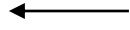


Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**ENDODONTİDE LED CİHAZI İLE YAPILAN
ANTİMİKROBİYAL FOTODİNAMİK TEDAVİDE LED
CİHAZININ UYGULAMA SÜRESİNİN ENTEROCOCCUS
FAECALIS ÜZERİNE ETKİSİNİN IN VITRO OLARAK
İNCELENMESİ**

BERİL KIVILCIM

**DANIŞMAN
PROF. DR. SEÇKİN DİNDAR**

**ENDODONTİ ANABİLİM DALI
ENDODONTİ PROGRAMI**

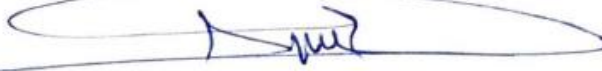
İSTANBUL-2018

DOKTORA TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti Anabilim Dalı Endodonti Programında Doktora öğrencisi Beril Kıvılcım'ın tarafından Prof.Dr. Seçkin Dindar'ın danışmanlığında hazırlanan “ Endodontide Led Cihazı İle Yapılan Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavide Led Cihazının Uygulama Süresinin Enterococcus Faecalis Üzerine Etkisinin İn Vitro Olarak İncelenmesi” başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 19.10.2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı-Danışman

Prof.Dr. Seçkin Dindar
İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti
Anabilim Dalı



Jüri

Prof.Dr.Güven Külekçi
İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Temel Tıp Bilimleri
Anabilim Dalı



Jüri

Prof.Dr. Hakan Özbaş
İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi
Endodonti Anabilim Dalı



Jüri

Prof.Dr. Jale Tanalp
Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Endodonti Anabilim Dalı



Jüri

Prof.Dr. Hakkı Sunay
Altınbaş Üniversitesi Diş Hekimliği
Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı

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 olmadığı beyan ederim.

İMZA

Beril Kıvılcım



İTHAF

Bu tez çalışmasını sevgileri ve bana olan güvenleriyle her zaman yanımda olan sevgili anne ve babama ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez çalışmam boyunca bilgisini, tecrübelerini ve yardımlarını benden esirgemeyen sayın hocam ve danışmanım Prof. Dr. Seçkin Dindar'a,

Tez çalışmamda büyük emeği olan ve her konuda bana yardımcı olan sayın hocalarım Prof. Dr. Güven Külekçi ve Doç. Dr. Nursen Topçuoğlu'na,

Tez çalışmam sırasındaki yardımları için Lab. Emine Mutlu'ya ve İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı çalışanlarına,

İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı ailesine,

Tez çalışmamın laboratuvar aşamasındaki yardımlarından dolayı sevgili dostlarım ve meslektaşlarım Uzm. Dt. Müjde Özgen'e ve Dt. Rüya Uluöz'e,

Tüm eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi olarak yanımda olan, beni her zaman destekleyen ve sevgiyle büyüterek bugün olduğum yere gelmemi sağlayan değerli anne ve babama,

Bilgisi ve sevgisiyle her daim yanımda olan Dr. Dt. Kıvanç Aksoy'a sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 27277

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİ
ÖZET	XİV
ABSTRACT.....	XV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Endodontik Enfeksiyonlar	3
2.1.1. Endodontik Enfeksiyonların Mikrobiyotası.....	4
2.1.1.1. Endodontik Enfeksiyonlarda Görülen Bakteriler.....	5
2.1.1.2. Endodontik Enfeksiyonlarda Görülen Mantarlar	9
2.1.1.3. Endodontik Enfeksiyonlarda Görülen Virüsler.....	10
2.1.2. Endodontik Enfeksiyon Çeşitleri	10
2.1.2.1. Primer Endodontik Enfeksiyonlar.....	10
2.1.2.2. Sekonder Endodontik Enfeksiyonlar.....	12
2.1.2.3. İnatçı Endodontik Enfeksiyonlar.....	12
2.1.2.4. Ekstraradiküler Enfeksiyonlar.....	13
2.1.3. Biofilm	13
2.1.3.1. Biofilmin Yapısı.....	14
2.1.3.2. Biofilm Gelişimi.....	15
2.1.3.3. Biofilm İçerisindeki Mikroorganizmaların Antimikrobiyallere Olan Dayanıklılığı.....	15
2.1.3.4. Endodontik Biofilmler	16
2.2. Endodontik Enfeksiyonların Tedavisi.....	17
2.2.1. Kök Kanallarının Dezenfeksiyonu.....	18

2.2.1.1. Sodyum Hipoklorit.....	20
2.2.1.2. Klorheksidin.....	22
2.2.1.3. Şelasyon Ajanları	23
2.2.1.4. İyodin Potasyum İyodür (IPI)	25
2.2.1.5. Hidrojen Peroksit	26
2.2.1.6. Antibiyotik İçerikli Yıkama Solüsyonları	26
2.2.1.7. Kanal İçi Medikamentler.....	27
2.3. Kök Kanallarının Dezenfeksiyonunda Kullanılan Yeni Teknolojiler	29
2.3.1. Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavi	30
2.3.2. Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavinin Etki Mekanizması	31
2.3.2.1. Fotosensitizör Madde	32
2.3.2.2. Işık Kaynakları	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	39
3.1. Örnek Dişlerin Seçim Kriterleri.....	39
3.2. Örnek Dişlerin Çalışma İçin Hazırlanması	40
3.3. Mikrobiyolojik İşlemler	41
3.3.1. Bakteri Süspansiyonlarının Hazırlanması.....	41
3.3.2. Besiyerlerinin Hazırlanması.....	41
3.3.3. Çalışmada Kullanılan Besiyerlerinin İçerikleri.....	42
3.3.3.1. Triptik Soy Agar (TSA)	42
3.3.3.2. Triptik Soy Buyyon (TSB).....	42
3.3.3.3. VMG II Transport Besiyeri.....	42
3.3.4. Örneklerin <i>Enterococcus faecalis</i> İle Enfekte Edilmesi ve Biofilm Oluşturulması	43
3.4. Kök Kanallarında Oluşan Biofilmin Kontrolü.....	43
3.5. Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavi İçin Kullanılan Işık Cihazı Ve Fotosensitizör Madde	46
3.6. Deney ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması.....	48
3.6.1. 1.Grup (TBO).....	48
3.6.2. 2.Grup (Işık).....	48
3.6.3. 3.Grup (TBO+30 sn ışık)	49
3.6.4. 4.Grup (TBO+60 sn ışık)	49
3.6.5. 5.Grup (TBO+120 sn ışık)	49

3.6.6. 6.Grup (NaOCl+TBO+30 sn ışık).....	49
3.6.7. 7.Grup (NaOCl+TBO+60 sn ışık).....	49
3.6.8. 8.Grup (NaOCl+TBO+120 sn ışık).....	50
3.6.9. 9.Grup (NaOCl)	50
3.6.10. 10.Grup (Pozitif Kontrol Grubu)	50
3.6.11. 11.Grup (Negatif Kontrol Grubu)	50
3.7. Antibakteriyel Etkinliğin Değerlendirilmesi.....	50
3.8. İstatistiksel Değerlendirme	51
4. BULGULAR.....	52
5. TARTIŞMA	57
KAYNAKLAR	77
ETİK KURUL KARARI	100
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	104
ÖZGEÇMİŞ	105

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2-1: Endodontik enfeksiyonlarla ilişkili bulunan bakteriler	7
Tablo 2-2: Primer endodontik enfeksiyonlarda görülen mikroorganizmalar	11
Tablo 2-3: Fotosensitizör maddelerin sınıflandırılması.....	34
Tablo 4-1: Kalan bakteri miktarlarının ortalamaları, standart sapmaları ve medyan değerleri	53
Tablo 4-2: İstatistiksel olarak anlamlı fark bulunan gruplar.....	54
Tablo 4-3: Kalan bakteri miktarları	56
Tablo 5-1: 9.Grup'ta kalan bakteri oranı	58

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3-1: Apikal açıklığın kapatılması	41
Şekil 3-2: Kök kanallarının <i>E.faecalis</i> ile enfekte edilmesi.....	43
Şekil 3-3: Kök kanalının orta üçlüdeki kısmında <i>E.faecalis</i> varlığının 20.000 büyütmede gösterilmesi.....	45
Şekil 3-4: Kök kanalının orta üçlüdeki kısmında <i>E.faecalis</i> varlığının 10.000 büyütmede gösterilmesi.....	45
Şekil 3-5: Kök kanalının orta üçlüdeki kısmında <i>E.faecalis</i> varlığının 2.500 büyütmede gösterilmesi.....	46
Şekil 3-6: Fotosan 630 LAD Pen.....	46
Şekil 3-7: Toluidine Blue (TBO) Agent Low	47
Şekil 3-8: Değiştirilebilen başlıklar	47
Şekil 3-9: Endodontik uç	48
Şekil 3-10: Farklı sulandırılarda MSB Agar besiyerlerinde üreyen bakteri kolonilerinin sayılması.....	51
Şekil 4-1: İstatistiksel olarak anlamlı fark bulunan gruplar.....	55
Şekil 4-2: Kalan bakteri miktarları	56

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

µm: mikrometre

mm: milimetre

E.faecalis: *Enterococcus faecalis*

S.gordonii: *Streptococcus gordonii*

S.anginosus: *Streptococcus anginosus*

S.oralis: *Streptococcus oralis*

S.mitis: *Streptococcus mitis*

A.israelii: *Actinomyces israelii*

P.gingivalis: *Porphyromonas gingivalis*

P.endodontalis: *Porphyromonas endodontalis*

P.intermedia: *Porphyromonas intermedia*

P.nigrescens: *Porphyromonas nigrescens*

P.tanneræ: *Porphyromonas tanneræ*

P.multissacharivoraz: *Prevotella multissacharivoraz*

P.baroniae: *Prevotella baroniae*

P.denticola: *Prevotella denticola*

C.albicans: *Candida albicans*

HIV: Human immunodeficiency virüs

HCMV: Human cytomegalovirus

EBV: Epstein-Barr virüs

Rod: Çubuk

Spp: Türleri

NaOCl: Sodyum hipoklorit

HClO: Hipokloröz asit

OCl⁻: Hipoklorit iyonu

sn: Saniye

Cl: Klor

EDTA: Etilendiamintetraasetik asit

dk: Dakika

IPI: İyodin potasyum iyodür

I₂: Moleküler iyodin

Ca(OH)₂: Kalsiyum hidroksit

H₂O₂: Hidrojen Peroksit

MTAD: Mixture of tetracycline, acid, and detergent

CHX: Klorheksidin

pH: Power of Hydrogen

Ca⁺²: Kalsiyum iyonu

CO₂: Karbondioksit

OH⁻: Hidroksil molekülü

CO₃: Karbonat

PIPS: Photon induced photoacoustic streaming

PDT: Fotodinamik Tedavi

PS: Fotosensitizör madde

¹O₂: Singlet oksijen

µsn: Mikrosaniye

nm: Nanometre

MB: Methylene blue

TBO: Toluidine blue O

RB: Rose bengal

LED: Light-emitting diode

TSA: Triptik Soy Agar

TSB: Triptik Soy Broth

Cfu: Colony forming unit

µl: Mikrolitre

gr: Gram

ml: Mililitre

pH: Power of Hydrogen

°C: Derece santigrat

V: Voltaj

mA: Miliamper

mg: Miligram

MSB: Mitis Salivarius Basitrasin



ÖZET

Kıvılcım, B. (2018). Endodontide LED Cihazı İle Yapılan Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavide LED Cihazının Uygulama Süresinin *Enterococcus faecalis* Üzerine Etkisinin In Vitro Olarak İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Endodonti ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Bu çalışmada, in vitro koşullarda *Enterococcus faecalis* ile enfekte edilen dişlerde LED cihazıyla yapılan Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavi’de farklı ışık uygulama sürelerinin antibakteriyel etkinliği birbirleriyle ve sodyum hipokloritle kıyaslanmıştır. Çalışmada 106 adet çekilmiş tek köklü ve tek kanallı insan dişleri kullanılmıştır. Bütün dişler standart olarak kemomekanik şekillendirmeyeyle apikal genişlik ISO 40 numara olacak şekilde genişletilmiştir ve otoklavda steril edilmiştir. Ardından, rastlantısal olarak her birinde 10 adet diş bulunacak şekilde 9 ayrı deney grubuna ve her birinde 8 adet diş bulunacak şekilde pozitif ve negatif olmak üzere iki adet kontrol grubuna ayrılmıştır. Deney ve pozitif kontrol gruplarında bulunan dişler *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 hazır bakteri suşuyla enfekte edilmiştir. Deney grupları sırasıyla şu şekilde oluşturulmuştur: sadece TBO uygulaması, steril salin+ışık uygulaması, 30 sn PDT uygulaması, 60 sn PDT uygulaması, 120 sn PDT uygulaması, NaOCl+30 sn PDT uygulaması, NaOCl+60 sn PDT uygulaması, NaOCl+120 sn PDT uygulaması, sadece NaOCl uygulaması. Deney sonrası steril paper pointlerle kök kanallarından alınan mikrobiyolojik örnekler MSB Agar besiyerine ekilmiş ve üreyen bakteri kolonileri sayılarak CFU cinsinden hesaplanmıştır. Çıkan sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen bulgular doğrultusunda, tüm deney gruplarında *E.faecalis* sayısı değişik oranlarda azalma göstermiştir ve pozitif kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklılık bulunmuştur ($p<0,05$). PDT uygulaması, NaOCl ile kıyaslandığında antibakteriyel etkinlik açısından yetersiz olarak bulunmuştur ve süre artırımının PDT’nin antimikrobiyal etkinliğinde ek bir yarar sağlamadığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler : fotodinamik tedavi, *Enterococcus faecalis*, LED, süre

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 27277

ABSTRACT

Kıvılcım, B. (2018). In Vitro Investigation of Irridation Times of Antimicrobial Photodynamic Therapy on *Enterococcus faecalis* Using a LED Device. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Endodontics. Doktora Tezi. İstanbul.

In this study, antibacterial activity of different irriration times with a LED device during Antimicrobial Photodynamic Therapy was compared with each other and with sodium hypochlorite application in the teeth that were infected with *Enterococcus faecalis* under in vitro conditions. 106 single-rooted, extracted human teeth were used in this study. All the teeth were enlarged using chemo-mechanical shaping method up to apical size ISO 40 and sterilized. All the teeth were randomly divided into 9 experimental groups, each having 10 teeth, and 2 control groups, each having 8 teeth. Teeth in experimental groups and positive control group were infected with *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Experimental groups were formed as follows: only TBO application, sterile salin+light application, PDT application for 30 seconds, PDT application for 60 seconds, PDT application for 120 seconds, NaOCl+PDT application for 30 seconds, NaOCl+PDT application for 60 seconds, NaOCl+PDT application for 120 seconds, only NaOCl application. Microbiological samples that were collected from the root canals with sterile paper points inoculated in MSB Agar broth and bacterial colonies were calculated in CFU. Results were evaluated statistically. The number of *E. faecalis* decreased in different ratios in all experimental groups and it was found to be significantly different from the positive control group ($p<0.05$). PDT application was found to be inadequate in terms of antibacterial efficacy when compared to NaOCl, and the increase in time did not appear to add any additional benefit to the antimicrobial efficacy of PDT.

Key Words: photodynamic therapy, *Enterococcus faecalis*, LED, time

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 27277

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Endodontik enfeksiyonların temel etkeni kök kanalı içerisinde bulunan mikroorganizmalardır. Kök kanal tedavisinin amacı, bu mikroorganizmaları ve yan ürünlerini temizleyerek periapikal dokuların sağlığının geri kazandırılmasıdır (Kakehashi ve ark. 1969).

Kök kanal tedavisi esnasında mekanik preparasyonun çeşitli antimikrobiyal yıkama solüsyonlarıyla birlikte kullanıldığı dezenfeksiyon yöntemi “kemomekanik şekillendirme” olarak adlandırılmaktadır. Bu yöntem kök kanallarında bulunan mikroorganizmaları büyük ölçüde elimine etmekle birlikte, değişik kök kanal anatomisinin görüldüğü durumlarda yetersiz kalabilmektedir (Yıldırım ve ark. 2013).

Kök kanallarında bulunan isthmuslar, yan kanallar ve aşırı eğimli bölgeler mikroorganizmaların en çok kolonize olduğu ve kemomekanik şekillendirme yöntemiyle ulaşılması en zor olan alanlardır. Kök kanal tedavisi sonrası bu bölgelerde hayatta kalan mikroorganizmalar, kök kanalı içerisinde kolonize olarak tekrarlayan enfeksiyonlara sebep olabilir ve kök kanal tedavisinin başarısını etkileyebilirler (Yıldırım ve ark. 2013).

Tekrarlayan enfeksiyonlardan en çok sorumlu tutulan bakteri türü *Enterococcus faecalis*’tir. *E.faecalis*, fakültatif anaerob, gram-pozitif bir bakteridir. Bu bakteri, dentin tübüllerinin derinliklerine penetre olarak biofilm oluşturabilmekte ve sodyum hipoklorit, klorheksidin ve kalsiyum hidroksit gibi güçlü antimikrobiyal ajanlara direnç gösterebilmektedir (Sjögren ve ark. 1997; Sundqvist ve ark. 1998; Siqueira ve Rôças 2004; Asnaashari, Mojahedi ve ark. 2016).

Sodyum hipoklorit, güncel çalışmalar doğrultusunda bilinen en güçlü antimikrobiyal etkinliğe sahip kök kanalı yıkama solüsyonudur. Fakat, sağlıklı insan dokuları üzerinde güçlü toksik özellikleri bulunmaktadır. Bu yüzden, kök kanal irrigasyonunda bu solüsyonun yerine geçebilecek, doku uyumlu bir dezenfeksiyon sistemi arayışı sürmektedir (Yıldırım ve ark. 2013).

Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavi, güncel kök kanalı dezenfeksiyon yöntemlerinden biridir. Bu yöntem üç komponentten oluşur: fotosensitizör madde, ışık kaynağı ve oksijen. Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavi’nin çalışma prensibi şu

şekildedir; bir ışık cihazı yardımıyla, belirli bir dalga boyunda ışık uygulaması sonucu aktif hale geçen fotosensitizör madde, ortamda bulunan oksijen molekülleri yardımıyla serbest oksijen radikalleri oluşturarak bağlanmış olduğu hedef hücrede toksik etki meydana getirir (Singh ve ark. 2014).

Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavi için farklı ışık cihazları kullanılmaktadır. Bunlardan en yaygın olanı lazerlerdir. Fakat lazerlerin birtakım olumsuz özellikleri bulunması nedeniyle yakın zamanda Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavi için LED ışık cihazı (Fotosan, CMS Dental, Kopenhag, Danimarka) geliştirilmiştir (Yıldırım ve ark. 2013; Asnaashari, Mojahedi ve ark. 2016).

Fotosan, 630 nm dalga boyunda görülebilir kırmızı ışık üretmektedir. Bu sistemin kendine ait bir fotosensitizör maddesi de bulunmaktadır (TBO Agent Low). Kök kanalı bu fotosensitizör maddeyle doldurulduktan sonra 30 sn boyunca ışık uygulaması yapılarak kök kanalında dezenfeksiyon sağladığı iddia edilmektedir. Gerekli görülen durumlarda, ışık uygulama süresi arttırılarak ek dezenfeksiyon etkisi sağlanabileceği de bildirilmektedir.

Yapılan bazı çalışmalarda, Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavi’de ışık uygulama süresinin artırılmasının, antibakteriyel etkinliği artırdığı gösterilmiştir. Fotosan sistemi, güncel bir sistem olduğu için bu konuyla ilgili yapılan çalışma sayısı sınırlıdır (Poggio ve ark. 2011).

Bu çalışmanın amacı, LED cihazı ile yapılan Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavi’de ışık uygulama süresinin artırılmasının bu yöntemin antimikrobiyal özelliği üzerinde ek bir yarar sağlayıp sağlamadığının araştırılması ve bu yöntemin antibakteriyel etkinliğinin %5,25’lik NaOCl irrigasyonun antibakteriyel etkinliği ile kıyaslanmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Endodontik Enfeksiyonlar

Mikrobiyal ajanlar, pulpa ve periapikal doku hastalıklarının başlıca sebebidir. Sağlıklı bir ağız ortamında, konakla simbiyotik bir ilişki içerisinde olan daimi bir mikrobiyal kolonizasyon bulunmaktadır. Bu mikroorganizmalar konak için faydalı olmakla birlikte, diş pulpası ve periapikal dokular gibi vücudun steril olan alanlarına girdiklerinde fırsatçı patojen olarak görev yaparlar ve hastalıklara sebep olurlar. Patojenite, mikroorganizmaların bir konak içerisinde hastalığa sebebiyet verme yeteneğidir. Sağlıklı ağız ortamındaki patojenlere ek olarak, periodontal hastalıklar ve diş çürükleri gibi oral enfeksiyonlar da endodontik enfeksiyonlara sebep olur. Pulpa ve periapikal doku hastalıkları bu şekilde oluşur (Walton ve Torabinejad 2002; Baumgartner ve ark. 2008 pp. 223-308; Peciulienė ve ark. 2008; Chiniforush ve ark. 2015).

Enfeksiyöz hastalıklar, mikroorganizmaların konağa zarar vererek klinik semptomlara sebep olmasıyla kendini belli eder (Walton ve Torabinejad 2002).

Bakterilerin, endodontik enfeksiyonlardaki önemi, Kakehashi ve ark.larının yaptığı çalışmada açıkça ortaya konmuştur. Bu çalışmada, steril ortamda büyüyen sıçanlarda pulpa ve periapikal dokuların açığa çıkması sonucu herhangi bir patolojik değişiklik gözlenmezken, konvansiyonel ortamlarda büyümüş olan sıçanlarda pulpanın açığa çıkması pulpa nekrozu ve periapikal lezyon oluşumuyla sonlanmaktadır. Steril sıçanlarda, açığa çıkan pulpa miktarının büyüklüğünden bağımsız olarak dentin köprüsü oluşumu gözlenmiştir. Bu çalışmadan çıkarılan en önemli sonuç; pulpanın iyileşmesinde ve yıkımında en önemli belirleyici, mikrobiyal faktörlerin varlığı ya da yokluğudur (Kakehashi ve ark. 1969).

Mikroorganizmaların pulpaya ulaşmasında en önemli etken diş çürükleridir. Bakteri ve bakteri ürünleri, dentin tübülleri yoluyla, doğrudan pulpa açılımının olmadığı durumlarda bile pulpaya ulaşabilmektedir. Benzer şekilde, mine ve sementin olmadığı durumlarda da bakteriler dentin tübülleri yoluyla pulpaya ulaşmaktadır. Dentin tübüllerinin çapı 1-4 µm arasında değişirken, çoğu bakterinin çapı 1 µm'den azdır (Warfvinge ve Bergenholtz 1986; Baumgartner ve ark. 2008 pp. 223-308).

Travma ya da restoratif işlemler esnasında pulpanın açığa çıkması, apikal foramene ve/veya lateral ya da aksesuar kanallara ulaşan derin periodontal cepler ve anakorezis de mikroorganizmaların pulpaya ulaşma yollarındandır. Travma ve restoratif işlemler esnasında açığa çıkan pulpada bakteriyel penetrasyon 2 hafta sonrasında en fazla 2 mm derinliğe kadar inebilirken, nekrotik bir pulpada bakterilerin ortama girmesi ve kolonize olması çok daha hızlı gerçekleşmektedir. Nekrotik kök kanalları içerisinde kan dolaşımı bulunmadığından, konak savunması ortadan kalkar. Dentin tübülleri içerisindeki odontoblastik uzantıların çözünmesi sonucu oluşan “ölü boşluklar” bakterilerin yayılımına hız kazandırmaktadır (Cvek ve ark. 1982; Baumgartner ve ark. 2008 pp. 223-308; Sakko ve ark. 2016).

2.1.1. Endodontik Enfeksiyonların Mikrobiyotası

İntraradiküler ve periradiküler endodontik enfeksiyonlarda, gram-pozitif ve gram-negatif bakterilerin karışımından oluşan ve kişiden kişiye değişiklik gösteren bir mikrobiyota mevcuttur. Bu bakterilerin çoğunluğunu, sadece oksijen olmadığı zaman hayatta kalabilen zorunlu anaeroblar oluşturmaktadır. Anaeroblara ek olarak, fakültatif anaeroblar ve nadiren aerob bakteriler de bulunur. Endodontik enfeksiyonlar polimikrobiyaldir ve çok az mikrobiyal özgünlük gösterirler (Walton ve Torabinejad 2002; Baumgartner ve ark. 2008 pp:223-308; Siqueira ve Rôças 2009; Narayanan ve Vaishnavi 2010; Gomes ve ark. 2013; Hong ve ark. 2013; Tzanetakis ve ark. 2015).

Maymunlar üzerinde yapılan bir çalışmada, maymun dişlerine ait kök kanalları ağız ortamından alınan bakterilerle enfekte edilmiş ve kanal ağızları kapatılarak 3 yıl boyunca gözlenmiştir. Başlangıçta baskın olan fakültatif bakteriler zamanla yerini anaerob bakterilere bırakmıştır. Değişen koşullara uyum sağlama yetenekleri sayesinde, 3 yılın sonunda sayılabilen bakterilerin %98'sini zorunlu anaerobların oluşturduğu gözlenmiştir (Möller ve ark. 1981).

Endodontik enfeksiyonun şiddetiyle herhangi bir bakteri türü arasında direkt bir bağlantı kurulamamakla birlikte, siyah pigmentli bakteriler olarak adlandırılan *Peptostreptococcus*, *Eubacterium*, *Fusobacterium* ve *Actinomyces* türlerinin klinik semptomlardan sorumlu tutulduğu çalışmalar bulunmaktadır (Haapasalo ve ark. 1986; Yoshida ve ark. 1987; Sundqvist ve ark. 1989; Gomes ve ark. 1994).

Bakterilerin yanısıra, *Candida albicans* başta olmak üzere mantarlar, virüsler ve arkealar da endodontik enfeksiyonlarda görülmektedir. Virüsler, çoğalabilmek için konak hücrelerine bağımlı olduklarından nekrotik kök kanalı içinde hayatta kalamazlar (Narayanan ve Vaishnavi 2010; Kumar ve ark. 2015).

Nekrotik kök kanalında, konak savunmasının ortadan kalkmasıyla, çevresel faktörler ve virulans faktörlerinin etkisi endodontik mikrobiyotanın şekillenmesini etkiler. Kök kanalının farklı bölgelerindeki beslenme faktörleri ve oksijen seviyesi hangi mikrobiyal türün baskın olacağını belirler. Bazı bakterilerin meydana getirdiği metabolitler başka bakteri türleri tarafından besin olarak kullanılabilir ya da bu bakterilere toksik etki gösterebilir. Bazı bakteriler ise diğer bakteri türleri üzerinde antibiyotik benzeri etki gösteren “bakteriyosin” denilen proteinleri sentezler (Sundqvist ve Fidgor 2003; Baumgartner ve ark. 2008 pp. 223-308).

2.1.1.1. Endodontik Enfeksiyonlarda Görülen Bakteriler

Ağız ortamında 500’e yakın bakteri türü bulunurken, endodontik enfeksiyonlarda kök kanalı içerisinde kolonize olan bakteri sayısı oldukça sınırlıdır. Bu, kök kanal ortamının mikroorganizmaların hayatta kalabilmesi için oldukça zor bir ortam olduğunu göstermektedir (Block 1991).

Nekrotik kök kanallarındaki mikrobiyota, enfeksiyonun aşamasına göre değişiklik göstermektedir. Başlangıçta, fakültatif bakterilerden oluşan mikrobiyal flora, ortamdaki oksijenin azalmasıyla zamanla yerini zorunlu anaeroblardan oluşan bir floraya bırakmaktadır (Baumgartner ve ark. 2008 pp. 223-308).

Bakteriler, hücre duvarı yapılarına göre gram-pozitif ve gram-negatif olarak ikiye ayrılırlar. Hücre duvarındaki bu farklılık, bakterilere değişik özellikler kazandırarak bulundukları ortamda farklı direnç mekanizmaları göstermelerini sağlar. Bakterilere direnç kazandırarak, bulundukları ortam şartlarına uyum sağlamalarına neden olan bu özelliklere “virülans faktörleri” denir (Orstavik ve Pitt Ford 2001 pp. 106-130).

İlk olarak tespit edilen virülans faktörlerinden biri lipopolisakkaritlerdir, yani eski adlarıyla endotoksinlerdir. Lipopolisakkaritler, gram-negatif bakteriler tarafından ortama salgılanır ve toksik etki göstererek pulpadaki immünolojik olayları başlatır (Baumgartner ve ark. 2008 pp. 223-308).

Gram-pozitif bakterilerde ise, iç sitoplazmik membran üzerinde bulunan peptidoglikan tabakası gram-negatif bakterilere göre daha kalındır. Bu tabaka, sitoplazmanın osmotik basıncını dengeler ve hücre duvarının dayanıklılığını artırır. Gram-pozitif bakterilerde bulunan bir diğer virülans faktörü de, tekoik asit ve lipit birleşiminden oluşan ve hücre duvarının yapısında bulunan lipoteikoik asittir. Lipoteikoik asitin yapısındaki lipit, gram-pozitif bakterinin, hücre membranlarındaki fibronektine bağlanmasını sağlar ve bu yolla antikorların salınımını uyarır (Baumgartner ve ark. 2008 pp. 223-308).

Bunlara ek olarak; gram-negatif bakterilerin yüzeyinde bulunan ve diğer bakterilere ve yüzeylere tutunmasını sağlayan fimbrialar, bakterileri fagositoz ve kimyasal ajanlar gibi dış etkilere koruyan kapsüller, ekzotoksinler, ekstrasellüler proteinler, poliaminler ve süperoksit anyonları da virülans faktörlerine örnek olarak sayılabilir (Baumgartner ve ark. 2008 pp. 223-308).

Endodontik enfeksiyonlarla ilişkili bulunan bakteriler aşağıdaki tabloda (Tablo 2-1) gösterilmiştir (Çalışkan 2006).

Enterococcus, gram-pozitif, fakültatif anaerobik, kokoid bakteri türüdür. 1984 yılına kadar Grup D streptokok olarak sınıflandırılmıştır. Enterokoklar ovoid şekillidir ve 10 ila 45 °C sıcaklıkta büyüyebilir. İnsanlarda en sık bulunan enterokoklar *E.faecalis* ve *E.faecium*'dur (Schleifer ve Kilpper-Balz 1983).

Enterococcus faecalis üriner enfeksiyonlar, abdominal-pelvik enfeksiyonlar, infektif endokardit ve protetik eklem enfeksiyonları gibi birçok enfeksiyondan sorumludur. Ağız ortamı da *E.faecalis* açısından oldukça zengindir (Baumgartner ve ark. 2008 pp. 223-308). Yapılan birçok çalışmada, daha önce kök kanal tedavisi görmüş olan dişlerde en sık bulunan bakteri türü *E.faecalis* olarak belirtilmiştir. Bu oran diğer bakteri türleriyle kıyaslandığında 9 kat daha fazla bulunmuştur (Sjögren ve ark. 1997; Asnaashari, Mojahedi ve ark. 2016). Bu bağlamda, *E.faecalis* hem primer hem de inatçı enfeksiyonlar dahil olmak üzere birçok periradiküler hastalıkla bağlantılı bulunan fırsatçı bir patojendir (Röças ve ark. 2004; Sassone ve ark. 2012; Ferreira ve ark. 2015).

Tablo 2-1: Endodontik enfeksiyonlarla ilişkili bulunan bakteriler

	Gram-pozitif		Gram-negatif	
	Fakültatif anaeroblar	Zorunlu anaeroblar	Fakültatif anaeroblar	Zorunlu anaeroblar
Koklar	Streptokoklar	Peptostreptokoklar	<i>Neisseria</i>	<i>Veillonella</i>
	Enterokoklar	Streptokoklar		
Çomaklar	<i>Actinomyces</i>	<i>Actinomyces</i>	<i>Campylobacter</i>	<i>Campylobacter</i>
	<i>Lactobacillus</i>	<i>Propionibacterium</i>	<i>Capnocytophaga</i>	<i>Prevotella</i>
	<i>Propionibacterium</i>	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Porphyromonas</i>
	<i>Corynebacterium</i>	<i>Eubacterium</i>	<i>Actinobacillus</i>	<i>Capnocytophaga</i>
		<i>Lactobacillus</i>	<i>Eikenella</i>	<i>Selenomonas</i>
				<i>Bacteriodes</i>
				<i>Fusobacterium</i>
				<i>Treponema</i>

E.faecalis, çeşitli özelliklerinden dolayı *in vitro* çalışmalarda en çok kullanılan bakteri türüdür. Bu bakteri, β -laktamlar da dahil birçok antibiyotik türüne dirençlidir. Dentin tübüllerine penetre olmakta ve biofilm oluşturarak mekanik şekillendirme ve antimikrobiyal ajanlarla yapılan yıkamaya karşı direnç sağlamaktadır. Biofilm oluşturma özelliği, *E.faecalis*'in CaOH_2 'e de dayanıklı hale gelmesini sağlamaktadır (Singh ve ark. 2002; Hargreaves ve Cohen 2011).

E.faecalis, primer enfeksiyonlardan izole edilmekle birlikte, başarısız kök kanal tedavisi ve inatçı kök kanal enfeksiyonlarından en sık izole edilen bakteri türü olarak bilinmektedir. Kültür çalışmaları göstermektedir ki, başarısız endodontik tedavilerin üçte birinden *E.faecalis* izole edilmektedir (Sundqvist ve ark. 1998; Siqueira ve Rôças 2004).

Möller ve ark.larının maymunlar üzerinde yaptığı bir çalışmada, 24 maymun dişinin kök kanallarına ekilen bakteri türleri arasında 8-12 ay sonra tekrar izole edilebilen tek bakteri türü *E.faecalis* olarak bulunmuştur (Möller ve ark. 2004).

Endodontik tedavi sonrası, uzun dönemde *E.faecalis*'in kök kanallarında nasıl varlığını sürdürebildiğine dair tam olarak bir mekanizma tanımlanamamaktadır. *E.faecalis*, değişen ortam koşulları ve stres altında çeşitli özellikleri sayesinde varlığını sürdürebilmektedir. Sodyum hipoklorit, yoğun alkalın pH, artan ısı değişiklikleri ve glikoz yokluğu gibi durumlarda çeşitli stres proteinleri salgılamaktadır. Bu sayede, sodyum hipoklorit gibi antimikrobiyal ajanlara ve yüksek alkalın pH'ya sahip kalsiyum hidroksit gibi kanal içi medikamentlere karşı direnç gösterebilmektedir. Dentin tübüllerinin derinliklerine penetre olabilme özelliği de dış etkenlere karşı bir koruma sağlamaktadır (Flahaut ve ark. 1997; Laplace ve ark. 1997; Dahlen ve ark. 2000; Portenier ve ark. 2003; Appelbe ve Sedgley 2007).

Streptococcus, insanların ağız, deri, bağırsaklar ve üst solunum yolları normal mikroflorası içerisinde yer alan, gram-pozitif, fakültatif anaerob, katalaz-negatif kok ya da kokoid bakteri cinsidir. A, B, C, D olmak üzere fenotipik özelliklerine göre 4 gruba ayrılırlar ve toplamda *Streptococcus* cinsi içerisinde 50'ye yakın tür bulunmaktadır. Streptokoklar ayrıca, kırmızı kan hücrelerini lizise uğratabilme yeteneklerine göre "alfa" ve "beta" streptokoklar olarak ikiye ayrılırlar. *Streptococcus mutans*, bir alfa streptokoktur. Alfa streptokoklar, "alfa" hemoliz yoluyla hemoglobin içerisindeki demiri indirger ve kanlı agarda yeşilimsi bir renk ortaya çıkarır. "Beta" hemoliz sonucu ise kırmızı kan hücrelerinin tamamen yıkımına yol açarak kanlı agarda bakteri kolonileri çevresinde belirgin alanlar oluştururlar. Beta streptokoklara örnek olarak *Streptococcus pyogenes* verilebilir (Baumgartner ve ark. 2008 pp. 223-308).

Sundqvist ve ark.larının yapmış olduğu çalışmada, radyografik olarak apikal periodontitis varlığı gösterilen, daha önce kanal tedavisi görmüş, asemptomatik 24 kök kanalının 6'sında streptokok varlığı gösterilmiştir (Sundqvist ve ark. 1998). Apikal periodontitis nedeniyle kanal tedavisi gerektiren dişlerden en sık izole edilen streptokok türleri, *S.gordonii*, *S.anginosus* ve *S.oralis*'tir. Yapılan çalışmalarda, klinik ve radyografik olarak apikal periodontitis varlığı gözlenen dişlerde, kök kanal tedavisi sonrası enterokoklardan az olmakla birlikte streptokokların varlığı da gösterilmiştir. Bu tarz olgulardan izole edilen streptokoklar, endodontik enfeksiyonlar için kullanılan antibiyotiklere nadiren direnç gösterir (Molander ve ark. 1998; Cheung ve Ho 2001; Chavez ve ark. 2003). Kök kanal tedavili, inatçı enfeksiyona sahip dişlerde, sinüs yolu varlığı ve streptokoklar arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (Pinheiro ve ark. 2003).

Actinomyces türleri, anaerobik, sporsuz, gram-pozitif rodlardır. *Actinomyces*, ağız ortamının normal florasında bulunan fırsatçı bir patojendir. Uygun şartlarda, “aktinomikoz” denilen, ağız, akciğerler ve gastrointestinal sistemde abselere neden olan bir enfeksiyona sebep olurlar (Yeung 1999; Mardis ve Many 2001).

Çürüğe bağlı pulpanın açığa çıktığı durumlarda ve periapikal lezyon görülen dişlerde, kök kanalının apikal 5 mm’sinde *Actinomyces* baskın olarak görülür (Baumgartner ve Falkler 1991). Germ-free sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, *A.israelii*’nin kök yüzeyi çürüklerine neden olduğu ve pulpa dokusuna da invaze olduğu gösterilmiştir (Behbehani ve ark. 1983).

Actinomyces türleri, kök kanal tedavisinden yıllar sonra görülen inatçı lezyonlardan ve bazen primer kök kanal enfeksiyonlarını takiben izole edilebilmektedir (Borsen ve Sundqvist 1981; Figures ve Douglas 1991; Sakellariou 1996).

A.israelii, yüzeyinde bulunan fimbrialar sayesinde diğer bakteriler ile ilişki kurarak patojenitesini arttırmaktadır (Figdor ve Davies 1997).

Yapılan çalışmalarda, *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillus*, *Peptostreptokok* ve *Fusobacterium* türleri de, daha önce kök kanal tedavisi yapılmış dişlerden izole edilmiştir (Molander ve ark. 1998; Sundqvist ve ark. 1998; Cheung ve Ho 2001; Pinheiro ve ark. 2003). Kök kanal tedavisi sonrası klinik semptom görülen dişlerle, peptostreptokokların varlığı arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (Pinheiro ve ark. 2003). Bunun aksine, yapılan bir çalışmada, siyah pigmentli bakteriler olarak bilinen *P.gingivalis*, *P.endodontalis*, *P.intermedia* ve *P.nigrescens*, başarısız kök kanal tedavisi vakalarında, nekrotik pulpaya sahip dişlere göre çok daha az oranda bulunmuştur. Bu da, bu bakterilerin başarısız kök kanal tedavilerinde önemli bir rol oynamadığını göstermektedir (Gomes ve ark. 2005).

2.1.1.2. Endodontik Enfeksiyonlarda Görülen Mantarlar

Mantarlar, oral floranın normal bir üyesi olmakla birlikte, özellikle primer endodontik enfeksiyonlarda *Candida* türleri baskın olarak görülmektedir. *Candida*, tek hücreli bir maya mantarıdır ve insan vücudunda fırsatçı patojen olarak bulunur. Ağız içinde en sık bulunan türü *Candida albicans*’tır (Lana ve ark. 2001; Egan ve ark. 2002;

Siqueira ve ark. 2002). *Candida albicans*, *E.faecalis* ile birlikte inatçı enfeksiyonlarda en çok görülen mikroorganizmalardandır (Peciulienė ve ark. 2001; Sundqvist ve Fidor 2003; Waltimo ve ark. 2003).

2.1.1.3. Endodontik Enfeksiyonlarda Görülen Virüsler

Virüsler, hayatta kalmak ve çoğalabilmek için canlı hücrelere ihtiyaç duyduğundan, nekrotik pulpa dokusu içerisinde hayatta kalamazlar. Virüslerin pulpada bulunabildiği tek durum, inflame olmamış vital pulpa dokusunun HIV virüsü ile enfekte olduğu durumlardır (Glick ve ark. 1991). Bunun aksine, herpes virüsleri apikal periodontitis lezyonlarında tespit edilmiştir. Ayrıca, HCMV ve EBV virüslerinin, konağın savunma sistemini viral yolla etkileyerek patojenik bakterilerin büyümesine ortam hazırlayarak apikal periodontitisin patogenezinde rol oynadığı hipotezi öne sürülmektedir (Slots ve ark. 2003).

2.1.2. Endodontik Enfeksiyon Çeşitleri

Endodontik enfeksiyonlar, hem pulpa hem de periradiküler dokuların enfeksiyonlarını kapsar (Walton ve Torabinejad 2002). Farklı klinik durumlar, farklı endodontik enfeksiyon tipleriyle ilişkilendirilebilir. Endodontik enfeksiyonlar, tiplerine göre mikrobiyal farklılık gösterir. Bu farklılık, kişiden kişiye ve olgudan olguya da değişiklik göstermektedir (Siqueira 2002; Siqueira ve ark. 2004).

Endodontik enfeksiyonlar, intraradiküler ve ekstraradiküler enfeksiyonlar olarak başlıca 2 grupta incelenebilir. Her iki grup da kendi içinde primer, sekonder ve inatçı enfeksiyonlar olarak üç şekilde karşımıza çıkabilir (Siqueira 2002).

2.1.2.1. Primer Endodontik Enfeksiyonlar

Nekrotik pulpa dokusuna ilk ulaşan mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyona “primer endodontik enfeksiyon” denir. Kolonize olan mikroorganizma türleri, enfeksiyonun safhasına ve periradiküler dokuların durumuna göre değişiklik göstermektedir (Siqueira 2002).

Primer endodontik enfeksiyonlarda en çok görülen bakteri türleri; anaerobik gram-negatif rodler, spiroketler, anaerobik ve fakültatif gram-pozitif koklar ve rodlerdir. Bu mikroorganizmalar aşağıdaki tabloda (Tablo 2-2) detaylı olarak verilmiştir (Siqueira ve Rôças 2009; Siquiera ve Rôças 2014):

Tablo 2-2: Primer endodontik enfeksiyonlarda görülen mikroorganizmalar

Anaerobik gram-negatif rodlar	Anaerobik ve fakültatif gram- pozitif rod ve koklar	Spiroketler
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Peptostreptococcus spp.</i>	<i>Treponema spp.</i>
<i>Cambylobacter rectus</i>	<i>Eubacterium spp.</i>	
<i>Tannerella forsythia</i>	<i>Propionibacterium spp.</i>	
<i>Prevotella spp.</i>	<i>Actinomyces spp.</i>	
<i>Porphyromonas spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>	
	<i>Lactobacillus spp.</i>	

Siyah pigmentli bakteriler olarak bilinen *Prevotella* ve *Porphyromonas* türlerinden; *P.intermedia*, *P.nigrescens*, *P.tanneriae*, *P.multissacharivorax*, *P.baroniae*, *P.denticola*, *P.gingivalis* ve *P.endodontalis* primer enfeksiyonlardan sıklıkla izole edilen ve değişik formlardaki apikal periodontitisin patogenezinin sorumlu tutulan bakterilerdir (Haapasalo ve ark. 1986; Sundqvist ve ark. 1989; Bae ve ark. 1997; Baumgartner ve ark. 1999; Siqueira ve ark. 2001; Gomes ve ark. 2005).

Daha çok periodontal bir patojen olarak bilinen *Tannerella forsythia*, abseler de dahil olmak üzere, değişik tipteki endodontik enfeksiyonlarda görülmektedir (Conrads ve ark. 1997).

Fusobacterium türleri arasında, primer endodontik enfeksiyonlarda en sık görülen cins *Fusobacterium nucleatum*'dur (Sundqvist 1992).

Spiroketler, spiral şekilli, gram-negatif bakterilerdir. Endodontik enfeksiyonlarda en sık görülen spiroketler ise, *Treponema denticola* ve *Treponema socranskii*'dir (Rôças ve ark. 2003).

Streptokoklar arasında, primer endodontik enfeksiyonlarda en sık görülenler ise, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus mitis* ve *Streptococcus sanguinis*'tir (Sundqvist 1992; Siqueira ve Rôças 2002).

Campylobacter rectus ve *Campylobacter gracilis*, primer endodontik enfeksiyonlarda düşük oranlarda görülen gram-negatif anaerobik rodlardır (Sundqvist 1992; Siqueira ve Rôças 2003).

Primer endodontik enfeksiyonlarda görülen diğer bakteri türleri ise; *Veillonella parvula*, *Eikenella corrodens*, *Granulicatella adiacens*, *Neisseria mucosa*, *Centipeda periodontii*, *Gemella morbillorum*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Corynebacterium matruchotii*, *Bifidobacterium dentium* ve anaerobik laktobasillerdir (Sundqvist 1992; Siqueira ve ark. 2000; Siqueira ve ark. 2001; Rôças ve Siqueira 2006).

Başarısız kök kanal tedavilerinden en sık izole edilen bakteri türü olarak bilinen *E.faecalis* ise primer endodontik enfeksiyonlarda sık olarak görülmez (Siqueira ve ark. 2002; Rôças ve ark. 2004).

2.1.2.2. Sekonder Endodontik Enfeksiyonlar

Sekonder endodontik enfeksiyonlar, primer endodontik enfeksiyon esnasında kök kanalında bulunmayan ve tedavi esnasında, ara seanslarda ya da kök kanal tedavisini takiben kök kanalına yerleşen mikroorganizmaların kök kanalına penetre olması ve çoğalmasıyla meydana gelen enfeksiyonlardır (Siqueira 2002).

2.1.2.3. İnatçı Endodontik Enfeksiyonlar

İnatçı endodontik enfeksiyonlar, kök kanal tedavisi sonrasında, kök kanalı şekillendirme ve dezenfeksiyon işlemlerine direnç göstererek kök kanalında varlığını sürdürmeyi başaran mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlardır. İnatçı endodontik enfeksiyonlarda rol alan bakteriler, hem primer ve hem de sekonder enfeksiyonlarda rol alan bakterilerden oluşur (Siqueira 2002).

Primer endodontik enfeksiyonlarda sıklıkla görülen gram-negatif bakteriler kök kanal tedavisini takiben büyük oranda ortamdan uzaklaştırılır. Fakat, birçok çalışma göstermektedir ki, gram-pozitif bakteriler kök kanalı işlemleri ve dezenfeksiyonuna rağmen yüksek oranda kök kanalından izole edilebilmektedir. Bu durum, gram-pozitif bakterilerin antimikrobiyal kök kanal işlemlerine ve mekanik şekillendirmeye daha dirençli olduğunu ortaya koymaktadır (Chavez 2004; Sakamoto 2007).

Kök kanal tedavisi sonrası görülen inatçı enfeksiyonlarda bulunan baskın türler; *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Peptostreptococcus* ve *Actinomyces* gibi fakültatif anaerobik gram-pozitif kok ve rodlardır. Bunlara ek olarak, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida guilliermondii*, *Candida tropicalis* ve *Candida krusei* gibi mantar türleri de bulunmaktadır.

Primer endodontik enfeksiyonların aksine, laktobasiller ve anaerobik gram-negatif rodler daha az oranda izole edilmektedir (Waltimo ve ark. 2003).

İnatçı enfeksiyonlarda görülenler gram-pozitif Streptokoklar, *S.mitis*, *S.gordonii*, *S.anginosus* ve *S.oralis* 'tir. Laktobasiller ise; *Lactobacillus paracasei* ve *Lactobacillus acidophilus*'tur (Sjögren ve ark. 1997; Chavez ve ark. 2003; Chu ve ark. 2006; Sakamoto ve ark. 2007).

Yapılan çalışmalarda, kök kanal tedavisi sonrası görülen inatçı enfeksiyonlardan en sık izole edilen ve bu nedenle endodontik çalışmalarda en sık kullanılan bakteri türü *Enterococcus faecalis* 'tir. *E.faecalis*, fakültatif anaerob, sporsuz, gram-pozitif bir koktur. Kök kanalında varlığını sürdürmesini sağlayan birçok virülans faktörüne sahiptir. Dentin tübüllerine penetre olarak, yapısındaki serin proteaz ve kollajen bağlayıcı proteinler ile dentine bağlanır. Kök kanalı içerisinde biofilm oluşturarak, fagositoza ve dezenfektan ajanlara karşı direnç gösterir. Genetik polimorfizm özelliği sayesinde farklı koşullarda hayatta kalabilecek şekilde değişiklik gösterebilir, beslenme faktörlerinin yetersiz olduğu durumlarda uzun süre hayatta kalabilir. Sodyum hipoklorit ve kalsiyum hidroksit gibi kök kanal tedavisinde yaygın olarak kullanılan antimikrobiyal ajanlara karşı dirençlidir. Özellikle kalsiyum hidroksitin oluşturduğu yoğun alkali ortamda hayatta kalabilmesini sağlayan özelliklere sahiptir. Protein pompası ve sitoplazmik tamponlama özelliği sayesinde pH homeostazı sağlar. 11,5 ve üzeri pH'larda hayatta kalamaz (Evans ve ark. 2002; Kaufman ve ark. 2005; Bandle ve ark. 2008; Weckwerth ve ark. 2013; Bayram ve Özkoçak 2014).

2.1.2.4. Ekstraradiküler Enfeksiyonlar

Ekstraradiküler enfeksiyonlar da primer, sekonder ve inatçı formlarda oluşabilir ve genellikle intraradiküler enfeksiyonlardan kaynağını alır. En sık görülen ekstraradiküler enfeksiyon akut apikal absedir (Siqueira 2002).

Yapılan çalışmalar doğrultusunda, bağımsız ekstraradiküler enfeksiyonlardan en sık sorumlu gösterilen bakteriler, *Actinomyces* türleri ve *Propionibacterium propionicum*'tur (Nair 2004; Siqueira ve Rôças 2014).

2.1.3. Biofilm

Biofilm, mikroorganizmaların kendi ürettikleri ekstrasellüler polimerik matriks içerisinde birbirlerine ve belirli bir yüzeye tutunmalarıyla oluşan canlı ve dinamik bir

mikrobiyal büyümedir. Ekstrasellüler polimerik matriks, ekstrasellüler polisakkaritler ve proteinlerden oluşur ve biofilm içerisindeki mikroorganizmaları çevresel etkilerden korur (Costerton ve ark. 1994; Sakko ve ark. 2016).

Biofilm içerisindeki mikroorganizmalar birbirleriyle iletişim kurarak organize olurlar. Bu sayede etraflarındaki ortamı algılayarak çevresel adaptasyon gösterirler (Casadevall ve Pirofski 2009).

Bakterilerin biofilm yapısından bağımsız olarak tek başlarına bulunmaları “planktonik safha” olarak adlandırılır. Fakat, doğada bakteriler nadir olarak planktonik formda bulunurlar. Mikroorganizmaların varlığı, sıvı akışı ve katı bir yüzeyin bulunduğu her ortamda biofilmler oluşabilir. Çünkü bakteriler, planktonik formlarının aksine biofilm yapısı içerisinde çevresel faktörlere daha dirençli hale gelirler ve hayatta kalabilirler. Biofilm yapısı içerisinde bakteriler farklı fenotipik özellikler geliştirirler. Bu onları, antimikrobiyal ajanlardan, fagositozdan ve çevresel strese korur. Biofilmler, birçok antibiyotik türüne ve konak savunmasına dayanıklıdır ve bu yüzden insan vücudundaki birçok kronik enfeksiyondan sorumludur (Costerton ve ark. 1999; Karthikeyan ve ark. 1999).

2.1.3.1. Biofilmin Yapısı

Gelişimini tamamlamış bir biofilm, katı bir yüzey üzerinde organizasyonunu tamamlamış heterojenik mikrobiyal hücrelerden oluşur. Biofilmin temel yapısını, yüzeyde oluşan mikrokoloniler ve bakteri kümeleri oluşturur. Ekstrasellüler polimerik maddeden oluşan glikokaliks matriks, bu mikrokolonilerin etrafını sarar. Biofilm yapısının %85’ini bu matriks oluşturur. Taze bir biofilm matriksi, polisakkaritler, proteinler, nükleik asitler ve tuzlardan oluşur. Büyüme faktörleri, fizyokimyasal özellikler, sıvı akışı ve besin kaynakları gibi çevresel faktörlerin etkisiyle bu biofilm adaptasyon göstererek olgunlaşır (Wingender ve ark. 1999; Whitchurch ve ark. 2002).

Biofilm içerisinde, ilkel bir dolaşım sistemine benzeyen su kanalları bulunmaktadır. Bu su kanalları, bakteri hücreleri arasında madde ve sıvı geçişi sağlayarak mikrokoloniler arası bağlantıya katkı sağlar (Costerton ve ark. 1994).

Ekstrasellüler polimerik madde ve metabolik aktiviteler, biofilmin fizyokimyasal özelliklerini belirler. Karboksilat ve fosfat varlığı nedeniyle bakteri hücre yüzeyleri genellikle anyonik olmaktadır. Bu yüzden, kolonize olmuş bir biofilm,

en baştaki fizikokimyasal özelliklerinden bağımsız olarak anyonik bir karakter geliştirmek zorunda kalır (McLean ve ark. 2000).

2.1.3.2. Biofilm Gelişimi

Bakteri hücrelerinin varlığı, besin maddesi içeren sıvı bir ortam ve herhangi bir katı yüzey bulunması biofilm oluşumu için gerekli 3 önemli faktördür. Biofilmin gelişimi ise, biofilm içerisindeki komponentlerin fizikokimyasal özelliklerine bağlıdır (Hall-Stoodley ve Stoodley 1999; Stoodley ve ark. 1999).

Biofilmin gelişimi 3 aşamada özetlenebilir:

1. Organik ve inorganik moleküllerin katı yüzeye adsorpsiyonu ile yüzeyde bir tabakanın oluşması,
2. Mikrobiyal hücrelerin bu tabakaya adezyonu,
3. Bakteri büyümesi ve biofilmin genişlemesi.

Bakterilerin belirli bir yüzeye tutunmasını etkileyen çeşitli faktörler bulunmaktadır. Bunlar; pH, sıcaklık, substratın yüzey enerjisi, yüzeyden geçen sıvının akış hızı, besin zenginliği, bakterinin yüzey ile temas etme süresi, bakterilerin büyüme aşaması ve bakteri hücrelerinin yüzey hidrofobisitesidir (Handley ve ark. 1984).

Olgun bir biofilm, her bir mikroorganizmanın tek tek görev ve fayda paylaşımında bulunduğu metabolik olarak aktif bir topluluğu oluşturur (Costerton ve Lewandowski 1997).

2.1.3.3. Biofilm İçerisindeki Mikroorganizmaların Antimikrobiyallere Olan Dayanıklılığı

Biofilm yapısının doğası ve içerisinde bulunan mikroorganizmaların fizyolojik özellikleri antibiyotikler, dezenfektanlar ve germisidler gibi antimikrobiyal ajanlara karşı dayanıklılık oluşturur. Planktonik hücrelerle kıyaslandığında, biofilmler antimikrobiyal ajanlara karşı çok daha fazla direnç gösterebilir (Baumgartner ve ark. 2008 pp. 223-308).

Antimikrobiyal ajanlara dayanıklılık çeşitli mekanizmalarla gerçekleşir:

1. Ekstrasellüler polimerik matriksin sağladığı dayanıklılık,

2. Büyüme oranı ve besin maddelerinin elverişli olmasının sağladığı dayanıklılık,

3. Dirençli fenotiplerin geliştirilmesinin sağladığı dayanıklılık (Dunne ve ark. 1993).

2.1.3.4. Endodontik Biofilmler

Oral mikrobiyotayla kıyaslandığında, endodontik mikrobiyota çok daha az çeşitlilik göstermektedir. Enfeksiyonun ilerlemesiyle kök kanalı içerisindeki besinlerin ve çevresel durumun değişmesiyle bu durum daha da belirgin hale gelir. Kök kanal ortamı gittikçe daha anaerobik bir ortam haline gelir ve besin değerleri azalır. Bu da mikroorganizmaların hayatta kalması için oldukça zor bir ortam oluşturur (Nair ve ark. 1990; Figdor 2002; Pavoni ve ark. 2004).

İstmus ve deltalar gibi anatomik zorluklar, kök kanalı şekillendirmesi ve dezenfeksiyon işlemleri esnasında ulaşılması zor alanlar olarak kalırlar ve burada varlığını sürdüren mikroorganizmalar için biofilm oluşumuna elverişli bir ortam sağlarlar. Biofilmler, elverişsiz beslenme ve ortam koşulları karşısında bakterilerin hayatta kalmasını sağlayan bir yapılanma olduğundan, primer ve tedavi sonrası görülen kök kanal enfeksiyonlarındaki ortam, biofilm gelişimini destekler (Figdor 2002).

Endodontik biofilmler; intrakanal biofilmler, ekstradiküler biofilmler, periapikal biofilmler ve biomateriyal merkezli biofilmler olmak üzere 4 kategoriye ayrılır (Baumgartner ve ark. 2008 pp. 223-308).

Endodontik olarak enfekte bir dişin kök kanal dentininde oluşan biofilmler, “intrakanal biofilmler” olarak adlandırılır (Nair 2000).

Enfekte dişlerin kök kanallarında oluşan biofilm yapısının, koklardan, rodlardan ve filamentöz bakterilerden oluştuğu düşünülmektedir. Tek ya da çoklu bakteriyal biofilm tabakalarından oluşan yapı, ekstrasellüler bir matriksle dentin duvarına yapışık vaziyette bulunur. Bu biofilmlerde, değişik morfolojik yapılara sahip bakteriler bulunabilir. Değişik bakteri türlerinin bulunduğu bir biofilmde, bakterilerin sayısı ve oranları biofilmin olgulaşma safhasına göre farklılık gösterir (Nair 2000; Rôças ve Siqueira 2005).

Birçok çalışma, *E.faecalis*'in açlığa karşı direnç gösterdiğini ve değişik çevresel ve beslenme koşulları altında biofilm oluşturabildiği göstermektedir. Fakat, değişen

çevresel koşullar ve beslenme faktörleri, farklı fizikokimyasal özelliklerde *E.faecalis* biofilmi oluşumuna neden olur (Baumgartner ve ark. 2008 pp. 223-308).

Besinden zengin bir ortamda (aerobik ve anaerobik) *E.faecalis*, karakteristik bakteri hücresi ve su kanalları yüzey özelliklerine sahip tipik bir biofilm yapısı üretir. Biofilm yüzeyinde, canlı bakteri hücreleri bulunur. Besinden fakir bir ortamda (aerobik ve anaerobik) ise yapışık hücre topluluklarının düzensiz olarak büyüdüğü gözlenir (Baumgartner ve ark. 2008 pp. 223-308).

In vitro çalışmalar, *E.faecalis* biofilmlerinin oluşumunda belirli safhalar olduğunu göstermektedir. Birinci aşamada, *E.faecalis* hücreleri kök kanal dentini yüzeyine yapışır ve mikrokoloniler oluşturur. İkinci aşamada, bakteriler tarafından dentin yapısından mineral ayrılmasını sağlayan mediyatörler ortama salınır. Bu da, kalsiyum ve fosfat iyonlarında lokalize bir artışa sebep olarak, *E.faecalis* biofilminin mineralizasyonunu ya da kalsifikasyonunu uyarır ve üçüncü aşama gerçekleşmiş olur. Olgun bir *E.faecalis* biofilmi 6 haftalık bir inkübasyon sonucu oluşur (Baumgartner ve ark. 2008 pp. 223-308).

2.2. Endodontik Enfeksiyonların Tedavisi

Endodontik enfeksiyonlar, diş yapısının devamlılığının bozulması sonucu mikroorganizmaların pulpa ve periapikal dokulara ulaşmasıyla gerçekleşir. Endodontik enfeksiyonların tedavisi, bu mikroorganizmaları ve onların artıklarının kök kanalından uzaklaştırılması ve bakterilerin kök kanalına girerek yeniden enfeksiyona yol açmasını önlemek için kök kanalının hermetik olarak doldurulması ile gerçekleşir (Çalışkan 2006).

Endodontik enfeksiyonların tedavisi, pulpanın canlılık durumuna göre değişiklik göstermektedir (Spangberg 1998).

Vital pulpalı bir dişte, kök kanal dentini mikroorganizmalar ile enfekte olmamıştır. Fakat, nekrotik pulpalı bir dişte, kök kanal dentini mikroorganizmalar ile enfekte haldedir. Bu yüzden, mikroorganizmalarla enfekte olmuş bir kök kanalında ilk hedef, kök kanallarının ve kök kanal dentininin mikroorganizmalardan arındırılmasıdır. Bu amaçla, enfekte dentin antimikrobiyal ajanlarla ve biomekanik olarak uzaklaştırılmaya çalışılır (Spangberg 1998).

Zamanında müdahale edilmezse, enfekte kök kanallarındaki mikroorganizmalar apikal bölgeye doğru yayılarak periapikal dokulara ulaşır ve apikal periodontitise neden olur. Apikal periodontitis oluşumunda mikroorganizmaların rolü birçok çalışmayla doğrulanmıştır. Möller ve ark.larının yaptığı çalışmada, enfekte kök kanalına sahip dişlerde apikal periodontitis gelişirken, devital ama enfekte olmayan dişlerde apikal periodontitis gelişmediği görülmüştür. Kakehashi ve ark.larının yaptığı çalışmada ise, pulpaları açık bırakılan germ-free sıçanlarda apikal periodontitis görülmezken, konvansiyonel sıçanlarda pulpanın enfekte olmasını takiben apikal periodontitis oluşumu gözlenir. Bu çalışmalar, steril devital dişlerde apikal periodontitis oluşmadığını göstermektedir (Kakehashi ve ark. 1965; Sundqvist 1976; Möller ve ark. 1981).

Endodontik enfeksiyonların tedavisinde amaç, kök kanallarının biomekanik olarak şekillendirilmesi, antimikrobiyal ajanlar ve medikamentler ile mikroorganizmalardan arındırılması ve üç boyutlu bir şekilde hermetik olarak doldurularak yeniden enfekte olmasının önüne geçilmesidir (Heiling ve Shapira 1978; Sjögren ve ark. 1997).

2.2.1. Kök Kanallarının Dezenfeksiyonu

Kök kanal tedavisi sırasında pulpa dokusu ve enfekte dentin, kanal aletleri yardımıyla kök kanalından uzaklaştırılmaya çalışılır. Bu şekilde yapılan enstrumantasyonla, kök kanalının orijinal formuna sadık kalınarak, mikroorganizmalar ortamdan uzaklaştırılır ve irrigasyon solüsyonları ve kök kanal dolum materyalleri için yeterli alan hazırlanmış olur.

Kök kanalları içerisinde mikroorganizmalar özellikle isthmuslar ve yan kanallar gibi anatomik olarak kanal aletleriyle ulaşılması zor alanlarda kalırlar ve buralarda çoğalarak kök kanal tedavisinin başarısını olumsuz yönde etkilerler. Kanal aletlerinin ulaşamadığı ve mekanik olarak temizlenemeyen bu alanların dezenfeksiyonunda yıkama solüsyonları ve kanal içi medikamentler kullanılmaktadır.

Kök kanallarının şekillendirilmesi sırasında yıkama solüsyonlarının kullanılmasının avantajları şu şekilde sıralanabilir:

1. Kanalda yıkama etkisiyle enfekte debrisin uzaklaştırılması,
2. Kök kanalını ıslatarak kanal aletlerinin kullanımını kolaylaştırması,
3. Organik doku artıklarını çözmesi,

4. Mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etki göstermesi,
5. Dentinde oluşan smear tabakasını uzaklaştırması,
6. Anatomik olarak kanal aletlerinin ulaşamadığı alanlara etki edebilmesi (Çalışkan 2006).

Kök kanallarının dezenfeksiyonunda yıkama solüsyonları ve kanal içi medikamentler kullanılmaktadır.

Yıkama solüsyonlarının kullanımı, endodontik tedavide önemli bir yer kaplamaktadır. Bu solüsyonlarda bulunması gereken özellikler ve sağladığı avantajlar şu şekilde sıralanabilir:

1. Kök kanalı içerisindeki organik dokuları çözebilmesi,
2. İnorganik dokulara etki ederek kök kanal dentinindeki smear tabakasını uzaklaştırabilmesi,
3. Düşük yüzey gerilimine sahip olarak dentin tübüllerine penetre olabilmesi,
4. Antibakteriyel etki gösterebilmesi ve bu etkisini kök kanalı içerisinde bir süre muhafaza edebilmesi,
5. Konak dokularına karşı toksik ya da karsinojenik etki göstermemesi,
6. Dentin dokusunun fiziksel özelliklerini etkilememesi,
7. Kök kanal dolgusunun ve koroner restorasyonunun kalitesini etkilememesi,
8. Dişin rengini değiştirmemesi,
9. Uygulanmasının kolay olması,
10. Ucuz olması,
11. Kolay muhafaza edilebilir olması,
12. Yıkama özelliğiyle kök kanalındaki nekrotik doku artıklarını, mikroorganizmaları ve dentin kalıntılarını ortamdan uzaklaştırabilmesi,
13. Kök kanalının şekillendirilmesi esnasında enfekte sert ve yumuşak doku artıklarının apikal foramenden itilerek periapikal dokulara taşmasını önleyebilmesi.

Antimikrobiyal özellik gösteren yıkama solüsyonlarının çoğu, periapikal dokulara taşıkları zaman sitotoksik etki göstererek konak dokularının yıkımına ve şiddetli ağrıya sebebiyet verebilmektedir.

İdeal bir yıkama solüsyonu, yukarıda belirtilen özelliklerin hepsini taşımalıdır. Fakat günümüzde böyle bir solüsyon bulunmamaktadır. Bu yüzden farklı yıkama solüsyonları, değişik özelliklerinden yararlanacak şekilde kombine olarak kullanılabilir (Baumgartner ve ark. 2008 pp. 223-308; Çalışkan 2006).

2.2.1.1. Sodyum Hipoklorit

NaOCl, günümüzde en çok kullanılan yıkama solüsyonudur. NaOCl, 1788 yılında Fransız bir kimyacı olan Berthollet tarafından bulunmuştur. İlk defa Semmelweis tarafından 1847 yılında dezenfektan olarak kullanılmıştır. %1'lik NaOCl'nin %1'lik sodyum bikarbonatla seyreltilmesiyle elde edilen %0,5'lik solüsyon Dakin solüsyonu olarak bilinir ve Birinci Dünya Savaşı'nda yaraların dezenfeksiyonunda kullanılmıştır. Endodonti'de ise ilk olarak 1919 yılında Coolidge tarafından kullanılmıştır (Dakin 1915a; Dakin 1915b; Coolidge 1919).

NaOCl suda iyonize olarak sodyum ve hipoklorit iyonları açığa çıkartır ve hipokloröz asitle denge kurar. pH 4-7 arasında klorin baskın olarak HClO şeklinde bulunurken, pH 9 ve üzerinde baskın olarak OCl⁻ şeklinde bulunur ve antimikrobiyal etkinliği azalır. Hipokloröz asit, oksidatif fosforilasyonu ve diğer membranla ilişkili mekanizmaları uyarır ve OCl⁻ ile kıyaslandığında bakteri inaktivasyonundan esas sorumlu olan bileşiktir (McKenna ve Davies 1988; Barretta ve ark. 1989; McDonnell ve Russell 1999).

Johnson ve Remeikis, NaOCl'nin antimikrobiyal etkinliğini 3 şekilde açıklamıştır:

1. Hücre proteini hidrolizasyonu ve oksidasyonu,
2. Cl iyonları açığa çıkararak hipokloröz asit oluşturma,
3. Osmos yoluyla hücre sıvısını dışarı çıkarması (Johnson ve Remeikis 1993).

NaOCl %0,5-7 arasında değişen konsantrasyonlarda kullanılır. Oldukça güçlü antimikrobiyal bir ajandır. Pulpa ve dentindeki organik dokuları çözer (McDonnell ve Russell 1999).

Düşük konsantrasyonlarda bile hızla mikroorganizmaların ölümüne sebep olur. Waltimo ve ark.larının yapmış olduğu çalışmada, NaOCl hem %5'lik hem de %0,5'lik konsantrasyonlarda 30 sn içinde dirençli bir mikroorganizma olan *Candida albicans*'ı yok edebilmiştir (Waltimo ve ark. 1999).

Gomes ve ark.larına göre, *Enterococcus faecalis*, %5,25'lik NaOCl ile 30 sn içinde ölürken, tüm bakterilerin ölmesi için %2,5'lik konsantrasyonda 10 sn, %0,5'lik konsantrasyonda 30 sn NaOCl uygulaması yeterli olmaktadır (Gomes ve ark. 2001).

Bergmans ve ark.larının yapmış olduğu çalışma doğrultusunda, *E.faecalis* oranında azalma sağlamak için NaOCl ile 30 sn temas süresi gereklidir. %5,25'lik konsantrasyon için bu süre 2 dk'dır (Bergmans ve ark. 2006).

Diğer çalışmalar, %5,25'lik NaOCl'nin 15-30 sn içerisinde *E.faecalis* ve *Candida albicans*'ı öldürebildiğini göstermektedir (Hülsmann ve ark. 2003).

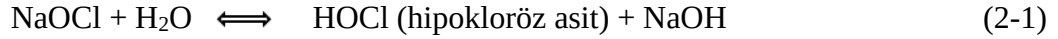
Apikal periodontitis olgularından izole edilen *Porphyromonas endodontalis*, *Prevotella intermedia* ve *Porphyromonas gingivalis* gibi gram-negatif anaerobik rodlarla yapılan çalışmalarda, %0,5-%5 konsantrasyonlarda NaOCl ile 15 sn'de bakteri ölümü olduğu gösterilmiştir (Vianna ve ark. 2004).

NaOCl'nin dezavantajları ise; toksik olması, yutulduğunda tahrişe sebep olması ve tadının kötü olması, inorganik doku çözücü özelliği olmadığından smear tabakasına etki gösterememesi ve dentinle temasında etkinliğinin azalmasıdır. Haapasalo ve ark.larının yaptığı çalışmada, %1'lik NaOCl'nin *E.faecalis*'e olan etkinliğinin dentinle temasında azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca ortamda bulunan smear tabakası da NaOCl'nin dentin dokusuna ulaşmasını engelleyerek etkinliğini azaltır (Spångberg ve ark. 1973; Haapasalo ve ark. 2000).

NaOCl, organik dokularla temas ettiğinde içerisindeki serbest klorin miktarı azalır. Bu yüzden yüksek konsantrasyona sahip NaOCl, daha fazla klorin içerdiğinden daha fazla antimikrobiyal özellik gösterir. Buna karşın, düşük konsantrasyonlu NaOCl

ile yapılan daha sık ve bol yıkamanın da aynı derecede antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Byström ve Sundqvist 1983; Byström ve Sundqvist 1985; Hauman ve Love 2003).

Sodyum hipokloritin en önemli özelliği organik dokuları yüksek oranda çözebilme kapasitesidir. Bu özelliğini hipokloröz aside borçludur. Sodyum hipoklorit solüsyonu şu şekilde denge halinde bulunmaktadır (2-1):



Hipokloröz asit, çözünmeyen proteinlerle reaksiyona girer ve çözülebilir aminoasitler ve polipeptidler oluşturur (Grossman ve Meiman 1941; Moorer ve Wesselink 1982).

Sodyum hipokloritin organik dokular üzerindeki etkisi şu faktörlere bağlıdır:

1. Solüsyonun konsantrasyonuna,
2. Solüsyonun pH'sına,
3. Solüsyonunun ısisına,
4. Solüsyonunun miktarına,
5. Uygulanma süresine,
6. Dokunun miktarına ve yüzey alanına,
7. Dokunun tipine,
8. Solüsyonun tazeliğine ve yenilenmesine,
9. Solüsyonun aktive edilip edilmediğine (Senia ve ark. 1971; Hand ve ark. 1978; Moorer ve Wesselink 1982; Türkün ve Cengiz 1997).

2.2.1.2. Klorheksidin

Klorheksidin, geniş etki spektrumuna sahip bir katyonik bisguaniddir. Hem aerob hem anaerob gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere, mayalara, sporlara, mantarlara, dermatofitlere ve lipofilik virüslere etkilidir. pH'sı 5,5 ile 7 arasındadır (Jeansonne ve White 1994; White ve ark. 1997).

Klorheksidin, pozitif yüklü hidrofilik ve lipofilik bir moleküldür ve hücre membranındaki fosfolipitler ve lipopolisakkaritler ile etkileşim kurar (Bonsor ve ark. 2006a).

Klorheksidin düşük konsantrasyonlardaki solüsyonu bakteriyostatik etki gösterirken, yüksek konsantrasyonlardaki solüsyonu bakterisit etki göstermektedir. Bakteriyostatik etkisi, hücre membran enzimlerini inhibe etmesi ve hücre zarı geçirgenliğini arttırmasıyla gerçekleşirken, bakterisit etkisi, pozitif yüklü (katyonik) klorheksidin moleküllerinin negatif yüklü hücre duvarına bağlanmasıyla gerçekleşir. Aynı zamanda, yüksek konsantrasyonlarda bakterilerin hücre duvarını parçalar, organellerin dışarı çıkmasına ve presipitasyonuna sebep olur (Hennessey 1973; Jeansonne ve White 1994; White ve ark. 1997).

En büyük özelliği, organik ve inorganik dokulara bağlanarak uzun süreli antibakteriyel etki gösterecek şekilde salınım yapabilmesidir (Hennessey 1973; Leonardo ve ark. 1999).

Yeşilsoy ve ark.larının yapmış olduğu çalışmada, %0,12'lik klorheksidin glukonatin %0,5'lik NaOCl'den daha fazla antibakteriyel etkinliği olduğu ama %5,25'lik NaOCl ile eşit etkinliğe sahip olduğu bildirilmiştir (Yeşilsoy ve ark. 1995).

Vahdaty ve ark.ları ise, *E.faecalis* ile enfekte kök kanallarında yapmış oldukları çalışmada %2'lik klorheksidin ile %5,25'lik NaOCl'nin benzer oranda antimikrobiyal etki gösterdiğini göstermişlerdir (Vahdaty ve ark. 1993).

Klorheksidin ve sodyum hipokloritle yapılan *in vitro* çalışmalardan elde edilen başarılı sonuçların aksine, *in vivo* ortamda *E.faecalis* üzerine etkinliği çok başarılı bulunamamıştır (Estrela ve ark. 2008).

Klorheksidin en büyük avantajlarından biri sodyum hipoklorit kadar toksik bir madde olmamasıdır. Buna karşın, organik doku çözücü özelliğine sahip değildir ve uzun süreli kullanımlarda dişlerde ve ağız ortamında renklenmelere sebebiyet verir. NaOCl ve EDTA ile karşılaştığında çözünemeyen partiküller meydana getirir. (Türkün ve ark. 1998; Rossi-Fedele 2012).

2.2.1.3. Şelasyon Ajanları

Şelasyon ajanları, metal iyonları ve organik moleküller arasında oluşan kısmen kararlı yapılarıdır. Bu amaçla etilendiamintetraasetik asit, sitrik asit, maleik asit, tannik

asit gibi asitler kullanılmaktadır. Bunların arasında Endodonti’de en yaygın kullanılan etilendiamintetraasetik asit (EDTA)’dır (Grossman ve ark. 1988).

Şelasyon ajanlarının başlıca etkisi, dentinden iyonların ayrışmasına neden olarak dentinde demineralizasyona yol açmasıdır. Dentindeki kalsiyum ve fosfat iyonları, ortamda EDTA varlığında çözünerek denge sağlamaya çalışır. Açığa çıkan bu kalsiyum iyonları EDTA ile kararlı kompleksler oluşturur ve zamanla denge durumuna gelerek reaksiyonu durdurur. Bu reaksiyon esnasında dentindeki kalsiyum hidrojen ile yer değiştirerek ortamın pH’sının düşmesine neden olur. pH’nın düşmesiyle oluşan asit ortam EDTA’nın etkinliğini azaltır. Bu demineralizasyon, ortamdaki bütün şelasyon ajanlarının kalsiyumla tepkimeye girmesiyle sona erir. Bu mekanizmalar, EDTA’nın kendi etkinliğini sınırlandırmasını açıklamaktadır (Seidberg ve Schilder 1974; Pawlicka ve ark. 1981).

Şelasyon ajanları ayrıca, dentin sertliğinde de değişiklikler meydana getirir. Bu değişiklik, kökün farklı kısımlarındaki dentinin yapısal farklılıklarına göre de birbirinden farklılık gösterir. Servikal ve orta üçlüdeki dentinde yumuşama görülürken, apikal kısımdaki dentinde yumuşama görülmez (Fraser 1974; Pashley ve ark. 1985; Mjör ve ark. 2001).

EDTA’nın en önemli kullanım amacı, preparasyon esnasında dentinde oluşan smear tabakasının uzaklaştırılmasıdır. Smear tabakasının büyük bir kısmı inorganik yapılardan oluşmaktadır. Bu inorganik yapının kaldırılması da sadece şelasyon ajanlarının kullanımı ile mümkündür (Yamada ve ark. 1983; Koçkapan 1987). Smear tabakasının ortamdaki uzaklaştırılması aynı zamanda dentin tübüllerini açığa çıkararak dentin geçirgenliğinde artışa neden olur (Brännström 1984; Guignes ve ark. 1996). Bunun en büyük avantajı, kullanılan antimikrobiyal ajanların ve kök kanal dolgu malzemelerinin dentin tübüllerine daha rahat penetre olabilmesidir. Buna karşın, dentin yapısında değişikliğe yol açtığından, bazı adeziv dolguların ve kök kanal dolgu materyallerinin dentine bağlanma gücünde azalmaya sebep olabilir (Hülsmann ve ark. 2003).

Şelasyon ajanlarının pH’sı çoğunlukla nötre yakındır. EDTA az da olsa antimikrobiyal etkinliğe sahiptir. Gram-pozitif bakteriler üzerinde bir etkisi bulunmazken, gram-negatif bakterilerin hücrelerinin dış membranındaki katyonlar üzerinde şelatör etki göstererek antimikrobiyal etkinlik sağlar (Patterson 1963).

Şelasyon ajanları sıvı ve pat formunda bulunabilirler. Sıvı şelasyon ajanlarına örnek olarak; REDTA (%17'lik EDTA+setrimin), EDTAC (%15'lik EDTA+dietiltriamin-penta asetik asit) ve EDTA-T (%17'lik EDTA+ sodyum lauril eter sülfat tergentol) verilebilir. Pat şeklindeki şelasyon ajanlarına örnek olarak ise; RC-Prep (%15 EDTA+ %10 üre peroksit+ glikol) ve Glyde file (%15 EDTA+%10 üre peroksit) verilebilir. Sıvı şeklindeki şelatör ajanları kök kanal irrigasyonunda özellikle final irrigasyonu esnasında kullanılır. Pat tipi şelatör ajanları ise kök kanalını kayganlaştırarak kanal aletlerinin daha rahat hareket etmesine katkıda bulunur (Pawlicka ve ark. 1981; Hülsmann ve ark. 2003).

Bu ajanların çalışma zamanıyla ilgili kesin bir süre verilmemekle birlikte, %17'lik EDTA'yla 1 dk boyunca yıkama yapılması önerilir. Ortalama olarak 1-5 dk süreyle kullanılmalıdır (Hülsmann ve ark. 2003). Block'a göre, %17'lik EDTA'nın 10 dk'dan fazla kullanımı peritübüler ve intertübüler dentinde yoğun erozyona sebep olmaktadır (Block 1991).

EDTA ile yapılan irrigasyon esnasında bu solüsyonun periapikal dokulara taşmamasına dikkat edilmelidir. EDTA solüsyonu periapikal dokulara taşıdığı anda apikal bölgedeki kemikte dekalsifikasyona sebebiyet verir ve immünolojik reaksiyonları tetikler (Segura ve ark. 1997; Hülsmann ve ark. 2003).

2.2.1.4. İyodin Potasyum İyodür (IPI)

İyodin bileşikleri bilinen en eski dezenfektanlardandır ve özellikle operasyon alanlarının, derinin ve yüzeylerin dezenfeksiyonunda kullanılır. 1979 yılında Endodonti'de kullanılmaya başlanmıştır. Moleküler formu olan I₂ aktif antimikrobiyal kısmını oluşturur. Sodyum hipoklorit içerisindeki klorine göre etkinliği daha az olmakla birlikte bakterisidal, fungusidal, tüberkülosidal, virüsidal ve sporisidal etkinliğe sahiptir, fakat doku çözücü özelliği bulunmamaktadır. Dentindeki kollajen matris IPI'yi inhibe edebilmektedir (Gottardi 1991; Gulabivala ve ark. 2004; Kvist ve ark.2004).

Molander ve ark.larının yapmış olduğu çalışmada, Ca(OH)₂ uygulamasından önce kök kanalının %5'lik IPI ile yıkanmasının, dirençli *E.faecalis* suşlarının azalmasında etkili olabileceği bildirilmiştir (Molander ve ark. 1999).

Peciulienė ve ark.larının yapmış olduğu çalışmada ise, 20 adet apikal periodontitise sahip önceden kök kanal tedavisi görmüş dişlerin standart kemomekanik şekillendirmeyi takiben IPI ile yıkanmasının bakteri sayısını azalttığı bulunmuştur (Peciulienė ve ark. 2001).

Kök kanallarının %2'lik IPI ile yıkanmasının, kalsiyum hidroksitle yapılan kanal içi medikasyona göre bakteri sayısında daha hızlı bir azalmaya neden olduğu öne sürülmüştür. Gulabivala ve ark.larına göre, %2'lik IPI, 1-2 saat içerisinde *E.faecalis*'in büyümesini engellemektedir (Gulabivala ve ark. 2004).

2.2.1.5. Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit (H_2O_2), dezenfeksiyon ve sterilizasyonda yaygın olarak kullanılan bir biosittir. Serbest oksijen radikalleri açığa çıkararak protein ve DNA gibi mikrobiyal komponentlere saldırır. Gram-pozitif bakterilere karşı daha etkilidir.

Hidrojen peroksit, endodontide hiçbir zaman popüler olmamıştır ve etkinliği yeterli bulunmadığından günümüzde kullanılmamaktadır (McDonnell ve Russell 1999).

2.2.1.6. Antibiyotik İçerikli Yıkama Solüsyonları

Antibiyotik içerikli yıkama solüsyonları MTAD ve Tetraclean®'dir. MTAD (mixture of tetracycline, acid and detergent), tetrasiklin, asit ve deterjan karışımından oluşan bir solüsyondur. Tetraclean de MTAD'ye oldukça benzeyen, karışım şeklinde bir solüsyondur. MTAD'den daha düşük konsantrasyonda doksisisiklin, asit ve deterjan içerir (Ng ve ark. 2003; Giardino ve ark. 2006; Kandaswamy ve Venkateshbaku 2010).

MTAD'nin avantajı içeriğindeki sitrik asit sayesinde smear tabakasını uzaklaştırırken, aynı zamanda antibiyotik içeriği sayesinde antimikrobiyal etki de sağlar. İçeriğindeki sitrik asit, dentin üzerinde daha az erozyona sebep olur (Torabinejad ve ark. 2003).

Shabahang ve Torabinejad çekilmiş insan dişleri üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada, MTAD'nin *E.faecalis* üzerine etkinliğini incelemiş ve başarılı sonuçlar elde etmişlerdir (Shabahang ve Torabinejad 2003).

Portenier ve ark. yapmış oldukları çalışmada, *in vitro* koşullarda MTAD'nin 5 dk'dan kısa süre içerisinde *E.faecalis*'i öldürebildiğini tespit etmişlerdir (Portenier ve ark. 2006).

2.2.1.7. Kanal İçi Medikamentler

Vital bir dişin kök kanal tedavisi sırasında kanal içi medikament uygulamasına gerek duyulmamaktadır. Fakat kök kanal tedavisi tek seansta bitirilemiyorsa, ya da, kök kanalında enfeksiyon söz konusuysa kök kanalının daimi kök kanal dolgusu yapılarına kadar kanal içi bir medikamentle doldurulması önerilmektedir (Haapasalo ve Qian 2008 pp. 992-1018).

Literatürde, birçok olguda kemomekanik şekillendirme sonrası ilk seansın bitiminde kanalda birçok canlı mikroorganizmanın bulunduğu gösterilmiştir (Byström ve Sundqvist 1983; Byström ve Sundqvist 1985; Weiger ve ark. 2000; Peciulienė ve ark. 2001; Peters ve Wesselink 2002; Sathorn ve ark. 2007).

Birçok çalışma, apikal periodontitis olgularında kök kanal dolumu esnasında kanal içinde canlı bakterilerin bulunması durumunda tedavi prognozunun olumsuz yönde etkilendiğini göstermiştir. Bu yüzden seans aralarında tam bir dezenfeksiyon sağlanması amacıyla kanal içi bir medikament kullanılmaktadır. Bakteri ölümünün yanı sıra, tedavi süresinin uzaması ile daha fazla mekanik preparasyon yapılmasıyla daha fazla bakteri eliminasyonu sağlanması gibi avantajları bulunmaktadır (Byström ve ark. 1985; Siren ve ark. 1997; Katebzadeh ve ark. 2000)

Bunun aksine, yapılan bazı çalışmalar tek veya iki seansta yapılan kök kanal tedavilerinin başarısında anlamlı bir farklılık bulunmadığını göstermektedir. Aksine, birden fazla tedavi seansının zayıf bir geçici restorasyon nedeniyle oluşan sızıntılardan dolayı kök kanalının tekrar kontamine olma riskini artırma olasılığı bulunmaktadır (Siren ve ark. 1997; Weiger ve ark. 2000; Peters ve Wesselink 2002).

Kanal içi medikament olarak, Ca(OH)_2 , CHX ve antibiyotik ve/veya kortikosteroid içeren (Ledermix®, Reimser, Germany) medikamentler kullanılmaktadır (Haapasalo ve Qian 2008 pp. 992-1018).

Kalsiyum hidroksit, endodontide çok yaygın bir kullanım alanına sahiptir. Kök kanal enfeksiyonlarının tedavisinde, vital pulpa tedavilerinde, travma olgularında, apeksifikasyonda ve rezorpsiyonlarda en sık tercih edilen materyallerden biridir. Bilimsel olarak 1920 yılında Hermann tarafından dişhekimlerinin uygulamasına sunulmuştur (Hermann 1920; Haapasalo ve Qian 2008 pp. 992-1018).

Kalsiyum hidroksit beyaz ve kokusuz bir tozdur. Bu toz, uygun bir taşıyıcı ile karıştırılarak pat formu elde edilir. 12,5-12,8 gibi yüksek bir pH'ya sahiptir (Torneck ve ark. 1983).

$\text{Ca}(\text{OH})_2$, Ca^{+2} ve OH^- iyonlarına ayrılarak etki gösterir. Bu etkisi canlı ve cansız dokular üzerinde farklıdır. Bu durum, dokuların içerdiği CO_2 miktarından kaynaklanmaktadır. Vital dokuda sürekli CO_2 yapımı söz konusu olduğundan kalsiyum hidroksit için ortamda sınırsız bir CO_2 bulunmaktadır. Nekrotik dokularda ise, CO_2 miktarı sabittir. Ca^{+2} iyonu canlı dokuyla karşılaştığında ortamdaki CO_2 ve CO_3 ile reaksiyona girerek kalsiyum karbonat oluşturur. Bu durumda oluşan kalsiyum karbonat nedeniyle yüzeyde hızla nekrotik bir tabaka oluşur. Bu nekrotik tabakanın altındaki farklılaşmamış mezenkimal hücreler ve fibroblastlar tetiklenerek odontoblastlara dönüşür ve bu sayede sert doku yapımı uyarılmış olur. Kalsiyum karbonat antimikrobiyal ya da biyolojik bir özellik göstermez (Çalışkan 2006).

Nekrotik dokuda ise yeterli CO_2 bulunmadığından ilk anda kalsiyum karbonat oluşumu gözlenmez. $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ile ölü dokular arasındaki reaksiyonlar sonucu bu dokular amonyak ve karbondioksit parçalanır. Açığa çıkan bu karbondioksit yine kalsiyum hidroksitle reaksiyona girer ve sonuç olarak yine kalsiyum karbonat oluşur (Çalışkan 2006).

Kalsiyum hidroksitin dokular üzerindeki diğer etkileri şöyle sıralanabilir:

1. Alkalen fosfataz aktivitesiyle sert doku oluşumunu uyarır,
2. Hidralaz nötralizasyonu ile osteoklastik mekanizmayı durdurur ve bu sayede rezorpsiyonların tedavisinde kullanılır,
3. Sahip olduğu hidroskopik aktivite, fosfolipaz inhibisyonu ve kalsiyum proteinat köprüleri sayesinde antienflamatuar etki gösterir,
4. Organik doku çözme yeteneği vardır,
5. Hemostatik etki gösterir,
6. Alkalen pH'sı nedeniyle antibakteriyel etki gösterir (Çalışkan 2006).

Yaklaşık 12,5 pH'ya sahip olan kalsiyum hidroksit, enfekte kök kanallarında oldukça bazik bir ortam yaratarak bakterilerin büyük oranda ölümüne neden olur.

Kalsiyum hidroksitin antibakteriyel etkisi aşağıdaki mekanizmalarla gerçekleşir:

1. Bakterilerin sitoplazma membranında hasar,
2. Protein denatürasyonu,
3. DNA hasarı (Siqueira ve Lopes 1999).

Buna rağmen, kalsiyum hidroksit uygulamasını takiben bakterilerin hala ortamda bulunabildiği de görülmektedir. Bu durum birden fazla şekilde açıklanabilir; kanal içi medikament uygulamasına dirençli bakterilerin bulunması, bakterilerin ulaşılması zor anatomik alanlarda bulunması, medikamentin bakteri ürünleri veya doku bileşenleri tarafından etkisinin azaltılması, medikamentin uygulanma süresinin yetersiz olması (Siqueira ve Lopes 1999).

Tedavi sonrası görülen enfeksiyonlarda ve bazen primer endodontik enfeksiyonlarda, en sık görülen suşlar alkalın-dirençli suşlardır. Özellikle *E.faecalis* ve *Candida albicans*, Ca(OH)₂'e karşı duyarsız bulunmuşlardır (Siqueira ve Rôças 2014).

2.3. Kök Kanallarının Dezenfeksiyonunda Kullanılan Yeni Teknolojiler

Endodontik tedavinin amacı, mikroorganizmaları ve onların ürünleri ile beslenme kaynaklarını kök kanalından uzaklaştırarak, kök kanalının ve periapikal dokuların sağlıklı hale gelmesini ve oluşabilecek yeni enfeksiyonlardan korunmasını sağlamaktır (Young ve ark. 2007).

Bu bağlamda, kanal içi kemomekanik preparasyon ve gerekli olan durumlarda kanal içi medikament uygulamasını takiben kök kanal dolgusu ve koronal restorasyonlar yapılmaktadır. Bu prosedürün başarısı, pulpa boşluğundaki enfeksiyonun kontrol altına alınmasına bağlıdır. Geleneksel endodontik tedavi ile bu mikroorganizmaların tamamının ortamdaki uzaklaştırılamadığı ve bu olguların tedavi sonrası başarısız olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (Kovac ve Kovac 2011; Haapasalo ve ark. 2014; Jena ve ark. 2015; Qian ve ark. 2015).

Tedavi sonrası görülen endodontik enfeksiyonların en önemli sebebi, anaerobik koşullarda üreyebilen ve biofilm oluşturabilen dirençli bakteri suşlarıdır. Bu bakteriler, dentin tübüllerine ve kök kanal sisteminin mekanik olarak temizlenmesinin imkansız olduğu alanlara yerleşerek biofilm oluşumu için mükemmel bir ortam elde ederler (Hall-Stoodley ve ark. 2004; Iriana 2009, Dewhirst ve ark. 2010).

Bu dirençli mikroorganizmalar arasında en sık görülenler *E.faecalis* ve *Candida albicans*'tır. *E.faecalis*, sahip olduğu özellikler sayesinde NaOCl'ye ve Ca(OH)₂'in oluşturduğu alkalen ortama direnç sağlayarak hayatta kalabilir (Distel ve ark. 2002; Kayaoğlu ve Ørstavik 2004).

E.faecalis, alkalın pH'ya, tüm sefalosporin grubu ve diğer antibiyotiklere ve endodontide kullanılan birçok maddeye karşı dirençlidir. Birçok bakteri pH 9,5'te ölürken, *E.faecalis* ve *Candida albicans* gibi sınırlı sayıda mikroorganizma pH 11 gibi yüksek pH'larda hayatta kalabilmektedir.

Bu tedavi başarısızlıklarının önüne geçebilmek için günümüzde birçok yeni teknoloji ortaya çıkarılmıştır. Bu geliştirilen yeni teknolojilerin amacı, geleneksel kemomekanik preparasyonla uzaklaştırılamayan ve kök kanalının anatomik olarak kompleks alanlarına yerleşerek çoğalan biofilmleri uzaklaştırmak ve bunu yaparken de sağlıklı konak dokularına zarar vermemektir (Singh ve ark. 2014).

Bu yeni teknolojiler şu şekilde sıralanabilir:

1. Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavi
2. Lazerler
3. Ozon
4. Elektrokimyasal Olarak Aktive Edilmiş Su
5. Nanopartiküller
6. Bioaktif materyaller
7. Pasif Ultrasonik İrrigasyon
8. Sonik İrrigasyon
9. PIPS (Photon induced photoacoustic streaming)

10. Gentlewave İrrigasyon (Haapasalo ve Qian 2008 pp. 992-1018; Chiniforush ve ark. 2015; Mohammadi ve ark. 2017).

2.3.1. Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavi

Fotodinamik Tedavi (PDT), bir sert doku ya da yumuşak doku alanının, topikal olarak bu alana uygulanan fotosensitizör bir maddenin, bu fotosensitizör maddenin absorbe ettiği dalga boyunda ışık yayabilen bir ışık cihazıyla aktif hale getirilmesiyle

yapılan bir dezenfeksiyon ya da sterilizasyon metodudur. Antimikrobiyal fotodinamik tedavi (aPDT), fotodinamik antimikrobiyal kemoterapi, foto-aktif dezenfeksiyon ve ışıqla aktif dezenfeksiyon (LAD) olarak da tanımlanır (Singh ve ark. 2014).

1898’de Oscar Raab, *Paramecia caudatum* denilen terliksi hayvanı akridin hidrokloritle boyadıktan sonra görünür ışıqla öldüğünü tespit etmiştir (Raab 1900). Bu tespitle birlikte, mikroorganizmaların ve moleküllerin çeşitli solüsyonlarla boyanarak ışıqla aktif edilmesi prensibi tıp alanında kullanılmaya başlanmıştır. 1903 yılında Tappeiner ve Jesionek, bu yöntemi ilk defa insan üzerinde uygulayarak deri kansinomunu tedavi etmeyi denemişlerdir (Tappeiner ve Jesionek 1903). Kanser tedavisinde kullanımıyla ilgili, 1962-1978 yılları arasında Thomas Dougherty birçok araştırma yapmıştır. 1986 yılında ise Uluslararası Fotodinami Derneği kurulmuştur (Peker Tekdal ve Gürkan 2014).

2.3.2. Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavinin Etki Mekanizması

PDT, üç komponentten oluşur. Bunlar:

1. Işıql kaynağı,
2. Fotosensitizör madde (PS),
3. Oksijendir.

Ortama verilen fotosensitizör madde bakteri membranına tutunur. Bu fotosensitizör madde için spesifik olan dalga boyunda ışıql verilerek fotosensitizör madde aktif edilir. Aktif olan fotosensitizör madde ortamdaki oksijen ile reaksiyona girerek serbest oksijen radikalleri açığa çıkarır ve bakteri hücre duvarının bozulmasını ve bakterilerin ölmesini sağlar (Burns ve ark. 1993; Peker Tekdal ve Gürkan 2014).

Bazal durumdaki fotosensitizör madde spesifik dalga boyundaki ışıqla aktif edildiğinde uyarılmış duruma geçer. Uyarılmış durumdaki fotosensitizör madde iki ayrı yolla reaksiyona girer. Birinci reaksiyonda, reaktif oksijen molekülleri, peroksit ve süperoksitler oluşur. İkinci reaksiyonda ise reaktif singlet oksijen (1O_2) oluşur. PDT’nin esas etki mekanizması reaktif singlet oksijen üzerinden gerçekleşmekle birlikte, her iki reaksiyon sonucunda da bakteri hücresi ölümü gerçekleşir (Moan ve Berg 1991; Soukos ve Goodson 2011).

Singlet oksijen, birçok molekülle ve hücreyle etkileşime girer, oldukça reaktiftir ve oksidatif zarara sebep olur. Etki spektrumu oldukça geniştir. Bakterilere, virüslere, mantarlara ve protozoalara karşı etkilidir. Biyolojik ömrü 0,04 μ sn, etki yarıçapı ise 0,02 μ m olduğundan etkisi sadece hedeflenen bölgede gerçekleşir, çevre dokulara zarar vermez (Komerik ve ark. 2000; Soukos ve Goodson 2011).

PDT, lipopolisakkaritleri inhibe ederek proenflamatuar sitokin salınımı azaltır ve antienflamatuar etki gösterir. Hücre mitokondrisindeki ATP sentezini uyararak biostimülatif etki gösterir. Işık kaynağının oluşturduğu fotomekanik dalgalar ise biofilmleri parçalayıcı etkiye sahiptir (Conlan ve ark. 1996; Ogura ve ark. 2007; Soukos ve Goodson 2011).

PDT, minimal invaziv, direnç oluşumu gözlenmeyen ve kolayca tekrar edilebilen bir tekniktir. Yapılan çalışmalar, *E.faecalis* üzerine oldukça iyi bakterisidal potansiyeli olduğunu ortaya koymaktadır. Bu yüzden geleneksel endodontik tedaviye ek olarak, özellikle tek seansta yapılan kök kanal tedavilerinde alternatif bir dezenfeksiyon yöntemi olarak kullanılabilir (Asnaashari, Ashraf ve ark. 2016).

PDT'nin avantajları, anında sonuç vermesi, seçici olması, kompleks anatomik zorluklara erişebilmesi, bağışıklık sistemi düşük sistemik hastalarda bakteriyemi riskini azaltması ve düşük toksisite göstermesi olarak sayılabilir (Asnaashari, Mojahedi ve ark. 2016).

2.3.2.1. Fotosensitizör Madde

Fotosensitizör madde, spesifik dalga boyundaki ışıkla aktive edildiğinde etrafındaki oksijen molekülleriyle reaksiyona girerek serbest oksijen radikalleri açığa çıkartan kimyasal ajandır. Topikal, intravenöz ya da oral yoldan uygulanabilen doğal ya da sentetik boya veya pigmentlerdir (Raghavendra ve ark. 2009; Singh ve ark. 2014).

İdeal bir fotosensitizör maddenin aşağıdaki özelliklere sahip olması beklenir:

1. Düşük sitotoksiste,
2. Kısa süreli fotosensitivite,
3. Basit formülasyona sahip olma,
4. Tekrar üretilebilir olma,
5. Yüksek stabilite,

6. Bakteri hücrelerine karşı seçici olma,
7. Yüksek penetrasyon yeteneği,
8. Yüksek etkinlik,
9. Sıvılarda yüksek oranda çözülebilme,
10. Hızlı elimine edilebilme.

Fotosensitizör maddeler, 630-700 nm arasındaki dalga boylarına duyarlıdırlar (Konopka ve Goslinski 2007; Raghavendra ve ark. 2009; Schwarz ve ark. 2009; Trindade ve ark. 2014).

Fotosensitizör maddeler şu şekilde sıralanabilir (Tablo 2-3):

1. Hematoporfirin türevleri (620-650 nm)
2. Fenotiyazin türevleri (620-700 nm)
3. Siyanin (600-805 nm)
4. Fitoterapik ajanlar (550-700 nm)
5. Fitalosiyanin (660-700 nm)
6. Klorinler (662 nm)
7. Ksantin
8. Monoterpin

Tablo 2-3: Fotosensitizör maddelerin sınıflandırılması

Fenotiyazinler	Metilen mavisi (MB) Toluidine blue O (TBO) Rose bengal (RB)
Fitalosiyaninler	Alüminyum disülfonad fitalosiyanin Katyonik Zn (II) -fitalosiyanin
Klorinler	Klorin e6 Sn (IV) klorin e6 Klorin e6-2.5 N-metil-d-glukamin (BLC 1010) Polilizin Klorin 6'nın polietilenemin konjugatları
Ksantinler	Eritrosin
Monoterpin	Azulen

Bunların dışında, nanopartiküller, titanyum dioksit gibi bileşikler ve bitkisel ürünler de bu amaçla kullanılmaktadır (Schwarz ve ark. 2009).

Kanser tedavisi ve antimikrobiyal fotodinamik tedavi prensibi aynı olmakla birlikte, kullanılan fotosensitizörlerin yapısı ve hedef hücreler açısından birbirinden farklılık gösterirler. Kanser tedavisi için, porfirinler, klorinler, fitalosiyaninler ve bakterioklorinler tümörleri lokalize edebilme özellikleri ve ışık yokluğunda memeli hücrelerine karşı toksik olmayışı nedeniyle fotosensitizör olarak tercih edilirken, mikroorganizmaların ortamdaki uzaklaştırılmasında halojenize ksantinler, fenotiyazinler ve konjuge klorinler kullanılmaktadır (Wainwright 1998).

Hamblin ve Hassan, antimikrobiyal amaçlarla kullanılan fotosensitizörleri üç gruba ayırmıştır:

1. Mikroorganizmalara penetre olan ve sıkıca bağlananlar: Klorinler
2. Zayıf şekilde bağlananlar: Fenotiyazinler
3. Bağlanmayanlar: Rose bengal (Hamblin ve Hasan 2004)

Endodontide en sık kullanılan fotosensitizörler fenotiyazin türevleridir. Fenotiyazinler 600-660 nm dalga boyunda kırmızı ışığı yoğun olarak absorbe ederler. Bu dalga boyu aralığı, biyolojik dokularda yeterli ışık penetrasyonu için gerekli terapötik pencere olarak bilinen uygun spektrumdur. Fenotiyazin türevi olarak en sık

kullanılan fotosensitizörler methylene blue (metilen mavisi, MB) ve toluidine blue (toluidine mavisi, TBO)'dur. TBO ve MB benzer fizikokimyasal özellikler gösterirler (Wainwright 1998; Hamblin ve Hasan 2004).

Fotosensitizörlerin çoğu hemoglobindeki hem ya da klorofil gibi heterosiklik çember yapısı gösterir. Işık enerjisinin fotosensitizör tarafından alınmasıyla, ortamda moleküler oksijen varlığıyla bu enerji kimyasal bir reaksiyona dönüştürülür ve serbest oksijen radikalleri ve süperoksit molekülleri oluşturulur. Bu yüzden fotosensitizörler PDT için oldukça kritik bir elemandır (Salva 2002; Kubler 2005).

Kök kanal ortamı içerisinde kullanılan fotosensitizörlerin görülebilir spektrumun orta kırmızı porsiyonundaki lazer ışığını absorbe edebilmeleri oldukça önemlidir. Bu spektrumdaki ışık, dentine ve varsa kök kanalı içerisindeki kana en iyi şekilde penetre olan ışıktır (Salva 2002; Kubler 2005).

Bununla birlikte, fotosensitizörün anyonik ya da katyonik olması da bakterilere bağlanmasında önemlilik arz eder. Fenotiyazinler, planar trisiklik aromatik halka yapısından oluşan katyonik bir moleküldür (Wainwright ve Crossley 2002; Wainwright ve Giddens 2003).

PDT, gram-pozitif bakterilere karşı gram-negatiflere olduğundan daha etkilidir. Gram-pozitif bakterilerde sitoplazmik membran, peptidoglikan ve lipoteikoik asitten oluşan kısmen poröz bir tabakayla çevrilidir. Bu tabaka PS'nin geçmesine olanak tanır. Gram-negatif bakterilerde iç ve dış olmak üzere iki tane membran bulunur. Nötral ve anyonik PS'ler gram-pozitif bakterilere etkili bir şekilde bağlanır ve onları yok eder. Gram-negatif bakterilerde ise sadece dış membrana bağlanır ve onları etkili bir şekilde yok edemez. Bakteri hücresinin yok edilebilmesi için PS'nin hücre membranı tarafından absorbe edilmesi ve sitoplazmaya transfer edilerek DNA ve protein sentezi inhibisyonuna sebep olması gerekir (Trindade ve ark. 2014).

Wainwright'a göre, fenotiyazinler hidrofilik yapıları, düşük moleküler ağırlıkları ve pozitif yüklerinden dolayı gram-negatif bakterilerin dış membranındaki porin-protein kanallarından geçerek gram-negatifler üzerinde daha iyi etki sağlarlar (Wainwright 1998).

Toluidine Blue (TBO), diğer adıyla tolonyum klorid, mavi boyalı bir ajandır. Gram-pozitif ve gram-negatif bakterilerin çoğuna etkilidir. TBO, metilen mavisiyle

kıyaslandığında kök kanal ortamında *E.faecalis*'e çok daha iyi bağlandığı için daha etkilidir. %0,001-0,01 gibi düşük konsantrasyonlarda kullanılır. Düşük konsantrasyonlarda olması, yumuşak dokuları tahriş etmesini ve radiküler ve koronal dentini boyamasını önler. TBO'nun 635 nm görünür kırmızı ışıkla aktive edilmesiyle serbest oksijen radikalleri oluşur (Salva 2005; Singh 2014).

TBO, mavi menekşe rengindedir. Mast hücrelerini ve bağ dokusunu boyar. Atipik epitel sağlıklı epitelden ayırmada ve bu sayede tümörlerin saptanmasında kullanılır. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* ve lipopolisakkaritlere karşı metilen mavisinden daha etkilidir (Peker Tekdal ve Gürkan 2014).

Metilen Mavisi (MB), maksimum 670 nm dalga boyunda ışığı absorbe edebilen katyonik bir boyadır. Sınırlı derecede ışığa maruz kaldığında bile, bazı streptokok türlerine karşı belirgin toksisite gösterir. MB oldukça güçlü bir sensitizördür, fakat suda yüksek oranda çözülür. Birçok gram-pozitif ve gram-negatif bakteriye etkilidir. Fenotiyazinler hedef hücrelerin DNA'larına ve dış membranlarına karşı toksisite gösterirler. MB, hidrofiliği, düşük moleküler ağırlığı ve pozitif yükü sayesinde gram-negatif bakterilerin dış membranındaki porin-protein kanallarından geçebilir. Anyonik makromolekül olan lipopolisakkaritlerle etkileşir. Prekanseroz lezyonların teşhisinde kullanılır. Ticari ürünlerde genellikle metilen mavisini kullanıldığı için kullanım sıklığı TBO'dan fazladır. (Wainwright ve Crossley 2002; Peker Tekdal ve Gürkan 2014; Singh 2014).

2.3.2.2. Işık Kaynakları

PDT'de, fotosensitizör maddenin aktive olması için spesifik bir dalga boyunda düşük enerjili görünür ışık spektrumunda bir ışık kaynağına ihtiyaç vardır. İnsan dokuları kırmızı ışığı etkili bir şekilde geçirir ve fotosensitizör maddenin daha uzun aktivasyon dalga boyuna sahip olması ışığın daha derine penetre olmasını sağlar. Bunun sonucu olarak, birçok fotosensitizör madde 630 ila 700 nm dalga boyunda kırmızı ışık ile aktive olur. Işık penetrasyon derinliği ise 630 nm'de 0,5 cm, 700 nm'de ise 1,5 cm'dir. 600 nm'den küçük dalga boyları konak dokuları tarafından yüksek derecede absorbe edilir, bu nedenle olası yan etkilerden korunmak için PDT'de 600 nm'den yüksek dalga boyları tercih edilmektedir (Salva 2002; Kubler 2005; Konopka ve Goslinski 2007; Raghavendra ve ark. 2009; Peker Tekdal ve Gürkan 2014).

Endodontik dezenfeksiyon için en çok kullanılan ışık kaynakları şunlardır:

1. Diyod lazerler (Helyum-neon lazerler, 633 nm)
2. Galyum-alüminyum-arsenit diyod lazerler (630-690, 830 ya da 906 nm)
3. Argon lazerler (488, 514 nm)
4. Light-emitting diode (LED)
5. Tugsten filament
6. Kuartz halojen
7. Xenon ark
8. Fosfor kaplı sodyum lambalar (Singh ve ark. 2014; Peker Tekdal ve Gürkan 2014).

PDT’de en çok kullanılan ışık kaynağı lazerlerdir. Lazerler, tek renkli, yoğun, düz, aynı fazlı, güçlü, paralel dalgalar şeklinde ışık üretir. Yüksek enerjili lazerlerin konak dokularında nekroza yol açma riskinden dolayı düşük enerjili lazerler üretilmiştir. Düşük enerjili lazerler, konak dokusuna zarar vermeden hedef hücreye etki eder. Yapılan çalışmalarda, düşük enerjili lazerlerin etkinliği de yüksek enerjili lazerlere göre daha fazla bulunmuştur. PDT için günümüzde en çok tercih edilen ışık kaynağı diyod lazerdir. Birçok farklı diyod lazer bulunmaktadır. Diyod lazerlerin hemoglobin gibi renkli hücreler tarafından absorpsiyonu fazladır, su molekülleri tarafından ise az absorbe edilir. Biyolojik dokulara penetrasyonu fazla olduğundan termal zarar riski söz konusudur (Cobb 2006; Konopka ve Goslinski 2007; Ishikawa ve ark. 2009).

LED ışık kaynakları yakın zamanda lazere alternatif olarak gösterilmiştir. LED’ler yarı-iletken, diyod temelli ve silikon esaslı ışık kaynaklarıdır. Akım geçtiğinde foton açığa çıkararak ışık üretirler. Özel uçları sayesinde farklı açılarda ışık verebilirler. LED’lerin lazerlerle kıyaslandığında birçok avantajı vardır. Bunlar şu şekilde sıralanabilir:

1. Boyutlarının daha küçük olması,
2. Ağırlığının daha az olması,
3. Maliyetinin daha düşük olması,
4. Kullanımının daha kolay olması,

5. Işınlama esnasında daha fazla esneklik sağlayan geniş spektrum çıkışı,
6. Kolay taşınabilir olması,
7. Termal hasar riski olmaması (Schwarz ve ark. 2009; Soukos ve Goodson 2011; Singh ve ark. 2014).

Asnaashari, ve ark. larının çekilmiş insan dişleri üzerinde yapmış oldukları çalışmada, 630 nm dalga boyunda ışık üreten LED ışık cihaz cihazının, 810 nm lazer cihazına göre *E.faecalis* üzerine daha etkili olduğu bulunmuştur (Asnaashari, Mojahedi ve ark. 2016).

PDT'nin mikroorganizmaları öldürücü etkisi ısı artışına değil fotokimyasal reaksiyonlara bağlıdır. Bu yüzden, yüksek enerjili lazerlerden farklı olarak herhangi bir ısı yan etkisi olmadan endodontik patojenleri yok edebilir (Beltes ve ark. 2016).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı ve İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı'nda yürütülmüştür. Mikrobiyolojik deneyler, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı Ağız Mikrobiyolojisi Laboratuvarında yapılmıştır. Bu çalışma, yetişkin bireylerden alınan 106 adet çekilmiş tek köklü ve tek kanallı diş üzerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 1 adet pozitif kontrol grubu, 1 adet negatif kontrol grubu ve 9 adet deney grubu olmak üzere toplam 11 adet çalışma grubu bulunmaktadır. Deney gruplarında 10'ar adet diş bulunmaktadır. Gönüllü hastalar, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı'na başvuran hastalar arasından seçilmiş olup, öncesinde hastalara bilgilendirilmiş gönüllü onam formu okutularak imzalı onamları alınmıştır. Bu çalışma için İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 11/05/2017 tarih ve 53 sayılı toplantısında etik kurul onayı alınmıştır.

3.1. Örnek Dişlerin Seçim Kriterleri

Örnek dişlerin seçiminde aşağıdaki kriterler göz önüne alınmıştır:

1. Dişlerin tek köklü ve tek kanallı olması
2. Daha önce endodontik tedavi ya da endodontik tedavi girişimi görmemiş olması
3. Kök yüzeyinde kırık, çatlak ya da çürük bulunmaması
4. Eksternal ya da internal rezorpsiyon bulunmaması
5. Kök gelişiminin tamamlanmış olması
6. Schneider sınıflamasına göre kök kanalında 10°'den fazla eğim bulunmaması
7. Kök kanalı içerisinde kalsifikasyon bulunmaması
8. Apikal formun bozulmamış olması.

3.2. Örnek Dişlerin Çalışma İçin Hazırlanması

Gönüllülerden elde edilen örnek dişler üzerlerindeki yumuşak ve sert doku artıkları scaler yardımıyla uzaklaştırıldıktan sonra çalışma zamanına kadar steril serum fizyolojik içerisinde +4°C’de buzdolabında saklamıştır.

Örnek dişlerin her biri, boyları standart 12 mm olacak şekilde fissür elmas frez ile mine-sement sınırından kesilmiştir. 10 numara K tipi el aletiyle apikal açıklık kontrol edilmiş ve kanal aletinin apikal foramende görünür hale geldiği uzunluktan 1 mm geri çekilerek çalışma boyu belirlenmiştir

Örnek dişlerin mekanik şekillendirmesi için 15-40 K ve H tipi el aletleri (Mani, Japonya) ve kural 1/3’lük kısmın şekillendirmesi için mikromotorun ucuna takılan 1 ve 2 numara Gates-Glidden frezler kullanılmıştır. Master apical file 40 olarak belirlenmiştir, bu sayede Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavi esnasında kullanılan ışık cihazının kanal içi endodontik uygulama ucunun kök kanalında ilerleyebilmesi için yeterli genişlik elde edilmiştir. Her alet değişiminde kök kanalı 30 gauge yandan delikli endodontik irrigasyon iğnesi yardımıyla 2 ml %5,25’lik NaOCl (Chlorax, Amelit, Kiev, Ukrayna) ile yıkanmıştır.

Şekillendirmeyi takiben, son yıkama prosedürü olarak 5 ml %5,25’lik NaOCl (Chlorax, Amelit, Kiev, Ukrayna), ardından smear tabakasını uzaklaştırmak için 1 dk boyunca 5 ml %17’lik EDTA (Wizard), ardından tekrar 5 ml NaOCl ve son olarak da 5 ml steril serum fizyolojik kullanılmıştır.

Kemomekanik preparasyonu takiben, apikal foramen açıklığı el eğesi ile tekrar kontrol edildikten sonra apikal açıklık ışıkla sertleşen akışkan cam iyonomer (Glass Liner, WP Dental, Barmstedt, Almanya) ile kapatılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3-1: Apikal açıklığın kapatılması

Çalışma esnasında dişlerin kolaylıkla elde tutulabilmesi için örnekler tek tek akrilik bloklara (Soğuk Akrilik, Imicryl, Konya, Türkiye) gömülmüştür. Akrilik bloklara gömülen örnekler ayrı ayrı paketlenerek B-tipi otoklavda 121°C ve 1 atm basınç altında 15 dk boyunca steril edilmiştir.

3.3. Mikrobiyolojik İşlemler

3.3.1. Bakteri Süspansiyonlarının Hazırlanması

Bu çalışmada bakteri türü olarak *Enterococcus faecalis*'in ATCC 29212 tip suşu kullanılmıştır. Triptik Soy Agar (TSA) (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) besiyerinde 37 °C'de 24 saat boyunca aerob ortamda inkübasyon sonrası oluşan bakteri kolonilerinden Triptik Soy Buyyon (TSB) (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) besiyerinde 0,5 Mc Farland Standardı'na göre bulanıklık ayarı (1.5×10^8 CFU ml⁻¹) yapılarak bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Kontrol amaçlı olarak süspansiyon 10 katlı sulandırılarak katı besiyerine 0,1 ml ekim yapılmıştır.

3.3.2. Besiyerlerinin Hazırlanması

Bu çalışmada katı besiyeri olarak hazır TSA besiyeri, sıvı besiyeri olarak da hazır TSB besiyeri (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) kullanılmıştır.

Katı besiyeri hazır TSA'dan 40 gr alındıktan sonra distile suyla karıştırılarak 1000 ml'ye tamamlanmış ve pH 7,3+/-0,2 olacak şekilde eritilmiştir. Ardından 121 °C'de 15 dk boyunca otoklavda steril edilmiştir.

Sıvı besiyeri için hazır TSB'den 30 gr alındıktan sonra distile suyla karıştırılarak 1000 ml'ye tamamlanmış ve pH 7,3+/-0,2 olacak şekilde eritilmiştir. Ardından 121 °C'de 15 dk boyunca otoklavda steril edilmiştir.

TSA besiyeri steril petri kutuları içerisine, TSB besiyeri ise steril tüpler içerisine dağıtılmıştır. Taşıma sıvısı olarak VMG II transport besiyeri kullanılmıştır.

3.3.3. Çalışmada Kullanılan Besiyerlerinin İçerikleri

3.3.3.1. Triptik Soy Agar (TSA)

Enzymatic digest of casein.....	15 gr
Enzymatic digest of soybean meal.....	5 gr
Sodium chloride.....	5 gr
Agar.....	15 gr

3.3.3.2. Triptik Soy Buyyon (TSB)

Panreatic digest of casein.....	17 gr
Papaic digest of soybean meal.....	3 gr
Sodium chloride.....	5 gr
Dipotassium phosphate.....	2,5 gr
Dextrose.....	2,5 gr

3.3.3.3. VMG II Transport Besiyeri

a)Agar (Merck).....	0,1 gr
b)Bacto jelatin (Merck).....	10 gr
Tyrtose (Difco).....	0,5 gr
Thiotone (Difco).....	0,5 gr
Cysteine hydrochloride.....	0,5 gr
Thioglycollic acid (Difco).....	0,5 ml
c)Tuz stok solüsyonu II.....	100 ml

3.3.4. Örneklerin *Enterococcus faecalis* İle Enfekte Edilmesi ve Biofilm Oluşturulması

Çalışmada kullanılmak üzere standart olarak şekillendirilmiş ve steril edilmiş örneklerden 8 tanesi rastlantısal olarak negatif kontrol grubu olarak ayrılmıştır. Bu 8 adet örnek 7 gün boyunca 37 °C’de nemli ortamda ve aerob koşullarda etüvde bekletilmiştir. Bu grupta herhangi bir üreme olup olmadığını test etmek amacıyla 2., 4. ve 6. günlerde kök kanallarına steril koşullarda taze TSB besiyeri ekilmiştir.

Geriye kalan 98 örnek için 5 µl bakteri süspansiyonu steril mikropipetler ile kök kanallarına ekilmiştir. ISO 20 numara K tipi steril el eğesiyle kök kanalları ajite edilerek süspansiyonun tam olarak dağılması sağlanmış ve ardından geçici restorasyon materyali (Coltosol® F, Coltene, Germany) ile kanal ağzları kapatılmıştır. Bu işlemden sonra örnekler 37°C’de 7 gün boyunca nemli ve aerob koşullarda saklanmıştır. 2., 4. ve 6. günlerde geçici dolgu materyali uzaklaştırılarak kök kanallarına taze TSB besiyeri eklenmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3-2: Kök kanallarının *E.faecalis* ile enfekte edilmesi

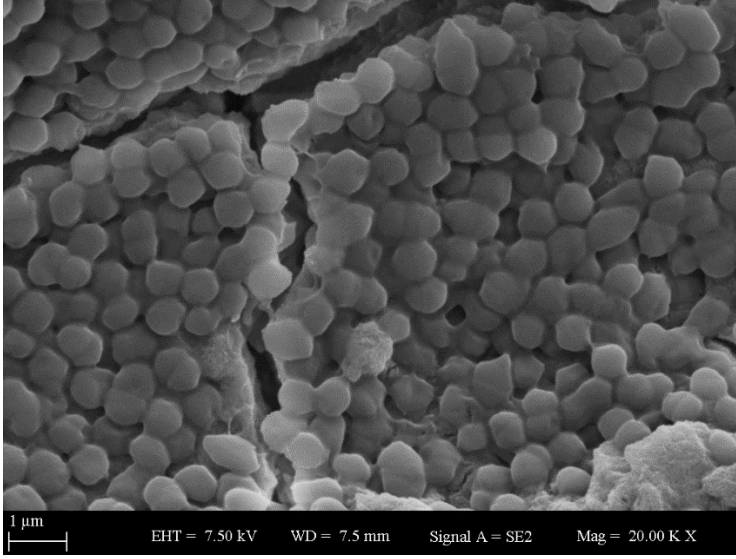
3.4. Kök Kanallarında Oluşan Biofilmin Kontrolü

Örneklerin *E.faecalis* ile enfekte edilmesi ve biofilmin oluşturulmasından sonra bu örneklerden rastlantısal olarak 8 tanesi pozitif kontrol grubu için ayrılmış ve *E.faecalis* varlığı açısından değerlendirilmiştir. Bu işlem için her bir örnekte, ISO 30 numara steril H tipi el eğesiyle kök kanalında ileri-geri hareketlerle dentin açığa çıkarıldıktan sonra, ISO 30 numara steril paper pointler kök kanallarına yerleştirilerek 20 sn beklenmiş ve mikrobiyolojik örnek toplanmıştır. Paper pointler, 1 ml VMG II

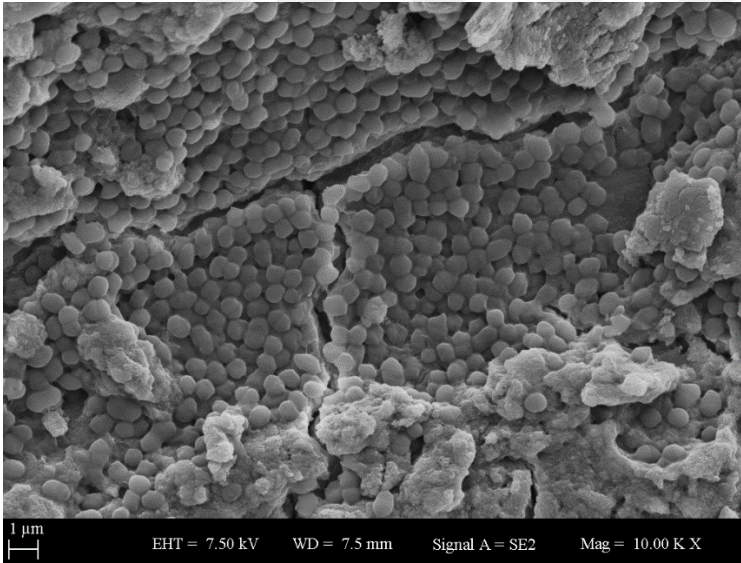
taşıma sıvısı içeren ependorf tüplerine yerleştirilerek inceleme için İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı Laboratuvarı'na gönderilmiştir.

Toplanan mikrobiyolojik örnekler öncelikle 10 sn boyunca vortekslenmiştir. Ardından 10 kat sulandırmaları yapılarak 0,1 ml'lik süspansiyonlar şeklinde Mitis Salivarius Basitrasin (MSB) Agar inoküle edilerek 37 °C'de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Her bir örneğin TSA'da üreyen kolonileri tek tek sayılmış ve koloni oluşturma ünitesi (CFU⁻¹) cinsinden hesaplanmıştır.

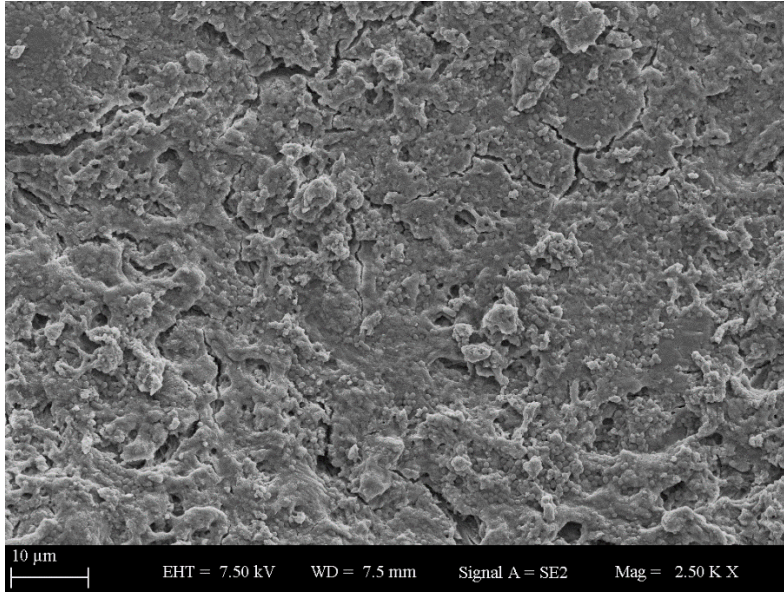
Pozitif kontrol grubundaki örneklerden rastlantısal olarak bir tanesi ayrılarak, biofilm oluşumunun gözlenebilmesi için Yıldız Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarı'nda Scanning Electron Microscope (SEM) (Evo LS10, Zeiss, Almanya) ile incelenmiştir. Bu inceleme için, rastlantısal olarak seçilen örnek diş akrilik bloktan ayrılmıştır. Ardından, diş yüzeyinin mezial ve distal taraflarında dişin uzun aksı boyunca iki oluk açıldıktan sonra, kök kanalına girilmemeye özen gösterilerek steril bir el aleti yardımıyla diş ortadan ikiye uzun aksı boyunca ayrılmıştır. Elde edilen iki yarım örnekten biri rastlantısal olarak seçildikten sonra SEM incelemesi için kurutma işlemi uygulanmıştır. Bu işlem için elde edilen örnek sırasıyla %25'lik, %50'lik, %75'lik, %96'lık ve %100'lük etanol solüsyonunda 20'şer dakika bekletildikten sonra 24 saat boyunca açıkta kurumaya bırakılmıştır. Kurutma işlemi tamamlanan örnek SEM incelemesi öncesi vakumlu bir ortamda Polaron Sc7620 Sputter Coater (VG Microtech Inc., Japonya) cihazı kullanılarak ince bir altın-paladyum tabakası ile kaplanmıştır. SEM incelemesi sonucu kök kanallarındaki bakteri üremesi ve biofilm varlığı görülmektedir (Şekil 3.3, Şekil 3.4, Şekil 3.5).



Şekil 3-3: Kök kanalının orta üçlüdeki kısmında *E.faecalis* varlığının 20.000 büyütmede gösterilmesi



Şekil 3-4: Kök kanalının orta üçlüdeki kısmında *E.faecalis* varlığının 10.000 büyütmede gösterilmesi



Şekil 3-5: Kök kanalının orta üçlüdeki kısmında *E.faecalis* varlığının 2.500 büyütmede gösterilmesi

3.5. Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavi İçin Kullanılan Işık Cihazı Ve Fotosensitizör Madde

Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavi uygulaması için ışık cihazı olarak Fotosan 630 LAD Pen LED cihazı (CMS Dental, Copenhagen, Denmark), (Şekil 3.6), fotosensitif madde olarak da bu cihazın kendi fotosensitif maddesi olan Toluidine Blue (TBO) Agent Low (düşük viskozitede, 0,1 mg/ml konsantrasyon), (Şekil 3.7), kullanılmıştır.



Şekil 3-6: Fotosan 630 LAD Pen



Şekil 3-7: Toluidine Blue (TBO) Agent Low

Fotosan 630 LAD Pen LED cihazı, 630 nm dalga boyunda kırmızı ışık üretmektedir. 3,2 V voltaj ve 1200 mA akımla çalışmaktadır. Ortalama kullanım zamanı 760 dakikadır ve yeniden şarj olma süresi ortalama 2 saattir. Değiştirilebilen başlıkları (Şekil 3.8) ve uygulama için 0,5 mm çapında özel endodontik ucu bulunmaktadır (Şekil 3.9). Bu uçlar 0,03 taper'a sahiptir ve çalışma boyu uzunluğunun 3 mm gerisine kadar uzanabilmektedir. Endodontik uçlar hafif parmak basıncıyla itilerek oturtulmakta ve yine hafif basınçla çekilerek çıkarılmaktadır. Endodontik uç yerine yerleştirildikten sonra yukarı-aşağı yönde +/- 15° oynayabilmektedir. Uçlar, kanal içerisinde az da olsa bükülebilme göstermektedir. Cihazın yeşil, turuncu ve kırmızı olmak üzere üç farklı uygulama programı mevcuttur. Bu programlarda kesintisiz olarak en fazla 30 sn, en az 10 sn ışık verebilmektedir. Bu çalışmada kesintisiz 30 sn ışık veren yeşil program kullanılmıştır.



Şekil 3-8: Değiştirilebilen başlıklar



Şekil 3-9: Endodontik uç

TBO, enjektör yardımıyla kanala yerleştirildikten sonra endodontik uç kök kanalına sokularak ışık uygulaması başlatılır. Uygulama esnasında hasar riskinden kaçınmak için mutlaka koruyucu gözlük kullanılmaktadır.

3.6. Deney ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması

Çalışmamızda kullanılan 106 adet örnekten rastlantısal olarak 16 tanesi seçilmiş ve bunlar 8-8 olacak şekilde negatif ve pozitif kontrol grubu olarak ayrılmıştır. Geriye kalan 90 adet örnek her bir grupta 10 adet örnek olacak şekilde 9 adet deney grubuna ayrılmıştır.

3.6.1. 1.Grup (TBO)

Bu grupta bulunan n=10 adet örnek, geçici dolgular uzaklaştırıldıktan sonra 30 sn boyunca yandan delikli 30 gauge'luk endodontik enjektör (Endo-Eze, Ultradent, South Jordan, UT) yardımıyla TBO ile yıkanmıştır. Ardından kök kanalındaki TBO yine 30 gauge'luk endodontik enjektör yardımıyla 30 sn boyunca steril salin ile yıkanarak uzaklaştırılmıştır.

3.6.2. 2.Grup (Işık)

Bu grupta bulunan n=10 adet örnek, geçici dolgular uzaklaştırıldıktan sonra 30 sn boyunca yandan delikli 30 gauge'luk endodontik enjektör yardımıyla steril salin ile yıkandıktan sonra 30 sn ışık uygulaması yapılmıştır.

3.6.3. 3.Grup (TBO+30 sn ışık)

Bu grupta bulunan n=10 adet örnek, geçici dolgular uzaklaştırıldıktan sonra 30 sn boyunca yandan delikli 30 gauge'luk endodontik enjektör yardımıyla TBO ile yıkandıktan sonra 30 sn ışık uygulaması yapılmıştır. Ardından kök kanalındaki TBO yine 30 gauge'luk endodontik enjektör yardımıyla 30 sn boyunca steril salin ile yıkanarak uzaklaştırılmıştır.

3.6.4. 4.Grup (TBO+60 sn ışık)

Bu grupta bulunan n=10 adet örnek, geçici dolgular uzaklaştırıldıktan sonra 30 sn boyunca yandan delikli 30 gauge'luk endodontik enjektör yardımıyla TBO ile yıkandıktan sonra 60 sn ışık uygulaması yapılmıştır. Ardından kök kanalındaki TBO yine 30 gauge'luk endodontik enjektör yardımıyla 30 sn boyunca steril salin ile yıkanarak uzaklaştırılmıştır.

3.6.5. 5.Grup (TBO+120 sn ışık)

Bu grupta bulunan n=10 adet örnek, geçici dolgular uzaklaştırıldıktan sonra 30 sn boyunca yandan delikli 30 gauge'luk endodontik enjektör yardımıyla TBO ile yıkandıktan sonra 120 sn ışık uygulaması yapılmıştır. Ardından kök kanalındaki TBO yine 30 gauge'luk endodontik enjektör yardımıyla 30 sn boyunca steril salin ile yıkanarak uzaklaştırılmıştır.

3.6.6. 6.Grup (NaOCl+TBO+30 sn ışık)

Bu grupta bulunan n=10 adet örnek, geçici dolgular uzaklaştırıldıktan sonra yandan delikli 30 gauge'luk endodontik enjektör yardımıyla sırasıyla 30 sn boyunca NaOCl, ardından 30 sn boyunca steril salin, ardından da 30 sn boyunca TBO ile yıkandıktan sonra 30 sn ışık uygulaması yapılmıştır. Ardından kök kanalındaki TBO yine 30 gauge'luk endodontik enjektör yardımıyla 30 sn boyunca steril salin ile yıkanarak uzaklaştırılmıştır.

3.6.7. 7.Grup (NaOCl+TBO+60 sn ışık)

Bu grupta bulunan n=10 adet örnek, geçici dolgular uzaklaştırıldıktan sonra yandan delikli 30 gauge'luk endodontik enjektör yardımıyla sırasıyla 30 sn boyunca NaOCl, ardından 30 sn boyunca steril salin, ardından da 30 sn boyunca TBO ile yıkandıktan sonra 60 sn ışık uygulaması yapılmıştır. Ardından kök kanalındaki TBO

yine 30 gauge'luk endodontik enjektör yardımıyla 30 sn boyunca steril salin ile yıkanarak uzaklaştırılmıştır.

3.6.8. 8.Grup (NaOCl+TBO+120 sn ışık)

Bu grupta bulunan n=10 adet örnek, geçici dolgular uzaklaştırıldıktan sonra yandan delikli 30 gauge'luk endodontik enjektör yardımıyla sırasıyla 30 sn boyunca NaOCl, ardından 30 sn boyunca steril salin, ardından da 30 sn boyunca TBO ile yıkandıktan sonra 120 sn ışık uygulaması yapılmıştır. Ardından kök kanalındaki TBO yine 30 gauge'luk endodontik enjektör yardımıyla 30 sn boyunca steril salin ile yıkanarak uzaklaştırılmıştır.

3.6.9. 9.Grup (NaOCl)

Bu grupta bulunan n=10 adet örnek, geçici dolgular uzaklaştırıldıktan sonra 30 sn boyunca yandan delikli 30 gauge'luk endodontik enjektör yardımıyla NaOCl ile yıkanmıştır. Ardından kök kanalındaki NaOCl yine 30 gauge'luk endodontik enjektör yardımıyla 30 sn boyunca steril salin ile yıkanarak uzaklaştırılmıştır.

3.6.10. 10.Grup (Pozitif Kontrol Grubu)

E.faecalis ile enfekte edilen 8 adet örneğe steril TSB eklenmiş ve bu örnekler üzerinde herhangi başka bir işlem yapılmamıştır.

3.6.11. 11.Grup (Negatif Kontrol Grubu)

Standart olarak hazırlanmış ve steril edilmiş olan 8 adet örnek *E.faecalis* ile enfekte edilmemiş, sadece steril TSB eklenmiş ve bu örnekler üzerinde herhangi başka bir işlem yapılmamıştır.

3.7. Antibakteriyel Etkinliğin Değerlendirilmesi

Antibakteriyel etkinliğin değerlendirilmesi için, her bir örneğin kök kanalı çevresel olarak ISO 30 numara H-tipi el eğesi ile kazınarak dentin tübüllerinin açığa çıkması sağlanmıştır. Ardından ISO 30 numara paper point kök kanalına konularak 20 sn bekletilmiştir. Paper pointler, 1 ml VMG II taşıma sıvısı içeren ayrı ayrı ependorf tüplerine koyularak laboratuvara götürülmüştür.

Elde edilen örnekler 10 sn vortekslelendikten sonra 10 kat sulandırmaları yapılarak 0,1'er ml MSB Agar besiyerine ekilerek yayılmıştır. Tüm örnekler 24 saat

boyunca 37 °C’de inkübe edildikten sonra besiyerinde üreyen koloniler tek tek sayılarak CFU cinsinden (Denklem 3.1) hesaplanmıştır (Şekil 3.10).

$$\text{CFU/ml} = \text{koloni sayısı} / \text{inokulum miktarı} \times \text{sulandırım oranı} \quad (3-1)$$



Şekil 3-10: Farklı sulandırmalarda MSB Agar besiyerlerinde üreyen bakteri kolonilerinin sayılması

3.8. İstatistiksel Değerlendirme

Veriler bilgisayarda SPSS 25.0 (Statistical Packages of Social Sciences) programı kullanılarak analiz edildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilks testi ile değerlendirildi. Varyansların homojenliği varsayımı Levene testi ile değerlendirildi. Açıklayıcı istatistikler sürekli değişkenler için ortalama $\pm$ standart sapma , ortanca ve değişim aralıkları şeklinde gösterildi. İki den fazla grubun normal dağılıma uyan ve varyans homojenliği varsayımını sağlayan değişkenlerinin karşılaştırılmasında ANOVA testi, ikili karşılaştırmaları için ise Bonferroni testi ve pozitif grupla karşılaştırılmasında Dunnett testi kullanıldı. İki den fazla grubun normal dağılıma uymayan değişkenlerin karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi, ikili karşılaştırmaları için ise Mann-whitney U testi yapıldı. Sonuçlar Bonferroni düzeltmesi yapılarak yorumlandı. $p < 0,05$ olması durumunda aradaki fark anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Bu araştırmada, laboratuvar koşulları altında *E.faecalis* ile enfekte edilen kök kanallarına, farklı srelerde antimikrobiyal fotodinamik tedavi ve NaOCl uygulaması yapılarak kök kanallarında meydana gelen mikrobiyal değişiklikler incelenmiştir. Deney sonrası elde edilen mikrobiyolojik örnekler besiyerlerine ekildikten sonra üreyen koloniler sayılarak CFU cinsinden hesaplanmıştır. Elde edilen bulgular tablolar ve grafikler yardımıyla gösterilmiştir. Pozitif kontrol grubundaki bakteri üremesi hem besiyerinde üreyen koloniler sayılarak, hem de SEM görüntüleri incelenerek doğrulanmıştır. Negatif kontrol grubundaki dişlerde herhangi bir bakteri üremesi olmamıştır.

Verilerin gruplara göre normal dağılıma uygun olup olmadığı Shapiro-Wilks testi ile değerlendirilmiştir. CFU değerleri normal dağılıma uygun değildir. Bu sebeple gruplara göre karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Deney gruplarında ve pozitif kontrol grubunda kalan bakteri miktarlarının ortalamarı, standart sapmaları ve medyan değerleri Tablo 4.1’de gösterilmiştir. Tüm deney gruplarında *E.faecalis* sayısı değişik oranlarda azalma göstermiştir ve pozitif kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklılık bulunmuştur ($p<0,05$).

Tablo 4-1: Kalan bakteri miktarlarının ortalamaları, standart sapmaları ve medyan değerleri

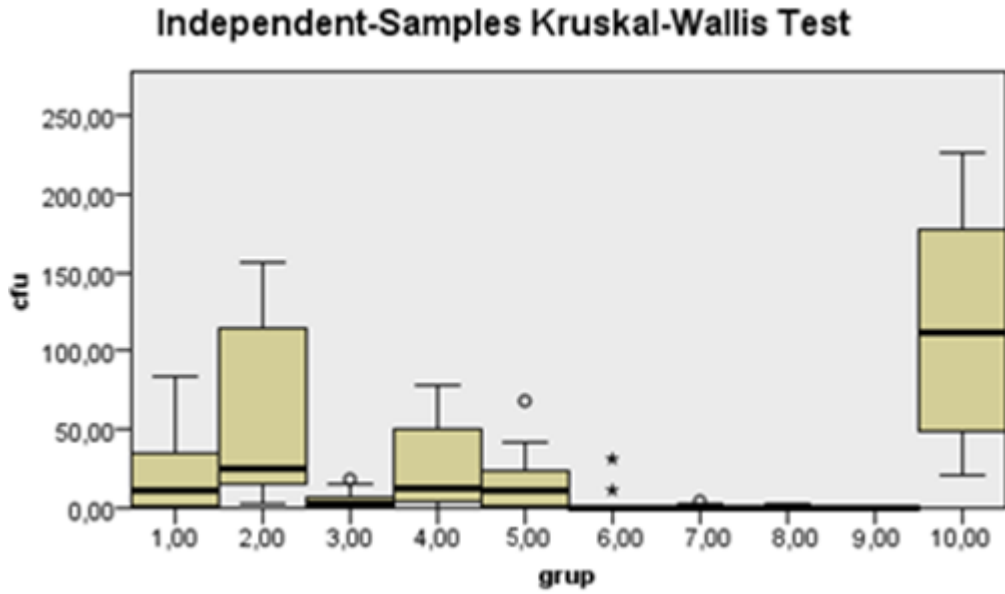
cfu						
grup	N	Ortalama	S.Sapma	Ortanca (Medyan)	Değişim Aralığı (Range)	P değeri
1,00	10	24,6000	30,46747	10,5000	83,00	0,000*
2,00	10	61,9000	62,89754	24,5000	155,00	
3,00	10	5,5000	6,31137	2,0000	18,00	
4,00	10	24,4000	28,16696	12,0000	78,00	
5,00	10	17,6000	21,90992	11,0000	68,00	
6,00	10	4,2000	10,03106	,0000	31,00	
7,00	10	,7000	1,33749	,0000	4,00	
8,00	10	,5000	,84984	,0000	2,00	
9,00	10	,0000	,00000	,0000	,00	
Pozitif	8	115,1250	76,94606	111,5000	206,00	

*p<0,05 istatistiksel olarak anlamlıdır. P değeri Kruskal Wallis testi sonucudur.

CFU ortanca değerlerinde gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur (p:0,000. p<0,05). Bu farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığını belirlemek için Mann-Whitney U testi yapılmış ve Bonferroni düzeltmesi yapılarak yorumlanmıştır. Farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu değerlendirmek üzere ikili karşılaştırmaları yapılmış ve anlamlı bulunan karşılaştırmalar Tablo 4.2 ve Şekil 4.1’de belirlenmiştir.

Tablo 4-2: İstatistiksel olarak anlamlı fark bulunan gruplar**İstatistiksel olarak anlamlı fark bulunan**

Gruplar	P değerleri
6-pozitif	0,000*
2-9	0,000*
8-pozitif	0,000*
9-pozitif	0,000*
7-pozitif	0,000*
2-8	0,003*
2-7	0,003*
2-6	0,006*
4-9	0,035*
1-9	0,026*



Şekil 4-1: İstatistiksel olarak anlamlı fark bulunan gruplar

Bu tablodan yola çıkarak, 2. Grupa ve pozitif kontrol grubuyla 6,7,8 ve 9. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. 1,2 ve 4. Grupa 9. Grup arasında da istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur.

Işık kullanım süreleri kıyaslandığında, 3,4 ve 5. Gruplarla 6,7 ve 8. Gruplar kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir.

1.ve 2. Gruplar kendi aralarında ve pozitif kontrol grubuyla anlamlı bir farklılık göstermezken, 1. Grupa, 9. Grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur.

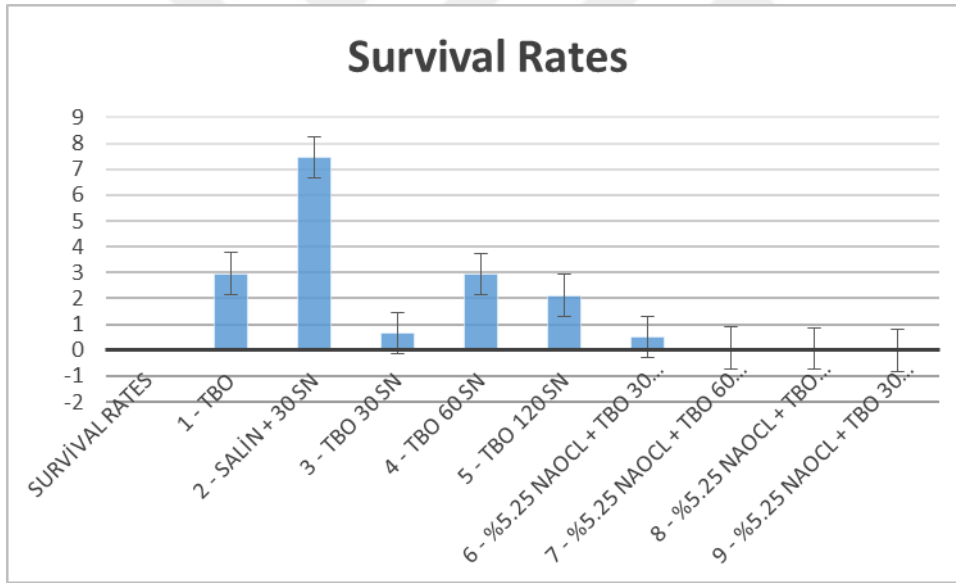
Sadece antimikrobiyal fotodinamik tedavi uygulanan Gruplarla (3,4,5), NaOCl+antimikrobiyal fotodinamik tedavi uygulanan Gruplar (6,7,8) arasında sayısal olarak farklılık bulunmuştur.

3,4 ve 5. Gruplarla pozitif kontrol grubu arasında da anlamlı farklılık bulunmazken, 6,7,8 ve 9. Gruplarla pozitif kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur.

Grupların kalan bakteri miktarı açısından değerlendirmesi Tablo 4.3 ve Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Kalan bakteri miktarları (Survival rates’ler), her bir deney grubunun CFU değerleriyle pozitif kontrol grubunun CFU değeri oranlanarak hesaplanmıştır.

Tablo 4-3: Kalan bakteri miktarları

Gruplar	Survival rates
1 -TBO	2,96
2-Salin + 30 sn	7,46
3- TBO 30 sn	0,66
4- TBO 60 sn	2,94
5- TBO 120 sn	2,12
6- %5,25 NaOCl+ TBO 30 sn	0,51
7- %5,25 NaOCl+ TBO 60 sn	0,08
8-%5,25 NaOCl+ TBO 120 sn	0,06
9-%5,25 NaOCl 30 sn	0,00

**Şekil 4-2: Kalan bakteri miktarları**

5. TARTIŞMA

Kök kanal tedavisinin amacı, kök kanalındaki pulpa dokusunu, kemomekanik şekillendirme sonucu oluşan debrisleri ve bakterileri uzaklaştırarak pulpal ve periapikal patolojileri tedavi etmektir. Bu amaçla mekanik preparasyonun, yıkama solüsyonları ve kanal içi medikamentlerle birlikte kullanıldığı “kemomekanik şekillendirme” yöntemi uygulanmaktadır. Fakat, kök kanal anatomisindeki değişiklikler ve ulaşılması zor alanlar bu yöntemin her olguda başarılı olmasının önüne geçebilmektedir. Kök kanallarında bulunan isthmuslar, apikal deltanın karmaşık anatomisi, lateral kanallar ve ulaşılması zor alanlarda kalan bakteriler tedavi sonrası başarısızlıklara ve tekrarlayan enfeksiyonlara neden olabilmektedir (Yıldırım ve ark. 2013).

Poggio ve ark.larına göre, endodontik enstrümanlar kök kanalını şekillendirebilir fakat, kök kanalının esas dezenfeksiyonu kullanılan yıkama solüsyonlarına bağlıdır. Torabinejad ve Walton ideal bir endodontik yıkama solüsyonunun özelliklerini şöyle sıralamaktadır: organik ve inorganik dokuları çözebilmeli, antimikrobiyal etkinliği bulunmalı, periapikal dokular üzerinde toksik etki göstermemeli, düşük yüzey gerilimine sahip olmalı, lubrikant özelliği olmalıdır. Günümüzde bu koşulların hepsini sağlayabilen bir yıkama solüsyonu bulunmamaktadır (Poggio ve ark. 2011).

Kök kanallarının yıkanmasında günümüzde en çok kullanılan yıkama solüsyonu sodyum hipoklorittir (NaOCl). Sodyum hipokloritin diğer yıkama solüsyonlarına göre başlıca üstünlükleri; çok iyi bir antimikrobiyal ajan olması, organik dokular üzerine çözücü etki gösterebilmesi, ucuz olması ve kolaylıkla temin edilebilmesi olarak sayılabilir. Bununla birlikte, bu solüsyonun kullanımı esnasında solüsyonun kazara kök kanalından taşarak apikal dokulara temas etmesi ya da kazara yutulması durumunda sağlıklı dokular üzerinde sitotoksik ve nörotoksik etkilerinin bulunması bu solüsyonun en önemli dezavantajı olarak görülmektedir (Yıldırım ve ark. 2013).

Endodonti’de yıkama solüsyonu olarak kullanılan NaOCl’nin konsantrasyonuyla ilgili literatürde çeşitli görüşler bulunmaktadır. NaOCl’nin konsantrasyonu arttıkça antibakteriyel etkinliği ve aynı zamanda sitotoksik etkisi de artmaktadır. Byström ve Sundqvist, NaOCl’nin sitotoksitesini azaltmak için %0,5’lik konsantrasyonlarının kullanılması gerektiğini savunurken, başka araştırmacılar bu konsantrasyonun antibakteriyel etkinlik açısından yetersiz olduğunu düşünmektedir. Radcliffe ve ark.ları,

NaOCl'nin farklı konsantrasyonlarının, farklı mikroorganizmalar üzerindeki etkisini *in vitro* olarak incelemişler ve şu sonuçları bulmuşlardır: *E.faecalis*, NaOCl'ye en çok direnç gösteren mikroorganizmadır ve bu bakterinin öldürülebilmesi için %0,5'lik NaOCl ile 30 dakika, %1'lik NaOCl ile 10 dakika, %2,5'lik NaOCl ile 5 dakika ve %5,25'lik NaOCl ile 2 dakika boyunca temas etmesi gerekmektedir. Gomes ve ark.ları da yapmış oldukları çalışmada benzer sonuçlar elde etmişler ve *E.feacalis*'in öldürülebilmesi için %0,5'lik NaOCl ile 30 dakika temas ettirilmesi gerekirken, %5,25'lik NaOCl ile 30 saniyeden az süre temas ettirilmesinin yeterli olduğunu bulmuşlardır (Byström ve Sudqvist 1983; Gomes ve ark. 2001; Radcliffe ve ark. 2004).

Yapmış olduğumuz çalışma, *in vitro* koşullarda gerçekleştirildiği için, daha az sürede en çok antibakteriyel etkinliği elde edebilmek için %5,25'lik NaOCl solüsyonu 30 sn süreyle kullanılmıştır. Sadece bu şekilde irrigasyon uygulanan deney grubunda (9. Grup), örneklerin tamamında *E.faecalis*'in tamamen elimine edildiği gözlenmiştir (Tablo 5.1). Bu bulgu doğrultusunda, %5,25'lik NaOCl solüsyonunun 30 sn süreyle uygulanması ile kök kanallarındaki *E.faecalis*'in tamamen uzaklaştırılabileceği söylenebilir.

Tablo 5-1: 9.Grup'ta kalan bakteri oranı

Gruplar	Survival rates
9-%5.25 NaOCl 30 sn	0,00

Sodyum hipoklorit, temas ettiği alanlardaki bakteriler üzerinde yüksek antimikrobiyal etkinliğe sahiptir. Fakat az önce de belirtildiği üzere, kök kanallarında bulunan anatomik varyasyonlar bu solüsyonun kök kanalının her bölgesine ulaşabilmesine olanak tanımamaktadır. Kullanılan antimikrobiyal ajanlar, mikroorganizmalarla direk temasa geçtiklerinde etki gösterebilmektedir. Kök kanalındaki enfeksiyon dentin tübüllerinde 1000 µm derinliğe kadar uzanırken, NaOCl solüsyonu dentin tübüllerinde 130 µm derinliğe kadar ulaşabilmektedir. Bu limitasyon, NaOCl'nin mikroorganizmaları tamamen elimine etmesine engel olabilmektedir. Fakat, burada biofilmin olgunlaşma süresi de büyük önem taşımaktadır. Uzun süre olgunlaşan ve kalınlaşan biofilmler dentin tübüllerinin daha derin bölgelerine penetre

olabilmektedirler. Sodyum hipoklorit tek başına kullanıldığında smear tabakasını uzaklaştırmada da yetersiz olduğu için bu penetrasyon çok daha azalabilmektedir. Bu da solüsyonun antibakteriyel etkinliğini düşürebilmektedir (Davis ve ark. 2007; Yıldırım ve ark. 2013).

Kök kanal tedavisi esnasında, yukarıda sayılan durumlardan dolayı meydana gelen tedavi başarısızlıklarının önüne geçilebilmesi için son yıllarda alternatif yöntemler denenmeye başlanmıştır. Bu yöntemlerden biri de Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavi'dir (PDT). PDT; bakteriler, virüsler, mantarlar ve protozoalar gibi birçok mikroorganizma üzerine etkilidir. Yapılan birçok çalışma, PDT'nin endodontide etkili bir dezenfeksiyon yöntemi olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Williams ve ark.ları, PDT'nin planktonik süspansiyonlarda ve kök kanallarında bulunan farklı endodontik patojenler üzerine etkinliğini incelemişler ve PDT'nin endodontik bakterileri istatistiksel olarak anlamlı seviyelerde öldürebildiğini göstermişlerdir. Soukos ve ark.ları da yapmış oldukları çalışmada, kök kanallarındaki *E.faecalis* biofilminin PDT ile %97 oranında elimine edilebildiğini ve PDT'nin standart endodontik tedaviye ek olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir (Williams ve ark. 2005; Soukos ve ark. 2006).

PDT ile ilgili yapılan *in vivo* çalışmalar incelendiğinde, standart kemomekanik şekillendirmeyi takiben yapılan PDT uygulaması, sadece kemomekanik şekillendirme ile kıyaslanmış ve PDT uygulamasının bakteri sayısını azaltmada etkili olduğu bulunmuştur. Garcez ve ark.ları yapmış oldukları *in vivo* çalışmada, 1 haftalık kalsiyum hidroksit uygulamasını takiben yapılan PDT'nin bakteri sayısını anlamlı olarak azalttığını bulmuşlardır. Bu bulgular, PDT'nin endodontik enfeksiyon kontrolünde destekleyici bir yöntem olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Garcez ve ark. 2008; Trindade ve ark. 2014).

Garcez ve ark.ları, antibiyotiğe dirençli mikrofloraya sahip kök kanal enfeksiyonu görülen hastalarda yaptıkları çalışmada, kemomekanik şekillendirmenin bakteri sayısında anlamlı düşüşe neden olduğunu fakat her hastada tam olarak bakteri eliminasyonu sağlanamadığını belirtmişlerdir. Bunun aksine, kemomekanik şekillendirmenin PDT ile desteklendiği hastalarda tüm ilaca dirençli suşların elimine edildiğini görmüşlerdir (Garcez ve ark. 2010).

Hoedke ve ark.ları ise yapmış oldukları *ex vivo* çalışmada, PDT'nin tek başına kök kanal dezenfeksiyonunda kullanılabilecek kadar etkili bir yöntem olmadığını, diğer antimikrobiyal yıkama solüsyonlarıyla birlikte kullanıldığında kök kanal dezenfeksiyonuna katkı sağlayabileceğini belirtmişlerdir (Hoedke ve ark. 2018).

PDT için ilk olarak kullanılan ışık cihazı lazerlerdir. Kullanılan lazer cihazlarının çoğunda antibakteriyel etki doz bağımlı ısı üretimi sonucu gerçekleşmektedir. Lazer ışığının spesifik özellikleri ve kök kanal anatomisinin erişilmesi zor alanlarına ulaşabilmesi fikri, lazerlerin kök kanal dezenfeksiyonunda kullanımına olan ilgiyi arttırmıştır. Bu amaçla yüksek enerjili lazerlerin ve düşük enerjili lazerlerin fotosensitizör bir maddeyle kombine kullanımı önerilmiştir. Lazerlerin antimikrobiyal etkisi, hedef hücrede meydana getirdiği fototermal reaksiyonlara ve hedef hücrenin absorbe edebildiği dalga boyuna uygun ışık üretimine bağlıdır (Meire ve ark. 2012).

Lazerlerin kök kanalı içerisinde kullanılması bir takım metodolojik problemler göstermektedir. Lazer sistemlerinin çoğu kök kanalı duvarlarına uniform bir şekilde temas edebilecek bir ışık üretimini garanti edemezler. Bu cihazlar düzgün kullanılmadığında ısı artışına bağlı olarak dentin ve sement harabiyeti, ankiloz, kök rezorpsiyonu ve doku nekrozu gibi komplikasyonlar görülebilmektedir. Ayrıca, bu cihazlar uygulaması teknik hassasiyet gerektiren pahalı cihazlardır (Meire ve ark. 2012).

Son yıllarda PDT için alternatif olarak geliştirilen LED ışık cihazları piyasaya sürülmüştür. LED cihazları lazerlerle kıyaslandığında; boyut ve ağırlıklarının daha düşük olması, kolay taşınabilir olması, uygulamasının kolay olması, daha ucuz olması ve ısıya bağlı hasar riski bulunmaması gibi birçok avantajı vardır. PDT'nin diğer avantajları; anında sonuç vermesi, seçici olması, kompleks anatomik zorluklara erişebilmesi, bağışıklık sistemi düşük sistemik sağlık problemi olan hastalarda bakteriyemi riskini azaltması ve düşük toksisite göstermesi olarak sayılabilir (Yıldırım ve ark. 2013; Asnaashari, Mojahedi ve ark. 2016).

Asnaashari ve ark. larının çekilmiş insan dişleri üzerinde yapmış oldukları çalışmada, 630 nm dalga boyunda ışık üreten LED ışık cihazının (Fotosan 630 LAD Pen LED), 810 nm lazer cihazına göre *E.faecalis* üzerinde daha etkili olduğu bulunmuştur (Asnaashari, Mojahedi ve ark. 2016).

Trindade ve ark.ları ise kullanılan ışık kaynağı türünün antimikrobiyal etkinlik üzerinde etkisi bulunmadığını, PDT için bu etkiyi sağlayan esas unsurun ışık kaynağının ürettiği ışığın dalga boyu olduğunu bildirmişlerdir (Trindade ve ark. 2014).

Bu çalışmada da PDT için ışık cihazı olarak Fotosan 630 LAD Pen LED (CMS Dental, Kopenhag, Danimarka) cihazı kullanılmıştır. Fotosan, PDT uygulamasında kullanılmak üzere piyasaya sürülen en yeni cihazlardan biridir, bu yüzden bu cihazla ilgili yapılan çalışma sayısı sınırlıdır. Schlafer ve ark.ları, planktonik süspansiyonlardaki endodontik patojenler üzerinde Fotosan ile yapılan PDT'nin etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında, 30 sn PDT uygulamasının planktonik süspansiyonlarda anlamlı bakteri azalması sağladığını bulmuşlardır (Schlafer ve ark. 2010).

Çeşitli dezenfeksiyon yöntemlerinin antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirildiği çalışmalar genellikle *in vivo* ya da *in vitro* olarak yapılmaktadır. *In vivo* çalışmalar, canlı doku üzerinde gerçekleştirilen çalışmalardır. Endodonti alanındaki çalışmalarda, kök kanal tedavisi esnasında kök kanalından alınan mikrobiyolojik örnekler kullanılarak *in vivo* çalışmalar gerçekleştirilmektedir.

In vitro çalışmalar ise laboratuvar ortamında ve yapay koşullarda yapılan çalışmalardır. Bu amaçla, çekilmiş insan ve hayvan dişleri, direkt kontakt testi ve agar difüzyon testi gibi yöntemler kullanılmaktadır. Direkt kontakt testi ve agar difüzyon testi gibi tamamen yapay koşullarda gerçekleştirilen deneylerde standardizasyon sağlanması oldukça kolaydır. Fakat, bu ortamlar canlı dokuları taklit etmekte oldukça yetersiz kaldıkları için eleştirilmektedirler. İnsan veya hayvanlardan elde edilen çekilmiş dişlerin kullanıldığı çalışmalarda ise mikrobiyal ortam laboratuvarda hazırlanmakta ve belli bakteri suşları kullanılmaktadır. Yapmış olduğumuz çalışmada bakteri suşu olarak *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 hazır bakteri suşu kullanılmıştır. Bu tarz çalışmalarda standardizasyonun daha kolay sağlanabilmesi için en çok tercih edilen dişler, tek kök ve tek kanallı insan dişleridir (Davis ve ark. 2007).

Bu çalışmada, tek kök ve tek kanallı, kök kanalında aşırı eğim, kalsifikasyon ya da rezorpsiyon bulunmayan insan dişleri kullanılmıştır. Çalışmada kullanılacak dişler, seçim kriterlerine bağlı olarak seçilse de dişlerde standardizasyon sağlanması oldukça güçtür. Örneklerde birbirlerinden farklı olarak, apikal dallanmalar, yan kanallar, istmustlar ve düşük derecelerde de olsa kök kanal açıları ve eğimleri, kök kanalı

boyunca değişen oranlarda genişlemeler ve daralmalar görülebilmektedir. Bu tarz anatomik farklılıklar örnekler arasında farklılıklar oluşmasına neden olmakta ve deney sonuçlarını etkileyebilmektedir.

Bazı çalışmalarda insan dişlerini taklit eden akrilik bloklar ya da diş modelleri kullanılarak bu standardizasyon sorununun önüne geçilmesine çalışılmıştır. Fakat mikrobiyolojik çalışmalarda, dentin tübülleri ve istmuslar gibi canlı dokuya ait yapıların büyük önem taşıması bu yapay ortamların kullanılmasında dezavantaj oluşturmaktadır. Bu bağlamda, dentin tübülleri gibi anatomik yapılanmaları taklit edebilecek yapay ortamların oluşturulmasında yenilikçi çalışmalar yapılmasına ihtiyaç vardır (Davis ve ark. 2007).

Bu çalışmada, örnekler arasında standardizasyonun sağlanabilmesi için örneklerin hepsi aynı şekillendirme ve yıkama protokolüne tabi tutulmuştur. Örnekler, kök uzunlukları 12 mm olacak şekilde elmas fissür frez yardımıyla kesilerek koronal kısımlar uzaklaştırılmıştır. Örneklerin şekillendirilmesinde K ve H tipi el eğeleri ve Gates Glidden frezlerden yararlanılmıştır. Bu çalışmada, yapılan diğer birçok çalışmada olduğu üzere standardizasyonun sağlanabilmesi için apikal genişlik ISO 40 numara el eğesine kadar şekillendirilmiştir. Bu genişlik, çalışmada kullanmış olduğumuz ışık cihazının endodontik ucunun kök kanalında yeterli uzunluğa kadar ulaşabilmesine olanak tanımaktadır . Peeters ve De Moor, kök kanalında etkili bir irrigasyonun sağlanabilmesi ve kemomekanik şekillendirme sonucu açığa çıkan debrisin etkili bir şekilde uzaklaştırılabilmesi için apikal genişliğin en az ISO 30 ya da 40 numara yapılmasını önermişlerdir (Peeters ve De Moor 2015).

Yıkama protokolü olarak, her alet değişiminde kök kanalı 30 gauge yandan delikli endodontik irrigasyon iğnesi yardımıyla 2 ml %5,25'lik NaOCl (Chlorax, Amelit, Kiev, Ukrayna) ile yıkanmıştır. Şekillendirmeyi takiben, son yıkama prosedürü olarak 5 ml %5,25'lik NaOCl, ardından smear tabakasını uzaklaştırmak için 1 dk boyunca 5 ml %17'lik EDTA (Wizard), ardından tekrar 5 ml NaOCl ve son olarak da 5 ml steril serum fizyolojik kullanılmıştır.

Bonsor ve ark.ları yapmış oldukları çalışmada, iki farklı protokol uygulayarak, şelasyon ajanı ile irrigasyon yapılmasının PDT'nin etkinliği üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Birinci grupta örnekler, şelasyon ajanıyla irrigasyon yapılarak ön koronal şekillendirme yapıldıktan sonra NaOCl ile standart kemomekanik şekillendirme

uygulanmış ve sonrasında PDT uygulanmıştır. İkinci grupta ise, şelasyon ajanıyla irrigasyon yapılmadan standart kemomekanik şekillendirmeyi takiben PDT uygulanmıştır. Şelasyon ajanı uygulanan grupta bakteri azalması anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur. Bu durum, PDT uygulaması öncesi herhangi bir şelasyon ajanıyla dentin tübüllerinin açığa çıkarılmasının ve biofilmin rahatsız edilmesinin, PDT uygulamasının başarısını arttırabileceğini göstermektedir. Yapmış olduğumuz çalışmada da, bütün örnekler standart kemomekanik şekillendirme esnasında %17'lik EDTA solüsyonuyla 1 dk boyunca irriga edilmiştir (Bonsor ve ark. 2006b).

Yapmış olduğumuz çalışmada, standart olarak kemomekanik şekillendirilmesi tamamlanan kök kanallarının apikal açıklıkları ışıkla sertleşen akışkan cam iyonomer (Glass Liner, WP Dental, Barmstedt, Almanya) ile kapatılmıştır. Literatürde birçok araştırmacı, laboratuvar ortamında mikropipetler ile kök kanallarına yerleştirilen bakteri süspansiyonlarının apikalden sızması ya da apikal açıklık dolayısıyla kök kanallarının kontamine olmasını önlemek için apikal açıklığın kapatılması gerektiğini bildirmişlerdir (Cheng ve ark. 2012; Nakamura ve ark. 2013).

Çalışmamızda, bakteri suşu olarak *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 hazır bakteri suşu kullanılmıştır. *E.faecalis*, fakültatif anaerob, gram-pozitif bir bakteridir. Oral kavite mikrobiyotasının en dirençli suşlarından biri olarak bilinen, enfekte kök kanallarından izole edilebilen ve sıklıkla tedavi sonrası görülen başarısızlıklardan sorumlu tutulan bir bakteri türüdür. *E.faecalis*, dentin tübüllerinin derinliklerine penetre olabilmekte ve diğer bakteri türlerine ihtiyaç duymadan kök kanalında inatçı enfeksiyonlara sebep olabilmektedir. Bu bakteri, kök kanalı içerisinde biofilm oluşturmakta ve NaOCl, klorheksidin, kalsiyum hidroksit ve birçok antibiyotik türüne direnç göstererek zorlu koşullar altında hayatta kalabilmektedir (Meire ve ark. 2012; Yıldırım ve ark. 2013).

Literatürde, PDT'nin gram-pozitif ve gram-negatif bakteriler ve mantarlar üzerinde farklı etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda, *S.aureus* ve *E.faecalis* gibi gram-pozitif bakterilerin PDT'ye daha hassas oldukları gösterilmiştir. *P.aeruginosa* gibi gram-negatif bakteriler ve *C.albicans* gibi mantarlar ise PDT'ye daha dirençli olarak bulunmuşlardır. Bu durum, gram-pozitif bakterinin dış membranının gram-negatif bakterilere göre daha poröz bir yapıda olması dolayısıyla fotosensitizör maddeleri daha fazla difüze edebilmesiyle açıklanabilmektedir. Mantarlar

ise, sahip oldukları hücre duvarı nedeniyle en dirençli olan mikroorganizmalardır (Trindade ve ark. 2014).

Daha önce yapılan çalışmalar, biofilm yapısı içerisinde organize olmuş mikroorganizmaların, planktonik bakteri suşlarına göre PDT'ye daha dirençli olduklarını göstermektedir. Bu durum; biofilmin heterojenik yapısı, gen ekspresyonundaki değişimler ve antimikrobiyal ajanların ekstrasellüler matriks yapısından sınırlı derecede penetre olabilmesi gibi faktörlere bağlanmaktadır. Pereira ve ark.ları yapmış oldukları çalışmada, *C.albicans*, *S.aureus* ve *S.mutans* biofilmlerinin PDT'ye olan hassasiyetlerini SEM analizleri ile gözlemlemişler ve çıkan sonuçlar doğrultusunda PDT'nin baskın olarak biofilmin en dış tabakasında etkili olabildiğini bulmuşlardır. Bergmans ve ark.ları da birden çok bakteri türüyle yapmış oldukları çalışmada, mikroorganizmaların tek tek hücreler halinde ya da tek tabaka şeklinde bulundukları durumlarda PDT ile çok kolay elimine edilebildiğini, fakat biofilm yapısı içerisinde organize olduklarında derin tabakalarda mikroorganizma eliminasyonun çok düşük olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu durum, fotosensitizör maddelerin mikrobiyal biofilmlerin alt katmanlarına yeterli düzeyde penetre olamayabildiğini göstermektedir (Bergmans ve ark. 2008; Pereira ve ark. 2011; de Oliveira ve ark. 2015). Yapılan çalışmalar, *C.albicans* hariç tüm mikroorganizmaların belirli oranlarda PDT'ye duyarlı olduklarını göstermektedir. Ortamda bulunan biyolojik maddeler ve doku inhibitörleri PDT'nin başarısı üzerinde oldukça etkili olabilmektedir. Bu bağlamda, olgunlaşmış biofilmlerin çok daha dirençli olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Trindade ve ark. 2014).

Önceki çalışmalar incelendiğinde, biofilm oluşumu için geçmesi gereken zamanla ilgili olarak literatürde bir fikir birliğine varılamamıştır. Gergova ve ark.ları 48 saat, de Oliveira ve ark.ları ile Schiffner ve ark.ları 72 saat, Yıldırım ve ark.ları ile Nunes ve ark.ları 21 gün, Rios ve ark.ları 2 hafta, Kasić ve ark.ları, Xhevdet ve ark.ları ile Prazmo ve ark.ları 7 günlük inkübasyon süreleri kullanmışlardır (Nunes ve ark. 2011; Rios ve ark. 2011; Hecker ve ark. 2012; Yıldırım ve ark. 2013; Schiffner ve ark. 2014; Xhevdet ve ark. 2014; Gergova ve ark. 2015; de Oliveira ve ark. 2015; Kasić ve ark. 2017; Prazma ve ark. 2017). Son zamanlarda, 48 saatlik inkübasyon periyotlarının kullanıldığı çalışmalar da yapılmaya başlanmıştır. Fakat, 3 hafta ya da daha uzun süre olgunlaşmış biofilmlerdeki mikroorganizmaların, 2 hafta ya da daha az süre olgunlaşmış

biofilmlerdeki mikroorganizmalara göre PDT'ye daha fazla dirençli olduğu belirtilmiştir (de Oliveira ve ark. 2015; Kasić ve ark. 2017).

Bu çalışmada, örnekler *E.faecalis* ATCC 29212 bakteri suşu ile enfekte edildikten sonra 37°C'de 7 gün boyunca nemli ve aerob koşullarda inkübe edilmiştir. 2., 4. ve 6. günlerde geçici dolgu materyali uzaklaştırılarak kök kanallarına taze TSB besiyeri eklenmiştir. Kök kanallarında oluşan biofilm varlığı yapmış olduğumuz çalışmada SEM görüntüleri ile gösterilmiştir.

Meire ve ark.ları 24 saatlik *E.faecalis* suşu kullanarak yaptıkları çalışmada lazerle yapılan PDT'yi NaOCl'ye kıyasla etkisiz olarak bulmuşlardır. Benzer şekilde, de Oliveira ve ark.ları da 72 saatlik *E.faecalis* suşu kullanarak yaptıkları çalışmada 660 nm diode lazerle yapılan PDT'yi, NaOCl irrigasyonu ve PDT'nin kombine olarak kullanıldığı gruba göre etkisiz olarak bulmuşlardır. Nunes ve ark.ları da 21 günlük *E.faecalis* suşu kullanarak yaptıkları çalışmada NaOCl'yi PDT'ten daha etkili bulmuşlardır. Bunun aksine, Asnaashari ve ark.ları 2 haftalık *E.faecalis* suşu kullanarak yaptıkları çalışmada PDT uygulamasını etkili bir dezenfeksiyon yöntemi olarak bulmuşlardır (Nunes ve ark. 2011; Meire ve ark. 2012; de Oliveira ve ark. 2015; Asnaashari, Mojahedi ve ark. 2016).

Yapmış olduğumuz çalışmada ise, 1 hafta olgunlaşan *E.faecalis* biofilmi içeren gruplar arasında, sadece PDT uygulanan gruplarla (3,4,5. Gruplar) pozitif kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken, NaOCl uygulanan grupta (9. Grup) tüm örneklerde *E.faecalis*'in tamamen uzaklaştırıldığı gözlenmiştir. Çalışmalar arasında görülen bu farklılıklar; kullanılan ışık kaynaklarının farklılığına, kullanılan fotosensitizör maddenin türüne ve konsantrasyonuna, fotosensitizör maddenin kök kanalına uygulanma süresine, ışık cihazının uygulanma süresine, mikrobiyolojik örneklerin değerlendirilme metoduna ve çalışmaların materyal ve metotlarının farklı olarak kurgulanmasından kaynaklanabilir.

Mikrobiyolojik örneklerin kök kanalından toplanmasında değişik yöntemler kullanılabilir. En sık tercih edilen yöntemler paper point kullanımı ve kök kanal duvarından dentin talaşlarının toplanmasıdır. Paper point yönteminin diğer yöntemlere göre avantajı, hem *in vitro* hem de *in vivo* çalışmalarda kullanılabilmesidir. Bu yöntemin dezavantajı ise, sadece kök kanal duvarının yüzeyindeki bakterilerin toplanabilmesidir. Dentin tübüllerine penetre olan bakteriler ise toplanamamaktadır (de

Oliviera ve ark. 2015). Orstavik ve Haapasalo, paper pointler ile alınan bakteri kültürlerinin doğru sonuçları gösterebilmesi için dentin talaşlarını da içermesi gerektiğini belirtmişlerdir (Orstavik ve Haapasalo 1990).

Bu çalışmada da, kök kanallarından mikrobiyolojik örneklerin toplanmasında steril paper pointler kullanılmıştır. Örnek alınacak olan kök kanalı duvarı önce ISO 30 numara H tipi el eğesi ile kazınarak dentin tübüllerinin açığa çıkması sağlanmış ve dentin tübüllerine penetre olan bakterilerin de izole edilebilmesi sağlanmıştır. Ardından ISO 30 numara steril paper point kök kanalına yerleştirilerek 20 sn beklenmiş ve ardından paper point kanaldan çıkarılarak içerisinde taşıma sıvısı bulunan ependorf tüplerine yerleştirilmiştir.

Paper point yönteminin bir diğer dezavantajı, kök kanalında varolan durumu tam olarak yansıtamamasıdır. Konvansiyonel kültür metotları, deney uygulaması öncesinde kök kanalında kalan cansız mikrobiyal hücreleri tespit edememektedir, sadece canlı olan mikroorganizmalarla ilgi bilgi verebilmektedir. PCR ve FISH (rRNA 16) gibi biyomoleküler teknikler, mikroorganizmaları tespit etmekte daha hassas oldukları için kök kanalında varolan dirençli türlerin tespitinde kullanılabilmektedir (de Oliveira ve ark. 2015).

Çalışmamızda, steril paper pointlerle kök kanallarından alınan mikrobiyolojik örnekler 10 kat sulandırılmaları yapılarak besiyerlerine ekilmiş ve oluşan koloniler sayılarak CFU cinsinden hesaplanmıştır. Bu yöntemin dezavantajları, üreyen kolonilerin sayıca fazla olması durumunda sayılmalarının zorluğu, uzun süre alması ve işlemi gerçekleştiren kişinin göz yorgunluğuna bağlı olarak standardizasyonun olumsuz etkilenebilmesidir. Diğer yandan, bu yöntem ucuz olması, kolay ulaşılabilir malzemelerle yapılabilmesi ve bilimsel olarak kabul edilebilir sonuçlar vermesi açısından bu çalışmada kullanılmak üzere seçilmiştir.

Çalışmamızda, ışık uygulaması esnasında 0,03 taper'a sahip, 0,5 mm çapında ve çalışma boyu uzunluğunun 3 mm gerisine kadar uzanabilen özel endodontik uygulama uçları kullanılmıştır. Garcez ve ark.ları optik uç kullanımının PDT uygulaması üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışma yapmışlardır. Araştırmacılar, çalışmada kullanılan dişlerin bir kısmının kuron kısımlarını keserek uzaklaştırmışlar, bir kısmının ise kuron kısımlarına dokunmamışlardır. Yapılan uygulama sonrasında kuron kısımları bulunan dişlerde optik fiber kullanımının kök kanalı boyunca ışığın uniform şeklinde

dağılmasına olanak sağladığını ve PDT'nin etkisini arttırdığını, fakat kuron kısımları uzaklaştırılan dişlerde anlamlı bir farklılık yaratmadığını belirtmişlerdir (Garcez ve ark. 2013). Benzer şekilde Nunes ve ark.ları da, fiber optik uç kullanımının PDT üzerindeki etkisini kuron kısımları kesilerek uzaklaştırılmış olan dişlerde incelemişler ve gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulamamışlardır (Nunes ve ark. 2011). Bu bulgular, klinik koşullar altında kanal içi optik uç kullanımının pulpa odası içerisine yerleştirilen ışık kaynağının kök kanalı boyunca daha etkili bir şekilde yayılmasını sağlayabileceğini, fakat kuron kısımları bulunmayan dişlerde anlamlı bir farklılığa neden olmayabileceğini göstermektedir (Trindade ve ark. 2014).

Ghinzelli ve ark.ları yapmış oldukları çalışmada, ultrasonik cihaz kullanımının PDT üzerindeki etkisini incelemişler ve ultrasonik kullanımıyla yapılan PDT'nin daha fazla oranda *E.faecalis* eliminasyonu sağladığını ortaya koymuşlardır (Ghinzelli ve ark. 2014). Benzer şekilde, Ng ve ark.ları da MB'nin ultrasonik bir cihazla aktive edilerek dentin tübüllerine penetrasyonunun arttırılmasının kök kanal dezenfeksiyonunu geliştirebileceğini savunmuşlardır (Ng ve ark. 2011). Bu çalışmada, kullanılan fotosensitizör maddeyi kök kanalı içerisinde aktive etmek için herhangi bir yöntem kullanılmamıştır. Bu durum, yapmış olduğumuz çalışmanın sonuçları doğrultusunda, PDT uygulamasının NaOCl kullanımına göre *E.faecalis* üzerine daha etkisiz çıkmasında rol oynamış olabilir.

Çalışmamızda, *E.faecalis*'in eliminasyonunda PDT'nin tek başına kullanıldığı gruplarda (3,4,5. Gruplar) anlamlı bir farklılık gözlenmezken, %5,25'lik NaOCl irrigasyonunu takiben PDT uygulanan gruplarda pozitif kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. Bu sonuç, Oliviera ve ark.larının, Meire ve ark.larının ve Poggio ve ark.larının yapmış oldukları çalışmaların sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Bu durum, bakteriler üzerinde esas etki gösteren dezenfeksiyon yönteminin NaOCl irrigasyonu olduğunu düşündürmektedir (Poggio ve ark. 2011; Meire ve ark. 2012; de Oliviera ve ark. 2015).

Çalışmamızda, sadece PDT uygulanan deney gruplarında mikrobiyal eliminasyonun tam olarak sağlanamamasında PDT uygulamasına ilişkin çeşitli faktörlerden söz edilebilir. Bunlar; fotosensitizör maddenin türü ve konsantrasyonu, ışık uygulaması öncesi fotosensitizör maddenin kök kanalı içerisinde bekletilme süresi, ışık kaynağının dalga boyu, fotosensitizör maddenin absorpsiyon aralığı, ışığın yoğunluğu

ve gücü, ışıklama süresi ve kök kanallarında görölen anatomik farklılıklar olarak sayılabilir.

Literatürde, birçok farklı fotosensitizör madde incelenmiş ve en etkili grubun %0,0125-%0,01 konsantrasyonlardaki fenotiyazinler grubu fotosensitizörler (TBO ya da MB) olduğu gösterilmiştir. TBO ve MB ile yapılan çalışmalar kıyaslandığında bu iki maddenin birbiri üzerinde anlamlı bir üstünlüğu bulunmadığu bildirilmektedir. Trindade ve ark.ları PDT ile ilgili yapılan çalışmalarda en sık kullanılan fotosensitizör maddelerin fenotiyazinler olduğuunu belirtmişlerdir (Trindade ve ark. 2014).

Yapılan alışmalar, PDT için kullanılan fotosensitizör maddelerin konak dokularına karşı toksik etki göstermediğini ileri sürmektedir. Xu ve ark.ları, PDT'nin memeli hücrelerindeki mitokondriyal aktivite ve apoptozis üzerindeki etkisini incelemişler ve PDT'nin konak hücrelerinde değişikliğe neden olmadan endodontik patojenleri inhibe edebildiklerini belirtmişlerdir. Kashef ve ark.ları da, insan primer fibroblast hücreleri üzerinde PDT'nin sitotoksitesini araştırmışlar ve MB ve TBO ile yapılan PDT'nin bu hücrelerde belirgin bir toksik etkiye sahip olmadığını göstermişlerdir (Xu ve ark. 2009; Kashef ve ark. 2012). Yapılan alışmalar, fotosensitizör maddenin sahip olduğu katyonik yük sayesinde bakteri hücrelerine hızlıca bağlandığını ve penetre olduğuunu, mikroorganizmalara karşı göstermiş olduğu bu seçicilik sayesinde de konak memeli hücrelerine karşı etkisizleştiğini göstermektedir (Asnaashari, Mojahedi ve ark. 2016).

Yapmış olduğumuz çalışmada, ışık uygulaması yapılmaksızın 30 sn süreyle sadece TBO uygulanan grupta (1. Grup) TBO'nun 60 sn ve 120 sn ışıkla aktive edildiği gruplar (4. ve 5. Gruplar) arasında sağ kalan bakteri oranları açısından sayısal olarak çok fazla farklılık bulunmamaktadır, fakat bu veriler istatistiksel olarak anlamlı değildir. Benzer olarak, sadece steril salin ve ışık uygulanan grupta (2. Grup) ve pozitif kontrol grubuyla kıyaslandığında, sadece TBO uygulanan grupta (1. Grup) sayısal olarak daha fazla bakteri öldüğu görölmektedir, fakat bu sonuçlar da istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bununla birlikte, sadece TBO uygulanan grupta (1. Grup) sağ kalan bakteri oranı, sadece NaOCl uygulanan gruptaki (9. Grup) sağ kalan bakteri oranından istatistiksel olarak daha fazla bulunmuştur. Her ne kadar, NaOCl ile kıyaslandığında sadece TBO uygulaması bu çalışmanın sonuçlarına göre istatistiksel olarak anlamsız bulunmuş olsa da, yukarıda bahsedilen durumlar göz önünde bulundurularak TBO'nun

bir irrigasyon ajanı olarak tek başına mikroorganizmalar üzerindeki toksik etkisini değerlendirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu görülmektedir.

Meire ve ark.ları farklı fotosensitizör madde ve farklı lazerler kullanarak PDT'nin etkinliğini inceledikleri çalışmada, PDT'nin NaOCl'nin farklı konsantrasyonlardaki kullanımlarına göre etkisiz olduğunu, MB kullanılarak yapılan PDT'nin ise TBO kullanılarak yapılan PDT'ye göre daha etkili olduğunu bulmuşlardır. TBO'nun daha az etkili bulunması, kök kanalı içerisinde daha az süre bekletilmesi, daha düşük konsantrasyona sahip olması ve farklı güçte bir lazer cihazıyla daha az süre ışığa tabi tutulmuş olmasıyla açıklanabilir. Souza ve ark.ları da yapmış oldukları çalışmada, MB ve TBO ile yapılan PDT'nin antimikrobiyal etkisini incelemişler ve her ikisinin de kök kanalı dezenfeksiyonunda etkisiz olduğunu bulmuşlardır (Souza ve ark. 2010, Meire ve ark. 2012). Bu çalışmalardan elde edilen bulgular bizim çalışmamızla da benzerlik göstermektedir.

Yapılan bir çalışmada, fotosensitizör maddenin (MB), dentin tübüllerinin derinliklerine penetre olabildiği ve burada ışıkla aktive olabildiği mikroskopik çalışmalarla gösterilmiştir. Yani, fotosensitizör madde uygulanan ışıkla direk temasa geçmeden de aktive olarak dezenfeksiyon sağlayabilmektedir. Nunes ve ark.ları yapmış oldukları çalışmada, MB'nin dentin tübüllerine infiltrasyonunu ışık mikroskobu ve konfokal taramalı lazer mikroskobu kullanarak göstermişlerdir. Bu bulguya bağlı olarak Nunes ve ark.ları, dentin tübüllerine penetre olan MB'nin kanal içine uygulanan ışıkla direkt olarak temas etmeden de aktive olabildiğini ve serbest oksijen radikalleri üretebildiğini savunmaktadırlar. Fakat bu durumun gerçekleşebilmesi için fotosensitizör maddenin bu alanlara yeterli seviyede ulaşabilmesi gerekmektedir. Bu amaçla, PDT uygulamasının etkisini arttırmak için sonik ya da ultrasonik cihazlar kullanılarak fotosensitizör maddenin bu alanlara erişebilmesi sağlanabilir (Nunes ve ark. 2011; Yıldırım ve ark. 2013).

Literatürde değişik konsantrasyonlarda fotosensitizör maddenin kullanıldığı çalışmalar mevcuttur. Yapmış olduğumuz çalışmada, fotosensitizör madde olarak, kullanmış olduğumuz ışık cihazının kendi fotosensitif maddesi olan Toluidine Blue (TBO) Agent Low (düşük viskozitede, 0,1 mg/ml konsantrasyon) kullanılmıştır. TBO ve MB gibi fotosensitizör ajanlar yüksek oranda boyama özelliğine sahiptir. Bu ajanların yüksek konsantrasyonlarda kullanımı diş üzerinde kalıcı boyanmalara sebep

olabilmektedir, bu yüzden daha düşük konsantrasyonlar tercih edilmektedir (de Oliveira ve ark. 2015).

Fotosensitizör maddenin kök kanalına uygulanmasıyla ışıkla aktive edilmesi arasında geçen süre pre-irradiation time (PIT/ışınlanma öncesi geçen zaman) olarak bilinmektedir. Bu süre, fotosensitizör maddenin ışıkla aktive olmadan önce hedef hücre tarafından alınması açısından büyük önem taşımaktadır. Bu süre içerisinde fotosensitizör madde hedef hücreye bağlanabilir ya da hücre membranına transloke olabilmektedir. Wainwright'a göre, hedef hücre tarafından yavaşça alınan fotosensitizör madde sadece hücre duvarında foto-hasara neden olabilmektedir. Bunun aksine, daha uzun süreli uygulamalarda nükleik asit zincirinin kırılması sağlanabilmektedir (Wainwright ve ark. 1998).

Trindade ve ark.larına göre en çok tercih edilen PIT süresi 1-5 dk arasındadır. Bu süre, kullanılan fotosensitizör maddenin türüne, konsantrasyonuna, miktarına ve kullanılan sisteme göre değişiklik gösterebilmektedir. Yapmış olduğumuz çalışmada Fotosan ve TBO ile yapılan diğer çalışmalarla benzer olarak 30 sn PIT süresi uygulanmıştır. Bu süre Fotosan cihazının uygulama kılavuzunda belirtilen süredir (Poggio ve ark. 2011; Rios ve ark. 2011; Trindade ve ark. 2014).

Işık uygulama süreleri incelendiğinde, literatürde birçok farklı uygulama süresiyle karşılaşılmaktadır. Bu süreler; kullanılan fotosensitizör maddeye, test edilen mikroorganizma türüne ve kullanılan ışık kaynağı sistemine göre değişkenlik göstermektedir. Işık uygulama süreleri 30 sn'den 10 dakikaya kadar değişen aralıklarda görülmektedir. Işık cihazı olarak lazerlerin kullanıldığı PDT çalışmalarında en sık kullanılan süreler; 2 dk, 3dk ve 5 dk olarak bildirilmiştir. Uygulama süresinin artması enerji dozunu da arttırdığından PDT'nin antimikrobiyal etkisine katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Bunun aksine, uygulama süresinin kısalması fotosensitizör maddenin kök kanalında daha az süreyle kalmasını sağlar ve dişin boyanma riskini düşürür, tedavi süresini kısaltarak hasta ve hekim konforu sağlar, enerji kaybı ve kontaminasyon riskini azaltır ve özellikle lazer uygulamalarında ısı artışına bağlı termal hasar riskini önler (Nunes ve ark. 2011).

Çalışmamızda, yukarıda sayılan parametreler sabit tutularak sadece ışık uygulama süresi değiştirilmiştir. Sadece PDT ile PDT ve NaOCl irrigasyonun kombine kullanıldığı deney gruplarında ışık uygulama süresinin arttırılmasının, sadece NaOCl

irrigasyonunun kullanıldığı grupla ve pozitif kontrol grubuyla bakteri yoğunluğu açısından herhangi bir farklılığa sebep olup olmadığı ve ışık uygulama süresinin arttırılmasının PDT uygulamasında herhangi bir avantaj ya da dezavantaj oluşturup oluşturmadığı araştırılmıştır.

Bu çalışmada ışık uygulama süresi olarak 30 sn, 60 sn ve 120 sn'lik süreler seçilmiştir. 30 sn'lik uygulama süresi kullanmış olduğumuz Fotosan cihazının kullanım kılavuzunda belirtilen süredir. Yine bu kılavuzda, bu sürenin istenilen durumlarda arttırılarak daha etkili sonuçlar elde edilebileceği belirtilmiştir. Bu amaçla süre uygulaması iki kat arttırılarak 60 ve 120 sn'lik uygulamalar da yapılmıştır.

30, 60 ve 120 sn PDT uygulanan grupların (3,4,5. Gruplar) kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Aynı şekilde NaOCl ve PDT uygulamasının kombine olarak yapıldığı gruplarda (6,7,8. Gruplar) da farklı ışık uygulama süreleri (30 sn, 60 sn, 120 sn) arasında anlamlı olarak bir farklılık bulunmamıştır. Bakteri sağ kalım oranları incelendiğinde sadece PDT uygulanan gruplarda en az bakteri görülen grup 30 sn ışık uygulanan gruptur (3. Grup). Fakat bu değer, 60 ve 120 sn'lik gruplarla (4. ve 5. Grup) anlamlı bir farklılık göstermemektedir. Çalışmamızla benzer olarak, Yıldırım ve ark.ları da ışık uygulama süresinin değiştirilmesinin bakteri eliminasyonunda anlamlı bir farka neden olmadığını bildirmişlerdir. Nunes ve ark.ları da benzer olarak, MB ve 660 nm diode lazerle PDT uyguladıkları çalışmada, 90 ve 180 sn ışık uygulaması sonucu bakteri eliminasyonu açısından benzer sonuçlar elde etmişlerdir (Nunes ve ark. 2011; Yıldırım ve ark. 2013).

Yapmış olduğumuz çalışmada, sadece PDT uygulanan gruplarda (3,4,5. Gruplar) istatistiksel olarak anlamlı şekilde bakteri azalmasının sağlanamaması çeşitli şekillerde açıklanabilir. Bu durum, ortamdaki oksijen varlığının sınırlı olmasıyla ve kullanılan fotosensitizör ajanın türüyle ilişkilendirilebilir. Foschi ve ark.ları, PDT ile yapılan dezenfeksiyon işleminde ışık uygulamasının ortamdaki oksijenin tüketilmesine neden olduğunu ve dentin tübülleri içerisindeki sınırlı oksijen kaynağının da fotokimyasal reaksiyonlar sonucu oluşan reperfüzyondan daha yüksek oranda oksijen tüketimi sonucu azaldığını belirtmişlerdir. Zijp ve Bosch, dentin tübüllerindeki ve kök kanalındaki ulaşılması zor anatomik zorluklardaki oksijen konsantrasyonun kök kanalının diğer bölgelerine oranla daha az olduğunu ve bu alanlarda oksijenden PDT ile elde edilen serbest oksijen radikallerinin sınırlı olduğunu belirtmişlerdir. Bu bağlamda,

farklı fotosensitizör maddelerin dentin tübüllerine penetrasyon etkinliği, dentin tübülleri içerisindeyken ışıqla aktive olabılme etkinliği ve oksijenin sınırlı olduğu kök kanal sistemi gibi ortamlarda serbest radikal oluşturma etkinliği gibi PDT'nin antimikrobiyal özelliklerini oluşturan faktörler üzerinde daha detaylı çalışmalar yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır (de Oliviera ve ark. 2015; Zijp ve Bosch 1993; Foschi ve ark. 2007; Yıldırım ve ark. 2013).

Bunun aksine, yapılan bazı çalışmalarda ışıqla uygulama süresinin arttırılması sonucu total enerji dozunun yükseltilmesiyle bakteri eliminasyonu üzerinde pozitif etki sağlanabildiği bildirilmiştir. Poggio ve ark.ları yapmış oldukları çalışmada, 90 sn ışıqla uygulama süresinin 30 sn ışıqla uygulama süresine göre anlamlı olarak daha fazla bakteri ölümüne neden olduğunu bulmuşlardır. Bu farklılıklar; kullanılan fotosensitizör maddenin türüne, konsantrasyonuna, fotosensitizör maddenin kök kanalında bekletilme süresine, kullanılan ışıqla cihazına, test edilen mikroorganizma türüne, kök kanallarında görülen anatomik farklılıklara ve verilerin toplanmasında kullanılan mikrobiyolojik yöntemle bağlanabilir (Poggio ve ark. 2011).

Çalışmamızda, Yıldırım ve ark.larının çalışma sonuçlarıyla benzer olarak, 30 sn PDT uygulanan grupta (3. Grup), 60 ve 120 sn PDT uygulanan gruplara (4. ve 5. Grup) göre daha fazla sayıda bakteri ölümü gerçekleştiği belirlenmiştir. Fakat bu durum istatistiksel olarak anlamlı değildir. 60 ile 120 sn ışıqla uygulanan grupların da birbirleri arasındaki sayısal farklılık belirgin değildir. Çalışmamızda, gruplar arasında deney uygulama metodu açısından herhangi bir farklılık yapılmadığı göz önünde bulundurulduğunda, bu duruma neden olarak gruplarda bulunan örneklerde görülebilen anatomik farklılıklardan söz edilebilir. Her ne kadar seçilen örnekler belli standartlar doğrultusunda elenmiş olsa ve işlem öncesi standart genişletme ve kemomekanik şekillendirme prosedürlerine tabi tutulsa da, her kök kanalı birbiriyle birebir aynı özellikleri gösteremez. Kök kanalları, yapısal olarak daha dar ve daha geniş olabilir, yan kanallar, dallanmalar ve isthmuslar içerebilirler. Bu gibi durumlarda, bahsedilen alanlarda bakteri üremesi daha fazla olmakta ve bu alanlara fotosensitizör madde ulaşamadığında PDT uygulaması etkisiz kalabilmektedir.

Ayrıca, bu gibi anatomik alanlarda hayatta kalan mikroorganizmalar PDT'nin etkisinden korunabildikleri gibi, kök kanalı içerisindeki oksijen tüketimini de arttırarak PDT'nin etki edebilmesi için ihtiyaç duyduğu reaktif oksijen metabolitlerinin

oluşumunu da azaltabilir. Bu hipotezin doğrulanması açısından bu konuyla ilgili daha fazla araştırma yapılmasına ihtiyaç vardır. Bundan sonraki çalışmalarda, eğimli kök kanallarına sahip dişlerde PDT uygulaması incelenerek bu konu üzerinde daha fazla araştırma yapılması önerilebilir (Yıldırım ve ark. 2013).

Sadece PDT uygulanan gruplardaki bu farklılığın aksine, yapmış olduğumuz çalışmada PDT ve %5,25'lik NaOCl'nin kombine olarak kullanıldığı ve sırayla 30 sn, 60 sn ve 120 sn ışık uygulanan gruplarda (6,7,8. Gruplar) kalan bakteri sayısı ışık uygulama süresinin artmasıyla doğru orantılı olarak azalma göstermiştir. Bu gruplarda, %5,25'lik NaOCl'nin 30 sn boyunca kök kanalına uygulanmasını takiben, kök kanalındaki NaOCl steril salinle yıkanarak kök kanalından uzaklaştırılmış ve ardından PDT işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu durum, sadece PDT uygulanan gruplarla kıyaslandığında farklı sonuçlar göstermektedir ve iki şekilde yorumlanabilir. Birincisi, kök kanalı NaOCl irrigasyonundan sonra sadece steril salinle irrig edilmiştir, fakat sodyum tiyosülfat gibi NaOCl'nin etkisini nötralize eden bir yıkama ajanı kullanılmamıştır. Bu durumda steril salin NaOCl'yi tamamen kök kanalından uzaklaştırmak yerine sadece konsantrasyonunda azalmaya sebebiyet vermiş ve bu sayede daha düşük konsantrasyondaki NaOCl kök kanalıyla daha uzun süre (120 sn'lik grupta toplamda 210 sn NaOCl ile temas) temas ederek antibakteriyel etkinliğini sürdürmüş olabilir. Böylelikle bu gruplar arasında kademeli olarak görülen bakteri azalması, PDT'nin etkinliğinden çok NaOCl'nin etkinliğine bağlanabilir. İkinci görüş ise, NaOCl uygulamasını takiben uygulanan PDT'de ışık uygulama süresi arttıkça bakteri yoğunluğunun azalmış olmasıdır. Her iki yorumda da , NaOCl olmaksızın sadece PDT ile etkin bir dezenfeksiyon sağlanamadığı ileri sürülebilir. Fakat, %5,25'lik NaOCl uygulamasını takiben sırasıyla 30, 60 ve 120 sn PDT uygulanan bu gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Literatürde, PDT'nin antimikrobiyal etkinliğinin farklı konsantrasyonlardaki NaOCl ile kıyaslandığı çalışmalarda birbirinden farklı sonuçlar gözlenmektedir. Garcez ve ark.ları, PDT'nin %0,5'lik NaOCl'den daha etkili olduğunu savunurken, Seal ve ark.ları ve Meire ve ark.ları, %2,5'lik ve %3'lük NaOCl'nin PDT'ten daha etkili olduğunu bulmuşlardır. Nunes ve ark.ları ve Yıldırım ve ark.ları ise PDT'nin *E.feacalis*'i kök kanalından elimine etmede %1'lik NaOCl ile benzer etkiye sahip olduğunu bulmuşlardır. Çalışmalardan elde edilen farklı sonuçların nedeni, kullanılan

NaOCl konsantrasyonuna ve farklı PDT uygulamalarına bağlanabilir. Düşük konsantrasyonlarda NaOCl'nin kullanıldığı ve etkisiz bulunduğu çalışmaların aksine, çalışmamızda %5,25'lik NaOCl irrigasyonu yapılan gruplarda (6,7,8,9. Gruplar) istatistiksel olarak *E.faecalis* sayısında anlamlı bir azalma görülmektedir. Sadece %5,25'lik NaOCl irrigasyonunun yapıldığı deney grubunda (9. Grup) ise bütün örneklerde bakterilerin tamamının elimine edildiğini gözlemlemiş bulunmaktayız (Nunes ve ark. 2011; Meire ve ark. 2012; Yıldırım ve ark. 2013).

Yapılan çalışmalar incelendiğinde, NaOCl'nin ve kemomekanik şekillendirmenin tek başına kullanıldığı çalışmalar çok daha başarılı bulunmuştur. %0,5 ve %2,5 gibi düşük NaOCl konsantrasyonları ise PDT'nin tek başına uygulamasına göre daha başarısız bulunmuştur. PDT'nin NaOCl ve kemomekanik şekillendirmeye kombine olarak kullanıldığı çalışmalarda ise kullanılan NaOCl konsantrasyonu düşük bile olsa en etkili sonuçların elde edildiği görülmektedir (Poggio ve ark. 2011; Trindade ve ark. 2014, de Oliviera ve ark. 2015). Bu bulgular çalışmamızla benzerlik göstermektedir.

Poggio ve ark.ları Fotosan ve TBO kullanarak PDT uyguladıkları çalışmada, sadece 30 sn PDT uygulamanın, sadece NaOCl uygulamasıyla kıyaslanamayacak kadar düşük sonuç gösterdiğini, en etkili bakteri eliminasyonu için PDT ve NaOCl'nin kombine kullanımının en iyi dezenfeksiyonu sağladığını belirtmişlerdir. Bu bulgular, çalışmamızla benzerlik göstermektedir (Poggio ve ark. 2011).

Vaziri ve ark.ları, %2,5'lik NaOCl irrigasyonunu takiben toluidine blue ve diode lazerle yapılan PDT'nin *E.faecalis*'i kök kanalından tamamen elimine edebildiğini göstermişlerdir. Souza ve ark.ları ise %2,5'lik NaOCl irrigasyonunu takiben toluidine blue ya da metilen mavisi ile yapılan PDT'nin *E.faecalis*'in eliminasyonunda önemli derecede yarar sağlayan bir etkisi olmadığını bildirmişlerdir (Souza ve ark. 2010; Vaziri ve ark. 2012). Yapmış olduğumuz çalışmada da, %5,25'lik NaOCl irrigasyonunu takiben PDT uygulanan gruplarla (6,7,8. Gruplar), sadece NaOCl uygulanan grup (9. Grup) kıyaslandığında, PDT uygulamasının ek bir yarar sağlamadığı, NaOCl'nin tek başına etkili bir dezenfeksiyon sağlayabildiği görülmüştür.

Meire ve ark.ları, farklı lazer cihazlarıyla yapılan PDT'nin etkinliğini farklı konsantrasyonlardaki NaOCl irrigasyonu ve sadece lazer uygulamasıyla kıyasladıkları çalışmada, sadece lazer uygulamasının PDT'ten daha etkili olduğunu bulmuşlardır. Bu

bulgunun aksine, yapmış olduğumuz çalışmada, sadece steril salin irrigasyonu ve 30 sn ışık uygulanan grupta (2.Grup) kalan bakteri oranları diğer gruplarla kıyaslandığında en yüksek olarak bulunmuştur. Bu farklılık, NaOCl ve PDT'nin kombine olarak kullanıldığı gruplarla kıyaslandığında anlamlı olarak belirgindir ve yapmış olduğumuz çalışma sonucunda LED ışık cihazının tek başına kullanımının herhangi bir antimikrobiyal etkinliği bulunamamıştır. Bu farklılık kullanılan ışık kaynağının farklı olmasından kaynaklanabilir. Lazer cihazının antimikrobiyal etkinliği, LED ışık cihazından farklı olarak kök kanalı içerisinde ısı artışına neden olmasına ya da farklı dalga boyunda ışık üretmesine bağlanabilir. Yapılan çalışmalar incelendiğinde sadece fotosensitizör maddenin ya da ışık kaynağının tek başına uygulanmasının anlamlı bir bakteri azalmasına neden olamadığı görülmektedir. Bakteri ölümünü sağlayan bu ikisinin birlikte kullanılmasıdır. Kullanılan ışık kaynağı türünün ise antimikrobiyal etkinlik üzerinde etkisi bulunmadığı, PDT için bu etkiyi sağlayan esas unsurun ışık kaynağının ürettiği ışığın dalga boyu olduğu bildirilmiştir (Trindade ve ark. 2014).

Bu çalışma sonucunda elde edilen bulgular değerlendirildiğinde; LED ışık cihazıyla yapılan Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavi'nin *in vitro* koşullarda kök kanallarındaki *Enterococcus faecalis*'i elimine etmede sodyum hipokloritle kıyaslandığında yetersiz kaldığını ve bu cihazın uygulama süresinin arttırılmasının da dezenfeksiyon açısından ek bir yarar sağlamadığını ileri sürebiliriz. Şu ana kadar yapılan birçok çalışmayla paralel olarak, yapmış olduğumuz bu çalışmada da gruplar arasında *Enterococcus faecalis*'i tamamen elimine edebilen tek yöntem kök kanallarının sodyum hipoklorit ile yıkanması olarak görülmektedir. Sodyum hipoklorit, kök kanallarında etkili bir dezenfeksiyon sağlamasına rağmen, toksik özelliklerinden dolayı bu antimikrobiyal ajana alternatif yeni yöntemlerin arayışı sürmektedir. Burada amaç, sodyum hipokloritle aynı antimikrobiyal etkinliği gösterebilen ve aynı zamanda konak dokular üzerinde yan etkisi bulunmayan bir dezenfeksiyon sisteminin bulunmasıdır. Yapılan çalışmalarda Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavi'nin dezenfeksiyon etkinliği ile ilgili farklı görüşler bulunmaktadır. Genel görüş, bu sistemin endodontik patojenler üzerinde değişen oranlarda da olsa etkinliğinin bulunmuş olmasıdır.

Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavi, gelişmekte olan ve umut vaat eden bir dezenfeksiyon sistemidir. Bu yöntemin, sodyum hipoklorit gibi etkili bir dezenfeksiyon

ajanı haline gelebilmesi için geliştirilmesi ve bu yöntemle ilgili farklı parametrelerin değerlendirildiği yeni çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.



KAYNAKLAR

Appelbe, O.K., Sedgley, C.M. (2007). Effects of prolonged exposure to alkaline pH on *Enterococcus faecalis* survival and specific gene transcripts. *Oral Microbiology and Immunology*, 22, 169-174.

Asnaashari, M., Ashraf, H., Rahmati, A., Amini, N. (2016). A comparison between effect of photodynamic therapy by LED and calcium hydroxide therapy for root canal disinfection against *Enterococcus faecalis*: a randomized controlled trial. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 17, 226-232.

Asnaashari, M., Mojahedi, S.M., Asadi, Z., Azari-Marhaba, S., Maleki, A. (2016). A comparison of the antibacterial activity of the two methods of photodynamic therapy (using diode laser 810 nm and LED lamp 630 nm) against *Enterococcus faecalis* in extracted human anterior teeth. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 13, 233-237.

Bae, K.S., Baumgartner, J.C., Shearer, T.R., David, L.L. (1997). Occurrence of *Prevotella nigrescens* and *Prevotella intermedia* in infections of endodontic origin. *Journal of Endodontics*, 23, 620-623.

Barretta, W.C., Hannum, D.M., Wheeler, W.D., Hurst, J.K. (1989). General mechanism for the bacterial toxicity of hypochlorous acid: abolition of ATP production. *Journal of Biochemistry*, 28, 9172-9178.

Baumgartner, J.C., Siqueira, J.F., Sedgley, C.M., Kishen, A. (2008). Microbiology of endodontic disease. In J.C. Baumgartner (Ed.), *Ingles's Endodontics 6*. Shelton, Connecticut: People's Medical Publishing House; 221-308.

Baumgartner, J.C., Falkler, W.A. (1991). Bacteria in the apical 5 mm of infected root canals. *Journal of Endodontics*, 17, 380-383.

Baumgartner, J.C., Watkins, J.B., Bae, K.S., Xia, T. (1999). Association of black-pigmented bacteria with endodontic infections. *Journal of Endodontics*, 25, 413-415.

Bayram, E., Özkoçak, İ. (2014). Sekonder endodontik enfeksiyonlarda *Enterococcus faecalis* 'in rolü ve tedavisi. *Kocatepe Medical Journal*, 15, 79-84.

Behbehani, M.J., Jordan, H.V., Heeley, J.D. (1983). Oral colonization and pathogenicity of *Actinomyces israelii* in gnotobiotic rats. *Journal of Dental Research*, 62, 69-74.

Beltes, C., Economides, N., Sakkas, H., Papadopoulou, C., Lambrianidis, T. (2016). Evaluation of antimicrobial photodynamic therapy using indocyanine green and near-infrared diode laser against *Enterococcus faecalis* in infected human root canals. *Photomedicine and Laser Surgery*, 35

Bergmans, L., Moisiadis, P., Teughels, W., Van Meerbeek, B., Quirynen, M., Lambrechts, P. (2006). Bactericidal effect of Nd:YAG laser irradiation on some endodontic pathogens ex vivo. *International Endodontic Journal*, 39, 1-11.

Bergmans, L., Moisiadis, P., Huybrechts, B., Van Meerbeek, B., Quirynen, M., Lambrechts, P. (2008). Effect of photo-activated disinfection on endodontic pathogens ex vivo. *International Endodontic Journal*, 41, 227-39.

Block, S.S. (1991). Peroxygen compounds. In: *Disinfectants, Sterilization and Preservation*. (4th ed). Philadelphia PA: Lea&Ferbiger; 167-181.

Bonsor, S.J., Nichol, R., Reid, T.M.S., Pearson, G.J. (2006a). Microbiological evaluation of photoactivated disinfection in endodontics (an in vivo study). *British Dental Journal*, 200, 337-341.

Bonsor, S.J., Nichol, R., Reid, T.M.S., Pearson, G.J. (2006b). An alternative regimen for root canal disinfection. *British Dental Journal*, 201, 101-105.

Borsen, E., Sundqvist, G. (1981). *Actinomyces* of infected dental root canals. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 51, 643-648.

Brännström, M. (1984). Smear layer: pathological and treatment considerations. *Operative Dentistry*, 9, 35-42.

Burns, T., Wilson, M., Pearson, G.J. (1993). Sensitisation of cariogenic bacteria to killing by light from a helium neon laser. *Journal of Medical Microbiology*, 38, 401-405.

Byström, A., Claesson, R., Sundqvist, G. (1985). The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endodontics and Dental Traumatology*, 5, 170-175.

Byström, A., Sundqvist, G. (1983). Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 55, 307-312.

Byström, A., Sundqvist, G. (1985). The antibacterial effect of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *International Endodontic Journal*, 18, 35-40.

Casadevall, A., Pirofski, L. (2009). Virulence factors and their mechanisms of action: the view from a damage-response framework. *Journal of Water and Health*, 2-18.

Chavez de Paz, L.E. (2004). Gram-positive organisms in endodontic infections. *Endodontic Topics*, 9, 79-96.

Chavez de Paz, L.E., Dahlen, G., Molander, A. (2003). Bacteria recovered from teeth with apical periodontitis after antimicrobial endodontic treatment. *International Endodontic Journal*, 36, 500-508.

Cheng, X., Guan, S., Lu, H., Zhao, C., Chen, X., Li, N., Bai, Q., Tian, Y., Yu, Q. (2012). Evaluation of the bactericidal effect of Nd:YAG, Er:YAG, Er,Cr:YSGG laser radiation, and antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) in experimentally infected root canals. *Lasers in Surgery and Medicine*, 44, 824-31.

Cheung, G.S., Ho, M.W. (2001). Microbial flora of root canal-treated teeth associated with asymptomatic periapical radiolucent lesions. *Oral Microbiology and Immunology*, 16, 332-337.

Chiniforush, N., Pourhajibagher, M., Shahabi, S., Bahador, A. (2015). Clinical approach of high technology techniques for control and elimination of endodontic microbiota. *Journal of Lasers in Medical Sciences*, 6, 139-150.

Chu, F.C., Leung, W.K., Tsang, P.C. (2006). Identification of cultivable microorganisms from root canals with apical periodontitis following two-visit endodontic treatment with antibiotics/steroid or calcium hydroxide dressings. *Journal of Endodontics*, 32, 17-23.

Cobb, C.M. (2006). Lasers in periodontics: a review of the literature. *Journal of Periodontology*, 77, 545-564.

Conlan, M.J., Rapley, J.W., Cobb, C.M. (1996). Biostimulation of wound healing by low-energy laser irradiation. A review. *Journal of Clinical Periodontology*, 23, 492-496.

Coolidge, E. (1919). The diagnosis and treatment of conditions resulting from diseases dental pulps. *The Journal of the American Dental Association*, 6, 337-349.

Conrads, G., Gharbia, S.E., Gulabivala, K. (1997). The use of a 16s rDNA directed PCR for the detection of endodontopathogenic bacteria. *Journal of Endodontics*, 23, 433-438.

Costerton, J., Lewandowski, Z. (1997). The biofilm lifestyle. *Advances in Dental Research*, 2, 192-195.

Costerton, J., Lewandowski, Z., DeBeer, D. (1994). Biofilms, the customized microniche. *Journal of Bacteriology*, 176, 2137-2142.

Costerton, J., Stewart, P.S., Greenberg, E.P. (1999). Bacterial biofilm: a common cause of persistent infections. *Science*, 284, 1318-1322.

Cvek, M., Granath, L., Lundberg, M. (1982). Failures and healing in endodontically treated non-vital anterior teeth with post-traumatically reduced pulpal lumen. *Acta Odontologica Scandinavica*, 40, 223-228.

Çalışkan, M.K. (2006). *Endodontide Tanı ve Tedaviler*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti.

Dahlen, G., Samuelsson, W., Molander, A., Reit, C. (2000). Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from the root canal. *Oral Microbiology and Immunology*, 15, 309-312.

Dakin, H.D. (1915a). The antiseptic action of hypochlorite: the ancient history of the “new antiseptic”. *British Medical Journal*, 2, 809-810.

Dakin, H.D. (1915b). On the use of certain antiseptic substances in the treatment of infected wounds. *British Medical Journal*, 2, 318-320.

Davis, J.M., Maki, J., Bahcall, J.K. (2007). An in vitro comparison of the antimicrobial effects of various endodontic medicaments on *Enterococcus faecalis*. *Journal of Endodontics*, 33, 567-9.

Dewhirst, F.E., Chen, T., Izard, J., Paster, B.J., Tanner, A.C.R., Yu, W.H., Lakshmanan, A., Wade, W. (2010). The human oral microbiome. *Journal of Bacteriology*, 192, 5002-5017.

Distel, J.W., Hatton, J.F., Gillespie, M.J. (2002). Biofilm formation in medicated root canals. *Journal of Endodontics*, 28, 689-693.

Dunne, W.J., Mason, E.O., Kaplan, S.L. (1993). Diffusion of rifampin and vancomycin through a *Staphylococcus epidermidis* biofilm. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 12, 2522-2526.

Egan, M.W., Spratt, D.A., Ng, Y.L. (2002). Prevalence of yeasts in saliva and root canals of teeth associated with apical periodontitis. *International Endodontic Journal*, 35, 321-329.

Estrela, C., Silva, J.A., Alencar de, A.H.G., Leles, C.R., Decurcia, D.A. (2008). Efficacy of sodium hypochlorite and chlorhexidine against *Enterococcus faecalis*- A systematic review. *Journal of Applied Oral Science*, 16, 364-368.

Evans, M., Davies, J.K., Sundqvist, G., Figdor, D. (2002). Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *International Endodontic Journal*, 35, 221-228.

Ferreira, N.S., Martinho, F.C., Cordoso, F.G., Nascimento, G.G., Carvalho, C.A., Valera, M.C. (2015). Microbiological profile resistant to different intracanal medications in primary endodontic infection. *Journal of Endodontics*, 41, 824-830.

Figdor, D. (2002). Apical periodontitis: a very prevalent problem. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 6, 651-652.

Figdor, D., Davies, J. (1997). Cell surface structures of *Actinomyces israelii*. *Australian Dental Journal*, 42, 125-128.

Figures, K.H., Douglas, C.W. (1991). Actinomycosis associated with a root-treated tooth: report of a case. *International Endodontic Journal*, 24, 326-329.

Flahaut, S., Hartke, A., Giard, J.C., Auffray, Y. (1997). Alkaline stress response in *Enterococcus faecalis*: adaptation, cross-protection, and changes i protein synthesis. *Applied and Environmental Microbiology*, 63, 812-814.

Foschi, F., Fontana, C.R., Ruggiero, K., Riahi, R., Vera, A., Doukas, A.G. (2007). Photodynamic inactivation of *Enterococcus faecalis* in dental root canals *in vitro*. *Lasers Surgery and Medicine*, 39, 782-7.

Fraser, J. (1974). Chelating agents: their softening effect on root canal dentin. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 37, 803-811.

Garcez, A.S., Nuñez, S.C., Hamblin, M.R., Ribeiro, M.S. (2008). Antimicrobial effects of photodynamic therapy on patients with necrotic pulps and periapical lesions. *Journal of Endodontics*, 34, 138-142.

Garcez, A.S., Nuñez, S.C., Hamblin, M.R., Suzuki, H., Ribeiro, M.S. (2010). Photodynamic therapy associated with conventional endodontic treatment in patients with antibiotic-resistant microflora: a preliminary report. *Journal of Endodontics*, 36, 1463-1466.

Garcez, A.S., Nuñez, S.C., Azambuja, N., Fregnani, E.R., Rodriguez, H.M.H., Hamblin, M.R. (2013). Effects of photodynamic therapy on gram-positive and gram-negative bacterial biofilms by bioluminescence imaging and scanning electron microscopic analysis. *Photomedicine and Laser Surgery*, 31, 519-25.

Gergova, R., Gueorgieva, T., Dencheva-Garova, M., Krasteva-Panova, A.Z., Kalchinov, V., Mitov, I., Kamenoff, J. (2014). Antimicrobial activity of different disinfection methods against biofilms in root canals. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry*, 0, 1-9.

Ghinzelli, G.C., Souza, M.A., Cecchin, D., Farina, A.P., Figueiredo, J.A.P. (2014). Influence of ultrasonic activation on photodynamic therapy over root canal system infected with *Enterococcus faecalis* – an *in vitro* study. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 11, 472-8.

Giardino, L., Ambu, E., Becce, C., Rimondini, L., Morra, M. (2006). Surface tension comparison of four common root canal irrigants and two new irrigants containing antibiotic. *Journal of Endodontics*, 32, 1091-1093.

Glick, M., Trope, M., Bagasra, O., Pliskin, M.E. (1991). Human immunodeficiency virus infection of fibroblasts of dental pulp in seropositive patients. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 71, 733-736.

Gomes, B.P.F.A., Drucker, D.B., Lilley, J.D. (1994). Association of specific bacteria with some endodontic signs and symptoms. *International Endodontic Journal*, 27, 291-298.

Gomes, B.P., Ferraz, C.C., Vianna, M.E. (2001). In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *International Endodontic Journal*, 34, 424-428.

Gomes, B.P., Jacinto, R.C., Pinheiro, E.T. (2005). *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens* in endodontic lesions detected by culture and by PCR. *Oral Microbiology and Immunology*, 20, 211-215.

Gomes, G.B., Sarkis-Onofre, R., Bonow, M.L., Etges, A., Jacinto, R.C. (2013). An investigation of the presence of specific anaerobic species in necrotic primary teeth. *Brazilian Oral Research*, 27, 149-155.

Gottardi, W. (1991). Iodine and iodine compounds. In S.S. Block (Ed.), *Disinfection, sterilization, and preservation*. (4th ed.). Philadelphia, PA: Lea&Febiger; 152-166.

Grossman, L.I., Meiman, B.W. (1941). Solution of pulp tissue by chemical agents. *The Journal of the American Dental Association*, 28, 223-225.

Grossman, L.I. (1988). *Endodontic Practice*. (11th ed.). Philadelphia, USA: Lea&Febiger.

Guignes, P., Faure, J., Maurette, A. (1996). Relationship between endodontic preparations and human dentin permeability measured in situ. *Journal of Endodontics*, 22, 60-67.

Gulabivala, K., Stock, C.J.R., Lewsey, J.D., Ghori, S., Ng, Y.L., Spratt, D.A. (2004). Effectiveness of electrochemically activated water as an irrigant in an infected tooth model. *International Endodontic Journal*, 37, 624-631.

Haapasalo, M., Qian, W. (2008). Irrigants and intracanal medicaments. In J.C. Baumgartner (Ed.), *Ingles's Endodontics 6*. Shelton, Connecticut: People's Medical Publishing House; 992-1018.

Haapasalo, M., Ranta, H., Rantah, K., Shah, H. (1986). Black-pigmented *Bacteriodes spp.* In human apical periodontitis. *Infection and Immunity*, 53, 149-153.

Haapasalo, M., Shen, Y., Wang, Z., Gao, Y. (2014). Irrigation in endodontics. *British Dental Journal*, 216, 299-303.

Haapasalo, H.K., Siren, E.K., Waltimo, T.M. (2000). Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. *International Endodontic Journal*, 33, 126-131.

Hall-Stoodley, L., Stoodley, P. (2002). Developmental regulation of microbial biofilms. *Current Opinion in Biotechnology*, 3, 228-233.

Hall-Stoodley, L., William, J., Stoodley, C.P. (2004). Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nature Reviews Microbiology*, 2, 95-108.

Hamblin, M.R., Hasan, T. (2004). Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? *Photochemistry and Photobiology*, 3, 436-450.

Hand, R.E., Smith, M.L., Harrison, J.W. (1978). Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. *Journal of Endodontics*, 4, 60-64.

Handley, P., Carter, P.L., Fielding, J. (1984). *Streptococcus salivarius* strains carry either fibrils or fimbriae on the cell surface. *Journal of Bacteriology*, 157, 64-72.

Hargreaves, K.M., Cohen, S. (2011). *Pathways of the Pulp*. (10th ed.). St. Louis, Missouri, USA: Mosby Elsevier; 582-584.

Hauman, C.H.J., Love, R.M. (2003). Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 1. Intracanal drugs and substances. *International Endodontic Journal*, 36, 75-85.

Hecker, S., Hiller, K.A., Galler, K.M., Erb, S., Mader, T., Schmalz, G. (2012). Establishment of an optimized *ex vivo* system for artificial root canal infection evaluated by use of sodium hypochlorite and the photodynamic therapy. *International Endodontic Journal*, 46, 449-457.

Heiling, B., Shapira, J. (1978). Roentgenologic and clinical evaluation of endodontically treated teeth with or without negative culture. *Quintessence International*, 11, 79-84.

Hennessey, T. (1973). Some antibacterial properties of chlorhexidine. *Journal of Periodontal Research*, 8, 64-67.

Hermann, B.W. (1920). Calciumhydroxyd als Mittel zur Behandlung und Füllen von Zahnwurzelkanälen (Diss). *Würzburg Med. Diss.*, 29.

Hoedke, D., Enseleit, C., Gruner, D., Dommisch, H., Schlafer, S., Dige, I., Bitter, K. (2018). Effect of photodynamic therapy in combination with various irrigation protocols on an endodontic multispecies biofilm *ex vivo*. *International Endodontic Journal*, 51, 23-34.

Hong, B.Y., Lee, T.K., Lim, S.M. (2013). Microbial analysis in primary and persistent endodontic infections by using pyrosequencing. *Journal of Endodontics*, 39, 1136-1140.

Hülsmann, M., Heckendorff, M., Lennon, A. (2003). Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use. *International Endodontic Journal*, 36, 810-830.

Iriana, C.J.Z. (2009). Evaluation of the antimicrobial effects of photodynamic therapy in an in situ model of dentine caries. *European Journal of Oral Sciences*, 117, 569-574.

Ishikawa, I., Aoki, A., Takasaki, A.A., Mizutani, K., Sasaki, K.M., Izumi, Y. (2009). Application of lasers in periodontics: true innovation or myth? *Periodontology* 2000, 50, 90-126.

Jeansonne, M.J., White, R.R. (1994). A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigant. *Journal of Endodontics*, 20, 276-278.

Jena, A., Sahoo, S.K., Govind, S. (2015). Root canal irrigants: a review of their interactions, benefits, and limitations. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, 36, 256-261.

Johnson, B.R., Remeikis, N.A. (1993). Effective shelf life of prepared sodium hypochlorite solution. *Journal of Endodontics*, 19, 40-43.

Takehashi, S., Stanley, H.R., Fitzgerald, R. (1965). The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 20, 340-349.

Takehashi, S., Stanley, H.R., Fitzgerald, R. (1969). The exposed germ-free pulp: effects of topical corticosteroid medication and restoration. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 27, 60-67.

Kandaswamy, D., Venkateshbabu, N. (2010). Root canal irrigants. *Journal of Conservative Dentistry*, 13, 256-264.

Karthikeyan, S., Wolfaardt, G.M., Korber, D.R., Caldwell, D.E. (1999). Identification of synergistic interactions among microorganisms in biofilms by digital image analysis. *International Microbiology*, 2, 241-250.

Kashef, N., Sharif Abadi, G.R., Esmaeeli, D., Javid, G. (2012). Photodynamic in activation of primary human fibroblast by MB and TBO. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 9, 355-358.

Kasić, S., Knezović, M., Beader, N., Gabrić, D., Malčić, A.I., Baraba, A. (2017). Efficacy of three different lasers on eradication of *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* biofilms in root canal system. *Photomedicine and Laser Surgery*, 35.

Katebzadeh, N., Sigurdsson, A., Trope, M. (2000). Radiographic evaluation of periapical healing after obturation of infected root canals: an in vivo study. *International Endodontic Journal*, 33, 60-66.

Kaufman, B., Spångberg, L., Barry, J., Fouad, A.F. (2005). *Enterococcus spp.* in endodontically treated teeth with and without periradicular lesions. *Journal of Endodontics*, 31, 851-856.

Kayaoğlu, G., Ørstavik, D. (2004). Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 15, 308-320.

Koçkapan, C. (1987). Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Struktur der Schmier-schicht. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift*, 42, 1028-1034.

Komerik, N., Wilson, M., Poole, S. (2000). The effect of photodynamic action on two virulence factors of gram-negative bacteria. *Photochemistry and Photobiology*, 72, 676-680.

Konopka, K.E., Goslinski, T. (2007). Photodynamic therapy in dentistry. *Journal of Dental Research*, 86, 694-707.

Kovac, J., Kovac, D. (2011). Effect of irrigating solutions in endodontic therapy. *Bratislava Medical Journal*, 112, 410-415.

Kubler, A.C. (2005). Photodynamic therapy. *Medical Laser Application*, 20, 37-45.

Kumar, J., Sharma, R., Sharma, M., Prabhavathi, V., Paul, J., Chowdary, C.D. (2015). Presence of *Candida albicans* in root canals of teeth with apical periodontitis and evaluation of their possible role in failure of endodontic treatment. *Journal of International Oral Health*, 7, 42-45.

Kvist, T., Molander, A., Dahlén, G., Reit, C. (2004). Microbiological evaluation of one-and two-visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a randomized, clinical trial. *Journal of Endodontics*, 30, 572-576.

Lana, M.A., Ribeiro-Sobrinho, A.P., Stehling, R. (2001). Microorganisms isolated from root canals presenting necrotic pulp and their drug susceptibility in vitro. *Oral Microbiology and Immunology*, 16, 100-105.

Laplace, J.M., Thuault, M., Hartke, A. (1997). Sodium hypochlorite stress in *Enterococcus faecalis*: influence of antecedent growth conditions and induced proteins. *Current Microbiology*, 34, 284-289.

Leonardo, M.R., Tanomaru Filho, M., Silva, L.A.B., Nelson Filho, P., Bonifácio K.C., Ito, I.Y. (1999). In vivo antimicrobial activity of %2 chlorhexidine used as a root canal irrigation solution. *Journal of Endodontics*, 25, 167-171.

Mardis, J.S., Many, W.J. (2001). Endocarditis due to *Actinomyces viscosus*. *Southern Medical Journal*, 94, 240-243.

McDonnell, G., Russell, D. (1999). Antiseptics and disinfectants: activity, action and resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 12, 147-149.

McLean, R., Fuqua, C., Siegle, D.A. (2000). Biofilm growth and an illustration of its role in mineral formation. In: Microbial biosystems: new frontiers. Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology. *Atlantic Canada Society for Microbial Ecology*, 255-261.

McKenna, S.M., Davies, K.J.A. (1988). The inhibition of bacterial growth by hypochlorous acid. *Journal of Biochemistry*, 254, 685-692.

Meire, M.A., Coenye, T., Nelis, H.J., De Moor, R.J.G. (2012). Evaluation of Nd:YAG and Er:YAG irradiation, antibacterial photodynamic therapy and sodium hypochlorite treatment on *Enterococcus faecalis* biofilms. *International Endodontic Journal*, 45, 482-491.

Mjör, I.A., Smith, M.R., Ferrari, M., Mannocci, F. (2001). The structure of dentine in the apical region of human teeth. *International Endodontic Journal*, 34, 346-353.

Moan, J., Berg, K. (1991). The photodegradation of porphyrins in cells can be used to estimate the lifetime of singlet oxygen. *Photochemistry and Photobiology*, 53, 549-553.

Molander, A., Reit, C., Dahlen, G., Kvist, T. (1998). Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *International Endodontic Journal*, 31, 1-7.

Molander, A., Reit, C., Dahlen, G. (1999). The antimicrobial effect of calcium hydroxide in root canals pretreated with 5% iodine potassium iodide. *Endodontics and Dental Traumatology*, 15, 205-209.

Moorer, W.R., Wesselink, P.R. (1982). Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite. *International Endodontic Journal*, 15, 187-196.

Möller, Å.J.R., Fabricius, L., Dahlén, G. (1981). Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scandinavian Journal of Dental Research*, 89, 475-484.

Möller, Å.J.R., Fabricius, L., Dahlén, G. (2004). Apical periodontitis development and bacterial response to endodontic treatment. Experimental root canal infections in monkeys with selected bacterial strains. *European Journal of Oral Sciences*, 112, 207-215.

Nair, P.N. (2000). Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. *Journal of Periodontology*, 13, 121-148.

Nair, P.N. (2004). Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 15, 348-381.

Nair, P.N., Sjögren, U., Krey, G. (1990). Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. *Journal of Endodontics*, 16, 580-588.

Nakamura, V.C., Cai, S., Candeiro, G.T., Ferrari, P.H., Caldeira, C.L., Gavini, G. (2013). *Ex vivo* evaluation of the effects of several root canal preparation techniques and irrigation regimens on a mixed microbial infection. *International Endodontic Journal*, 46, 217-24.

Narayanan, L.L., Vaishnavi, C. (2010). Endodontic microbiology. *Journal of Conservative Dentistry*, 13, 233-239.

Ng, R., Singh, F., Papamanou, D.A. (2011). Endodontic photodynamic therapy *ex vivo*. *Journal of Endodontics*, 37, 217-222.

Ng, Y.L., Spratt, D., Sriskantharajah, S., Gulabivala, K. (2003). Evaluation of protocols for field decontamination before bacterial sampling of root canals for contemporary microbiology techniques. *Journal of Endodontics*, 29, 317-320.

Nunes, M.R., Mello, I., Franco, G.C.N., de Medeiros, J.M.F., dos Santos, S.S.F., Habitante, S.M., Lage-Marques, J.L., Raldi, D.P. (2011). Effectiveness of photodynamic therapy against *Enterococcus faecalis*, with or without the use of an intracanal optical fiber: an *in vitro* study. *Photomedicine and Laser Surgery*, 29, 803-808.

Ogura, M., Abernethy, A.D., Blissett, R., Ruggiero, K., Som, S., Goodson, J.M., Kent, R., Doukas, A.G., Soukos, N.S. (2007). Photomechanical wave-assisted molecular delivery in oral biofilms. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23, 1637-1646.

de Oliveira, B.P., Aguiar, C.M., Câmara, A.C., de Albuquerque, M.M., Correia, A.C., Soares, M.F. (2015). The efficacy of photodynamic therapy and sodium

hypochlorite in root canal disinfection by single-file instrumentation technique. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 12, 436-43.

Orstavik, D., Haapasalo, M. (1990). Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endodontics and Dental Traumatology*, 6, 142-9.

Orstavik, D., Pitt Ford, T.R. Essential Endodontology. İçinde Dahlen, G., Haapasalo, M. *Microbiology of apical periodontitis*. Oxford: Blackwell; 2001. pp. 106-130.

Pashley, D., Okabe, A., Parhan, P. (1985). The relationship between dentin microhardness and tubule density. *Endodontics and Dental Traumatology*, 1, 176-179.

Patterson, S. (1963). In vivo and in vitro studies of the effect of the disodium salt of ethylenediamine tetra-acetate on human dentine and its endodontic implications. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 16, 83-103.

Pawlicka, H., Piatkowska, D., Hajdukiewicz, G. (1981). Effektivität der Spülmittel bei Wurzelkanalaufbereitung: Untersuchungen im Rasterelektronenmikroskop. *Stomatologie der DDR*, 31, 684-688.

Peciuliene, V., Maneliene, R., Balcikonyte, E., Drukeinis, S., Rutkunas, V. (2008). Microorganisms in root canal infections: a review. *Stomatologija*, 10, 4-9.

Peciuliene, V., Reynaud, A.H., Balciuniene, I., Haapasalo, M. (2001). Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. *International Endodontic Journal*, 34, 429-434.

Peeters, H.H., De Moor, R.J. (2015). Measurement of pressure changes during laser-activated irrigant by an erbium, chromium: yttrium, scandium, gallium, garnet laser. *Lasers in Medical Science*, 30, 1449-55.

Peker Tekdal, G., Gürkan, A. (2014). Diş hekimliği ve periodontolojide fotodinamik tedavi uygulamaları. *Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*, 35, 8-22.

Pereira, C.A., Romeiro, R.L., Costa, A.C.B.P., Machado, A.K.S., Junqueira, J.C., Jorge, A.O. (2011). Susceptibility of *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*,

and *Streptococcus mutans* biofilms to photodynamic inactivation: an *in vitro* study. *Lasers in Medical Science*, 26, 341-8.

Peters, L.B., Wesselink, P.R. (2002). Periapical healing of endodontically treated teeth in one and two visits obturated in the presence or absence of detectable microorganisms. *International Endodontic Journal*, 35, 660-667.

Pinheiro, E.T., Gomes, B.P., Ferraz, C.C. (2003). Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *International Endodontic Journal*, 36, 1-11.

Poggio, C., Arciola, C.R., Dagna, A., Florindi, F., Chiesa, M., Saino, E., Imbriani, M., Visai, L. (2011). Photoactivated disinfection (PAD) in endodontics: an *in vitro* microbiological evaluation. *The International Journal of Artificial Organs*, 34, 889-97.

Portenier, I., Waltimo, T.M.T., Ørstavik, D., Haapasalo, M. (2006). Killing of *Enterococcus faecalis* by MTAD and chlorhexidine digluconate with or without cetrimide in the presence or absence of dentine powder or BSA. *Journal of Endodontics*, 32, 138-141.

Portenier, I., Waltimo, T.M.T., Haapasalo, M. (2003). *Enterococcus faecalis*-the root canal survivor and “star” in post-treatment disease. *Endodontic Topics*, 6, 135-159.

Prazmo, E.J., Godlewska, R.A., Mielczarek, A.B. (2017). Effectiveness of repeated photodynamic therapy in the elimination of intracanal *Enterococcus faecalis* biofilm: an *in vitro* study. *Lasers in Medical Sciences*, 32, 655-661.

Qian, W.H., Hong, J., Xu, P.C. (2015). Analysis of the possible causes of endodontic treatment failure by inspection during apical microsurgery treatment. *Shanghai Journal of Stomatology*, 24, 206-209.

Raab, O. (1900). The effect of fluorescent agents on infusoria. *Zeitschrift für Biologie*, 39, 524-526.

Radcliffe, C.E., Potouridou, L., Qureshi, R. (2004). Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israeli*, *A. Naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. *International Endodontic Journal*, 37, 438-446.

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

Rios, A., He, J., Glickman, G.N., Spears, R., Schneiderman, E.D., Honeyman, A.L. (2011). Evaluation of photodynamic therapy using a light-emitting diode lamp against *Enterococcus faecalis* in extracted human teeth. *Journal of Endodontics*, 37, 856-9.

Rôças, I.N., Siqueira, J.F. (2005). Occurrence of two newly named oral treponemes- *Treponema parvum* and *Treponema putidum*- in primary endodontic infections. *Oral Microbiology and Immunology*, 20, 372-375.

Rôças, I.N., Siqueira, J.F. (2006). Culture-independent detection of *Eikenella corrodens* and *Veillonella parvula* in primary endodontic infections. *Journal of Endodontics*, 32, 509-512.

Rôças, I.N., Siqueira, J.F., Andrade, A.F., Uzeda, M. (2003). Oral treponemes in primary root canal infections as detected by nested PCR. *International Endodontic Journal*, 36, 20-26.

Rôças, I.N., Siqueira, J.F., Santos, K.R.N. (2004). Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *Journal of Endodontics*, 30, 315-320.

Sakamoto, M., Siqueira, J.F., Rôças, I.N., Benno, Y. (2007). Bacterial reduction and persistence after endodontic disinfection procedures. *Oral Microbiology and Immunology*, 22, 19-23.

Sakellariou, P.L. (1996). Periapical actinomycosis: report of a case and review of the literature. *Endodontics and Dental Traumatology*, 12, 151-154.

Sakko, M., Tjäderhane, L., Rautemaa-Richardson, R. (2016). Microbiology of root canal infections. *Primary Dental Journal*, 5, 84-89.

Salva, K.A. (2002). Photodynamic therapy: unapproved uses, dosages or indications. *Clinics in Dermatology*, 20, 571-581.

Sassone, L.M., Fidel, R.A., Faveri, M., Figueiredo, L., Fidel, S.R., Feres, M. (2012). A microbiological profile of unexposed and exposed pulp space of primary

endodontic infections by checkerboard DNA-DNA hybridization. *Journal of Endodontics*, 38, 889-893.

Sathorn, C., Parashos, P., Messer, H. (2007). Antibacterial efficacy of calcium hydroxide intracanal dressing: a systematic review and meta-analysis. *International Endodontic Journal*, 40, 2-10.

Schiffner, U., Cachovan, G., Bastian, J., Sculean, A., Eick, S. (2014). *In vitro* activity of photoactivated disinfection using a diode laser in infected root canals. *Acta Odontologica Scandinavica*, 1-8.

Schlafer, S., Vaeth, M., Horsted-Bindslev, P., Frandsen, E.V.G. (2010). Endodontic photoactivated disinfection using a conventional light source: an *in vitro* and *ex vivo* study. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 109, 634-641.

Schleifer, K.H., Kilpper-Balz, R. (1983). Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. Nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 34, 31-34.

Schwarz, F., Aoki, A., Sculean, A., Becker, J. (2009). The impact of laser application on periodontal and peri-implant wound healing. *Periodontology 2000*, 51, 79-108.

Segura, J.J., Calvo, J.R., Guerrero, J.M. (1997). EDTA inhibits *in vitro* substrate adherence capacity of macrophages: endodontic implications. *Journal of Endodontics*, 23, 205-208.

Seidberg, B., Schilder, H. (1974). An evaluation of EDTA in endodontics. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 37, 609-620.

Senia, E.S., Marshall, F.J., Rosen, S. (1971). The solvent action of sodium hypochlorite on pulp tissue of extracted teeth. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 31, 96-103.

Shabahang, S., Torabinejad, M. (2003). Effect of MTAD on *Enterococcus faecalis* contaminated root canals of extracted human teeth. *Journal of Endodontics*, 29, 576-579.

Singh, S., Nagpal, R., Manuja, N., Tyagi, S.P. (2014). Photodynamic therapy: an adjunct to conventional root canal disinfection strategies. *Australian Endodontic Journal*, 41, 54-71.

Singh, K.V., Weinstock, G.M., Murray, B.E. (2002). An *Enterococcus faecalis* ABC homologue (Lsa) is required for the resistance of this species to clindamycin and quinupristin-dalfopristin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46, 1845-1850.

Siqueira, J.F., Machado, A.G., Silveira, R.M., Lopes, H.P., de Uzeda, M. (1997). Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal in vitro. *International Endodontic Journal*, 30, 279-282.

Siqueira, J.F. (2002). Endodontic infections: concepts, paradigms, and perspectives. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 94, 281-293.

Siqueira, J.F., Lopes, H.P. (1999). Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *International Endodontic Journal*, 32, 361-369.

Siqueira, J.F., Rôças, I.N. (2003). *Campylobacter gracilis* and *Campylobacter rectus* in primary endodontic infections. *International Endodontic Journal*, 36, 174-180.

Siqueira, J.F., Rôças, I.N. (2004). Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 97, 85-94.

Siqueira, J.F., Rôças, I.N. (2009). Diversity of endodontic microbiota revisited. *Journal of Dental Research*, 88, 969-981.

Siqueira, J.F., Rôças, I. (2014). Present status and future directions in endodontic microbiology. *Endodontic Topics*, 30, 3-22.

Siqueira, J.F., Rôças, I.N., Moraes, S.R., Santos, K.R. (2002). Direct amplification of rRNA gene sequences for identification of selected oral pathogens in root canal infections. *International Endodontic Journal*, 35, 345-351.

Siqueira, J.F., Rôças, I.N., Oliveira, J.C., Santos, K.R. (2001). Molecular detection of black-pigmented bacteria in infections of endodontic origin. *Journal of Endodontics*, 27, 563-566.

Siqueira, J.F., Rôças, I.N., Rosado, A.S. (2004). Investigation of bacterial communities associated with asymptomatic and symptomatic endodontic infections by denaturing gradient gel electrophoresis fingerprinting approach. *Oral Microbiology and Immunology*, 19, 363-370.

Siqueira, J.F., Rôças, I.N., Souto, R. (2000). Chequerboard DNA-DNA hybridization analysis of endodontic infections. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 89, 744-748.

Siqueira, J.F., Rôças, I.N., Souto, R. (2001). Microbiological evaluation of acute periradicular abscesses by DNA-DNA hybridization. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 92, 451-457.

Siqueira, J.F., Rôças, I.N., Souto, R. (2002). *Actinomyces* species, streptococci, and *Enterococcus faecalis* in primary root canal infections. *Journal of Endodontics*, 28, 168-172.

Siren, E.K., Haapasalo, M.P., Ranta, K. (1997). Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigations. *International Endodontic Journal*, 30, 91-95.

Sjögren, D., Figdor, S., Persson, S. (1997). Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of the teeth with apical periodontitis. *International Endodontic Journal*, 30, 297-306.

Slots, J., Sabeti, M., Simon, J.H. (2003). Herpesvirus in periapical pathosis: an etiopathogenic relationship? *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 96, 327-331.

Soukos, N.S., Chen, P.S.Y., Morris, J.T. (2006). Photodynamic therapy for endodontic disinfection. *Journal of Endodontics*, 32, 979-984.

Soukos, N.S., Goodson, J.M. (2011). Photodynamic therapy in the control of oral biofilms. *Periodontology* 2000, 55, 143-166.

Souza, L.C., Brito, P.R., de Oliveira, J.C., Alves, F.R., Moreira, E.J., Sampaio-Filho, H.R. (2010). Photodynamic therapy with two different photosensitizers as a supplement to instrumentation/irrigation procedures in promoting intracanal reduction of *Enterococcus faecalis*. *Journal of Endodontics*, 36, 292-6.

Spangberg, L.S.W. (1998). Endodontic treatment of teeth without apical periodontitis. İçinde D. Orstavik, T.R. Pitt Ford, *Essential Endodontology*. Madlen, MA, USA: Blackwell; 210-241.

Spångberg, L., Engström, B., Langeland, K. (1973). Biologic effects of dental materials. 3. Toxicity and antimicrobial effect of endodontic antiseptics in vitro. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 36, 856-871.

Stoodley, P., Dodds, I., Boyle, J.D., Lappin-Scott, H.M. (1999). Influence of hydrodynamics and nutrients on biofilm structure. *Journal of Applied Microbiology*, 85, 19-28.

Sundqvist, G. (1976). Bacteriological studies of necrotic dental pulps. *Umea University Odontol Dissertation*, 7.

Sundqvist, G. (1992). Associations between microbial species in dental root canal infections. *Oral Microbiology and Immunology*, 7, 257-262.

Sundqvist, G., Fidgor, D. (2003). Life as an endodontic pathogen. Ecological differences between the untreated and root-filled root canals. *Endodontic Topics*, 6, 3-28.

Sundqvist, G., Fidgor, D., Persson, S., Sjögren, U. (1998). Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 85, 86-93.

Sundqvist, G., Johansson, E., Sjögren, U. (1989). Prevalence of black-pigmented *Bacteriodes* species in root canal infections. *Journal of Endodontics*, 15, 13-19.

Tappeiner, H., Jesionek, H. (1903). Therapeutische versuche mit fluoreszierenden stoffen. *Munchener Medizinische Wochenschrift*, 47, 2042-2044.

Torabinejad, M., Khademi, A.A., Babagoli, J., Cho, Y., Johnson, W.B., Bozhilov, K., Kim, J., Shabahang, S. (2003). A new solution for the removal of the smear layer. *Journal of Endodontics*, 29, 170-175.

Torneck, C.D., Moe, H., Howley, T.P. (1983). The effect of calcium hydroxide on porcine fibroblasts in vitro. *Journal of Endodontics*, 9, 131-136.

Trindade, A.C., De Figueiredo, J.A.P., Steier, L., Weber, J.B.B. (2014). Photodynamic therapy in endodontics: a literature review. *Photomedicine and Laser Surgery*, 33, 175-182.

Türkün, M., Cengiz, T. (1997). The effects of sodium hypochlorite and calcium hydroxide on tissue dissolution and root canal cleanliness. *International Endodontic Journal*, 30, 135-142.

Türkün, M., Gökay, N., Özdemir, N. (1998). Farklı endodontik yıkama solüsyonlarının toksik ve nekrotik doku çözücü etkilerinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi. *İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*, 32, 87-94.

Tzanetakis, G.N., Azcarate-Peril, M.A., Zachaki, S. (2015). Comparison of bacterial community composition of primary and persistent endodontic infections using pyrosequencing. *Journal of Endodontics*, 41, 1226-1233.

Vahdaty, A., Pitt Ford, T.R., Wilson, R.F. (1993). Efficacy of chloridine in disinfecting dentinal tubules in vitro. *Endodontics and Dental Traumatology*, 9, 243-248.

Vaziri, S., Kangarlou, A., Shahbazi, R., Nazari- Nasab, A., Naseri, M. (2012). Comparison of the bactericidal efficacy of photodynamic therapy, 2.5% sodium hypochlorite, and 2% chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* in root canals; an *in vitro* study. *Dental Research Journal*, 9, 613-8.

Vianna, M.E., Gomes, B.P., Berber, V.B. (2004). In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 97, 79-84.

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

Wainwright, M., Crossley, K.B. (2002). Methylene blue- a therapeutic dye for all seasons. *Chemotherapy*, 14, 431-443.

Wainwright, M., Giddens, R.M. (2003). Phenothiazinium photosensitisers: choices in synthesis and application. *Dyes and Pigments*, 57, 245-257.

Waltimo, T.M.T., Sen, B.H., Meurman, J.H., Ørstavik, D., Haapasalo, M.P.P. (2003). Yeasts in apical periodontitis. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 14, 128-137.

Waltimo, T.M.T., Ørstavik, D., Siren, E.K., Haapasalo, M.P.P. (1999). In vitro susceptibility of *Candida albicans* to four disinfectants and their combinations. *International Endodontic Journal*, 32, 421-429.

Walton, E.R., Torabinejad, M. (2002). Principles and Practice of Endodontics. (3rd ed.). İçinde J.C. Baumgartner, *Endodontic Microbiology*. Philadelphia, Pennsylvania: W.B. Saunders Company; 282-294.

Warfvinge, J., Bergenholtz, G. (1986). Healing capacity of human and monkey dental pulps following experimentally-induced pulpitis. *Endodontics and Dental Traumatology*, 2, 256-262.

Weckwerth, P.H., Zapata, R.O., Vivan, R.R., Tanomaru Filho, M., Maliza, A.G., Duarte, M.A. (2013). In vitro alkaline pH resistance of *Enterococcus faecalis*. *Brazilian Dental Journal*, 24, 474-476.

Weiger, R., Rosendahl, R., Löst, C. (2000). Influence of calcium hydroxide intracanal dressings on the prognosis of teeth with endodontically induced periapical lesions. *International Endodontic Journal*, 33, 219-226.

Whitchurch, C., Tolker-Nielsen, T., Ragas, P.C., Mattick, J.S. (2002). Extracellular DNA required for bacterial biofilm formation. *Science*, 295, 1487.

White, R.R., Hays, G.L., Janer, L.R. (1997). Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. *Journal of Endodontics*, 24, 472-476.

Williams, J.A., Pearson, G.J., John Colles, M. (2005). Antibacterial action of photoactivated disinfection PAD used on endodontic bacteria in planktonic suspension and in artificial and human root canals. *Journal of Dentistry*. 34, 363-371.

Wingender, J., Neu, T.R., Flemming, H.C. (1999). Microbial extracellular polymeric substances: characterization, structure and function. İçinde J. Wingender, *What are bacterial extracellular polymeric substances?*. Heidelberg, Berlin, Germany: Springer-Verlag; 1-19.

Xhevdet, A., Stubljarić, D., Kriznar, I., Jukić, T., Skvarc, M., Veranić, P., Ihan, A. (2014). The disinfection efficacy of root canals with laser photodynamic therapy. *Journal of Lasers in Medical Sciences*, 5, 19-26.

Xu, Y., Young, M.J., Battaglini, R.A., Morse, L.R., Fontana, C.R., Pagonis, T.C. (2009). Endodontic antimicrobial photodynamic therapy: safety assessment in mammalian cell cultures. *Journal of Endodontics*, 35, 1567-72.

Yamada, R.S., Armas, A., Goldman, M., Lin, P.S. (1983). A scanning electron microscopic comparison of a high volume final flush with several irrigating solutions part 3. *Journal of Endodontics*, 9, 137-142.

Yeşilsoy, C., Whitaker, E., Cleveland, D., Phillips, E., Trope, M. (1995). Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. *Journal of Endodontics*, 21, 513-515.

Yeung, M.K. (1999). Molecular and genetic analysis of *Actinomyces* spp. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 10, 120-138.

Yıldırım, C., Karaarslan, E.Ş., Özsevik, S., Zer, Y., Sarı, T., Üşümez, A. (2013). Antimicrobial efficiency of photodynamic therapy with different irradiation durations. *European Journal of Dentistry*, 7, 469-473.

Yoshida, M., Fukushima, H., Yamamoto, K. (1987). Correlation between clinical symptoms and microorganisms isolated from root canals of teeth with periapical pathosis. *Journal of Endodontics*, 13, 24-28.

Zijp J.R., Bosch, J.J. (1993). Theoretical model for the scattering of light by dentin and comparison with measurements. *Applied Optics*, 32, 411-5.



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Sayı :178

11.05.2017

Konu :Prof. Dr. Seçkin Dindar

Sayın Prof. Dr. Seçkin DİNDAR
Endodonti Anabilim Dalı

İlgi: Endodonti Anabilim Dalının 24/04/2017 gün ve 154848 sayılı yazısı.

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz 2017/26 dosya nolu "Endodonti'de LED Cihazı ile Yapılan Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavide LED Cihazının Uygulama Süresinin Enterococcus faecalis Üzerine Etkisinin in vitro Olarak İncelenmesi" başlıklı çalışma kurulumuzun 11/05/2017 tarih ve 53 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof.Dr. Faruk Haznedaroğlu
İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Klinik
Araştırmalar Etik Kurul Başkanı

Eki: İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Endodonti'de LED Cihazı İle Yapılan Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavide LED Cihazının Uygulama Süresinin Enterococcus faecalis Üzerine Etkisinin in vitro Olarak İncelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	2017/26

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	TELEFON	4142020-30326
	FAKS	4142564
	E-POSTA	disheketikkurul@istanbul.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ

KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Seçkin Dindar			
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Endodonti Anabilim Dalı			
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı			
VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-			
DESTEKLEYİCİ	Üniversite			
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	-			
DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-			
ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
	FAZ 2	☐		
	FAZ 3	☐		
	FAZ 4	☐		
	Gözlemsel ilaç çalışması	☐		
	Tıbbi cihaz klinik araştırması	☐		
	İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları	☐		
	İlaç dışı klinik araştırma	X		
	Diğer ise belirtiniz			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ X	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL X	ULUSLARARASI ☐

Prof. Dr. Faruk Haznedaroğlu

İmza:



Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Endodonti'de LED Cihazı İle Yapılan Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavide LED Cihazının Uygulama Süresinin Enterococcus faecalis Üzerine Etkisinin in vitro Olarak İncelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	2017/26

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	08.05.2017	2017/26	Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	08.05.2017	2017/26	Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama			
	SİGORTA	☐				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	X				
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐				
	İLAN	☐				
	YILLIK BİLDİRİM	☐				
	SONUÇ RAPORU	☐				
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐				
	DİĞER:	X	Anabilim Dalı Başkanlığından Üst yazı ve Akademik Kurul Kararı, izin belgesi, Başvuru formu, Literatür örneği, taahhütname, özgeçmiş, cd			
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:178	Tarih: 11.05.2017				
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplanıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.					

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Faruk Haznedaroğlu

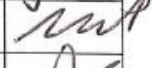
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr. Faruk Haznedaroğlu	Endodonti	İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi(BAŞKAN)	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Prof. Dr. Gamze Aren	Pedodonti	İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi(BAŞKAN Y.)	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Prof. Dr. Levent Ertuğrul	Fizyoloji	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Prof. Dr. Mustafa Demirci	Diş Hastalıkları ve Tedavisi	İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. İlknur Özcan	Ağız, Diş ve Çene Radyolojisi	İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Funda Yalçın	Periodontoloji	İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Nil Cura	Ortodonti	İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Fatma Gülbahar Işık	Protetik Diş Tedavisi	İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Yusuf Emes	Ağız, Diş-Çene Hastalıkları Cerrahisi	İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Op. Dr. Ahmet Kocakuşak	Genel Cerrah	S.B Haseki Eğitim	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

Prof. Dr. Faruk Haznedaroğlu

İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Endodonti'de LED Cihazı İle Yapılan Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavide LED Cihazının Uygulama Süresinin Enterococcus faecalis Üzerine Etkisinin in vitro Olarak İncelenmesi							
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU		2017/26							
Y.Doç.Dr. Pembe Çağatay	Biyoistatistik	İ.Ü. Sağlık Hizmetleri Mes.Yük Okulu	E ☐	KX	E ☐	H X	E ☐	H X	
Doç.Dr.Güçlü Akyürek	Hukuk	MEF.Ü.Hukuk Fak	E X	K ☐	E ☐	H X	E X	H ☐	
Y.Doç.Dr.Zeliha Pala Kara	Farmakoloji	İ.Ü.Eczacılık Fakültesi	E ☐	KX	E ☐	H X	E X	H ☐	
Zahide Yonca Onur	Finansman	MDT Müh. LTD	E ☐	KX	E ☐	H X	E X	H ☐	

*:Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Faruk Haznedaroğlu

İmza:



Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

ENDODONTİDE LED CİHAZI İLE YAPILAN ANTİMİKROBİYAL FOTODİNAMİK TEDAVİDE LED CİHAZININ UYGULAMA SÜRESİNİN ENTEROCOCCUS FAECALIS ÜZERİNE ETKİSİNİN IN VITRO OLARAK İNCELENMESİ

ORIJINALLIK RAPORU

%**3**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**2**

İNTERNET
KAYNAKLARI

%**2**

YAYINLAR

%**1**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

Submitted to TechKnowledge Turkey

Öğrenci Ödevi

<%**1**

2

library.neu.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

3

Submitted to Istanbul University

Öğrenci Ödevi

<%**1**

4

Submitted to Nottingham Trent University

Öğrenci Ödevi

<%**1**

5

turkendodontidernegi.org

İnternet Kaynağı

<%**1**

6

www.journalagent.com

İnternet Kaynağı

<%**1**

7

acikerisim.selcuk.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

<%**1**

8

AKPINAR, Yusuf Ziya, TAK, Önjen, KOÇ,

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Beril	Soyadı	Kıvılcım
Doğ.Yeri	Erzincan	Doğ.Tar.	06.03.1991
Uyruğu	T.C	TC Kim No	50245284864
Email	berilkivilcim@gmail.com	Tel	+905358339700

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2018
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi	2014
Lisans	İstanbul Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi	2014
Lise	Cağaloğlu Anadolu Lisesi	2009

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi		YDS 84
Almanca	Orta	Orta	Orta		C1 Sprachdiplom

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Kıvılcım, B., Aksoy, M.K., Dindar, S., Özel, B. (2018). Treatment of a cutaneous odontogenic sinus tract of endodontic origin: a case report. *Turkish Endodontic Journal*, 3(1):23-25.

18th Biennial ESE Congress- Brussels, Belgium. 14 September 2017. Poster Sunumu: Endodontic Management Of Extraoral Sinus Tract Of Endodontic Origin Related To Lower Central Incisor: A Case Report. Kıvılcım, B., Aksoy, M.K., Dindar, S.

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

