile ilişkili değildir. [1, 2] Genelde toksinler, toksik metabolik yan ürünler ve kök kanalındaki bozulmuş pulpa dokusu immün yanıtı oluşturmaktadır. Endotelyal hücreler, doğal ve kazanılmış bağışıklık hücreleri, immünglobulinler, inflamatuvar mediyatörler, proinflamatuvar sitokinler, kemokinler ve nöropeptidler gibi yapıların da olaya dahil olması ile birlikte çok çeşitli inflamatuvar süreçler ortaya çıkabilmektedir. Periapikal dokulardaki konak savunması ile mikrobiyal yük arasındaki dinamik dengeye bağlı olarak apikal periodontitis koruyucu ya da yıkıcı olabilmektedir. Ne yazık ki nekrotik pulpalı kök kanalına yerleşmiş olan bakteriyel biyofilm bir kan dolaşımı olmadığından konak savunmasında ya da antibiyotik tedavisinden mahrum kalmaktadır. Bakteriyel toksinler ve yan ürünlerin sürekli olarak kök kanal sisteminden periapikal alana ulaşmasından dolayı yaralı periapikal dokuların tamiri ya da rejenerasyonu için gerekli girişimler sonuçsuz kalmaktadır. Ancak mikroorganizmalar kök kanal sisteminden etkin şekilde elimine edilir ya da sistem içerisine hapsedilirse periapikal dokular orijinal yapılarını tamir etme yeteneğine sahiptir. [3]

2.1.1. Etiyoloji ve Prevelans

Apikal periodontitis temelde bakteriyel enfeksiyonun sebep olduğu bir hastalıktır ve alveolar kemik, periodontal ligament ve sementin patolojik değişikliklerini ihtiva etmektedir. Apikal periodontitis eksojen ve endojen faktörlerden kaynaklanabilmektedir. Eksojen kaynaklar arasında mikroorganizmalar, bunların toksin ve zararlı metabolik yan ürünleri, kimyasal ajanlar, mekanik irritasyon, yabancı cisimler ve travma bulunmaktadır. Endojen olarak ise ürat ve kolesterol kristalleri gibi

konağın metabolik ürünleri, osteoklastları aktive eden sitokinler ve diğer inflamatuvar mediyatörler sayılabilir. [4, 5]

Çürük ya da başka yollarla meydana gelmiş kök kanalındaki pulpanın enfeksiyonu apikal periodontitisin temel sebebidir. Kakehashi ve ark. tarafından gerçekleştirilen klasik çalışma, farelerde pulpa nekrozu ve periradiküler enflamasyon gelişiminin pulpanın ağız mikroorganizmalarına açık hale getirildiğinde meydana geldiğini ortaya koymuştur. [1] Aynı çalışmada mikroorganizmalardan izole edilmiş farelerde pulpa nekrozu ya da periapikal enflamasyon gelişmediği tespit edilmiştir. Benzer süreçler insanlar için de işlemektedir. Sağlam bir kuru ve nekrotik pulpası olan travmatize insan dişlerinden alınan örneklerde bakteriyel kontaminasyon görülmediğinde periapikal kemik yıkımının da bulunmadığı tespit edilmiştir. [6] Böylece apikal periodontitis gelişiminde bakterilerin asıl rolü oynadığı konusunda kanıtlar elde edilmiştir.

Bakteriyel toksinler ve zararlı metabolik yan ürünler kök kanal sisteminden apikal dokulara çıkarak periapikal inflamatuvar yanıt oluşturma kabiliyetine sahiptir. [7, 8] Apikal periodontitis bu yapıların dokulara yayılımı ile oluşabildiği gibi, kök kanalından orijin alan bakterilerin periapikal alana direkt olarak invazyonu sonucunda da oluşabilmektedir. Bu noktada apikal enflamasyon ile apikal enfeksiyon kavramlarının farkını ortaya koymak önemlidir. *Apikal enflamasyon*, vazodilatasyon, damar geçirgenliğinde artış ve eksüdasyon ile karakterize olan periapikal dokuların irritasyonlara verdiği tepkiyi ifade etmektedir. *Apikal enfeksiyon* ise mikroorganizmaların direkt olarak periapikal dokularda bulunmaları ve sonucunda doku hasarına neden olmalarını belirtmektedir. Örneğin şiddetli immünsüprese bir hastada inflamasyon olmadan enfeksiyon görülebilmektedir. Ya da miyokart enfarktüsü, serebral enfarktüs, fiziksel/kimyasal yaralanmalar gibi durumlarda enfeksiyon olmadan enflamasyon görülebilmektedir. [9]

Nekrotizan gingivitis, marjinal periodontitis, aktinomikoz, tüberküloz, bakteriyel bronşit gibi enfeksiyon kaynaklı hastalıklarda genellikle bakteriler ilgili doku ve organlarda bulunmaktadır. [10] Fakat apikal periodontitis primer olarak enfeksiyöz bir hastalık olmasına rağmen bakteriler abse oluşumu, drenaj sağlanan fistül yolu varlığı ya da ekstraradiküler enfeksiyon gibi durumların dışında genellikle periapikal dokularda değil kök kanal sisteminde bulunmaktadır. [11-15] Güncel büyük hipotezlerden birisi apikal periodontitisin bakteriyel toksin, enzim ve zararlı

metabolitlerin periapikal dokulara girişi ile tetiklendiğini ifade etmektedir. [16] Bazı apikal periodontitis lezyonlarında az miktarda bakteri kolonizasyonu her zaman periradiküler enfeksiyona işaret etmemektedir. Periapikal enfeksiyon virölansa ve periapikal dokulardaki mikroorganizmaların spesifik kombinasyonlarına ve sayısına bağlıdır. [17]

Apikal periodontitis yaygın bir sağlık problemidir. [18] Son zamanlarda yapılan bir meta analiz çalışmasında toplam 34668 bireye ait 639357 adet diş incelenmiştir ve neticede apikal periodontitis prevalansı birey bazında %52 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda dünyadaki erişkin nüfusun neredeyse yarısının en az bir dişinin apikal periodontitis gösterdiği ortaya konmuştur. [19]

2.1.2. Bir Enfeksiyöz Hastalık Olarak Apikal Periodontitis

Kök kanalında bakteri varlığı ilk kez 17. Yüzyılda Antony van Leeuwenhoek tarafından saptanmıştır. Ancak 200 yıl sonra bakteri ve apikal periodontitis arasındaki neden-sonuç ilişkisine dair kanıtlar elde edilebilmiştir. Özellikle 1894 yılında Miller tarafından yayımlanan makalede kök kanalı içerisindeki kok, basil ve spiroketlerin apikal periodontitis ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. [20] Miller'dan 70 yıl sonra Kakehashi ve arkadaşları tarafından yapılan çalışma ile birlikte bu hipotez doğrulanmıştır. [1] Yazarlar sıradan fareler ile mikroorganizmalardan arındırılmış farelerin dental pulpalarını ağız ortamına açmış ve ortaya çıkacak yanıtı gözlemlemişlerdir. Histolojik değerlendirmeler sıradan farelerde pulpa nekrozu ve apikal periodontitis gelişimini göstermişken, bakterisiz farelerin pulpaları yalnız vital kalmamış, sert doku ile onarım da gerçekleşmiştir. Dentin benzeri sert doku pulpayı ağız ortamından yeniden izole etmiştir.

Apikal periodontitis gelişiminde bakterilerin rolünü ortaya koyan bir başka çalışma da Sundqvist tarafından gerçekleştirilmiştir. [6] İleri anaerobik kültür teknikleri kullanılarak travma sonrası nekrotik hale gelmiş dişlerin kök kanalları değerlendirilmiştir. Yalnızca radyografik olarak apikal periodontitis kanıtı bulunan dişlerin kök kanallarında bakteri saptanmıştır. Bu çalışmanın bulguları aynı zamanda enfeksiyon söz konusu olmadığında yalnız nekrotik pulpa dokusunun ya da durgun kanal içi doku sıvısının apikal periodontitis lezyonunu indüklediğini ortaya koymuştur.

Möller ve ark. da yaptıkları çalışmada apikal periodontitisin mikrobiyal kaynağına ilişkin güçlü kanıtlar olduğunu tespit etmiştir. [21] Maymun dişlerini kullandıkları çalışmada nekrotik ve enfekte edilmiş dişlerin apikal periodontitis lezyonu geliştirdiğini fakat nekrotik ve enfekte olmayan dişlerin periapikal dokuda anlamlı patolojik değişim göstermediğini belirlemişlerdir.

Apikal periodontitise sebep olan mikroorganizmaların kök kanal sisteminde primer olarak biyofilm şeklinde organize oldukları bilinmektedir. Nair, kanal içi biyofilmleri gözlemişken, Ricucci ve Siqueira primer ve tedavi sonrası apikal periodontitis görülen dişlerde bakteriyel biyofilm prevalansının yüksekliğini ortaya koymuşlardır. [22, 23]

2.1.2.1. Mikrobiyal Patojenite ve Virülans Faktörleri

Mikroorganizmaların hastalıklara sebep olma yeteneğine *patojenite* denmektedir. *Virülans* ifadesi ise mikroorganizmanın patojenite derecesi için kullanılmaktadır. *Virülans faktörleri* patojeniteye sebep olan yapısal hücre komponentleri, mikrobiyal ürünler ya da diğer stratejileri içerisine almaktadır. Örneğin, bazı bakteriler bir araya gelerek biyofilm oluşturmakta ve konak savunmasından bu şekilde kaçmaktadır. Konakta rutinde hastalığa sebep olan mikroorganizmalar *primer patojen* olarak isimlendirilmektedir. Diğer grup yalnız konak savunması zayıfladığı zaman hastalık sebebi olmaktadır ve *fırsatçı patojen* olarak adlandırılmaktadır. Normal zamanda konak üzerinde pek çok mikroorganizma hayat sürmekte ve konak bundan en büyük faydayı dış mikroorganizmalara karşı savunma noktasında görmektedir. Fakat dengenin bozulduğu bazı durumlarda da kommensal bakteriler avantaj elde etmektedir. Endodontik enfeksiyona dahil olan bakterilerin pek çoğu normalde de ortamda bulunan bakterilerdir. Konak-bakteri ilişkisindeki denge bozulduğunda bu bakteriler fırsatçı patojen haline gelmektedir. [3]

Primer apikal periodontitis patogenezi dahil olan bakteriler pulpa enflamasyonunun ve nekrozunun erken süreçlerinde ya da pulpa nekrozundan sonra herhangi bir zamanda olaya dahil olabilmektedir. İlk zamanlarda olaya dahil olan bakteriler derin çürük lezyonların bulunan ya da etkilenen alanda biriken tükürükten kaynak alan bakterilerdir. Pulpal dokunun ekspoz hale gelmesinden çok önce dentin tübülleri aracılığı ile ilerleyen bakteri ürünleri enflamasyon sürecini uyarmaktadır.

Ekspoz durumundan sonra, dokunun üzeri çürük biyofilmindeki bakteriler tarafından istila edilmektedir. Ekspoz pulpa bakteri ve ürünleri ile direkt kontakt halindedir ve şiddetli enflamasyon yanıtı vermektedir. Bu bakteri-konak mücadelesi bakteri lehine sonuçlandığında nekroz gerçekleşir ve bakteriler nekrotik dokuyu istila etmeye başlar. Bu durum kök kanalının tamamının nekrotik hale gelmesi ve öncü bakteri türleri tarafından istila edilmesi haline kadar devam etmektedir. [3]

Apikal periodontitis hastalık sürecinin başlamasında öncü türler çok önemli rol almaktadır. Bununla birlikte, bu türler anlamlı bir şekilde çevre modifikasyonu gerçekleştirerek diğer bakteri gruplarının yaşaması için ortamı elverişli hale getirmektedir. Bu yeni türler, korondan pulpa ekspozu yoluyla ya da dentin tübülleri aracılığı ile ortama gelebilmektedir ve sonuçta mikrobiyotada bir değişime sebep olmaktadır. Öncü türlerin yeniden düzenlenmesi ve sonradan gelen türlerin varlığı ile birlikte öncü türlerin hastalığın ileri safhalarında yer almaları beklenmektedir. Zaman içerisinde endodontik mikrobiyotaya yapısal olarak daha güçlü ve organize bir hal almaktadır. [3]

Başka bölgelerde yaşayan bakteriler için gerekli olan bazı virülans faktörleri kök kanal nekrozu sonrasında ortama gelen bakteriler için bir anlam ifade etmemektedir. Örneğin, nekrotik bir doku içerisinde konak savunması ile karşılaşmadıklarından konak savunma sisteminden kaçmak için gerekli virülans faktörleri önem arz etmemektedir. Fakat öncü türlerle ilişkiler, oksijen stresi ve besin yeterliliği gibi konular yeni türlerin çeşitliliği ve miktarını belirlemektedir. Sonuçta, radyografik olarak apikal periodontitis kanıtı belirlenmiş dişlerde hem öncü türlerin hem de sonradan katılan türlerin varlığından bahsedilmektedir. [24]

Nekrotik kök kanalında kolonize olan bakteriler periapikal dokulara hasar vermekte ve enflamatuvar değişimlere sebep olmaktadır. Aslında periradiküler enflamasyon, enfeksiyonun ön cephesi henüz apikal foramene ulaşmadan kendini göstermektedir. [25, 26] Bakteriler direkt ya da indirekt mekanizmalar ile dokular üzerindeki yıkıcı etkilerini ortaya koymaktadır. Genellikle enzimler, egzotoksinler, ısı-şok proteinleri ve metabolik son ürünler gibi sekresyon yoluyla ortaya konan maddeler konak hücrelerine ve bağ dokuda intersellüler matrikse direkt zarar vermektedir. [24] Bununla birlikte, lipopolisakkarit (LPS), peptidoglikan, lipoteikoik asit, fimbria, flagella, dış zar proteinleri ve veziküller, lipoproteinler, DNA ve ekzopolisakkaritler gibi bakteriyel yapısal komponentler konak immün yanıtını uyarak konağın kendini

savunmasının yanında şiddetli doku hasarının oluşmasına da neden olmaktadır. [24-27] Örneğin bakteriyel komponentlerin uyarısı ile enflamatuvar olan ya da olmayan hücrelerden sitokin ve prostoglandin gibi kimyasal mediyatörlerin salınımı sonucunda karakteristik olarak asemptomatik (kronik) apikal periodontitis lezyonlarında görülen kemik yıkımı uyarılmaktadır. [28] Apikal periodontitis patogeneğinde bakteriyel ürünlerin direkt etkileri olaya dahil olsa da indirekt yıkıcı etkilerin daha önemli olduğu söylenmektedir. [29]

Apikal periodontitis, konağa ve bakterilere dair pek çok faktörün dahil olduğu multifaktöriyel bir hastalıktır. Apikal periodontitisin farklı türlerinin patogeneğini uyarma kabiliyetine sahip tek bir tür bulunmamaktadır. Muhtemelen, süreç endodontik mikrobiyota içerisinde entegre ve uyumlu bir etkileşim gerektirmektedir. LPS şüphesiz en çok araştırılan ve en çok suçlanan virülans faktörüdür fakat apikal periodontitis sebebinde tüm suçu tek bir faktör üzerine yıkmak oldukça basite indirgeyen bir yaklaşımdır. Apikal periodontitisin farklı formları arasında ve farklı bireylerdeki aynı formlarında dahi bakteriyel mediyatörlerin olaya dahili anlamında basmakalıp bir süreçten bahsedilmemektedir. [29]

2.1.2.2. Mikrobiyatanın Dağılımı: Enfeksiyonun Anatomisi

Ortaya konan kanıtlar apikal periodontitisin diş çürükleri ve periodontal hastalıklar gibi biyofilm ilişkili bir hastalık olduğunu göstermiştir. Morfolojik çalışmalara göre primer enfeksiyonlarda kök kanal mikrobiyotası kok, rod, filament ve spiroket türleri tarafından domine edilmektedir. Mantar türler sporadik olarak bulunmaktadır. [30, 31] Planktonik bakteriler ana kök kanalı içerisinde sıvı fazda asılı olarak, nekrotik pulpada ise hapsolmuş vaziyette gözlense de bakterilerin pek çoğu sapsız çok türlü biyofilmler şeklinde organize olarak kök kanalını istila etmektedir. [26-32] Lateral kanallar, apikal bağlantılar ve ana kanalları bağlayan istmuslar bakteri biyofilmi ile dolmuş olabilmektedir. [33, 34]

Endodontik biyofilmlerdeki bakteriler genellikle dentin tübüllerini penetre ederken görülmektedir. Apikal periodontitis lezyonları bulunan dişlerin %70-80 kadarında dentin tübül enfeksiyonu görülmektedir. [35] Dar bir penetrasyon genellikle daha sık görülmekle birlikte bakteri hücreleri bazı dişlerde 300 µm kadar ilerleyebilmektedir. [31] *In situ* araştırmalarda dentin tübülleri içerisinde bölünmekte

olan bakteri hücrelerinin varlığı saptanmıştır. Bu durum bakterilerin tübül içerisinde yıkıma uğrayan odontoblast uzantıları, denatüre kollojenler, enfeksiyon sürecinde canlılığını kaybetmiş bakteriler, kapillerlerden tübüllere giriş yapan kanal içi sıvılar gibi çeşitli besin kaynaklarına ulaşabildiğini göstermektedir. [31]

Porphyromonas endodontalis, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinomyces israelii*, *Propionibacterium acnes*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* ve streptokokların da aralarında bulunduğu endodontik patojen kabul edilen mikroorganizmaların dentin tübüllerini penetre etme kabiliyeti olduğu *in vitro* olarak gösterilmiştir. [36-39] Yapılan bir klinik çalışmada kök dentininde farklı derinliklerdeki bakteri türleri tanımlanmıştır ve bunların pek çoğu Prevotella, Porphyromonas, Fusobacterium, Veillonella, Peptostreptococcus, Eubacterium, Actinomyces, laktobasil ve streptokok türlerine aittir. [40] Matsuo ve ark. yaptıkları çalışmada apikal periodontitisli enfekte çekilmiş dişlerin kanal duvarlarındaki dentin tübüllerini incelemiştir. *Fusobacterium nucleatum*, *Pseudoramibacter alactolyticus*, *Eubacterium nodatum*, *Lactobacillus casei* ve *Parvimonas micra* türlerinin varlığı bu çalışmada belirlenmiştir. [35]

Ana kök kanalı içerisinde bulunan planktonik bakteriler endodontik enstrümanlar ve malzemeler kullanılarak kolayca elimine edilirken kanal duvarları üzerinde biyofilm şeklinde organize olan ya da istmuslar, dentin tübülleri ve lateral kanallarda saklanan bakterilere erişmek oldukça zordur ve elimine etmek için özel tedavi stratejileri gerektirmektedir. [33-41]

2.1.2.3. Biyofilm Bakteri Etkileşimi

Biyofilm; genellikle polisakkarit olan ekstrasellüler polimerik yapıdaki (EPS) matriks içerisinde dağılmış, yüzeye sıkıca tutunan hücreler tarafından karakterize edilen multisellüler mikrobiyal topluluktur. [42] Biyofilm oluşturma yeteneği bir virülans faktörü olarak kabul edilmektedir ve dünya genelinde bakteriler tarafından oluşturulan hastalıkların %65-80'inden bakteriyel biyofilmler sorumlu tutulmaktadır. [43]

Biyofilmlerdeki mikrokolonileri oluşturan bakteriler rastgele olmayacak bir şekilde EPS matriks içerisinde gömülü bulunmaktadır ve su kanalları tarafından ayrılmaktadır. [42, 44, 45] Mikrokoloniler genellikle kuleler ya da mantarlar şeklinde

şekillenmektedir. Dental biyofilmler 300'den fazla hücre tabakası kalınlığına ulaşabilmektedir. Her bir mikrokoloni tek bir tür barındırabilmekle birlikte genellikle içeriğinde birden fazla tür bulunmaktadır. [45]

Biyofilmin olgunlaşması ile birlikte, ekstrasellüler polisakkaritler salgılanmaya devam eder ve nihayetinde tüm yapının yaklaşık %85 kadarını oluştururlar. Matriks primer olarak polisakkaritler tarafından oluşturulsa da protein ve nükleik asitler de içermektedir. Matriks genel olarak biyofilmin iskeletini oluşturmakla beraber besin, sıvı ve temel enzimler içererek biyolojik olarak aktif bir rol alır. Aynı zamanda biyofilm matriks aracılığı ile eksojen tehditlerden korunmaktadır. [43-46]

Uzak popülasyonlar ve mikrokoloniler arasında mevcut su kanalları aracılığı ile primitif bir dolaşım sistemi oluşmaktadır ve bu şekilde substratlar, son ürünlere, sinyal molekülleri taşınmaktadır. Böylece bakteriler arası iletişim ve ilişkiler bu kanallar aracılığı ile sürdürülmektedir. [47]

Biyofilm içerisinde bulunan mikrokoloniler planktonik bakterilerin yüzeydeki kolonizasyonundan köken almaktadır. Biyofilm oluşumunun ilk zamanlarında bakteriler pek çok farklı konak proteinlerine bağlanmakta ve diğer bakteriler ile koagregasyon gerçekleştirmektedir. Bu etkileşimler sonucunda gen ekspresyonu, büyüme hızı ve protein üretiminde farklılıklar meydana gelmektedir. Yapılan çalışmalara göre aynı hücrelerin planktonik halleri ile biyofilm içerisindeki halleri arasında gen ekspresyonu açısından %20-70 arasında değişiklik olduğu tespit edilmiştir.[48, 49] Biyofilmdeki bakteriler arasında hücre-hücre iletişimini sağlayan *quorum sensing* denen iletişim biçimleri kullanılarak gen ekspresyonu kontrol edilmektedir. [3]

Biyofilm topluluğunda yaşamak bakteriler için pek çok avantaj barındırmaktadır. Büyüme, metabolik çeşitlilik ve etkinlikte artış, genetik değişimler ve bakteriler arasında iletişim, dış tehditlerden (konak savunması, antimikrobiyal ajanlar, çevresel stres vb) korunma gibi noktalarda biyofilmler geniş bir habitat aralığı sağlamaktadır. [50]

Biyofilm organizasyonu patojenitenin artmasını sağlamaktadır. Hastalık oluşturmak için bakterinin yüzeye tutunması, konaktan besin elde etmesi ve çoğalması, dokuları istila edebilmesi, konak savunmasını aşması ve üstesinden gelmesi, doku hasarını indüklemesi gerekmektedir. Hastalığın her bir sürecinde farklı

bir virölans faktörü rol almaktadır. Topluluk halinde yaşayan bakterilerde bu virölans faktörleri bir ortak çalışma şekline dönüşmektedir. Belli türler bir hastalıktan birden fazla rol alabilmekte ya da farklı türler benzer amaca hizmet edebilmektedir. Bu durum, farklı bireylerde farklı bakteriyel kompozisyonların aynı hastalığa sebep olmasını açıklamaktadır. Örneğin çok türlü topluluklarda patojenitenin artması, değişmesi ya da sinerjist bir etki oluşturması gibi farklı etkileşimler ortaya çıkabilmektedir. [3, 51]

2.1.3. Biyofilm İlişkili Bir Hastalık Olarak Apikal Periodontitis

Apikal periodontitisin polimikrobiyal biyofilm kaynaklı bir hastalık olduğuna dair kanıtlar genellikle *in situ* morfolojik araştırmalarca ortaya konmuştur. Bu çalışmalar kök kanalını istila eden bakterilerin genellikle ana kanal duvarlarında, apikal dallanmalarda, lateral kanallarda ve istmuslarda bulunan biyofilmlerde bulunduğunu tespit etmiştir. [22, 26, 33, 52]

Biyofilm ilişkili bir hastalık olarak apikal periodontitis konsepti bu gözlemler üzerine inşa edilmiş olsa da yakın zamanda Ricucci ve ark. tarafından biyofilmler ve apikal periodontitisin farklı formları üzerine bir prevalans çalışması gerçekleştirilmiştir. [23] Bu çalışmanın bazı önemli bulguları aşağıdaki gibidir:

- Primer apikal periodontitis veya tedavi sonrası gelişmiş apikal periodontitisli dişlerin kök kanallarının apikal kısımlarının yaklaşık %80'inde kanal içi biyofilmlerin varlığı tespit edilmiştir.
- Bireyler arasında endodontik biyofilmlerin morfolojisi farklılıklar göstermektedir. (Örneğin: kalınlık, morfolojiler, bakteriyel hücreler/ekstrasellüler matriks oranı)
- Biyofilmlerin altında kalan dentin tübülleri sıklıkla bakteri hücrelerei tarafından istila edilmektedir.
- Biyofilmler sıklıkla apikal dallanmaları, lateral kanalları ve istmuslar da çevrelemektedir.
- Geniş periapikal lezyonlu dişlerde bakteriyel biyofilmler daha sık görülmektedir. Çünkü apikal periodontitisin oluşumu ve radyografik olarak görünür olması için daha uzun süre gerekmektedir. Bu durum, daha uzun süreli

bir patoloji süreci ifade etmektedir ve daha ‘yaşlı’ bir kanal içi enfeksiyon söz konusudur. Böyle bir enfeksiyonda, olaya dahil olan bakteriler kendilerini çevreye adapte etmede, olgun ve organize bir biyofilm oluşturmada yeterli vakti elde etmektedir. [53]

- Apikal kist, abse ve granülom ilişkili dişlerde görülen kanal içi biyofilm prevalansı sırası ile %95, %83, %69,5 olarak bulunmuştur. Biyofilmler anlamlı bir şekilde epitelize lezyonlar ile ilişkilidir. Büyük lezyonlu dişlere benzer şekilde patolojik sürecin yaşı biyofilmlerin kistler ile olan ilişkisini açıklamaktadır.
- Ekstraradiküler biyofilmlerin sıklığı ise daha düşük bulunmuştur. Vakaların yalnız %6’sında biyofilm tespit edilmiştir. Ekstraradiküler biyofilm tespit edilen vakaların tümünde klinik semptomlar görülmüştür.

Biyofilm ile enfeksiyöz hastalık arasında ilişki kurmak için bazı kriterler bulunmaktadır: [54, 55]

- Bakteriler bir yüzeye adezyon halinde ya da yüzey ile ilişki içerisinde olmalıdır.
- Enfekte dokunun direkt incelemesinde bakteriyel topluluk ya da mikrokolonilerinin ekstrasellüler bir matriks içerisinde bulunduğu gözlemlenmelidir.
- Enfeksiyon genellikle belirli bir alan ile sınırlıdır. Yayılma görülse dahi bu ikincil bir olaydır.
- Sorumlu mikroorganizmaların planktonik fazda yok edilebilmesine rağmen enfeksiyonun antibiyotikler ile ortadan kaldırılması zor ya da imkansızdır.
- Etkili olmayan bir konak savunması belirgindir. Bakteriyel kolonilerin etrafında konak enflamatuvar hücreleri bulunmaktadır.
- Biyofilmin eliminasyonu ya da anlamlı ölçüde çözülmesi hastalık sürecinin belirtilerinin ortadan kalkmasını sağlamaktadır.

Yukarıda bulguları ifade edilen Ricucci ve ark. yapmış oldukları çalışmaya göre apikal periodontitis bu kriterlerden beşini karşılamaktadır. Bakteri topluluklarının kök kanal duvarına tutunduğu bilinmektedir (Birinci kriter). Bakteri kolonileri

genellikle amorf ekstrasellüler matriks içinde bulunmaktadır (İkinci kriter). Endodontik biyofilmler genellikle kök kanalı içinde sınırlanmaktadır (Üçüncü kriter). Vakaların çok büyük çoğunluğunda biyofilmler enflamatuvar hücrelerin ve özellikle polimorfonükleer nötrofillerin akümüülasyonu ile karşılaşmaktadır (Beşinci kriter).

Dördüncü kriter için ise, kanal içi endodontik enfeksiyonların antibiyotikler ile aktif bir şekilde tedavi edilemediği yaygın bir şekilde bilinmektedir. [56] Sistemik antibiyotik kullanımının kanal içi enfeksiyonları tedavi etmemesinin temel sebebi ilacın avasküler nekrotik alan içerisindeki bakteriye ulaşamamasıdır. Kanal içerisindeki bakteri yerleşiminin temel formunun biyofilm oluşu da antibiyotik etkinliğindeki düşüş için bir başka açıklamadır. Son olarak altıncı kriteri karşılamak için açık bir potansiyel bulunmaktadır. Çünkü pek çok tedavi sonrası apikal periodontitis vakasında biyofilm varlığı tespit edilmiştir. Başarılı sonuçları olan kök kanallarında ise biyofilm varlığına rastlanmamıştır. [57]

2.1.4. Mikrobiyal Tanılama İçin Teknikler

Endodontik mikrobiyota geleneksel olarak kültür teknikleri ile araştırılmıştır. Kültür, gerekli besinleri ve uygun fizikokimyasal şartları (sıcaklık, nem, atmosfer, tuz konsantrasyonu, pH) sağlayarak mikroorganizmaların laboratuvar şartlarında çoğaltılması işlemidir. [58] Temel olarak kültür analizleri örnek alınması ve taşınması, dağıtım, dilüsyon, kültürleme, izolasyon ve tanılama aşamalarını içermektedir. [3] Endodontik örnekler alınırken ve laboratuvara aktarılırken canlılığı koruyan ancak destekleyici olmayan anaerobik ortamlar kullanılmaktadır. Ardından sonik olarak ya da vorteksleme işlemi ile karıştırılmakta, dilüe edilip çeşitli agar ortamlara aktarılmakta ve aerobik ya da anaerobik ortamlarda kültür edilmektedir. Uygun bir inkübasyon süresinin ardından koloniler subkültivasyon aşamasından geçirilir ve pek çok fenotip temelli yaklaşıma göre sınıflandırılır. Bu sınıflandırmalar koloni ve hücre morfolojileri, gram boyama teknikleri, oksijen toleransları, kapsamlı biyokimyasal karakterizasyon, gaz-sıvı kromatografisine göre metabolik son ürün analizlerini içermektedir. [59]

Endodontik enfeksiyonların kültür analizleri; apikal periodontitis etiyolojisi, farklı klinik koşullarda endodontik mikrobiyatanın kompozisyonu, tedavi protokollerinin mikrobiyal eliminasyon üzerine etkileri, mikroorganizmaların

antibiyotiklere tepkileri gibi konularda önemli bilgiler sağlamıştır. Fakat, kültür tekniğinin bazı önemli limitasyonları bulunmaktadır. [3]

Pek çok mikrobiyal türün kültürlenmesi ya da tanımlanması, üzerine çalışılan önemli bir konudur. Maalesef, yapay koşullar altında mikroorganizmaların tamamı çoğaltılamamaktadır. Çünkü bu mikroorganizmaların hangi besin ve fizyolojik ihtiyaçları duyduğu halen bilinmemektedir. Çok sayıda hidrofilik ve hidrofobik çevrede kültür-bağımsız teknikler kullanılarak yapılan çalışmalara göre bu sistemlerdeki kültüre edilebilir türlerin toplam popülasyona oranı %1'den dahi düşüktür. [60, 61] Bununla birlikte insanların oral kaviteyi de içeren farklı alanlardaki mikrobiyotadaki bakterilerin %50 ila %80 kadarı türleri hala bilinmeyen ve çoğaltılamayan bakterilerdir. [62, 63]

Zorunlu anaerob bakterilerin büyük çoğunluğu 1900'lü yılların başında çoğaltılamamaktaydı. Fakat anaerobik kültürleme tekniklerindeki gelişmeler neticesinde bu problem büyük oranda çözülmüş durumdadır. Bilinmelidir ki bir teknik ya da ortam pek çok farklı çevrede yaşamakta olan mikroorganizmaların izole edilip çoğaltılması için yeterli değildir. Çünkü göreceli olarak bakterilerin çoğunun gereksinimleri bilinmemektedir. Tanılama teknikleri bakterilerin çoğaltılmasını gerektirmemektedir. [64]

Bazı durumlarda, bakteri başarılı bir şekilde çoğaltılmış olsa da doğru bir şekilde tanımlanamamaktadır. Kültür bağımlı tanılama teknikleri referans türlerdeki fenotipik gözlemlere dayanmaktadır. Fakat fenotip ilişkili faktörlerin büyük çoğunluğu tanımlamada zorluklara ve hatta yanlış tanımlamalara yol açmaktadır. Sonuç olarak da fenotip-temelli tanımlamalar her zaman açık bir tanılama sağlamamaktadır. [65, 66]

Kültürlemenin getirdiği bu limitasyonları aşmak amacıyla bakteri çoğaltılmasına gerek kalmadan mikrobiyatayı daha gerçekçi bir şekilde tanımlamayı sağlayacak moleküler biyoloji araç ve prosedürleri geliştirilmiştir. [67, 68]

Mikrobiyal tanılama için uygulanan moleküler yaklaşımlar belirli genlerin mikrobiyal kimlik hakkında bilgiler içermesine dayanmaktadır. Pek çok gen içerisinde en sık 16S rRNA geni kullanılmaktadır çünkü bakteri boyunca bu gen yayılım göstermektedir. Yüksek bilgi sağlayacak kadar uzun fakat kolaylıkla dizilim gösterecek kadar kısadır, korunan ve değişken bölgeleri bulunmaktadır ve filogenetik ilişkilere dair sonuç çıkarmayı mümkün kılmaktadır.[69]

16S rRNA gen dizilerinden elde edilen veriler ile bilinen ya da bilinmeyen bakteriyel türler için hassas ve hızlı tanılama yapılması çoğaltmaya gerek kalmaksızın mümkün olmaktadır. Henüz çoğaltılamamış ya da karakterize edilememiş bakteriler de dahil hemen hemen tüm türlerin 16S rRNA genleri, bu genin korunan bölgelerine karşılık gelen geniş spektrumlu (ya da üniversal) primerlar kullanılarak polimer zincir reaksiyonu (PCR) yoluyla çoğaltılmaktadır. Değişken bölgelerin dizisi için kullanılan geniş spektrumlu primerlar hassas bakteriyel tanılama için bilgi sağlamaktadır. [3]

Mikroorganizmaları çalışmak için mevcut moleküler teknikler arasındaki tercih sorulan soruya göre belirlenmektedir.[70] Geniş spektrumlu PCR kullanımı ilgili çevredeki mikrobiyal çeşitliliği çözmektedir. Bakteriyel topluluk yapıları pirosekanslama ya da denatüre gradyan jel elektroforezi (DGGE) ve terminal sınırlı fragman uzunluk polimorfizmi (T-RFLP) gibi parmak izi teknolojileri ile analiz edilebilmektedir. Floresans *in situ* hibridizasyon (FISH) tekniği ile bol miktarda hedef tür hakkında bilgi edinilmektedir ve bunların doku boyunca sıralamaları (dama tahtası teknikleri, DNA mikro sıralamaları), türe spesifik tekli PCR, yuvalanmış (nested) PCR ve kantitatif gerçek zamanlı PCR teknikleri hedef türleri belirlemede klinik örnekler için kullanılmaktadır.

Moleküler biyoloji tekniklerinin avantajları aşağıda belirtildiği şekildedir: [3]

- Çoğaltılabilir ve henüz çoğaltılamayan türleri tespit edebilmektedir.
- Belirsiz ya da anormal fenotipik davranışlar gösteren türleri yüksek spesifikite ve hassasiyet ile tespit edebilmektedir.
- Klinik örneklerden direkt olarak türler tanımlanabilmektedir.
- Yüksek hassasiyet gösterirler.
- Hızlı çalışırlar. Pek çok teknik dakikalar ile saatler arasında geçen bir sürede mikrobiyal türleri belirlemektedir.
- Örnek alımı ve transportasyon sırasında dikkatlice kontrol edilmiş anaerobik şartlara gereksinim duymazlar.
- Antimikrobiyal tedavi sürecinde kullanılabilirler.
- Örnekler daha sonradan analiz edilmek üzere dondurulabilmektedir.
- DNA laboratuvarlar arasında kolaylıkla taşınabilmektedir.
- Ölü mikroorganizmalar tespit edilmektedir.

Moleküler biyoloji tekniklerinin limitasyonları ise şu şekildedir: [3]

- Pek çok kalitatif ya da semikantitatif veri sağlamaktadır.
- Pek çok dizi yalnız bir ya da birkaç türü bir seferde tespit edebilmektedir.
- Pek çok dizi yalnızca hedef türü saptamakta ve beklenmeyen türleri tespit edememektedir.
- Bazı diziler oldukça zahmetli ve masraflıdır.
- Geniş spektrumlu PCR'da homojenizasyon prosedürlerinde bias olabilmektedir.
- Çok pahalı olabilmektedir.

2.1.4.1. Endodontik Mikrobiyoloji Çalışmaları

Endodontik enfeksiyonlara dahil olan türlerin mikrobiyoloji çalışmaları için sergilenen yaklaşımlar kronolojik olarak sınıflandırıldığında beş nesil yaklaşım ortaya çıkmaktadır: [3]

- 1. Nesil Çalışmalar: Tanılama tekniği olarak kültür kullanılmıştır. Apikal periodontitis ile ilişkili pek çok çoğaltılabilir tür ortaya konmuştur.
- 2. Nesil Çalışmalar: PCR ve türevleri moleküler tekniklerde çoğaltılabilir bakteriler hedeftir. İlk nesilden elde edilen veriler onaylanmış ve güçlendirilmiştir. Bazı kültürü zor endodontik patojen adaylarının çalışmalara dahil edilmesi mümkün olmuştur.
- 3. Nesil Çalışmalar: PCR-klonlama dizileri, T-RFLP moleküler tekniklerinde endodontik enfeksiyonların daha kapsamlı bir araştırması mümkün olmuştur. Sadece çoğaltılabilenler değil, henüz çoğaltılamayan ve karakterize edilememiş bakteriler de çalışmalara dahil olmuştur.
- 4. Nesil Çalışmalar: PCR mikrodizileri moleküler tekniklerinde çoğaltılabilen ya da çoğaltılamayan bakteriler hedeflenmiştir. Endodontik enfeksiyonlarla ilişki içindeki türler ve filotipleri incelemek ve prevalans çalışmaları yapmak için kullanılmıştır.
- 5. Nesil Çalışmalar: Pirosekanslama moleküler tekniğinde endodontik enfeksiyonların daha kapsamlı analizi ve derin araştırması mümkün olmuştur.

Kültür çalışmaları apikal periodontitis patogeneğinde önemli rol alan bir dizi bakteri türünü ortaya çıkarmıştır. [71] Sonrasında geliştirilen kültür-bağımsız moleküler biyoloji teknikleri ile birlikte kültür bazlı teknikler yoluyla elde edilen bilgiler onaylanmakla kalmamış aynı zamanda önemli bir şekilde desteklenmiştir. [72] Moleküler teknikler sayesinde apikal periodontitis patogeneğinde rol alan kültür edilebilir türler yanında yeni endodontik patojenlerden de şüphelenilmiştir. [73] Moleküler çalışmalar ile birlikte endodontik enfeksiyonlardaki bakteriyel çeşitliliğe dair bilgiler önemli bir şekilde etkilenmiştir. Dört yüzden fazla bakteri türü çeşitli endodontik enfeksiyonlardan izole edilmiştir. [72] Bunların %45'i moleküler biyoloji çalışmalarınca bildirilmiş, %32'si kültür çalışmaları ile tespit edilmiştir. Toplam bakterilerin %23'ü hem kültür hem de moleküler biyoloji çalışmaları ile bildirilmiştir. Sonuç olarak endodontik mikrobiyatanın moleküler biyoloji teknikleri ile birlikte yeniden tanımlandığı ve yenilendiği belirtilmektedir. [72-74]

Çalışmamızda alınan örneklerden DNA izolasyonu gerçekleştirilmiş ve yalnızca çift zincir DNA'ya bağlanarak ışıma sağlayan SYBR Green boyası kullanılarak gerçek zamanlı PCR analizi sağlanmıştır. Böylece dördüncü nesil mikrobiyoloji çalışmalarına dahil olan bu teknik ile hassas ve tutarlı sonuç elde edilmesi hedeflenmiştir.

2.1.5. Endodontik Mikrobiyatanın Zenginliği

Ağız boşluğu, mikroorganizmaların vücutta en çok bulunduğu noktalardan birisidir. Virüsler, arkealar, mantarlar ve protozoaların da varlığına rağmen bakteriler açık bir şekilde buradaki en baskın türdür. Ağız boşluğundaki yaklaşık 10 milyar bakteriyel hücre olduğu tahmin edilmektedir ve kültür-bağımsız tekniklerle yapılan çalışmalar bunların %50 ila 60 kadarının çoğaltılıp karakterize edilemediğini belirlemiştir. [63, 75] Kültürleme yaklaşımları ile ağız ortamındaki bakteri türlerinin çeşitliliği ortaya konmuştur fakat moleküler teknikler uygulamaya girdikten sonra bunun çok daha fazla çeşitlilik arz ettiği belirlenmiştir. [76] İnsan ağız boşluğu içerisinde 1000'den fazla bakteri türü/filotipi tespit edilmiştir [77] fakat ileri DNA

pirosekanslama çalışmaları bu sayının halen yetersiz olduğunu ortaya koymaktadır. [78]

Endodontik enfeksiyonların geliştiği alanlar daha öncesinde steril alanlardır. Dolayısıyla normal mikrobiyata içermemektedirler ve burada tespit edilen herhangi bir tür endodontik patojen olmaya adaydır ya da en azından endodontik mikrobiyal toplulukta bir rol sahibidir. [3]

2.1.5.1. Primer Kanal İçi Enfeksiyon

Primer kanal içi enfeksiyon nekrotik pulpa dokusunun enfeksiyonudur. Tedavi edilmemiş dişlerde meydana gelmektedir ve primer apikal periodontitisin sebebidir. Bu sürece dahil olan mikroorganizmalar pulpa invazyonunun ilk dönem mikroorganizmaları olabilir ve bu durum pulpada enflamasyon ve sonrasında nekroz ile sonuçlanmaktadır. Bu bakteriler sonradan gelen türler de olabilmektedir. Sonradan gelen türler pulpa nekrozu sonrası kök kanalındaki çevresel şartları kullanarak yerleşebilmektedir. [3]

Primer enfeksiyonlar karışık (çok türlü) topluluk ile karakterizedir ve bariz bir şekilde anerobik bakteriler baskındır. Kök kanalı başına bakteri sayısı 10^3 ile 10^8 arasında değişmektedir. [79, 80] Moleküler çalışmalar enfekte olan her bir kanal başına ortalama 10 ila 20 tür/filotip varlığını ortaya koymuştur. [32, 81] Apikal periodontitis lezyonunun boyutunun kök kanalındaki bakteri türü ve hücrelerinin miktarı ile orantılı olduğu bulunmuştur. [82] Bir moleküler biyoloji çalışmasına göre kök kanalında taksonların sayısı açık bir şekilde lezyon boyutu ile orantılı bulunmuştur. [82] Beş milimetreden küçük lezyonlar yaklaşık 12 takson içerirken, 5-10 mm boyutlarındaki lezyon bulunan dişlerde 16 takson, büyük lezyonların bazılarında ise 20 takson çeşitliliği tespit edilmiştir. Sonuç olarak lezyon büyük olduğunda daha çok bakteri çeşitliliği ve yoğunluğu bulunmaktadır.

Primer enfeksiyonlarda en sık rastlanan bakteriler genel olarak gram negatif türlerdir (Örneğin: *Fusobacterium*, *Dialister*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Tannerella*, *Treponema*, *Pyramidobacter*, *Campylobacter*, *Veilonella*). Gram pozitif bakteriler de sıklıkla tespit edilmektedir (Örneğin: *Parvimonas*, *Filifactor*, *Pseudoramibacter*, *Streptococcus*, *Propionibacterium*, *Olsanella*, *Actinomyces*, *Peptostreptococcus*, *Eubacterium*). [3, 83-87] Primer enfeksiyonlardaki bakteriyel çeşitlilik çalışmalarda

farklılık göstermektedir. Bu farklılığın bazı sebepleri bulunmaktadır. Bunlar arasında tespit ve tanılama tekniklerindeki hassasiyet ve spesifite farklılıkları, örnekleme teknikleri, coğrafi yerleşim, klinik diagnoz ve hastalık sınıflandırmasındaki hassasiyet ve farklılıklar gösterilebilir.

Primer enfeksiyon bulunan dişlerde endodontik mikrobiyatanın yaklaşık %40 ila 66'sı çoğaltılmamış türleri içermektedir. [32] Enfekte kök kanallarındaki bakteriyel çeşitliliği araştıran moleküler çalışmalar sonucunda *Dialister*, *Prevotella*, *Solobacterium*, *Olsenella*, *Fusobacterium*, *Treponema*, *Eubacterium*, *Megasphaera*, *Veilonella*, *Selenomonas* türlerine rastlanmıştır. [87-90] Bazı çoğaltılmamış türler primer intraradiküler enfeksiyonlarda prevelansı en yüksek türler olabilmekte iken bazıları ağrı ile ilişkili olabilmektedir. [83] *Bacteriodes clone X083* endodontik enfeksiyonlarda en sık görülen filotiptir. [82, 91] Endodontik enfeksiyonlardan henüz çoğaltılmamış türlerin izole edilmesi apikal periodontitisin farklı formlarının patogenezinde rol alan önceden bilinmeyen bakteriler olabileceği fikrini doğurmuştur. Bakterilerin kültüre edilememesi ve fenotip olarak karakterize edilememesi önemsiz olduğu anlamına gelmemektedir. [3]

2.1.5.2. Semptomatik/Asemptomatik Enfeksiyonlar

Semptomatik apikal periodontitis ve akut apikal abseler endodontik enfeksiyonların şiddetli ağrılara sebep oluşuna tipik örneklerdir. Bu vakalarda enfeksiyon kanal içerisinde lokalizedir fakat aynı zamanda periradiküler dokulara da ulaşmıştır. Apse varlığı durumunda diğer anatomik boşluklara yayılım da mümkündür. Akut apikal abseler enfekte kök kanalı içerisindeki bakterilerin periradiküler dokulara çıkarak burayı istila etmesi ve sonuçta ekstraradiküler enfeksiyon oluşturarak pürülan enflamasyonu uyarması ile karakterizedir. Klinik olarak ağrı ve şişlik mevcuttur. Sinüslere ya da diğer fasiyal boşluklara yayılımı ve sellülit ya da diğer komplikasyonlara sebep olma potansiyeli bulunmaktadır. Endodontik abselerle ilişkili mikrobiyota kompleks yapıda olmakla birlikte anaerobik bakteriler baskın bulunmaktadır.[92-95] Moleküler teknoloji kullanılarak yapılan direkt kıyaslamaya göre bir apse vakasında ortalama 12 ila 18 takson görülürken, asemptomatik lezyonlara sahip kök kanallarında ortalama 7 ila 12 takson görülmektedir. [83, 96]

Apikal periodontitisin mikrobiyal kaynakları açıklanmış olsa da bir türün apikal periodontitisin herhangi bir işaret ya da semptomuna spesifik bir dahili konusunda güçlü bir kanıt elde edilmemiştir. Bazı gram negatif anaerobik bakterilerin semptomatik lezyonlarla ilişkisi öne sürülmüştür [83, 97-99] fakat aynı türlerin asemptomatik lezyonlarda da benzer sıklıkta görüldüğü saptanmıştır. [84, 86, 100, 101] Sonuç olarak semptomatik endodontik enfeksiyonların etiolojisinde sadece bakterilerin varlığının dışında başka faktörler de rol oynamaktadır. [102] Bu faktörler arasında aynı türlerin farklı alt türleri arasında değişkenlik gösteren virülans yetenekleri, karışık enfeksiyonlarda bakteriler arasındaki etkileşimlerin oluşturduğu sinerjist ya da additif etkiler, virülans faktörlerinin ekspresyonunu etkileyen çevresel koşullar, konak direnci ve eşlik eden herpes virüs enfeksiyonu sayılabilmektedir. Semptomların şiddeti bu sayılan faktörlerin bir kısmı ya da tamamının bir arada görülmesi ile ortaya çıkmaktadır. [102, 103]

DGGE, T-RFLP ya da pirosekanslama teknikleri kullanılarak yapılan moleküler çalışmalar semptomatik dişlerdeki bakteri topluluklarının asemptomatik olanlara göre anlamlı düzeyde farklı olduğunu ortaya koymuştur. [83, 104] Baskın türlerde görülen farklılıklar ve düzey değişiklikleri bakteriyel etkileşimlerin şeklini etkileyerek tüm bakteriyel topluluğun virülansını düzenlemektedir. Farklı türlerin varlığının etkileşim ağında değişikliklere sebep olduğu gösterilmiştir. [105]

2.1.6. Çalışmamızda Araştırılan Bakteri Türleri

2.1.6.1. Bacteriodes

Bacteriodes bakteri dünyasındaki büyük filumlardan birisidir. Normal insan florasında bulunan, anaerobik, spor oluşturmeyen gram negatif rodlardır. Geçmiş yıllarda *B. fragilis* olarak bilinen *Bacteriodes* grubunda günümüzde 20'den fazla alt grup bulunmaktadır. İnsan kolonunda çok sayıda bakteri bulunmakta iken bunların yaklaşık %25'ini *Bacteriodes* türleri oluşturmaktadır. [106]

Geçtiğimiz yıllar içerisinde insan oral florasında sakkarolitik, pigmenti olmayan çok sayıda *Bacteriodes* türü tespit edilmiştir. Bunlar arasında *B. buccae*, *B. veroralis*, *B. oulorum* gibi türler bulunmaktadır. Kök kanallarında yapılan bir çalışmada en sık görülen *Bacteriodes* türleri *B. buccae* ve *B. oris* olarak tespit edilmiştir. [107]

Bunun yanında kök kanallarında yapılan bir başka araştırmada en sık rastlanan Bacteriodes türleri olarak *B. intermedius* ve *B. endodontalis* belirlenmiştir. [108]

2.1.6.2. Firmicutes

Genel olarak *Firmicutes* filumu rijit ya da semirijit peptidoglikan içeren hücre duvarına sahip olmakla bilinmektedir. Filogenetik, fenotipik, kemotaksonomik ve patojenik olarak farklı karakteristik özelliklere sahip pek çok türü bünyesinde barındırmaktadır. Rodlar ve küreler olarak bulunan Firmicutes türlerinin kimileri flagella sahibi olduğundan hareketli görülmektedir. Pek çok alt türün insan florasında normal şekilde bulunduğu görülürken bazı türleri patojenik özellikler göstermektedir. [109]

Oldukça geniş bir filum olan Firmicutes grubunda *Clostridium*, *Peptostreptococcus* gibi türlerin bulunduğu Clostridia; *Mycoplasma*, *Ureaplasma* gibi türlerin bulunduğu Mollicutes; *Bacillus*, *Enterococcus* gibi türlerin bulunduğu Bacilli aileleri bulunmaktadır. [110]

Nitekim yapılan çalışmalarda enfekte kök kanallarının mikrobiyotaları araştırıldığında en sık rastlanan bakteriler arasında *E. faecalis*, *peptostreptokoklar* gibi Firmicutes filumunun alt türlerine ait bakterilerin var olduğu tespit edilmiştir. [111]

2.2. Apikal Periodontitis Tedavisi

Geçtiğimiz 50 yıl içerisinde apikal periodontitis etiyolojisinde mikrobiyal bir patogeneze varlığı kanıtlarla ortaya konmuştur. Sonuç olarak kök kanal tedavisi, endodontik hastalığı iyileştirmek için kök kanal boşluğundaki bakterilerin ortadan kaldırılması amacıyla gerçekleştirilmektedir. [112] Bununla birlikte mevcut durumda kök kanalının dezenfeksiyonu ve doldurulmasının ana kanalların genişletilmesi ile mümkün olduğu kabul edilmektedir. [113] Kök kanal şekillendirmesi kanal dezenfeksiyonunda iki ana amaca hizmet etmektedir: kanal içi doku ve patojenlerin direkt olarak mekanik eliminasyonu ve irrigasyon solüsyonlar ve kanal içi medikamentlerin gönderilmesi için gerekli alanın oluşturulması. [114]

Tek başına mekanik enstrümantasyonun veya serum fizyolojik gibi solüsyonlar eşliğinde yapılan mekanik enstrümantasyonun bakteriyel yükü düşürmekte etkili olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalardan birisi Byström ve Sundqvist tarafından

gerçekleştirilmiştir. On beş adet tek köklü apikal periodontitis tanısı almış dişin kullanıldığı çalışmada kanallar Hedström eğeler kullanılarak 40 numaraya kadar şekillendirilmiştir. İlk seans sonunda kanal içi bakteri yükünün 10^2 - 10^3 miktarında azaldığı ortaya konmuştur. Fakat 15 vakanın 8'inde beş seansın sonunda dahi tam olarak mikroorganizma eliminasyonu mümkün olmamıştır. [115]

Siqueira ve ark. irrigasyon solüsyonu olarak serum fizyolojisi kullandıkları çalışmalarında nikel titanyum döner aletlerle hazırlanmış kanalları incelemiş ve kök kanalındaki bakterilerin %90'ından fazlasının eliminasyonunda mekanik enstrümantasyonun daha etkili olduğunu bulmuşlardır. [116] Özetle tüm bu veriler mekanik enstrümantasyonun tek başına mikrobiyal yükü tamamen ortadan kaldıramadığını ortaya koymaktadır.

2.2.1. Endodontide Kullanılan İrrigasyon Solüsyonları

2.2.1.1. Sodyum Hipoklorit

Sodyum hipoklorit (NaOCl) patojenik organizmalara karşı etkinliği ve pulpa dokusunu çözme kabiliyetinden dolayı kök kanal tedavisi sırasında en sık kullanılan antimikrobiyal ajandır. NaOCl doku proteinleri ile temas ettiğinde kısa bir süre içerisinde nitrojen, formaldehit ve asetaldehit oluşmaktadır. Peptid bağları bozulmakta ve proteinler çözülmemektedir. [112]

NaOCl, organik doku ve yağ çözücüsü olarak çalışmaktadır. Yağ asitlerini çözerek tuz ve gliserol oluşturmakta ve böylece yüzey gerilimini düşürmektedir (sabunlaşma reaksiyonu). [117] Amino asitleri nötralize ederek su ve tuz oluşturmaktadır (nötralizasyon reaksiyonu). Hidroksil iyonlarının çıkışı gerçekleşerek pH seviyesinde düşüş meydana gelmektedir.

Klorin ve amino grupları arasındaki kloraminasyon reaksiyonu neticesinde hücre metabolizmasına müdahalede bulunan kloraminler meydana gelmektedir. Klorin, bakteriyel enzimleri inhibe ederek ve sülfhidril gruplarının geri dönüşümsüz oksidasyonuna neden olarak etki gösteren güçlü bir oksidandır. [117]

Ayrıca NaOCl güçlü bir bazik ajandır ($pH > 11$). NaOCl'nin antibakteriyel etkinliği bu yüksek pH seviyesinden kaynaklanmaktadır. Bu durum sitoplazmik zar bütünlüğüne etki etmekte, hücre metabolizmasında biyosentetik değişikliklere neden olmakta ve fosfolipid çözülmesine neden olmaktadır. [117]

Endodontik irrigasyon solüsyonu olarak NaOCl'nin %0,5 ile %6 arasında değişen konsantrasyonları kullanılmaktadır. Bazı *in vitro* çalışmalar yüksek konsantrasyonların *Enterococcus faecalis* ve *Candida albicans* gibi türlere karşı daha yüksek etkinlik gösterdiğini öne sürmektedir. [118] Bunun aksine hem düşük hem de yüksek konsantrasyonların benzer etkinlik gösterdiğini öne süren çalışmalar da bulunmaktadır. [115]

NaOCl gibi yüksek hızlı etkinlik gösteren biyosit malzemeler bile potansiyellerine erişebilmesi için yeterli çalışma süresine ihtiyaç duymaktadır. NaOCl'nin çözücü ve antibakteriyel etkinliklerinden sorumlu olan klorin stabil değildir ve doku çözülmesinin ilk aşamasında yaklaşık 2 dakika içerisinde tükenmektedir. Dolayısıyla devamlı olarak solüsyonun tekrarlanması ve yenilenmesi gerekmektedir. Belirli bir konsantrasyonda kullanılan solüsyonun kanal içerisinde ne süre ile kullanılması gerektiği konusunda literatürde henüz bir fikir birliği bulunmamaktadır. [119]

Zou ve ark. yaptıkları çalışmada NaOCl'nin dentin tübülleri içerisinde ulaştığı noktayı belirlemeye çalışmışlardır. Sonuçta 77 ile 300 µm arasında değişen değerlerde tübül penetrasyonu tespit edilmiştir. Bu çalışmada parametreler olarak konsantrasyon, zaman ve sıcaklık belirlenmiştir ancak tüm bu parametrelerin etkisi beklenenden daha düşük bulunmuştur. Konsantrasyonu %1'den %6'ya çıkarmak penetrasyonda %50-60'tan daha fazla artış sağlamamıştır. Uzun süreli uygulama ise penetrasyonu artırmıştır. [120]

Kronik apikal periodontitise sahip dişlerin kök yüzeylerinde biyofilm gelişimi tespit edilmiştir. Nekrotik pulpa odası boşluğunda, kök kanal yüzeylerinde ve semental lakünalarda bakterilerin biyofilm şeklinde organize oldukları bilinmektedir. Rekabetçi bir çevrede biyofilm içerisinde gelişen bakteriler genel olarak düşük metabolizma hızına sahip olmakta ve antimikrobiyal yapılara direnç eğiliminde bulunmaktadır. Bakteri hücrelerinin biyofilm içerisindeki yakınlığı sonucunda DNA değişimi yoğun gerçekleşmekte ve antimikrobiyal bir direnç oluşturmaktadır. Sonuç olarak planktonik fazdaki bakterilere karşı görülen antimikrobiyal etkinlik biyofilmler için aynı etkinlik seviyesinde değildir. [121] NaOCl'nin antibiyofilm etkinliğinin, organik dokuları çözerek bakterilerin dentine ve diğer organizmalara kurduğu bakteriyel ataşmanların yok edilmesi ile mümkün olduğu düşünülmektedir. [122]

2.2.1.2. Klorheksidin

Klorheksidin polibiguanid antibakteriyel ailesine dahil güçlü bir bazik moleküldür. Geniş spektrumlu antimikrobiyal ajan olan klorheksidin gram pozitif ve gram negatif bakterilere ve mantarlara karşı etkinlik göstermektedir. Katyonik doğasından dolayı bakterilerin negatif yüklenmiş yüzeylerine elektrostatik olarak tutunmakta ve hücrenin dış tabakalarına hasar vermektedir. [123]

Konsantrasyonuna bağlı olarak klorheksidin bakteriyostatik ve bakterisidal etkinlik gösterebilmektedir. Yüksek yoğunlukta deterjan olarak çalışmakta, hücre zarına hasar vermekte ve sitoplazmanın çökmesine neden olarak bakterisidal etkinlik göstermektedir. Düşük yoğunlukta ise potasyum ve fosforun hücre içerisine sızmasına neden olarak bakteriyostatik etkinlik göstermektedir.[112]

2.2.1.3. EDTA

Etilendiamintetraasetikasit (EDTA) smear tabakasındaki mineralize yapıları şelasyon yoluyla uzaklaştırma potansiyelinden dolayı endodontide irrigasyon solüsyonu olarak kullanılmaktadır. EDTA normalde tek başına smear tabakasını etkin bir şekilde uzaklaştıramamaktadır. Proteolitik bir yapı (NaOCl) ile birlikte kullanıldığında etkinlik artmaktadır. [124] EDTA endodontik solüsyon olarak %17'lik konsantrasyonda kullanılmaktadır. Şelatörler kullanıldıkça kendini sınırlayan bir yapıya sahiptir. [112]

2.2.2. Endodontik İrrigasyon Teknikleri

Endodontik tedavinin temelinde kök kanal sisteminin debridmanı ve dezenfeksiyonu bulunmaktadır. Bu prosedürler ile birlikte hekim apikal dokuların sağlığını sağlamak ve bakteriyel kolonizasyonun neticesi olarak ortaya çıkmış bulunan apikal enflamatuvar hastalığı ortadan kaldırmak gibi nihai endodontik hedeflere ulaşmaktadır.[112] Fakat bu hedefe dönük çabalardan birisi olan mikrobiyal eliminasyonun tümüyle elde edilmesi henüz mümkün değildir. Dolayısıyla sterilizasyon ifadesi yerine dezenfeksiyon teriminin kullanılması uygun görülmektedir. Temizleme ve şekillendirme aynı anda gerçekleştirilse de aslında

dezenfeksiyon aşaması istenen şekillendirme tamamlandıktan sonra başlamaktadır. [1, 112]

Kanal içi irrigasyonun etkinliği literatürde ayrıntılı bir şekilde incelenmiştir. NaOCl antimikrobiyal ve doku çözücü etkinliklerinden dolayı en etkili solüsyon olarak değerlendirilmektedir. [125] Fakat NaOCl'nin bu etkinliğini gösterebilmesi için mikroorganizma ile direkt temasta bulunması gerekmektedir. Bu durum da çalışma boyunca kompleks kanal anatomisi içerisindeki dentin tübüllerine solüsyon gönderilmesi gerekliliğini ifade etmektedir. [126]

2.2.2.1.Pozitif Basınç İrrigasyonu

Solüsyonun kanal içerisine gönderilmesi için kullanılan ilk sistem bir şırınga ve ona bağlanmış bir iğneden oluşmaktadır. Mevcut durumda ise bu sistem *pozitif basınç* (PB) olarak isimlendirilmektedir. Amaç solüsyonun kanal içerisine aktarılması ve hidrodinamik bir akış sağlanarak debrisin kanal ağzından dışarı atılmasıdır. Bu sistem endodontik irrigasyon için geleneksel yöntem olarak bilinmektedir. [127]

PB irrigasyonunda iğne kanal içerisine yerleştirilmiş durumda iken basınç uygulanmakta ve irrigasyon solüsyonunun dağılımı hedeflenmektedir. Enjeksiyon ile arasındaki tek fark solüsyonun giriş yapılan yerden geri çıkmasının hedeflenmesidir. Penetrasyon derinliği PB irrigasyon tekniğinde önemli bir noktadır. İğnenin kanal boşluğunda sıkıştırılmasından kaçınılması gerekmektedir. Böyle bir durumda solüsyonun apikalden ekstrüzyonu riski doğmaktadır. [128]

Endodontide kapalı sistem; kök kanal sisteminin apikal foramen, lateral foramenler gibi çıkış kapılarının etrafının vital dokular tarafından çevrenmesi anlamına gelmektedir. Bu durum geçişken fakat kapalı bir sistem oluşturmaktadır. İrrigasyon solüsyonunun klinik uygulamasında aynı kanal ağzından solüsyonun gönderilmesi ve çıkışı beklenmektedir. Bu 'yapay bariyer'in aşılmasının tek yolu akış oranının ve sonuçta kanal içi basıncın artırılmasıdır. Bunun neticesinde toksik solüsyonların apikal dokulara ekstrüzyonu gerçekleşir ve ilgili bölgede enflamatuar bir yanıt oluşur. [129]

Klasik bir histoloji çalışmasında NaOCl'nin apikal üçlüde ve istmus bölgelerinde sınırlı etkinlik gösterdiği belirlenmiştir. [130] Bu çalışmada apikal

penetrasyonun belirleyici olduğu ve solüsyon penetrasyonu ile doğrudan ilişki içerisinde olduğu ortaya konmuştur. Apikal boyutu artırmak solüsyonun apikale olan penetrasyonunu artırmaktadır.

Apikal preparasyonunun anatomik apikal çaptan 3 ISO boyut daha büyük olacak şekilde hazırlanması sonucunda apikal lezyon iyileşmesinde anlamlı bir gelişme tespit edilmiştir. Bunun tespiti çalışma boyunda sıkışan ilk eğe ile yapılmaktadır. [131]

Vapor lock (buhar kilidi) adı verilen fenomen, özellikle apikal üçlüde solüsyonların tüm kök kanal sistemine ulaşmasını engelleyen bir gaz tuzağı şeklinde ifade edilmektedir. NaOCl'nin organik doku çözücü etkilerinden kaynaklanmaktadır. Bu sürecin ardından karbondioksit ve amonyak ortaya çıkar, küçük gaz kabarcıkları oluşur ve solüsyonların apikal düzeyde penetrasyonlarının önüne geçilir. [112] Yapılan çalışmalarda çalışma boyundan 1 mm kısa iğne penetrasyonu uygulandığında dahi PB tekniği apikal üçlüdeki debrisı uzaklaştırmada yetersiz bulunmuştur. [132]

PB uygulamasını diğer aktivasyon teknikleri ile karşılaştıran çalışmalara göre PB apikal üçlünün temizliğinde tek başına yetersiz bulunmuştur. [132] Hibrit tekniklerin daha avantajlı olduğu konusundaki kanıtların varlığına rağmen hekimlerin neredeyse yarısının PB irrigasyonuna yardımcı olarak herhangi bir sistemi kullanmadıkları görölmektedir. [133]

İrrigasyonun postoperatif ağrı üzerine etkilerini inceleyen bir çalışmaya göre PB uygulanan grupta negatif basınç tekniklerine göre daha fazla postopeeratif ağrı oluştuğu gözlenmiştir. Bunun sebebi olarak 30G yandan perfore iğne kullanılarak yapılan irrigasyonda NaOCl'nin apikal dokularla temasta bulunması söylenmektedir. Bir NaOCl kazası yaşanmasa dahi, PB teknikleri postoperatif ağrı ile ilişkili bulunmuştur. [134]

2.2.2.2. Apikal Negatif Basınç İrrigasyonu

Kök kanal tedavisi sürecinde kullanılan irrigasyon prosedürü ne olursa olsun, uygulama sırasında akılda tutulması gereken husus istenen etkinliğin hiçbir zaman hasta güvenliğinin yerini almaması gerektiğidir. PB irrigasyonunda NaOCl kazaları ile ilgili asıl problem bunun doğasında bir rastgelelik olmasıdır. Klinikte ekstrüzyon durumu yaşandığında bunu anında tanımlamak ve öngörmek mümkün olmayabilir. PB

irrigasyonu ile ilgili bir başka problem durağan alanlardır. *Vapor lock* fenomeninin gerçekleştiği bu durumda apikal üçlü debridmanı tam olarak sağlanamamaktadır. Bu durumların üstesinden gelmek için apikal negatif basınç (ANB) irrigasyon sistemi geliştirilmiştir.[135-137]

Mevcut durumda piyasada ANB mantığı ile çalışan cihaz *EndoVac* olarak isimlendirilmektedir. Kök kanal sistemine aktarılan irrigasyon solüsyonunun aynı anda debrisler ile birlikte geri çekildiği bir sistemden oluşmaktadır. Geleneksel irrigasyon sistemleri güvenlik gerekçeleri ile çalışma boyundan 1-2 mm kısa olacak bir iğne derinliği ile gerçekleştirilmektedir. Bu sebepten kök kanal sisteminin tümüyle debridmanı sağlanamamaktadır. Bu durum ANB sistemi için geçerli değildir çünkü bu sistemin felsefesinde solüsyonların hem çalışma boyuna gönderilmesi hem de ekstrüzyon riskinin ortadan kaldırılması yatmaktadır. Ayrıca bu durumda apikal vapor lock fenomeni ile ilişki, iğne çalışma boyuna gönderilebildiği için geleneksel sistemlerden farklıdır. [137, 138]

2.2.2.3. Sonik ve Ultrasonik Cihazlar ile İrrigasyon Aktivasyonu

Kök kanal sistemi enfekte olduğunda, dentin debrisleri ve smear tabakası da enfekte olmaktadır. Hem dentin debris hem de smear tabakası irrigasyon solüsyonları ve kanal içi medikamentin etkinliğini engelleyebilmekte ve biyofilme erişimlerinin önüne geçmektedir.[139] Kanal şekillendirmesi için ilk enstrümanın kullanımının ardından kanal duvarları enfekte smear tabakası ile çevrelenmektedir. Bu bölgelerde biyofilm ile smear tabakası mekanik olarak birleşmektedir. Bu yapılar ancak irrigasyon yolu ile uzaklaştırılabilmektedir. Bunun gerçekleşmesi için hem mekanik olarak bağlantıyı koparmak hem de kimyasal olarak yapıları çözmek önemlidir. [112]Biyofilmler temel olarak protein ve polisakkaritlerden oluşan bir ekstrasellüler matrikse (EPS) sahiptir. Bu yapı mikroorganizmaları etkin bir şekilde korumaktadır. Bu EPS yapısı biyofilm içeriğinin %80 kadarını meydana getirmekte ve düşük stresler altında elastik, yüksek stresler altında ise akışkan olmayan bir davranış özelliği kazandırmaktadır. Böylece, etkili bir dezenfeksiyon sağlamak için matriks yapısının bütünlüğünün bozulması gerekmektedir. [140]

Sonik aktivasyon ile çalışan enstrümanlarda bir uçta (cihazda) oluşan vibrasyon, diğer uçta serbest bir şekilde sonlanır. Sonik cihazlar duyulabilir

frekanslarda (20 kHz altında) çalışmaktadır ve 1 mm'ye kadar salınım amplitüdü bulunmaktadır. [141] Sonik çalışan enstrümanlarda basit bir esneme paterni bulunmaktadır. Uçta (antinod) yüksek bir amplitüd, piezo-aktivasyon bulunan çalışan uçta (nod) düşük amplitüd bulunmaktadır. [142] Antinodda bulunan amplitüd'ün 1 mm kadar büyük ve bir kök kanalının çapından daha geniş olabilmesi sebebiyle kök kanal duvarıyla sıklaşan temas cihazın etkinliğini azaltabilmektedir. [141]

Sonik aktivasyonda olduğu gibi ultrasonik aktivasyonda da bir uçta vibrasyon oluşurken (cihazda) diğer uçta serbest vibrasyon meydana gelmektedir. Ultrasonik cihazlar daha yüksek frekanslarda çalışmaktadır (tipik olarak 20-200 kHz) ve amplitüdları 100 mikrometreden daha düşüktür. [143] Yüksek frekansta çalıştıklarından sonik cihazlara göre daha kompleks nod ve antinod paternleri bulunmaktadır. 30 kHz civarında bir frekansta çalışan cihazlarda yaklaşık üç dalga boyu ya da yaklaşık 5 mm aralanmış altı nod ve antinod bölgesi bulunmaktadır.[143]

Kök kanal sisteminin dezenfeksiyonunda kullanılan bir başka teknik irrigasyonun lazer ile aktive edilmesidir. Tipik olarak Er:YAG ya da Er:Cr:YSSG tipi, kızılötesi aralıkta dalga boylarına sahip (2796-2940 nm) suda iyi absorbe edilen lazerler kullanılmaktadır.[144] Lazer dinamikleri çalışıldığında fiber uçta lazer enerjisinin absorpsiyonu ile hızlı ısınma neticesinde su kabarcıklarının oluşumu ve patlaması gözlenmiştir. Kabarcığın patlaması ile birlikte şok dalgası oluşmakta ve ilave kabarcıklar kök kanal sistemi boyunca hareket etmektedir. Özel geliştirilen fiber uçlar (PIPS) ya da normal fiber uçlar apekse ya da pulpa odasına yerleştirilebilmektedir. [145, 146]

Sonik ya da ultrasonik salınımlar enstrüman etrafındaki sıvının akımına sebep olmaktadır. Böyle bir durumda kök kanal duvarı karşısındaki basınçlar düzenlenmekte ve kesme gerilimi meydana gelmektedir. Hem ultrasonik hem de sonik cihazların kullanımı ile apikal yönde çok kuvvetli bir akım meydana gelmemektedir. Dolayısıyla solüsyonun ekstrüzyonu beklenen bir durum değildir. [147]

Kanal kurvatürü de apikal bölge temizliğini etkileyen faktörlerden birisidir. Enstrüman çalışma boyuna yerleştirildiğinde şiddetli bir kontakt noktası oluşursa ya da alet kök kanalı içinde sıkışır salınım etkilenmektedir. Bu durumdan ötürü enstrümanı eğmemek adına kurvatürün başladığı alana kadar göndermek tavsiye edilmektedir. Oluşacak akımın kendisi kurvatürden etkilenmemektedir. [148, 149]

Zayıf kuvvetler ya da yüksek EPS matriks stabilitesi sebebiyle biyofilm üzerinde yalnızca elastik deformasyon meydana gelmektedir. Sonik, ultrasonik cihazlar kullanılarak periyodik stresler oluşturacak şekilde biyofilm üzerindeki tekrarlayan yüklemeler biyofilm yorgunluğuna sebep olabilmektedir. [150] Fakat yorgunluğu takiben hasar meydana getirmek için gerekli olan eşik henüz bilinmemektedir. Sabit bir akım meydana geldiğinde biyofilm de sabit bir halde bulunmaktadır. Dolayısıyla aktivasyon yolu ile sabit olmayan bir akım meydana getirilerek biyofilmin yapısının bozulması hedeflenmektedir. [151]

İrrigasyon aktivasyon protokolü için “Aralıklı Yıkama Tekniği” tavsiye edilmektedir. Önce kanal içerisine şırınga ile belirli bir miktar solüsyon enjekte edilir. Ardından kök kanal sistemi içerisinde solüsyon aktive edilir. Sonrasında yeniden yıkama yapılarak koparılan malzemeler uzaklaştırılır. İrrigasyon protokolleri en çok master apikal eğe boyuna erişildiğinde etkinlik göstermektedir. Çünkü sıvının dinamik etkileri için bu boyda yeterli alan sağlanmaktadır. [112]

Sonik irrigasyon aktivasyonu sonik çalışan el aletleri kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Mevcut durumda piyasada EndoActivator, Vibringe ve EDDY gibi sistemler bulunmaktadır. EndoActivator için üretici firma tümüyle hedeflenen taperda şekillendirilmiş bir kanal içerisine solüsyon gönderilerek 30-60 sn boyunca 2-3 mm’lik kısa ileri geri hareketlerle kullanımını tavsiye etmektedir. [112]

2.2.2.4. Çalışmamızda Sonik Aktivasyon İçin Kullanılan EDDY Cihazı

EDDY cihazı sonik enerji ile çalışan poliamid uca sahip bir aktivasyon cihazıdır. Poliamid uç 25, 0.04 boyutlarında ve esnek yapıdadır. Bu sebepten üretici firma klinik kullanım açısından kanalın en az ISO 25’e kadar genişletilmesi gerektiğini belirtmektedir. Bir air scaler ucuna takılarak kullanılan cihaz 6000 Hz güce kadar kullanılabilir. Yüksek amplitüdlü aktivasyonun kanal içerisindeki irrigasyon etkinliğini artırması hedeflenmektedir. Şekillendirmenin ardından pulpa odasına irrigasyon solüsyonu aktarılır ve EDDY ucu çalışma boyundan 1 mm kısa olacak şekilde kanal içerisine yerleştirildikten sonra çalıştırılır. İleri geri vertikal hareketler uygulanır ve aktivasyon sonlandırıldıktan sonra uç kanal içerisinden uzaklaştırılır. Üç boyutlu hareketinin kavite oluşumu ve akustik akım şeklinde iki fiziksel etkisinin

olduğu belirtilmektedir. Bu özellikleri ile pasif ultrasonik irrigasyona benzer bir mekanizma ile temizlik etkinliği gösterdiği görülmektedir. [152]

İsviçre’de yapılan bir çalışmada üç boyutlu yazılı kullanılarak oluşturulan açık apeksli keser dişlerde ultrasonik irrigasyon, EDDY, EndoVac, Self-Adjusting File (SAF), XP-endo Finisher ve RinsEndo teknikleri kullanılmıştır. Aktivasyon tekniklerinin irrigasyon solüsyonunun periapikal dokulara ve oradan venöz sisteme taşma düzeyleri karşılaştırılmıştır. Periapikal dokular için 5.73, venöz sistem için 5.88 mmHg olan eşik basınç değerlerinin en çok EDDY grubunda aşıldığı tespit edilmiştir. Sonuçta yazarlar açık apeksli dişlerde EDDY kullanırken dikkatli olunması gerektiğini belirtmektedir. [153]

Bir başka çalışmada EDDY, EndoVac, EndoActivator ve geleneksel iğne irrigasyonu teknikleri bakteriyel ekstrüzyon bağlamında çekilmiş tek köklü dişler kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçta EndoVac grubunda EDDY grubuna kıyasla daha az bakteri çıkışı saptanmıştır. Diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. EndoVac tekniğinin EDDY kullanımına göre daha güvenli olduğu belirtilmiştir. [154]

Alt büyük azı dişlerde apikal debris ekstrüzyonunu ölçen bir *in vitro* çalışmada EDDY, pasif ultrasonik aktivasyon ve PIPS teknikleri karşılaştırılmıştır. Apikalden debris çıkışının akut alevlenmelere, periapikal enflamasyona, postoperatif ağrıya ve kanal tedavisinin başarısızlığına etkileri olduğu belirtilen çalışmanın sonucunda EDDY’nin diğer tekniklere göre anlamlı düzeyde daha fazla debris çıkışına neden olduğu tespit edilmiştir. Yazarlar bu sonucun akustik akım ve kavitasyon ile birlikte EDDY’nin esnek ucunun üç boyutlu olarak serbest hareket edebilmesinden kaynaklandığını öngörmektedirler. [155]

EDDY cihazı kullanılarak yapılan kısıtlı çalışmalardan bir başkası postoperatif ağrı konusunda olmuştur. Bu çalışmada alt küçük azı dişler tedavi edilmiş ve EDDY, EndoActivator, pasif ultrasonik aktivasyon ve yandan perfore iğne kullanılarak yapılan geleneksel irrigasyon teknikleri karşılaştırılmıştır. Bu çalışmanın bulgularına göre ilk 24 saatteki değerlendirmede EDDY cihazı ile aktivasyonun geleneksel irrigasyon grubuna göre daha fazla postoperatif ağrıya neden olduğu tespit edilmiştir. Fakat bunun dışında gruplar arasında anlamlı düzeyde bir farklılık görülmemiştir. [152]

2.3. Postoperatif Ağrı

Pulpal ağrı C lifleri tarafından yönetilmektedir ve A-delta lifleri tarafından oluşturulan hızlı ve keskin ağrıdan farklı bir karakteri bulunmaktadır. Pulpa enflamasyonu sinir liflerinin hassas hale gelmesine neden olmaktadır. Periferel nosiseptörlerin sensitize olması ile birlikte mevcut uyarana karşı oluşacak yanıtta eşik değeri düşmektedir. Pulpal ağrının aksine periradiküler dokular kaynaklı ağrıların lokalize edilmesi daha kolaydır. Periodontal ligament içerisinde bulunan mekanoreseptörler yoğunlukla apikal üçlü civarında yerleşmiştir. Enflamasyon pulpadan periapikal dokulara yayılım gösterdiğinde hastanın ağrısı lokalize etmesi kolaylaşmaktadır. [3]

Postoperatif endodontik ağrısı araştıran bazı çalışmalara göre orta dereceden şiddetliye varan ağrıların görülme insidansı %15-20 aralığında tespit edilmiştir. Prospektif bir çalışma sonucuna göre hastaların %57'sinde hiçbir ağrı gözlemlenmemişken, %21'i hafif dereceli, %15'i orta dereceli ve %7'si şiddetli ağrı tecrübesi yaşamıştır. [156, 157]

Mevcut kanıtlara dayanarak postoperatif ağrı konusunda bazı predispozan faktörler bulunduğu söylenmektedir. Bunlardan bazıları cinsiyet gibi açık faktörlerken bazıları genetik gibi hekim ve hasta tarafından bilinmeyen faktörlerdir. [158] Çalışmalara göre kadınlar pek çok klinik ağrı durumunda daha yüksek yanıt vermektedir. Bunun sebepleri arasında hormonal ve genetik olarak sürdürülen cinsiyete bağlı beyin biyokimyasındaki farklılıklar olduğu öne sürülmektedir. [159]

2.4. Ağrının Değerlendirilmesi ve Sayısal Derecelendirme Ölçeği

Yetişkinlerde ağrının değerlendirilmesi için pek çok farklı ölçek kullanılmaktadır. Her bir ölçeğin kendine göre avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Son yıllarda Görsel Analog Skala ve Sayısal Derecelendirme Ölçekleri ağrı çalışmalarında giderek artan sıklıkta kullanılmaktadır. Görsel Analog Skala 10 cm'lik bir çizgiyi ifade etmektedir. Ağrı çalışmaları söz konusu olduğunda çizginin en solunda kalan nokta ağrısız bir hali ve en sağında kalan nokta ise hayal edilebilir en şiddetli ağrısı ifade etmektedir. Hastadan bu skala üzerinde işaretleme yapması istenmektedir. Sayısal derecelendirme ölçeğinde ise birden ona kadar

numaralandırılmış bir çizgi bulunmakta ve hastadan hissettiği ağrı yoğunluğuna rast geldiği düşünülen numarayı not etmesi beklenmektedir. [160]

Bu iki skala söz konusu olduğunda sayısal skalanın uygulanmasının daha kolay olduğu belirtilmektedir. Hem hastanın anlaması ve not alması daha kolaydır hem de telefon üzerinden sözel olarak da ilgili sorgulama yapılabilir. [161]

Bu tez çalışması bildiğimiz kadarıyla literatürde EDDY cihazının kullanıldığı ikinci *in vivo* çalışma ve real-time PCR cihazı kullanılarak bakteriyel eliminasyon analizi yapılan ilk çalışmadır. Çalışmamızda kronik apikal periodontitise sahip tek kök ve tek kanallı dişlerde irrigasyon aşamasında EDDY cihazı kullanılarak sonik aktivasyon gerçekleştirilen dişlerde mikrobiyal eliminasyonun derecesinin aktivasyon yapılmayan grup ile karşılaştırılması hedeflenmiştir. Bu amaçla kök kanal tedavisi öncesinde ve irrigasyon sonrasında kanal içerisinden örnekler alınarak real-time PCR yoluyla analiz gerçekleştirilmiştir. Aynı zamanda endodontide güncel bir araştırma alanı olan postoperatif ağrı bağlamında sonik aktivasyonun ağrı ile ilişkisini değerlendirmek amacı ile her hastaya bir sayısal ağrı değerlendirme ölçeği uygulanmış ve postoperatif ağrı durumu ortaya konmuştur.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Bezmialem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ne tedavi için başvuran ve istenen kriterleri karşılayan hastalar dahil edilmiştir. Hastalar tedavi öncesinde çalışma hakkında bilgilendirilmiş ve 'Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu' tüm hastalardan imzalı bir şekilde alınmıştır. Tüm tedaviler bir hekim tarafından gerçekleştirilmiştir.

'Aseptomatik Apikal Periodontitisli Dişlerde EDDY Cihazı ile Yapılan Sonik Aktivasyonun Kök Kanal Mikrobiyotası ve Postoperatif Ağrıya Etkisinin Değerlendirilmesi: Prospektif Randomize Kontrollü Klinik Çalışma' başlıklı tez çalışması için Bezmialem Vakıf Üniversitesi Klinik Çalışmalar Etik Kurulu'ndan 17.11.2021 tarihinde 20/5 numaralı etik kurul onay kararı alınmıştır. Araştırma bütçesi Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilim Araştırmalar Proje biriminden 05.10.2021 imza tarihli karar ile temin edilmiştir.

3.1. Hasta Seçimi ve Değerlendirilmesi

Yapılan güç analizinde 0.68 etki genişliği ve 0.8 güç ölçeğinde 56 hastanın kabulüne karar verilmiştir. 01.01.2021 ile 01.11.2021 tarihleri arasında Bezmialem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği Kliniği'ne tedavi için başvuran ve aşağıdaki kriterleri karşılayan 56 hasta çalışmaya dahil edilmiştir:

- Hastanın kanal tedavisi gerektiren, apikal lezyona sahip ve nekrotik pulpalı santral, lateral, kanin veya premolar dişlere sahip olması.
- Dişe asemptomatik apikal periodontitis tanısı konmuş olması.
- Dişin tek ve düz köklü ve tek kanallı kök kanal sistemine sahip olması.
- Kanallarda kalsifikasyon veya rezorpsiyon bulunmaması.
- Kök oluşumunun tamamlanmış olması.
- Rubber-dam uygulanabilir durumda olması.
- Hastanın onam formunu okuyup anlayabilecek ve imzalayabilecek durumda olması.
- Periodontal hastalığa sahip olmaması.

3.2. Dahil Edilmeme Kriterleri

- Hastanın 18 yaşından küçük veya 70 yaşından büyük olması.
- Hastada hamilelik veya sistemik bir hastalığın bulunması.
- Hastanın immünsüpresif tedavi görmesi.
- Hastanın son iki hafta içerisinde antibiyotik ya da nonsteroid antiinflatuar ilaç (NSAİİ) kullanmış olması.
- İlgili dişte semptomatik şikayetlere sahip olması.
- Dişin izolasyon sağlanamayacak durumda olması.
- Dişin birden fazla kök kanalına sahip olması.
- Hastanın irrigasyon solüsyonlarına karşı bir alerjiye sahip olması.
- Aynı hastada yansıyan ağrıya sebep olabilecek birden fazla kanal tedavisini gerektiren dişin olması.
- Dişin açık apekse sahip olması.
- Dişin kök ucunda rezorpsiyon saptanması.

3.3. Tedavi Protokolü ve Kök Kanalından Örnek Alma İşlemleri

Tüm kök kanal tedavileri ve örnek toplama protokolleri bir hekim tarafından gerçekleştirilmiştir. Kliniğe gelen hastalara bilgi verilmiş, onam formu alınmıştır ve tedavilerine Bezmialem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Kliniği'nde başlanmıştır.

Tedavi olmak üzere başvuran hastalarda yapılan radyografik muayene ile Periapikal İndex Skoru 3,4 ve 5 olan dişler çalışmaya dahil edilmiştir. [162] Bunun ardından klinik muayeneyee geçilmiştir. Endo-Ice (Coltene Whaledent GmbH, Langenau, Almanya) kullanılarak soğuk testi uygulanmış ve elektrikli pulpa testi (Digitest II, Parkell, NY, ABD) yapılarak ilgili dişin vitalitesi değerlendirilmiştir. Nekrotik yanıt alınan dişlerin periodontal muayenesine geçilmiştir. Diş bölgesinde herhangi bir şişlik ya da fistül yolu varlığı tespit edildiğinde ilgili diş çalışma dışı bırakılmıştır. Dişlerin mobilitesinin değerlendirilmesinde günümüzde yaygın bir şekilde kullanılan Miller'in periodontal mobilite skorlaması kullanılmıştır. Bu derecelendirme sisteminde diş iki metalik enstrüman arasına alınmakta ve bukkolingual ve bukkopalatinal yönde hareket ettirilmektedir. Yatay yönde 1mm'den

küçük hareketler 1 derece (normal), yatay yönde 1-2 mm hareketler 2 derece (normalden kısmi sapma) ve yata yönde 2 mm'den büyük ya da dikey yönde herhangi bir miktarda hareket varlığı 3 derece (şiddetli mobilité) olarak değerlendirilmektedir. [163] Çalışmamıza Miller 1. ve 2. derece mobilitéye sahip dişler dahil edilmiştir.

Çalışmamız için uygun bulunan 56 hasta her grupta 28 hasta bulunan iki gruba ayrılmıştır. Gruplamanın randomizasyonu için hastaneye ayın tek günlerinde başvuran hastalar bir gruba çift günlerinde başvuran hastalar diğer gruba yerleştirilmiştir. Hastaların adı, soyadı, yaşı, cinsiyeti, iletişim bilgileri, protokol numarası, tedavi tarihi, tedavi edilecek dişin numarası, tedavi öncesi klinik durumu, mobilité derecesi, periapikal indeks skoru, hastanın bulunduğu çalışma grubu hastaya ait Olgu Rapor Formu'na kaydedilmiştir. İlgili dişin kanal tedavisi sürecinde herhangi bir komplikasyon ile karşılaşılması durumunda hastaların çalışma dışı bırakılmasına karar verilmiştir.

Birinci gruptaki hastaların kök kanal tedavileri sırasında irrigasyon solüsyonları EDDY cihazı (VDW, Münih, Almanya) kullanılarak sonik güç ile aktive edilirken ikinci gruptaki hastaların tedavilerinde herhangi bir aktivasyon tekniği kullanılmamıştır.

Tedaviye başlamadan önce hastadan antiseptik özellikli ağız çalkalama solüsyonu (PerioAid, Cerdanyola, İspanya) kullanması istenmiştir. Ardından tedavi edilecek diş pomza ve lastik ile temizlenmiştir.

İlgili dişlerin tümü nekrotik olduğundan lokal anestezi uygulanmamıştır. Rubber-dam (Sanctuary, Pelak, Malezya) izolasyonu gerçekleştirildikten sonra ilgili diş klemp ve lastik örtüyü içine alan bölge Möller tarafından açıklanan prensiplere göre önce %30 hidrojen peroksit (Tekkim, İstanbul, Türkiye) ardından %5 NaOCl (Wizard, Rehber Kimya, İstanbul, Türkiye) ile yıkanmıştır. Steril aeratör ve anguldruva frezleri kullanılarak mevcut çürük temizlenmiş ve pulpa odasına girilmeden hemen önce kavite %2,5 NaOCl ve NaOCl'nin etkisini nötralize etmek için %5 sodyum tiyosülfat (Tekkim, İstanbul, Türkiye) ile yıkanmıştır.



Şekil 1: Tedaviye başlanmadan önce izolasyon sağlanması

İlk örnek olarak pulpa odasına girmeden hemen önce steril pamuk peletler ve 20 numaralı steril kağıt konlar (SureEndo, Diadent, Chungcheongbuk, Güney Kore) kavite duvarlarına sürülmüş ve Eppendorf tüpüne aktarılmıştır. Sterilizasyon kontrolü amacı ile alınan bu ilk örnekte bakteri varlığı tespit edilirse ilgili dişin çalışma dışı bırakılması planlanmıştır.

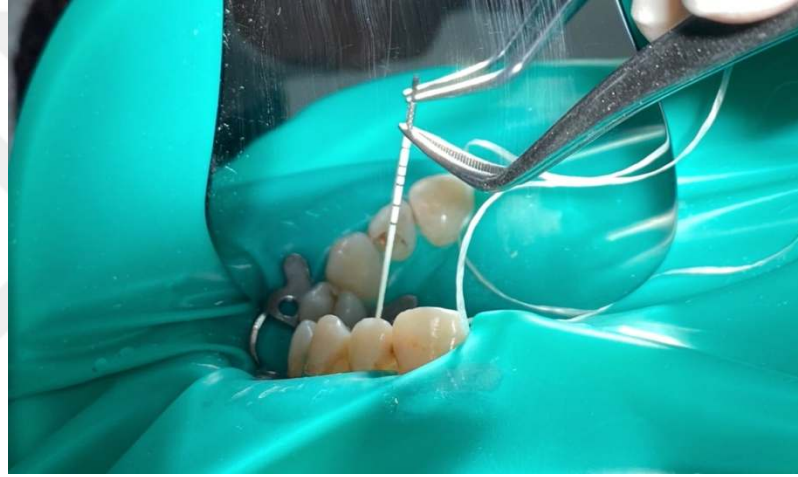


Şekil 2: Sterilizasyon örneğinin tüpe alınması

İşlemin ardından bir başka steril frez kullanılarak pulpa odasına girilmiş ve endodontik giriş kavitesi hazırlanmıştır. Ardından önce NaOCl ve sonrasında sodyum tiyosülfat kullanılarak kavite yıkanmıştır. Steril bir 10 numara K tipi el eğesi (M access, Dentsply, Ballaigues, İsviçre) kullanılarak kök kanalına giriş yapılmış ve elektronik apeks bulucu (Woodpex III, Woodpecker, Guilin, Çin) kullanılarak çalışma boyu tespit edilmiştir. Bu noktada 25K el eğesi ile dahi apikal sıkışıklık hissedilmeyen dişler çalışma dışı bırakılmıştır. Çalışmaya dahil edilen dişlerin çalışma boyu tespiti radyograf alınarak doğrulanmıştır.

Ardından kök kanalı içerisine bir enjektör ve iğne (Berika, Konya, Türkiye) kullanılarak 0.5 mL serum fizyolojik solüsyonu gönderilmiştir. Steril bir kağıt kon (20

numara, 0.04 taper) (SureEndo, Diadent, Chungcheongbuk, Güney Kore) çalışma boyundan 1 mm kısa olacak ve kavite duvarlarına değdirmemeye dikkat edilecek şekilde kanal içerisine gönderilmiş ve 1 dk boyunca kanal içerisinde bırakılmıştır. Bu yolla planktonik bakterilerin toplanması hedeflenmiştir. Bu kağıt kon başka bir Eppendorf tüpüne aktarılmıştır. Bu işlemin ardından steril 20 numara Hedström tipi el eğesi (M access, Dentsply, Ballaigues, İsviçre) çalışma boyundan 2 mm kısa olacak şekilde kök kanal içerisine yerleştirilmiş ve çevresel eğeleme yapılarak debris toplanması hedeflenmiştir. Eğeleme yapılan 20 numara Hedström tipi el eğesi ile kağıt kon aynı Eppendorf tüpüne aktarılmıştır.



Şekil 3: Kağıt kon ile kanal içerisinden ilk örnek alınması

Bu işlemlerin ardından rutin kök kanal tedavisi protokolleri takip edilmiştir. Rotasyonel döner aletler (VDW.Rotate, VDW, Münih, Almanya) kullanılarak kök kanal şekillendirmesi gerçekleştirilmiştir. Bu noktada her bir diş için ilk sıkışan eğeden 3 boy büyük numaraya kadar şekillendirme gerçekleştirilmiştir. Her eğe değişimi sırasında %2,5 NaOCl (4 ml) kullanılarak bir enjektör ve yandan perfore iğne (NaviTip, Ultradent, UT, ABD) yardımı ile kanal irrigasyonu gerçekleştirilmiştir. Her eğe arasında rekapitülasyon gerçekleştirilmiş ve apikal patensi sağlanmıştır.

Ardından hastalar deney ve kontrol grubu olmak üzere 2 gruba ayrılmıştır. Deney grubunda (n=28) tüm irrigasyon aşamalarında üretici talimatlarına uygun bir şekilde EDDY polimer ucu (25, 0,04) kullanılarak 1 dk süresince ve çalışma boyundan 3 mm kısa olacak şekilde 3 mm'lik ileri geri hareketler uygulanarak aktivasyon

gerçekleştirilmiştir. Ardından sırası ile EDTA, serum fizyolojik ve klorheksidin solüsyonları kullanılarak irrigasyon gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4: EDDY cihazının sonik aktivasyon için kullanılması

Son yıkamanın ardından kanal içerisine bir damla serum fizyolojik gönderilmiştir ve 40 numara kağıt kon (0,04) kanal içerisinde bir dakika bekletilmiştir. Ardından kullanılan kağıt kon yeni bir Eppendorf tüpüne aktarılmıştır. 40 numara Hedström kanal aleti kullanılarak çevresel eğeleme gerçekleştirilmiştir ve eğe aynı tüp içerisine alınmıştır.



Şekil 5: Kök kanalından Heaström tipi eğe ile örnek alınması

Ardından kök kanal sistemi içerisine kanal içi medikament olarak kalsiyum hidroksit (Kalsin, İzmir, Türkiye) bir lentülo (VDW, Münih, Almanya) yardımı ile gönderilmiş ve kanal ağzı bir pamuk pelet ile kapatılarak çinko fosfat siman (Adhesor, Kerr, Kloten, İsviçre) kullanılarak geçici restorasyon gerçekleştirilmiştir. Hastalara iki hafta sonrasına ikinci seans randevusu verilmiştir.

3.4. Postoperatif Ağrı Değerlendirmesi

Tedavinin ardından hastalara Sayısal Derecelendirme Ölçeği birinci seans tedavinin sonunda elden verilmiştir. Tüm hastalara bu ölçekteki 0 derecesinin hiç ağrı olmayan durumu, 10 derecesinin ise en şiddetli ağrı durumunu ve aradaki değerlerin soldan sağa artan şiddette ağrıyı ifade ettiği sözel olarak belirtilmiştir. Tüm hastalardan bir saat, iki saat, bir gün, iki gün ve bir hafta sonunda hissettikleri ağrıyı 1'den 10'a kadar derecelendirmeleri ve ölçeğe not almaları istenmiştir. İkinci seans randevusunda sayısal derecelendirme ölçekleri toplanmıştır. İstatistiksel analiz gerçekleştirilmiştir.

3.5. Örneklerin Saklanması ve Değerlendirilmesi

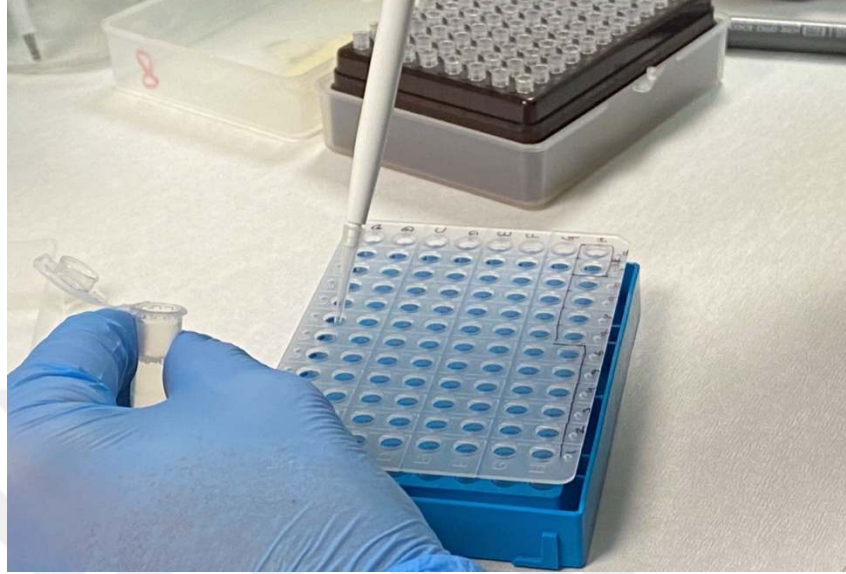
Hastaların koltuktaki tedavilerinin tamamlanmasının hemen ardından Eppendorf tüplerine alınan örnekler Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi bünyesinde bulunan araştırma laboratuvarına derhal taşınmış ve burada -80°C'de analiz edileceği güne kadar saklanmıştır. Gerekli örnek sayısına ulaşıldığında PCR analiz aşamasına geçilmiştir.

3.6. PCR Analizi

3.6.1. DNA İzolasyonu:

Kök kanallarından alınarak eppendorf tüplerinde tutulan örnekler araştırma laboratuvarında -80°C'de deney anına kadar saklanmıştır. Laboratuvar aşamasında tüm tüplere 200 µL steril PBS eklenmiştir. Örneklerin 37°C'de 10 dakikalık inkübasyonunun ardından 20000 mg'de 5 dakika süre ile santrifüj işlemi (Beckman Coulter, California/ABD) gerçekleştirilmiştir. Pamuk pelet ve eğerlerin bulunduğu tüplerden bu malzemeler penset ile uzaklaştırılmıştır. Örnekler 98°C'de 10 dakika

inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin ardından 1400 mg'de 2 dakika santrifüj işlemi gerçekleştirildikten sonra üst faz yeni tüplere aktarılmıştır.



Şekil 6: DNA izolasyon aşaması

3.6.2. Gerçek Zamanlı PCR Deneyleri:

Bezmialem Vakıf Üniversitesi Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilen deneylerde kalıp ve primer'ların dahil edildiği SYBR Green Real Time PCR Kit (Qiagen, Hilden/Almanya) kullanılmıştır.

Bacteriodes ve Fimicutes için kullanılan primer dizileri tabloda gösterilmektedir. [164] Her biri 20 μ L hazırlanan reaksiyon içeriği 10 μ L BlasTaq 2X qPCR Mastermix (Abmgood, Vancouver/Kanada), 1 μ L primer, 3 μ L DNA, 6 μ L dH₂O şeklinde optimize edildi. Primerlerin çalıştığı konvansiyonel PCR jel yöntemi ile teyit edilmiştir. Ardından iki tekrar şeklinde hazırlanan reaksiyonlar Biorad C100 Touch Realtime termal döngüleyici (California/ABD) cihazında 95°C'de 3 saat HotStart DNA Polimeraz, TEMPase aktivasyonu ardından 94°C'de 20 dakika denatürasyon, 60°C'de 20 dakika primer bağlanması ve 72°C'de 30 dakika zincir uzatımı olmak üzere 40 döngüden oluşan real time qPCR programı ile çalışılmıştır. Ayrıca DNA içermeyen kuyularda negatif kontrol işlemleri gerçekleştirilmiştir. Buna göre bakteriye ait materyal ve dolayısıyla bakteri miktarı ne kadar yüksek ise sonuçta

elde edilen ışıma o kadar çabuk gerçekleşmektedir. SYBR Green boyasıyla reaksiyonların ölçülen ışıma değerleri anlamına gelen Ct değerlerinde ortalamalar alınarak $2^{-\Delta\Delta C_t}$ metodu kullanılarak değişim düzeyi değerlendirilmiştir.

Primer Adı	Baz Dizisi 5'-3'
Bacterioidetes Forward	CATGTGGTTTAATTCGATGAT
Bacterioidetes Reverse	AGCTGACGACAACCATGCAG
Firmicutes Forward	ATGTGGTTTAATTCGAAGCA
Firmicutes Reverse	AGCTGACGACAACCATGCAC

Tablo 1. Çalışmada kullanılan primer dizileri [164]

İçerik	1X
Blastaq 2X Mastermix	10 µL
F/R Primer	1 µL
DNA	3 µL
dH2O	6 µL

Tablo 2. Gerçek zamanlı PCR deneylerinde reaksiyon içeriği

3.6.3. PCR Sonuçlarının Yorumlanması

SYBR Green boyası tek zincir DNA'ya bağlanmayıp sadece çift zincir DNA'ya bağlanan floresan ışıma oluşturan bir moleküldür. Yukarıda anlatılan gerçek zamanlı PCR protokolüne göre aşağıdaki fotoğrafta görünen termal döngüleyici cihazda örnekler floresan ışımlarına göre değerlendirilmektedir.



Şekil 7: Biorad CFX96 C1000 Touch Termal Döngüleyici

Bu araştırma tekniğine göre ışımanın anlamlı olarak cihaz tarafından okunduğu ilk an eşik döngüsü (Ct) olarak isimlendirilir. Bir örnek içerisindeki DNA ne kadar fazla ise SYBR Green boyası o kadar yoğun bağlanacak ve ışıma o düzeyde erken okunacaktır. Dolayısıyla cT değeri düşük olduğunda daha erken ışıma görüldüğü ve daha fazla bakteri bulunduğu sonucu ortaya çıkmaktadır.

Çalışmamızda kök kanallarından alınan son örnekler ile ilk örnekler arasındaki Ct farkları iki örnek arasındaki bakteri sayısındaki farklılığı ortaya koymaktadır. Bu farkın deney grubu ve kontrol grubu arasındaki karşılaştırması ile EDDY aktivasyonu ve geleneksel iğne irrigasyonu arasındaki bakteriyel eliminasyon miktarındaki fark belirlenmiş olacaktır.

3.7. İkinci Seans ve Tedavinin Sonlandırılması

İkinci seans randevusuna gelen hastaların ilgili dişlerine rubber-dam uygulamasının ardından geçici restorasyonları aeratör frezi ile uzaklaştırılmıştır. NaOCl irrigasyonun ardından apeks bulucu kullanımı ile yeniden çalışma boyu tespit edilmiş, önce Hedström el eğeleri (her dişin master apikal eğe boyutunda) kullanılarak kalsiyum hidroksit kanal içerisinden uzaklaştırılmış ve rutin irrigasyon teknikleri kullanılarak sırası ile NaOCl, EDTA, serum fizyolojik ve klorheksidin ile yıkama

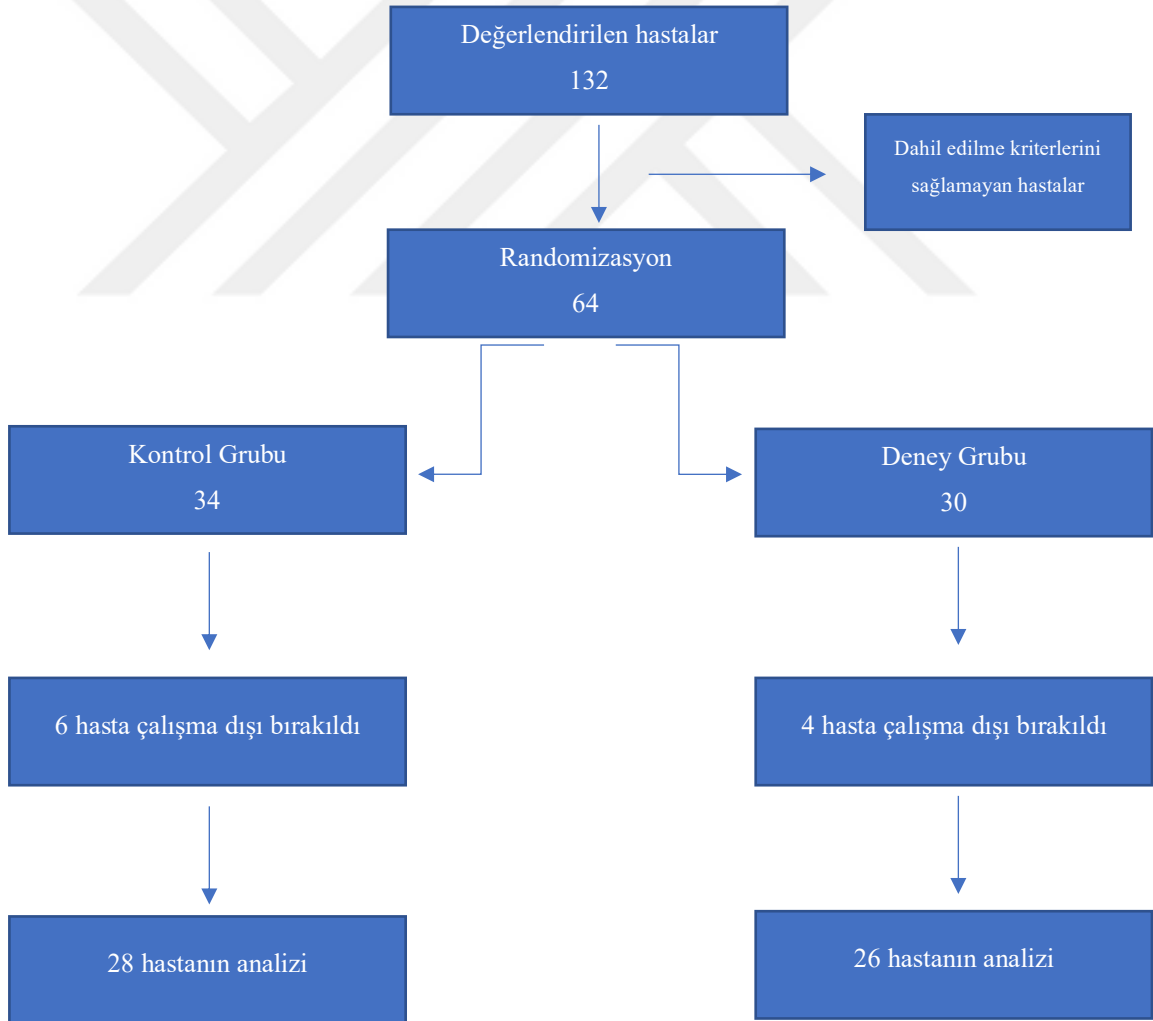
gerçekleştirilmiştir. Her bir dişe uygun master kon seçiminin ardından alınan radyograf ile dolum öncesi kontrol gerçekleştirilmiştir. Kağıt konlar ile kanal içerisi kurutulmuş ve rezin içerikli kanal patı (AH Plus, Dentsply Sirona, Konstanz, Almanya) kullanılarak soğuk lateral kompaksiyon tekniği ile kök kanallarının dolumu sağlanmıştır. Sonrasında kompozit rezin (3M Filtek, St Paul, ABD) ile kalıcı restorasyon gerçekleştirilmiş ve tedavi sonlandırılmıştır.

3.8. İstatistiksel Analiz

Veriler IBM SPSS V23 ile analiz edilmiştir. Normal dağılıma uygunluk Shapiro-Wilk testi ile incelenmiştir. İkili gruplara göre normal dağılan verilerin karşılaştırılmasında bağımsız iki örnek t testi ve normal dağılmayan verilerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Grup içi zamana göre ağrı değerlerinin karşılaştırılmasında Friedman testi kullanılmıştır. Analiz sonuçları ortalama standart sapma ve ortanca (minimum-maksimum) şeklinde sunulmuştur. Önem düzeyi $p<0,05$ olarak alınmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmamıza Bezmialem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ne endodontik tedavi gereksinimi ile başvuran hastalar dahil edilmiştir. Yapılan ilk muayenenin ardından değerlendirilen 132 hastadan aranan kriterleri karşılayan 64'ü dahil edilmiştir. Bu 64 hastadan kontrol grubundan 3 hasta randevusuna gelmemiş, 2 hasta ağrı takip formunu doldurmamış, 1 hastanın kanal tedavisi sırasında kök kanalından pü akışının kesilmediği görülmüştür. Deney grubundan ise 4 hasta randevularına gelmemiştir. Bu sebeplerden toplamda 10 hasta çalışma dışı bırakılmıştır. Çalışmamıza katılan gönüllü hastaların dahil olma süreçleri aşağıdaki diyagramda gösterilmiştir.



Şekil 8. Çalışmaya katılan hastaların dahil olma sürecini gösteren diyagram

Çalışmamıza dahil edilen hastaların cinsiyetlere göre dağılımı ile ilgili tablo aşağıda gösterilmiştir. Cinsiyet açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Cinsiyet	Deney Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	<i>P</i>
Erkek	10	15	25	0,266
Kadın	16	13	29	
Toplam	26	28	54	

*Ki-Kare testi

Tablo 3. Çalışmaya dahil edilen hastaların cinsiyetlere göre dağılımı

SYBR Green boyası çift zincir DNA'ya bağlanan ancak tek zincir DNA'ya bağlanamayan kuvvetli floresan ışığa sağlayan bir boyadır. Real time PCR aşamasında örnekteki ışığa miktarı ne kadar yüksek ise o kadar yoğun bakteri varlığı söz konusudur. Sayısal değerlendirme açısından floresan değerlerin eşik değeri geçtiği noktaya eşik döngüsü (Ct) denmektedir. Ne kadar erken eşik değeri geçilirse o kadar çok bakteri materyali varlığından söz edilmektedir. Ct değeri ne kadar düşükse o kadar yüksek bakteriyel varlıktan söz edilmektedir.

Alınan sterilizasyon kontrol örneklerinde herhangi bir bakteri varlığına rastlanmadığı için çalışmaya devam edilmiştir.

Buna göre elde ettiğimiz sonuçlar tüm bakteriler için universal olan ve tabloda rRNA olarak belirtilen primer kullanıldığında deney ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. ($p=0,622$)

Bacteriodes için yapılan araştırmada; deney grubunda son örnekte elde edilen Ct değeri ile ilk örnekte elde edilen Ct değeri arasındaki fark, kontrol grubundaki aynı farka göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p=0,023$). EDDY aktivasyonunun kullanıldığı örneklerde bakteriyel uzaklaştırma daha yüksek bulunmuş ve dolayısıyla ışığa görmek için daha yüksek eşik değeri gerekmiştir. Böylece kontrol grubunun son örneğinde, geleneksel irrigasyona bağlı olarak gerçekleşen bakteriyel eliminasyon EDDY'e göre daha düşük olduğundan daha küçük ışığa eşik değeri farkları gerçekleşmiştir. Sonuç olarak EDDY Bacteriodes için yapılan araştırmada anlamlı düzeyde daha fazla bakteriyel eliminasyon sağlamıştır. ($p=0,023$)

Aynı şekilde Firmicutes için yapılan araştırmada deney grubunda EDDY aktivasyonu yapılan son yıkamanın ardından alınan örneklerde, geleneksel irrigasyon grubundaki son örneklerle göre ışıma görmek için daha fazla döngü ve dolayısıyla daha yüksek eşik değeri (Ct) gerekmiştir (p=0,002). Bununla birlikte alınan ilk örneklerdeki ışıma miktarları ve son örneklerdeki ışıma miktarları arasındaki fark gözlemlendiğinde EDDY cihazının anlamlı düzeyde daha fazla bakteri uzaklaştırması sağladığı tespit edilmiştir. (p=0,002)

Aşağıdaki tabloda yukarıda açıklanan sonuçların sayısal dökümü bulunmaktadır.

	Deney		Kontrol		Test ist.	P
	Ort. $\pm$ s. sapma	Ort. (min. - maks.)	Ort. $\pm$ s. sapma	Ort. (min. - maks.)		
rRNA Δ Ct (son-ilk)	3,93 $\pm$ 2,21	4,31 (-0,02 - 7,04)	4,24 $\pm$ 2,08	4,03 (-0,35 - 8,67)	t=-0,496	0,622
Firmicutes Δ Ct (son-ilk)	3,61 $\pm$ 2,42	3,72 (-0,18 - 8,31)	1,27 $\pm$ 2,20	1,28 (-3,74 - 5,16)	t=3,243	0,002
Bacteroides Δ Ct (son-ilk)	7,58 $\pm$ 3,58	8,54 (1,61 - 12,99)	4,95 $\pm$ 3,61	5,69 (-2,13 - 10,34)	t=2,358	0,023

t: Bağımsız iki örnek t test istatistiği

Tablo 4. Gruplara göre GPCR sonuçlarının karşılaştırılması

Tedavinin ikinci seansında hastalara birinci seans sonunda dağıtılan sayısal derecelendirme ölçeği toplanmıştır ve postoperatif ağrı değerlendirme amacı ile kullanılmıştır. Deney ve kontrol grupları arası ve gruplar içi ağrı değerlendirme tablosu aşağıdaki gibidir.

	Deney		Kontrol		Test ist.	p
	Ort. $\pm$ s. sapma	Ort. (min. - maks.)	Ort. $\pm$ s. sapma	Ort. (min. - maks.)		
1 Saat	1,40 $\pm$ 1,66	1,00 (0,00 - 7,00)	0,55 $\pm$ 1,39	0,00 (0,00 - 6,00)	U=147	0,010
6 Saat	1,64 $\pm$ 2,41	1,00 (0,00 - 8,00)	0,90 $\pm$ 1,45	0,00 (0,00 - 6,00)	U=213	0,365
1 Gün	1,12 $\pm$ 1,88	0,00 (0,00 - 6,00)	1,45 $\pm$ 1,76	1,00 (0,00 - 6,00)	U=213,5	0,368
2 Gün	0,76 $\pm$ 2,01	0,00 (0,00 - 8,00)	0,30 $\pm$ 0,66	0,00 (0,00 - 2,00)	U=246	0,896
1 Hafta	0,32 $\pm$ 1,22	0,00 (0,00 - 6,00)	0,10 $\pm$ 0,45	0,00 (0,00 - 2,00)	U=233	0,431
Test ist.	$\chi^2=22,556$		$\chi^2=19,535$			
p	0,051		0,051			

χ^2 : Friedman test istatistiği, U: Mann-Whitney U test istatistiği

Tablo 5. Gruplar arası ve gruplar içi ağrı skorlarının karşılaştırılması

Yukarıdaki tabloda ifade edilen sonuçlara göre deney grubunda hastalar en çok tedaviden 6 saat sonra ağrı ifade etmişlerdir. Kontrol grubunda ise en çok 1 gün sonra ağrı görülmüştür. En az ağrı ise hem deney hem de kontrol gruplarında tedaviden 1 hafta sonra olarak tespit edilmiştir. (ort:0,32 ve 0,10)

Deney ve kontrol grupları kendi aralarında istatistiksel olarak kıyaslandığında 6 saat, 1 gün, 2 gün ve 1 haftada yapılan analizde gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Bununla birlikte tedaviden 1 saat sonrası kıyaslandığında EDDY aktivasyonunun kullanıldığı deney grubu, konvansiyonel iğne irrigasyonu yapılan kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha fazla postoperatif ağrı göstermiştir ($p=0.010$).



5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında EDDY cihazının kanal içerisindeki bakterilerin irrigasyon yolu ile eliminasyon derecesine olan katkısı ve postoperatif ağrıya olan etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda, klinik çalışmamızda standardizasyonun sağlanabilmesi için çok yüksek düzeyde anatomik varyasyonlar gösterdiği bilinen molar dişler çalışma dışı bırakılırken, radyografik muayeneler sonucunda dahil edilmesine karar verilen santral keser, lateral keser, kanin ve premolar dişler üzerinde çalışılmıştır. İki boyutlu radyografların limitasyonları ve bireysel varyasyonlar ölçüsünde mümkün olan en yüksek standardizasyonun sağlanması amacı ile yalnızca düz kök yapısına sahip dişler çalışmaya dahil edilmiştir. Bu uygulamanın standardizasyon sağlanmasının yanında yukarıda belirtilen kurvatürlü kanallarda karşılaşılan aktivasyon ucunun beklenen etkinliğinin azalması ihtimalinin de ortadan kaldırılması hedeflenmiştir. Üç boyutlu radyograflar ALARA prensipleri gereğince kullanılmamıştır.

Hastanın anatomik durumlarının önemli ölçüde etkilediği standardizasyon konusunda bir başka önemli unsur da klinisyenin çalışmadaki rolü olmaktadır. Bunun önüne geçmek adına tüm tedaviler bir hekim tarafından aynı firmaların ürettiği malzemeler kullanılarak, tek bir tedavi protokolü takip edilerek gerçekleştirilmiştir. İyatrojenik hatalar ya da hastaya bağlı çeşitli sebeplerden protokol dışına çıkılması gereken durumlarda ilgili dişler çalışma dışı bırakılarak kök kanal tedavisine devam edilmiştir.

Apikal periodontitis patogenezinde çok önemli bir rolü olduğu bilinen biyofilm yapılarının oluşması ve olgunlaşması için belirli bir zaman gerekmektedir. Yapılan bazı çalışmalara göre geniş periapikal lezyonu bulunan dişlerde bakteriyel biyofilmler daha sık görülmektedir. Çünkü apikal periodontitis oluşumu ve radyografik olarak görünür olması için daha uzun süre gerekmektedir. Bu durum daha uzun süreli bir patolojik sürece işaret etmektedir ve daha olgun bir kanal içi enfeksiyon söz konusudur.[53]

Apikal periodontitis tanısında radyografik muayenenin yeri kritiktir. Bunun daha objektif ve nitelikli değerlendirilebilmesi için 'Periapikal İndeks Skorlaması' geliştirilmiştir. Buna göre 1'den 5'e kadar dişlere skorlama yapılmaktadır. '1' normal ve sağlıklı periapikal dokuları, '2' kemik yapısında minör değişiklikleri, '3' diffüz

mineral kaybı ile birlikte kemikte yapısal değişiklikleri, '4' iyi sınırlı alan ile birlikte apikal periodontitisi ve '5' şiddetli özellikler gösteren apikal periodontitisi ifade etmektedir. [162] Yapılan radyografik muayenede periapikal indeks skoru 3,4 ve 5 olarak belirlenen dişler çalışmaya dahil edilmiştir.

Ağız içerisinde oldukça kompleks bir mikrobiyal yaşam devam etmektedir. Dental girişimlerin her biri olası iyatrojenik hatalardan kaynaklı enfeksiyonlara sebep olabilecek bir müdahale olarak görülebilmektedir. Bu sebeple rubber dam izolasyonun sağlanması pek çok dental girişim için önem arz etmektedir. Belki de bunlar içerisinde en çok kök kanal tedavisi sırasında rubber dam ihtiyacı bulunmaktadır. Sağlıklı şartlarda steril durumda bulunan pulpa-dentin kompleksinin herhangi bir tedavi sırasında dış şartlardan korunması için rubber dam izolasyonu önemlidir. Aksi takdirde tükürük ve başka yollarla kök kanal içerisine ağız ortamından mikroorganizma geçişi görülmektedir. [3]

Enfeksiyonun ilk zamanlarında olaya dahil olan bakteriler genellikle ağız ortamında bulunan ve çürük üzerinde göllenen tükürükten kaynak alan türlerdir. Patogenezin ilerleyen aşamalarında mikrobiyatada bazı değişiklikler görülmektedir. Fakat kök kanalında tespit edilen türlerin ağız içerisinde de bulunması mümkündür. [3] Dolayısıyla çalışmamızda hem kök kanal tedavisinin kalitesini kanal içerisine geçişi önlemek yoluyla artırmak hem de izolasyon sağlayarak yalnızca hedeflenen bölgeyi araştırmak maksadı ile rubber dam izolasyonu gerçekleştirilemeyen dişlerin çalışma dışı bırakılmasına karar verilmiştir.

Kök kanal mikrobiyatası araştırmalarında ağız içerisinde bulunan ve normal koşullarda bulunmayan pek çok türün kök kanal enfeksiyonuna sahip bir dişin mikrobiyatasında yer aldığı tespit edilmiştir. Mikrobiyoloji araştırma tekniklerinin gelişimi ile birlikte kanal içerisinde tespit edilen tür sayısının da arttığı görülmüştür. *Dialister*, *Prevotella*, *Solobacterium*, *Olsenella*, *Fusobacterium*, *Firmucites*, *Bacteriodes*, *Treponema*, *Pyramidobacter* ve pek çok türün kanal içerisinde görüldüğü raporlanmıştır. [3] Çalışmamızda kanal içerisinde sıklıkla bulunduğu belirtilen türler olan *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Treponema*, *Enterococcus*, *Dialister*, *Firmucites* ve *Bacteriodes* türleri araştırılmış olsa da *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Enterococcus*, *Dialister* türleri için primer optimizasyonu sağlanamamış, *Treponema* türü için örneklerin büyük çoğunluğunda yeterli ışığa gözlenmemiş ve dolayısıyla bu

gen dizileri çalışma dışı bırakılmıştır. Çalışmamızın sonucu universal primer yanında *Bacteriodes* ve *Firmucites* türleri araştırılarak elde edilmiştir.

Standardizasyon sağlanması amacıyla hastalar kliniğe başvurdıkları günün çift ya da tek oluşuna göre rastgele gruplandırılmıştır. Klinik muayeneler ve tedavilerin tamamı tek bir hekim tarafından gerçekleştirilmiştir. Kök kanallarından örneklerin toplandığı aşamada en önemli unsur kontaminasyonun önüne geçilmesidir. Bu amaçla tüm tedavilerde rubber dam kullanılmış ve diş ile birlikte çalışma alanının da Möller'in tanımladığı prensiplere göre dezenfeksiyonu gerçekleştirilmiştir. Böylece alınan örneklerde çevresel kontaminasyon bulunmadığından emin olunmuştur. Aynı amaçla kök kanallarından alınacak örneklerde steril kâğıt konlar ve steril 10 numara K tipi el eğeleri tercih edilmiştir.

5.1. EDDY ve İrrigasyonun Değerlendirilmesi

Kök kanal irrigasyonu, kanal sisteminin debridman ve dezenfeksiyonu amacıyla ve dolayısıyla apikal enflamatuvar hastaladığın tedavisi hedefiyle gerçekleştirilmektedir. (106). Zaman içerisinde kök kanalının daha etkili dezenfeksiyonu amacıyla geleneksel iğne irrigasyonundan çeşitli aktivasyon tekniklerine uzanan gelişmeler sağlanmıştır. Çünkü anatomik varyasyonlar ve dentin tübüllerindeki bakteriyel birikimler gibi geleneksel irrigasyon ile çözilemeyen sorunların varlığı saptanmıştır. (120)

Teknolojik ve metodolojik gelişmelere rağmen kök kanallarının sterilizasyonu günümüzde halen mümkün olmamaktadır. Ancak dezenfeksiyonun boyutları değişebilmektedir. Bununla birlikte yeni tekniklerin postoperatif hassasiyet gibi yeni ve kesin olmayan yan etkileri de literatürde tartışılmaktadır. Son zamanlarda geliştirilen irrigasyon aktivasyon cihazlarından birisi de çalışmamıza konu olan EDDY cihazıdır.

EDDY cihazı sonik enerji ile çalışan poliamid uca sahip bir aktivasyon cihazıdır. Poliamid uç 25, 0.04 boyutlarında ve esnek yapıdadır. Bu sebepten üretici firma klinik kullanım açısından kanalın en az ISO 25'e kadar genişletilmesi gerektiğini belirtmektedir. Bir air scaler ucuna takılarak kullanılan cihaz 6000 Hz güce kadar kullanılabilir. Yüksek amplitüdlü aktivasyonun kanal içerisindeki irrigasyon etkinliğini artırması hedeflenmektedir. Şekillendirmenin ardından pulpa odasına

irrigasyon solüsyonu aktarılır ve EDDY ucu çalışma boyundan 1 mm kısa olacak şekilde kanal içerisine yerleştirildikten sonra çalıştırılır. İleri geri vertikal hareketler uygulanır ve aktivasyon sonlandırıldıktan sonra uç kanal içerisinden uzaklaştırılır. Üç boyutlu hareketinin kavitasyon oluşumu ve akustik akım şeklinde iki fiziksel etkisinin olduğu belirtilmektedir. Bu özellikleri ile pasif ultrasonik irrigasyona benzer bir mekanizma ile temizlik etkinliği gösterdiği görülmektedir. (146)

Çalışmamızda EDDY cihazı üretici talimatlarına göre dikkatli bir şekilde kullanılmıştır. Tedavi sırasında vertikal hareket sınırları, aktivasyon süresi ve öncesindeki kanal şekillendirme boyutları gibi aktivasyondan alınacak verimi etkileyebilecek faktörler hassasiyetle uygulanmıştır. Aynı şekilde geleneksel iğne irrigasyonu grubunda da çalışma boyundan 1 mm kısa olacak şekilde ve vertikal 3 mm sınırdaki hareketler ile yıkama gerçekleştirilmiştir.

5.2. PCR Tekniği ve Laboratuvar Aşamalarının Değerlendirilmesi

Alınan örnekler yeterli hasta sayısına ulaşıncaya kadar -80°C’de saklanmıştır. Böylece örnekler içerisinde bulunan bakteriyel DNA’nın zarar görmesinin önüne geçilmiştir. Örneklerden DNA izolasyonu gerçekleştirildikten sonra SYBR Green boyasının kullanıldığı gerçek zamanlı PCR aşamalarına geçilmiştir.

Moleküler biyoloji teknikleri ile DNA, RNA ve protein gibi yapılar tanımlanabilmektedir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), klinik örneklerden tek bir DNA kopyasını dahi tanımlama yeteneği ile çeşitli limitasyonları aşabilmiş bir tekniktir. Avantajları arasında yüksek tutarlılık, hassasiyet, hızlı analiz, kalite kontrolü ve minimum kontaminasyon bulunduğu belirtilmektedir. Bununla birlikte anaerobik hücreleri çalışmak da bu teknikte canlı hücre gereksinimi olmadığından mümkündür. Real-time PCR teknikleri ile klinik örneklerdeki bakteri sayısını saptamak mümkün olmaktadır. [165] Ancak PCR tekniklerinin bazı limitasyonları bulunmaktadır. Bunların başında maliyet gelmektedir. Bu sebepten ötürü diagnostik bir araç olarak yaygın kullanım mümkün olmamıştır. Ayrıca bazı durumlarda spesifik olan ve olmayan PCR ürünlerinin floresan sinyal ayrımı yapılamamaktadır. Bu durum da sonuçları olumsuz etkilemektedir. [166]

Yine de endodontik mikrobiyotaya dahil bazı türlerin tanımlanması ancak PCR teknikleri ile mümkün olmuştur. Bu tekniklerin tıbbi mikrobiyolojide olduğu gibi

endodontik enfeksiyonların profilinin belirlenmesi açısından da devrim niteliği taşıdığı belirtilmektedir. [166] Bu teknikler önemli olduğu kadar maliyetli oluşu ve klinik hassasiyet gereksiniminden dolayı literatürde henüz yeterince endodonti çalışması bulunmamaktadır. Endodontik mikrobiyoloji alanında yapılan çalışmaların birinde başarısız kök kanal tedavisi bulunan enfekte dişlerin florası PCR teknikleri ile incelenmiştir. Araştırmada bakteri spesifik primer'lar kullanılarak elde edilen sonuçlara göre en sık *E.faecalis* türü tespit edilmiştir. Yazarlar çalışma sonuçlarını elde etmede PCR tekniklerinin kültür tekniklerinin limitasyonlarını ortadan kaldırarak faydalı olduğunu belirtmektedir. [166]

Yakın zamanda yapılan bir başka klinik çalışmada hastalar iki gruba ayrılmıştır. Bir grupta kök kanal tedavisinde resiprokasyon hareketi yapan enstrümanlar diğer grupta ise rotasyonel enstrümanlar kullanılmıştır. Sonuçta bakteriyel eliminasyon açısından enstrüman hareket türleri açısından bir farklılık görülmemiştir. Bizim çalışmamız açısından önemli olan ise alınan kültür ve qPCR sonuçları karşılaştırıldığında qPCR grubunda anlamlı düzeyde daha yüksek oranda bakteri tespit edilmiştir. [167]

Çalışmamızda moleküler biyoloji teknikleri arasında sıklıkla kullanılan SYBR Green boyası tercih edilmiştir. SYBR Green tek zincir DNA'ya bağlanamayan ancak çift zincir DNA'ya bağlanan, oldukça hassas ve kuvvetli floresan ışımaya gösteren bir moleküldür. Böylece örnekler içerisinde primer ile bağlanma gösteren ve varlığı kanıtlanan bakteri DNA'sı ışımaya miktarı ile orantılı olarak yoğunluğu bağlamında değerlendirilebilmiştir.

Kanal tedavileri sırasında tedavi kalitesini artırmak ve çapraz enfeksiyonun önüne geçmek gibi amaçlarla standart kullanım haline gelmiş rubber dam uygulamasının çalışmamızda kullanılmasının bir başka sebebi PCR analiz aşamasında olası sorunların önüne geçmektir. Klinik örneklerdeki kontaminasyonun DNA amplifikasyonu ve yanlış pozitif sonuçlara yol açabilmesi PCR tekniklerinin dezavantajları arasında gösterilmektedir [168]

5.3. EDDY'nin Kök Kanal Mikrobiyotasına Etkisinin Değerlendirilmesi:

Çalışmamızın sonuçlarına göre EDDY cihazının kullanıldığı Bacteriodes ve Firmicutes bakterilerinin araştırıldığı gruplarda; EDDY, geleneksel iğne irrigasyonuna göre anlamlı düzeyde daha fazla bakteriyel eliminasyon göstermektedir. Klinik çalışmalar doğaları gereği standardizasyon açısından zorlayıcı özellikte olmakla birlikte çalışmamızda standardizasyon sağlanması için pek çok uygulama gerçekleştirilmiştir. Nitekim elde ettiğimiz sonuçlar ile mevcut literatür arasında paralellik de gözlenmektedir.

Literatürde EDDY cihazının mikrobiyal eliminasyon ile ilişkisini değerlendiren bir adet *in vitro* çalışma olup konu hakkında henüz bir *in vivo* çalışma yapılmamıştır. Bu bağlamda çalışmamız bir ilki teşkil etmektedir. Bahsi geçen *in vitro* çalışmada çekilmiş dişler dekontamine edilmiş ve kök kanalları *E.faecalis* ile enfekte edilmiştir. Ardından EDDY ve geleneksel iğne irrigasyonu uygulanarak kültür teknikleri ve konfokal lazer mikroskopisi ile bakteri eliminasyonu ölçülmüştür. Sonuçta EDDY cihazının kullanıldığı grupta daha fazla bakteri eliminasyonu ve daha fazla ölü bakteri saptanmıştır. Ancak apikal üçlüldeki dentin tübüllerinin derinlerinde iki teknik de yetersiz kalmıştır. [169]

Henüz literatürde EDDY cihazı ile yapılmış mikrobiyoloji çalışmaları yeterli düzeyde değildir. Ancak EDDY'ye benzer şekilde sonik güçle çalışan başka aktivasyon sistemleri de bulunmaktadır. Örneğin çekilmiş dişlerin kök kanallarının *E. faecalis* ile enfekte edildiği bir çalışmada konfokal lazer mikroskopisi kullanılarak bakteriyel eliminasyon araştırılmış ve EndoActivator karşılaştırıldığı iğne irrigasyonu, XP-Endo Finisher ve lazer irrigasyonları gibi mikrobiyal eliminasyonda anlamlı düzeyde etkili bulunmuştur [170]

Sonuç olarak EDDY cihazı kök kanallarından bakterileri uzaklaştırmakta etkili bir cihaz olarak görünse de daha fazla hasta sayısı ile daha çok sayıda klinik çalışma yapılması gerekmektedir.

5.4. EDDY'nin Postoperatif Ağrıya Etkisinin Değerlendirilmesi:

Çalışmamızın postoperatif ağrı değerlendirmesi için sıklıkla kullanılan görsel analog skala değil sayısal derecelendirme ölçeği kullanılmıştır. Hem görsel analog

skala üzerinde işaretlenecek bir değer olmayışının hastalarda oluşturduğu kafa karışıklığından kaçılmış hem de istatistiksel kolaylık sağlamak amaçlanmıştır.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre EDDY cihazının kullanıldığı grupta bulunan hastalar ile geleneksel iğne irrigasyonu uygulanan hastalar arasında postoperatif ağrı açısından 6 saat, 1 gün, 2 gün ve 1 hafta zaman dilimlerinde anlamlı düzeyde farklılık bulunmamakla birlikte tedavinin hemen ardından birinci saatte EDDY grubunda daha yüksek postoperatif ağrı düzeylerine rastlanmıştır.

Yapılan postoperatif ağrı çalışmalarında tedavi öncesinde mevcut ağrının en büyük predispozan faktörlerden birisi olduğu ortaya konmuştur. Semptomatik molar dişlerde ağrı sıklığı daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte irrigasyon aşamasında apikal ekstrüzyon ihtimali de postoperatif ağrının sebepleri arasında tartışmalı olarak belirtilmektedir. [156, 158] Çalışmamızda EDDY'nin postoperatif ağrıya olan etkisini değerlendirmek için sıklıkla daha az postoperatif ağrı görülen durumlar çalışmaya içerisine dahil edilmiştir. Asemptomatik ve molar olmayan dişlerin tercih edilmesi ile birlikte EDDY cihazının predispozisyon oluşturacak şartlardan bağımsız bir şekilde postoperatif ağrıya olan etkisinin değerlendirilmesinin mümkün olacağı öngörülmüştür.

İlk 1 saatte görülen postoperatif ağrının apikalden debris ekstrüzyonu, irrigasyon solüsyonunun minimal düzeyde ekstrüzyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Nitekim bu olasılığın artmasının önüne geçmek için çalışmamıza açık uçlu apekslere sahip ya da apekte rezorpsiyona uğramış dişler dahil edilmemiştir.

Yapılan çalışmalarda endodontik tedavi sonrasında görülen postoperatif ağrının asıl sebepleri arasında irrigasyon aşamasında görülen bazı istenmeyen olaylar gösterilmiştir. Vital ya da nekrotik pulpa parçalarının, bakteri ve ürünlerinin, enfekte smear dokusunun ve irrigasyon solüsyonlarının periapikal dokulara ekstrüze olmaları postoperatif ağrı riskini artırmaktadır. Geleneksel irrigasyon yöntemlerinin limitasyonlarını gidermek için yeni aktivasyon sistemleri geliştirilirken önemli bir başka unsur da bu istenmeyen durumların önüne geçmektir. [152-155]

Literatürde EDDY cihazının kullanıldığı az sayıda çalışma bulunmaktadır. Gündoğar ve ark. semptomatik irreversibl pulpitis tanısı konmuş mandibular premolar dişleri bulunan hastalar üzerinde EDDY, EndoActivator ve pasif ultrasonik aktivasyon cihazlarının postoperatif ağrıya olan etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. Yalnızca ilk 24 saatte

herhangi bir aktivasyon gerçekleştirilmeyen grupta daha yüksek postoperatif ağrı skorları tespit edilmiştir. [152] Çalışmamızda ise ilk 24 saatte bu çalışmanın aksine EDDY grubunda daha yüksek postoperatif ağrı skorları tespit edilmiştir. Bununla birlikte 24 saat ile 1 hafta arasındaki ağrı değerlerinde ise Gündoğar ve ark. çalışmalarına paralel şekilde gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. Klinik çalışmaların standardizasyonu, hekim faktörü gibi durumlar da göz önüne alındığında konu hakkında daha fazla *in vivo* çalışma yapılması gerektiği görülmektedir.

İrrigasyon solüsyonunun periapikal dokulara çıkışı postoperatif ağrının en önemli sebeplerinden birisi olmakla birlikte klinikte yoğun bir şekilde kullanılan NaOCl solüsyonunun sitotoksik etkileri ile birlikte istenmeyen klinik tablolara da yol açmaktadır. NaOCl kazaları hem akut klinik tablo olarak oldukça huzursuz edicidir hem de fasiyal venöz sisteme solüsyonun dahili durumunda yaygın ekimozlar gibi durumlar ortaya çıkabilmektedir. Bu konuyla ilgili yapılan bir çalışmada NaOCl'nin venöz sisteme dahil olması için santral venöz basınç değerinin üstüne çıkması gerektiği belirtilmiştir. Postoperatif huzursuzluğun en önemli sebeplerinden birisi olan solüsyon ekstrüzyonu hakkında EDDY kullanılarak yapılan bir *in vitro* çalışmada ultrasonik aktivasyon, EDDY, EndoVac, self adjusting file (SAF), XP-endo finisher sistemleri karşılaştırılmıştır. Sonuçta araştırmada diğer tekniklerin aksine EDDY'nin kritik basınç değerini aştığı görülmüştür ve özellikle açık apeksli dişlerin tedavisinde EDDY kullanımında dikkatli olunması gerektiği belirtilmiştir. [153] Bu çalışma postoperatif ağrıya sebep olacak şekilde solüsyon ekstrüzyonunun EDDY ile birlikte bir risk olduğunu ortaya koymaktadır. Çalışmamızın postoperatif ağrı analizinde ilk 24 saatte EDDY grubunda anlamlı düzeyde fazla ağrı görülme sebepleri arasında solüsyon ekstrüzyonunun da bir ihtimal olarak bulunduğu düşünülmektedir.

Kök kanal irrigasyonunun amacı kök kanal sisteminde mikrobiyal eliminasyonu sağlamak olmakla beraber bazı durumlarda istenmeyen sonuçlar ortaya çıkabilmektedir. Geleneksel iğne irrigasyonunun limitasyonları kaldırılarak daha etkin bir dezenfeksiyon sağlamak için çeşitli sistemler geliştirilse de henüz kusursuz bir sistem ortaya konmamıştır. Ortaya çıkan problemlerden birisi de bakteri ekstrüzyonudur. Bu konuda EDDY kullanılarak gerçekleştirilen ve *E.faecalis* ile kontamine edilmiş çekilmiş dişlerin kullanıldığı bir *in vitro* çalışmada EndoVac, EDDY, EndoActivator sistemleri ve geleneksel iğne irrigasyonu bakteri ekstrüzyon

miktarı açısından araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre EndoActivator ve geleneksel yöntemler EDDY ve EndoVac'a göre farklılık göstermezken EndoVac EDDY'e göre daha az bakteri ekstrüzyonuna sebep olmuştur. [154] Postoperatif ağrının en önemli sebeplerinden birisi olan bakteri ekstrüzyonu konusunda EDDY cihazının kullanıldığı daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

Kök kanal şekillendirilmesi sırasında oluşan debris içerisinde bakteri ve toksinleri bulunduğu bilinmektedir. Dolayısıyla bu yapının apikal dokulara itilmesi postoperatif ağrı açısından risk teşkil etmektedir. EDDY cihazı kullanılarak yapılan bir başka *in vitro* çalışmada pasif ultrasonik irrigasyon, EDDY, PIPS ve manuel irrigasyon teknikleri apikal debris ekstrüzyon miktarı açısından karşılaştırılmıştır. Yapılan bu çalışmada EDDY cihazının anlamlı düzeyde daha fazla debris ekstrüzyonuna sebep olduğu tespit edilmiştir. [155]

Yukarıda belirtilen çalışmalara göre EDDY cihazı diğer aktivasyon tekniklerine göre debris ve irrigasyon solüsyonlarının daha fazla ekstrüzyonuna neden olmaktadır. Tüm bu sonuçlar klinik durumu birebir yansıtmasa da çalışmamızın sonucunda ulaştığımız ilk 24 saatte EDDY'nin daha fazla postoperatif ağrıya sebep olması ile uyum içerisinde görülmektedir. Deney tasarımlarının da farklılık arz ettiği göz önüne alındığında EDDY cihazı kullanılarak daha fazla çalışma yapılması gerektiği görülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER:

- Deney ve kontrol grupları arasında postoperatif ağrı açısından 1. saatte anlamlı düzeyde fark görülmüştür. EDDY aktivasyon grubunda tedavi sonrası 1. saatte daha yüksek postoperatif ağrı varlığı tespit edilmiştir.
- Tedaviden 6, 24, 48 saat ve 1 hafta sonrasında yapılan postoperatif ağrı değerlendirmesinde gruplar arasında farklılık görülmemiştir.
- Bu sonuçlar bağlamında EDDY cihazı ile yapılan sonik aktivasyon uygulanan kök kanal tedavilerinden önce profilaktik ağrı kesici kullanımının faydası muhtemel görünmektedir.
- Hem Bacterioides hem de Firmicutes araştırmalarında deney ve kontrol grupları arasında bakteriyel eliminasyon açısından anlamlı farklılık tespit edilmiştir. Sonuçlara göre EDDY, geleneksel irrigasyon tekniğine göre daha fazla bakteriyel eliminasyon sağlamıştır.
- Kök kanal anatomisinden kaynaklı zorluklar hekimlerin klinik çalışmalarını zorlaştırmaktadır. Piyasada hekimlerin kullanımına hazır bulunan sonik ve ultrasonik aktivasyon uçları mevcuttur. Çalışmamız aktivasyonun kök kanal mikrobiyatasının dezenfeksiyonu açısından önemli bir fark oluşturduğunu ortaya koymaktadır. Irrigasyonun aktive edilmesi tavsiye edilmektedir.
- Irrigasyon aktivasyonunun kök kanal mikrobiyatasına olan etkisini değerlendirmek için, ileri mikrobiyoloji tekniklerin kullanıldığı ve hasta sayısının daha da artırıldığı hassas çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. Kakehashi, S., Stanley, H. R. ve Fitzgerald, R. J. (1965). The Effects of Surgical Exposures of Dental Pulp in Germ-Free and Conventional Laboratory Rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 20, 340-349.
2. Nair, P. N. (1997). Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. *Periodontol 2000*, 13, 121-148.
3. **Hargreaves, K. M. ve Berman, L. H.** *Cohen's pathways of the pulp*. Eleventh edition. ed. xiv, 907 pages s.
4. Nair, P. N., Sjogren, U. ve Sundqvist, G. (1998). Cholesterol crystals as an etiological factor in non-resolving chronic inflammation: an experimental study in guinea pigs. *Eur J Oral Sci*, 106(2 Pt 1), 644-650.
5. Stashenko, P. (1990). Role of immune cytokines in the pathogenesis of periapical lesions. *Endod Dent Traumatol*, 6(3), 89-96.
6. **Sundqvist, G.** (1976). *Bacteriological studies of necrotic dental pulps*.
7. Dahlen, G., Magnusson, B. C. ve Moller, A. (1981). Histological and histochemical study of the influence of lipopolysaccharide extracted from *Fusobacterium nucleatum* on the periapical tissues in the monkey *Macaca fascicularis*. *Arch Oral Biol*, 26(7), 591-598.
8. Yamasaki, M., Nakane, A., Kumazawa, M., Hashioka, K., Horiba, N. ve Nakamura, H. (1992). Endotoxin and gram-negative bacteria in the rat periapical lesions. *J Endod*, 18(10), 501-504.
9. Majno, G. ve Joris, I. **Cells, tissues, and disease : principles of general pathology**. (2004). New York: Oxford University Press;;
<http://purl.oclc.org/DLF/benchrepro0212>
<http://ezproxy.umsl.edu/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&scope=site&db=nlebk&AN=176890>
10. **Goering, R. V. ve Mims, C. A.** (2008). *Mims' medical microbiology*. 4th ed. Philadelphia: Mosby Elsevier. xi, 656 pages s.
11. Langeland, K., Block, R. M. ve Grossman, L. I. (1977). A histopathologic and histobacteriologic study of 35 periapical endodontic surgical specimens. *J Endod*, 3(1), 8-23.
12. Walton, R. E. ve Ardjmand, K. (1992). Histological evaluation of the presence of bacteria in induced periapical lesions in monkeys. *J Endod*, 18(5), 216-227.
13. Williams, B. L., McCann, G. F. ve Schoenkecht, F. D. (1983). Bacteriology of dental abscesses of endodontic origin. *J Clin Microbiol*, 18(4), 770-774.
14. Haapasalo, M., Ranta, K. ve Ranta, H. (1987). Mixed anaerobic periapical infection with sinus tract. *Endod Dent Traumatol*, 3(2), 83-85.
15. Sunde, P. T., Olsen, I., Debelian, G. J. ve Tronstad, L. (2002). Microbiota of periapical lesions refractory to endodontic therapy. *J Endod*, 28(4), 304-310.
16. Takahashi, K. (1998). Microbiological, pathological, inflammatory, immunological and molecular biological aspects of periradicular disease. *Int Endod J*, 31(5), 311-325.
17. Sundqvist, G. ve Figdor, D. (2003). Life as an endodontic pathogen. *Endodontic Topics*, 6(1), 3-28.
18. Figdor, D. (2002). Apical periodontitis: a very prevalent problem. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 94(6), 651-652.

19. Tiburcio-Machado, C. S., Michelon, C., Zanatta, F. B., Gomes, M. S., Marin, J. A. ve Bier, C. A. (2021). The global prevalence of apical periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *Int Endod J*, 54(5), 712-735.
20. Miller, W. (1894). An introduction to the study of the bacterio-pathology of the dental pulp. *Dent Cosmos*, (36), 505.
21. Moller, A. J., Fabricius, L., Dahlen, G., Ohman, A. E. ve Heyden, G. (1981). Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scand J Dent Res*, 89(6), 475-484.
22. Ramachandran Nair, P. N. (1987). Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. *J Endod*, 13(1), 29-39.
23. Ricucci, D. ve Siqueira, J. F., Jr. (2010). Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *J Endod*, 36(8), 1277-1288.
24. Siqueira, J. F., Jr. ve Rocas, I. N. (2007). Bacterial pathogenesis and mediators in apical periodontitis. *Braz Dent J*, 18(4), 267-280.
25. Armada-Dias, L., Breda, J., Provenzano, J. C., Breitenbach, M., Rocas, I., Gahyva, S. M., ve ark. (2006). Development of periradicular lesions in normal and diabetic rats. *J Appl Oral Sci*, 14(5), 371-375.
26. Molven, O., Olsen, I. ve Kerekes, K. (1991). Scanning electron microscopy of bacteria in the apical part of root canals in permanent teeth with periapical lesions. *Endod Dent Traumatol*, 7(5), 226-229.
27. Henderson, B., Poole, S. ve Wilson, M. (1996). Bacterial modulins: a novel class of virulence factors which cause host tissue pathology by inducing cytokine synthesis. *Microbiol Rev*, 60(2), 316-341.
28. **Hargreaves, K. M., Goodis, H. E. ve Tay, F. R.** (2012). *Seltzer and Bender's dental pulp*. Second edition. ed. 1 online resource (513 pages) s.
29. **Siqueira, J. F., Jr.** (2011). *Treatment of endodontic infections*. London: Quintessence Publishing.
30. Sen, B. H., Piskin, B. ve Demirci, T. (1995). Observation of bacteria and fungi in infected root canals and dentinal tubules by SEM. *Endod Dent Traumatol*, 11(1), 6-9.
31. Siqueira, J. F., Jr., Rocas, I. N. ve Lopes, H. P. (2002). Patterns of microbial colonization in primary root canal infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 93(2), 174-178.
32. Munson, M. A., Pitt-Ford, T., Chong, B., Weightman, A. ve Wade, W. G. (2002). Molecular and cultural analysis of the microflora associated with endodontic infections. *J Dent Res*, 81(11), 761-766.
33. Nair, P. N., Henry, S., Cano, V. ve Vera, J. (2005). Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 99(2), 231-252.
34. Ricucci, D. ve Siqueira, J. F., Jr. (2008). Apical actinomycosis as a continuum of intraradicular and extraradicular infection: case report and critical review on its involvement with treatment failure. *J Endod*, 34(9), 1124-1129.
35. Matsuo, T., Shirakami, T., Ozaki, K., Nakanishi, T., Yumoto, H. ve Ebisu, S. (2003). An immunohistological study of the localization of bacteria invading root pulpal walls of teeth with periapical lesions. *J Endod*, 29(3), 194-200.
36. Love, R. M. ve Jenkinson, H. F. (2002). Invasion of dentinal tubules by oral bacteria. *Crit Rev Oral Biol Med*, 13(2), 171-183.

37. Perez, F., Calas, P., de Falguerolles, A. ve Maurette, A. (1993). Migration of a *Streptococcus sanguis* strain through the root dentinal tubules. *J Endod*, 19(6), 297-301.
38. Siqueira, J. F., Jr., De Uzeda, M. ve Fonseca, M. E. (1996). A scanning electron microscopic evaluation of in vitro dentinal tubules penetration by selected anaerobic bacteria. *J Endod*, 22(6), 308-310.
39. Siqueira, J. F., Jr., Rocas, I. N., Lopes, H. P., Elias, C. N. ve de Uzeda, M. (2002). Fungal infection of the radicular dentin. *J Endod*, 28(11), 770-773.
40. Peters, L. B., Wesselink, P. R., Buijs, J. F. ve van Winkelhoff, A. J. (2001). Viable bacteria in root dentinal tubules of teeth with apical periodontitis. *J Endod*, 27(2), 76-81.
41. Vera, J., Siqueira, J. F., Jr., Ricucci, D., Loghin, S., Fernandez, N., Flores, B., ve ark. (2012). One- versus two-visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a histobacteriologic study. *J Endod*, 38(8), 1040-1052.
42. Donlan, R. M. ve Costerton, J. W. (2002). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev*, 15(2), 167-193.
43. Hall-Stoodley, L., Costerton, J. W. ve Stoodley, P. (2004). Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol*, 2(2), 95-108.
44. Costerton, J. W., Stewart, P. S. ve Greenberg, E. P. (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284(5418), 1318-1322.
45. Socransky, S. S. ve Haffajee, A. D. (2002). Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000*, 28, 12-55.
46. Costerton, B. (2004). Microbial ecology comes of age and joins the general ecology community. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101(49), 16983-16984.
47. Costerton, J. W., Lewandowski, Z., Caldwell, D. E., Korber, D. R. ve Lappin-Scott, H. M. (1995). Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol*, 49, 711-745.
48. Beloin, C., Valle, J., Latour-Lambert, P., Faure, P., Kzreminski, M., Balestrino, D., ve ark. (2004). Global impact of mature biofilm lifestyle on *Escherichia coli* K-12 gene expression. *Mol Microbiol*, 51(3), 659-674.
49. Oosthuizen, M. C., Steyn, B., Theron, J., Cosette, P., Lindsay, D., Von Holy, A., ve ark. (2002). Proteomic analysis reveals differential protein expression by *Bacillus cereus* during biofilm formation. *Appl Environ Microbiol*, 68(6), 2770-2780.
50. Marsh, P. D. (2005). Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style. *J Clin Periodontol*, 32 Suppl 6, 7-15.
51. Brook, I. (1987). Role of encapsulated anaerobic bacteria in synergistic infections. *Crit Rev Microbiol*, 14(3), 171-193.
52. Carr, G. B., Schwartz, R. S., Schaudinn, C., Gorur, A. ve Costerton, J. W. (2009). Ultrastructural examination of failed molar retreatment with secondary apical periodontitis: an examination of endodontic biofilms in an endodontic retreatment failure. *J Endod*, 35(9), 1303-1309.
53. Chugal, N. M., Clive, J. M. ve Spangberg, L. S. (2001). A prognostic model for assessment of the outcome of endodontic treatment: Effect of biologic and diagnostic variables. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 91(3), 342-352.
54. Hall-Stoodley, L. ve Stoodley, P. (2009). Evolving concepts in biofilm infections. *Cell Microbiol*, 11(7), 1034-1043.

55. Parsek, M. R. ve Singh, P. K. (2003). Bacterial biofilms: an emerging link to disease pathogenesis. *Annu Rev Microbiol*, 57, 677-701.
56. Baumgartner, J. C. ve Xia, T. (2003). Antibiotic susceptibility of bacteria associated with endodontic abscesses. *J Endod*, 29(1), 44-47.
57. Ricucci, D., Lin, L. M. ve Spangberg, L. S. (2009). Wound healing of apical tissues after root canal therapy: a long-term clinical, radiographic, and histopathologic observation study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 108(4), 609-621.
58. Slots, J. (1986). Rapid identification of important periodontal microorganisms by cultivation. *Oral Microbiol Immunol*, 1(1), 48-57.
59. **Engelkirk, P. G., Duben-Engelkirk, J. L. ve Dowell, V. R.** (1992). *Principles and practice of clinical anaerobic bacteriology : a self-instructional text and bench manual*. Belmont, Calif.: Star Pub. Co. ix, 462 pages s.
60. Amann, R. I., Ludwig, W. ve Schleifer, K. H. (1995). Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol Rev*, 59(1), 143-169.
61. Ward, D. M., Weller, R. ve Bateson, M. M. (1990). 16S rRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community. *Nature*, 345(6270), 63-65.
62. Aas, J. A., Griffen, A. L., Dardis, S. R., Lee, A. M., Olsen, I., Dewhirst, F. E., ve ark. (2008). Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults. *J Clin Microbiol*, 46(4), 1407-1417.
63. Aas, J. A., Paster, B. J., Stokes, L. N., Olsen, I. ve Dewhirst, F. E. (2005). Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol*, 43(11), 5721-5732.
64. Green, B. D. ve Keller, M. (2006). Capturing the uncultivated majority. *Curr Opin Biotechnol*, 17(3), 236-240.
65. Beighton, D., Hardie, J. M. ve Whaley, R. A. (1991). A scheme for the identification of viridans streptococci. *J Med Microbiol*, 35(6), 367-372.
66. Bosshard, P. P., Abels, S., Altwegg, M., Bottger, E. C. ve Zbinden, R. (2004). Comparison of conventional and molecular methods for identification of aerobic catalase-negative gram-positive cocci in the clinical laboratory. *J Clin Microbiol*, 42(5), 2065-2073.
67. Bosshard, P. P., Abels, S., Zbinden, R., Bottger, E. C. ve Altwegg, M. (2003). Ribosomal DNA sequencing for identification of aerobic gram-positive rods in the clinical laboratory (an 18-month evaluation). *J Clin Microbiol*, 41(9), 4134-4140.
68. Drancourt, M., Bollet, C., Carlioz, A., Martelin, R., Gayral, J. P. ve Raoult, D. (2000). 16S ribosomal DNA sequence analysis of a large collection of environmental and clinical unidentifiable bacterial isolates. *J Clin Microbiol*, 38(10), 3623-3630.
69. Woese, C. R. (1987). Bacterial evolution. *Microbiol Rev*, 51(2), 221-271.
70. **Siqueira Jr, J. F. ve Rôças, I. N.** (2017). Molecular Analysis of Endodontic Infections. *Endodontic Microbiology* ss. 81-128):
71. Seltzer, S. ve Farber, P. A. (1994). Microbiologic factors in endodontology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 78(5), 634-645.
72. Siqueira, J. F., Jr. ve Rôças, I. N. (2009). Diversity of endodontic microbiota revisited. *J Dent Res*, 88(11), 969-981.

73. Siqueira, J. F., Jr. ve Rocas, I. N. (2005). Uncultivated phylotypes and newly named species associated with primary and persistent endodontic infections. *J Clin Microbiol*, 43(7), 3314-3319.
74. Siqueira, J. F., Jr. ve Rocas, I. N. (2005). Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: Part 2--Redefining the endodontic microbiota. *J Endod*, 31(7), 488-498.
75. **Mims, C. A., Stephen, J., Stephen, J. ve Nash, A.** (2001). *Mims' pathogenesis of infectious disease*. 5th ed. San Diego, Calif. ; London: Academic Press. xiii, 474 p. s.
76. Paster, B. J., Olsen, I., Aas, J. A. ve Dewhirst, F. E. (2006). The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. *Periodontol 2000*, 42, 80-87.
77. Dewhirst, F. E., Chen, T., Izard, J., Paster, B. J., Tanner, A. C., Yu, W. H., ve ark. (2010). The human oral microbiome. *J Bacteriol*, 192(19), 5002-5017.
78. Ahn, J., Yang, L., Paster, B. J., Ganly, I., Morris, L., Pei, Z., ve ark. (2011). Oral microbiome profiles: 16S rRNA pyrosequencing and microarray assay comparison. *PLoS One*, 6(7), e22788.
79. Blome, B., Braun, A., Sobarzo, V. ve Jepsen, S. (2008). Molecular identification and quantification of bacteria from endodontic infections using real-time polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol*, 23(5), 384-390.
80. Sakamoto, M., Siqueira, J. F., Jr., Rocas, I. N. ve Benno, Y. (2007). Bacterial reduction and persistence after endodontic treatment procedures. *Oral Microbiol Immunol*, 22(1), 19-23.
81. Ribeiro, A. C., Matarazzo, F., Faveri, M., Zetzell, D. M. ve Mayer, M. P. (2011). Exploring bacterial diversity of endodontic microbiota by cloning and sequencing 16S rRNA. *J Endod*, 37(7), 922-926.
82. Rocas, I. N. ve Siqueira, J. F., Jr. (2008). Root canal microbiota of teeth with chronic apical periodontitis. *J Clin Microbiol*, 46(11), 3599-3606.
83. Sakamoto, M., Rocas, I. N., Siqueira, J. F., Jr. ve Benno, Y. (2006). Molecular analysis of bacteria in asymptomatic and symptomatic endodontic infections. *Oral Microbiol Immunol*, 21(2), 112-122.
84. Baumgartner, J. C., Watkins, B. J., Bae, K. S. ve Xia, T. (1999). Association of black-pigmented bacteria with endodontic infections. *J Endod*, 25(6), 413-415.
85. Foschi, F., Cavrini, F., Montebugnoli, L., Stashenko, P., Sambri, V. ve Prati, C. (2005). Detection of bacteria in endodontic samples by polymerase chain reaction assays and association with defined clinical signs in Italian patients. *Oral Microbiol Immunol*, 20(5), 289-295.
86. Fouad, A. F., Barry, J., Caimano, M., Clawson, M., Zhu, Q., Carver, R., ve ark. (2002). PCR-based identification of bacteria associated with endodontic infections. *J Clin Microbiol*, 40(9), 3223-3231.
87. Saito, D., de Toledo Leonardo, R., Rodrigues, J. L. M., Tsai, S. M., Hofling, J. F. ve Goncalves, R. B. (2006). Identification of bacteria in endodontic infections by sequence analysis of 16S rDNA clone libraries. *J Med Microbiol*, 55(Pt 1), 101-107.
88. Rocas, I. N. ve Siqueira, J. F., Jr. (2006). Characterization of *Dialister* species in infected root canals. *J Endod*, 32(11), 1057-1061.

89. Rolph, H. J., Lennon, A., Riggio, M. P., Saunders, W. P., MacKenzie, D., Coldero, L., ve ark. (2001). Molecular identification of microorganisms from endodontic infections. *J Clin Microbiol*, 39(9), 3282-3289.
90. Sakamoto, M., Siqueira, J. F., Jr., Rocas, I. N. ve Benno, Y. (2009). Diversity of spirochetes in endodontic infections. *J Clin Microbiol*, 47(5), 1352-1357.
91. Siqueira, J. F., Jr., Rocas, I. N., Alves, F. R. ve Silva, M. G. (2009). Bacteria in the apical root canal of teeth with primary apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 107(5), 721-726.
92. de Sousa, E. L., Ferraz, C. C., Gomes, B. P., Pinheiro, E. T., Teixeira, F. B. ve de Souza-Filho, F. J. (2003). Bacteriological study of root canals associated with periapical abscesses. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 96(3), 332-339.
93. Khemaleelakul, S., Baumgartner, J. C. ve Pruksakorn, S. (2002). Identification of bacteria in acute endodontic infections and their antimicrobial susceptibility. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 94(6), 746-755.
94. Kuriyama, T., Karasawa, T., Nakagawa, K., Saiki, Y., Yamamoto, E. ve Nakamura, S. (2000). Bacteriologic features and antimicrobial susceptibility in isolates from orofacial odontogenic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 90(5), 600-608.
95. Robertson, D. ve Smith, A. J. (2009). The microbiology of the acute dental abscess. *J Med Microbiol*, 58(Pt 2), 155-162.
96. Siqueira, J. F., Jr., Rocas, I. N. ve Rosado, A. S. (2004). Investigation of bacterial communities associated with asymptomatic and symptomatic endodontic infections by denaturing gradient gel electrophoresis fingerprinting approach. *Oral Microbiol Immunol*, 19(6), 363-370.
97. Gomes, B. P., Lilley, J. D. ve Drucker, D. B. (1996). Clinical significance of dental root canal microflora. *J Dent*, 24(1-2), 47-55.
98. Griffee, M. B., Patterson, S. S., Miller, C. H., Kafrawy, A. H. ve Newton, C. W. (1980). The relationship of *Bacteroides melaninogenicus* to symptoms associated with pulpal necrosis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 50(5), 457-461.
99. Rocas, I. N., Siqueira, J. F., Andrade, A. ve Uzeda, M. (2002). Identification of Selected Putative Oral Pathogens in Primary Root Canal Infections Associated with Symptoms. *Anaerobe*, 8, 200-208.
100. Haapasalo, M., Ranta, H., Ranta, K. ve Shah, H. (1986). Black-pigmented *Bacteroides* spp. in human apical periodontitis. *Infect Immun*, 53(1), 149-153.
101. Jung, I. Y., Choi, B. K., Kum, K. Y., Roh, B. D., Lee, S. J., Lee, C. Y., ve ark. (2000). Molecular epidemiology and association of putative pathogens in root canal infection. *J Endod*, 26(10), 599-604.
102. Siqueira, J. F., Jr. (2003). Microbial causes of endodontic flare-ups. *Int Endod J*, 36(7), 453-463.
103. Siqueira, J. F., Jr., Alves, F. R. ve Rocas, I. N. (2011). Pyrosequencing analysis of the apical root canal microbiota. *J Endod*, 37(11), 1499-1503.
104. Santos, A. L., Siqueira, J. F., Jr., Rocas, I. N., Jesus, E. C., Rosado, A. S. ve Tiedje, J. M. (2011). Comparing the bacterial diversity of acute and chronic dental root canal infections. *PLoS One*, 6(11), e28088.
105. Rocas, I. N., Siqueira, J. F., Jr. ve Debelian, G. J. (2011). Analysis of symptomatic and asymptomatic primary root canal infections in adult Norwegian patients. *J Endod*, 37(9), 1206-1212.

106. Wexler, H. M. (2007). Bacteroides: the good, the bad, and the nitty-gritty. *Clin Microbiol Rev*, 20(4), 593-621.
107. Haapasalo, M. (1986). Bacteroides buccae and related taxa in necrotic root canal infections. *J Clin Microbiol*, 24(6), 940-944.
108. Sundqvist, G., Johansson, E. ve Sjogren, U. (1989). Prevalence of black-pigmented bacteroides species in root canal infections. *J Endod*, 15(1), 13-19.
109. Seong, C. N., Kang, J. W., Lee, J. H., Seo, S. Y., Woo, J. J., Park, C., ve ark. (2018). Taxonomic hierarchy of the phylum Firmicutes and novel Firmicutes species originated from various environments in Korea. *J Microbiol*, 56(1), 1-10.
110. **Trivedi, P. C., Pandey, S. ve Bhadauria, S.** (2010). *Text Book of Microbiology*. Pointer Publishers.
111. Gomes, B. P., Pinheiro, E. T., Gade-Neto, C. R., Sousa, E. L., Ferraz, C. C., Zaia, A. A., ve ark. (2004). Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiol Immunol*, 19(2), 71-76.
112. **Cohenca, N.** (2014). *Disinfection of Root Canal Systems : the Treatment of Apical Periodontitis*. Hoboken: Wiley. 1 online resource (372 pages) s.
113. Schilder, H. (1974). Cleaning and shaping the root canal. *Dent Clin North Am*, 18(2), 269-296.
114. Hülsmann, M., Peters, O. A. ve Dummer, P. M. H. (2005). Mechanical preparation of root canals: shaping goals, techniques and means. *Endodontic Topics*, 10(1), 30-76.
115. Bystrom, A. ve Sundqvist, G. (1981). Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res*, 89(4), 321-328.
116. Siqueira, J. F., Jr., Lima, K. C., Magalhaes, F. A., Lopes, H. P. ve de Uzeda, M. (1999). Mechanical reduction of the bacterial population in the root canal by three instrumentation techniques. *J Endod*, 25(5), 332-335.
117. Estrela, C., Estrela, C. R., Barbin, E. L., Spano, J. C., Marchesan, M. A. ve Pecora, J. D. (2002). Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz Dent J*, 13(2), 113-117.
118. Radcliffe, C. E., Potouridou, L., Qureshi, R., Habahbeh, N., Qualtrough, A., Worthington, H., ve ark. (2004). Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J*, 37(7), 438-446.
119. Zehnder, M. (2006). Root canal irrigants. *J Endod*, 32(5), 389-398.
120. Zou, L., Shen, Y., Li, W. ve Haapasalo, M. (2010). Penetration of sodium hypochlorite into dentin. *J Endod*, 36(5), 793-796.
121. Noiri, Y., Ehara, A., Kawahara, T., Takemura, N. ve Ebisu, S. (2002). Participation of bacterial biofilms in refractory and chronic periapical periodontitis. *J Endod*, 28(10), 679-683.
122. Clegg, M. S., Vertucci, F. J., Walker, C., Belanger, M. ve Britto, L. R. (2006). The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentin biofilms in vitro. *J Endod*, 32(5), 434-437.
123. Hennessey, T. S. (1973). Some antibacterial properties of chlorhexidine. *J Periodontal Res Suppl*, 12, 61-67.

124. Goldman, M., Kronman, J. H., Goldman, L. B., Clausen, H. ve Grady, J. (1976). New method of irrigation during endodontic treatment. *J Endod*, 2(9), 257-260.
125. Brito, P. R., Souza, L. C., Machado de Oliveira, J. C., Alves, F. R., De-Deus, G., Lopes, H. P., ve ark. (2009). Comparison of the effectiveness of three irrigation techniques in reducing intracanal *Enterococcus faecalis* populations: an in vitro study. *J Endod*, 35(10), 1422-1427.
126. Pashley, D. H. (1990). Clinical considerations of microleakage. *J Endod*, 16(2), 70-77.
127. Torabinejad, M., Khademi, A. A., Babagoli, J., Cho, Y., Johnson, W. B., Bozhilov, K., ve ark. (2003). A new solution for the removal of the smear layer. *J Endod*, 29(3), 170-175.
128. Qian, W., Shen, Y. ve Haapasalo, M. (2011). Quantitative analysis of the effect of irrigant solution sequences on dentin erosion. *J Endod*, 37(10), 1437-1441.
129. Park, E., Shen, Y., Khakpour, M. ve Haapasalo, M. (2013). Apical pressure and extent of irrigant flow beyond the needle tip during positive-pressure irrigation in an in vitro root canal model. *J Endod*, 39(4), 511-515.
130. Senia, E. S., Marshall, F. J. ve Rosen, S. (1971). The solvent action of sodium hypochlorite on pulp tissue of extracted teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 31(1), 96-103.
131. Saini, H. R., Tewari, S., Sangwan, P., Duhan, J. ve Gupta, A. (2012). Effect of different apical preparation sizes on outcome of primary endodontic treatment: a randomized controlled trial. *J Endod*, 38(10), 1309-1315.
132. Tay, F. R., Gu, L. S., Schoeffel, G. J., Wimmer, C., Susin, L., Zhang, K., ve ark. (2010). Effect of vapor lock on root canal debridement by using a side-vented needle for positive-pressure irrigant delivery. *J Endod*, 36(4), 745-750.
133. Dutner, J., Mines, P. ve Anderson, A. (2012). Irrigation trends among American Association of Endodontists members: a web-based survey. *J Endod*, 38(1), 37-40.
134. Gondim, E., Jr., Setzer, F. C., Dos Carmo, C. B. ve Kim, S. (2010). Postoperative pain after the application of two different irrigation devices in a prospective randomized clinical trial. *J Endod*, 36(8), 1295-1301.
135. Behrents, K. T., Speer, M. L. ve Noujeim, M. (2012). Sodium hypochlorite accident with evaluation by cone beam computed tomography. *Int Endod J*, 45(5), 492-498.
136. Gulabivala, K., Ng, Y. L., Gilbertson, M. ve Eames, I. (2010). The fluid mechanics of root canal irrigation. *Physiol Meas*, 31(12), R49-84.
137. Schoeffel, G. J. (2008). The EndoVac method of endodontic irrigation, part 2- efficacy. *Dent Today*, 27(1), 82, 84, 86-87.
138. Chow, T. W. (1983). Mechanical effectiveness of root canal irrigation. *J Endod*, 9(11), 475-479.
139. Haapasalo, M., Qian, W., Portenier, I. ve Waltimo, T. (2007). Effects of dentin on the antimicrobial properties of endodontic medicaments. *J Endod*, 33(8), 917-925.
140. Wilking, J. N., Angelini, T. E., Seminara, A., Brenner, M. P. ve Weitz, D. A. (2011). Biofilms as complex fluids. *MRS Bulletin*, 36(5), 385-391.
141. Jiang, L. M., Verhaagen, B., Versluis, M. ve van der Sluis, L. W. (2010). Evaluation of a sonic device designed to activate irrigant in the root canal. *J Endod*, 36(1), 143-146.

142. Lumley, P. J., Walmsley, A. D. ve Laird, W. R. (1991). Streaming patterns produced around endosonic files. *Int Endod J*, 24(6), 290-297.
143. Verhaagen, B., Lea, S. C., de Bruin, G. J., van der Sluis, L. W., Walmsley, A. D. ve Versluis, M. (2012). Oscillation characteristics of endodontic files: numerical model and its validation. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, 59(11), 2448-2459.
144. Robertson, C. W. ve Williams, D. (1971). Lambert Absorption Coefficients of Water in the Infrared*. *J Opt Soc Am*, 61(10), 1316-1320.
145. Peeters, H. H. ve Suardita, K. (2011). Efficacy of smear layer removal at the root tip by using ethylenediaminetetraacetic acid and erbium, chromium: yttrium, scandium, gallium garnet laser. *J Endod*, 37(11), 1585-1589.
146. Peters, O. A., Bardsley, S., Fong, J., Pandher, G. ve Divito, E. (2011). Disinfection of root canals with photon-initiated photoacoustic streaming. *J Endod*, 37(7), 1008-1012.
147. Nanzer, J., Langlois, S. ve Coeuret, F. (1989). Electrochemical engineering approach to the irrigation of tooth canals under the influence of a vibrating file. *J Biomed Eng*, 11(2), 157-163.
148. Malki, M., Verhaagen, B., Jiang, L. M., Nehme, W., Naaman, A., Versluis, M., ve ark. (2012). Irrigant flow beyond the insertion depth of an ultrasonically oscillating file in straight and curved root canals: visualization and cleaning efficacy. *J Endod*, 38(5), 657-661.
149. Amato, M., Vanoni-Heineken, I., Hecker, H. ve Weiger, R. (2011). Curved versus straight root canals: the benefit of activated irrigation techniques on dentin debris removal. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 111(4), 529-534.
150. **Flemming, H.-C., Wingender, J. ve Szewzyk, U.** (2011). *Biofilm Highlights*.
151. Jiang, L. M., Verhaagen, B., Versluis, M., Zangrillo, C., Cuckovic, D. ve van der Sluis, L. W. (2010). An evaluation of the effect of pulsed ultrasound on the cleaning efficacy of passive ultrasonic irrigation. *J Endod*, 36(11), 1887-1891.
152. Gundogar, M., Sezgin, G. P., Kaplan, S. S., Ozyurek, H., Uslu, G. ve Ozyurek, T. (2021). Postoperative pain after different irrigation activation techniques: a randomized, clinical trial. *Odontology*, 109(2), 385-392.
153. Magni, E., Jaggi, M., Eggmann, F., Weiger, R. ve Connert, T. (2021). Apical pressures generated by several canal irrigation methods: A laboratory study in a maxillary central incisor with an open apex. *Int Endod J*, 54(10), 1937-1947.
154. Ugur Aydin, Z., Erdonmez, D., Ates, M. O. ve Dogan, T. (2021). Efficacy of different irrigation activation systems on bacterial extrusion. *Aust Endod J*, 47(2), 137-142.
155. Ince Yusufoglu, S., Keskin, N. B., Saricam, E. ve Bozkurt, D. A. (2020). Comparison of apical debris extrusion using EDDY, passive ultrasonic activation and photon-initiated photoacoustic streaming irrigation activation devices. *Aust Endod J*, 46(3), 400-404.
156. Clem, W. H. (1970). Posttreatment endodontic pain. *J Am Dent Assoc*, 81(5), 1166-1170.
157. Georgopoulou, M., Anastassiadis, P. ve Sykaras, S. (1986). Pain after chemomechanical preparation. *Int Endod J*, 19(6), 309-314.
158. **Rosenberg, P. A.** (2014). *Endodontic Pain*. 1 ed: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

159. Vuilleumier, P. H., Stamer, U. M. ve Landau, R. (2012). Pharmacogenomic considerations in opioid analgesia. *Pharmgenomics Pers Med*, 5, 73-87.
160. Heller, G. Z., Manuguerra, M. ve Chow, R. (2016). How to analyze the Visual Analogue Scale: Myths, truths and clinical relevance. *Scand J Pain*, 13, 67-75.
161. Hawker, G. A., Mian, S., Kendzerska, T. ve French, M. (2011). Measures of adult pain: Visual Analog Scale for Pain (VAS Pain), Numeric Rating Scale for Pain (NRS Pain), McGill Pain Questionnaire (MPQ), Short-Form McGill Pain Questionnaire (SF-MPQ), Chronic Pain Grade Scale (CPGS), Short Form-36 Bodily Pain Scale (SF-36 BPS), and Measure of Intermittent and Constant Osteoarthritis Pain (ICOAP). *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 63 Suppl 11, S240-252.
162. Kirkevang, L. L., Orstavik, D., Wenzel, A. ve Vaeth, M. (2015). Prognostic value of the full-scale Periapical Index. *Int Endod J*, 48(11), 1051-1058.
163. Wu, C. P., Tu, Y. K., Lu, S. L., Chang, J. H. ve Lu, H. K. (2018). Quantitative analysis of Miller mobility index for the diagnosis of moderate to severe periodontitis - A cross-sectional study. *J Dent Sci*, 13(1), 43-47.
164. Guo, X., Xia, X., Tang, R., Zhou, J., Zhao, H. ve Wang, K. (2008). Development of a real-time PCR method for Firmicutes and Bacteroidetes in faeces and its application to quantify intestinal population of obese and lean pigs. *Lett Appl Microbiol*, 47(5), 367-373.
165. Shahi, S., Zununi Vahed, S., Fathi, N. ve Sharifi, S. (2018). Polymerase chain reaction (PCR)-based methods: Promising molecular tools in dentistry. *Int J Biol Macromol*, 117, 983-992.
166. Barbosa-Ribeiro, M., Arruda-Vasconcelos, R., Louzada, L. M., Dos Santos, D. G., Andreote, F. D. ve Gomes, B. (2021). Microbiological analysis of endodontically treated teeth with apical periodontitis before and after endodontic retreatment. *Clin Oral Investig*, 25(4), 2017-2027.
167. Saber, S. M., Alfadag, A. M. A., Nawar, N. N., Plotino, G. ve Hassanien, E. E. (2022). Instrumentation kinematics does not affect bacterial reduction, post-operative pain, and flare-ups: A randomized clinical trial. *Int Endod J*, 55(5), 405-415.
168. Özbek, M. (2015). ENDODONTİK ENFEKSİYONLARDA MİKROBİYOLOJİK GENETİK TANI YÖNTEMLERİNİN ROLÜ. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 12.
169. Zeng, C., Willison, J., Meghil, M. M., Bergeron, B. E., Cutler, C. W., Tay, F. R., ve ark. (2018). Antibacterial efficacy of an endodontic sonic-powered irrigation system: An in vitro study. *J Dent*, 75, 105-112.
170. Azim, A. A., Aksel, H., Zhuang, T., Mashtare, T., Babu, J. P. ve Huang, G. T. (2016). Efficacy of 4 Irrigation Protocols in Killing Bacteria Colonized in Dentinal Tubules Examined by a Novel Confocal Laser Scanning Microscope Analysis. *J Endod*, 42(6), 928-934.

EK B: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

ARAŞTIRMA AMAÇLI ÇALIŞMA İÇİN AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU

(Hekimin Açıklaması)

Çalışmanın adı:

Aseptomatik Apikal Periodontitisli Dişlerde Eddy Cihazı ile Yapılan Sonik Aktivasyonun Kök Kanal Mikrobiyatası ve Postoperatif Ağrıya Etkisinin Değerlendirilmesi: Prospektif Randomize Kontrollü Klinik Çalışma

Bu çalışmanın amacı;

Kanal tedavisi gerektiren ve kök ucu lezyonu bulunan tek köklü dişlerinize rutin kök kanal tedavisine ilave olarak 2015 yılından bu yana kullanılan EDDY isimli kök kanalı yıkama etkinliğini artıran ürünün kök kanalı içerisindeki bakteri düzeyine olan etkisine ve tedavi sonrası ağrıyı azaltmasına dair araştırmada bulunmaktadır.

Çalışmadan beklenen yararlar:

Bu çalışmadan elde edilen veriler ile daha nitelikli ve kaliteli kök kanal tedavisi gerçekleştirmek için fikir sahibi olunacaktır. Kanal tedavisi gerektiren dişinizdeki sorunlara mikroorganizmalar yol açmaktadır. Bu çalışmamız ile zararlı mikroorganizmaları nasıl daha fazla yok edeceğimize dair veriler elde etmeyi hedeflemekteyiz.

Bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz Doç. Dr. Mehmet Burak Güneşer ve Dt Abdulkadir Tiftik tarafından ağız-diş muayeneniz yapılacaktır. Muayene sonucunda doktorunuz uygun görürse bu çalışmaya alınacaksınız.

Çalışmamız muayene sonucunda gerekli görülen dişin rutin kanal tedavisi sürecini içermektedir. Çalışmaya dahil olmayı reddettiğiniz takdirde tedavinizde bir değişiklik olmayacaktır.

Çalışma süreci her bir katılımcı için 2 seans sürecektir. Çalışmamızda toplam 70 hastamız bulunmakta ve rastgele 2 farklı gruba ayrılmaktadır. Bu gruplardan birisinde EDDY aktivasyon cihazı kullanılacak, diğer grupta ise geleneksel rutin yıkama teknikleri kullanılacaktır.

Dişinizin kök kanalından tedavi sırasında temizlenen enfekte örnekler alınacak ve mikrobiyal analiz gerçekleştirilecektir.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

Sizinle ilgili tıbbi bilgiler gizli tutulacak, ancak çalışmanın kalitesini denetleyen görevliler, etik kurullar ya da resmi makamlarca gereği halinde incelenebilecektir.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında, onayınızı çekmek hakkına sahipsiniz ve araştırmadan ayrılabilirsiniz. Herhangi bir durumda iletişime geçebileceğiniz iletişim bilgileri aşağıda verilmiştir.

Doç. Dr. Mehmet Burak Güneşer, Dt. Abdulkadir Tiftik

Telefon : 0 212 453 17 00 (7001)

Adres: Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Vatan Cad. 34093 Fatih İstanbul

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

Sayın Doç. Dr. Mehmet Burak Güneşer ve Dt.Abdulkadir Tiftik tarafından Bezmialem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin özenle korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. *(Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim)* Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Katılımcı Adı, soyadı: Adres: Tel. İmza	Görüşme tanığı Adı, soyadı: Adres: Tel. İmza:	Katılımcı ile görüşen hekim Adı soyadı, unvanı: Adres: Tel. İmza
--	--	---

EK C: Sayısal Analog Skala

1. Saat	
6. Saat	
1. Gün	
2. Gün	
1. Hafta	

