

T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİMDALI

**ENDODONTİK ENFEKSİYONLU HASTALARDA MOLEKÜLER
VE KONVANSİYONEL YÖNTEMLERLE ETYOLOJİK
AJANLARIN TESPİTİ**

Dt. Arzu ŞAHAN KİPALEV

DOKTORA TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr.Fatih KÖKSAL**

ADANA 2011

T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİMDALI

**ENDODONTİK ENFEKSİYONLU HASTALARDA MOLEKÜLER
VE KONVANSİYONEL YÖNTEMLERLE ETYOLOJİK
AJANLARIN TESPİTİ**

Dt. Arzu ŞAHAN KİPALEV

DOKTORA TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr.Fatih KÖKSAL**

**Bu çalışma TF2009 D1 nolu proje olarak Çukurova Üniversitesi Araştırma
Projeleri tarafından desteklenmiştir.**

ADANA 2011

KABUL VE ONAY

Tıbbi Mikrobiyoloji Doktora Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan
“Endodontik Enfeksiyonlu Hastalarda Moleküler ve Konvansiyonel
yöntemlerle Etyolojik Ajanların Tespiti ”
adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarihi: 12/01/2011

TEZ SINAV JÜRİSİ

Prof. Dr. Fatih Köksal
Çukurova Üniversitesi
Başkan

Prof Dr. Fügen Yarkin
Çukurova Üniversitesi
Üye

Prof Dr. Akgün Yaman
Çukurova Üniversitesi
Üye

Prof Dr. H.Oğuz Yoldaş
Çukurova Üniversitesi
Üye

Prof Dr. Gönül Aslan
Mersin Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Tez, Yönetim Kurulunun/...../..... tarih ve sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Halil Kasap
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Mikrobiyoloji ailesine katılmamı sağlayıp, doktora eğitimim süresince emeğini, bilgisini ve desteğini benden esirgemeyen, doktora tezimin hazırlanmasında sonsuz yardımlarını sunan danışman hocam, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof.Dr. Fatih Köksal’a,

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’da bulunduğum süre boyunca deneyim ve bilgilerinden faydalanmama olanak tanıyan değerli hocalarım, Sayın Prof.Dr. Fügen Yarkın’a, Sayın Prof.Dr. Akgün Yaman’a ve Sayın Prof.Dr. M.Macit İlkit’e,

Tezimde hem pratik hem de teorik yönlerden katkılarını ve bilgilerini esirgemeyen, her türlü imkanlarından faydalanmama olanak tanıyan, Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Diş Hastalıkları ve Tedavisi Ana Bilimdalı öğretim üyelerinden Sayın Prof.Dr. Oğuz Yoldaş’a ve Dr.Dt. Ayşin Dumani’ye,

Doktora hayatım süresince sınırsız destek ve yardımlarını gördüğüm, sevgili çalışma arkadaşlarıma ve tez çalışmalarımda bana destek olan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’da her kademedede görevli personel arkadaşlarıma,

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi doktora eğitimim süresince de büyük desteklerini gördüğüm eşim Adil Kipalev’e ve yaşam kaynağım, kızım Öykü’ye sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Dt.Arzu Şahan Kipalev

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1.Anatomik oluşumlar	3
2.1.1 Oral kavite	3
2.1.2 Pulpa ve Periapiks	4
2.2. Oral flora bakterileri ve Anaerobik bakteriler	5
2.2.1. Oral Kavite ve Kök Kanal Enfeksiyonlarında Rol	
Oynayan Mikroorganizmalar	7
2.2.1.1.Gram Pozitif Koklar	7
2.2.1.1.1. Streptokoklar	7
2.2.1.1.2.Peptostreptokoklar	9
2.2.1.1.3. Enterokoklar	9
2.2.1.1.4. Stafilokoklar, Mikrokoklar ve Stomatokoklar	9
2.2.1.2. Gram-Pozitif Basiller	10
2.2.1.2.1. Aktinomiçes genusu	10
2.2.1.3. Gram Negatif Koklar	11
2.2.1.4. Gram Negatif Basiller	11
2.2.1.4.1. Fakültatif Anaerob ve Kapnofilik Cinsler	11
2.2.1.4.2. Zorunlu Anaerobik Gram- negatif Basiller	12
2.2.1.4.2.1. Bakteroides genusu	12

2.2.1.4.2.2. Prevotella ve Porphyromonas türleri	13
2.2.1.4.2.3. Fusobakteriumlar	15
2.2.1.5. Spiroket genusu	15
2.3. Enfeksiyon mekanizması	17
2.3.1. Bakterilerin Pulpaya Giriş Yolları	17
2.3.1.1. Koronal yol	17
2.3.1.2. Retrograd yol	18
2.3.1.3. Hematojen Yol –Anakorezis	19
2.3.2. Enfekte Kök Kanalında Bakteri Kolonizasyonu	19
2.3.3. Periapikal Bölgede Enfeksiyon Gelişimi	24
2.3.3.1. Akut Apikal Periodontitis	26
2.3.3.2. Kronik Apikal Periodontitis	27
2.3.3.3. Kistik Apikal Periodontitis	28
2.3.3.4. Extraradiküler Enfeksiyonlar	30
2.3.4. Kök Kanal Enfeksiyonlarında Bakteriler Arası İlişkiler	32
2.3.5. Endodontik mikroorganizmalar ve klinik semptomlarla İlişkileri	34
2.3.6. Endodontik Tedaviler	35
2.3.6.1. Kök Kanal Tedavisi ve Başarısızlıkları	36
3. GEREÇ ve YÖNTEM	40
3.1. Örnek Seçimi	40
3.2. Kök Kanallarından Örnek Alınması	41
3.3. Mikrobiyal Örneklerde Uygulanan PCR Aşamaları	42
3.3.1. DNA Ekstraksiyonu	42
3.3.2. Amplifikasyon Karışımı ve Agaroz Jel Elektroforezi ile Görüntüleme	43
3.4. Çalışmada kullanılan solüsyon ve gel matriksler	46
3.4.1. Agaroz Jel Elektroforezi ve Görüntüleme İçin Kullanılan Tamponlar	46
3.4.1.1. 10x TBE Stok Tamponunun Hazırlanması	46
3.4.1.2. Yükleme Tamponu	46
3.4.2. Uygulama	46

3.5. İstatistiksel Değerlendirme	47
4. BULGULAR	48
5. TARTIŞMA	66
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	80
KAYNAKLAR	83
ÖZGEÇMİŞ	94

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1: Pulpa ve periapaksin şematik görünümü	4
Şekil 2.2: Koronal yolla çürük gelişimine bağlı pulpa invazyonu	18
Şekil 2.3: Kök kanal enfeksiyonu fazları ve bakteriyel dağılım	24
Şekil 2.4: Uyarının uzaklaştırılmaması sonucu dokuda oluşan reaksiyonların basamakları	25
Şekil 2.5: Çürük, pulpadaki inflamatuvar etkisi ve periapikal bölgede enfeksiyon gelişimi	26
Şekil 2.6: Apikal periodontitis gelişimi	29
Şekil 2.7: Periradiküler bölge lezyonları	31
Şekil 2.8: Kanal instrumentasyonu ve dolgusunun şematik görüntüsü	36
Şekil 2.9: Kök kanal dolgusunun radyografik görüntüsü	36
Şekil 3.1: Termal döngü cihazı	45
Şekil 3.2: OWL Separation Systems Model elektroforez tankı	47
Şekil 4.1: Tüm örneklerde hedef bakterilerin dağılımı	50
Şekil 4.2: Primer (nekrotik dişler) ve sekonder (tedavi başarısızlığı olan dişler) enfeksiyonlu dişlerde hedef bakterilerin dağılımları	51
Şekil 4.3: Universal bakteriyel primerler kullanılarak yapılan PCR analizinin UV ışık altında agaroz jeldeki görüntüsü	63
Şekil 4.4: <i>P.gingivalis</i> spesifik primerleri kullanılarak yapılan PCR analizinin UV ışık altında agaroz jeldeki görüntüsü	63
Şekil 4.5: <i>T.forsythia</i> spesifik primerleri kullanılarak yapılan PCR analizinin UV ışık altında agaroz jeldeki görüntüsü.	64
Şekil 4.6: <i>P.endodontalis</i> spesifik primerleri kullanılarak yapılan PCR analizinin UV ışık altında agaroz jeldeki görüntüsü	64
Şekil 4.7: <i>P.nigrescense</i> spesifik primerleri kullanılarak yapılan PCR analizinin UV ışık altında agaroz jeldeki görüntüsü	64

Şekil 4.8: <i>F.nucleatum</i> spesifik primerleri kullanılarak yapılan PCR analizinin UV ışık altında agaroz jeldeki görüntüsü	65
Şekil 4.9: <i>P.micros</i> spesifik primerleri kullanılarak yapılan PCR analizinin UV ışık altında agaroz jeldeki görüntüsü	65

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1: Tanımlanmış oral streptokok türleri	8
Tablo 2.2: Tanımlanmış Aktinomiçes türleri	11
Tablo 2.3: Siyah pigmentli Bacteroides türleri ve yeni sınıflandırmadaki adları	14
Tablo 2.4: Pigmentsiz oral <i>Bacteroides</i> türleri	14
Tablo 2.5: Endodontik enfeksiyonlarda bakterilerin sınıflandırılması	16
Tablo 2.6: Periradikuler hastalıkların değişik formlarıyla ilişkili patojenler	32
Tablo 3.1: Kullanılan primerler, hedeflenen türe ait ampikon uzunlukları ve referansları yer almaktadır	44
Tablo 3.2: Tüm mikroorganizmalar için uygulanan amplifikasyon koşulları	45
Tablo 4.1: Primer ve sekonder enfeksiyonlu hastaların cinsiyet ve yaş dağılımı	48
Tablo 4.2: Çalışmada PCR yöntemi ile araştırılan anaerob bakterilerin dağılımı	49
Tablo 4.3: Primer (nekrotik dişler) ve sekonder (tedavi başarısızlığı olan dişler) enfeksiyonlu dişlerde hedef bakterilerin dağılımları	51
Tablo 4.4: Primer ve sekonder enfeksiyonlu dişlerde bakteri türlerinin sayısal dağılımları (1)	52
Tablo 4.5: Primer ve sekonder enfeksiyonlu dişlerde bakteri türlerinin sayısal dağılımları (2)	53
Tablo 4.6: Sadece bir tür bakteri varlığının tespit edildiği kök kanal örnekleri	54
Tablo 4.7: Tüm kök kanal enfeksiyonlu dişlerde sadece iki bakteri bulunan örneklerin primer ve sekonder enfeksiyonlu dişlerdeki dağılımı	54
Tablo 4.8: Primer enfeksiyonlu dişlerde sadece iki bakteri bulunan örneklerdeki bakteri türleri	55
Tablo 4.9: Sekonder enfeksiyonlu dişlerde sadece iki bakteri bulunan örneklerdeki bakteri türleri	56
Tablo 4.10: Tüm örneklerde tespit edilen ikili bakteri kombinasyonları	57
Tablo 4.11: Tüm kök kanal örnekleri ile primer ve sekonder enfeksiyonlu dişlerde siyah pigmentli bakterilerden bir ya da birkaçının bulunma oranları	57

Tablo 4.12. Aseptomatik ve semptomatik dişlerin primer ve sekonder Enfeksiyonlu dişlerde dağılımları	58
Tablo 4.13. Primer ve sekonder enfeksiyonlu dişlerde klinik bulguların dağılımı	59
Tablo 4.14. Aseptomatik ve semptomatik dişlerde bakteri türlerinin sayısal dağılımları	59
Tablo 4.15. Siyah pigmentli bakterilerden bir ya da bir kaçının bulunduğu örneklerin aseptomatik ve semptomatik dişlerdeki dağılımı	60
Tablo 4.16. Hedef bakterilerin aseptomatik ve semptomatik dişlerde dağılımı	61
Tablo 4.17. Hedef bakterilerin klinik belirti ve semptomlara göre dağılımı	62

KISALTMALAR DİZİNİ

CFU:	Colony Forming Unit
CRP:	Katabolit repressor protein
CYA:	Adenilat siklaz
DNA:	Deoksiribonükleik asit
DS :	Distile su
EDTA:	Etilendiamintertraasetik asit
<i>E.faecalis</i> :	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>F.nucleatum</i> :	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
GİS:	Gastrointestinal sistem
LPS:	Lipopolisakkarit
NAGA:	N-asetil glukoz amin
NAMA:	N-asetil muramic asit
NaOCl:	Sodyum hipoklorid
PCR:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<i>P.endodontalis</i> :	<i>Phorphyromonas endodontalis</i>
<i>P.gingivalis</i> :	<i>Phorphyromonas gingivalis</i>
<i>P.intermedia</i> :	<i>Prevotella intermedia</i>
<i>P.melaninogenica</i> :	<i>Prevotella melaninogenica</i>
<i>P.micros</i> :	<i>Peptostreptococcus micros</i>
<i>P.nigrescense</i> :	<i>Prevotella nigrescense</i>
SF:	Serum Fizyolojik
subsp:	Alt türler
spp :	Türler
TBE:	Tric-borate-EDTA
TE buffer:	TrisEDTA buffer
<i>T.forsythia</i> :	<i>Tannerella forsythia</i>
ÜSY:	Üst solunum yolları

ÖZET

Endodontik Enfeksiyonlu Hastalarda Moleküler Ve Konvansiyonel Yöntemlerle Etyolojik Ajanların Tespiti

Bu çalışmanın amacı, nekrotik pulpalı dişlerden ve endodontik tedavi başarısızlığı görülen kök kanallarından alınan örneklerde, belirlenmiş olan bazı anaerob bakterilerin varlığının PCR yöntemi kullanılarak araştırılması ve bu patojenlerin birbirleri ile ve klinik semptomlarla ilişkilerinin incelenmesidir.

Çukurova Üniversitesi Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı kliniğine başvuran ve kök kanal tedavisi endikasyonu konmuş olan toplam 107 bireyin yer aldığı çalışmada, daha önce herhangi bir endodontik tedavi görmemiş 72 primer enfeksiyonlu (nekrotik pulpalı) ve endodontik tedavi görmüş ancak apikal periodontitis bulgusu gösteren 35 sekonder enfeksiyonlu (apikal periodontitisli ve eski kanal tedavili) dişlerden alınan kök kanalı örnekleri incelendi.

Primer ve sekonder enfeksiyonu bulunan dişlerin kök kanallarından alınan klinik örneklerde anaerob bakterilerden *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella nigrescens*, *Tannerella forsythia*, *Peptostreptococcus micros* suşlarının tanısı spesifik primerler kullanılarak in-house PCR yöntemi ile yapıldı.

Tüm örneklerdeki pozitiflik oranları değerlendirildiğinde 107 örnekten 55 (%51,4)'de pozitif bulunan *P.gingivalis*'in en yüksek orana sahip olduğu; bunu sırasıyla %46,7 ile *P.micros*, %44,9 ile *P.endodontalis*, %43,9 ile *F.nucleatum*, %33,6 ile *P.intermedia*, %30,8 ile *T.forsythia*, %22,4 ile *P.melaninogenica* ve %15,9 ile *P. nigrescens*' in takip ettiği belirlenmiştir.

Hem primer hem de sekonder enfeksiyona sahip olan dişlerde pozitiflik oranları değerlendirildiğinde, *P.gingivalis* pozitifliğinin, sırasıyla %54,2 ve %45,7 oranlarında yer aldığı ve her iki grupta da en yüksek pozitifliğe sahip anaerob tür olduğu tespit edilmiştir.

Tüm kök kanal örneklerinden elde edilen pozitiflikler değerlendirildiğinde, örneklerin %22,4'ü sadece tek bir tür bakteri pozitifliği gösterirken, %23,4'nün sadece iki bakteri, %13,1'nin sadece üç bakteri, %27,1'nin dört bakteri, %11,2'nin beş bakteri ve %2,8'nin ise 6 bakteri pozitifliği gösterdikleri tespit edilmiştir.

Primer enfeksiyonlu dişlerde *F.nucleatum* ve *P.gingivalis*, sırasıyla %6,9 ve %4,2 ile tek başına en çok tespit edilen bakteri türleri olurken, sekonder enfeksiyonlu dişlerden alınan örneklerde, *P.endodontalis* ve *P.gingivalis*, sırasıyla %14,3 ve %8,6 oranları ile, sadece bir kanal örneğinde tek başına en çok bulunan bakteri türleri oldukları tespit edilmiştir. Tüm kök kanal içi örneği alınan 107 hastadan 21'nin klinik belirti ve bulgu göstermeyen asemptomatik vakalar oldukları, 86'nın da klinik olarak belirti ve bulgu gösteren semptomatik vakalar oldukları belirlenmiştir.

Anahtar sözcükler: Anaerob bakteri, Endodontik, Primer enfeksiyon, Sekonder enfeksiyon, Semptom

ABSTRACT

Identification Of Etiological Agents With Molecular And Convantional Methods In Patients With Endodontic Infections

The aim of this study is to investigate the presence of some selected anaerobic bacteria from the root canal samples of teeth with necrotic pulps and with failing endodontic treatment by using PCR method and determine the associations between pathogens and clinical symptoms.

A total of 107 patients who applied to Cukurova University, Faculty of Dentistry, Department of Endodontics and have root canal treatment indication, were involved in this study. Root canal samples of 72 teeth with primary infection (necrotic pulp) with no prior endodontic treatment and 35 teeth with secondary infection (have apical periodontitis and prior root canal treatment) showing apical periodontitis symptoms were investigated in this study.

The identification of selected anaerobic bacteria species: *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella nigrescens*, *Tannerelle forsythia*, *Peptostreptococcus micros* in clinical samples of root canals of teeth with primary and secondary infections were done by in house PCR method by using spesific primers.

Evaluation of positive samples in 107 of whole study samples showed the highest ratio of *P.gingivalis* which is positive in 55(51,4%) of 107 samples. This is followed by the positivity ratios of *P.micros* with 46,7% *P.endodontalis* with 44,9%, *F.nucleatum* with 43,9%, *P.intermedia* with 33,6%, *T.forsythia* with 30,8%, *P.melaninogenica* with 22,4% and *P.nigrescens* with 15,9% respectively.

Evaluation of positive samples in teeth with primary and secondary infections showed rates of *P.gingivalis* were found to be 54,2% and 45,7% respectively in these groups and retained that it has the highest positivity in all of the anaerob species.

When the positivity rates of all root canal samples evaluated it is found that 22,4% of samples showed only one genus positivity while 23,4% have only two genus positivity, 13,1% have three genus positivity, 27,1% have four genus positivity, 11,2% have five genus positivity and 2,8% have six genus positivity.

F.nucleatum and *P.gingivalis* in teeth with primer infections were identified with ratios of 6,9% and 4,2% respectively and *P.endotontalis* and *P.gingivalis* in teeth with seconder infections identified with ratios of 14,3% and 8,6% respestivels in a single canal sample.

Twenty one of 107 patients that root canal samples were taken, showed no clinical signs and symptoms were asemptomatic cases and 86 were found to be symptomatic cases who showed clinical signs and symptoms.

Key words: Anaerobic bacteria, Endodontic, Primary infection, Secondary infection, Semptom

1. GİRİŞ

Pulpal ve periapikal patolojik oluşumların gelişmesine neden olan kök kanal enfeksiyonları zorunlu ve fakültatif anaerobik mikroorganizmaların baskın olarak rol oynadığı miks ve semispesifik enfeksiyonlardır.

Pulpa hastalıkları ile bakteriyel enfeksiyonlar arasında muhtemel bir ilişkinin varlığından ilk kez oral mikrobiyolojinin babası olarak da bilinen W.D.Miller¹ (1894) bahsetmiş; Kakehashi et al.² (1965) yılında bakterilerin pulpal ve periradiküler hastalıklara neden olduklarını gösteren bir çalışma yayınlamışlardır. Takip eden dönemlerde farklı anaerobik bakteri izolasyon ve identifikasyon tekniklerin gelişmesi ile endodontik bölgede bazı anaerobların kolonize olabildikleri gösterilmiştir³. Fabricius et al.⁴ 1982 yılında, belirli bir zaman diliminde, kök kanal sisteminin ekolojisindeki değişimlerden dolayı, sitrik anaerob mikroorganizmaların fakültatif anaerob bakterilere baskın geldiklerini göstermişlerdir.

Oral kavitede bu güne kadar 700'den fazla bakteri türünün kolonize olabildiğinin gösterilmiş olmasına rağmen, endodontik enfeksiyonlardan izole edilen bakteri sayısı son derece sınırlı olup bu enfeksiyonlardan sıklıkla *Bacteriodes*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Eubacterium*, *Peptostreptococcus*, *Streptococcus* ve *Lactobacillus* türleri izole edilmektedir^{5,6}. Anaerobik bakteriler, farklı klinik tablolarla seyreden endodontik enfeksiyonlar ve kök kanal enfeksiyonlarında, sıklıkla tek başlarına, bir başka anaerobik bakteri ile birlikte veya aeroblarla birlikte major etiyolojik ajanlar olarak bulunurlar⁷⁻¹⁰.

Polimikrobiyal etyolojiye sahip olan kök kanal enfeksiyonlarında endodontik hasar, mikroorganizmaların virülans faktörleri arasındaki sinerji sonucu gelişmekte ve enfeksiyonun zamanına ve periradiküler hastalıkların tipine bağlı olarak bakteri çeşitliliği farklılaşmaktadır. Nitekim dentoalveoler enfeksiyonların farklı formlarından farklı bakterilerin simbiyotik ve antagonistik ilişkilerinin sorumlu olduğu yapılan çalışmalarla¹¹⁻¹⁶ gösterilmiştir. Kök kanal sistemine mikrobiyal invazyon sonucu gelişen kök kanal enfeksiyonları semptomatik veya asemptomatik inflamatuvar hastalıklardır¹⁷. Asemptomatik dişlerin kök kanallarından izole edilen mikroorganizmalarla

semtomatik dişlerin kök kanallarından izole edilen mikroorganizmalar arasında da farklılıklar olduğunu gösteren alışmalar^{3,18-20} mevcuttur. Akut ve kronik apikal periodontitisli olguların mikrobiyolojik bulguları arasındaki temel farklar, kronik yani asemptomatik lezyonlu dişlerde tek bir kanaldan izole edilen farklı türlerin çeşitlerinin daha az olması ve semptomlarla ilişkili, bazı spesifik cinslere nadir rastlanmasıdır.

Son dönemlerde bildirilen birkaç alışmada²¹⁻²³ farklı coğrafik bölgelerde yaşayan ve apikal periodontitisi bulunan hastaların kök kanal örneklerindeki bakteri kompozisyonları karşılaştırılmış ve endodontik orijinli enfeksiyonlarda bazı türlerin prevelansının coğrafi lokasyonlarına göre farklılıklar gösterebileceğinden bahsedilmiştir.

Bu bilgiler ışığında, çalışmamızda, primer enfeksiyonlu nekrotik pulpalı kök kanallarından ve sekonder enfeksiyonlu kanal tedavisi başarısızlığı görülen kök kanallarından alınan örneklerde, bazı anaerob kök kanal patojenlerinin varlığını moleküler yöntemlerden PCR metodu kullanarak araştırmayı hedefledik. Bunun yanında, bu patojenlerin birbirleri ile ve klinik semptomlarla ilişkilerinin ve de farklılıklarının değerlendirilmesi de temel hedeflerimizi teşkil etmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

Ağız içi enfeksiyonlarının irdelenmesi oral bölgedeki anatomik oluşumlar, oral flora bakterileri ve enfeksiyona sebep olabilecek mikroorganizmalar ile enfeksiyon mekanizmasının ilişkilerinin ortaya koyulması ile mümkündür.

2.1. Anatomik oluşumlar

2.1.1 Oral kavite

Oral kavitede bulunan birçok farklı fiziksel ve fonksiyonel özelliğe sahip anatomik oluşumlar, farklı mikroorganizmaların kolonizasyonu için ideal matriks teşkil ederler Dil, yanaklar, palatinal bölge ve dudaklar gibi mukozal yüzeyler semisolid matriks özelliğine sahipken, dişler ve gingival oluklar solid matriks ihtiyacı duyan mikroorganizmalar için ideal tutunma alanlarını oluştururlar. Diğer taraftan bu özel ortamlar içerisindeki ısı, oksidasyon redüksiyon potansiyeli ve pH gibi metabolik faktörlerin kompozisyonu ile bölgedeki diğer flora bakterileri ve metabolitlerinin çeşitliliği mikroorganizma popülasyonunun spesifikasyonuna yardım eder^{3,4,24,25}. Son olarak bu farklı mikro çevrelerin, beslenme ve hijyen alışkanlıkları, tükürük akışı, antibiyotik tedavileri, dental restorasyonlar, yapılan ağız içi tedavileri gibi değişkenlerle modifikasyonu da kompleks polimikrobiyal ekosistemin oluşumuna katkıda bulunur. Nitekim sağlıklı bireylerde tükürükteki bakteri miktarı 10^8 kfu/ml iken bu oran gingival olukta 10^{11} kfu/ml'e yükselmektedir²⁶. Ancak özellikle anaerob mikroorganizmaların tanısında kullanılan yöntemlerin yetersizliği sebebi ile oral kavite de yer alan bu mikroorganizma türlerinin %50'si henüz kültür yöntemleri ile tanımlanamamıştır²⁷. Son yıllarda başta viruslar ve bazı müşkülpesent bakterilerin tanısında başarı ile uygulanan moleküler tanı yöntemlerinin yardımı ile bu mikroorganizma türleri, lokalizasyonları ve sebep oldukları oral patoloji hakkında değerli bilgilerin elde edilmesi mümkün olmuştur.

2.1.2 Pulpa ve Periapeks

Pulpa dişin ortasında yerleşmiş, dişin şeklini taklit eden, ortada dentin, en dışta, koronal bölgede mine, kök bölgesinde sement tabakaları ile çevrili, mezenşimal orijinli yumuşak dokudur. Vücudun diğer bölgelerindeki bağ dokuya benzer ancak zengin bir kök hücre kaynağı olarak daha çok embriyonik bağ dokusunu andırmaktadır. Pulpa, sinirler, vasküler dokular, bağ doku fibrilleri, matriks, interstitsiyal sıvı, odontoblastlar, fibroblastlar, immun sistem hücreleri ve diğer hücresel komponentleri içerir. Pulpa dışarıdan gelen uyarılara karşı farklı cevaplar verebilen dinamik bir dokudur. Normal fizyolojik şartlarda, pulpa, dişin sert dokuları ve periodonsiyum tarafında iyi korunmakta; ancak bu bariyerlerin bütünlüğündeki bozulma pulpa hastalıklarının gelişiminde rol oynamaktadır. Mikroorganizmalar ve ürünleri bu şartların değişmesine ve diğer bağ dokularda olduğu gibi pulpada da inflamatuvar cevabın ortaya çıkışına neden olmakta; sebep ortadan kaldırılmadığında ise dokuda bozulma ya da bütünüyle yıkım gerçekleşebilmektedir. Canlılığını yitirmiş (nekrotik) pulpa, mikrobiyal invazyona karşı dirençsizdir ve bozulmuş mine ve dentin tübülleri vasıtası ile pulpaya ulaşan endojen mikroorganizmaların periapikal dokularda geliştireceği hasar da kaçınılmaz olur. Periapeks, periodontal membran, kemik, pulpa ve sementin birleştikleri bir kavşak niteliği gösteren, değişim yeteneği ve aktif fizyolojisi olan bir alandır²⁸ (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Pulpa ve periapaksin şematik görünümü.

Pulpa hastalıkları ile bakteriler arasında ilişkiyi ilk kez W.D.Miller¹ (1890) keşfetmiş; Kakehashi et al.² (1965) bakterilerin pulpal ve periradiküler hastalıklara neden olduklarını gösteren bir çalışma yayınlamışlardır. Bu çalışmada, farelerde normal sağlıklı mikrobiyal florası bulunan pulpaları ekspoz etmişler ve lezyon bölgesinde mikroorganizma yokluğunda lezyonda spontan iyileşme gözlenirken, mikroorganizma varlığında pulpa nekrozu ve periradiküler lezyon oluştuğunu göstermişlerdir^{2,29}. Dental çürükler mikroorganizmaların kök kanal sistemine geçişinde en sık rol oynayan faktörlerdir. Bunun yanında mine, sement veya dentinin belirgin demineralizasyonu, travma ve konjenital anomaliler sonucu pulpa ekspoz olabildiği gibi, dentin tübülleri, mine lamelleri ve anakorezis yoluyla da enfekte olabilmektedir^{30,31,32}.

2.2. Oral flora bakterileri ve Anaerobik bakteriler.

Gastrointestinal Sistemin (GİS) giriş kapısı olan oral kavite, insan üst solunum yolları (ÜSY) ve GİS’de mevcut olan aerobik ve anaerobik bakteriler başta olmak üzere flora mikroorganizmalarının büyük çoğunluğunu barındırmaktadır³³. Son derece dinamik ve değişken flora sahip oral kavitede meydana gelen doku patolojilerinde mikrobiyal ajanların rolleri bu sebeple uzun süre çok iyi anlaşılamamıştır. Ancak ilk gözlemler bu ilişkiyi doğrular nitelikte olmuştur. Örneğin asemptomatik kişilerin dişlerin kök kanallarından izole edilen mikroorganizmalarla semptomatik hastaların dişlerinden izole edilen bakteri popülasyonunun farklı özellik gösterdiği dikkat çekmiştir^{13,45}. Benzer şekilde, 1970’li yılların ortalarına kadar oral kavitedeki cerrahi yara enfeksiyonlarında, yara yerinden alınan materyallerden sıklıkla etyoloji ile ilişkilendirilebilecek bir mikroorganizma izole edilemezken, yapılan gram yayma preparasyonlar da farklı morfolojik özelliklere sahip çok sayıda mikroorganizmaların varlığı gözleniyordu. Ancak insanlarda farklı vücut bölgelerinde flora bakterisi olarak görülen ve bakteriyemi, beyin absesi, menenjit, alt ve üst solunum yolları ve GİS’de primer veya sekonder patojenler olarak yüksek morbidite ve mortalite hızına sahip enfeksiyonlara sebep oldukları bilinen anaerobik bakterilerin bu enfeksiyonlarla ilişkileri ve gerçek insidansları, tanı yöntemlerindeki yetersizlikler sebebi ile hala tespit edilemiyordu³⁵. Klasik yöntemlerle tanımlanamayan bu mikroorganizmaların, oral kaviteyi de içeren deri, muköz membranlar, üst solunum yolları, sindirim sistemi ve genital bölgelerin floralarında baskın olarak görülen endojen kaynaklı anaerobik

bakteriler oldukları tahmin edilmekteydi. Takip eden dönemde oral kavitedeki enfeksiyonlarda, kök kanal enfeksiyonlarında ve özellikle gecikmiş yara iyileşmelerinde anaeroblarla birlikte aerobik ve fakültatif anaerobik bakterilerin de rollerinin olabileceği ileri sürülmeye başlandı^{13,17,36}. Dental çürükler de aerobik ve mikroaerobik bakterilerin mine yüzeyine kolonizasyonu ile başlamakta ve anaerobların baskın olduğu kompleks bir enfeksiyona doğru gelişim göstermektedir³⁵. Ancak bu hipotezler anaerobik bakterilerin sıklıkla polimikrobiyal karakterli enfeksiyonlarda rol oynamaları, tanı amaçlı olarak alınan klinik materyalin endojen flora ile kontaminasyonunun önlenememesi, örnek alınması ve transportu sırasında oksijen maruziyetine bağlı olarak görülen bakteri kayıpları, transport tekniklerindeki yetersizlikler, diğer bakterilere göre yavaş üreme, izolasyon ve identifikasyondaki zorluklar ve kullanılan yöntemlerin pahalı olması gibi sebeplerle yeteri kadar ispatlanamamıştır.

Günümüzde uygun anaerobik bakteri kültür ve identifikasyon tekniklerinin kullanılması ile polimikrobiyal enfeksiyonlardaki anaerobik bakteriyel patojenlerin tespiti mümkün hale gelmiş, pulpal ve periapikal enfeksiyonlarda etyoloji büyük ölçüde aydınlatılmış, özellikle nükleik asit temelli metodların bakteri identifikasyonun da kullanılması ile yeni türlerin enfeksiyonlarla ilişkileri ortaya konmuş ve en önemlisi anaerobik bakterilerin taksonomik yapılarında önemli değişimler olmuştur.

Bu yöntemlerin kullanıldığı çalışmalarda oral kavite de yer alan anaerobik bakterilerin aerobik bakterilerle birlikte ko-enfeksiyonlar oluşturdukları, anaerobların sayıca daha fazla ve patogeneze yönünden daha aktif rol oynadığı bu enfeksiyonların pulpal ve periapikal bölgede patolojik lezyonların gelişmesine neden olduğu gösterilmiştir. Nekrotik kök kanallarındaki floranın oluşumu normal flora oluşumu gibi, kök kanalındaki oksijen miktarı, besinlerin girişinin elde edilebilirliği ve çeşitliliği, pH potansiyeli, mikroorganizmalar arasındaki sinerji ve rekabet ile konak savunma sisteminin durumu gibi değişkenler belirlenir^{3,24}. Ancak maymunların kök kanallarının endojen oral bakterilerle enfekte edildiği bir çalışmada²⁵, belirli bir süre sonra kanallardan izole edilen mikroorganizmaların %98'inin zorunlu anaeroplardır olduğu bildirilmiştir. Diğer yandan Baumgartner ve Falkler³⁷, çürükle ekspoz olmuş dişlerin apikal 5 mm'sinden kültüve edilen zorunlu anaeroplardır, bakterilerin %67'sini oluşturduğunu göstermişlerdir. Sundqvist et al.⁹ nekrotik pulpalı ancak çürüksüz dişlerde kök kanallarındaki zorunlu anaeroplardır, bakteri popülasyonunun %90'ından

fazlasını oluşturduğu tespit etmişlerdir. Yapılan çok sayıdaki çalışmada, nekrotik pulpalı dokuda görülen primer kök kanal enfeksiyonları ile kanal tedavili periapikal lezyonlarda, çoğunu gram negatif ve gram pozitif anaerobik 4 ila 7 bakteri türünün oluşturduğu polimikrobiyal bakteri grubunun yerleştiği gösterilmiştir^{3,83}.

Sonuç olarak anaerobik bakteriler sıklıkla tek başlarına, bir başka anaerobik bakteri ile birlikte veya aeroblarla birlikte farklı klinik tablolarla seyreden endodontik enfeksiyonlar ve kök kanal enfeksiyonlarında major etiyolojik ajanlar olarak bulunurlar^{7-10,39}.

2.2.1. Oral Kavite ve Kök Kanal Enfeksiyonlarında Rol Oynayan

Mikroorganizmalar

Oral kavite, nazofarenks ve gastrointestinal kanaldaki herhangi bir mikroorganizma, pulpa veya kök kanalını enfekte edebilir⁴⁰⁻⁴³. Sağlıklı oral kavitenin bakteri florasının incelendiği bir çalışmada⁴⁴, oral kavitede bulunan, bukkal epitel, sert ve yumuşak damak, diş yüzeyleri, subgingival plak, dilin dorsumu, dilin lateral kenarları ve maksiller anterior bölge olmak üzere 9 farklı bölgedeki mikrobiyal kompozisyon analiz edilmiş ve %60'nın henüz kültür yöntemleri ile belirlenememiş olan gram pozitif ve gram negatif kok ve basillerden oluşan 141 baskın türün varlığı tespit edilmiştir. Bu türlerden bazıları her bölgede bulunurken bazılarının farklı bölgelerde spesifik olarak varlığı bildirilmiştir⁴⁵⁻⁵⁰.

2.2.1.1. Gram Pozitif Koklar⁵¹

2.2.1.1.1. Streptokoklar

Gram pozitif, yuvarlak veya oval şekilli, sporsuz, genellikle hareketsiz, aerob veya fakültatif anaerob olan streptokoklar uzun zincirler yapmalarına rağmen bazen ikiye ikiye veya kısa zincirler halinde de görülen *Streptokoklar* oral mikrofloranın en önemli elemanlarıdır. Büyük bir çoğunluğu oral kavitede tüm kompartmanlar da görülebilirken bazı türleri ile spesifik doku yerleşimi gösteren oral streptokoklar 4 grup içerisinde toplanmış çok sayıda türden oluşurlar (Tablo 2.1).

Tablo 2.1: Tanımlanmış oral streptokok türleri⁵¹

Grup	Tür
Mutans grubu	<i>S.mutans</i> serotip c,e,f <i>S.sabrinus</i> serotip d,g <i>S.cricetus</i> serotip a <i>S.rattus</i> serotip b <i>S.ferus</i> <i>S.macacae</i> <i>S.downei</i> serotip 4
Salivarius grubu	<i>S.salivarius</i> <i>S.vestibularis</i>
Anginosus grubu	<i>S.constellatus</i> <i>S.intermedius</i> <i>S.anginosus</i>
Mitis grubu	<i>S.sangius</i> <i>S.gordonii</i> <i>S.parasonguis</i> <i>S.oralis</i> <i>S.mitis</i> <i>S.crist</i>

Yapılan çok sayıdaki çalışmada alfa hemolitik özelliğe sahip C grubu streptokoklardan *Streptococcus mitis* (*S.mitis*), *Streptococcus salivarius* (*S.salivarius*), *Streptococcus sangius* (*S.sanguis*), *Streptococcus mutans* (*S.mutans*), *Streptococcus miller* (*S.miller*)'in enfekte kök kanallarında bulunan baskın mikroorganizmalar olduğu gösterilmiş, bu mikroorganizmaların ortamda bulunan oksijeni tüketerek anaerob patojen bakterilerin üremesini artırdıkları bildirilmiştir^{45,46,47}. Bu sebeple streptokokların oral kavitedeki, diş çürükleri gibi, enfeksiyon menşeyli her hangi bir lezyona en erken katılan bakteriler oldukları söylenebilir.

Oral streptokoklar arasında asidürik ve asidofilik özelliğe sahip olan en karyojenik bakteri, *S.mutans*'dir. *S.mutans*'ın genomik DNA'sı üzerinde bulunan *hrcA*, *grpE*, *dnaK* genleri, bu bakterinin asit şoku yaratan enzimlerini kodlar. Bu enzimler bakterini pH> 4 olan mikroçevrede yaşamasını sağlar. Bu bakteri sukrozdan, hem glukoz, hem fruktan gibi ekstrasellüler polisakkaritleri oluşturabilir. Böylece diş sert dokularına kolayca yapışabilir. Ürettiği mutacin isimli bakteriyosin, kendisine genetik yakınlığı olmayan bir çok bakteriyi floradan uzaklaştırabilir. *S. sanguis* ise sukrozdan adezin üretir ve asidojenidir. Aynı zamanda endokardit sebebidir. Ayrıca bu bakterinin piluslarında periapikal doku için antijenik olan gliserol fosfat vardır⁴⁷.

2.2.1.1.2. Peptostreptokoklar

Anaerob streptokoklar peptostreptokok olarak adlandırılır. Yüksek oranda proteolitik olmaları ve pulpa nekrozu halinde tipik olan düşük oksijenli ortamda üreme kabiliyetine sahip olmaları patojenitelerinde önemli rol oynamaktadır⁴⁶. Peptostreptokokların büyük çoğunluğu proteolitikdir. *Peptostreptococcus anaerobius* (*P.anaerobius*)'un katabolik artıkları arasında p-hydroxyhydrocinimic, 4-methylvalerate, α -ketoisocaproate, butyrate esterase, α -galactosidase bulunur ve bunlardan caprylate esterase hariç diğerleri periapikal dokular için toksiktir. Bu bakteri ayrıca NADH oksidaz salar ve bu enzim ile ortamdaki oksijeni suya indirger. Sadece kendisi değil ortamdaki diğer bakterileri de oksijenden korur. *Peptostreptococcus micros* (*P.micros*)'un majör antijenleri 18:1 yağ asitleri, leucine arylamidase, C4 ve C8 esterase'dır. 100 civarında fenotipik varyantı yani biyotipi tespit edilmiştir⁴⁴.

2.2.1.1.3. Enterokoklar

Fakültatif anaerob gram negatif bir kok olan enterokoklar, normal bağırsak florasının üyeleridir. Ancak hastane kökenli enfekte yara sahası, üriner sistem enfeksiyonları ve bakteriyemilerin en sık karşılaşılan patojenlerdir^{48,49}. Enterokoklara immünsuprese hastalarda sıkça rastlanılmaktadır.

Bu bakteriler uygun seçici besiyerlerinin kullanılması halinde, oral kavitede çeşitli kompartmanlardan izole edilebilmektedir. Bu bağlamda en sık karşılaşılan enterokok, *Enterococcus faecalis* (*E.faecalis*)'tir. Antimikrobiyal ajanlara son derece dirençli olan *E.faecalis*, özellikle başarısız endodontik tedavi görmüş dişlerin kök kanallarında sıklıkla bulunmaktadır⁵⁰. Bu mikroorganizma düşük virülansa sahip olmakla beraber kök kanal enfeksiyonlarından sorumludurlar⁴⁷.

2.2.1.1.4. Stafilokoklar, Mikrokoklar ve Stomatokoklar

Bu gruptaki mikroorganizmalar, oral kaviteden çok sıklıkla izole edilemezler. Ancak stafilokokların, protez kullanan hastaların plak örneklerinde bulunduğu bildirilmiştir⁵¹. Ayrıca çeşitli oral enfeksiyonlardan ve immün olarak baskılanmış hastalardan elde edilen plak örneklerinde de rastlanmıştır. Gram pozitif, yuvarlak, hareketsiz, sporsuz, aerob bakterilerdir. Stafilokoklar normal ağız florasında sıklıkla bulunmalarına rağmen kök kanal enfeksiyonlarında çok önemli değildirlir.

Staphylococcus aureus (*S.aureus*) patojendir ancak endodontik kültürde düşük oranda izole edilmektedir. Antiseptik ve dezenfektanlara ise oldukça dirençlidir⁴⁷.

2.2.1.2. Gram Pozitif Basiller⁵¹

Genellikle dental plaktan izole edilirler. *Actinomyces*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium* bu gruba dahil edilmektedir.

2.2.1.2.1. Aktinomiçes Genusu

Gram pozitif, dallanan, filaman şeklindeki anaerob veya fakültatif anaerob mikroorganizmalardır. Geçmişte mantarlar arasında yer aldıkları düşünülen bu mikroorganizmaların, hücre duvarı bileşeni ve penisiline hassasiyet gibi birçok bakımdan mantarlardan çok bakterilere daha yakın oldukları bilinmektedir. *Actinomyces israelii* (*A.israelii*), sıklıkla derin çürük lezyonlarında bulunmakla beraber konvansiyonel endodontik tedavi ve uzayan antibiyotik tedavisine cevap vermeyen ve tedavinin tamamlanması için cerrahi müdahaleye gereksinim duyulan inatçı periapikal enfeksiyonlardan izole edilebilmektedirler^{47,52}. Aktinomiçesler, ekstrasellüler polimer (levanlar) sentezleyerek kendilerinin ve diğer bakterilerin tutunmalarına yardım ederler, ayrıca koagregasyon köprüleri oluştururlar. Bu bakteriler ekstrasellüler yerleşirler. Alkalın fosfataz, C8 esteraz, arylamisaz, kondroidin sülfataz sentezleyip perapikal dokuya salarlar. Hücre duvarındaki N-asetil muramik asit (NAMA) ve N-asetil glikoz amin (NAGA) zincirleri arasındaki pentapeptit köprülerinde dallanan lizin, aspartik asit ve ornitin zincirleri bulunur. Bu sebeple Aktinomiçeslerin ölü bakteri gövdesi bile periapikal bölgede tahriş etkenidir. Ayrıca hücre gövdesinde ısıya duyarlı polar lipidler (*galactosyl digliseride*, *phosphatidylcholine*, *cardiolipin*, *phosphatidylglyserol*, *phosphatidyinositol*) ve fimbrialarında ısıya dirençli protein antijenler (*alanin*, *aspartic acid*, *threonine*, *glutamic acid*) bulunur. Bu antijenlere karşı konakta Tip-IV aşırı duyarlılık gelişir. Bu nedenle iyileşmeye değil kronikleşmeye ve fistül yapmaya eğilimlidir. En sık rastlanan aktinomiçes türleri: *A.denticolens*, *A.israelii*, *A.meyerii*, *A.naeslundii*, *A.odontolyticus*, *A.pyogenes* ve *A.viscosus*'tur. Kök kanalında %15 sıklıkla bulunurlar⁴⁴ (Tablo 2.2).

Tablo 2.2: Tanımlanmış Aktinomiçes türleri⁵¹

Yeni sınıflandırma	Eski sınıflandırma
<i>A. georgiae</i>	Subgingival <i>Actinomyces</i> sp.
<i>A. gerencseriae</i>	<i>A. israelii</i> serotip 2
<i>A. israelii</i>	<i>A. israelii</i> serotip 1
<i>A. odontolyticus</i>	<i>A. odontolyticus</i>
<i>A. naeslundii</i> genotip 1	<i>A. naeslundii</i> serotip 1
<i>A. naeslundii</i> genotip 2	<i>A. naeslundii</i> serotip 2 & 3 <i>A. viscosus</i> serotip 2
<i>A. meyeri</i>	<i>A. meyeri</i>
<i>A. bernardiae</i>	
<i>A. radingae</i>	
<i>A. neuui</i>	
<i>A. europaeus</i>	
<i>A. graevenitzii</i>	
<i>A. turicensis</i>	

2.2.1.3. Gram Negatif Koklar⁵³

Bu grup, *Neisseriaceae* ve *Veillonellae* familyasından oluşur. *Veillonellae* familyası, oral kavitenin bir çok bölgesinden izole edilmekteyse de en fazla dental plakta bulunmaktadır. Bu grup *V. parvula*, *V. dispar* ve *V. atypica* türlerinden oluşmaktadır.

2.2.1.4. Gram Negatif Basiller⁵³

2.2.1.4.1. Fakültatif Anaerob ve Kapnofilik Cinsler

Ağızdaki fakültatif anaerob gram negatif basillerin çoğu, *Haemophilus* genusuna aittir. Genellikle tükürük, dental plak ve epitelyal bölgelerde bulunurlar. *H. parainfluenzae* (biyotip 1, 2 ve 3), *H. segnis* (biyotip 5), *H. paraphrophilus* (biyotip 5), *H. aphrophilus* (biyotip 10), *H. haemolyticus* (biyotip 10, 5), bu gruba dahil edilebilir. Bu türler çene enfeksiyonları ve enfektif endokardit vakalarından izole edilmekle birlikte patojenik özellikleri çok düşüktür. Diğer fakültatif anaerob gram negatif basiller arasında enfektif endokardit, abse ve periodontal hasarlardan sıkça izole edilen *Eikenella corrodens* (*E. corrodens*) bulunmaktadır. Kapnositofajlar (*Capnocytophaga*) CO₂ bağımlı gram negatif basiller olup subgingival plak ve gingivitis vakalarından izole edilmektedir. Bu

türlere, *C.gingivalis*, *C.ochracea*, *C.sputigena*, *C.granulosa* ve *C.haemolytica* dahil edilebilir. Genç erişkinlerdeki agressif periodontal hasardan sorumlu olan *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (*A.actinomycetemcomitans*), mikroaerofilik, kapnofilik ve fakültatif anaerob bir mikroorganizmadır. *A.actinomycetemcomitans*, lökositin, kollajenaz ve proteaz gibi toksin ve enzim yapısında çeşitli virülans faktörlerine sahiptir. *Simonsiella* cinsi mikroorganizmalar da insan ve hayvanlardaki oral kavitenin epitel yüzeylerinden sık izole edilen gram negatif anaerob bir mikroorganizmadır⁵³.

2.2.1.4.2. Zorunlu Anaerobik Gram Negatif Basiller

Bu gruptaki mikroorganizmalar süperoksit dizmutaz ve katalaz enzimlerine sahip değildir⁵⁴. Zorunlu anaerobik gram negatif bakterilerin sınıflandırılması oldukça zordur. Bazı türler çok zor ve yavaş ürerler ve metabolitlerinin konsantrasyonu çok düşüktür. Bu sebeple fermentasyon ve enzim aktivitesi gibi testlerden sonuç elde edilemez. Bu mikroorganizmaların tanımlanabilmesi için DNA-DNA hibridizasyon ve 16S rRNA genin çoğaltılmasını esas alan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) gibi moleküler mikrobiyolojik yöntemler kullanılır^{55,56,57}.

2.2.1.4.2.1. Bakteroides Genusu

Oral anaerobik gram negatif basillerin büyük çoğunluğu, *Bacteroides* genusunun içinde yer almaktadır. Bu grupta gram negatif, hareketsiz, sporsuz, zorunlu anaerob, pleomorfik basiller yer alır. Üreme için kan ve K vitaminine ihtiyaç duyan, yavaş üreyen *Bacteroides*'ler melanin üretimlerine bağlı olarak kanlı agarda üretildiklerinde karakteristik kahverengi veya siyah pigmentli koloniler oluştururlar. Bu nedenle siyah pigmentli anaeroblar olarak bilinirler ve endodontik enfeksiyonlarla yakın ilişki içerisindedirler^{54,58}. Nisengard'a⁵⁸ göre, ilk kez 1921'de Oliver ve Wherry bu mikroorganizmaları oral bölgeden izole etmişler ve başlangıçta bu siyah pigmentin "melanin" olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ancak yakın zamanda "protoheme" olduğu anlaşılan bu pigment, oksijenin toksik etkilerinden hücreleri korumaya yardım eden bir defans mekanizması gibi davranır^{45,54,58}. Ayrıca 'haemin' de siyah pigmentli mikroorganizmalar için hayati bir büyüme faktörü olarak bilinmektedir⁵⁴.

Bacteroides'ler patojeniteye yardım eden kollogenaz gibi hidrolitik enzimler yanında diğer bakteriler için toksik olan amonyak ve hidrojen sülfid üretirler⁵⁹.

Bacteroides genusu, fermentatif *Bacteroides fragilis* ile sınırlandırılmıştır. *B.fragilis* intraabdominal abselerden en sık izole edilen bakterilerdendir ve nadiren dentoalveoler abselerde görüldüğü için oral kommensal olarak nitelendirilmemektedir^{60,61}.

2.2.1.4.2.2. Prevotella ve Porphyromonas türleri

Zorunlu anaerobların bu heterojenik grubu ilk kez 1921'de Oliver ve Wherry tarafından "*B.melaninogenicum*" olarak tanımlanmış ancak günümüze kadar birçok taksonomik düzenlemelerden geçmişlerdir. Önemli oral patojenler arasında yer alan bu grup üyeleri; kanlı agarda siyah ya da koyu kahverengi pigment oluşturlarsa *Bacteroides*'ler, fenotipik farklılıklar gösterirlerse (Holdeman and Johnson 1982, Tanner *et al.* 1992) '*B.melaninogenicum*' olarak, pigmentsiz olurlarsa "*B.oralis*" adı altında tanımlanmıştır. Bu grup üyelerinden glukozu fermente eden sakkarolitik türler *Prevotella* genusu adı altında yeniden toparlanmıştır (Shah and Collins 1990). Bunlar arasında en önemlileri, *Prevotella intermedia* (*P.intermedia*) *P.melaninogenica*, *P.denticola*, *P.loescheii*, *P.intermedia* ve *P.corporis*'dir⁶⁰. Bu gruptaki asakkarolitik olan türler ise yeni *Porphyromonas* genusunu oluşturmuşlardır (Shah and Collins 1988). Daha sonra bu iki genus içerisinde çok sayıda yeni tür tanımlanmıştır (Avgustin *et al.* 1997, Collins *et al.* 1994, Downes *et al.* 2005, Fournier *et al.* 2001, Hirasawa and Takada 1994, Könönen *et al.* 1998a, Love *et al.* 1992, Love *et al.* 1994, Moore *et al.* 1994, Sakamoto *et al.* 2004, Sakamoto *et al.* 2005, Shah and Gharbia 1992)²⁶. Bunlar arasında *P.asaccharolyticus*, *Porphyromonas gingivalis* (*P.gingivalis*) ve *Porphyromonas endodontalis* (*P.endodontalis*) önemlidir⁶¹.

P.gingivalis ve *P.endodontalis* sadece akut enfeksiyonlarda, *P.intermedia* ise hem semptomatik hem de asemptomatik enfeksiyonlardan izole edilmektedir^{62,61}. Yapılan ileri identifikasyon çalışmalarında; *P.intermedia* türünün, *Prevotella nigrescens* (*P.nigrescens*) olarak tanımlanan ve endodontik orijinli enfeksiyonlarda daha sık izole edilen ayrı bir tür içerdiği bildirilmiştir^{63,64}. Kültür ve bilinen ticari kitlerle *P.intermedia* ve *P.nigrescens* suşlarının ayrımı yapılamamakta, bu türlerin ayrımı sadece PCR yöntemi ile gerçekleştirilmektedir.

Prevotella loeschii kanala kök kanal enfeksiyonunun üçüncü döneminde girer ve izole edilme sıklığı %6'dır. Ekstrasellüler ortama fosfolipaz A, β -laktamaz ve dekstran salar. Kök kanalında en yüksek konsantrasyonda β -laktamaz salan bakteridir ve bilinen türlerinin %75'de β -laktamaz aktivitesi bulunur. *P.oris*'de üçüncü dönem bakterisidir ve β -laktamaz ile jelatinazları vardır. Açık bırakılmış kök kanallarında uzun süre yaşayabilen oksijene toleranslı bir bakteridir⁴⁴.

Porphyromonas ve *Prevotella* generasının içinde yer alan türlerin başlıcaları ve yeni sınıflandırmadaki adları Tablo 2.3' de gösterilmektedir.

Tablo 2.3: Siyah pigmentli *Bacteroides* türleri ve yeni sınıflandırmadaki adları⁵⁴.

Siyah-pigmentli Sakkarolitik <i>Bacteroides</i> Türleri	Siyah-pigmentli Asakkarolitik <i>Bacteroides</i> Türleri
<i>Prevotella intermedia</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>Prevotella nigrescens</i>	<i>Porphyromonas endodontalis</i>
<i>Prevotella melaninogenica</i>	<i>Porphyromonas asaccharolyticus</i>
<i>Prevotella denticola</i>	
<i>Prevotella loescheii</i>	
<i>Prevotella corporis</i>	
<i>Prevotella tannerae</i>	

Pigmentsiz oral sakkarolitik türler ve yeni sınıflandırmadaki adları ise Tablo 2.4'de gösterilmiştir.

Tablo 2.4: Pigmentsiz oral *Bacteroides* türleri⁵⁴

Pigmentsiz Sakkarolitik <i>Bacteroides</i> Türleri
<i>Prevotella buccae</i>
<i>Prevotella oralis</i>
<i>Prevotella bivia</i>
<i>Prevotella oulorum</i>
<i>Prevotella ruminicola</i>
<i>Prevotella oris</i>

Sakkarolitik pigmentsiz türler olarak tanımlanan, ancak metabolik son ürünlerine, fermentasyon profillerine ve esas enzimlerine göre farklılaşma gösteren *Bacteroides capillosus*, *Bacteroides forsythus*, *Bacteroides pneumosintes* gibi bakteri türleri akut dentoalveoler abselerden izole edilirler⁵¹. Bu grup da *Bacteroides forsythus* önemlidir ve yeni bir genus olan *Tannerella forsythia* (*T.forsythia*) genusuna transfer olmuştur⁶⁵. Yeni sınıflandırma ile *B.pneumosintes*'in adı da *Dialister pneumosintes* olarak değişmiştir⁵⁶.

2.2.1.4.2.3. Fusobakteriumlar

Zorunlu anaerob gram negatif bakteriler olan, sadece proteinleri enerji kaynağı olarak kullandıkları için çoğu zaman asakkarolitikler olarak tanımlanan ve uzun filamanlar halinde bulunan *Fusobacterium* genusuna *F.alocis*, *F.sulci*, *F.periodonticum*, *F.nucleatum* (alt grupları; *F.subsp. nucleatum*, *F.subsp. polymorphum*, *F.subsp. fusiforme*), *F.vincentii* girmektedir. Atmosfer şartlarına 100 saat direnebilen bu bakteriler, oksijenli ortamda üremeye kolayca alışır

Kök kanal enfeksiyonunun üçüncü döneminde lezyona yerleşen *Fuzobakteriumlar* içerisinde kök kanalında en çok *F.nucleatum*'a rastlanır. Bu isimle tanımlanan bakterinin biyokimyasal farklılık gösteren ve *F.nucleatum*, *F.vincentii* ve *F.polymorphum* olarak tanımlanan üç varyantı tespit edilmiştir. Dolayısıyla *F. nucleatum* ismi ile bu üç fenotip kastedilir.

Diğer gram negatif anaerobik ve mikroaerofilik bakteriler *Leptotrichia buccalis*, *Wolinella succinogens* ve *Campylobacter* türlerini içermektedir. *Campylobacter* türleri *Campylobacter concisus*, *C.showae*, *C.sputarum*, *C.curvus*, *C.rectus* ve *C.gracilis*'tir. *C.curvus*, *C.rectus* ve *C.gracilis*in eski sınıflandırmadaki adları sırasıyla *Wolinella curva*, *Wolinella recta* ve *Bacteroides gracilis*'tir.

2.2.1.5. Spiroket genusu

Endoplazmik flajelli, hareketli bakterilerdir. Oksijen tolerans yeteneklerine göre anaerobikler ve aerobikler olmak üzere iki aile içerirse toplanan spiroketlerden *Treponemalar*, *Spirillumlar*, *Cristispira* ve *Borrelia* genusu mikroorganizmaların yer aldığı anaerobik spiroketler oral patoloji için önemli türlere sahiptir. Örneğin *T.macrodentium*, *T.minutum*, *T. orale*, *T.paraluiscuniculi*, *T.refringes*, *T.scoliodontum*,

T.vincentii enfekte kök kanallarında sık olarak gösterilirler⁵⁹. Bu bakterilerin hücre duvarında, pulpa ve periapikal dokular için antijenik olan *diaminopimelic acid*, *acylglucosamine*, *acylmuramic acid*, *L* ve *D-alanine*, *D-glutamic acid*, *L-ornithine* bulunur. Bu bakteriler sakkarolitik olup çok hareketlidirler ancak kök kanalına girmeleri geç dönemde ve retrograt yolla olduğu için diğer lezyondaki diğer patojenlerden daha erken gözlenirler⁴⁴.

Son yıllarda yapılan çalışmalar sonrası enfekte kök kanalında yüksek miktarlarda izole edilen *T.denticola* ve *T.socranski*'nin de endodontik patojen olarak sayılabileceği bildirilmiştir⁶⁴. Baumgartner ve Falkler³⁷ periapikal lezyon nedeniyle çekilmiş 10 dişin apikal 5mm'lik kısmının mikrobiyolojik incelemesini yapmışlardır. Bu bölgedeki baskın mikroorganizmaları anaerobik olan; *Actinomyces*, *Laktobacillus*, siyah pigmentli *Bacteroides*, *Veillonella*, *E.faecalis*, *F.nucleatum* ve *S.mutans* olarak ifade etmişlerdir.

Endodontik enfeksiyonlarda etken olan mikroorganizmaların sınıflandırılması Tablo 2.5'de görülmektedir.

Tablo 2.5: Endodontik enfeksiyonlarda bakterilerin sınıflandırılması

	Gram – Koklar	Gram – Basiller	Gram + Koklar	Gram + Basiller
Anaerobik Bakteriler	<i>Veillonella</i>	<i>Prevotella</i>	<i>Peptostreptokoklar</i>	<i>Eubacterium</i>
		<i>Porphyromonas</i>		<i>Bifidobacterium</i>
		<i>Bacteroides</i>		<i>Clostridium</i>
		<i>Fusobacterium</i>		<i>Propionibacterium</i>
		<i>Campylobacter</i>		<i>Lactobacillus</i>
		<i>Selenomonas</i>		<i>Actinomyces</i>
		<i>Treponema</i>		
Fakültatif ve aerobic bakteriler		<i>Actinobacillus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Propionibacterium</i>
	<i>Neisseria</i>	<i>Haemophilus</i>	<i>Gemella</i>	<i>Lactobacillus</i>
		<i>Eikenella</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Actinomyces</i>
		<i>Capnocytophaga</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Bacillus</i>
		<i>Enterobacter</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Corynebacterium</i>
		<i>Klebsiella</i>		
		<i>Escherichia</i>		
		<i>Citrobacter</i>		
		<i>Pseudomonas</i>		
		<i>Xantomonas</i>		
		<i>Proteus</i>		

2.3. Enfeksiyon mekanizması:

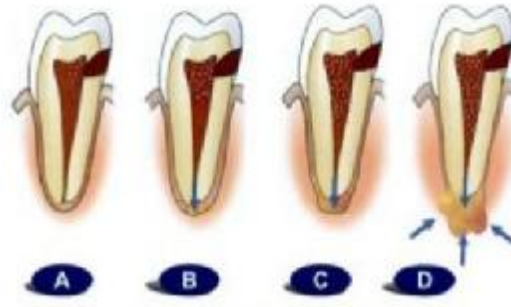
Bütün enfeksiyon hastalıklarda olduğu gibi enfeksiyon oluşumunda patojen mikroorganizma, giriş yolu ve kolonizasyon, konak savunma sistemlerinden kaçış ve doku hasarı adımlarının gerçekleşmesi gerekir. Yukarıda da belirtildiği gibi oral kavitede hastalık oluşturan mikroorganizmaların çoğu kavitede bulunan oportunistler veya USY flora bakterileridir. Ancak doku hasarını başlatacak, travmalar, oral hijyendeki bozukluklar veya fiziki uyaranlarla sinerji oluşturan mikroorganizmalar patolojik lezyonun oluşumuna katılırlar.

2.3.1. Bakterilerin Pulpaya Giriş Yolları

2.3.1.1.Koronal yol

Sağlıklı dişlerde mine ve dentin tabakaları pulpa bölgesine invazyona karşı koruyucudurlar. Ancak bakterilerin büyük çoğunluğunun çapları 1µm'den küçük olup, 1-4µm çapındaki dentin tübüllerinden pulpal bölgeye kolaylıkla invaze olurlar⁶⁶. Bu tübüller içerisinde bakterilerin hareketleri odontoblastik işlem, mineralize kristaller ve immunglobulinleri de içeren makromoleküller tarafından sınırlandırılır²⁹. Çürük gelişimi ile pulpaya doğru bir invazyon olduğunda pulpa temasını engellemek için tamir dentini ve dentin remineralizasyonu oluşur. Ancak çürüğün bölgeden uzaklaştırılmadığı hallerde veya hasar yayılımının tamir olayından daha hızlı ilerlemesi sebebi ile mikrobiyal yayılım pulpaya ulaşır²⁹. Pulpanın açılması ve bakteriyel bulaşma iyatrojenik perforasyonlarda ve travma sonucu kırılan dişlerde görülebilir. Ayrıca abrazyon, erozyon ve atrizyon da pulpanın bakterilerce istila edilmesine neden olabilir⁶⁶⁻⁶⁹. Operatif işlemler esnasında da oral mikroorganizmalar, tükürük kontaminasyonu ve çürük lezyonu aracılığıyla pulpaya ulaşabilir. Öte yandan derin çürüklü lezyonlarda çok sayıda mikroorganizma pulpa ile temas şartı olmaksızın metabolitleri aracılığı ile pulpitis gelişimine yol açabilir (Şekil: 2.2).

Normal şartlarda pulpadaki fagositler invaziv mikroorganizmaları fagosit etmek için çalışır. Ancak mikroorganizmaların sayısı ile virülans ve direnç arasındaki dengeye bağlı olarak iltihabi reaksiyon ilerler. Çürüğün temizlenmesini takiben pulpa da gözle görülür iyileşme gözlenebilmektedir.



Şekil 2.2: Koronal yolla çürük gelişimine bağlı pulpa invazyonu.

2.3.1.2.Retrograd yol

Mikroorganizmalar ile yan ürünleri pulpa odasına kök apeksinden veya diğer aksesuar, lateral ve furkasyon kanallarından girebildiği gibi, periodontal tedaviler sırasında, kök kazıma ve düzleştirme işlemlerinin etkisiyle de pulpayı enfekte edebilmektedir⁶⁷. Periodontal hastalıklar nedeniyle artmış dişeti cep derinliği, periodontal membranı, bakterilerin geçişine uygun hale getirebilir ve oral floranın endojen bakterileri bu yolu kullanarak foramen apikaleye ulaşabilirler. Hareketli bakterilerden spiroketler, *Selemonas sputigena* ve *W.recta* periodontal aralığı ilk geçen mikroorganizmalardır. Retrograd bakteri istilasına uygun ortam yaratan etkenler⁵⁹:

- Kötü ağız hijyeni, yoğun bakteri plağı ve diş taşları,
- Periodontal harabiyet,
- Durmuş veya azalmış dişeti oluğu sıvısı,
- Lokal veya genel immun defektler,
- Travma ve mikrotravmalar,
- Bruksizm.

Periodontal hastalıkların endodontik enfeksiyonlarla ilişkisinin araştırıldığı ve farklı sonuçların elde edildiği bir çalışmada⁶⁸, periodontal kaynaklı abseler de %30-%58 oranlarında spiroket bulunurken, endodontik kaynaklı abseler de bu oranın en fazla %10 olduğu gösterilmiş; bu nedenle de, endodontik hastalıktaki mikrofloranın marjinal periodontitistekine tam olarak benzemediği ileri sürülmüştür.

2.3.1.3.Hematojen Yol –Anakorezis-

Mikroorganizmaların pulpaya giriş yollarından biri de kan veya lenf dolaşımıdır. Vücudun herhangi bir yerinden tesadüfen kana veya lenfatik dolaşıma geçen bir bakteri pulpaya kadar gelir ve enfeksiyonu başlatabilir. Böyle enfeksiyonlar, bakteriyemiye takiben gelişen kök kanalı enfeksiyonları olarak düşünülebilir ve ender olarak görülür. Anamnezde çoğu defa sistemik sorunlar immün defektlerle birlikte olur.

Yapılan araştırmalar operatif işlem uygulanan, fakat pulpanın perfore olmadığı dişlerde kan yoluyla enjekte edilen mikroorganizmaların pulpa da yerleşebildiklerini göstermiştir. Sağlıklı pulpa dokusunda farelerde yapılan bir çalışmada kan yoluyla verilen bakterilerin çok azının sağlıklı pulpa dokusundan izole edilebildiği bildirilmiştir⁵⁹. Ancak travmaya uğramış, pulpası açılmamış dişler bakteriler için uygun hedeflerdir. Koronal yolda olduğu gibi hemotojen yol ile gelen mikroorganizmalar da fagositik hücreler tarafından elimine edilir. Bununla beraber travma ve operatif işlemler pulpa da ileri derecede hasara neden olduğunda tamir hücreleri yetersiz kalır ve hasar gören pulpa mikroorganizmaların gelişmeleri için uygun bir besiyeri işlevi görür⁵⁹. Genel olarak anakorezis, travmaya uğramış dişlerin enfekte olma nedenlerinden biri olarak kabul görmekte⁶⁹; bunun yanında anakorezisin insanlarda pulpal dokuda belirgin hasar oluşturmaya yardım etmediğinin ileri sürüldüğü çalışmalar da bulunmaktadır⁷⁰.

2.3.2. Enfekte Kök Kanalında Bakteri Kolonizasyonu

Mikroorganizmaların konak dokuda kolonizasyonu ancak üremeleri ve gelişimleri için uygun biyokimyasal ve fiziksel şartların varlığında gerçekleşmektedir. Normal oral flora konak dokusu ile kalıcı mikrobiyal kolonizasyonun simbiyotik ilişkisi sonucu oluşur. Normal oral mikrobiyal flora içindeki mikroorganizmalar her ne kadar karşılıklı birçok faydalı ilişki içerisinde olsalar da, dental pulpa veya periapikal dokular gibi vücudun normalde steril olan bölgelerine ulaşmaları oportünistik patojenler haline gelmelerine neden olmaktadır. Bu durumda enfeksiyon hastalığı, dokulara mikroorganizmaların invazyonu ve dokularda buna karşı gelişen ve klinik belirti ve semptomların gelişimine neden olan reaksiyonların bütünü olarak tanımlanabilir. Endodontik enfeksiyonun gelişim aşamaları mikrobiyal invazyon, çoğalma ve patojenik aktiviteleri olarak sıralanabilir. Patojenik aktivite çoğunlukla konak cevabı ile yüksek oranda ilişkilidir.

Patojenite terimi mikroorganizmaların hastalık oluşturma kapasitesini tanımlarken virulans ise patojenitenin derecesini tanımlamak için kullanılır. Bakterilerin hastalıkla ilişkili olan virulans faktörleri bulunmaktadır. Fimbrialar, kapsiller, ekstrasellüler veziküller, lipopolisakkaritler (LPS), enzimler, kısa-zincirli yağ asitleri, poliaminler ve amonyak ve hidrojen sülfid gibi düşük moleküler ağırlıklı ürünler virulans faktörlerini oluşturmaktadır. Fimbrialar, yüzeylere tutunma ve polymikrobiyal bir enfeksiyonlarda diğer bakterilerle olan etkileşimde önemli iken gram negatif siyah-pigmentli bakterileri de içeren mikroorganizmaların kapsülleri, fagositozdan korunmalarında rol oynar⁷¹.

Minede çürük başlangıcında, lezyonun yüzey ve derin tabakalarında bol miktarda streptokok (mutans grubu) ve laktobasilleri tespit etmek mümkünken dentin dokusu henüz dekontamine vaziyettedir ve minede tespit edilen bakterilerin ortak özellikleri gram pozitif ve baskın olarak da sakkorilitik olmalarıdır. Lezyon derinleştikçe, dentin kanalcıkları içerisinde bakteri ve bakteriyel ürünler tespit edilmeye başlar. Dentin kanalcıklarına giren bakterilerin pulpada iltihabik prosesi başlatmaları için pulpaya ulaşmalarına gerek yoktur. Bakterilerin antijenik determinantlarından bir veya birkaç tanesinin odontoblastik uzantılara veya dentin lenfine temas etmesi, pulpanın kimyasal irritasyonu ve iltihabi cevabın başlaması için yeterli sebeptir. İlk gelişen reaksiyonlar nörojenik enflamasyona bağlı olan vazodilatasyon, serum diapedesinde ve immunoglobulin sentezindeki artıştır. Bu dönem reversibil pulpitis dönemidir. Dentin çürüğü kürete edilir, tamamen temizlenir ve pulpa, kuafaj maddeleri ile korunursa buraya kadar olan olaylar geri dönebilir. Bu döneme kadar floraya egemen olan bakteriler, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Actinomyces*, *Rothia* üyeleridir ve bazen *Peptostreptokoklara* da rastlanır⁵⁹.

Klinik şikayetler başlayıncaya kadar *Phorphyromonas* ve *Prevotella* gibi anaerobik patojenlerin dentin çürüğünün mikroflorasında bulunmadıkları bildirilmiştir^{14,15}.

Pulpaya ilk ulaşan bakteriler, karyojenik bakterilerden herhangi biri olabilirken pulpitisin erken döneminde pulpada rastlanan antikorların daha çok *Actinomyces israelii*, *A.naeslundii*, *Eubacterium alactolyticum*, *Lactobacillus casei*, *P.micros*, *P.endodontalis*, *P.intermedia*, *S.mutans* ve *V.parvuma* özgül oldukları bildirilmiştir⁵⁹. Akut pulpitis dönemindeki bakterilerin özellikle sakkorilitik oldukları ve fakültatif ve

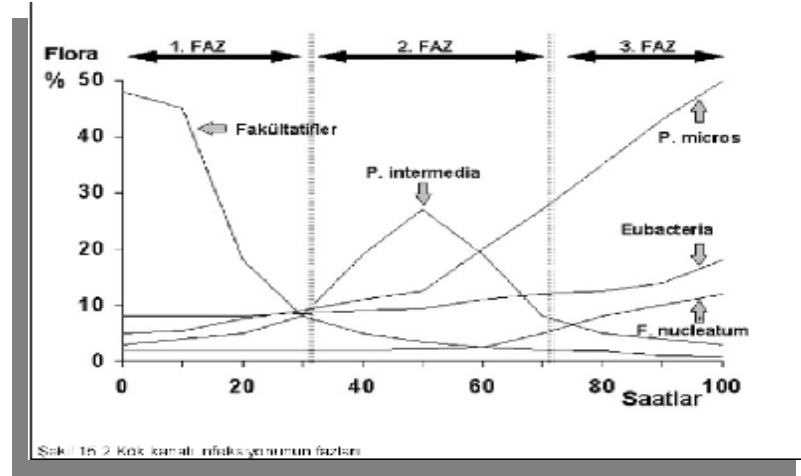
kapnofilik olanların floraya hakim olduklarından bahsedilmekte, proteolitik anaerobların ise henüz ortamda bulunmadıkları veya sayıca az oldukları bildirilmektedir. Mevcut zorunlu anaeroblar ise sakkorilitik olanlardır. Floraya *Streptococcus* ve *Bacteroides* genusunun üyeleri hakim bulunabilir. Pulpa dokusunun tümünde immun reaksiyonlar devam ederken bakteriler pulpa elementlerini dekompoze etmeye başlar ve bağ dokusunun intersellüler komponentleri ve karbonhidratlar bakteriler tarafından ilk önce parçalanan bağ dokusu elementlerini teşkil eder. Oligosakkaritler enfekte pulpanın florasında bulunan sakkorilitik bakteriler tarafından önce disakkaritlere, sonra monosakkaritlere parçalanırlar ve daha sonra heksoz ve pentoz şekerlerine kadar ayrıştırılırlar. Bu sırada lipid komponenti ihtiva eden şekerli bileşiklerin (glikolipidler) bakteriler tarafından parçalanması bir süre ertelenir; çünkü bakteriler daha kolay enerji temin edebildikleri karbonhidratlar ortamda henüz mevcut iken, daha zor enerji temin edebildikleri glikolipidleri kullanmazlar. Bu dönem ‘karbonhidrat fermentasyon fazı’ (kök kanal enfeksiyonunun 1. fazı) adını alır. Pulpitisin geç döneminde başlar, ortamdaki karbonhidratlar tükeninceye kadar devam eder⁴⁴. Pulpada bu faz başladığında bakteriler kanal ağızlarına ulaşmamış veya henüz ulaşmış olabilirler. En belirgin klinik şikayet ağrıdır. Ağrının kaynağı hasarlı bağ dokusundan ortama sızan araşidonik asit türevleri ve doku aminleridir (histamin, prostoglandin, bradikinin, kallikrein, lökotrienler, serotonin gibi). Bu aşamada pulpada sellüler yıkım başlar, ağrı pulsatif karakter kazanır. İlk harab olan hücreler odontoblastlardır, daha sonra pulpaya ait olan hücreler parçalanır. Yıkılan pulpa hücrelerinden arta kalan likid artıklar ve serum diapedesi nedeniyle artan serum pulpa merkezinde mikro abseler oluşturur. Fibriller elementler, intersellüler yerleşimli olmasına rağmen parçalanmaları ertelenir, çünkü proteinden zengindir, enfeksiyonun erken dönemlerinden itibaren giderek daha fibröz bir özellik kazanırlar. Bakteriler kanal ağızlarına vardıklarında kron pulpasında venöz staz başlar. Bu birinci stazdır. Bakteriler kanal ağızlarına ulaştıklarında pulpa içerisindeki sayıları logaritmik olarak artar. Bu sırada bakteriler en yoğun olarak kron pulpasında bulunurlar. Kök pulpasındaki sayıları biraz daha azdır, çünkü kök kanalları içerisinde henüz kan dolaşımı ve bir önceki dönemden kalan immun sistem hücreleri bulunur. Kanal ağızları bakteriler tarafından istila edildiğinde birinci venöz stazı hemen takiben merkezdeki pulpa giderek nekroze olur. Bu önce bir vasküler nekrozdur, sonra koagülasyon nekrozu gelişir. Bu dönemde kron pulpasında

anaerob ekoloji gelişmeye başlar. *Propionibacterium acne* bu dönemde kanala girer ve periapikal abse dönemine kadar kanalda kalır. Propiyonik asit üretir, ayrıca farklı metabolik yollar kullanarak proteinleri de enerji kaynağı olarak kullanabilirler. Bu bakterinin ribonükleaz, nöraminidaz, hyalüronidaz, fosfataz, lesitinaz ve lipazları vardır. Kök kanalı dışına çıkarak ekstraradiküler lezyonlar yapabilir. *P.propionicum* da bu dönem bakterilerindendir ve ürettiği ortamda kuvvetli (propiyonik) asit yapar. Hücre duvarındaki *L-diaminopimelic asit* ve hücre lipitleri antijeniktir. Bu iki *Propionibacterium* cinsi katalaz pozitifdir ve kök kanalındaki mevcudiyetleri zorunlu anaeroblar üzerine baskı uygular. Kök kanalı içerisinde sıklıkla *Spirochaeta* ve *Treponema* genusunun üyeleri de yer alır⁴⁴.

Bir yandan kök pulpasındaki bakteriler perifere yakın olarak apekse doğru ilerlemeye devam ederlerken diğer yandan pulpa odasında karbonhidratlar tükenmeye başlar. Bakteriler apekse doğru, pulpa odasında olduğundan daha hızlı ilerlerler. Apekse varıncaya kadar kanal duvarları boyunca ilerler, kanal pulpasının merkezi kısımları, henüz yoğun olarak bakteri istilasına uğramamış olabilir.

Birinci fazın sonuna doğru pulpa odasında karbonhidratlar tükenir veya iyice azalır. Geride kalan en önemli beslenme kaynakları glikolipidler ve proteinlerdir. Sadece sakkarolitik olan ve proteinleri kullanamayan bakteriler artık enerji temin edemezler ve sayıca azalmaya başlarken hem sakkarolitik hem de proteolitik olan bakterilerde artış olur ve '*glikolipid fermentasyon fazı*'na (*kök kanal enfeksiyonunun 2. fazı*) geçilmiş olur. Sadece protein fermente eden *Fusobacterium*, *Phorphyromonas* ve *Peptostreptococcus* gibi bakteriler yoğun olmamakla beraber bu dönemde lezyonda bulunurlarken bu safhanın en baskın bakterileri *Prevotella* genusuna ait bakterilerdir. Bunların yanı sıra *B.pneumosintes*, *B.ureolyticus*, *P.denticola*, *P.buccae* ve bazı *Eubacterium* türleri de ilk önce kronda daha sonra da kök pulpasında sayıca artarlar³⁶. Bu sırada kök pulpasındaki enfeksiyon da ikinci faza ulaşır ve bakteriyel toksinlerin kanal içi konsantrasyonu giderek artar. Kanaldaki bakteriyel toksinlerin birikimi, bu maddelerin ozmoz ve difüzyon yolu ile periapikal dokulara ulaşması ve periapeksdeki etkilerinin giderek artmasına neden olur. Bakteri toksinleri ve antijenik determinantlarının periapekse yayılmasında kök pulpasındaki kan sirkülasyonunun büyük ölçüde durmuş olmasından dolayı pulpanın venöz ve lenfatik dönüş yollarının minör rolü bulunur⁵⁹.

Kök pulpası ve kron pulpası saatlerle tanımlanabilecek kısa aralıklarla üçüncü döneme girerler. Dolaşımı deprese olan kök kanallarında proteolitik-anaerob bakteriler için cazip bir ortam oluşmuştur. Sakkorilitik ve fakültatif olan diğer bakteriler floradan kaybolurken onların yerine proteolitik anaeroblar gelir. Bu sırada bakteriler, bakteri ürünleri ve immun cevap komponentleri *foramen apikale*'den kanala giren kan damarlarının dekompoze olmasına sebep olur. Apeksde ikinci bir venöz stazın oluşmasını takiben aynı kron pulpasında olduğu gibi kök pulpasın da da, lizis aşaması, yani olan '*protein fermentasyon fazı*' (kök kanal enfeksiyonunun üçüncü ve son fazı) başlar. Bu faz kalıcıdır ve artık diş periapikal lezyonlu olarak tanımlanabilir. Pulpanın akut pulpitis döneminden bu döneme ulaşması yaklaşık 100 saat sürer. Bakterilerin sindirebilecekleri pulpa ve hasarı iletebilecek sinir lifleri kalmadığı için ağrı kaybolur. Karbonhidrat ve glukoproteinler tükenir ve ortamda sadece proteinler kalır. Artık ortam sadece proteolitik anaerob bakteriler için uygundur. Bu dönemin en önemli bakterileri *Actinomyces*, *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Porphyromonas*, *Selenomonas*, *Veillonella*, *Wolinella* genuslarının üyeleri ve spiroketlerdir. Ancak anaerob bakterilerin total floraya oranları %24.3, gram negatiflerin de %24 civarındadır⁷². Bu oran hızla değişerek artar ve daha sonra bakteriler kendi aralarında etkileşerek belirli bir oranda sabit kalırlar³⁶. Her bakterinin total floraya oranı o enfeksiyon için küçük değişimler göstererek tedavi edilinceye kadar aynı kalır. Enfekte kök kanalı içerisinde bulunan üçüncü faz bakterileri belirli bir sayıyı korurlar. Bu sayı yaklaşık olarak 10^{11} ile 10^{17} CFU (CFU=Colony Forming Unit, 1ml'deki bakteri hücresi) arasındadır. Onbeşinci günden sonra anaerobik bakterilerin oranı %47.3'e, gram negatiflerin oranı %46.9'a çıkar⁷². Üçüncü ay dolduğunda sabit orana ulaşılmış olur, anaerobik bakterilerin oranı %90'dan fazladır⁵. Maymunlarda enfekte kök kanallarındaki bakteri dinamiklerinin araştırılmasının amaçlandığı bir çalışmada⁷¹, maymun kök kanalları endojen oral bakterilerle enfekte edildikten sonra ağızları kapatılarak 3 yıl süresince belirli aralıklarla örnek alınmış ve başlangıçta fakültatif anaeroblar baskın olarak gözlenirken, zamanla yerlerini anaerobik bakterilere bıraktıkları tespit edilmiştir. 3 yılın sonunda floranın %98 oranında anaerobik bakterilerden oluştuğu bildirilmiştir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3: Kök kanal enfeksiyonu fazları ve bakteriyel dağılım.

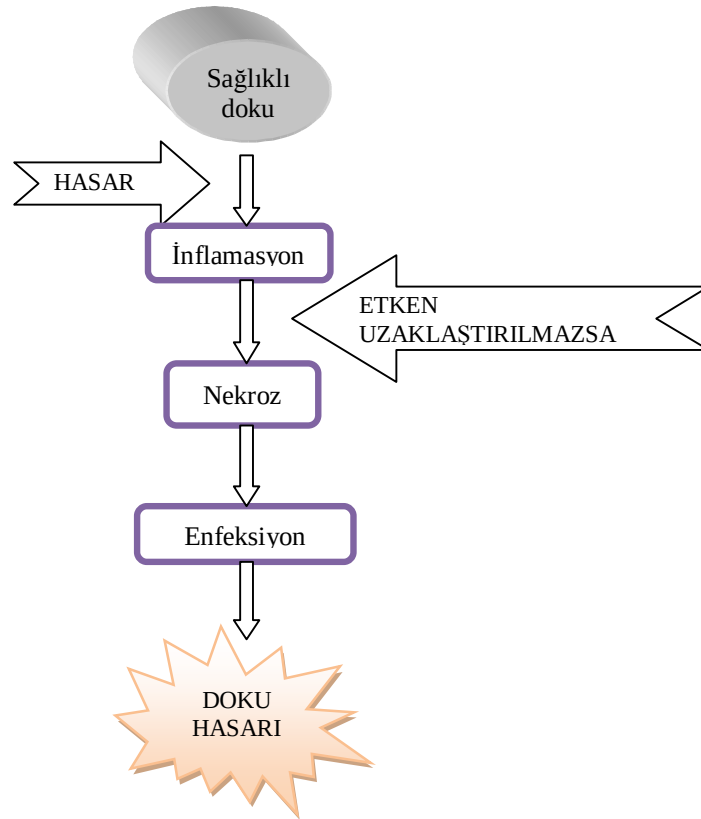
Apikal deltanın bakteri kontaminasyonunu takiben bakterilerin toksinleri ve periapikal dokularda oluşan antijen-antikor kompleksleri periapekteki damar endotelinde birikir ve pulpadaki olaylar periapikal dokulara kayar⁵⁹.

2.3.3.Periapikal Bölgede Enfeksiyon Gelişimi

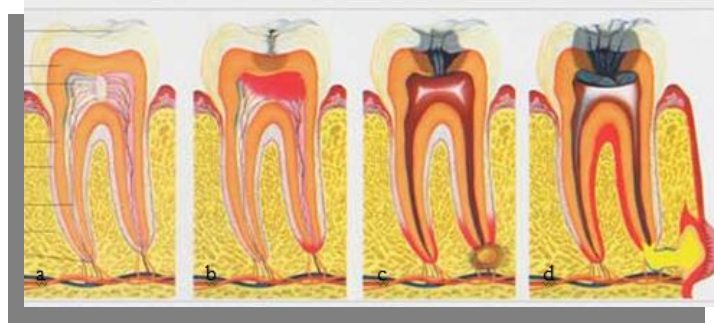
Sağlıklı ve canlı pulpa steril bir dokudur. Bu yüzden pulpa enfeksiyonları ile bağlantılı olan mikroorganizmalar, normalde oral florada da bulunabilen ve pulpa bağlantı dokularına ulaşabilen endojenik oral bakterilerdir. Bu uygun ortam bakterilere çoğalmaları için gerekli olan besini sağlamaktadır. Çoğunlukla bu bakterilerin kendi doğal ortamlarında istila başlatabilecek özellikleri ya yoktur ya da gösteremezler ve düşük virulanslı bakteriler olarak değerlendirilirler. Bu bakterilerin virulansı ancak pulpa gibi dokulara ulaşabildiklerinde artar. Kök kanal enfeksiyonlarını oluşturan faktörler arasında bakteri türlerinin dışında çürük, travma ve periodontal hastalıkların varlığı bulunur. Çürüğün genişlemesi sonucu pulpanın istilası özellikle genç hastalarda görülen bir enfeksiyon şeklidir. Periodontal hastalıklarda lateral yüzeylerdeki aksesuar kanallar bakteri plağına karşı korunmasız duruma gelir. Bu organizmalar aksesuar kanallarda çoğalarak enflamasyon ve nekroza sebebiyet verir ve sonunda pulpa odasına kadar yayılarak enfeksiyon oluştururlar. Şüphesiz aksesuar kanalların enfeksiyonu kök kanal tedavisinin belirgin bir başarısızlığından sorumludur. Gram pozitif *streptokoklara* ek olarak pulpa enfeksiyonları *Neisseira*, *Bacteriodes*, *Fusobacterium* ve *Coliformlar*la bağlantılıdır⁶⁶.

İnflamasyon, dokuda yabancı cisme karşı gösterilen bir immün cevap olup, uyarının sürekliliği doku nekrozu ve doku kaybı ile sonlanır. Tedavi edilmeyen veya ortadan kaldırılmayan bir uyarın sonucu dokuda gelişen hastalığın basamakları Şekil 2.4’de, çürük başlangıcı ile beraber pulpadaki inflamatuvar değişiklikler ve periapikal bölgede enfeksiyon gelişimi ise Şekil 2.5’de şematik olarak gösterilmektedir.

Periapikal periodontitis, kaynağını kök kanalı enfeksiyonundan alan, periodonsiyum ve alveol kemiğine lokalize olarak periapikal bölgede iltihabi cevap ile karakterize, akut başlayıp kronikleşme eğilimi gösteren bir enfeksiyondur⁴⁴. Pulpa dokusunda, çoğunlukla bakteri uyarımına bağlı gelişen reaksiyonların benzer aşamalardan geçerek hastalık oluşturması sonucu gelişmektedir. Periapikal doku hastalıklarının, kök kanalındaki bakteri invazyonuyla direk ilişkili olduğu ve kök kanalları enfekte olmadığında periapikal dokuların inflame hale gelmediği gösterilmiştir⁷³. Kök kanallarında bakteri yokluğunda periapikal iltihabi cevabın oluşmadığı⁷⁴; benzer şekilde devitalize ama enfekte olmayan dişte herhangi bir iltihabi cevabın gözlenmediği rapor edilmiştir⁴.



Şekil 2.4: Uyarının uzaklaştırılmaması sonucu dokuda oluşan reaksiyonların basamakları



Şekil 2.5: Çürük, pulpadaki inflammatuar etkisi ve periapikal bölgede enfeksiyon gelişimi.

- a.** Normal diş **b.** Çürük başlangıcı ve ilerleyişi **c.** İleri yıkıma bağlı derin çürük ve pulpanın iştiraki ile akut apikal periodontitis, submukozal faz **d.** İleri yıkıma bağlı derin çürük ve pulpanın iştiraki ile akut apikal periodontitis, enostal faz.

2.3.3.1. Akut Apikal Periodontitis

Mikroorganizma ve ürünlerinin apikal kök kanalından periapikal dokuya çıkması, ani travma, endodontik kimyasal veya materyaller veya kök kanal tedavileri sırasında enstrumantasyondan hatalarına bağlı oluşan irritasyondan dolayı gelişir. Perküsyonda hassasiyet, spontan ağrı, dişin elevasyonu gibi klinik belirti ve bulgulara eşlik eden kısa süreli konak cevabı gibi başlangıç semptomatik lezyonlar akut apikal periodontitis (başlangıç apikal perodontitis, akut periradiküler periodontitis) olarak tanımlanır⁷⁵. Radyografik olarak; periodontal ligament aralığı ve lamina dura normal olarak gözükmemektedir veya periodontal ligament aralığı hafif kalınlaşmıştır ve dişin apeksinin etrafında lamina dura kaybı görülmektedir. Mobilite artışı olabilir ve ağrının ilk atağı ani gelişir. Hastada oklüzyonda ve basınçta periapikal bölgede hissedilen şiddetli ağrı gözlenir.

Akut apikal periodontitis lezyonlarında vazodilatasyon, ödem, makrofajların ve nötrofil lökositlerin dışarıya çıkması periodontal ligamenti etkilemektedir. Bölgedeki konak savunmasının oluşturduğu ilk tepki enfekte kök kanalından çıkan mikroorganizmaların sınırlandırılması şeklindedir; ancak, bazı durumlarda virulan kök kanal mikroorganizmaları, apikal foramenden çıkış yolu olarak kök yüzeyinde film oluşturmakta veya daha önce sağlıklı olan periapikal doku içinde toplanmaktadır. Bu durumda, çok sayıdaki nötrofil lökositleri de cevap olarak, bölgeye gelir ve yeni başlamış akut lezyon primer periapikal abseye dönüşmeye başlar⁷⁶. Kronik bir lezyonun

da akut alevlenmesi aynı şekilde gelişir ve sekonder apsenin oluşmasına neden olmaktadır. Hem primer apsede hem de alevlenmeyi takiben görülen kemik kaybı ve sınırlı apikal kök rezorpsiyonu, kronik lezyonun gelişmesi için alan yaratır⁷⁷.

Eğer bu durum enfeksiyonla ilişkiliyse, nötrofiller tek başına saldırıp mikroorganizmaları öldürmez onun yerine lökotrien ve prostaglandin salınımı yaparlar. Lökotrien B4 (LTB₄) nötrofilleri ve makrofajları alana getirerek osteoklastlar üzerindeki etkilerine bağlı olarak, kısa bir süre içinde periapaksin çevresindeki rezorbsiyon sonucu periapikal radyolusensi oluşabilir⁷⁸. Başlangıçta görülen hızlı kemik yıkımı indomethacin ile engellenebilmektedir⁷⁹. İndomethacin siklooksijenaz enziminin etkinliğini önleyerek prostaglandin sentezini baskılamaktadır. Nötrofillerin çoğu inflamasyon alanında ölmekte ve enzimlerini salıp ekstrasellüler matriksin ve hücrelerin yıkımına neden olmakta; dokuların kendilerinin neden oldukları yıkım, enfeksiyonun vücudun diğer kısımlarına yayılmasını önlemektedir. Akut cevap sonraki aşamalarda, antijen-antikor kompleksi oluşturarak yoğunlaşmaktadır⁷⁹. Akut erken lezyon, kendiliğinden iyileşme, enfeksiyon artışı ve kemik içine yayılım (alveoler abse), lezyonun dışarıya açılması (fistül) veya kronikleşebilme gibi çeşitli sonuçlar doğurur.

2.3.3.2. Kronik Apikal Periodontitis

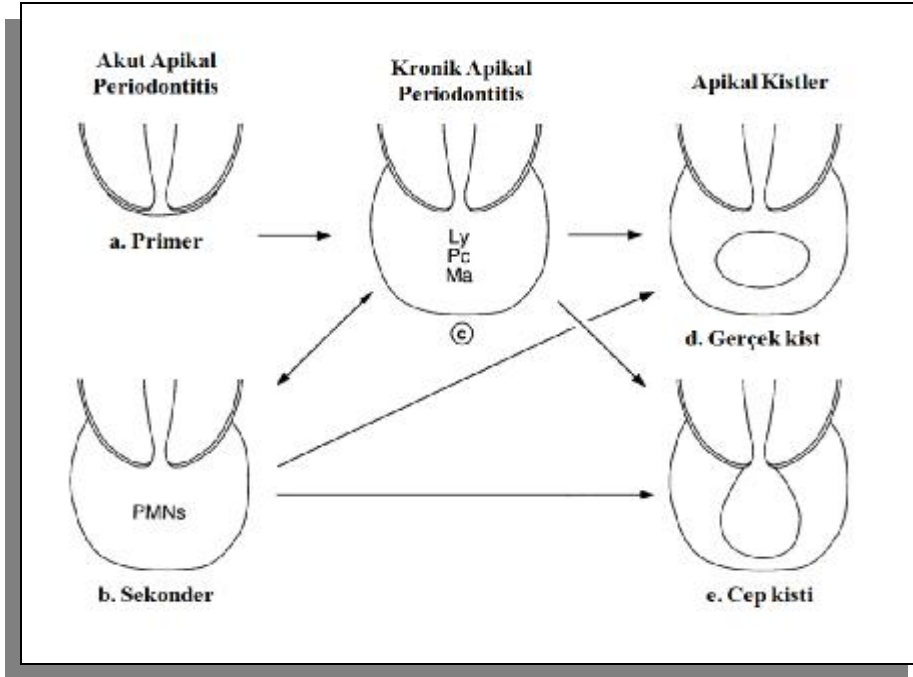
Dental veya periapikal granuloma olarak da adlandırılır. Kök kanalı içerisindeki bakteriler ve konak cevabı arasında denge bulunur ve eğer bu denge bozulursa, şiddetli semptomların eşlik ettiği akut iltihabi reaksiyon gelişir⁸⁰. Histolojik olarak, kök kanalından gelen irritasyonların etkisiyle oluşmuş merkezi bir nekrotik alanı çevreleyen, kronik iltihabi hücreler içeren granülasyon dokusu ile onu çevreleyen, fibröz kapsülden meydana gelir. Yapılan incelemelerde kronik apikal lezyonların %45'inin epitelize olduğu görülmüştür⁸⁰. Epitelize hücreler çoğalarak irregular epitelyal kitle oluştururlar ve böylece vasküler bağ doku sarılmış olur. Bazı lezyonlarda epitel, kök kanalının girişine kadar gelişebilmekte ve apikal foramende tıkaç benzeri örtü oluşturmaktadır⁸¹. Epitelyal hücreler kök yüzeyinde ve kanal duvarında 'epitelyal ataşman' oluşturmaktadır. Ekstraepitelyal dokular, baskın olarak küçük kan damarları, lenfositler, plazma hücreleri ve makrofajlar içermektedir. Doku kapsülü yoğun kollejenaz fiberlerinden oluşmuştur ve kök yüzeyine sıkıca tutunmaktadır, bu yüzden lezyon dışın çekilmesi sırasında dişle beraber çıkabilmektedir.

Kronik apikal periodontitiste, hastanın bu semptomları yoktur, genellikle rutin radyografik inceleme sırasında tesadüfi olarak bulunmaktadır. Pulpa, nekrotik veya enfekte hale gelebilmekte veya önceden kanalları doldurulmuş ve sonrasında enfekte olabilmektedir. Pulpa duyarlılık testlerine cevap yoktur ve röntgende periapikal radyolusent alan görülmektedir. Dişte perküsyon hassasiyeti, oklüzyonda veya palpasyonda ağrı görülmeyebilir ancak dişte bir miktar mobilite görülebilir. Periapikal granuloma, kronik periapikal lezyonlardan en sık görülenidir ve granulomanın klinik tanısı genellikle periapikal radyolusensinin radyografik görüntüsüne veya periodontal ligament boşluğunun kalınlaşmasına dayanmaktadır.

2.3.3.3. Kistik Apikal Periodontitis

Kronik apikal periodontitisin devamı veya sonucu olarak gelişen periapikal ve radiküler kistler, insan çenesini etkileyen tüm kistlerin %52-%68'ni oluşturur⁶⁶. Her kronik lezyon kiste dönüşmez. Kronik apikal periodontitis lezyonundan kist oluşum oranı %6 ve %55 arasında değişmektedir. Tam tanı, lezyonun kök kanal sistemiyle olan ilişkisinin ve çevresindeki epitel kapsülünün yumuşak doku ve diş apeksini içeren bütün biopsi ile incelenmesi sonucu konur. Yapılan seri kesitler ve histopatolojik kriterler gerçek kist oranının %20'den daha az olduğunu göstermektedir⁸⁰. İki tip periapikal kist tanımlamıştır: periapikal cep kistler ve periapikal gerçek kistler. Periapikal cep kistler kese benzeri epitelle sınırlı bir kavitedir ve kök kanalına açıktır. Periapikal gerçek kistler epitel hatla çevresi sarılı olan ve kök kanalıyla herhangi bir ilişkisi olmayan kistlerdir. Tam histolojik kriterler kullanılarak yapılan bir incelemede, çalışılan lezyonların sadece %15'inin kist olarak sınıflandırıldığını, bunların %9'unun periapikal gerçek kist ve %6'sının periapikal cep kist olduğu tespit edilmiştir⁸¹.

Endodontik enfeksiyonlar sonucu gelişen pulpa hastalıkları ve apikal periodontitis gelişimi Şekil 2.6'da görülmektedir.



Şekil 2.6: Apikal periodontitis gelişimi

Diğer kronik periapikal durumlara benzer olarak, genellikle semptom yoktur ve klinik tanı radyografik bulgulara dayanmaktadır. Bununla birlikte, kistin en son tanısı sadece, kök ucunu da içeren biopsinin çok yönlü seri kesitlerinin histolojik incelemesi ile yapılmaktadır.

Apikal gerçek kistler, histopatolojik olarak, kist kavitesi, epitelyal hücre duvarı, extraepitelyal doku ve kollejenaz kapsülü olmak üzere dört ana komponent içermektedir. Kist kavitesi, tam olarak epitelyal hatla çevrelenmiştir ve genel olarak nekrotik doku ve bazen kolesterol kristalleri ve eritrositler içermektedir. Çok katlı yassı epitelin kalınlığı, az katlı hücre tabakasından çok katlı hücre tabakasına kadar değişiklik göstermektedir. Epitelyal hatla fibröz kapsül arasındaki doku, genellikle çok fazla kan damarı ve baskın olarak T lenfositler, B lenfositler ve plazma hücreleri içermektedir⁸². Epitelyal hatta çok bulunan nötrofiller, extraepitelyal alanda nadiren bulunmaktadır.

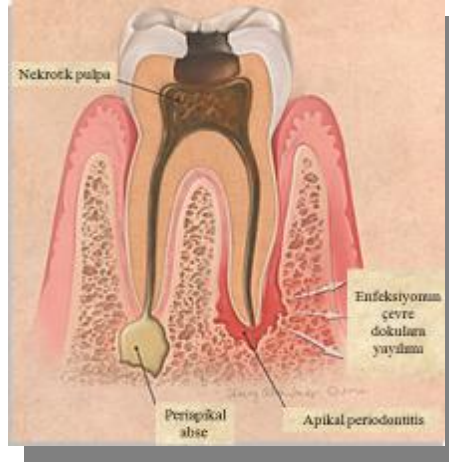
Biyolojik olarak cep kist enfekte kök kanal boşluğunun periapiks içine genişlemesinden dolayı oluşmaktadır. Periapikal cep kistler etkilenen dişin kök kanalına açık, epitel hatla çevrili patolojik kaviteden oluşmaktadır. Apikal kök kanalında bulunan bakteriler nedeniyle apikal foramenin çevresinde nötrofillerin toplanmasıyla apikal cep

kist oluşabilmektedir. Kök kanalının içindeki irritantların kanal tedavisi ile uzaklaştırılmasından sonra iyileşme gözlenmektedir. Periapikal gerçek kistte ise iyileşme kanal içindeki irritantların varlığına ve yokluğuna bağlı olmadığından, gerçek kistler cerrahi tedavi gerektiren lezyonlardır⁵⁹.

2.3.3.4. Extraradiküler Enfeksiyonlar

Primer, sekonder veya persistan kök kanal enfeksiyonu şeklinde seyretmekte ve en çok akut periradiküler abse formunda görülmektedir. İntraradikular enfeksiyonlar kaynaklı ve nadir görülmektedir. Periradiküler lezyonun gelişmesine neden olan mikroorganizmalara konağın oluşturduğu bariyer aşıldığında periradiküler lezyon oluşmaktadır. Kemik dokusu, fagositler ve diğer savunma hücrelerinin bulunduğu granülamatöz doku yüzünden rezorbsiyon veya değişime uğramakta⁸³; ancak genelde, apikal foramende bulunan epitelyal tıkaç veya polimorfonükleer lökositlerden oluşan savunma duvarı, mikroorganizmaların periradiküler dokulara geçişini engellemektedir⁸⁴.

Extraradiküler bölgede bulunan ve persistan enfeksiyonlara neden olan mikroorganizmalarla, kök kanal tedavisindeki başarısızlıkların ilişkisinin incelendiği çalışmalarda, periapikal dokulara yerleşen mikroorganizmalara, yapılan endodontik tedavilerde uygulanan dezenfeksiyon yöntemlerinin ulaşamamasının tedavi başarısızlıklarının bir faktörü olduğu bildirilmektedir^{85,86}. *Actinomyces spp.* ve *P.propionicum* gibi bazı oral mikroorganizmaların extraradiküler enfeksiyonla ilişkili olduğu kabul edilmektedir. (Şekil 2.7).



Şekil 2.7: Periradiküler bölge lezyonları

Konak savunma sisteminden kurtulmaya yarayan en önemli mekanizma biofilm oluşumu ve içindeki mikrobiyal kompozisyonudur. Tronstad et al.⁸⁷ kök kanal tedavisine cevap vermeyen dişlerde yaptıkları inceleme sonucunda apikal foramene komşu bakteriyel biofilmlerin ve periradiküler granulomaların içinde bakteriyel kolonilerin lokalize olduğunu bildirmişler; bunun da biofilmler içindeki bakteriyel organizasyonun, konak savunmasından etkilenmeyerek persistan periapikal lezyonların oluşumuna kolaylık sağladığını öne sürmektedir. Teorikte tedaviye karşı koyan klinik vakalarda, mikrobiyal örnek, klinisyene kök kanalında bakterilerin serbest veya mikroorganizmaların devamlılığını koruduğu hakkında bilgi vermektedir. Apikal foramenin dışında yerleşmiş olan bakterilere kanal içi dezenfeksiyon yöntemlerinin veya antibiotiklerin etkisinin yetersiz olması mikroorganizmaları yok etmek ve periradiküler biofilmleri ayrıştırmak için yapılan kök kanal tedavileri ve dezenfeksiyon işlemlerinin başarısız olmasına neden olmaktadır. Extraradiküler enfeksiyonların klinik tespiti çok zor veya imkânsızdır. Cerrahi olmayan tedavi uygulamalarının biofilmler üzerindeki etkileri persistan extraradiküler enfeksiyonlar periradiküler cerrahiyle tedavi edilmektedir¹⁷. Periradiküler hastalıklarla ilişkili patojenler (Tablo 2.6)'da gösterilmektedir.

Tablo 2.6: Periradikuler hastalıkların değişik formlarıyla ilişkili patojenler.

Kronik Periradikuler Lezyon	Akut Periradikuler Lezyon	Persistan Periradikuler Lezyon	Extraradikuler Enfeksiyon
<i>Bacteriodes</i>	<i>Porphyromonas</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Actinomyces</i>
<i>Prevotella</i>	<i>Fusobacterim</i>	<i>Actinomyces</i>	<i>Prorionibacterium</i>
<i>Porphyromonas</i>	<i>Prevotella</i>	<i>Enterococcus</i>	
<i>Fusobacterium</i>	<i>Bacteriodes</i>	<i>Pseudomonas</i>	
<i>Treponema</i>	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Propionibacterium</i>	
<i>Streptococcus</i>	<i>Treponema</i>	<i>Candida</i>	
<i>Eubacterium</i>			
<i>Actinomyces</i>			
<i>Campylobacter</i>			

2.3.4. Kök Kanal Enfeksiyonlarında Bakteriler Arası İlişkiler

Bakteriler arasında gelişen antagonistik ilişkilerin de bakteri kompozisyonunda önemli olduğu, amonyak gibi bazı metabolitlerin konsantrasyonlarına bağlı olarak hem toksin hem de besin elemanı olarak rol oynadığı bilinmektedir. Ayrıca, bakteriler, diğer bakterileri baskılayan bakteriosin denen antibiyotik benzeri proteinler üretirler. Ekspozе olmayan kök kanallarında yapılan bir çalışmada⁹ kök kanallarının %98 oranında zorunlu ananerob bakterilerden oluştuğu bulgulanırken, Baumgartner et al.³⁷ çürükle ekspozе kök kanallarında yaptıkları çalışmada anaerobların oranının %67 olduğu tespit edilmiştir. Zamana bağlı olarak anaerobların seçilip baskın hale gelmesine olanak tanıyan polimikrobiyal bir ekosistemin varlığından söz edilebilir.

Endodontik enfeksionlarda anaerobik gram negatif basiller baskın hale gelmeye başladıklarında lipopolisakkaritler salarlar ve bunlarda periapikal bölgede periapikal Periodontitis gelişimine neden olur. Periapikal periodontitisi olan dişlerde en sık izole edilen türlerin başında %45 oranla *F.nucleatum* gelmektedir, bunun yanında *P.intermedia*, *P.micros*, *P.anaerobius*, *Eubacterium alactolyticum*, *Eubacterium lectum* ve *Capnocytophaga*'da baskın olan türler arasında yer almaktadırlar^{4,11,37,80,88-92}.

Kök kanal sisteminde bulunan birçok patojen tür diğer türler ile ilişkilidir ve kök kanal sistemindeki besin zincirinde bazı türlerin metabolizma ürünleri diğerlerinin gelişimi için önemli bir besin kaynağı teşkil etmektedir. Sinerjistik ilişkiye bir örnek *F.nucleatum* ile *P.micros*, *P.endodontalis* ve *C.rectus* arasındaki ilişki olduğu bildirilmektedir. Bunun yanında *P.İntermedia* ile *P.micros* ve *Eubacteria* ile *P.anaerobius* arasındaki ilişkilerden de bahsedilmektedir^{11,12}. Bu bakterilerin ortak özellikleri anaerobik olmaları ve peptidleri ve aminoasitleri fermente etmeleridir ki bu

da kök kanallarındaki beslenme sisteminde temel kaynağın doku artıkları ve serum benzeri substratlar olduğunun göstergesidir⁹³. Conrads et al.⁹⁴, nekrotik kök kanallarında PCR kullanarak yaptıkları çalışmada, *Actinomyces*, *F.nucleatum*, *S.milleri* ve *B.forsythus* varlığından bahsetmişlerdir ki *B. forsythus* daha önceki çalışmalarda gösterilmemiştir.

Gomes et al.⁹⁵, kanal tedavisinin başarısız olduğu dişlerde *Prevotella*, *Peptostreptococcus*, *Eubacterium* ve *Propionibacterium* türlerinin varlığını tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Periapikal absesi bulunan dişlerde yapılan çalışmalarda, floranın %75-94 oranında anaeroblardan oluştuğu ve *Prevotell* ve *Porphyromonas* türlerinin baskın olarak yer aldığı gösterilmiştir⁹.

Gomes et al.⁹⁶, hem nekrotik pulpalı hem de endodontik tedavi başarısızlığı görülen dişlerin kök kanallarında kültür ve PCR tekniği kullanarak yaptıkları çalışmada, siyah pigmentli bakterilerin identifikasyonunda PCR'ın kültüre göre daha yüksek oranlarda tespit gücüne sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bunun yanında, *P.gingivalis*, *P.endodontalis*, *P.intermedia* ve *P.nigrescens*'in tedavi görmemiş nekrotik pulpalı dişlerdeki oranlarının endodontik tedavi başarısızlığı olanlara göre daha yüksek olduğu bulgulanmıştır.

Socransky et al.⁹⁷, checkboard DNA-DNA hibridizasyon metodunu kullanarak periodontal hasarın ciddiyeti ile en fazla ilişkili buldukları '*P.gingivalis*, *T.forsythia* ve *T.denticola*' üçlüsüne '*kırmızı kompleks (red complex)*' adını vermişlerdir. Bu kompleksin, aktif marjinal periodontitisin ilerlemesinde önemli role sahip olduğu bilinse de, bu mikroorganizmaların enfekte kök kanallarında da yüksek oranlarda bulundukları ve periapikal hasarla da yakın ilişkili oldukları bildirilmiştir¹⁴.

Siyah pigmentli bakterilere üye olmamasına karşın *T.denticola* kırmızı komplekse dahildir. *P.gingivalis* ile sinerjist ilişkisi bulunur ve bu sinerjinin akut periapikal semptomlarla yakın ilişkili olduğu gösterilmiştir^{14,15,16,98}. *T.denticola*, *T.forsythia* ve *P.gingivalis*'in bir özellikleri de geleneksel kültür yöntemleriyle identifikasyonlarının çok zor olmasıdır. Bu nedenle bu mikroorganizmalar '*zor üreyen*' mikroorganizmalar olarak da tarif edilirler⁹⁹.

2.3.5. Endodontik mikroorganizmalar ve klinik semptomlarla ilişkileri

Enfekte kanallarda anaerobik tipteki mikroorganizmaların sayıca artmasının, akut semptom riskini artırdığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir^{23,100-104}. Akut ve kronik apikal periodontitisli olguların mikrobiyolojik bulguları arasındaki temel farklar, kronik yani asemptomatik lezyonlu dişlerde tek bir kanaldan izole edilen farklı türlerin çeşitlerinin daha az olması ve semptomlarla ilişkili, bazı spesifik cinslere nadir rastlanmasıdır¹⁰⁵. Kronik apikal periodontitisli vakalarda en sık izole edilen bakteriler genelde pigment içermeyen ve siyah pigmentli *Prevotella* cinsleriyle birlikte gram pozitif anaeroplara ve fakültatif çomaklardır. Kronik apikal periodontitis içeren vakalardan sıklıkla izole edilen bakteriler sırasıyla: *Prevotella*, *Peptostreptokok*, *Fusobacterium*, *Eubacterium*, *Veillonella*, *Porphromonas*, *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium* olarak belirtilmiştir^{106,107}.

Siyah pigmentli bakterilerin, diş kaynaklı akut abselerden izole edildiği ve akut semptomların patogeneğinde rol oynayabilecekleri bulgulanmış; Çoğulu et al.³⁴ ise, *P.gingivalis*'i hem süt hem de daimi dişlerde perküsyon hassasiyeti ile ilişkili bulurken, *P.intermedia* ve *P.melaninogenica*'ı daimi dişlerde spontan ağrı ile bağlantılı bulmuşlardır. Sundqvist et al.³ *B.melaninogenicus* varlığı ile ağrı arasındaki ilişkiden bahsetmiş ve yapılan bir diğer çalışmada¹⁸ da nekrotik pulpal ve periapikal kemik yıkımı olan semptomatik dişlerin kök kanallarının, apikal periodontitisi bulunan asemptomatik dişlerinkine göre çok daha fazla sayıda ve daha kompleks yapıda anaerobik bakteriyel floraya sahip oldukları ileri sürülmüştür.

Kök kanal tedavisindeki akut alevlenmeler ve çevre dokulardaki yıkıcı harabiyetlerle özellikle siyah pigmentli mikroorganizmalar arasında anlamlı bir ilişki olduğu düşünülmektedir. *Prevotella* ve *Porphromonas* türleri gibi pulpal lezyonlarda varolan siyah pigmentli bakteriler, iltihabi mediatörlerin, doku yıkımı ve kemik rezorpsiyonunda rol oynayan yıkıcı enzimlerin aktivasyonu ile klinik semptomların gelişiminde önemli rol oynamaktadır¹⁰⁸⁻¹¹¹.

Siyah pigmentli bakterilerin nekrotik kök kanallarının veya semptomatik dişlerin %50-59 bulundukları birçok çalışmada bildirilmiştir^{19,20}. Siqueira et al.²⁰ semptomatik dişlerden alınan örneklerin %70'de *P.endodontalis*, %40'da *P.gingivalis* ve %10'da *P.intermedia*'nın varlığından bahsetmişler ve *P.gingivalis*'in abseli dişlerde hemen daima *P.endodontalis* ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Jacinto et al.¹⁹ semptomatik

dişlerde yaptıkları çalışmada, *F.necrophorum*, *F.nucleatum*, *P.micros* ve *P.prevotii*'yi siyah pigmentli bakterilerle beraber izole etmişlerdir. Daha sonra aynı çalışmacılar semptomatik dişlerde en sık bulunan bakterinin *P.gingivalis* olduğunu tespit etmişlerdir¹⁰⁰. Pinheiro et al.¹¹² ise, kök kanalı dolgusu yapılmış semptomatik dişlerde polimikrobiyal enfeksiyon varlığını göstermiş ve gene klinik semptomlarla ilişkili olduğu düşünülen *Peptostreptococcus*'un en sık izole edilen cins olduğunu tespit etmişlerdir. Semptomatik dişlerde bulunan siyah pigmentli bakteriler ve diğer baskın tür mikroorganizmaların gram pozitif bakteriler ve fakültatif mikroorganizmalarla ilişkisinden bahsedilmekte, bu da bakteriler arası sinerjistik ilişkilerin varlığını gösterdiği bildirilmektedir⁷. Kuriyama et al.¹¹³, dentoalveoler enfeksiyonlarda gram negatif anaerobik çomaklarla beraber gram pozitif kokların birlikteliğinden bahsetmiştir. Khemalelakul et al.¹¹⁴, yaptıkları çalışmanın sonuçların da miks enfeksiyonun varlığını doğrulamakta, apikal periodontitisli semptomatik vakalarda *Prevotella* ve *Peptostreptococcus* türlerinin daha baskın olduklarını göstermektedir. Jung et al.¹¹⁵ *B.forsythus*/*P.gingivalis* ve *Treponema sp.*/*P.gingivalis* kombinasyonları arasında anlamlı bir ilişki tespit ederken semptomlarla bakteriler arasında bir ilişki varlığını bulgulamamışlardır.

İlginç bir şekilde, semptomatik vakaların mikrofloralarının kompozisyonunda coğrafik etkenlerin rolünden bahsedilmektedir. Son dönemlerde bildirilen birkaç çalışmada farklı coğrafik bölgelerde yaşayan ve apikal periodontitisi bulunan hastaların kök kanal örneklerindeki bakteri kompozisyonları karşılaştırılmış; Machado de Oliveira et al.²¹ çalışmalarında, Brezilya ve Amerika'daki hastaların kök kanal örneklerinin analizlerini ve karşılaştırılmalarını yapmışlar, Siqueira et al.²² Brezilya ve Kuzey Kore hastalarından alınan örneklerde endodontik patojenleri incelemişlerdir. Bu çalışmaların sonuçları endodontik orijinli enfeksiyonlarda bazı türlerin prevalansının coğrafi lokasyonlarına göre anlamlı şekilde farklılık gösterdiklerini ortaya koymaktadır.

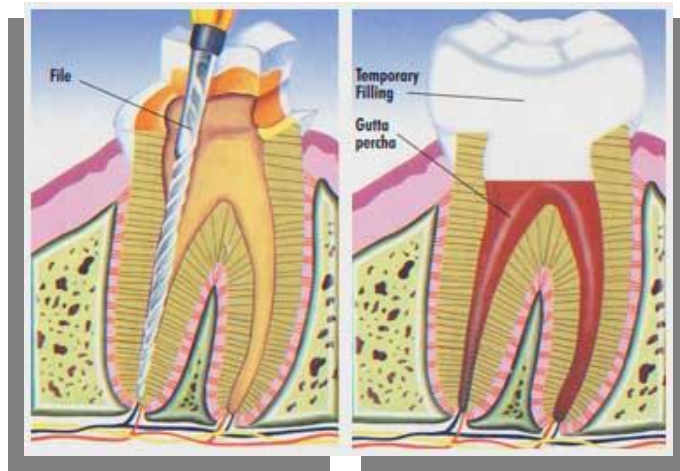
2.3.6. Endodontik Tedaviler

Apikal periodontitisli bir dişin endodontik tedavisindeki amaç; kök kanal sisteminden mikroorganizmaları yok etmek ve yeniden oluşabilecek bir enfeksiyonu önlemektir. Bakteri ve ürünleri, pulpa nekrozunda ve apikal lezyonda birincil etyolojik

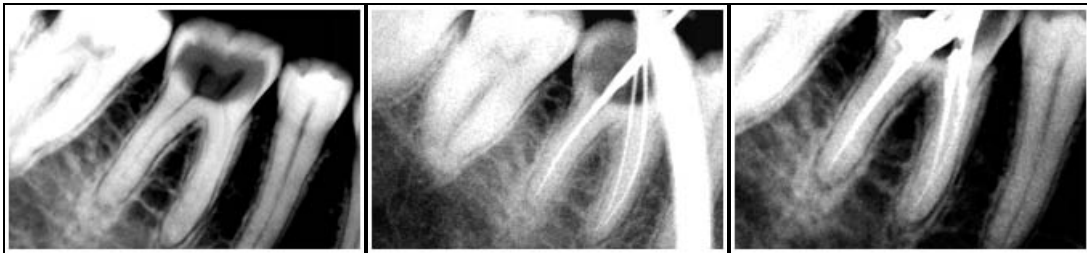
faktör olarak düşünülmektedir³. Ancak yapılan tedaviler bazen başarısızlıkla sonlanmakta enfeksiyon ve histopatolojik değişimler devam edebilmektedir.

2.3.6.1.Kök Kanal Tedavisi ve Başarısızlıkları

Kök kanal tedavisi, kök kanal sisteminin organizma için bakteriyel kaynak teşkil etmesine engel olmak ve klinik ve radyografik belirti ve semptomları ortadan kaldırmaya yönelik olarak yapılan uygulamaları içermektedir. Bu doğrultuda primer hedef, kök kanal sisteminde bulunan mikroorganizmaların, onların ürünlerinin ve artık materyallerin dentin ve pulpa boşluğundan biyomekanik yöntemlerle uzaklaştırılmasıdır. İkinci hedef ise, bakteriyel rekontaminasyonun engellenmesi amacıyla kök kanallarının üç boyutlu doldurulmasıdır. Tedavi prosedürü birçok aşamadan oluşsa da en kritik olan kök kanallarının çeşitli aletlerle temizlenmesi amacıyla instrumentasyonu ve dezenfeksiyonudur. Takiben temizlenmiş olan kanal boşlukları uygun materyallerle kök ucuna kadar doldurulur¹¹⁶ (Şekil 2.8 ve Şekil 2.9).



Şekil 2.8: Kök kanal instrumentasyonu ve dolgusunun şematik görüntüsü.



Şekil 2.9: Kök kanal dolgusunun radyografik görüntüsü.

Kök kanal tedavisinin başarılı yapıldığı dişlerde doku hasarının boyutlarına bağlı olarak periapikal dokulardaki tamir olayı farklılık gösterir. Periapikal lezyonu olmayan dişlerde tedavi sonrası iyileşme sementogenetik aktiviteyle olurken, periapikal enfeksiyonlu dişlerde osteosementogenetik aktivite ile gerçekleşir⁶⁶. Kanal tedavisinin sonuçlarını inceleyen çalışmalarda^{66,71,117}, başarı oranlarının %75-95 arasında değiştiği bildirilmiştir. Kanal tedavisinin prognozunu etkileyen faktörler hasta ile ilgili olan cinsiyet, yaş ve hastanın sistemik durumu gibi faktörler, diş ile ilgili anatomik ve patolojik faktörlerden olan dişin periodontal durumu, tipi ve lokalizasyonu, hatalı protetik restorasyonlar ve travmatik oklüzyon, tedavi öncesi klinik semptom varlığı, pulpa ve periapikal dokuların durumu ve periapikal lezyonun patolojisi ve büyüklüğü gibi faktörler ve tedavi ile ilgili olan kanal boyunun iyi hesaplanmaması sonucu oluşan taşkın veya eksik kanal preperasyonu, rubber-dam kullanımı, kanal dolgusunun seviyesinin yanlış ayarlanması, koroner sızıntı ve mikrobiyal faktörler yer almaktadır¹⁴.

Mikrobiyal faktörlerin periradiküler lezyonların patogenezinde esas rol oynadığı, Kakehashi et al.² germ-free ve doğal mikrofloraya sahip sıçanların pulpalarını ağız ortamına açtıkları ve takip ettikleri çalışmalarının sonucunda, normal mikroflorası olan sıçanlarda pulpa nekrozunu ve periapikal kemik destrüksiyonunu göstermeleri ile kanıtlanmıştır.

Kök kanal tedavisi, genellikle, tedavi kabul edilebilir standartlarda yapılmadığında başarısızlığa uğramaktadır^{118,119}. Çoğu dişin kök kanal tedavisine cevap vermemesinin nedeni kanal içi enfeksiyonun önlenememesi, kontrol edilememesidir⁸⁰. Kök kanal tedavilerini takip çalışmalarında %75-95 başarı oranları rapor edilirken, literatür bilgileri apikal periodontitisli dişlerin retreatment başarısının düşük olduğunu göstermektedir¹¹⁸. Yenilenen tedavi olgularının prognozunun zayıf olması kök kanal tedavisi başarısız olan olgulardaki mikrofloranın eliminasyonundaki zorluklarla ilişkili olabilmektedir.

Kanalların doldurulması aşamasında enfeksiyonun varlığı dişlerin yeniden tedavi ihtiyacını önemli miktarda artırmaktadır. Sundqvist et al.³⁸ çalışmalarında, kanalın doldurulma aşamasında dişlerden alınan bakteriolojik örnekler pozitif olduğunda başarı oranını %33, negatif örneğe sahip dişlerin başarı oranını ise %80 tespit etmişlerdir. Kök kanal tedavisi en yüksek standartta yapıldığında dahi, bazı vakaların uzun dönem takiplerinde, periapikal bölgede radyolusent alanların varlığı görülmekte; periapikal

radylusensinin devamına etken olarak da, kök kanalının apikal kısmında bulunan intraradikular enfeksiyonlar⁸⁴, periapikal aktinomikoz formunda olan extraradiküler enfeksiyonlar¹²⁰, kanal dolgu materyalinin veya diğer maddelerin apikalden çıkarak yabancı cisim reaksiyonu oluşturmaları¹²¹ ve fazla miktarda kolesterol kristallerinin birikmesiyle oluşan gerçek kistler gösterilmektedir¹²².

Kök kanal tedavisinin başarısızlığı, tedavi sonrası geride kalan patojen mikroorganizmaların yüksek sayıya ulaşması ve periapikal dokuya giriş yolu sağlayarak periapikal lezyona sebep olması veya lezyonun devamlılığını korumasına bağlıdır. Kök kanal dolgusu radyografik olarak tam olsa bile dokunulmamış alanlar bakteri ve nekrotik doku içermektedir¹²³. Bakterilerin çoğunun eradike edilmesine rağmen, bazı bakteriler ölü hücreler ve dokulardan çıkan besin artıklarını alıp canlılıklarını sürdürmektedirler. Kök kanal dolgusu tam ve eksiksi tıkama sağlamazsa, doku sıvıları bakteriyel gelişim için kaynak oluşturmaktadır. Mikrobiyal hücrelerin bulunduğu tedavi edilmiş periapikal lezyonlu dişte, mikroorganizmalar kök kanal yüzeyine sızan doku sıvısından besinlerini alırlar¹²⁴. Çoğu bakteri için canlı kalabilme yeteneği önemlidir. Çeşitli regülatör sistemler bakterilerin besin tüketimine karşı koyabilmelerinde etkili rol oynamaktadır. Bu sistem, açlık durumlarında transkripsiyonu aktive olmuş kararlı genlerin kontrolü altındadır. Örneğin, nitrojen eksikliğinde küçük parçalar halinde amonyak olsa bile, bakteriler bu amonyağı Ntr gen sisteminde nitrojen kaynağı olarak kullanabilmektedir. Amonyak yüksek konsantrasyon altında Ntr gen sistemi tarafından hapsolmaktadır. Bazı fakültatif bakteriler moleküler oksijenin düşük konsantrasyon altında olduğu zaman, Arc A ve Arc B genlerinden oluşan Arc sistemini aktive edebilmektedirler. Sonuç olarak, metabolik yolların aktive olması, solunum metabolizması için kullanılan alternatif terminal elektron alıcılarına izin vermekte, dolayısıyla aerobikten anaerobik metabolizmaya döngü oluşmaktadır. Glukozun düşük konsantrasyonlu olduğu durumlarda, çeşitli organik karbon kaynaklarının kullanımı için enzim sentezini sağlayan adenilat siklaz (cya) ve katabolit repressor protein (crp) genlerinin kontrolü altında bazı bakteriler yıkımı baskılayan sistemi aktive edebilirler. İnorganik fosfatın düşük konsantrasyonuyla başlayan fosfat eksikliğinde, hücreler organik fosfat bileşiklerinin ve inorganik fosfatın küçük parçacıklarının kullanımı için gensel değişime uğramaktadırlar¹²⁵.

Primer kök kanal enfeksiyonları ile tedavi başarısızlığına bağlı gelişen sekonder enfeksiyonlar arasında, mikrobiyal flora açısından da fark olduğu; başarısız kök kanal tedavisi yapılmış olan dişlerde gram negatif anaeroplara baskın olduğu gözlenirken, ilk kez kök kanal tedavisi yapılacak olan dişlerde genelde, gram pozitif ve gram negatif bakterilerin bir arada bulundukları bildirilmektedir³⁸.

Literatür bilgileri değerlendirildiğinde çalışmamızın amacı, nekrotik pulpalı dişlerden ve kanal tedavisi başarısızlığı görülen kök kanallarından alınan örneklerde, belirlenmiş olan bazı anaerob bakterilerin varlığının PCR yöntemi kullanılarak araştırılması ve bu patojenlerin birbirleri ile ve klinik semptomlarla ilişkilerinin incelenmesi yanında coğrafi olarak farklılıklarının tespit edilmesidir. Belirlenmiş olan anaerob bakterilerin araştırılmasında, literatürde de belirtildiği gibi kültür tekniklerinin birçok dezavantajının bulunmasından dolayı çalışmamızda spesifik primerler kullanılarak PCR yönteminden faydalanılmıştır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, nekrotik pulpalı dişlerden ve kanal tedavisi başarısızlığı görülen kök kanallarından alınan örneklerde, etyoloji ile ilişkileri bilinen *F.nucleatum*, *P.gingivalis*, *P.endodontalis*, *P.intermedia*, *P.melaninogenica*, *P.nigrescens*, *T.forsythia* (*B.forsythus*) ve *P.micros* (*Parvimonas micra*, *Micromonas micros*) gibi anaerob mikroorganizma türlerinin görülme sıklıklarını in-house PCR yöntemi kullanarak araştırmayı ve bu patojenlerin birbirleri ile ve klinik semptomlarla ilişkilerini tespitini amaçlamıştır.

3.1.Örnek Seçimi

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmış ve çalışmaya katılan tüm hastalar tedavinin ilk seansında Hasta Onam formunu okumuş ve imzalamıştır. Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Diş Hastalıkları ve Tedavisi Ana Bilimdalı kliniğine başvuran ve kök kanal tedavisi endikasyonu konmuş olan hastalardan, yaş aralıkları 10-77 arasında değişen toplam 107 bireyin yer aldığı çalışmada, daha önce herhangi bir endodontik tedavi görmemiş 72 primer enfeksiyonlu (nekrotik pulpalı) ve endodontik tedavi görmüş ancak apikal periodontitis bulgusu gösteren 35 sekonder enfeksiyonlu (apikal periodontitisli ve eski kanal tedavili) dişlerden alınan kök kanalı örnekleri incelendi. Çalışmada yer alan toplam 107 dişin, 89 da mevcut koronal restorasyon bulunurken, 76 da defektif restorasyonlar (marjinal açıklık gösteren, kırılmış veya bozulmuş restorasyonlar) mevcuttu. Seçilen tüm dişlerin belirgin bir periodontal sorun göstermemesine ve 4 mm'yi geçen derinliklerde periodontal cep içermemesine dikkat edildi.

Hastaların, tedavi öncesi antibiyotik kullanmamış olmasına, sistemik hastalığı bulunmamasına, ağız ortamına açık pulpa odası varlığı göstermemesine dikkat edildi ve rubber-dam takılması mümkün olmayan, ikincil enfeksiyonlu dişlerde eski kök kanal tedavisi temizlenemeyen ve tedavi sürecine uyum sağlayamayan hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

Bütün hastalardan çalışma öncesi radyograflar alındı ve PAI¹²⁶ indeksine göre sınıflandırıldı. Periapikal indeks; radyograflar üzerinde apikal periodontitisi, artan radyografik görüntüsüne göre 1'den 5'e kadar bir skala kullanılarak değerlendirilen bir sistemdir. PAI indeksinin kullanımı için araştırmacının kendi kararları içinde kalibrasyonu yapıldı. PAI indeksi toplam 5 skor içermektedir. Bu skorlar:

1. Normal periapikal periodonsiyum
2. Kemik yapısında çok az miktarda değişiklik mevcut
3. Kemikte mineral kaybı ile görülen yapısal değişiklikler mevcut
4. Sınırları kesin ve iyi tanımlanabilen radyolusensi gözlenen apikal periodontitis varlığı
5. Geniş radyolusent alanlar gösteren yaygın apikal periodontitis varlığı

Ayrıca hastaların yaşı, cinsiyeti, dişin lokalizasyonu, varsa dişte bulunan restorasyon, fistül varlığı ve pulpa hastalığının durumu kaydedildi. Çalışmada değerlendirmeye alınan klinik semptom ve belirtiler ise; daha önceden geçirilmiş ağrı hikayesi, oklüzyonda ağrı, perküsyonda hassasiyet, şişlik, fistül varlığı ve periapikal radyolusensi olarak yer aldı.

3.2.Kök Kanallarından Örnek Alınması

Örnek alınacak tüm dişlere pomza ve su ile temizleme yapıldıktan sonra rubberdam izolasyonu uygulandı. Rubber damda oluşabilecek sızıntıyı engellemek için klemp ve diş çevresine dişeti bariyeri sürüldü ve UV ışıkla sertleştirilerek sabitlendi. Diş ve rubberdam Möller tarafından tanımlanan metod¹²⁷ ile önce %30'luk hidrojen peroksit takiben de %5'lik sodyum hipoklorit (NaOCl) ile dezenfekte edildi. Endodontik giriş kavitelerindeki işlem steril elmas frezler ile gerçekleştirildi ve pulpa odası açıldıktan sonra giriş kavitesi ile rubber dam %5'lik NaOCl kullanılarak yeniden silindi ve takiben bu solüsyon %5'lik sodyum tiyosülfat kullanılarak inaktive edildi. Dekontaminasyon aşamalarının etkinliğini kontrol etmek için, kök kanalına girmeden önce giriş kavitesinden steril pamukla alınan örnek thioglukolat besiyeri içerisine aktarıldı ve üreme kontrolü yapıldı¹²⁸.

Mikrobiyolojik inceleme için örnek alımından eğer kök kanalları kuru ise steril serum fizyolojik (SF) ile nemlendirildi. Ucu kesilmiş 15 numaralı K tipi steril kanal eğesi, tanıda kullanılan röntgen ve apeks bulucu ile belirlenmiş olan kanal boyutundan

1mm. kısa olacak şekilde yerleştirildi ve 2 dakika kök kanalında çevirme ve hafifçe kazıma şeklinde eğeleme işlemi yapılarak kanal içeriğinin ajitasyonu sağlandı. Her dişin kök kanalına, ardışık olarak 3 tane steril paper point, aynı seviyeye kadar, her biri en az 1 dakika bekletilecek şekilde yerleştirildi ve kanaldaki sıvıyı emmeleri sağlandı. Takiben K tipi eğe ve paper pointler TrisEDTA buffer (TE buffer) içeren 2mL'lik ependorf tüplerine aktarıldı. PCR işlemlerinde kullanılacak olan TE buffer içindeki kök kanal örnekleri, DNA ekstraksiyonu yapılabilecek kadar -20°C'de muhafaza edildi. Sekonder enfeksiyonlu hasta grubunda eski kanal dolgusu gates-glidden frezlerle, döner Ni-Ti veya K-file eğelerle herhangi bir kimyasal çözücü kullanılmadan uzaklaştırıldı. Abseli dişlerden pü örnekleri, oral mukozanın %2'lik klorheksidinle dezenfekte edilmesinin ardından steril bir enjektör (Set, Türkiye) aracılığıyla aspire edilerek alındı.

3.3.Mikrobiyal Örneklerde Uygulanan PCR Aşamaları

Primer ve sekonder enfeksiyonu bulunan dişlerin kök kanallarından alınan ve TE buffera aktararak -20 C'de saklanmış olan klinik örneklerde *F. nucleatum*, *P.gingivalis*, *P.endodontalis*, *P.intermedia*, *P.melaninogenica*, *P.nigrescens*, *T.forsythia*, *P.micros* suşlarının tanısı ve universal primer'lerle örneklerdeki bakteri DNA'nın varlığının tespit edilmesi için in house -PCR yöntemi uygulandı.

3.3.1.DNA Ekstraksiyonu

Bu çalışmada kök kanal örneklerinden belirlenmiş olan mikroorganizmaların DNA'larının ekstraksiyonu için; INVITROGEN PureLink Genomic DNA Mini Kit (Lot No: 449092, Kat No: 1820-00 Carlsbad, CA 92008) ekstraksiyon kiti kullanıldı. Uygulamada üretici firmanın önerilerine sadık kalındı.

DNA Ekstraksiyon Protokolü:

1. Paper pointlerle alınmış olan kök kanal örneklerinin içinde bulundukları TE buffer solüsyonu vortekslendikten sonra yaklaşık 100 µl'lik örnek materyali 1.5 ml'lik yeni bir ependorf tüpüne aktarıldı ve üzerine eşit oranda Genomic Lysis/Binding Buffer eklenerek önceden 55 °C'ye ayarlanmış olan kuru ısı bloğunda (BIOSAN Termoblock TDB-120) 10 dk. bekletildi.

2. Takiben üzerine 100 µl %96'lık etanol konarak homojen bir solüsyon elde edilecek şekilde vortekslendi ve Binding DNA aşamasına geçildi.
3. Örnek tüplerindeki son karışım 2 ml'lik koleksiyon tüpü içindeki PureLink spin kolonlara kenarlarını ıslatmadan boşaltıldı ve oda ısısında, 10000xg'de 1dakika santrifüj (EPPENDORF, Mini Spin plus) edildi. Spin kolon yeni bir koleksiyon tüpüne aktarılarak altta kalan sıvı dolu tüp atıldı ve Washing DNA aşamasına geçildi.
4. 500 µl etanol ile hazırlanmış Wash Buffer 1 eklenerek oda ısısında, 10000xg'de 1dakika santrifüj edildi ve koleksiyon tüpü atılarak spin kolon yeni bir koleksiyon tüpüne aktarıldı.
5. Üzerine 500 µl etanol ile hazırlanmış Wash Buffer 2 eklenerek oda ısısında, maksimum g'de 3 dakika santrifüjlendi ve tekrar koleksiyon tüpü atılarak spin kolon 1.5 ml'lik eppendorf tüpüne aktarılarak Eluting DNA aşamasına geçildi.
6. Üzerine 100 µl genomic elution buffer eklendi ve oda ısısında 1dakika bekletildikten sonra maksimum hızda 1 dakika santrifüjlendi ve spin kolon atılarak tüpte purifiye DNA elde edilmiş oldu.

Spesifik primerler için pozitif kontrol olarak ve de primerin spesifitesinin tespitine yönelik olarak, belirlenmiş olan anaerobik bakterilere ait referans suşların (*Fusobacterium nucleatum*-ATCC 25586, *P.gingivalis*-ATCC 33277, *P.endodontalis*-ATCC 35406, *P.intermedia*-ATCC 15032, *P.melaninogenica*-ATCC 25845, *P.nigrescens*-ATCC 33563, *T.forsythensis*-ATCC 43037 *P.micros*-ATCC 33270 DNA ekstraksiyonları da yapıldı.

Ekstrakte edilmiş olan klinik örneklerin ve referans suşların DNA konsantrasyonları, spektrofotometrede (CHE BİOS OPTİMUM-ONE, UV-VİS Spektrofotometre, İTALYA) 260 nm dalga boyunda gerçekleştirildi. DNA yoğunluğu >3µg/ml tespit edilen örnekler amplifikasyon için -20 °C'de muhafaza edildi.

3.3.2.Amplifikasyon Karışımı ve Agaroze Jel Elektroforezi ile Görüntüleme

Hedeflenen anaerobik mikroorganizmaların tespiti için tür spesifik primerler, DNA saflaştırma işleminin her örnek için başarıyla gerçekleştirildiğinin doğrulanması

amacıyla, tüm örneklerde universal bakteriyel primerler kullanılarak amplifikasyon yapıldı.

Tablo 3.1: Kullanılan primerler, hedeflenen türe ait ampikon uzunlukları, ve referansları yer almaktadır

Hedef Mikroorganizmalar	Primer Çiftleri (5'-3')	Ampikon uzunluğu	Referanslar
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG GTC ATC GTG CAC ACA GAA TTG CTG	360bp	104,129
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	AGG CAG CTT GCC ATA CTG CG ACT GTT AGC AAC TAC CGA TGT	404bp	109,116,129
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	GCT GCA GCT CAA CTG TAG TC CCG CTT CAT GTC ACC ATG TC	672bp	109,116,129
<i>Prevotella intermedia</i>	TTT GTT GGG GAG TAA AGC GGG TCA ACA TCT CTG TAT CCT GCG T	575bp	116,129
<i>Prevotella melaninogenica</i>	CGT CAT GAA GGA GAT TGG ATA GAA CCG TCA ACG CTC	122bp	130
<i>Prevotella nigrescens</i>	ATG AAA CAA AGG TTT TCC GGT AAG CCC ACG TCT CTG TGG GCT GCG A	804bp	109,116
<i>Tannerella forsythia</i>	GCG TAT GTA ACC TGC CCG CA TGC TTC AGT GTC AGT TAT ACC T	641bp	132
<i>Peptostreptococcus micros</i>	AGA GTT TGA TCC TGG CTG AG ATA TCA TGC GAT TCT GTG GTC TC	207bp	131
Universal 16S rDNA primerleri	GAT TAG ATA CCC TGG TAG TCC AC CCC GGG AAC GTA TTC ACC G	602bp	132

PCR reaksiyonları 50 µl'lik reaksiyon karışımı içerisinde gerçekleştirildi. Reaksiyon karışımı: 2 µl- 50 mM MgCl₂, 1.25 U Taq polymerase, 5 µl-10X Tris-HCl (Vivantis, PL1202) her bir dNTP'den 200 µM, her bir primer çiftinden 50Pm ve 5 µl kalıp DNA içerdi. Amplifikasyonlar DNA termal döngü cihazında (thermal cyclers) (BIO-RAD, MJ Mini Personal Thermal Cycle) (Şekil 3.1) gerçekleştirildi.



Şekil 3.1: Termal döngü cihazı

Tablo 3.2: Tüm mikroorganizmalar için uygulanan amplifikasyon koşulları

Mikroorganizmalar	Başlangıç denaturasyonu	Denaturasyon	Bağlanma	Uzama	Döngü sayısı	Son uzama
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	95 °C 2 dk.	94 °C 1 dk.	60 °C 1 dk.	72 °C 2.5 dk.	30	72 °C 10 dk.
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	94 °C 5 dk.	94 °C 30 sn.	60 °C 1 dk.	72 °C 2 dk.	36	72 °C 5 dk.
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	94 °C 5 dk.	94 °C 30 sn.	60 °C 1 dk.	72 °C 2 dk.	36	72 °C 5 dk.
<i>Prevotella intermedia*</i>	94 °C 30 sn.	95 °C 30 sn.	55 °C 1 dk.	72 °C 2 dk.	36	72 °C 10 dk.
<i>Prevotella melaninogenica*</i>	95 °C 2 dk.	95 °C 15 sn.	54 °C 30 sn.	72 °C 1 dk.	25	72 °C 10 dk.
<i>Prevotella nigrescens</i>	94 °C 5 dk.	94 °C 30 sn.	55 °C 1 dk.	72 °C 1 dk.	36	72 °C 5 dk.
<i>Tannerella forsythia</i>	95 °C 2 dk.	94 °C 30 sn.	55 °C 30 sn.	72 °C 1 dk.	35	72 °C 7 dk.
<i>Peptostreptococcus micros</i>	95 °C 2 dk.	94 °C 1 dk.	60 °C 1 dk.	72 °C 2.5 dk.	30	72 °C 10 dk.
Universal 16S rDNA primerleri	95 °C 2 dk.	95 °C 30 sn.	60 °C 1 dk.	72 °C 1 dk.	36	72 °C 2 dk.

PCR ile amplifikasyon işlemi sonucu elde edilen ampikonların tespiti için ampikonlar 100 bp lik Step ladder ile birlikte, %0.5 Ethidium bromide içeren %1.8' lik agaroz jelde elektroforeze tabi tutulmuştur. Ethidium bromide ile boyanan DNA

parçaları UV altında incelenmiştir. Oluşan bantın büyüklüğü, “DNA step ladder” ile kıyaslanarak belirlenmiştir.

3.4. Çalışmada kullanılan solüsyon ve gel matriksler

3.4.1. Agaroz Jel Elektrophorezi ve Görüntüleme İçin Kullanılan Tamponlar

3.4.1.1. 10x TBE Stok Tamponunun Hazırlanması

10X TBE stok solüsyonu 1X TBE solüsyonuna çevrilerek, hem agarozun hazırlanmasında hem de tankta tampon solüsyon olarak kullanıldı.

Tris-Base	107.8 gr
Borik asit	55.0 gr
EDTA	7.44 gr
Distile su	1000 ml

Tris, EDTA ve borik asit balon içerisine konulduktan sonra üzeri 1000ml distile su ile tamamlanıp eritilerek homojen hale getirildi ve 0.1N NaOH ve 0.1N HCl kullanılarak pH 8.3’e ayarlandı.

3.4.1.2. Yükleme Tamponu

PCR ile amplifiye edilmiş DNA fragmentlerinin elektroforez gelindeki hareketlerinin takibi amacı ile kullanıldı.

Sükroz	4.000 gr
Bromfenol mavisi	0.025 gr
DS	10 ml

Sükroz ve Bromfenol mavisi DS içerisinde çözüldü ve üzerine 1 damla gliserol damlatıldı.

3.4.2. Uygulama

1. Elektrophorez için %1.8’lik jel yapımı için 1.8 gr agaroz (Certified PCR agarose, Bio-Rad) 100ml 1xTBE tamponu ilave edilerek mikrodalga fırında eritildi.

2. 60°C civarına soğutularak içerisine 10 mg/ml'lik stok ethidyum bromide solüsyonundan 5 µl eklendi ve tarakları uygun olarak yerleştirilmiş jel kalıbına dökülerek oda sıcaklığında 20-30 dakika soğuyarak katılaşmaya bırakıldı. Yeterli katılığa ulaşan jel kalıbı elektroforez tankına (OWL Separation Systems Model B2 Mini Gel Electrophoresis System, USA)(Şekil 3.2) yerleştirildikten sonra, taraklar jele zarar vermeden yavaşça çıkarıldı.
- 3.



Şekil 3.2: OWL Separation Systems Model elektroforez tankı

4. Amplikonlardan 10'ar µl alınarak, kağıt parafilm üzerinde 2 µl yükleme tamponu ile karıştırılarak yükleme kuyularına pozitif ve negatif kontrol ve DNA ladder ile yüklendi. Tankın güç kaynağı (BIO-RAD, PowerPac HV) 80 mA – 120 V akıma ayarlandı ve jel görüntüleme cihazı (DNR Bio-Imaging Systems Visible & Ultraviolet Transilluminator, MiniBIS Bio-Imaging System, USA) ile görüntülenerek incelendi.

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin normal dağılıma uygunluğu test edilmiş ve N % şeklinde özetlenmiştir. Sonuçlar N ve yüzde olarak ifade edilmiş, p değerinin <0,05 (p istatistik onm düzeyi) olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. İstatistik yöntemi olarak Pearson ki kare test istatistigi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ne başvuran ve Diş Hastalıkları ve Tedavisi Ana Bilim Dalı'nda kanal tedavisi endikasyonu konulan, primer veya sekonder kök kanal enfeksiyonu olan 107 hastanın kök kanallarından alınan endodontik örneklerde, etyoloji ile ilişkili oldukları bilinen bazı anaerob bakterilerin muhtemel rollerini, birbirleri ve klinik belirti ve semptomlarla olan ilişkilerini tespit etmek amacıyla, bu bakterilerin genomlarındaki konservatif gen bölgelerini hedef alan spesifik primerlerin kullanıldığı PCR tekniği uygulanarak yapılan bu çalışmada;

a. Çalışmaya dahil edilen ve kök kanal örnekleri alınan hastaların 63'ünün kadın, 44'ünün erkek oldukları, hastaların 10-77 yaş aralığında dağıldıkları, değerlendirilen 107 hastaya ait 107 kök kanal içi örneğinin, 72 (%67,3)'sinin primer enfeksiyonu olan nekrotik dişlerden, 35 (%32,7)'inin ise sekonder enfeksiyonu olan, daha önceden kanal tedavisi yapılmış ancak tedavi başarısızlığı görülen dişlerden alındığı görüldü (Tablo 4.1).

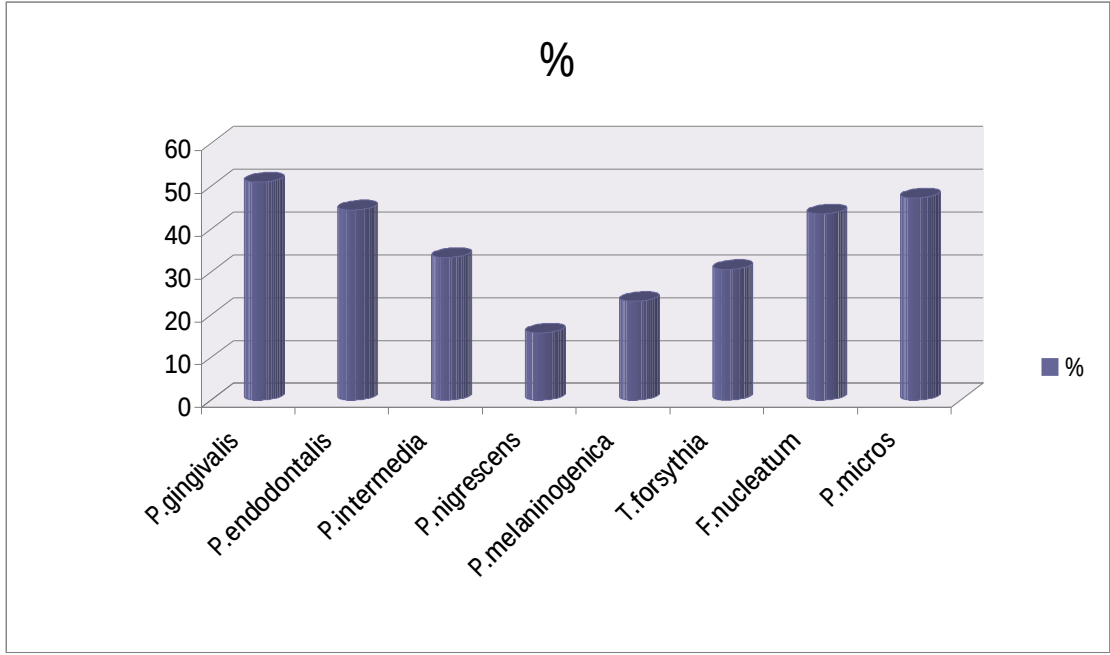
Tablo 4.1: Primer ve sekonder enfeksiyonlu hastaların cinsiyet ve yaş dağılımı

Primer ve Sekonder Enfeksiyonlu Hastaların Cinsiyet ve Yaş Dağılımı									
Cinsiyet	Dişler	>20 yaş		20-50 yaş		50<		Toplam	
		N	%	N	%	N	%	N	%
KADIN	Primer	7	17,1	28	68,3	6	14,6	41	38,3
	Sekonder	2	9,1	17	77,3	3	13,6	22	20,6
ERKEK	Primer	1	3,2	22	70,9	8	25,8	31	29
	Sekonder	-	-	12	92,3	1	7,7	13	12,1
TOPLAM		10	9,3	79	73,8	18	16,8	107	

b. PCR ile yapılan etyolojik ajan tespitine yönelik çalışmada, örneklerden spesifik gen dizilerinin varlığı ile tanımlanan anaerobik bakterilerden %51,4 (55/107) oranı ile *P.gingivalis*'in en yüksek orana sahip olduğu, bunu %46,7'lik oran ile *P.micros*'in izlediği, en düşük oranda tanımlanan bakteri genomunun da %15,9 ile *P.nigrescens*'e ait olduğu tespit edildi (Tablo 4.2) (Şekil 4.1).

Tablo 4.2: Çalışmada PCR yöntemi ile araştırılan anaerob bakterilerin dağılımı

HEDEF BAKTERİLER	Sayısı (N)	%
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	55	51,4
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	48	44,9
<i>Prevotella intermedia</i>	36	33,6
<i>Prevotella nigrescens</i>	17	15,9
<i>Prevotella melaninogenica</i>	24	22,4
<i>Tannerella forsythia</i>	33	30,8
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	47	43,9
<i>Peptostreptococcus micros</i>	51	46,7
TOPLAM	107	



Şekil 4.1: Tüm örneklerde hedef bakterilerin dağılımı

c. Hem primer hem de sekonder enfeksiyona sahip olan dişlerde PCR ile tespit edilen anaerobik bakteri oranları değerlendirildiğinde, *P.gingivalis*'in, sırasıyla %54,2 ve %45,7 oranları ile her iki grupta da en yüksek oranda tespit edilen anaerob tür olduğu görülmüştür.

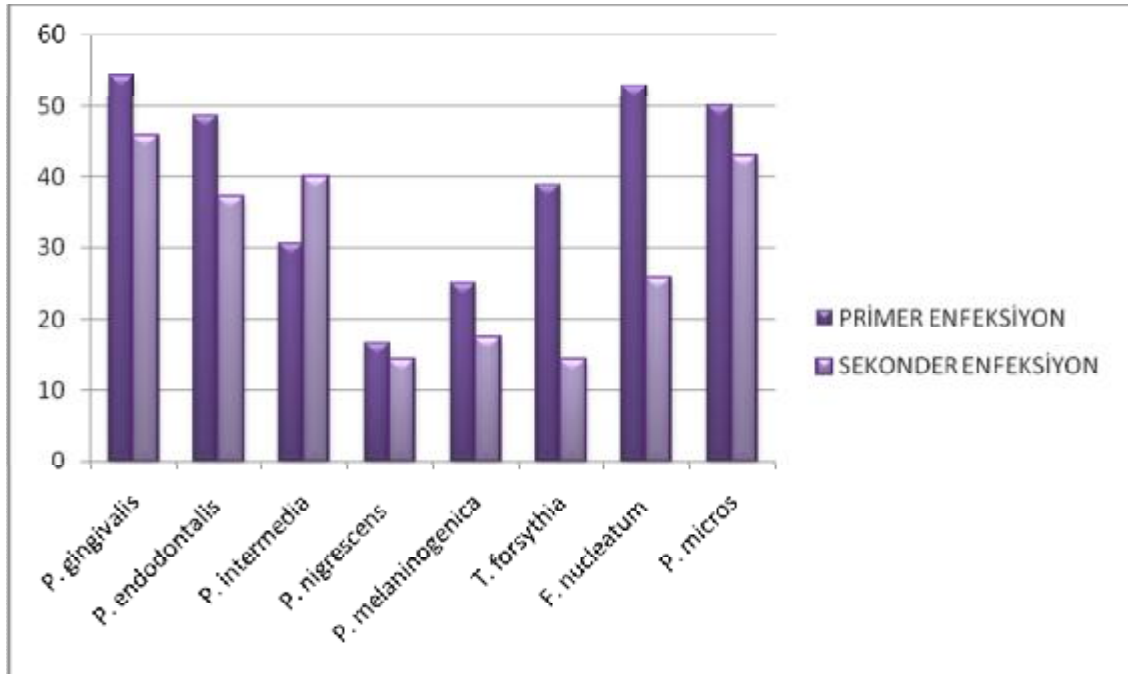
Primer enfeksiyonlu dişlerde *P.gingivalis*'i, %52,8 ile *F.nucleatum*'un izlediği, en düşük oranda tespit edilen bakterinin ise %16,7 oranı ile *P.nigrescens* olduğu görüldü. Sekonder enfeksiyonlu dişlerde ise *P.gingivalis*'i, %42,9 ile *P.micros*, izlerken, en düşük oranda görülen anaerobik bakterilerin %14,3 ile *P.nigrescens* ve *T.forsythia* oldukları tespit edildi. Primer ve sekonder enfeksiyonlu dişlerde pozitif bulunan bakterileri her iki gruba göre istatistiksel olarak kıyasladığımızda, *F.nucleatum* pozitif olan örneklerin %52,8'nin primer enfeksiyonlu, %25,7'nin de sekonder enfeksiyonlu dişlerde yer aldıkları, *T.forsythia* pozitif örneklerin %38,9'nun primer enfeksiyonlu, %14,3'nün de sekonder enfeksiyonlu dişlerde yer aldıkları ve istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğu tespit edildi ($p < 0.05$, Ki Kare testi) (Tablo 4.3) (Şekil 4.2).

Tablo 4.3: Primer (nekrotik dişler) ve sekonder (tedavi başarısızlığı olan dişler) enfeksiyonlu dişlerde hedef bakterilerin dağılımları

HEDEF BAKTERİLER	PRİMER ENFEKSİYON		SEKONDER ENFEKSİYON	
	N	%	N	%
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	39/72	54,2	16/35	45,7
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	35/72	48,6	13/35	37,1
<i>Prevotella intermedia</i>	22/72	30,6	14/35	40
<i>Prevotella nigrescens</i>	12/72	16,7	5/35	14,3
<i>Prevotella melaninogenica</i>	18/72	25	6/35	17,3
<i>Tannerella forsythia</i>	28/72	38,9*	5/35	14,3
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	38/72	52,8†	9/35	25,7
<i>Peptostreptococcus micros</i>	35/72	48,6	15/35	42,9

* p: 0.008

† p: 0.010



Şekil 4.2: Primer (nekrotik dişler) ve sekonder (tedavi başarısızlığı olan dişler) enfeksiyonlu dişlerde hedef bakterilerin dağılımları

d. Tüm kök kanal örneklerinden amplifiye edilen hedef dizilerin değerlendirilmesi sonunda, örneklerin %22,4'i sadece tek bir bakteri türü pozitifliği gösterirken, %23,4'ünde iki bakteri, %13,1'inde üç bakteri, %27,1'de dört bakteri, %11,2'de beş bakteri ve %2,8'de altı bakteri varlığı tespit edilmiştir (Tablo 4.4).

Tek kanal örneğinde	PRİMER ENFEKSİYON		SEKONDER ENFEKSİYON		TOPLAM	
	N	%	N	%	N	%
Sadece bir tür bakteri varlığı	13/72	18,1	11/35	31,4	24/107	22,4
İki bakteri varlığı	13/72	18,1	12/35	34,3	25/107	23,4
Üç bakteri varlığı	12/72	16,7	2/35	5,7	14/107	13,1
Dört bakteri varlığı	21/72	29,2	8/35	22,9	29/107	27,1
Beş bakteri varlığı	10/72	13,9	2/35	5,7	12/107	11,2
Altı bakteri varlığı	3/72	4,2	0	0	3/107	2,8

Tablo 4.4: Primer ve sekonder enfeksiyonlu dişlerde bakteri türlerinin sayısal dağılımları (1)

e. Üç ve üzerinde multi-bakteri kombinasyonlarının tespit edildiği kök kanal örneklerinin %63,9'nun primer enfeksiyonlu dişlerde yer alırken, %34,3'nün sekonder enfeksiyonu bulunan dişlerde yer aldıkları tespit edilmiştir. Primer enfeksiyona sahip dişlerin çok daha yüksek oranda multi-bakteri kombinasyonu içerdikleri ve primer ve sekonder enfeksiyonlu dişler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$, Ki Kare testi) (Tablo 4.5).

Tablo 4.5: Primer ve sekonder enfeksiyonlu dişlerde bakteri türlerinin sayısal dağılımları (2)

PRİMER ENFEKSİYON			SEKONDER ENFEKSİYON		TOPLAM	
	N	%	N	%	N	%
Sadece bir tür bakteri	13/72	18,1	11/35	31,4	24/107	22,4
Sadece iki tür bakteri	13/72	18,1	12/35	34,3	25/107	23,4
Multi-bakteri kombinasyonları (3 ve üzeri)	46/72	63,9*	12/35	34,3	58/107	54,2

*p: 0.015

f. Sadece bir tür bakteri varlığı tespit edilen kanallarda, hedef bakterilerin, tüm kök kanal enfeksiyonlarındaki dağılımı incelendiğinde, *P.gingivalis*, *P.endodontalis* ve *F.nucleatum*'un aynı oranlarda olmak üzere %5,6 ile, bir kök kanal içi örneğinde, tek tür olarak gözlenen en yüksek oranlara sahip oldukları bulgulanmıştır. Primer enfeksiyonlu dişlerden alınan örneklerde aynı dağılıma bakıldığında, *F.nucleatum* ve *P.gingivalis*, sırasıyla %6,9 ve %4,2 ile tek başına en çok tespit edilen bakteri türleri olurken, sekonder enfeksiyonlu dişlerden alınan örneklerde, *P.endodontalis* ve *P.gingivalis*, sırasıyla %14,3 ve %8,6 oranları ile sadece bir kanal örneğinde tek başına en çok bulunan bakteri türleri oldukları tespit edilmiştir.

Primer ve sekonder enfeksiyonlu dişlerde, tek bir kök kanal içi örneğinde sadece bir tür bakteri varlığının sekonder enfeksiyonu olan dişlerde %31,4 oranı ile, %18,1'lik orana sahip primer enfeksiyonlu dişlerden daha yüksek insidansa sahip oldukları görülmüştür

Yine her iki grupta sadece tek bakteriye ait hedef DNA fragmenti elde edilen örneklerdeki bakteri türlerinin irdelenmesi sonucunda, en dikkat çekici farklılığın, primer enfeksiyonlarda %1,4, sekonder enfeksiyonlu hastalara ait örneklerde ise %14,3 oranında tespit edilen *P.endodontalis*'e ait olduğu görülmüştür. Ayrıca

P.gingivalis oranında da sekonder enfeksiyonlu hastalara ait örneklerde (%8.6) primer enfeksiyonlu hastalara ait örneklerle (%4.2) göre 2 kat artış fark edilmiştir (Tablo 4.6).

Tablo 4.6: Sadece bir tür bakteri varlığının tespit edildiği kök kanal örnekleri

Sadece bir tür bakteri varlığı						
Bakteri türü	PRİMER ENFEKSİYON		SEKONDER ENFEKSİYON		Tüm kök kanal enfeksiyonları	
	N	%	N	%	N	%
<i>P. gingivalis</i>	3/72	4,2	3/35	8,6	6/107	5,6
<i>P. endodontalis</i>	1/72	1,4	5/35	14,3	6/107	5,6
<i>P. intermedia</i>	0	0	0	0	0	0
<i>P. nigrescens</i>	0	0	1/35	2,9	1/107	0,9
<i>P. melaninogenica</i>	1/72	1,4	0	0	1/107	0,9
<i>T. forsythia</i>	2/72	2,8	0	0	2/107	1,9
<i>F. nucleatum</i>	5/72	6,9	1/35	2,9	6/107	5,6
<i>P. micros</i>	1/72	1,4	1/35	2,9	2/107	1,9
TOPLAM	13/72	18,1	11/35	31,4	24/107	22,4

g. İki farklı hedef bakteri DNA fragmenti tespit edilen örneklerin hasta gruplarına göre dağılımında, sekonder hastalığı olan hastalara ait örneklerde ikili kombinasyonun %34,3'lük oran ile primer enfeksiyonlu hastalara ait örneklerin iki katı kadar yüksek olduğu görüldü. (Tablo 4.7).

Tablo4.7: Tüm kök kanal enfeksiyonlu dişlerde sadece iki bakteri bulunan örneklerin primer ve sekonder enfeksiyonlu dişlerdeki dağılımı

Örnek	N	%
Primer	13/72	18,1
Sekonder	12/35	34,3
Toplam	25/107	23,4

İki farklı hedef bakteri DNA fragmenti varlığı tespit edilen primer enfeksiyonlu hastalara ait tek bir kök kanal içi örneğinde, en sık karşılaşılan bakteri kombinasyonlarının, *P.gingivalis*+*P.endodontalis* ve *P.gingivalis*+*T.forsythia* olduğu görülmüştür. Bu grupta bakterilerin kombinasyonlara girme oranlarının ise *P.gingivalis* için % 66.7 (8/12), *P.endodontalis* içinde %41.5 (5/12) olduğu görülmüştür. (Tablo 4.8).

Tablo 4.8: Primer enfeksiyonlu dişlerde sadece iki bakteri bulunan örneklerdeki bakteri türleri

Sadece iki bakteri varlığı		
Bakteri türleri	PRİMER ENFEKSİYON	
	N	%
<i>P. gingivalis</i> + <i>P. Micros</i>	1/72	1,4
<i>P. gingivalis</i> + <i>P. endodontalis</i>	4/72	5,6
<i>P. gingivalis</i> + <i>T. forsythia</i>	3/72	4,2
<i>P. gingivalis</i> + <i>F. nucleatum</i>	1/72	1,4
<i>P. endodontalis</i> + <i>F. nucleatum</i>	1/72	1,4
<i>P. endodontalis</i> + <i>P. micros</i>	1/72	1,4
<i>P. nigrescens</i> + <i>F. nucleatum</i>	2/72	2,8
TOPLAM	13/72	18,1

Sekonder enfeksiyonu olan dişlerde, tek bir kök kanal içi örneğinde, iki farklı hedef bakteri DNA fragmenti tespit edilen örneklerde, en sık karşılaşılan bakteri kombinasyonunun *P.micros*+*P.intermedia* (%14,3) olduğu görüldü. Bu grupta bakterilerin kombinasyonlara girme oranlarının ise *P.micros* için %50 (6) ve *P.gingivalis* içinde % 33.3 (4) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.9).

Tablo 4.9: Sekonder enfeksiyonlu dişlerde sadece iki bakteri bulunan örneklerdeki bakteri türleri

Sadece iki bakteri varlığı		
Bakteri türleri	SEKONDER ENFEKSİYON	
	N	%
<i>P. gingivalis</i> + <i>P. intermedia</i>	1/35	2,9
<i>P. gingivalis</i> + <i>P. endodontalis</i>	2/35	5,7
<i>P. gingivalis</i> + <i>P. melaninogenica</i>	2/35	5,7
<i>P. micros</i> + <i>P. intermedia</i>	5/35	14,3
<i>P. micros</i> + <i>P. nigrescens</i>	1/35	2,9
<i>F. nucleatum</i> + <i>T. forsythia</i>	1/35	2,9
TOPLAM	12/35	32,3

h. Primer ve sekonder enfeksiyonlu dişlerde, tek bir kök kanal içi örneğinde, sadece iki farklı hedef bakteri DNA fragmentleri bulunan örneklerdeki kombinasyona giren bakteri türlerinin birbirlerinden farklılık gösterdikleri tespit edilmiştir.

i. Her iki grupta iki ve üzerinde hedef bakteri DNA fragmentleri tespit edilen örneklerde, farklı bakterilerin ikili kombinasyonlarda bir arada bulunma oranları dikkate alındığında; *P.intermedia* ve *P.micros*' un 30 örnekte birlikte kombinasyona girdikleri tespit edilmiştir. Yine *P.micros*'un 28 örnekte *F.nucleatum* ile 24 örnekte *P.endodontalis* ile ve 19 örnekte de *T.forsythia* ile kombinasyonlarda birlikteliği tespit edilmiştir. *P.gingivalis* ise 26 örnekte *P.endodontalis* ile, 23 örnekte *T.forsythia* ve *P.micros* ile ve 19 örnekte *F.nucleatum* ile kombinasyona girdiği görülmüştür. Böylece farklı bakterilerle ikili kombinasyonlara en sık giren bakterinin *P.micros* (101) olduğu, bunu *P.gingivalis* (91)'in izlediği tespit edilmiştir. (Tablo 4.10).

Tablo 4.10: Tüm örneklerde tespit edilen ikili bakteri kombinasyonları

Tüm örneklerdeki ikili bakteri kombinasyonları		
Bakteriler	N	%
<i>P.intermedia</i> + <i>P.micros</i>	30/107	28
<i>F.nucleatum</i> + <i>P.micros</i>	28/107	26,2
<i>P.endodontalis</i> + <i>P.gingivalis</i>	26/107	24,3
<i>P.endodontalis</i> + <i>P.micros</i>	24/107	22,4
<i>T.forsythia</i> + <i>P.gingivalis</i>	23/107	21,5
<i>P.micros</i> + <i>P.gingivalis</i>	23/107	21,5
<i>F.nucleatum</i> + <i>P.gingivalis</i>	19/107	17,8
<i>T.forsythia</i> + <i>P.micros</i>	19/107	17,8
<i>F.nucleatum</i> + <i>P.intermedia</i>	16/107	15

j.

k. Siyah pigmentli bakteriler olan *P.gingivalis*, *P.endodontalis*, *P.intermedia* ve *P.nigrescens*'den bir ya da birkaçının, tüm örneklerin %89,7'de bulundukları, primer ve sekonder enfeksiyonu olan kök kanal örneklerindeki dağılımlarının da, sırasıyla %88,9 ve %91,4 oranlarında yakın değerlerde bulundukları tespit edilmiştir (Tablo 4.11).

Tablo 4.11: Tüm kök kanal örnekleri ile primer ve sekonder enfeksiyonlu dişlerde siyah pigmentli bakterilerden bir ya da birkaçının bulunma oranları

Siyah Pigmentli Bakterilerin Primer ve Sekonder Enfeksiyondaki Dağılımları						
	PRİMER ENFEKSİYON		SEKONDER ENFEKSİYON		TOPLAM	
	N	%	N	%	N	%
Siyah Pigmentli Bakteriler	64/72	88,9	32/35	91,4	96/107	89,7

l. Tüm kök kanal içi örneği alınan 107 hastadan 21'nin klinik belirti ve bulgu görülmeyen asemptomatik vakalar oldukları; böyle asemptomatik seyreden kanal enfeksiyonu bulunan dişlerin de 10'unun primer enfeksiyonlu, 11'nde sekonder enfeksiyonlu dişlerde yer aldıkları tespit edilmiştir. Semptomatik vakaların ise 107 örneğin 86'na sahip oldukları; bu semptomatik kanal enfeksiyonu bulunan dişlerin de 62'nin primer, 24'ünün de sekonder enfeksiyonlu dişlerde yer aldıkları görülmüştür. Primer enfeksiyonlu dişlerde %86,1 oranı ile semptomatik vakaların yüksek olarak varlığı yanında, sekonder enfeksiyonlu dişlerde de %31,4 oranı ile asemptomatik vakaların daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki ilişkileri istatistiksel olarak incelediğimizde, semptomatik dişlerin %86,1'i primer enfeksiyonlu grupta yer alırken, %68,6'sı sekonder enfeksiyonlu grupta yer almış ve istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$, Ki Kare testi) (Tablo:4.12).

Tablo 4.12: Asemptomatik ve semptomatik dişlerin primer ve sekonder enfeksiyonlu dişlerde dağılımları

	PRİMER ENFEKSİYON N:72		SEKONDER ENFEKSİYON N:35		TOPLAM N:107	
	N	%	N	%	N	%
Asemptomatik Dişler	10	13,9	11	31,4	21	19,6
Semptomatik Dişler	62	86,1*	24	68,6	86	80,4

*p: 0.032

m. Klinik semptomların hasta gruplarına göre dağılımında; perküsyon hassasiyeti (%51,4) ve ağrı şikayetinin (%44,9) en sık tespit edilen semptomatik ve anamnestik bulgu olduğu görülmüştür. Yapılan ağız içi muayenelerde, tüm hastaların %38,3'de şişlik ve %29,9'da da fistül varlığı tespit edilmiştir. Kök kanal içi örneği alınan tüm hastaların %70,1'de, periapikal radyografilerde, periapikal radyolusensi görülmüştür. Hasta anamnezleri sonucu, tüm vakaların %15'de, örnek alınan dişleri ile ilgili travma hikayesi olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.13).

Tablo 4.13: Primer ve sekonder enfeksiyonlu dişlerde klinik bulguların dağılımı

Klinik semptomlar	PRİMER ENFEKSİYON		SEKONDER ENFEKSİYON		TOPLAM	
	N	%	N	%	N	%
Oklüzyonda ağrı	33/72	(45,8)	17/35	(48,6)	48/107	(44,9)
Önceki ağrı	15/72	(20,8)	1/72	(2,9)	16/107	(15)
Perküsyon hassasiyeti	37/72	(51,4)	18/35	(51,4)	55/107	(51,4)
Şişlik	33/72	(45,8)	8 /35	(22,9)	41/107	(38,3)
Fistül	24/72	(33,3)	8/35	(22,9)	32/107	(29,9)
Periapikal radyolusensi	51/72	(70,8)	24/35	(68,6)	75/107	(70,1)
Travma hikayesi	16/72	(22,2)	0	-	16/107	(15)

n. Üç ve üzerinde multi bakteri kombinasyonlarının tespit edildiği kök kanal örneklerinin %60,5'nin semptomatik dişlerde yer alırken, %28,6'nın asemptomatik dişlerde yer aldığı görülmüştür. Semptomatik dişlerin, asemptomatik dişlere göre daha yüksek sayılarda bakteri çeşitliliği gösterdikleri ve her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$ Ki Kare testi) (Tablo 4.14).

Tablo 4.14: Asemptomatik ve semptomatik dişlerde bakteri türlerinin sayısal dağılımları

ASEMPTOMATİK DİŞLER			SEMPTOMATİK DİŞLER		TOPLAM	
	N	%	N	%	N	%
Sadece bir tür bakteri	7/21	33,3	17/86	19,8	24/107	22,4
Sadece iki tür bakteri	13/21	38,1	17/86	19,8	25/107	23,4
Multi-bakteri komb. (3 ve üzeri)	46/21	28,6	52/86	60,5*	58/107	54,2

*p: 0.031

o. Toplam 107 örnekten 96’da siyah pigmentli bakterilerden en az bir ya da birkaçının bir arada bulunduğu çalışmamızda, bu 96 örnekten 78’nin semptomatik dişlerden alınan kök kanal örneklerine ait oldukları görülürken, 18’nin asemptomatik dişlerden alınan örneklerde bulundukları tespit edilmiştir. 21 asemptomatik dişin 18’de, 86 semptomatik dişin de 78’de bu bakterilerden bir ya da bir kaçının bulunduğu görülmüştür. İstatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.05$) (Tablo 4.15).

Tablo 4.15: Siyah pigmentli bakterilerden bir ya da bir kaçının bulunduğu örneklerin asemptomatik ve semptomatik dişlerdeki dağılımı

Asemptomatik ve Semptomatik Dişlerde Siyah Pigmentli Bakterilerin Dağılımları						
	Asemptomatik Dişler		Semptomatik Dişler		TOPLAM	
	N	%	N	%	N	%
Siyah Pigmentli Bakterilerden en az 1 ya da birkaçının varlığı	18/21	85,7	78/86	90,7	96/107	89,7

p. *P.micros* pozitif olan örneklerin %51’de siyah pigmentli bakterilerden bir ya da birkaçının da bulunduğu ve bu sonucun istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği, siyah pigmentli bakteriler ile *P.micros* arasında bir ilişkinin bulunduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$, Ki Kare testi).

q. Çalışmamızda araştırdığımız tüm hedef bakterilerin asemptomatik ve semptomatik dişlerdeki dağılımlarını incelediğimizde toplam 86 semptomatik dişten alınan kök kanal örneklerinde %55,8 oranı ile *P.gingivalis*’in en yüksek oranda izlenen bakteri olduğu; 21 asemptomatik dişten alınan kök kanal örneklerinde ise %47,6 oranı ile *P.endodontalis* ve %42,9 ile *P.micros*’un diğerlerinden daha fazla bulundukları tespit edilmiştir. İki grubu istatistiksel olarak kıyasladığımızda, *P.melaninogenica* pozitif

örneklerin %4,8'i asemptomatik dişlerde yer alırken, %26,7'i semptomatik dişlerde yer aldığı ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$, Ki Kare testi) (Tablo 4.16).

Tablo 4.16: Hedef bakterilerin asemptomatik ve semptomatik dişlerde dağılımı

Asemptomatik Dişler (N:21)			Semptomatik Dişler (N:86)	
	N	%	N	%
<i>P. gingivalis</i>	7	33,3	48	55,8
<i>P. endodontalis</i>	10	47,6	38	44,2
<i>P. intermedia</i>	5	23,8	31	36
<i>P. nigrescens</i>	3	14,3	14	16,3
<i>P. melaninogenica</i>	1	4,8	23	26,7*
<i>T. forsythia</i>	4	19	29	33,7
<i>F. nucleatum</i>	7	33,3	40	46,5
<i>P. micros</i>	9	42,9	41	47,7

*p: 0.030

r. Çalışmamızda pozitif bulunan hedef bakterilerin klinik belirti ve bulgularla olan ilişkileri değerlendirildiğinde, *P.gingivalis* varlığı tespit edilen toplam 55 örneğin alındığı hastalardan 37'nin perküsyon hassasiyeti bulgusu gösterdikleri görülmüş, %67,3 oranı ile bu semptom en yüksek değerde *P.gingivalis* pozitif olan örneklerde tespit edilirken istatistiksel olarak da *P.gingivalis* ile perküsyon hassasiyetinin ilişkili oldukları tespit edilmiştir ($p<0.05$, Ki Kare testi). *P.nigrescens*'in ise, perküsyon hassasiyeti olan hastalarda %58,8 oranı ile ikinci en yüksek değeri gösterdiği ancak istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı bulgulanmıştır. Şişlik bulgusu gösteren hastaların örneklerinde *P.melaninogenica*'nın %58,3 oranında, *P.gingivalis*'in ise %58,2 oranında pozitiflik gösterdiği ve her iki bakterinin de şişlik bulgusu ile istatistiksel olarak ilişkili oldukları belirlenmiştir ($p<0.05$, Ki Kare testi).

Ağrı bulgusu görülen dişlerde en yüksek oranda varlığı belirlenen bakterilerin ise %79,2 ve %55,5 oranlarıyla *P.melaninogenica* ve *P.intermedia* oldukları görülmüş, *P.melaninogenica* ve ağrı bulgusunun istatistiksel olarak da anlamlı bir ilişkileri olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$, Ki Kare testi) (Tablo 4.17).

Tablo 4.17: Hedef bakterilerin klinik belirti ve semptomlara göre dağılımları

Hedef bakteriler		Ağrı	Önceki ağrı	Perküsyon hassasiyeti	Şişlik	Periapikal radyolusensi	Fistül	Travma hikayesi
N								
<i>P. gingivalis</i>								
55	N	26	10	37§	32†	17	41	9
	%	47,3	18,2	67,3	58,2	30,9	74,5	16,4
<i>P. endodontalis</i>								
48	N	22	10	24	18	13	28	9
	%	45,8	20,8	50	37,5	27,1	59,6	18,8
<i>P. intermedia</i>								
36	N	19	5	16	14	11	28	4
	%	52,7	13,9	44,4	38,8	30,6	77,7	11,1
<i>P. nigrescens</i>								
17	N	8	2	10	8	2	11	1
	%	47,05	11,8	58,8	47,1	11,8	64,70	5,9
<i>P. melaninogenica</i>								
24	N	19*	3	14	14‡	11	19	3
	%	79,2	12,5	58,3	58,3	45,8	79,1	12,5
<i>T. forsythia</i>								
33	N	11	7	18	14	14	22	5
	%	33,3	21,2	54,5	42,4	42,4	66,6	15,2
<i>F. nucleatum</i>								
47	N	20	9	26	21	15	34	10
	%	42,6	19,1	55,3	44,7	31,9	72,3	21,3
<i>P. micros</i>								
51	N	20	5	21	21	14	37	8
	%	40	10	42	42	28	74	16

O. ağrı: Oklüzyonda ağrı

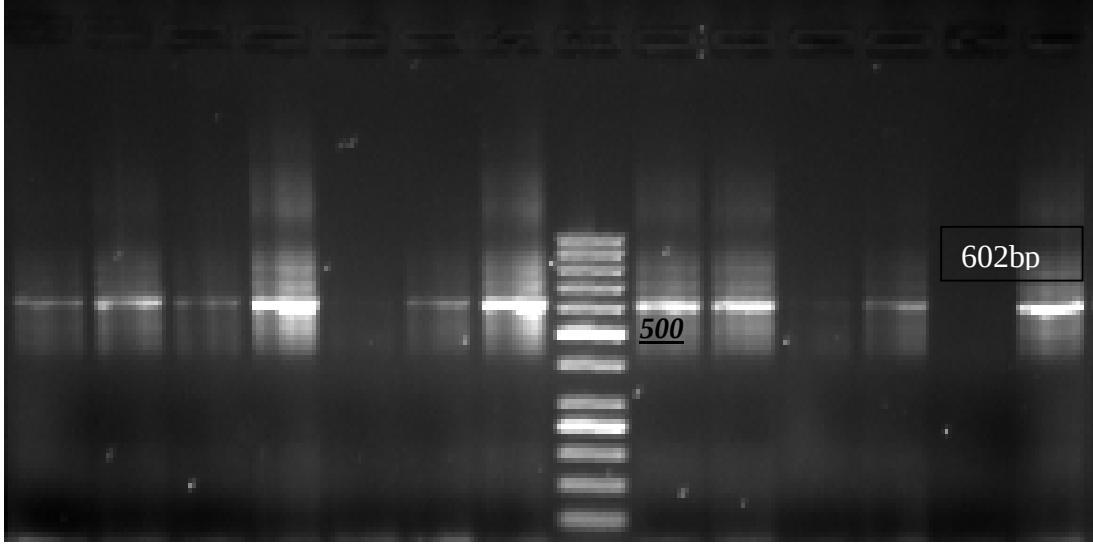
Ö. ağrı: Önceki ağrı

* p: 0.000

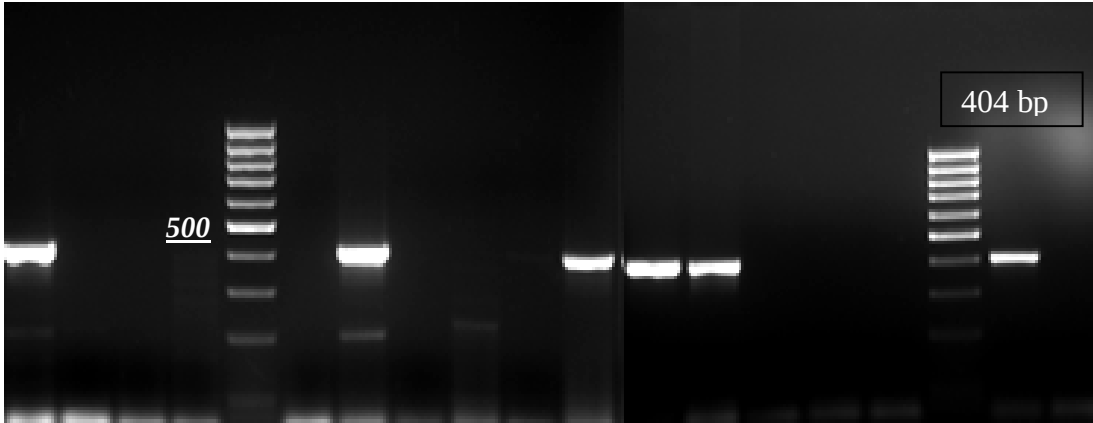
† p: 0.018

‡ p: 0.022

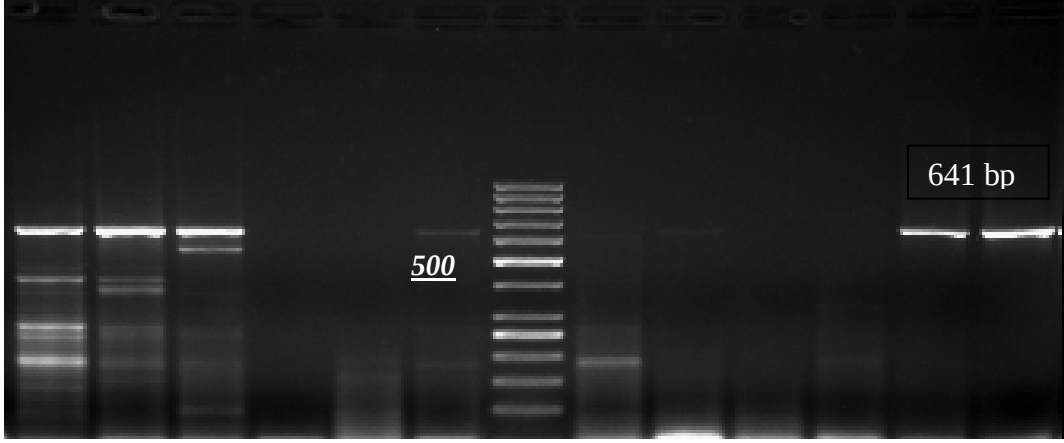
§ p: 0.001



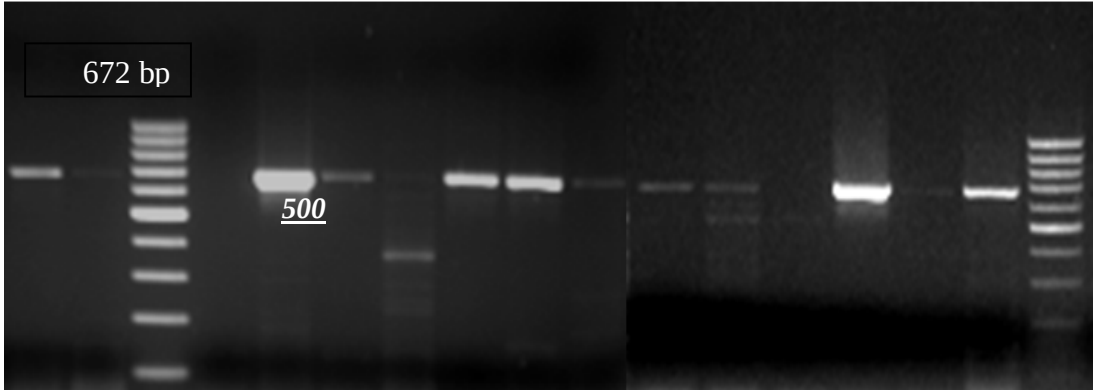
Şekil 4.3: Universal bakteriyel primerler kullanılarak yapılan PCR analizinin UV ışık altında agaroz jeldeki görüntüsü.



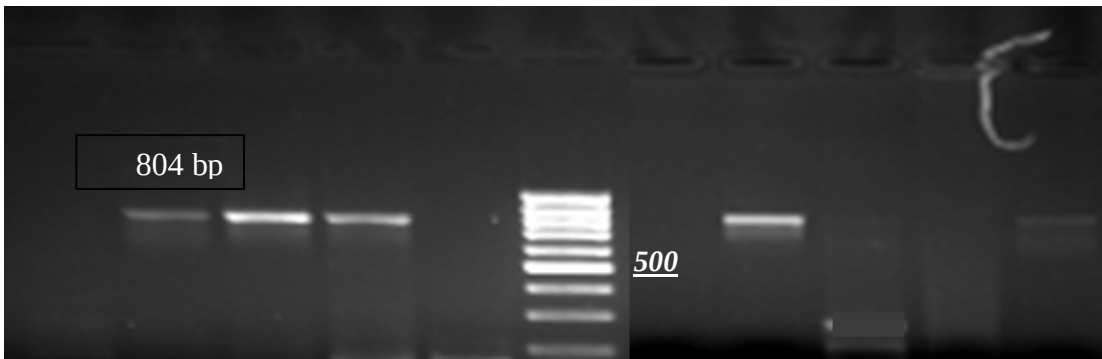
Şekil 4.4 : *P.gingivalis* spesifik primerleri kullanılarak yapılan PCR analizinin UV ışık altında agaroz jeldeki görüntüsü.



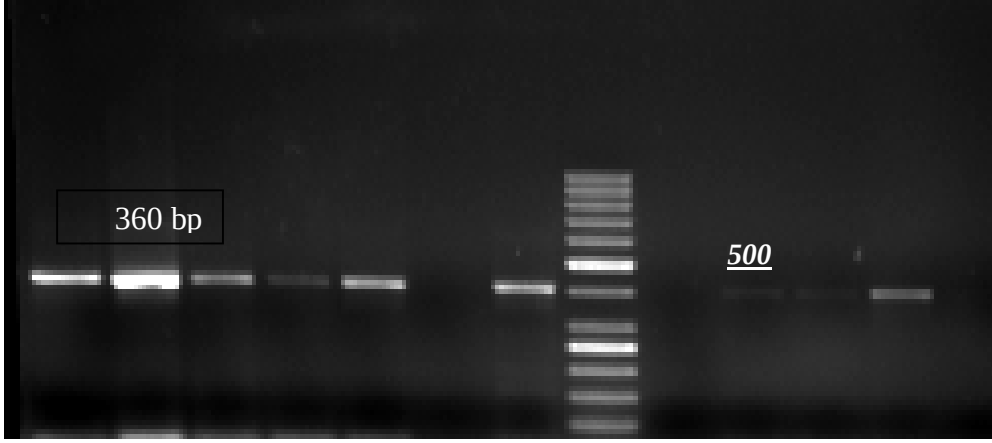
Şekil 4.5 : *T.forsythia* spesifik primerleri kullanılarak yapılan PCR analizinin UV ışık altında agaroz jeldeki görüntüsü.



Şekil 4.6: *P.endodontalis* spesifik primerleri kullanılarak yapılan PCR analizinin UV ışık altında agaroz jeldeki görüntüsü.



Şekil 4.7: *P.nigrescense* spesifik primerleri kullanılarak yapılan PCR analizinin UV ışık altında agaroz jeldeki görüntüsü



Şekil 4.8: *F.nucleatum* spesifik primerleri kullanılarak yapılan PCR analizinin UV ışık altında agaroz jeldeki görüntüsü



Şekil 4.9: *P.micros* spesifik primerleri kullanılarak yapılan PCR analizinin UV ışık altında agaroz jeldeki görüntüsü

5. TARTIŞMA

Apikal periodontitisin etyolojisi ile ilgili yapılan çalışmalarda, primer enfeksiyonu olan nekrotik pulpal dişler ile sekonder enfeksiyonu olan ve daha önceden kök kanal tedavisi uygulanmış ancak tedavi başarısızlığı görülen dişlerden, zorunlu anaerobların yanı sıra birçok oral bakteri türünün de katıldığı miks enfeksiyonların sorumlu oldukları gösterilmiştir.^{13,17,36,133,134} Ancak kök kanal enfeksiyonlarında ön plana çıkan gram negatif anaerob mikroorganizmaların geleneksel kültür yöntemleri ile üretilmelerinin çok zor olması ve *P.intermedia* ve *P.nigrescens* gibi bazı türlerin ayrımının konvansiyonel fenotipik metodlarla yapılamaması, bu mikroorganizmaların gerçek insidansları ve klinik spektrumlarının anlaşılmasını geciktirmiştir. Enfeksiyon hastalıkların tanısında, tiplendirilmesinde, virulans ve antibiyotik dirençlerinin tespitinde DNA-DNA hibridizasyon¹³, PCR, denaturing gradient jel elektroforezi ve DNA sekans analizi gibi moleküler yöntemlerin kullanılması ile daha önce kök kanallarında hiç tespit edilemeyen ya da düşük prevalanslarda belirlenen bu gruba ait bakterilerin, kök kanalları ile ilişkili enfeksiyonlardaki rolleri ve prevalansları daha geniş vaka gruplarında çalışılmış ve enfeksiyonlarla yüksek oranlarda ilişkileri gösterilerek, pulpal ve periapikal hasarın ilerlemesindeki rolleri daha iyi anlaşılmıştır^{106,132,135-139}.

Oral anaeroblarla ilgili çalışmalarda, DNA sekans analizi altın standart olsa da, belirlenmiş türlerin araştırıldığı çalışmalarda, PCR, özellikle kök kanal bölgesinde bulunan bakteri DNA'nın varlığının tespitinde, sensitivitesi ve spesifitesi yüksek ve uygulaması kolay bir yöntem olarak görülmekte; bu teknik ile hem yavaş üreyen hem de kültürü yapılamayan bakteri türlerinin identifikasyonu hızlı bir şekilde yapılabilmektedir^{55,57,140,141,142}. Gomes et al.⁹⁶ çalışmalarında, 50 primer ve 50 sekonder enfeksiyonlu dişlerde 4 siyah pigmentli bakteriyi kültür ve PCR metodları ile araştırmışlar, tüm örneklerdeki siyah pigmentli bakteri oranı PCR ile %50 bulunurken, kültür ile aynı örneklerde bu oran %13 bulunmuştur. Bu sonucun, kültür işlemleri sırasında, üremesi zor olan siyah pigmentli anaerob bakterilerin kaybı ile ilişkili olabileceği¹⁴³ ve bu türlerin identifikasyonunda PCR tekniğinin sensitivitesinin

kültürden yüksek olduğu bildirilmiş ve bu sonuçlar daha önceden rapor edilmiş^{132,142,144} olanlarla uyum göstermiştir. Aynı çalışmada, *P.gingivalis* kültür yöntemi ile %1 oranında tespit edilirken PCR ile %38 oranında tespit edilmiş ve baskın olan türler arasında yer almıştır. Ayrıca, *P.endodontalis*'in varlığı kültür ile hiçbir örnekte tespit edilemezken PCR ile dişlerin %25'de bulunmuştur. Kültür metodu kullanılarak yapılan farklı çalışmalarda^{145,146,147,148} da, bu iki bakterinin endodontik enfeksiyonlardaki düşük oranları bildirilmekte, bu durumun, *Porphyromonas* türlerinin müşkülpesent ve oksijene duyarlı mikroorganizmalar olmalarından dolayı, kültür ile identifikasyonunun başarısız olması ile ilişkili olabileceği bildirilmektedir^{9,96}.

Tomazinho et al.¹⁰⁶, kültür yöntemleri ile değerlendirdikleri ve 81 farklı bakteri türü izole ettikleri kök kanal enfeksiyonlu 100 diş örneğinden 33'ünde en az bir siyah pigmentli bakterileri tespit ettiklerini bildirmişler; PCR ile analizi yapılan 60 örnekte ise en sık tespit ettikleri baskın olan iki türün %43,3 oranı ile *P.gingivalis* ve %43,3 oranı ile *P.nigrescens* olduğunu, bunları, %31,7 oranı ile *P.intermedia* ve %23,3 oranı ile de *P.endodontalis*'in takip ettiğini rapor etmişlerdir. Kültür ile elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, *P.gingivalis* ve *P.nigrescens*'in sırasıyla %15,2 ve %9,1 gibi çok daha düşük oranlarda kaldığını vurgulayan araştırmacılar, bu sonuçlarını ve kültür ile PCR tekniğinin kıyaslandığı, daha önceden yapılan çalışmaların sonuçları ile kıyaslayarak kültürün sensitivitesindeki düşüklüğün literatürle örtüştüğünü vurgulamışlardır^{18,132}. Ancak bu grup, PCR 'ın kültüre göre daha sensitiv olmasına karşılık canlı mikroorganizmalarla ölü bakteri DNA'sını ayıramadığı için alınan pozitif sonuçların iyi değerlendirilmesi gerektiğine dikkat çekmişlerdir¹⁰⁶. Öte yandan yüksek sensitivite gücüne sahip olan PCR'ın, çok düşük sayılardaki bakteri hücrelerini dahi tespit edebilmesi ve konvansiyonel bakteriyel kültür yöntemlerindeki gibi örnek transportunda özel bir transport şartlarına ihtiyaç göstermemesi, bu yöntemin en büyük avantajlarından^{144,149}. Ayrıca, endodontik miks enfeksiyonlarda spesifik primerlerin kullanımı mikroorganizmaların tür düzeyinde tespitinde en uygun yaklaşım olarak görülmektedir¹⁰⁶.

Biz literatürde belirtilen bu bilgilere dayanarak, hem primer hem de sekonder kök kanal enfeksiyonu olan hastaların diş kök kanal örneklerinde, etyoloji ile ilişkilerbilinen 8 major anaerob gram negatif bakterinin bölgesel insidansını tespit amacı ile PCR yöntemini kullandık.

Bu çalışmada, primer enfeksiyonlu nekrotik pulpalı dişlerde ve sekonder enfeksiyonlu kanal tedavisi başarısızlığı görülen dişlerde öncelikle, 16S rDNA universal primerleri kullanılarak kök kanal örneklerinde bakteriyal DNA varlığının araştırılmış, takiben hedef bakterilere ait spesifik ve konservatif dizileri tanıyan primerler kullanılarak PCR işlemleri yürütülmüştür. Bakterilere ait hedef DNA fragmentleri tespit edilemeyen 2 örnek çalışmaya dahil edilmemiştir. Bu örneklerin alındığı hastaların anamnezleri incelendiğinde, yakın dönemde travma hikayelerinin mevcut olduğu görülmüş ve bu doğrultuda, pulpa cevabının henüz gelişmediği, hastalarda hafif semptomların varlığı ile radyografik olarak belirgin bir değişiklik olmaksızın seyrettiği, örnek alındığı dönemde kök kanallarının henüz bakteriyal bir kontaminasyona maruz kalmadığı düşünülmüştür.

Primer enfeksiyonlu nekrotik pulpalı 72 diş ve sekonder enfeksiyonlu kanal tedavisi başarısızlığı görülen 35 diş olmak üzere, toplam 107 hastaya ait 107 dişin kök kanal içi örneğinde, hedef olarak alınan anaerob bakterilerden en sık karşılaşılanı, örneklerin %51,4’de görülen *P.gingivalis* olmuştur. Bu bakteriye ait hedef DNA, primer enfeksiyonlu dişlerin %54,2’si ile sekonder enfeksiyonlu dişlerin %45,7’inde tespit edilmiştir. Bu bakteriyi, sırası ile tüm örneklerde; %46,7 ile *P.micros*, %44,9 ile *P.endodontalis*, %43,9 ile *F.nucleatum*, %33,6 ile *P.intermedia*, %30,8 ile *T.forsythia*, %22,4 ile *P.melaninogenica* ve %15,9 ile *P.nigrescens* izlemiştir. Bu sonuçlara göre, çalışılan tüm endodontik enfeksiyonlu dişlerde en baskın olan türlerin *P.gingivalis*, *P.micros*, *P.endodontalis*, *F.nucleatum* oldukları tespit edilmiştir.

Benzer şekilde, Gomes et al.⁹⁶ çalışmalarında, *P.gingivalis*’i, %38’lik oran ile tüm örneklerde en baskın bulunan tür olarak bulmuşlar ve bunu bizim çalışmamızdaki elde ettiğimiz oranla eşit olmak üzere %33 oranında tespit ettikleri *P.intermedia*’nın izlediğini belirtmişler; bunun yanında aynı çalışmada *P.nigrescens*’in diğerlerine göre daha düşük oranlarda varlığının da çalışmamızla benzer olarak tespit edildiği gözlenmiştir.

Siqueira et al.¹⁵⁰, 16S rRNA genini hedef alan nested-PCR metodu ile yaptıkları ve endodontik enfeksiyonlu 62 diş örneğini sadece *P.gingivalis* yönünden değerlendirdikleri çalışmalarında, bu bakteri hedef DNA’sını örneklerin %48’inde tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Tomazinho et al.¹⁰⁶ ise, 60 endodontik enfeksiyonlu kök kanal örneğini PCR ile değerlendirdikleri çalışmalarında, en baskın olan iki türün %43,3 oranında *P.gingivalis* ve %43,3 oranında *P.nigrescens* olduğunu bildirmişlerdir. Bu grup yine bizim oranlarımıza çok yakın olmak üzere %31,7 oranında *P.intermedia* ve %23,3 oranında da *P.endodontalis*'in takip ettiğini belirtmişlerdir.

Çoğulu ve arkadaşları.³⁴, aynı yöntemi kullanarak, seçilmiş bazı bakteri türlerini, akut ve kronik endodontik enfeksiyonu bulunan, süt ve daimi dişlerde araştırmışlar ve daimi dişlerde *P.gingivalis* oranını %32 olarak tespit etmişlerdir.

Roças et al.¹⁵¹, PCR ile red kompleks olarak nitelendirilen *B.forsythus*, *P.gingivalis* ve *T.denticola*'nın endodontik enfeksiyonlardaki varlıkları ve klinik bulgularla ilişkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında, örneklerin %66'da, red kompleks üyelerinden en az birinin varlığını göstermişler; tüm örneklerde *P.gingivalis* oranı %30, *B.forsythus* oranı %26 ve *T.denticola*'nın oranında %44 olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda, endodontik enfeksiyonlu kök kanal örneklerindeki *T.denticola* varlığı incelenmemiş ancak bu çalışmada da *P.gingivalis*'in bu enfeksiyonlardaki varlığı çalışmamızla benzer olarak yüksek bulunmuştur.

Siqueira et al.¹⁵² ise endodontik enfeksiyonlu kök kanal örneklerinde tespit ettikleri, en yüksek prevalansın %42,6 ile *P.endodontalis*'e ait olduğunu rapor etmişler, *P.intermedia* ve *P.nigrescens*'in ise sırasıyla %5,6 ve %7,4 ile düşük oranlarda görüldüğünü belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızın sonuçlarına göre de benzer olarak, *P.nigrescens* en düşük oranda tespit edilen tür olmuş, ancak *P.intermedia* çok daha yüksek oranda bulgulanmıştır. Farklı olarak, Fouad et al.¹³⁹ *P.nigrescens*'i %32'lik oranla en baskın tür olarak bulgulanmışlar; bunu %18 ile *P.endodontalis*, %9 ile *P.gingivalis* ve de %5 ile *P.intermedia*'nın takip ettiğini bildirmişlerdir.

Ercan ve ark.¹⁵³,nin kültür yöntemi ile endodontik enfeksiyonlu dişlerde yaptıkları çalışmalarında, hem primer hem de sekonder enfeksiyonu bulunan 100 kanal örneğinde, tüm örneklerdeki pozitiflikleri değerlendirdiklerinde, en baskın olarak tespit edilen türlerin *Peptostreptokok* türleri olduğu, bunu diğer *Streptokok* türleri ve *Phorpyhromonas* türlerinin izlediği rapor edilmiştir.

Ulusoy Ö.İ.¹⁵⁴, enfekte kök kanallarında, *P.gingivalis* ve *T.denticola* varlığını ve virulans faktörlerini, real-time PCR yöntemi ile inceledikleri çalışmalarında, 60 kök kanal örneğinden %16,67'de *P.gingivalis* varlığını tespit etmişlerdir.

Literatürde belirtilen bizim de prevalans araştırması yaptığımız hedef bakterilerin çalışmalara göre değişen oran farklılıklarının, çalışmalardaki hasta seçimi, örnek alımı, kullanılan yöntemlerin, DNA ekstraksiyon veya PCR uygulamalarının farklılıklarından kaynaklanabileceği bahsedilmiş; bunun yanında, endodontik enfeksiyonlarda bakteriyal prevelansta görülen farklılıkların coğrafik bölge ile ilişkili de olabileceği bildirilmiştir¹⁵⁵.

Kök kanallarının primer enfeksiyonu, mikroorganizmaların nekrotik pulpa dokusunda pulpanın disfonksiyonuna neden olacak şekilde kolonize olmaları sonucu gelişmektedir. Sekonder enfeksiyonlar ise, kemo-mekanik prosedürlere dirençli mikroorganizmalar, yetersiz tedavi uygulamaları sonucu kök kanalında kalan bakteri toplulukları veya koronal restorasyonlardan mikrosızıntı yolu ile bakteri invazyonu sonucu gelişir¹⁵⁶. Bunun yanında, yetersiz aseptik kontrol, kötü giriş kavitesi, gözden kaçan ekstra kanallar, yetersiz instrumentasyon ve zayıf geçici veya daimi restorasyonlar, tedavi başarısızlıklarını etkileyen önemli faktörlerdir. Genel olarak kök kanal tedavisindeki başarısızlıkların ve sekonder enfeksiyonların gelişiminde temel nedeninin, kök kanal tedavisi yapılmış olan dişlerin apikal bölgelerinde kalan bakteriler oldukları ve bu mikroorganizmaların da besinin az olduğu sınırlı şartlar altında varlıklarını sürdürebilen dirençli türler oldukları belirtilmektedir⁹².

Endodontik mikrobiyal floranın bakteri profillerinin özellikle beslenme alışkanlıklarına ve oral hijyene bağlı olarak kişiler arasında değişebileceği; her bireyin tür çeşitliliği ve bolluğu açısından farklı bakteri profili sergilediği belirtilmektedir⁷. Bu durum, primer endodontik enfeksiyonlarda, tek bir bakterinin primer patojen olarak rol almadığı, ancak, miks bakteri kombinasyonlarının enfeksiyonun oluşumu ve prognozunda rollerinin bulunduğunu düşündürür. Bugüne kadar kültür ve moleküler yöntemlerle primer enfeksiyonlu dişlerde 82 cins içerisinde yer alan 391 bakteriyal, 4 fungal tanımlanmış ajan ile, varlığı gösterilen ancak tanımlanamayan 136 suşun bu enfeksiyonlarla ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür. Sekonder enfeksiyonlu dişlerde ise primer enfeksiyonlulara göre çeşitliliğin azaldığı bildirilmektedir. Nitekim hem kültür hem de moleküler yöntemlerle bu güne kadar 58 cins içerisinde yer alan 158 bakteriyal, 3 fungal tanımlanmış ajanın bu enfeksiyonlarda rol oynadığı tespit edilmiştir. Yine bu grupta da tanımlanamayan 46 suşun bulunduğu ileri sürülmüştür¹⁵⁷.

Primer ve sekonder enfeksiyonlu dişlerin kök kanal mikrofloralarının da farklı olduğu, bu farklılıkların temel olarak, kök kanallarında tedavi prosedürleri sırasında veya sonrasında görülen ekolojik değişikliklere bağlı olabileceği belirtilmektedir⁹².

Çalışmamız sonucunda, primer enfeksiyonlu dişlerde hedef mikroorganizmaların dağılımını değerlendirdiğinde, yüksek oranlarda, *P.gingivalis* (%54,2), *F.nucleatum* (%52,8), *P.micros* (%48,6) ve *P.endodontalis* (%48,6) tespit edilmiştir. Sekonder enfeksiyonlu dişlerin sonuçları değerlendirildiğinde ise, *P.gingivalis* (%45,7)'in yine en baskın tür olarak yer aldığı, bunu *P.micros* (%42,9), *P.intermedia* (%40) ve *P.endodontalis* (%37,1)'in takip ettiği görülmüştür.

Siqueira et al.¹⁵⁰, primer enfeksiyonu olan dişlerde yaptıkları PCR temelli bir çalışmada, tüm örneklerde *P.gingivalis*'in oranını %48 bulmuşlar ve bu bakterinin akut semptomları olan dişlerde kronik apikal periodontitis vakalarına göre çok daha yüksek oranlarda varlığından bahsetmişlerdir.

Blome et al.¹⁰⁵, hem primer hem de sekonder enfeksiyonlu dişlerde en baskın olarak *P.micros* (%55) ve *P.endodontalis*'i (%35) bulmuşlar; *F.nucleatum*'u %27,5 oranında, *P.gingivalis*'i %12,5 oranında, *P.intermedia*'yı ise %5 oranında bildirmişlerdir. Gerek bizim gerekse bizimle aynı yöntemi kullanarak aynı hasta grubunda çalışan literatür bulgularına göre, bu grubun *P.gingivalis*'i daha düşük oranlarda bulmaları, bu grubun kronik apikal periodontitis bulgusu gösteren hasta grubuna ait dişlerde aldıkları örnekleri çalışmış olmaları ile izah edilebilir. Çünkü bu bakteri sıklıkla semptomatik vakalarla ilişkilendirilmektedir^{8,115,158}. Sekonder enfeksiyonlu dişlerde anaerob bakterilerle beraber *E.faecalis*'in yüksek oranda varlığı yapılan çok sayıda çalışmada gösterilmiştir¹⁵⁹⁻¹⁶⁴. Ülkemizde yapılan bir çalışmada¹⁵³ da sekonder enfeksiyonlu dişlerde bu bakterinin en baskın tür olduğu, *E.faecalis* yanında, *P.endodontalis* ve *P.gingivalis*'in enfeksiyona iştirak ettikleri izolasyon çalışmaları ile gösterilmiştir. Blome et al.¹⁰⁵ sekonder enfeksiyonlu dişlerde etyolojiyi tespiti yönelik olarak yaptıkları ve moleküler tanı yöntemlerini kullandıkları çalışmalarında; örneklerin %10'unda *E.faecalis* varlığından bahsederken, *P.micros*'un %45'lik bir oran ile örneklerdeki en baskın tür olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuç *E.faecalis*'in sekonder enfeksiyonlarda baskın tür olduğundan bahseden çalışmalarla kontrast yaratmaktadır. Benzer şekilde Çukurova bölgesinde yapılan çalışmada¹²⁸ da, *E.faecalis*'in sekonder enfeksiyonlu dişlerdeki oranı PCR ile %10, kültür ile %9

oranlarında tespit edilmiştir. Biz çalışmamızda konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemlerle tanımlanamayan ancak gerek primer gerekse sekonder enfeksiyonlarda tek başlarına veya aeroblarla birlikte etyolojiden sorumlu tutulan anerobların prevalansını tespiti amaçladık. Bu sebeple bu çalışmada *Enterokok* türleri araştırmaya dahil edilmemiştir. Ancak sekonder enfeksiyonlu dişlerde %42,9'luk oranla *P.micros*, *P.gingivalis*'den sonra en baskın tür olarak tespit edilmiştir. Bu bulgumuz Blome et al.¹⁰⁵'un çalışmaları ile uyum göstermektedir. Benzer şekilde, Peters et.al¹⁶⁵ kültür metoduyla endodontik enfeksiyonlarda bakteri türlerini araştırdıkları çalışmalarında, 58 kök kanalında, *P.micros*'u (%29) en baskın türler arasında gösterirken, farklı bir sonuç olarak Peciulienė et al.⁹² sekonder enfeksiyonlu dişlerde enterokok, peptostreptokok, aktinomiçes ve candidaları yüksek oranda bildirmişlerdir.

Fouad et.al.¹⁰ nekrotik pulpalı kök kanallarında yaptıkları bir çalışmada, etyoloji ile ilişkili olarak en yüksek oranda *F.nucleatum*'u tespit etmişlerdir. Çalışmamızda da, *F.nucleatum* primer enfeksiyonlu dişlerde *P.gingivalis*'i takiben, en yüksek pozitiflik oranı gösteren bakteri olmuştur. Sekonder enfeksiyonlu dişlerde ise bu bakteriye ait hedef diziler çok daha düşük oranlarda tespit edilmiştir. Bu mikroorganizmanın endodontik enfeksiyonlarda baskın olarak yer aldığını hem kültür^{10,11,166} hem de PCR¹¹⁵ yöntemleri ile doğrulayan birçok çalışma bulunmaktadır.

Primer enfeksiyonlu dişlerde, tipik olarak polimikrobiyal toplulukların varlığından bahsedilmekte, gram pozitif ve gram negatif türlerin yaklaşık olarak eşit oranlarda varlığı ve aminoasitlerle peptidleri fermente edebilen zorunlu anaerobların baskınlığı bildirilmektedir. Sekonder enfeksiyonlu dişlerde ise, gram pozitif bakterilerin yüksek prevalansından bahsedilirken kanal içerisinden izole edilen bakteri türlerinin daha az çeşitte oldukları belirtilmektedir⁹². Blome et al.¹⁰⁵, primer enfeksiyonu olan dişlerdeki bakteri çeşitliliğinin daha fazla olduğunu, sekonder enfeksiyonlu dişlerde, 1-2 türün varlığını tespit etmişlerdir.

Çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde de, multibakteri kombinasyonlarının primer enfeksiyonlu dişlerde % 63,9 (46/72) gibi yüksek oran sergilediği ve istatistiksel olarak sekonder enfeksiyonlu dişlere göre farklı olduğu tespit edilmiştir.

Tüm kök kanal örneklerinde bulunan bakteri çeşitlilikleri değerlendirildiğinde, tek bir kök kanalında sadece bir tür bakterinin bulunma oranının primer enfeksiyonlu

dişlerde %18,1 sekonder enfeksiyonlu dişlerde ise %31,4 olarak tespit edilmiştir. Primer enfeksiyonlu dişlerin daha fazla bakteri çeşitliliği gösterdikleri ve literatürde yüksek bakteriyal yük ve çeşitle ilişkili olduklarını bildiren çalışmalarla^{106,135,167} uyumlu olduğu görülmüştür. Tüm örneklerde, tek tür olarak bulunan bakterilerde tespit ettiğimiz oran %22,4'dür. Geriye kalan tüm örneklerde 2 veya daha fazla bakteri kombinasyonunun bir arada olduğu düşünüldüğünde, endodontik enfeksiyonların miks enfeksiyonlar şeklinde seyrettiği çalışmamıza ait sonuçlarla da doğrulanmıştır.

Birçok çalışmada, besin zincirine dayalı olarak bazı bakteri türlerinin birbirleri ile sinerjik ilişki içerisinde olduklarından bahsedilmekte ve endodontik enfeksiyonlu dişlerde farklı bakteri kombinasyonlarının sıklıkları tartışılmaktadır^{11,12,151,152}. Bazı çalışmalarda, *T.forsythia* ile *P.gingivalis*¹⁵¹ bazılarında ise *F.nucleatum* ile *P.gingivalis*¹⁶⁸ arasındaki ilişkiden ve bu bakterilerin endodontik enfeksiyonlardaki sinerjik etkileşiminden bahsedilmektedir. Benzer olarak bir çalışmada¹⁰ da, *T.forsythia*'nın hemen daima siyah pigmentli gram negatif anaerob basillerden bir veya birkaçı ile ilişkili olduğu belirlenmiştir.

Biz de çalışmamızda değerlendirdiğimiz kök kanal örneklerinin 33'ünde *T.forsythia*'nın hedef DNA dizilerini tespit ettik. Bir başka ilginç bulgumuzda bu bakteri DNA'sının tespit edildiği 33 örnekten 30'unda siyah pigmentli bakterilerden bir ya da birkaçına ait hedef DNA dizilerinde bulunmasıdır. Bu bulgu literatürdeki iddiaları doğrular niteliktedir. Nitekim Fouad et al.¹⁰, *B.forsythus* (*T.forsythia*) ve bir spiroket olan *T.denticola*'nın, primer enfeksiyonlu dişlerde, siyah pigmentli bakterilerle daima bir arada bulunduğunu bildirmişler ve bu ilişkiyi vurgulamışlardır. Çalışmamızda *T.forsythia* siyah pigmentli bakteri birlikteliğinin bulunduğu toplam 30 örnekten 26'nın primer enfeksiyonlu hastalara ait olduğu ve bu sonucun da Fouad et al.¹⁰'un çalışmalarının sonuçları ile örtüştüğü bulgulanmıştır. Çalışmamızda, literatürde tespit edilen çok sayıdaki çalışma ile^{151,169,170} benzer olarak, pozitif ekolojik ilişki gösterdikleri bildirilen *T.forsythia* ile *P.gingivalis* birlikteliği 23 örnekte yüksek oranda tespit edilmiştir. Jung et al.¹¹⁵, benzer ilişkinin varlığından bahsederken, Roças et al.¹⁵¹, endodontik enfeksiyonlarda red complex üyelerinin varlığını ve ilişkilerini araştırdıkları çalışmalarında, *B.forsythus* ile *P.gingivalis*'in 50 örnekten 9'da bir arada bulunduklarını ve pozitif bir ilişki sergilediklerini rapor etmişlerdir. Takemoto et al.¹⁷⁰, *B.forsythus*'un

monoinokülasyonunun apse formasyonuna neden olmadığını, ancak, *F.nucleatum*'la beraber inoküle edildiğinde tavşan modelinde apse oluşturduğunu rapor etmişlerdir.

Çalışmamızda, tüm örneklerdeki bakteriyel kombinasyonlar değerlendirildiğinde, *P.micros*'un; *P.intermedia*, *F.nucleatum*, *P.endodontalis*, *P.gingivalis* ve *T.forsythia* ile yüksek oranda ilişkili olduğu görülmüştür. *P.micros*'un ekolojik ortamının (niche), güçlü peptidaz aktivitesi sayesinde serum glikoproteinlerinden diğer bakterilerinde yararlanacağı polipeptidleri ve amino asitleri oluşturması ile ilişkili olabileceği belirtilmekte¹⁷¹, *P.micros*'un besin sigortası veya kaynağı gibi davranmasının, bu bakteriyi diğer endodontik bakteriler arasında farklı bir yere oturttuğu ve seleksiyon avantajı sağladığı ifade edilmektedir. Örneğin, *F.nucleatum* gibi çok az hatta hiç proteolitik aktivitesi bulunmayan patojenlerin de, yaşamsal faaliyetlerini yürütebilmek için bu metabolizmadan faydalanabilecekleri vurgulanmıştır. Blome et al.¹⁰⁵, çalışmalarında benzer ilişkilerin varlığını bildirmiştir. Sundqvist et al.³⁶, *P.micros* ve *P.intermedia* arasındaki kuvvetli bakteriyel ilişkiyi bulgulamıştır. Çalışmamızda da en yüksek bakteri kombinasyonu oranı %28 ile *P.intermedia*+*P.micros* arasında bulunurken, ikinci sırayı %26,2'lik oranla *P.micros*+*F.nucleatum* kombinasyonu almıştır. Bu sonuçlarımızda Marsh¹² ve Sundqvist et al.³⁶, çalışmalarında rapor ettikleri sonuçlarla uyumluluk göstermiştir.

Blome et al.¹⁰⁵, *P.endodontalis* ile *P.gingivalis* ve de *P.endodontalis* ile *F.nucleatum* arasında anlamlı bir pozitif ilişkinin gözlemlendiğini rapor etmişlerdir. Çalışmamızda da *P.endodontalis* ile *P.gingivalis* birlikteliğinin 26 örnekte %24,3 oranı ile yüksek değerde olduğu görülmüştür. *F.nucleatum*'un, miks kültürlerde, *P.gingivalis* ve *P.intermedia*'nın patojenitelerini arttırdığından bahseden çalışmalar mevcuttur^{10,172}. Çalışmamızda *F.nucleatum* ile *P.gingivalis* birlikteliği 19 örnekte %17,8 oranında tespit edilmiştir. *P.endodontalis*'in de endodontik enfeksiyonlarda ayrı bir yeri olduğu ve patojenitesinin ortamda diğer türlerin varlığına bağlı olduğu bildirilmiştir¹⁷³. Tomazinho et al.¹⁰⁶ *P.intermedia* ile *P.gingivalis* veya *P.nigrescens*, *P.nigrescens* ile *P.gingivalis* veya *P.endodontalis*, *P.endodontalis* ile *P.gingivalis*, *P.intermedia* ile *P.nigrescens* ve *P.gingivalis* ve de *P.intermedia* ile *P.nigrescens* ve *P.endodontalis* arasında bakteriyel ilişkiler olduğunu bildirmiş ve bu tür ilişkilerin endodontik prosesde sıklıkla varlığından bahsetmiştir. Bu sonuçların, miks enfeksiyonlarda sinerjizme bağlı olarak şekillenen bakteriyel katılımda *Porphyromonas* ve *Prevotella* türlerinin patojenitesinin ortaya

konabilmesi için daha fazla sayıda araştırma yapılması gerekliliğini gösterdiği bildirilmektedir¹⁷⁴.

Kök kanallarındaki bakteri kombinasyonlarının bireysel suşlarla ilişkili olanlardan daha patojenik oldukları bildirilmektedir^{4,175}. Dolayısıyla, bakteriyal kombinasyonların klinik belirti ve bulgularla veya tedavi sonuçlarıyla ilişkisinin belirlenmesi yanında, bazı mikroorganizmaların birbirleriyle olan ilişkilerinin tanımlanması önem taşımaktadır.

Kök kanal enfeksiyonlarındaki bakterilerin in-vivo şartlarda ayrı koloniler halinde bulunmadığı, ancak, bakteriyal biyofilmler içerisinde birbirleri ile bağlantılı toplulukların ekstrasellüler bir matriksde çoğalmaları şeklinde yer aldıkları belirtilmektedir⁹³. Çalışmalar, biyofilm içerisindeki bakterilerin antimikrobiyallere daha dirençli olduklarını göstermektedir. Birçok bakterinin hayatta kalma stratejisi biyofilm oluşturma kabiliyetleri üzerine kuruludur ve bu da hastalık etkeni mikroorganizmaların virulans faktörlerinden biri olarak değerlendirilebilir¹⁷⁶. Günümüzde kök kanallarındaki biyofilmlerin gelişimi, fizyolojik özellikleri, prognoza ve antimikrobial kemoterapiye etkileri ile ilgili sınırlı sayıda veri bulunmaktadır.

Kök kanalı enfeksiyonlarında baskın olarak yer alan anaerobik mikroorganizmaların sayıca artışının, akut semptomların da artmasına neden oldukları rapor edilmiş^{23,100-104}, asemptomatik bireylerin kök kanallarındaki mikrobiyal flora ile klinik olarak semptomatik bireylerin mikrobiyal floralarının farklılıklar gösterdiği bildirilmiştir¹⁵. İlk olarak Sundqvist³, *B.melaninogenicum* varlığının ağrı ile ilişkisini ortaya koymuş; Griffie et al.¹⁷⁷, Haapasalo et al.¹⁶⁴, Yoshida et al.¹⁵, ve Gomes et al.^{146,178-180} yaptıkları çalışmalarda elde ettikleri sonuçlara göre, bazı anaerobik türler ile bazı endodontik klinik bulgular arasındaki ilişkilerden bahsetmişlerdir.

Çalışmamızda, semptomatik bulguları bulunan hastalara ait örneklerin %86,1 oranında primer enfeksiyonlu hastalara ait oldukları ve istatistiksel olarak da primer enfeksiyonu olan dişlerin semptomlarla ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında, *P.gingivalis* varlığı tespit edilen toplam 55 örneğin alındığı hastalardan 37'nin perküsyon hassasiyeti bulgusu gösterdikleri görülmüştür. Bir başka ifade ile perküsyon hassasiyeti, %67,3 oranı ile en yüksek değerde *P.gingivalis* pozitif olan örneklerde tespit edilmiş ve istatistiksel olarak da ilişkili bulunmuşlardır. Bunu %58,8 oranı ile *P.nigrescens*'in izlediği görülmüştür. Şişlik bulgusu gösteren hastaların örneklerinde ise

P.gingivalis'in, %58,2 ile ikinci yüksek oran ve istatistiksel olarak anlamlı ilişkisinin varlığı görülürken, şişlik bulgusunun en yüksek %58,3 ile *P.melaninogenica* pozitif olan bireylerde olduğu ve istatistiksel olarak da anlamlı ilişkinin varlığı belirlenmiştir. Ağrı bulgusu görülen dişlerde en yüksek oranda varlığı belirlenen bakterilerin ise %79,2 ve %52,7 oranlarıyla *P.melaninogenica* ve *P.intermedia* oldukları görülmüştür. Bu bulgumuz Sundqvist³'in iddiasını destekler niteliktedir.

Gomes et al.⁷, 41 primer, 19 sekonder enfeksiyonlu dişlerde, anaerobik kültür yöntemleri kullanarak yaptıkları çalışmalarında, akut ağrı, önceki ağrı, perküsyon hassasiyeti ve şişlik gibi akut semptomların varlığının özellikle *Prevotella*, *Porphyromonas* ve *Fusobacterium* gibi gram negatif türlerle ilişkili olduklarından bahsetmişlerdir. Gram negatif bakteriler endotoksin içermekte, endotoksin de potent bir ağrı düzenleyicisi olan bradikinin üretimini stimule etmektedir. Bundan dolayı birçok çalışmada^{95,115,146,149,178-180}, gram negatif bakterilerin ağrı ile ilişkisinden bahsedilmekte, bu türlerin özellikle endodontik tedavi süresince görülen ağrılı enfeksiyonlarla ilişkili oldukları da bildirilmektedir⁷. Aynı çalışmanın sonuçlarında, *P.micros*'in ağrı, önceki ağrı, perküsyon hassasiyeti ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür.

Özellikle siyah pigmentli mikroorganizmalar ile kök kanal tedavisindeki akut alevlenmeler ve çevre dokulardaki yıkım arasında anlamlı bir ilişki olduğu belirtilmekte; *Prevotella* ve *Porphyromonas* türlerinin, iltihabi mediatörleri, doku yıkımı ve kemik rezorpsiyonunda rol oynayan yıkıcı enzimleri aktive ederek klinik semptomların gelişiminde önemli rol oynadıkları bildirilmektedir^{106,108-111,159,176}. Siyah pigmentli bakterilerin nekrotik kök kanallarının veya semptomatik dişlerin %50-59 bulundukları birçok çalışmada bildirilmiştir^{19,20}.

Siqueira et al.²⁰ semptomatik dişlerden alınan örneklerin %70'de *P.endodontalis*, %40'da *P.gingivalis* ve %10'da *P.intermedia* varlığını rapor etmişler; *P.gingivalis*'in abseli dişlerde hemen daima *P.endodontalis* ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Endodontik enfeksiyonu olan semptomatik dişlerde bulunan siyah pigmentli bakteriler ve diğer baskın tür mikroorganizmaların, gram pozitif ve fakültatif mikroorganizmalarla sinerjistik ilişkilerinin bulunduğu bildirilmektedir⁷. Khemalelakul et al.¹¹⁴, apikal periodontitisli semptomatik vakalarda yaptıkları çalışmada miks enfeksiyonun varlığını doğrulamakta, *Prevotella* ve *Peptostreptococcus* türlerinin

birlikteliğini yüksek oranlarda rapor etmektedir. Jacinto et al.¹⁹ semptomatik dişlerde yaptıkları çalışmada, *F.nucleatum*, *P.micros*, *F.necrophorum* ve *P.prevotii*'yi siyah pigmentli bakterilerle beraber izole etmişler; aynı çalışmacılar, farklı bir araştırmada, semptomatik dişlerde en sık bulunan bakterinin *P.gingivalis* olduğunu rapor etmişlerdir¹⁰⁰.

Mikroorganizmalarla klinik semptomlar arasındaki ilişki irdelendiğinde, primer ve sekonder enfeksiyonu olan dişlerde yapılan bir çalışmada¹⁰⁶, siyah pigmentli bakteriler, palpasyonda ağrı bulgusu gösteren dişlerin %65'de ve şişlik veya pürülan akıntısı olan dişlerin de %75'de tespit edilmiştir. Siqueira et al.¹⁵² yaptıkları çalışmalarında, pürülan endodontik eksudalı dişlerde benzer sonuçlar bildirmişlerdir.

Siyah pigmentli bakterilerin primer enfeksiyonlu semptomatik dişlerde daha yüksek oranlarda bulundukları; sekonder enfeksiyonlu dişlerde ise, bu türlerin hem semptomatik hem de asemptomatik vakalardan identifiye edildikleri bildirilmekte; akut endodontik belirti ve semptomların artışının, siyah pigmentli türler ile diğer bakteriler arasındaki sinerji ile ilişkili olduğu ve kök kanalındaki bakterilerin sayıca artışının da buna önemli etkisi bulunduğu rapor edilmiştir. Ancak, elde edilen verilerin, akut endodontik enfeksiyonlarda siyah pigmentli türlerin tam rollerinin ne olduğunu açıklayamadığı vurgulanmaktadır¹⁰⁶.

Siyah pigmentli bakterilerin endodontik semptomlarla ilişkili olduklarından bahseden çalışmalar yanında^{158,165} özellikle periapikal apse örneklerinde son derece baskın olarak bulunmalarına rağmen, bunların kök kanal enfeksiyonlarında görülen semptomlarla ilişkili bulunmadıklarını bildiren çalışmalar da mevcuttur^{115,125}. Fouad et al.¹⁰ *P.gingivalis*'in klinik bulgulardan şişlik ile ilişkili olduğunu rapor etmiş; *T.forsythia*'nın ise semptomatik vakalarla ilişkisini bulamamışlardır. Benzer bir bulgu Foschi et al.¹⁴ tarafından, periapikal lezyonlu dişlerde *T.forsythia* varlığının araştırıldığı çalışmada bildirilmiş; buna göre, bu bakterinin, klinik semptomlarla ilişkisi bulunamamış ve bu sonucunda Jung et al.'un¹¹⁵ bulgularıyla örtüştüğü bildirilmiştir.

Akut vakalarla ilişkilendirilen siyah pigmentli türlerin, kronik endodontik enfeksiyonlar da da varlığının gösterilmesi, periradiküler hastalıkların gelişiminde ve etyolojisinde rolleri olduğunun göstergesi olabilir ve bu mikroorganizmaların miks enfeksiyonların yapı taşları oldukları, monoenfeksiyonlarda ise varlıklarının çok daha az oranlarda seyrettiği belirtilmiştir^{135,167}.

Çalışmamızda, siyah pigmentli bakterilerin hem asemptomatik hem de semptomatik dişlerde yüksek oranda varlığı tespit edilmiş, bu bakterilerden en az bir ya da birkaçının asemptomatik dişlerin %85,7’de, semptomatik dişlerin de %90,7’de bulundukları ve istatistiksel olarak farklılık göstermedikleri tespit edilmiştir. *P.gingivalis* ve *P.endodontalis*’in primer enfeksiyonlarda akut periapikal lezyonlu dişler yanında pürülan periapikal inflamasyon ve akut periapikal eksarabasyon görülen dişlerdeki varlıklarının da yüksek virulansları ile açıklanabileceği belirtilmektedir^{106,173}.

Farklı olarak, asemptomatik dişlerde moleküler yöntemlerle yapılan bir çalışmada¹¹⁵, *P.micros* ve *P.endodontalis* hem primer hem de sekonder enfeksiyonlu dişlerde en yüksek sıklıkta tespit edilen endodontik patojenler oldukları rapor edilmiştir.

P.intermedia ve *P.melaninogenica*’nın da spontan ağrı şikayeti ile ilişkili olduğu³⁴ *P.gingivalis* ile de perküsyon hassasiyeti arasında pozitif bir ilişki bulunduğu bildirilmiştir^{137,138,181}.

Peters et al.¹⁸¹ periapikal kemik yıkımı görülen ancak klinik belirti ve bulgu göstermeyen asemptomatik 58 kök kanalı örneğinde, anaerobik kültür yöntemleri kullanarak yaptıkları çalışmalarında; *P.intermedia* ile *P.micros* arasında pozitif bir ilişki varlığı tespit etmişlerdir.

Major dental hastalıklar arasında kök kanal enfeksiyonları, daha önceden mikroorganizmaların bulunmadığı steril bir bölgede gelişmesi açısından, oral kavitede görülen diğer enfeksiyonlara göre benzersiz bir örnek teşkil etmektedir. Oral kavitenin çürük ve periodontal hastalıklar gibi diğer mikrobiyal hastalıkları, mikrobiyal filmlerin zaten mevcut bulunduğu ve hastalığın çevresel şartlar ile mikrobiyal floranın tipi ve kompozisyonundaki değişikliklerin sonucu geliştiği bölgelerde oluşurlar⁹³.

Endodontik patojenlerin yaşam koşulları çürük lezyonları ve periodontal cepteki patojenlerden farklılık gösterir ve daha zor bir ortam içerir. Ortamdaki besin ve oksijen gerilimindeki değişimler veya bakteriyel etkileşimler, kök kanal florasının spesifitesini etkilemektedir⁹².

Kök kanallarının enfeksiyonu rastgele gelişen bir olay değildir. Mikrobiyal floranın tipi ve içeriği, etrafındaki çevresel şartlara bir cevap olarak gelişir. Hangi türlerin canlılığını sürdürüp hangilerinin elimine olacağını, spesifik ekolojik ortam, besin, oksijenle ilgili şartlar, pH ve diğer mikroorganizmalarla olan yarış veya kooperasyon gibi faktörler etkilemektedir. Nekrotik pulpalı dişler ya da kök kanal

tedavisi yapılmış olan dişler de olsa, ortam, hastalık prosesini başlatacak ve gelişmesini sağlayacak olan uygun özellikteki mikroorganizmaları belirlemektedir⁹³.

Endodontik enfeksiyonlarda oral florada yer alan mikroorganizmalar ve özellikle anaeroplara tek başlarına veya aerob bakterilerle birlikte ko enfeksiyonlar şeklinde rollerinin olduğu yapılan çok sayıdaki çalışma ile doğrulanmış ancak bu ilişkiler ve hastalığın patogenezi üzerindeki etkileri henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Hastanın yaşı, beslenme ve oral hijyen alışkanlıkları gibi değişkenlerin etyolojik ajanların prevalansına etkili olduğu bilinmekle birlikte, hastaların tedavisinde ajanların kısa sürede belirlenerek etkin antimikrobiyal tedavisine başlanması son derece önemlidir. Bu bağlamda konvansiyonel tekniklerin yerine daha hızlı ve spesifik sonuçlar üreten moleküler bazlı yöntemlerin kullanılarak bu enfeksiyonların ve etyolojiden sorumlu ajanların bölgesel özellikleri ile direnç oranlarının tespiti yararlı olacaktır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Endodontik enfeksiyonu bulunan 107 kök kanal örneğinde PCR yöntemi ile yapılan bu çalışmada, 55 (%51,4) örnekte pozitif bulunan *P.gingivalis*'in en yüksek orana sahip bakteri olduğu görülürken, %15,9 ile *P.nigrescens* en düşük oranda tespit edilen bakteri olduğu tespit edilmiştir.
2. *P.gingivalis*'in 72'si primer, 35'i de sekonder kök kanal enfeksiyonlu hastalara ait olan toplam 107 örnekte, sırasıyla %54,2 ve %45,7'lik prevalans oranları ile en yüksek pozitifliğe sahip anaerob tür olduğu belirlenmiştir. Primer enfeksiyonlu dişlerde *P.gingivalis*'i, %52,8 ile *F.nucleatum*, %48,6 ile *P.micros* ve *P.endodontalis* izlemiş, farklı olarak sekonder grupta ise *P.gingivalis*'i, %42,9 ile *P.micros* ve %37,1 ile *P.endodontalis* takip etmiştir.
3. *F.nucleatum*'un, primer grupta %52,8 pozitiflik oranı ile sekonder enfeksiyonlu grubdaki oranına göre istatistiksel olarak farklılık gösterdiği, benzer farklılığın yine primer grupta %38,9 oranında izole edilen *T.forsythia* içinde söz konusu olduğu belirlenmiştir.
4. Primer ve sekonder enfeksiyonlu dişlerde, tek bir kök kanal içi örneğinde sadece bir tür bakteri varlığının, sırasıyla %31,4 ve %18,1 olmak üzere, sekonder enfeksiyonu olan dişlerde primer enfeksiyonlu dişlerden daha yüksek oranlarda bulundukları görülmüştür.
5. Üç ve üzerinde bakteri türü içeren multi-bakteri kombinasyonlarının tespit edildiği kök kanal örneklerinin primer enfeksiyon bulunan dişlerde %63,9 oranı ile sekonder gruba göre istatistiksel olarak anlamlı farkının olduğu ve çok daha yüksek bulunduğu belirlenmiştir.
6. Sadece tek tür bakteri varlığı tespit edilen kök kanal örneklerinde, primer enfeksiyonlu dişlerde *F.nucleatum* oranı sekonder gruba göre çok daha yüksekken, sekonder enfeksiyonlu örneklerde *P.endodontalis*'in dikkat çekici ölçüde ve *P.gingivalis*'in de iki kat farklı şekilde yüksek oranlarda oldukları tespit edilmiştir.

7. Tüm örneklerde en çok bir arada bulunan ikili bakteri kombinasyonunun 30 örnekte birliktelikleri tespit edilen *P.intermedia*+*P.micros* kombinasyonu olduğu izlenmiş; bunu 28 örnekte *F.nucleatum*+*P.micros* ve 26 örnekte *P.endodontalis*+*P.gingivalis* takip etmiştir.
8. Siyah pigmentli bakterilerden bir ya da birkaçının 107 örneğin %89,7'sinde bulundukları tespit edilmiştir.
9. *P.micros*'un örneklerin %51'de siyah pigmentli bakterilerden bir ya da birkaçı ile birlikte bulunduğu ve istatistiki yönden anlamlı bir ilişki varlığı tespit edilmiştir.
10. Primer enfeksiyonlu dişlerde yine istatistiki yönden anlamlı olarak hastaların %86,1'i nin semptomatik oldukları görülmüştür.
11. Semptomatik vakalara ait örneklerde multibakteri kombinasyonlarının %60,5' ile istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek oranda olduğu tespit edilmiştir.
12. Siyah pigmentli bakterilerin bir ya da birkaçının bir arada bulunduğu kök kanal örneklerinin asemptomatik ve semptomatik dişlerdeki dağılımları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir.
13. *P.gingivalis* %55,8 oranı ile semptomatik dişlerde en sık tespit edilen bakteri iken, %47,6 oranı ile *P.endodontalis* asemptomatik dişlerde en çok tespit edilen anaerob bakteriler olmuştur.
14. Asemptomatik ve semptomatik grupları birbirleri ile kıyasladığımızda istatistiksel olarak anlamlı fark %26,7'i semptomatik dişlerde ve %4,8 ile asemptomatiklerde yer alan *P.melaninogenica* pozitifliğinde tespit edilmiştir.
15. *P.gingivalis* ile perküsyon hassasiyetinin istatistiksel olarak ilişkili oldukları tespit edilmiştir.
16. Şişlik bulgusu ile *P.melaninogenica* ve *P.gingivalis*'in istatistiksel olarak ilişkili oldukları belirlenmiştir.
17. Ağrı bulgusunun *P.melaninogenica* ile istatistiksel olarak ilişkili oldukları tespit edilmiştir.

ÖNERİLER

Daha önce yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde, ülkemizde anaerob mikroorganizmaların primer ve sekonder enfeksiyonu olan dişlerdeki varlıkları ile ilgili yeterli çalışma olmadığı görülmüştür.

Endodontik enfeksiyonlarda etyolojiye yönelik tanının sınırlı olması sebebi ile tedavi sıklıkla ampirik veya uluslararası tedavi rehberleri kullanılarak yapılmaktadır. Bunun sonucu olarak da çalışmamızda da görüldüğü üzere duyarlı mikroorganizmalar sıklıkla eradike edilirken dirençli mikroorganizmaları persiste etmekte ve reaktivasyonla sekonder enfeksiyonları yaratmaktadır. Bu riskin en aza indirilmesi ve klinik ve bakteriyolojik kürün sağlanması için tüm endodontik enfeksiyonlarda ve özellikle kök kanal enfeksiyonlarında konvansiyonel veya moleküler yöntemlerle etyolojinin tespit edilmesi ve tedavi protokollerinin elde edilen bulgulara göre yeniden şekillendirilmesinin gerektiği görülmüştür.

KAYNAKLAR

1. **Miller W.** An introduction in the study of the bacteriopathology of the dental pulp. *Dent Cosmos* **1984**; 36:505.
2. **Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ.** The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg* **1965**; 20:340.
3. **Sundqvist G.** Bacteriological studies of necrotic dental pulps [dissertation]. *Umea (Sweden): University of Umea;1976*; 7:48-64.
4. **Fabricus L, Dahlen G, Öhman AE, Möller AJR.** Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure. *Scand J Dent Res* **1982**; 90:134-144.
5. **Sundqvist G.** Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* **1994**; 78:522-530.
6. **Le Goff A, Bunetel L, Mouton C, Bonnaure-Mallet M.** Evaluation of root canal bacteria and their antimicrobial susceptibility in teeth with necrotic pulp. *Oral Microbiol Immunol* **1997**; 12:318-322.
7. **Gomes BP, Pinheiro ET, Gade-Neto CR, Sousa EL, Ferraz CC, Zaia AA, et al.** Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiol Immunol* **2004**; 19:71–76.
8. **Sjogren U, Hanstrom L, Happonen P, Sundqvist G.** Extensive bone loss associated with periapical infection with *Bacteroides gingivalis*: a case report. *Int Endod J* **1990**; 23: 254-62.
9. **Sundqvist G, Johansson E, Sjogren U.** Prevalence of blackpigmented bacteroides species in root canal infections. *J Endod* **1989**; 15:13-19.
10. **Fouad AF, Barry J, Caimano M, Clawson M., Zhu Q, Carver R, et al.** PCR-based identification of bacteria associated with endodontic infections. *J Clin Microbiol* **2002**; 40: 3223-31.
11. **Sundqvist G.** Associations between microbial species in Dental root canal infections. *Oral Microbiol Immunol* **1992**; 7:257–62.
12. **Marsh PD.** Host defenses and microbial homeostasis: role of microbial interactions. *J Dent Res* **1989**; 68:1567–75.
13. **Siqueira JF Jr, Rocas IN, Souto R, de Uzeda M, Colombo AP.** Actinomyces species, streptococci, and Enterococcus faecalis in primary root canal infections. *J Endod* **2002**; 28:168–72.
14. **Foschi F, Cavrini F, Montebugnoli L, Stashenko P, Sambri V, Prati C.** Detection of bacteria in endodontic samples by polymerase chain reaction assays and associations with defined clinical signs in Italian patients. *Oral Microbiol Immunol* **2005**; 20:289-95.

15. **Yoshida M, Fukushima H, Yamamoto K, Ogawa T, Toda T, Sagawa H.** Correlation between clinical symptoms and microorganisms isolated from root canals of teeth with periapical pathosis. *J Endod* **1987**; 13: 24-8.
16. **Roças IN, Siqueira JF, Santos KRN, Coelho AMA.** 'Red complex' (Bacteroides forsythus, Porphyromonas gingivalis and Treponema denticola) in endodontic infections: A molecular approach. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* **2001**; 91: 468-71.
17. **Siqueira JF Jr.** Endodontic infections: concepts, paradigms, and perspectives. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* **2002**; 94:281-293.
18. **Sundqvist GK, Eckerbom MI, Larsson AP, Sjogren UT.** Capacity of anaerobic bacteria from necrotic Dental pulps to induces purulent infections. *Infect Immun* **1979**; 25:685-93.
19. **Jacinto RC, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Zaia AA, Souza Filho FJ.** Microbiological analysis of infected root canals from symptomatic and asymptomatic teeth with periapical Periodontitis and the antimicrobial susceptibility of some isolated anaerobic bacteria. *Oral Microbiol Immunol* **2003**; 18:285-92.
20. **Siqueira JF Jr, Rocas IN, Oliveira JC, Santos KR.** Molecular detection of black-pigmented bacteria in infections of endodontic origin. *J Endod* **2001**; 27:563-566.
21. **Machado de Oliveira JC, Siqueira JF Jr, Rôças IN, Baumgartner JC, Xia T, Peixoto RC, et al.** Bacterial community profiles of endodontic abscesses from Brazilian and USA subjects as compared by denaturing gradient gel electrophoresis analysis. *Oral Microbiol Immunol* **2007**; 22:14-8.
22. **Siqueira JF Jr.** Differences in prevalence of selected bacterial species in primary endodontic infections from two distinct geographic locations. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* **2005**; 99:641-7.
23. **Baumgartner JC, Siqueira JF Jr, Xia T, Rôças IN.** Geographical differences in bacteria detected in endodontic infections using polymerase chain reaction. *J Endod* **2004**; 30:141-4.
24. **Bergenholtz G.** Microorganisms from necrotic pulp of travmatized teeth. *Odontol Revy* **1974**; 25:347-358
25. **Fabricus L, Dahlen G, Holm SC, Möller AJR.** Influence of combinations of oral bacteria on periapical tissues of monkeys. *Scand J Dent Res* **1982**; 90:200.
26. **Evaldson G, Heimdahl A, Kager L, Nord CE.** The normal human anaerobic microflora. *Scand J Infect Dis Suppl* **1982**; 35:9-15.
27. **Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lav CN, Levanos VA.** Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol* **2001**; 183:2770-83.
28. **Gard N and Garg A.** *Textbook of Endodontics*. First Ed., New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers, **2007**: 12-15, 21-22.
29. **Baumgartner JC, Hutter JW.** *The Science of Endodontics*. Chapter 13; Pg.501-503.
30. **Berkovitz BKB, Holland GR, Maxham BJ.** *A Colour Atlas and Textbook of Oral Anatomy*. 2nd ed. London: Wolfe Medical Publishing;**1992**.
31. **Spratt DA.** Significance of bacterial identification by molecular biology methods. *Endodontic Topics* **2004**; 9:5-14.

32. **Watts A, Paterson C.** Detection of bacteria in histological sections of the dental pulp. *Int Endod J* **1990**; 23:1-12.
33. **Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE.** Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol* **2005**; 43:5721-32.
34. **Çoğulu D, Uzel A, Oncag O, Eronat C.** PCR based identification of selected pathogens associated with endodontic infections in deciduous and permanent teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* **2008**; 106:443-9.
35. **Martin FE.** Analyses of Microbial Populations Associated with Carous Pulpitis. PhD Thesis, University of Sydney, **2002**.
36. **Sundqvist G.** Ecology of the root canal flora. *J Endod* **1992**; 18: 427–430.
37. **Baumgartner JC, Falkler WA Jr.** Bacteria in the apical 5 mm of infected root canals. *J Endod* **1991**; 17:380-3.
38. **Sundqvist G, Fidor D, Persson S, Sjögren U.** Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg* **1998**;85:86-93.
39. **Oliveira JCM, Siqueira JF, Alves G, Hirata RJ, Andrade AFB.** Detection of Porphyromonas endodontalis in infected root canals by 16SrRNA gene-directed polymerase chain reaction. *J Endod* **2000**; 26: 729-32.
40. **Tirali RE, Bodur H.** Pulpa Hastalıklarında Bakterilerin Rolü. *ADO Klinik Bilimler Dergisi* **2009**;3:374-379.
41. **Seltzer S.** *Endodontology: Biologic Considerations in Endodontic Procedures*. 2nd ed. Philadelphia, Lea and Febiger, **1988**; 326-344.
42. **Morse DR.** *Microbiology and pharmacology*: Cohen S, Burns RC, editors. Pathways of the pulp . 2nd ed. St.Louis: The C.V. Mosby Company, **1980**; 321-339.
43. **Seltzer S, Farber PA.** Microbiologic factors in endodontology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* **1994**; 78: 634-645.
44. **Aydın M.** *Endodontik Mikrobiyoloji*. Ed. Cengiz, Mısırlıgil, Aydın. Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji. Konu 24, Sa:105-222. Güneş yayınevi, Ankara, **2004**.
45. **Tomic-Karovic K, Jelinek E.** Comparative study of the bacterial flora in the surrounding, the root canals and sockets of deciduous molars. *Int Dent J.***1971**; 21:375-88.
46. **Schuster GS.** *Oral Microbiology and Infectious Disease*. 3rd ed. Philadelphia: B.C.Decker Inc.,**1990**; 562-548.
47. **Ang Ö.** *Agız Mikrobiyolojisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi, **1990**; 359-379.
48. **Creti R, Imperi M, Bertuccini L, Fabretti F, Orefici G, Rosa RD, et al.** Survey for virulence determinants among Enterococcus faecalis isolated from different sources. *J Med Microbiol* **2004**; 53: 13-20.
49. **Dupre I, Zanetti S, Schito AM, Faddo G, Sechi LA.** Incidence of virulence determinants in clinical Enterococcus faecium and Enterococcus faecalis isolates collected in Sardinia (Italy). *J Med Microbiol* **2003**; 52:491-8.

50. **Çolak M, Evcil S, Bayindir YZ, Yiğit N.** The effectiveness of three instrumentation techniques on the elimination of *Enterococcus faecalis* from a root canal: an in vitro study. *J Contemp Dent Practice* **2005**; 15: 94-106.
51. **Marsh P, Martin MV.** Oral Microbiology. 4th ed. Edinburgh: Elsevier Science Ltd. **2002**.
52. **Borssen E, Sundqvist G.** Actinomyces of infected dental root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* **1981**; 51: 643-648.
53. **Erganiş O, Öztürk A.** *Oral Mikrobiyoloji & İmmunoloji.* Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri; **2003**.
54. **Baumgartner JC, Hutter JW, Siqueira JF.** *Endodontic Microbiology and Treatment of Infections.* In: Cohen S, Hargreaves KM, editors. Pathways of the Pulp. 2nd ed. Canada: Mosby Elsevier. **2006**; 580-607.
55. **Siqueira JF, Roças IN.** Bacteroides forsythus in primary endodontic infections as detected by nested PCR. *J Endod* **2003**; 29: 390-3.
56. **Siqueira JF, Roças IN.** Simultaneous detection of Dialister pneumosintes and Filifactor alocis in endodontic infections by 16S Rdna directed Multiplex PCR. *J Endod.* **2004**; 30: 851-4.
57. **Siqueira JF, Roças IN.** Treponema socranskii in primary endodontic infections as detected by nested PCR. *J Endod.* **2003**; 29: 244-7.
58. **Nisengard & Newman.** *Oral Microbiology and Immunology.* 2nd edn. USA: W.B. Saunders Company; **1994**.
59. **Aydın M.** *Endodontik Mikrobiyoloji:* Alaçam T. ed. Endodonti 2. baskı. Ankara: Fakülteler Kitapevi Barış Yayınları, **2000**; 313-384.
60. **Baumgartner JC.** *Endodontic Microbiology:* Walton RE, Torabinejad M. editors. Principles and practise of Endodontics. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, **2002**; 282-294.
61. **Van Winkelhoff AJ, Van Steenberghe TJ, De Graaff J.** Porphyromonas (Bacteroides) endodontalis: Its role in endodontal infections. *J Endod.* **1992**; 18: 431-434.
62. **Griffie MB, Patterson SS, Miller CH, Kafrawy AH, Newton CW.** The relationship of Bacteroides melaninogenicus to symptoms associated with pulpal necrosis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* **1980**; 50: 457- 461.
63. **Bae KS, Baumgartner JC, Shearer TR, David LL.** Occurrence of Prevotella nigrescens and Prevotella intermedia in infections of endodontic origin. *J Endod.* **1997**; 23: 620-623.
64. **Dougherty WJ, Bae KS, Watkins BJ, Baumgartner JC.** Blackpigmented bacteria in coronal and apical segments of infected root canals. *J Endod.* **1998**; 24: 356-358.
65. **Robertson D, Smith A. J.** The microbiology of the acute dental abscess. *Journal of Medical Microbiology.* **2009**; 58:155-162.
66. **Çalışkan KM.** *Endodontide Tanı ve Tedaviler.* Ankara, Nobel Matbaacılık. **2006**.
67. **Tronstad L, Sunde PT.** The evolving new understanding of endodontic infections. *Endodontic Topics.* **2003**; 6: 57-77.

68. **Trope M, Tronstad L, Rosenberg ES, Listgarten M.** Darkfield microscopy as a diagnostic aid in differentiating exudates from endodontic and periodontal abscesses. *J Endod.* **1988**; 14: 35-8.
69. **Grossman LI.** Origin of microorganisms in traumatized, pulpless, sound teeth. *J Dent Res.* **1967**; 46: 551-3.
70. **Allard U, Nord CE, Sjoberg L, Stromberg T.** Experimental infections with *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sanguis*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Bacteroides fragilis* in the jaws of dogs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* **1979**; 48: 454-62.
71. **Ingle JJ, Bakland L, Baumgartner JC.** Ingle's Endodontics 6. BC Decker Inc. Hamilton, Ontario; **2008**.
72. **Stashenko, P., Wang, C.Y., Tani-Ishii, N., Yu S.M. :** Pathogenesis of induced rat periapical lesions. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* **1994**; 78: 494.
73. **Korzen BH, Krakow AA, Gren DB.** Pulpal and periapical tissue responses in conventional and monoinfected gnotobiotic rats. *Oral Surg* **1974**;37:783-802.
74. **Möller AJR, Fabricius L, Dahlen G, Öhman AE, Heyden G.** Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scandinavian Journal of Dental Research* **1981**;89:475-84.
75. **American Association of Endodontists:** Glossary of Endodontic Terms, 203, *The Association*, Chicago.
76. **Happonen RP, Bergenholtz G.** Apical periodontitis. In: Bergenholtz G, Horsted- Bindslev P, Reit C, eds. *Textbook of Endodontology*. Oxford: Blackwell, **2003**;130-144.
77. **Marton IJ, Kiss C.** Protective and destructive immune reactions in apical periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* **2000**;15:139-150.
78. **Stashenko P, Wang CY, Riley E, Wu Y, Ostroff G, Niederman R.** Reduction of infection-stimulated periapical bone resorption by the biological response modifier PGG glucan, *J Dent Res* **1995**;74:323-30.
79. **Torabinejad M.** The role of immunological reactions in apical cyst formation and the fate of the epithelial cells after root canal therapy: a theory. *Int J Oral Surg* **1983**;12:14-22.
80. **Nair PNR.** Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. *Periodontology 2000* **1997**;13:121-148.
81. **Nair PNR, Pajarola G, Schoeder HE.** Types and incidence of human periapical lesions obtained with extracted teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* **1996**;81:93.
82. **Torabinejad M, Kettering J.** Identification and relative concentration of B and T lymphocytes in human chronic periapical lesions. *J Endodon* **1985**;18:205.
83. **Siqueira JF Jr.** Tratamento das infecções endodônticas. Rio de Janeiro: *MEDSI*; **1997**.
84. **Nair PNR, Sjögren U, Krey G, Kahnberg K-E, Sundqvist G.** 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* **1990**; 16: 580-8.
85. **Ten Cate AR.** Epithelial cells rests of Malassez and the genesis of dental cyst. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* **1972**; 34: 956.

86. **Torabinejad M, Kettering J.** Identification and relative concentration of B and T lymphocytes in human chronic periapical lesions. *J Endodon* **1985**; 18: 205
87. **Tronstad L, Barnett F, Cervone F.** Periapical bacterial plaque in teeth refractory to endodontic treatment. *Endodontics and Dental Traumatology* **1990**; 6:73-7.
88. **Ando, N., and E. Hoshino..** Predominant obligate anaerobes invading the deep layers of root canal dentin. *Int. Endodont. J.* **1990**; 23:20-27.
89. **Horiba, N., Maekawa, Y., Matsumoto, T. & Nakamura, H.** A study of the distribution of endotoxin in the dentinal wall of infected root canals. *J Endod* **1990**; 16: 331–334.
90. **Iwu C, Macfarlane TW, Mackenzie D, Stenhouse D.** The microbiology of periapical granulomas. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics* **1990**; 502–5.
91. **W J Loesche, F Gusberti, G Mettraux, T Higgins and S Syed.** Relationship between oxygen tension and subgingival bacterial flora in untreated human periodontal pockets. *Infect Immun.* **1983**; 42(2): 659-667.
92. **Peciuliene V, Maneliene R, Balcikonyte E, Drukteinis S, Rutkunas V** *Stomatologija.* Microorganisms in root canal infections: a review. **2008**; 10(1):4-9.
93. **Figdor D, Sundqvist G.** A big role for the very small — understanding the endodontic microbial flora. *Australian Dental Journal Supplement* **2007**; 52(1):S38-S51.
94. **Conrads, G., S. E. Gharbia, K. Gulabivala, F. Lampert, and H. N. Shah.** The use of a 16S rDNA directed PCR for the detection of endodontopathogenic bacteria. *J. Endod.* **1997**; 23:433-438.
95. **Gomes BPFA, Lilley JD, Drucker DB.** Clinical significance of dental root canal microflora. *J Dent* **1996**; 29:47–55.
96. **Gomes, B.P.F.A., Jacinto, R.C., Pinheiro, E.T., Sousa E.L.R., Zaia, A.A., Ferraz C.R., Sauza-Filho, F.J.** *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens* in endodontic lesions detected by culture and by PCR. *Oral Microbiol Immunol.* **2005**; 20:211-215.
97. **Socransky S.S, Haffajee A.D, Cugini MA, Smith C, Kent RL.** Microbial complexes in subgingival plaque, *J.Clin Periodontol.* **1998**; 25:134-44.
98. **Sorsa T, Ingman T, Suomalainen K, Haapasalo M, Konttinen YT, Lindy O.** Identification of proteases from periodontopathogenic bacteria as activators of latent human neutrophil and fibroblast-type interstitial collagenases. *Infect Immun* **1992**; 60: 4491-5.
99. **Bogen G, Slots J.** Black-pigmented anaerobic rods in closed periapical lesions. *Int Endod J* **1999**; 32: 204-10.
100. **Jacinto RC, Gomes BPFA, Shah HN, Ferraz CC, Zaia AA, Souza Filho F J.** Incidence and antimicrobial susceptibility of *Porphyromonas gingivalis* isolated from mixed endodontic infections. *International Endodontic Journal.* **2006**; 39:62-70.
101. **Sassone LM, Fidel RA, Faveri M, Guerra R, Figueiredo L, Fidel SR, Feres M.** A microbiological profile of symptomatic teeth with primary endodontic infections.. *Journal of endodontics.* **2008**; 34(5):541-5.
102. **Chávez de Paz Villanueva LE.** *Fusobacterium nucleatum* in endodontic flare-ups. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* **2002**; 93:179–83.

103. **Kuriyama T, Absi EG, Williams DW. & Lewis MA.** An outcome audit of the treatment of acute dentoalveolar infection: impact of penicillin resistance. *Br Dent J.* **2005**;198, 759–763.
104. **Gomes BP, Jacinto RC, Pinheiro ET, Sousa EL, Zaia AA, Ferraz CC. & Souza-Filho FJ.** Molecular analysis of *Filifactor alocis*, *Tannerella forsythia*, and *Treponema denticola* associated with primary endodontic infections and failed endodontic treatment. *J Endod.* **2006**; 32:937–940.
105. **Blome B, Braun A, Sobarzo V, Jepsen S.** Molecular identification and quantification of bacteria from endodontic infections using real-time polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol* **2008**; 23: 384–390.
106. **Tomazinho LF, Avila-Campos MJ.** Detection of *Porphyromonas gingivalis* , *Porphyromonas endodontalis* , *Prevotella intermedia* , and *Prevotella nigrescens* in chronic endodontic infection. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* **2007**; 103:285-8.
107. **Dahlen G, Haapsalo M.** Microbiology of apical periodontitis. *Essential Endodontology*. Ed.:ORSTAVIK, D.,PITT FORD, T.R., Blackwell, U.K., Chapter 5, **2001**.
108. **Chang YC, Lai CC, Yang SF, Chan Y, Hsieh YS.** Stimulation of matrix metalloproteinases by black-pigmented Bacteroides in human pulp and periodontal ligament cell cultures. *J Endod* **2002**; 28: 90-3.
109. **Chang YC, Huang FM, Yang SF, Liu CM, Lai CC, Chan Y, et al.** Induction of cyclooxygenase-2 mRNA and protein expression in human pulp cells stimulated with black-pigmented Bacteroides. *J Endod* **2003**; 29:240-3.
110. **Yang LC, Huang FM, Lin CS, Liv CM, Lai CC, Chang YC.** Induction of Interleukin-8 gene expression by black-pigmented Bacteroides, in human pulp fibroblasts and osteoblasts. *Int Endod J* **2003**; 36: 774-9.
111. **Yang LC, Tsai CH, Huang FM, Liu CM, Lai CC, Chang YC.** Induction of Interleukin-6 gene expression by proinflammatory cytokines and black-pigmented Bacteroides in human pulp. *Int Endod J.* **2003**; 36:352-7.
112. **Pinheiro ET, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Sousa ELR, Teixeira FB, Souza-Filho FJ.** Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Int Endod J* **2003**;36:1-11.
113. **Kuriyama T, Karasawa T, Nakagawa K, Saiki Y, Yamamoto E, Nakamura S.** Bacteriologic features and antimicrobial susceptibility in isolates from orofacial odontogenic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* **2000**; 90:600-8.
114. **Khemaleelakul S, Baumgartner JC, Pruksakorn S.** Identification of bacteria in acute endodontic infections and their antimicrobial susceptibility. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* **2002**; 94:746-55.
115. **Jung ILY, Choi B, Kum KY, Roh BD, Lee SJ, Lee CY, et al.** Molecular epidemiology and association of putative pathogens in root canal infection. *J Endod* **2000**; 26:599-604.
116. **Bergenholtz G, Horsted-Bindslev P, Reit C.** *Textbook of Endodontology*. Blackwell Publishing Company; 3rd ed. **2006**.
117. **Selden HS.** Pulpaperiapikal disease: diagnosis and healing. *Surg Oral Med Oral Pathol.* **1970**; 37:271.

118. **Seltzer S, Bender IB, Turkenkopf S.** Factors affecting successful repair after root canal therapy. *Journal of the American Dental Association* **1963**;67:651-62.
119. **Sjögren U.** Success and failure in endodontics. *Odontological Dissertations*. Umea, Sweden: Umea University. **1996**.
120. **Sjögren U, Happonen RP, Kahnberg KE, Sundqvist G.** Survival of *Arachnia propionica* in periapical tissue. *Int Endod J* **1988**;21:277-82.
121. **Simon JH, Chimenti RA, Mintz GA.** Clinical significance of the pulse granuloma. *J Endod* **1982**;8:116-9.
122. **Nair PNR.** New perspectives on radicular cysts: do they heal? *Int Endod J* **1998**;31:155-60.
123. **Lin LM, Pascon EA, Skribner J, Gaengler P, Langeland K.** Clinical, radiographic, and histopathological study of endodontic treatment failures. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics* **1991**; 71:603-11.
124. **Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T.** Microbial status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* **1998**; 31:1-7.
125. **Atlas RM.** *Principles of Microbiology*, 2nd edn. Dubuque, IA, USA: WCB Publishers **1997**.
126. **Orstavik D, Kerekes K, Eriksen HM.** The periapical index: a scoring system for radiographic assessment of apical periodontitis. *Endod Dent Traumatol* **1986**;2:20-34.
127. **Möller A.J.** Microbial examination of root canals and periapical tissues of human teeth. *Thesis Odontol Tidskr* **1966**; spec 74.
128. **Dumani A.** Periapikal Lezyonlu Dişlerde *Enterococcus Faecalis* ve *Candida Albicans*'ın bulunma sıklığı ve antimikrobiyal duyarlılıklarının test edilmesi. *Doktora tezi*. Çukurova Üniversitesi, **2008**.
129. **Weisburg WG, Barns SM, Pelletia DA, Lane DJ.** 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J Bacteriol* **1991**; 173:697-703.
130. **Yoshida A, Tachibana M, Ansai T, Takehara T.** Multiplex polymerase chain reaction assay for simultaneous detection of black-pigmented *Prevotella* species in oral specimens. *Oral Microbial Immunol.* **2005**; 20:43-6.
131. **Conrads, G., Soffner, J., Pelz, K. & Mutters, R.** Taxonomic update and clinical significance of species within the genus *Peptostreptococcus*. *Clin Infect Dis.* **1997**; 25(2): S94–S97.
132. **Ashimoto A, Chen C, Bakker I, Slots J.** Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiol Immunol.* **1996**; 11:266–273.
133. **Meurman JH.** Dental infections and general health. *Quintessence Int.* **1997**; 28:807-811.
134. **Dahlen GG.** Black pigmented gram negative anaerobes in Periodontitis. *FEMS Immunol Med Microbiol.* **1993**; 6:181-192.
135. **Gharbia S E; Haapasalo M; Shah H N; Kotiranta A; Lounatmaa K; Pearce MA; Devine DA.** Characterization of *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens* isolates from periodontic and endodontic infections. *Journal of periodontology.* **1994**; 65(1):56-61.

136. **Robertson KL, Drucker DB, Blinkhorn AS, & Davies RM.** A comparison of techniques used to distinguish strains of *Prevotella intermedia* from *Prevotella nigrescens*. *Anaerobe* **1999**; 5: 119-122.
137. **Siqueira JF Jr, Rocas IN, Favieri A, Santos KR.** Detection of *Treponema denticola* in endodontic infections by 16S rRNA gene-directed polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol.* **2000**; 15:335–337.
138. **Siqueira JF, Jr Rôças IN. and Rosado AS.** Investigation of bacterial communities associated with asymptomatic and symptomatic endodontic infections by denaturing gradient gel electrophoresis fingerprinting approach. *Oral Microbiol. Immunol.* **2004**; 19:363-370.
139. **Fouad AF, Barry J, Caimano M, Clawson M, Zhu Q, Carver R, Hazlet K, and Radolf JD.** PCR-based identification of bacteria associated with endodontic infections. *J. Clin. Microbiol.* **2002**; 40:3223-3231.
140. **Goncalves RB, Mouton C.** Molecular detection of *Bacteroides forsythus* in infected root canals. *J Endod* **1999**; 25:336-40.
141. **Siqueira JF Jr, Rocas IN, Favieri A, Oliveira CM, Santos KR.** Polymerase chain reaction detection of *Treponema denticola* in endodontic infection within root canals. *Int Endod J.* **2001**; 34:280-4.
142. **Matto J, Saarela M, Alaluusua S, Oja V, Jousimies-Somer H, Asikainen S.** Detection of *Porphyromonas gingivalis* from saliva by PCR by using a simple sample-processing method. *J Clin Microbiol* **1998**;36:157-60.
143. **Stubbs S, Park SF, Bishop PA, & Lewis MAO.** Direct detection of *Prevotella intermedia* and *P. nigrescens* in suppurative oral infection by amplification of 16S rRNA gene. *J Med Microbiol.* **1999**; 48:1017-1022.
144. **Loesche WJ, Lopatin DE, Stoll J, Vanpoperin N, & Hujoel PP.** Comparison of various detection methods for periodontopathic bacteria – can culture be considered the primary reference standard? *J Clin Microbiol.* **1992**; 30:370-376.
145. **Baumgartner JC, Watkins BJ, Bae KS & Xia T.** Association of black-pigmented bacteria with endodontic infections. *J Endod.* **1999**; 25: 413–415.
146. **Gomes BPFA, Drucker DB & Lilley JD.** Associations of specific bacteria with some endodontic signs and symptoms. *Int Endod J.* **1994**; 27: 291–298.
147. **Hashioka K, Yamasaki M, Nakane A, Horiba N & Nakamura H.** The relationship between clinical symptoms and anaerobic bacteria from infected root canals. *J Endod.* **1992**; 18:558–561.
148. **Jacinto RC, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Zaia AA & Souza-Filho FJ..** Microbiological analysis of infected root canals from symptomatic and asymptomatic teeth with periapical periodontitis and the antimicrobial susceptibility of some isolated anaerobic bacteria. *Oral Microbiol Immunol* **2003**; 18: 285–292.
149. **Sanz M, Lau L, Herrera D, Morillo JM, and Silva A.** Methods of detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythensis* in periodontal microbiology, with special emphasis on advanced molecular techniques: a review, *J Clin Periodontol*; **2004**; 31:1034–1047.
150. **Siqueira JF, Roças IN, Silva MG.** Prevalence and Clonal Analysis of *Porphyromonas gingivalis* in Primary Endodontic Infections. *Journal of Endodontics.* **2008**; 34:1332-1336.

151. **Rocas IN, Siqueira JF Jr, Santos KR, Coelho AM.** "Red complex" (*Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Treponema denticola*) in endodontic infections: a molecular approach. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* **2001**; 91:468–471.
152. **Siqueira JF, Jr Rôças IN, Oliveira JC, and Santos KR.** Molecular detection of black-pigmented bacteria in infections of endodontic origin. *J. Endod.* **2001**; 27:563-566.
153. **Ercan E, Dalli M, Yavuz İ, Özekinci T.** Investigation of Microorganisms in Infected Dental Root Canals. *Biotechnol. and Biotechnol. Eq.* **2006**; 20-166.
154. **Ulusoy Atasoy Öİ.** Enfekte Kök Kanallarında *Treponema Denticola*, *Porphyromonas Gingivalis* ve bu Bakterilere Ait Virülans Faktörlerinin Moleküler Mikrobiyolojik Tekniklerle İncelenmesi. *Doktora tezi.* Gazi Üniversitesi, **2007**.
155. **Baumgartner JC, Siqueira JF Jr, Xia T, Rôças IN** Geographical differences in bacteria detected in endodontic infections using polymerase chain reaction. *J Endod* **2004**; 30:141–144.
156. **Gajan EB, Mohammad A, Abashov R, Milani AS, Moosavi Z.** Microbial Flora of Root Canals of Pulpally-infected Teeth: *Enterococcus faecalis* a Prevalent Species. *JODDD.* **2009**; 3-24.
157. **Siqueira JF, Jr Rôças IN.** Diversity of Endodontic Microbiota Revisited. *J Dent Res.* **2009**; 88(11)-969.
158. **Haapasalo M, Ranta K, Shah H.** Black pigmented *Bacteroides spp.* In human apikal Periodontitis. *Infect Immun.* **1986**; 53:149-153.
159. **Rôças IN, Jung IY, Lee CY, Siqueira JF, Jr.** Polymerase chain reaction identification of microorganisms in previously root-filled teeth in a South Korean population. *J Endod* **2004**; 30: 504–8.
160. **Siqueira JF, Jr, Rôças IN.** Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* **2004**; 97: 85–94.
161. **Sedgley C, Nagel A, Dahlen G, Reit C, Molander A.** Real-time quantitative polymerase chain reaction and culture analyses of *Enterococcus faecalis* in root canals. *J Endod* **2006**; 32: 173–7.
162. **Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T.** Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* **1998**; 31: 1–7.
163. **Zoletti GO, Siqueira JF, Jr, Santos KR.** Identification of *Enterococcus faecalis* in root-filled teeth with or without periradicular lesions by culture-dependent and -independent approaches. *J Endod* **2006**; 32: 722–6.
164. **Rôças IN, Siqueira JF, Jr, Santos KR.** Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod* **2004**; 30: 315–20.
165. **Peters LB, Wesselink PR, Van Winkelhoff A J.** Combinations of bacterial species in endodontic infections. *International Endodontic Journal.* **2002**; 35:698–702.
166. **Lana MA, Ribeiro-Sobrinho AP, Stehling R, et al.** Microorganisms isolated from root canals presenting necrotic pulp and their drug susceptibility in vitro. *Oral Microbiol Immunol.* **2001**; 16:100 –5.

167. **Van Winkelhoff AJ, Carlee AW, de Graaff J.** *Bacteroides endodontalis* and other black-pigmented *Bacteroides* species in odontogenic abscesses. *Infect Immun.* **1985**; 49:494-497.
168. **Podbielski A, Spahr A, Haller B.** Additive antimicrobial activity of calcium hydroxide and chlorhexidine on common endodontic bacterial pathogens. *J Endod* **2003**; 29(5):340-5.
169. **Socransky SS. & Haffajee AD.** Microbiology of periodontal disease. In *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*, 3rd edn. Edited by J. Linde, T. Karing & N. P. Lang. Copenhagen: Munksgaard. **1997**; 138-188.
170. **Takemoto T, Kurihara H, and Dahlen G.** Characterization of *Bacteroides forsythus* isolates. *J. Clin. Microbiol.* **1997**; 35:1378-1381.
171. **Ter Steeg PF, van der Hoeven JS.** Development of periodontal microflora on human serum. *Microbial Ecol Health Dis* **1989**; 2:1-10.
172. **Baumgartner JC, Jr Faulkner WA. & Beckerman T.** Experimentally induced infection by oral anaerobic microorganisms in a mouse model. *Oral Microbiol Immunol.* **1992**; 7: 253–256
173. **A.J. van Winkelhoff, T.J.M. van Steenberghe and J. De Graaff.** *Porphyromonas (Bacteroides) endodontalis*: its role in endodontal infections, *J Endod.* **1992**; 18:431–434
174. **Sundqvist G.** Pathogenicity and virulence of black-pigmented Gram-negative anaerobes *FEMS Immunology & Medical Microbiology.* **1993**; 6(2-3):125-138.
175. **Fabricius L, Dahlén G, Holm SE, Möller AJ.** Influence of combinations of oral bacteria on periapical tissues of monkeys. *Scand J Dent Res.* **1982**; 90(3): 200-6.
176. Skucaite N, Peculiene V, Maciulskiene V. Microbial Infection and its Control in Cases of Symptomatic Apical Periodontitis: a review. *Medicina (Kaunas)* 2009; 45(5)-343.
177. **Griffie MB, Patterson SS, Miller CH, Kafrawy AH, Newton CW.** The relationship of *Bacteroides melaninogenicus* to symptoms associated with pulpal necrosis. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* **1980**; 50(5):457-461.
178. Gomes, B. P., J. D. Lilley, and D. B. Drucker. Associations of endodontic symptoms and signs with particular combinations of specific bacteria. *Int. Endod. J.* **1996**; 29:69-75.
179. **Gomes BPFA, Lilley JD, Drucker DB.** Variations in the susceptibilities of components of the endodontic microflora to biomechanical procedures. *Int Endod J* , **1996**; 29:235–41.
180. Gomes BPFA, Drucker DB, Lilley JD. Endodontic microflora of different teeth in the same mouth. *Anaerobe* **1999**; 5:241-245.
181. Peters LB, Wesselink PR, Van Winkelhoff A J. Combinations of bacterial species in endodontic infections. *International Endodontic Journal.* 2002; 35:698–702.

ÖZGEÇMİŞ

Ekim 1972’de Elazığ’da doğdu. İlkokulu Ankara Güven İlkokulu’nda 1982 yılında, ortaokul ve liseyi Ankara Atatürk Anadolu Lisesin’de 1989 yılında tamamladı. Üniversite eğitimini 1989-1994 yılları arasında Gazi Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi’nde aldıktan sonra 1995-1999 yılları arasında, Gazi Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı’da Doktora eğitimini tamamladı. 2007 Bahar döneminde Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalında doktora öğrenimine başladı.

Evli ve bir çocuk annesidir.