

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÇEŞİTLİ BİTKİSEL EKSTRAKTLARIN İRRİGASYON MATERYALİ  
OLARAK KULLANIMLARININ *E. FAECALIS* VE *C. ALBICANS*  
ÜZERİNE ANTİBAKTERİYEL ETKİNLİKLERİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dt. Hatice Kübra Altınoluk**

**ENDODONTİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. ALİ ERDEMİR**

**2013 – KIRIKKALE**

## İÇİNDEKİLER

<b>İçindekiler</b>	II
<b>Önsöz</b>	IV
<b>Simgeler ve Kısaltmalar</b>	V
<b>Şekiller</b>	VII
<b>Tablolar ve Grafikler</b>	VIII
<b>ÖZET</b>	IX
<b>SUMMARY</b>	X
<b>1. GİRİŞ</b>	1
1.1 Kök Kanallarından İzole Edilen Mikroorganizmalar	7
1.1.1. <i>Enterococcus Faecalis</i>	11
1.1.2. <i>Candida Albicans</i>	13
1.2. Biyofilm	17
1.2.1. İntrakanal Biyofilmler	18
1.2.2. Extrakanal Biyofilmler	19
1.2.3. Periradiküler Biyofilmler	19
1.3. Kök Kanal İrrigasyonu	21
1.3.1. Sodyum Hipoklorit (NaOCl)	23
1.3.2. Klorheksidin (CHX)	28
1.3.3. MTAD	32
1.3.4. Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (EDTA)	34
1.4. Bitkisel Ekstraktların İrrigasyon Ajanı Olarak Kullanılması	37
1.4.1. Biberiye	38
1.4.2. Okaliptüs	40
1.4.3. Karanfil	41
1.5. Antibakteriyel Duyarlılık Testleri	43
1.5.1. Disk Difüzyon Testi	43
1.5.1.1. E-Test	44
1.5.2. Agar Dilüsyon	44
1.6. Mikrobiyolojik Sayım Yöntemleri	45
1.6.1. Direkt Mikroskop Sayımı	45
1.6.2. İndirekt Yöntemlerle Bakteri Sayısının Tespit Edilmesi	46
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	47
<b>3. BULGULAR</b>	63

3.1. E. Faecalis İle Kontamine Edilen Grubun OD Değerlerinin Değerlendirilmesi	65
3.2. C. Albicans İle Kontamine Edilen Grubun OD Değerlerinin Değerlendirilmesi	71
<b>4. TARTIŞMA VE SONUÇ</b>	78
<b>KAYNAKLAR</b>	97
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	119

## ÖNSÖZ

Doktora eğitimim boyunca gerek klinik gerek akademik düzeyde bilgilerini benimle paylaşan ve tezimin her aşamasında tavsiyeleri ve hoşgörüsüyle yol gösterici olan danışmanım **Prof.Dr. Ali Erdemir'e**

Tez izleme komitemde bulunan değerli hocalarım **Yrd.Doç.Dr. Erdal Özcan ve Doç.Dr. Ertuğrul Ercan'a**

Tezimin laboratuvar kısmında bilgileriyle bana yol gösteren ve yardımlarını esirgemeyen **Yrd.Doç.Dr. Nilgün ÜNAL'a**

Çalışmamın istatistik bölümünde yardımını esirgemeyen **Yrd.Doç.Dr. Ömer Uysal'a**

Hayatım boyunca yanımda olan ve her zaman beni destekleyen annem **Süheyla ALTINOLUK**, babam **Eşref ALTINOLUK** ve kardeşim **Fatih ALTINOLUK'a**

***SONSUZ SAYGI VE  
TEŞEKKÜRLERİMİSUNUYORUM.***

## SİMGELER VE KISALTMALAR

°C: santigrat derece

μ: mikron

**ACE:**

**AS:** Agregasyon substansı

**BHI:** Brain heart infusion broth

**BSL 2:** Biosafety level 2

**Ca(OH)2:** Kalsiyum hidroksit

**CFU:** Coloni Forming Unit

**CHX:** Klorheksidin glukonat

**CIO2:** Klorindioksit

**cm:** santimetre

**cm<sup>2</sup>:** santimetrekare

**dk:** dakika

*E.faecalis: Enterococcus faecalis*

**EPS:** ekstrasellüler polimerik substans

**ESP:** yüzey proteini

*C.albicans: Candida albicans*

**EDTA:** Etilen daimin tetra asetik asit

**gr:** gram

**H2O2:** Hidrojen peroksit

**IgG:** immunoglobulin G

**lt:** litre

**mg:** miligram

**MİK:** Minimum İnhibitör Konsantrasyon

**ml:** mililitre

**mm:** milimetre

**NaOCI:** Sodyum hipoklorit

**NiTi:** Nikel titanyum

**nm:** Nanometre

**OD450:** Optik densite450

**PCR:** polimeraz zincir reaksiyonu

**pH:** Hidrojen gücü (power of hydrogen )

**PKA:** Para kloro anilin

**SC:** SmearClear

**SEM:** Scanning electron microscope (taramalı elektron mikroskobu)

**sn:** saniye

**TSB:** Triptik Soy Broth

**$\mu$ l:** mikrolitre

**$\mu$ m:** mikrometre

## ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Bitkilerin toz haline getirilmesi için kullanılan havan

Şekil 2.2. Bitkilerin tartılması için kullanılan hassas kantar

Şekil 2.3. Çalışmada kullanılan süzgeç kağıtları

Şekil 2.4. Ekstraktların hazırlandığı cihaz

Şekil 2.5. Elde edilen ekstraktlar

Şekil 2.6. Taze kültürlerin elde edilmesi için kullanılan kanlı agar besiyerleri

Şekil 2.7. Agar dilüsyonda kullanılmak için hazırlanmış bir besiyeri

Şekil 2.8. Çalışmada kullanılan Dansitometre

Şekil 2.9. Bakteri süspansiyonları

Şekil 2.10. Çalışmada kullanılan inkübatör

Şekil 2.11. Minimum inhibitör konsantrasyonu belirlemek için kullanılan petriler

Şekil 2.12. Tüplerdeki Sıvı besiyerleri

Şekil 2.13. Kontamine besiyerleri ve dişlerin yerleştirildiği Ependorf tüpleri

Şekil 2.14. Biosafety Level 2 air-flow kabin

Şekil 2.15. Çalışmada kullanılan Vortex cihazı

Şekil 2.16. Çalışmada kullanılan Elisa Pleytlerine örneklerin yerleştirilmesi

Şekil 2.17. Çalışmada kullanılan Elisa okuyucusu

Şekil 3.1. Preperasyon sonrası Smear tabakası uzaklaştırılmamış kök kanal yüzeylerinin 500 X büyütmede SEM ile alınan görüntüsü

Şekil 3.2. Preperasyon sonrası Smear tabakası uzaklaştırılmamış kök kanal yüzeylerinin 1000 X büyütmede SEM ile alınan görüntüsü

Şekil 3.3. Preperasyon sonrası Smear tabakası uzaklaştırılan kök kanal yüzeylerinin 500 X büyütmede SEM ile alınan görüntüsü

Şekil 3.4. Preperasyon sonrası Smear tabakası uzaklaştırılan kök kanal yüzeylerinin 1000 X büyütmede SEM ile alınan görüntüsü

## TABLolar VE GRAFİKLER

Tablo 2.1. Ekstraktların Minimum İnhibitör Konsantrasyon değerleri

Tablo 3.1. Deneye tabi tutulan ajan ve ekstraktların *E. faecalis* ile kontamine edilmiş kök kanallarının irrigasyonu için kullanımlarından sonra kanallardan alınan örneklerin OD değerlerinin tüm saatlerdeki ortalamaları karşılaştırılması

Grafik 3.1. İrrigasyon sonrasında elde edilen OD değerleri ortalamaları

Grafik 3.2. Deneye tabi tutulan ajan ve ekstraktların *E. faecalis* ile kontamine edilmiş kök kanallarının irrigasyonu için kullanımlarından sonra kanallardan alınan örneklerin OD değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği

Tablo 3.2. Deneye tabi tutulan ajan ve ekstraktların *C. albicans* ile kontamine edilmiş kök kanallarının irrigasyonu için kullanımlarından sonra kanallardan alınan örneklerin OD değerlerinin tüm saatlerdeki ortalamaları karşılaştırılması

Grafik 3.3. İrrigasyon sonrasında elde edilen OD değerleri ortalamaları

Grafik 3.4. Deneye tabi tutulan ajan ve ekstraktların *C. albicans* ile kontamine edilmiş kök kanallarının irrigasyonu için kullanımlarından sonra kanallardan alınan örneklerin OD değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği



**Çeşitli Bitkisel Ekstraktların İrrigasyon Materyali Olarak  
Kullanımlarının *E. Faecalis* ve *C. Albicans* Üzerine Antibakteriyel  
Etkinliklerinin Değerlendirilmesi**

Bu çalışmanın amacı *E. faecalis* ve *C. albicans* mikroorganizmalarına karşı % 5.25'lik NaOCl, %2'lik CHX, biberiye, okaliptüs ve karanfil ekstraktlarının antibakteriyel etkilerini değerlendirmektir.

Ön çalışma kapsamında bitkilerin ekstraktları çıkartılıp söz konusu mikroorganizmalara karşı etkinlikleri test edilerek MİK'ları belirlendi. Çalışmada 144 adet tek köklü, tek kanallı, insan kesici dişleri kullanılmıştır. Kök kanalları şekillendirilen dişler otoklavda sterilize edildi. Hazırlanan dişler iki gruba ayrılarak *E. faecalis* (ATCC 29212) ve *C. albicans* (MTCC 227) ile 48 saat inoküle edildi. Enfekte edilen gruplar 10 adet dişten oluşan 7'şer alt gruba ayrıldı. Gruplar sırasıyla steril serum fizyolojik, %5.25'lik NaOCl, % 2'lik CHX, biberiye, okaliptüs ve karanfil ekstraktları ile irrigate edildi, irrigasyondan sonra kanallardan F3# paper pointler ile örnek alınarak 1ml BHI broth içeren tüplere transfer edildi. Bu tüplerden 200 µl örnekler alınarak spektrofotometrik analizin yapılması için ELISA pleytine transfer edildi. Elisa pleytindeki örnekler 12 saat boyunca her saat, takip eden 12 saat boyunca her iki saatte bir sonrasında 48. Saate kadar 6 saatte bir ELISA okuyucusunda ölçülerek kaydedildi. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi. CHX'in her iki mikroorganizmaya karşıda en etkili antibakteriyel özelliği gösterdiği tespit edildi. NaOCl etkinlikte CHX'i takip ederken biberiye, okaliptüs ve karanfil bitki ekstraktlarının serum fizyolojikten iyi olmakla beraber etkili bir antibakteriyel özellik gösteremedikleri tespit edildi.

**Anahtar kelimeler:** antibakteriyel, biberiye, ekstrakt, karanfil, okaliptüs.

**In Vitro Antibacterial Evaluation Of Several Herbal Extracts  
Against *E. Faecalis* and *C. Albicans* When Used As Irrigation Solution In  
Root Canals**

The aim of this study was to evaluate the antibacterial effect of %5.25 NaOCl, %2 CHX, rosemary, ocalyptus and clove extracts against *E. faecalis* and *C. albicans*.

In the preliminary study extracts of each herb was obtained and tested for their antibacterial effects against the two microorganisms and MIC of the extracts were determined. 144 single rooted, single canal human incisors were used in this study. Root canals were autoclave-sterilized after having been mechanically shaped. The samples that have been prepared were divided into two groups and inoculated with *E. faecalis* (ATCC29212) and *C.albicans* (MTCC 227) for 48 hours. The infected teeth were divided into 7 subgroups of 10 for each main group. Subgroups were irrigated by sterile saline, %5.25 NaOCl, %2 CHX, rosemary extract, ocalyptus extract and clove extract respectively. F3 # sterile paper points were used to sample bacteria from the root canals and were transferred to tubes containing 1 ml of BHI broth. 200 µl liquid from these tubes were sampled. These samples were transferred to the ELISA plate for spectrofotometric analysis. Readings were recorded every hour for 12 hours, once in two hours for the following 12 hours, and once in 6 hours for the following 24 hours for each sample. The data was analyzed statistically and CHX was found to be the most efficient antibacterial solution against both microorganisms. this was followed by NaOCl whereas rosemary, ocalyptus and clove extracts were found to show inefficient antibacterial characteristics even if they were slightly better than saline.

**Keywords:** antibacterial, clove, extract, rosemary, ocalyptus

## 1.GİRİŞ

Endodontik tedavinin üç temel basamağı vardır. Bunlar; a) hastalığın tanımlanarak tedavi planının yapıldığı teşhis aşaması, b) kök kanal temizleme ve şekillendirme işlemlerinin yapıldığı, kök kanal boşluğunun üç boyutlu bir dolum yapılabilecek şekilde hazırlandığı hazırlık aşaması ve c) kök kanal sisteminin inert bir materyal ile sızdırmaz bir şekilde doldurulduğu dolum aşaması'dır (Bence 1980, Schilder 1983, Weine 1982). Kök kanal tedavisinin başarısı bu basamaklara hassasiyetle uyulmasına bağlıdır.

Pulpa ve periodontal doku hastalıklarına sebep olan ana faktörün bakteriyel enfeksiyon olduğu bilinmektedir. Bakteriyel enfeksiyonun periapikal doku hastalıklarındaki rolünü maymun ve ratlarda yapılan çalışmalar göstermiştir. Germ free ve normal ratların pulpalarının ağız ortamına maruz bırakıldığı bir çalışmada germ free ratların pulpalarında minimal bir enflamasyonla birlikte iyileşme görülürken, normal ratlarda ise ileri enflamatuar yanıtlar, nekroz, apse ve apikal periodontitis gibi yanıtlar gözlenmiştir (Kakehashi ve ark. 1965). Endodontik enfeksiyonların sebebinin sıklıkla fırsatçı patojenler olan oral mikroorganizmalar olduğu düşünülmektedir (Siqueira ve ark. 2002a). Möller ve arkadaşlarının (1981) yaptıkları kontrollü bir deneyde de 78 maymunun kesici dişlerine steril şartlar altında giriş kaviteleri açılarak, 26 dişte girişler kapatılmış ve enfekte olmaları engellenmiş, 52 diş ise 6-7 gün boyunca ağız ortamına açık bırakılmıştır. Enfekte olmayanların hiç birinde 6-7 ay sonrasında dahi apikal periodontitis gözlenmezken enfekte edilen 52 dişin %90'ında apikal periodontitis gelişmiştir. Bu iki çalışma bakterilerin periapikal doku hastalıklarındaki rollerini açık bir şekilde göstermektedir.

Endodontik tedavide bakteri eliminasyonunun temel prensibi mekanik temizliktir. Kök kanal anatomisinin kompleks yapısı nedeni ile mekanik preparasyon tek başına kök kanallarını bakterilerden ve onlara besin kaynağı olabilecek doku artıklarından tamamen temizleyememektedir. Yapılan ex vivo ve klinik çalışmalarda kök kanal duvarlarında mekanik preparasyon sırasında hiç dokunulmamış alanların kaldığı, dolayısıyla da

sadece mekanik preparasyon ile kök kanallarının tamamen temizlenemediği ve irrigasyon işleminin son derece önemli olduğu belirtilmiştir (Mohammadi ve Abbott 2009, Peters ve ark. 2001a).

Bir çalışmada 15 tek köklü nekrotik pulpalı dişe yalnızca serum fizyolojik irrigasyonu ve enstrumentasyon yapılmış, enstrumentasyonun bakteri sayısını 100 ile 1000 kat arasında azalttığı ancak tamamen eliminasyonu sağlayamadığı gözlenmiş ve seans aralarında yeniden bakteri sayılarında çoğalma tespit edilmiştir (Bystrom ve Sundqvist 1981). Bu çalışma bakteri sayısında büyük bir azalma sağlanmakla birlikte yalnızca enstrumentasyon ile total eliminasyonun elde edilemediğini göstermektedir.

Mekanik enstrumentasyon sırasında irrigasyon ajanlarının kullanımı enstrumentasyonun daha kolay yapılmasını sağladığı gibi debris ve bakterilerin uzaklaştırılmasına da fiziksel olarak katkıda bulunur. Bununla beraber günümüzde irrigasyon solüsyonunun antibakteriyel etkisinde oldukça önemli olduğu düşünülmektedir. Antibakteriyel etki bakteri eliminasyonuna yardımcı olmakla birlikte mekanik temizlikle ulaşılamayan alanların dezenfeksiyonu içinde önemlidir. Ayrıca aktif irriganlar doku artıklarını çözebilir ve bakteri ürünlerini inaktive edebilir (Trope ve Bergenholtz 2002).

Kök kanal preperasyonunda irrigasyon solüsyonu kullanmanın faydaları şu şekilde sıralanabilir;

1)Kanalın ıslatılması ve sıvı akışı ile kanaldaki debrisin uzaklaştırılması,

2) Antimikrobiyal etkisi,

3) Organik doku artıklarının çözünmesi,

4) Smear tabakasının uzaklaştırılması,

5)Mekanik preperasyon ile ulaşılamayan alanların temizlenmesi (Davis ve ark. 1972).

Kemomekanik temizleme ve şekillendirme işlemlerinin mikroorganizma sayısını azaltmakla birlikte mikroorganizmaların eliminasyonunu tam olarak sağlayamadığı görülmüştür (Peters ve ark. 2002). Kök kanallarının kompleks anatomisinden dolayı preparasyon sırasında kanal duvarlarının %50'ye yakın bir kısmına ulaşılamadığı ve yeterli debridman sağlanamadığı gösterilmiştir (Peters ve ark. 2001b). Bu kompleksiteler arasında periodontal ligamentle iletişimi sağlayan lateral kanallar, iki kanal arasında dar bir bağlantı şeklinde görülen istmuslar ve apikal delta oluşumları sayılabilir (Burns ve Herbranson 1998).

Apeksin anatomisini, oluşumu sırasında var olan apikal kan damarlarının sayısı ve lokalizasyonu belirler. Dişler sürmekte iken apikal foramen açıktır. Hertwig epitel kını dentin oluşumunu indüklediğinde bağ dokusu içinde dentin adacıkları oluşur. Yavaş yavaş ana kanal daralmaya başlar. Kan damarlarının apekte dallanma olasılığı çok çeşitlilik gösterdiği için köklere ait foramina sayısı hakkında bir tahminde bulunmak güçtür (Pashley ve ark. 1994).

Yan ve yardımcı kanallar pulpa ile periodontal membran arasındaki ilişkiyi sağlayan geçiş yollarıdır. Bu kanalların dentin oluşumu başlamadan önce lokalize bir alandaki Hertwig epitel kınının parçalanması ile oluştuğu düşünülmektedir. Bir başka teoriye göre ise yan kanalların oluşumu, periradiküler bağ dokusunda var olan kan damarlarının çevresinde dentin oluşmamasından kaynaklanabilir. Ana kök kanalına yaklaşık olarak dik açıda lokalize olmuş kanallar yan (lateral) kanallar, çoğunlukla dişin apikal bölgesinde bulunan ana kök kanalından dallanan kanallar da yardımcı (aksesuar) kanallar olarak tanımlanmıştır (Castelluci 2004).

Molar dişlerin %59'unda koronal veya orta üçlüde lateral dallanmalar mevcuttur (Lowman ve ark. 1973). Santral kesicilerin %60'ında aksesuar kanal bulunabildiği tespit edilmiş (Kasahara ve ark. 1990) ve bazı kanalların çaplarının apikal konstruksiyondan daha geniş olduğu görülmüştür (Kramer 1960). Büyük azı dişlerinin furkasyon bölgesindeki lateral kanalları değerlendirmek amacıyla yapılan bir çalışmada, alt çene

azı dişlerinde % 29.40 oranında lateral kanal olduğu (Gutmann 1978) belirlenmiştir.

İstmus iki ayrı kanal arasında yer alan pulpa veya pulpa benzeri doku içeren, kurdele şeklinde bağlantı olarak tanımlanmaktadır (Weller ve ark. 1995). İki ya da üç kanallı herhangi bir dişte istmus bulunabilir.

İstmusların sınıflamasında sıklıkla Hsu ve Kim'in 1997 yılında tanımladığı sınıflama kullanılır. Bu sınıflamada;

Tip I: İki kök kanalı ve bu iki kanal arasında bir bağlantı olmadığı durumlar,

Tip II: İki kanal arasında belirgin bir bağlantının olması durumu,

Tip III: Tip II'den farklı olarak iki kanal arasında üçüncü bir kanalın yer alması durumu,

Tip IV: Kanallar arasında tamamlanmamış bir bağlantı veya koridor olması durumu,

Tip V: Kanallar arasında tam bir bağlantı veya koridor bulunması durumu şeklinde tanımlanmaktadır.

Tam ve Yu (2002) 50 adet üst birinci büyük azı dişin mesiobukkal kanallarından kesit alarak yaptıkları bir çalışmada örnekleri taramalı elektron mikroskobunda incelediklerinde, 18'inde (%36) tek kanal, 32'sinde (%64) iki kanal bulunduğunu ve iki kanal içeren köklerin %62.5'inde istmus varlığını gözlemlemişlerdir.

Kök ve kök kanalının yatay kesitteki morfolojisi C şeklinde olan dişlere C kanallı dişler denir. Böyle dişlerde pulpa odasında kurdela şeklinde 180 derecelik yay oluşturan bir kanal ağzı mevcuttur (Vertucci 2006). C-kanal konfigürasyonu mezial ve distal köklerin dişin bukkal veya lingual yüzeyinde birleşmesi ile oluşur (Haddad ve ark. 1999). C-kanal konfigürasyonu genellikle alt ikinci büyük azı dişlerinde görülmekle birlikte nadir olarak üst molarlar ve mandibular birinci premolarlarda da

gözlenebilir (De Moor 2002). Yang ve ark. (1988) alt ikinci büyük azı dişlerinde yapmış oldukları in vitro çalışmada, Çin toplumu içerisinde %31.5 gibi oldukça yüksek bir oranda C-kanal şekli gözlemlediklerini bildirmişlerdir.

Mekanik olarak ulaşılması zor olan bu alanlarda enfekte dentin ve pulpa dokusu kalması tedavi başarısızlığına sebep olabilmektedir (Moorer ve Wesselink 1982).

Kemomekanik temizliğin yetersiz olmasına sebep olan başka bir faktörde dentin tübüllerine invaze olan bakterilerdir. *Eubacterium*, *Propionibacterium*, *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Peptostreptococcus* ve *Veillonella* türlerinin dentin tübüllerinin iç tabakalarına kadar nüfuz ettikleri yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Ando ve Hoshino 1990, Peters ve ark. 2001a). Dentin tübüllerindeki mikroorganizmalara endodontik tedavi sırasında uygulanan dezenfeksiyon protokolleriyle ulaşmak kolay değildir (Trope ve Bergenholtz 2002).

*E. faecalis*, dentin tübüllerine 400-1000 µm ilerleyebilecek kadar küçük boyutlu olup dentin tübülleri içerisinde de yaşayabilmektedir (Haapasalo ve Orstavik 1987, Love 2001). Bu yüzden duvarlardan 1 mm kadar aşındırılması tübüllerin temizlenmesi için yeterli olacaktır. Ancak kanalların genişletilmesi sırasında kanalın tüm duvarlarında preperasyon gerçekleştirmek zordur.

Kanal aletleriyle debridmanın sağlanamadığı bu alanların temizlenmesinde irrigasyon büyük önem taşır (Qing ve ark. 2006). İstmus ve aksesuar kanallara itilen debrisi uzaklaştırmakta etkili olabilmesi için yüzey gerilimi düşük irrigasyon ajanları tercih edilmelidir. Bu özellik girilemeyen alanlara akışı artırır. İrrigasyon ajanına alkol ilave edilmesi de yüzey gerilimini azaltarak penetrasyonu artırabilir (Walton ve Torabinejad 2002).

Son yıllarda iyi yapılmamış bir koronal restorasyonun bakteriyel penetrasyon ve apikal enfeksiyon için bir yol olabileceği gösterilmiştir.

Ray ve Trope (1995) koronal restorasyon ve endodontik tedavilerin kalitesi ile tedavi sonuçları arasındaki ilişkiyi inceledikleri bir çalışmalarının sonucunda, periapikal durumu koronal restorasyonun kalitesinin kanal dolgusundan daha fazla etkileyebileceğini ileri sürmüşlerdir. Başka bir çalışmada kök kanal dolgusu ve koronal restorasyonların ikisi de yüksek kalitede ise dişlerin üçte birinde, ikisi de yetersiz ise dörtte üçünden daha fazlasında, kanal dolgusunun yeterli koronal restorasyonun yetersiz olduğu durumlarda ise üçte ikiden daha fazlasında apikal periodontitis gözleendiği bildirilmiştir (Kirkevang ve ark. 2000). Diğer bir çalışmada ise kök kanal dolgusu optimize olduğunda koronal restorasyonun kalitesinin önemli olmadığı gösterilmiştir (Heard ve Walton 1997).

Kök kanallarının anatomisi kadar hangi tür mikroorganizmaların kanalda bulunduğu da önemlidir. Periapikal bölgenin durumu veya semptom varlığı gibi farklı durumlarda farklı mikroorganizmalar kök kanallarından izole edilebilmektedir. Bununla ilgili yapılan birçok çalışma mevcuttur (Griffie ve ark. 1980, Haapasalo ve ark. 1986, Sundqvist ve ark. 1989, Sundqvist 1994, Baumgartner ve ark. 1999, Oliveira ve ark. 2000, Siqueira ve ark. 2001a).

Oliveira ve ark. (2000) enfekte kök kanallarından aldıkları örneklerde *P. endodontalis* bakterisinin izole edildiği örneklerin %66.7'sinin akut periradiküler apseli, %25'ininde asemptomatik periradiküler lezyonlu olduğunu belirtmişlerdir.

Siqueira ve ark. (2001a) akut apseli dişlerden aldıkları pü örneklerinin %70'inde *P. endodontalis*, %40'ında *P. gingivalis*, ve %10'unda *P. intermedia* bakterilerinin bulunduğunu, *P. gingivalis*'in *P. endodontalis* ile birlikte hareket ettiğini ve *P. nigrescens*'in pü örneklerinde görülmediğini belirtmişlerdir.



### 1.1. Kök Kanallarından İzole Edilen Mikroorganizmalar

Dental pulpa enflamasyonuna çürük veya periodontal hastalıklar sonucunda pulpa dokusuna ulaşan mikroorganizmalar sebep olurlar. Başlangıçta mikroorganizmaların sebep olmadığı pulpa hasarları da mevcuttur. Travmatik yaralanmalar, travmatik kavite preperasyonu, kaviteye fizyolojik olmayan restoratif materyal uygulanması gibi durumlar da pulpaya hasar verebilir ancak pulpanın steril kaldığı durumlarda zamanla iyileşme olağandır. Germ free fareler üzerinde yapılan bir çalışma ile pulpa ve periapikal doku hastalıklarında bakteri ve bakteri ürünlerinin büyük rolü olduğu gösterilmiştir (Kakehashi ve ark. 1965). Mikroorganizmaların pulpaya ulaşarak kolonize olabildiği durumlarda ise geri dönüşü olmayan ve nekrozla sonuçlanan patolojik bir süreç başlar. Pulpa yüzeyindeki bakteriyel kolonizasyonun doku yıkımına sebep olmasıyla oluşan nekroz, süreci hızlandıran mikrobiyal besinleri sağlar. Sonuçta pulpanın tamamen nekrozu, apikal periodontitis ve sert doku yıkımı beklenir (Spangberg ve Haapasalo 2002).

Nekrotik bir kök kanalındaki mikroflora içeriği oral kavitede var olan bakteri türlerine ve kök kanalındaki ekolojik koşullara bağlıdır (Spangberg ve Haapasalo 2002). Yapılan bir çalışmada oral kavitede yaklaşık 500 bakteri çeşidi tanımlanmış, enfekte pulpa kavitelerinden de yaklaşık 150 çeşit bakteri izole edilmiştir (Sundqvist 1992).

Primer apikal periodontitiste anaerobik bakteriler baskın mikroorganizmalar iken, (Haapasalo ve ark. 2005) endodontik tedavinin başarısızlıkla sonuçlandığı apikal periodontitisli vakalardan sıklıkla izole edilen mikroorganizmalar *E. faecalis* ve *C. albicans*'tır (Siren ve ark. 1997, Waltimo ve ark. 1999a, Chavez de Paz ve ark. 2004, Haapasalo ve ark. 2005).

Kök kanal sistemindeki enfekte mikrobiyal floranın ekolojik koşulları da oksijen miktarına, besin varlığına ve konak defansına bağlıdır. Pulpa nekrozunda redoks potansiyeli oldukça düşüktür. Bu sebeplerle de primer apikal periodontitisteki mikroflora zorunlu anaerobik bakterilerce

baskındır (Sundqvist 1994, Baumgartner ve ark. 1999, de Oliveira ve ark. 2000, Siqueira ve ark. 2001a).

Her türün patojenitesi farklıdır. *Porphyromonas*, *P. buccae*, *F. nucleatum* ve *Peptostreptococcus* gibi türlerin ağrı ve apse gibi semptomların oluşumuyla yakın ilişkili olduğu gösterilmiştir (Griffie ve ark. 1980, Haapasalo ve ark. 1986, Sundqvist ve ark. 1989). Akut durumlarda en sık rastlanan türler ise *D. pneumosintes*, *T. forsythensis*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Treponema*, *C. rectus*, *M. micros*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Actynomyces*, *Propionibacterium*, *Lactobacillus* ve *streptococcus* türleridir (Gomes ve ark. 1996).

Primer apikal periodontitiste *E. faecalis* kök kanal tedavili dişlere göre 9 kat daha az bulunur (Rocas ve ark. 2004). Primer apikal periodontitis tedavilerinin sonuçlarının mükemmel yakın olmasının sebebi Gram(-) anaerobik mikrofloranın kemomekanik preperasyon sırasındaki ekolojik değişikliklere oldukça hassas olmasıdır. Tedaviyle oluşturulan besinsiz ortam anaerobik bakterilerin canlılıklarını sürdürebilme ihtimalini etkili bir şekilde azaltır, çünkü Gram(-) anaerobik mikroflora tedavi prosedürlerine diğer bakterilerden daha hassastır (Gomes ve ark. 1996).

Endodontik tedavinin başarısız olduğu vakalarda ise kanaldaki ekolojik ortam primer apikal periodontitisten çok farklıdır. *E. faecalis* bu vakalarda baskın türdür (Molander ve ark. 1998, Sundqvist ve ark. 1998, Peciulienė ve ark. 2000, Hancock ve ark. 2001). Retreatment gerektiren vakalarda kanala mekanik ve kimyasal dezenfeksiyon prosedürlerinin ve kanal dolununun uygulanmış olması, kanalda besin miktarının kısıtlı olması ve kanalda antibakteriyel etkili maddeler olması daha dirençli türlerin oluşmasına katkıda bulunur (Peciulienė ve ark. 2000, Haapasalo ve ark. 2003). Tedavi prognozu ise primer apikal periodontitise oranla daha düşüktür (Sjogren ve ark. 1990). Tedavi sonuçlarındaki farklılığın mikrobiyal floradaki değişikliklere bağlı olabileceği ileri sürülmüştür (Molander ve ark. 1998).

Endodontik tedavi sonrasında devam eden inatçı lezyonların sebepleri intraradiküler enfeksiyonlar, ekstraradiküler enfeksiyon veya gerçek kist gibi diğer patolojilerdir (Nair ve ark. 1990a, Nair ve ark. 1990b, Nair 1998). İntraradiküler enfeksiyonun sebebiyse yetersiz koronal kapama, ekstra kanallar, yetersiz debridman ve kök kanal sistemi dezenfeksiyonu ve tedaviye dirençli mikroorganizmalardır. Primer kök kanal enfeksiyonlarının aksine başarısız vakaların florasını bir ya da iki tür oluşturur. En sık izole edilen türler *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Actinomyces* (Molander ve ark. 1998, Sundqvist ve ark. 1998, Gomes ve ark. 2004) ve kültür yoluyla izole edilemeyen *Dialister* türleridir (Siqueira ve Rocas 2004). Ayrıca mantarların özellikle de *C. albicans* türünün varlığı gösterilmiştir (Molander ve ark. 1998, Sundqvist ve ark. 1998, Peciulienė ve ark. 2001).

Enfeksiyona sebep olan mikroorganizmalar ana kanaldan kök kanal şekillendirmesi ve irrigasyon prosedürleri ile elimine edilebilirler ancak bakteriler lateral kanal, dentin kanalları ve diğer girinti ve çıkıntılara penetre olabilirler. Vakaların %50-80'inde de mikroorganizmaların dentine invaze oldukları görülmüştür (Sen ve ark. 1995b, Peters ve ark. 2001a, Haapasalo ve ark. 2005).

Mine dentin sınırındaki dentin tübülü sayısı 15000 ile 45000 arasında değişmektedir (Garberoglio ve Brannstrom 1976). Tübüllerin genişliği pulpadan dentine doğru azalmaktadır. Pulpaya yakın bölgelerde ortalama 2.5  $\mu\text{m}$ , pulpadan uzak bölgelerde ise ortalama 0.9  $\mu\text{m}$ 'dir. Bu durumda bir tübülün çapı ortalama bir oral streptokok (0.7  $\mu\text{m}$ ) hücresinden daha büyüktür (Nalbandian ve ark. 1960, Linde ve Goldberg 1993).

Dentin tübüllerinin içeriği tam olarak bilinmemekle beraber içinde albumin ve immunoglobulin G (IgG) bulunan bir serum olduğu düşünülmektedir (Knutsson ve ark. 1994). Devital dişlerin kök ve koronal dentinlerinde de alveolar kemik ve periodontal ligamentten kaynaklanan benzer moleküller bulunur. Dentin tübüllerinde albumin, fibrinojen ve IgG olmasının, pulpaya doğru sıvı hareketini azalttığı ve bakteriyel invazyonu

engellediği gösterilmiştir (Pashley ve ark. 1982, Hahn ve Overton 1997, Love 2002).

Bakteriler túbüllerin hepsine eşit olarak invaze olmak yerine rastgele dağılmaktadırlar. Bir túbül tamamen bakteri ile dolu iken etrafındaki túbüller tamamen boş olabilmektedir. Túbüllerdeki bakteriler ana kanaldan perifere doğru uzanan, sıralı bir şekilde çoğalan hücre toplulukları gibi değil, aralıklı yoğun ve düzensiz hücre toplulukları olarak yerleşim gösterirler (Nair 1987). Peters ve ark. (2001a) çekilmiş dişlerde bakterilerin dentine invazyonunu araştırdıkları bir çalışmalarında kök kanal dentininde %77-87 oranında bakteri invazyonu olduğunu göstermişlerdir. Kök kanal dentininin derin tabakalarına doğru bakteri invazyonunu inceleyen başka bir çalışmada da %80 oranında anaerobik bakterilere rastlanmıştır. Bu alışmada *Lactobacillus* %30, *Streptococcus* %13 oranlarla baskın türler olarak belirlenmiştir ve kök dentini derin tabaka mikroflorasının koronal çürük lezyonunun derin tabakalarıyla benzer olduğu gözlenmiştir (Ando ve Hoshino 1990). Ayrıca dentin túbül içeriğinin *S. mutans* ve *S. gordonii*'nin dentine invazyonunu engelleyebiliyor iken *E. faecalis* invazyonunu yalnızca azaltabildiği gösterilmiştir (Love 2002).

Mekanik ve kimyasal dezenfeksiyon ile kök kanalındaki mikroorganizmalara etkili bir şekilde ulaşılabiliyor olsa da lateral kanallar ve dentin túbülleri ulaşılamayan alanlar olarak kalmaktadır (Peters ve ark. 1995, Spangberg ve Haapasalo 2002).

Buralardaki bakteriler antibakteriyel solüsyonlar ile irrigasyon ve kalsiyum hidroksit, CHX, iodin bileşikleri gibi medikamentler ile elimine edilmeye alışılırlar (Spangberg ve Haapasalo 2002). Ancak yapılan çalışmalarda irrigasyon ajanı olarak farklı antimikrobiale ajanların kullanımına rağmen *E. faecalis* ve *Candida* türlerinin persiste kalabileceği gösterilmiştir (Orstavik ve Haapasalo 1990, Waltimo ve ark. 1999b).

### 1.1.1. Enterococcus Faecalis

*E. faecalis* Gram (+) fakültatif anaerob bir koktur (Siqueira ve Rocas 2004, Sedgley ve ark. 2006). 10 ile 45 °C arasında üreyebilir ve 60 °C sıcaklığa 30 dakika boyunca dayanabilirler. *E. faecalis* diğer enterokok türlerinde olduğu gibi, elverişsiz koşullara kolaylıkla adapte olabilir. Sodyum dodesil sülfat, safra tuzları, hiperosmolarite, ısı, etanol, hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), asidite ve alkalinitenin normal öldürücü düzeylerine diğer mikroorganizma türlerinden daha az hassastır (Flahaut ve ark. 1996a, Flahaut ve ark. 1996b, Flahaut ve ark. 1996c). *E. faecalis*, ultraviyole ışınına karşı da direnç gösterebilmektedir (Giard ve ark. 1996, Hartke ve ark. 1998).

Enterokoklar oral kavite ve gastrointestinal yolun normal florasında bulunurlar. Hastane enfeksiyonlarının %12'sine sebep olan potansiyel patojenlerdir (Jones ve ark. 1997). Antibiyotiklere karşı direnç geliştirebilmeleri önemli problemlere sebep olur. Enterokokların sebep olduğu enfeksiyonların %80'inden *E. faecalis* sorumludur (Ruoff ve ark. 1990). Bunlar arasında üriner yol enfeksiyonları, bakteriyemi, intra abdominal enfeksiyonlar ve endokardit sayılabilir (Lewis ve Zervos 1990, Murray 1990, Schaberg ve ark. 1991).

Asemptomatik ve inatçı lezyonlardan %24 ile %77 oranında izole edilmişlerdir (Stuart ve ark. 2006). Primer enfeksiyonların küçük bir bölümünü oluştururken, tedavisi tamamlandıktan sonra devam eden inatçı lezyonların etyolojisinde rolünün büyük olduğu anlaşılmıştır. Kök kanalında yaşayan tek mikroorganizma ya da kök kanal mikroflorasının majör komponenti olarak yaşamını sürdürebilir (Evans ve ark. 2002).

Bu mikroorganizma çeşitli genetik polimorfizmler gösterebilmektedir (Sedgley ve ark. 2004). Serine proteaz, jelatinaz ve dentine bağlanmayı kolaylaştıran kollajen bağlayan protein (Ace) gibi enzimlere sahiptir (Hubble ve ark. 2003). Dentin tübüllerinde 400 ile 1000 µm ilerleyebilecek kadar küçük boyutludur ve dentin tübülleri içerisinde de yaşamını sürdürebilmektedir (Love 2001). Uygun besin ortamı oluşuncaya kadar

uzun süre açlığa dayanabilir ve serumu besin kaynağı olarak kullanabilir (Figdor ve ark. 2003). Yapılan bir araştırmada *E. faecalis*'in kök kanalında ek besin olmadan 12 ay boyunca canlılığını sürdürebildiği gösterilmiştir (Sedgley ve ark. 2005). *E. faecalis*'in biyofilm oluşturarak bu yapıyı oluşturamayan bakterilere kıyasla, 1000 kat daha dirençli hale geldiği belirtilmiştir (Distel ve ark. 2002).

Son yıllarda tedavi sonrası gelişen periapikal lezyonlarla ilişkilendirilmiştir. Birçok lezyonda tek kültür olarak öne çıkması tedavi sonrası oluşan periapikal lezyonların etyolojik faktörü olabileceğine dikkat çekmiştir (Portenier ve ark. 2003).

Enterokoklar çeşitli antimikrobiallere karşı doğal olarak dirençlidir. Bunlar beta laktam içeren antimikrobialler (sefalosporinler ve semisentetik penisilinaz dirençli penisilinler), klindamisin, düşük konsantrasyonlu aminoglikozidler ve florokinolonlardır. Ampisilin ve vankomisine karşı doğal olarak hassastırlar ancak direnç geliştirebilmektedirler. Ayrıca tetrasiklinlere, makrolidlere, glikopeptidlere (vancomisin ve teikoplanin), kloramfenikole, yüksek konsantrasyon beta laktamlara ve aminoglikozidlere karşı direnç geliştirebilmektedirler. Direnç gelişimi başka organizmalardan transpozomlarla ya da plazmidlerde direnç geni oluşumuyla ortaya çıkar. Enterokoklar yüzey agregasyon substansını uyaran feromonları salgılar bu da hücreler arası iletişimi ve sonunda direnç taşıyan plazmidlerin aktarılmasını sağlar (Ike ve ark. 1983, Yagi ve ark. 1983, Galli ve ark. 1990, Leonard ve ark. 1995).

Enterokokların virulans faktörleri,

1) Agregasyon substansı (AS) : yüzeyde lokalize bir proteindir, plazmid aktarımına yardımcı olan hücreler arası ilişkiyi sağlar ve böylelikle antibiotik direnci gibi bir genetik materyal *E. faecalis* türünden diğer türlere aktarılabilir (Clewell 1981, Leonard ve ark. 1995).

2) Yüzey proteinleri (esp) : hidrofobiklik verir, biyofilm oluşumuna katkıda bulunur, biyotik yüzeylere yapışmayı artırır (Toledo-Arana ve ark. 2001).

3) Jelatinaz: hidrofobiktir, 6 ile 8 arasında geniş bir pH aralığı vardır (Makinen ve ark. 1989).

4)Sitolizin toksin: eritrositleri, polimorfonükleer nötrofilleri, makrofajları lizize uğratar, bakteriyel hücreleri öldürür ve fagositozun azalmasına sebep olur (Booth ve ark. 1996, Gilmore ve ark. 1990).

5) Ekstrasellüler süperoksit üretimi,

6) Kapsüller polisakkaritler ve

7) Antibiyotik direnç determinantı'dır.

Siqueira ve ark. (2000) %1, 2.5 ve 5.25 konsantrasyonlarındaki NaOCl solüsyonlarının *E. faecalis* üzerindeki antibakteriyel etkinliğini karşılaştırarak, aralarında bir fark olmadığını ancak irrigasyon solüsyonunun konsantrasyonunun artmasıyla antibakteriyel etki hızında artış olabileceğini göstermişlerdir. Benzer şekilde *E. faecalis* kültürlerinde %100 ölüm gerçekleşmesi için %0,5'lik NaOCl ile 30 dk süre gerekirken, %5,25'lik NaOCl ile ise 30 sn temasın yeterli olduğu bulunmuştur. (Gomes ve ark. 2001). Diğer bir çalışmanın sonuçları da bu bulguyu destekler. Bu çalışmada % 0,5'lik NaOCl'in 30 dk'da, % 1'lik NaOCl'in 10 dk'da % 2,5'lik NaOCl'in 5 dk'da ve % 5,25'lik NaOCl'in ise 2 dk'da *E. faecalis*'i tamamen elimine edebildiği gösterilmiştir (Radcliffe ve ark. 2004).

### **1.1.2. Candida Albicans**

*C. albicans* maya tipi bir mantar türüdür. İnsanlarda oral ve vajinal fırsatçı enfeksiyonların sebebidir. *Candida* cinsine ait 200 tür olmasına karşın *Candida* enfeksiyonlarının %75'inden *C. albicans* sorumludur (Jenkinson ve Douglas 2002).

Bağıışıklığı baskılanmış hastalarda (AIDS, kanser kemoterapisi, organ veya kemik iliğı transferi durumlarında) sistemik fungal enfeksiyonlar hastalık ve ölümün başlıca nedenleri arasındadırlar. Ayrıca bu yönde riski olmayan hastaların hastanede edindikleri enfeksiyonlar ciddi bir sağılık sorunu haline gelebilir (Jenkinson ve Douglas 2002).

*C. albicans* insan ağızı ve sindirim sistemi içinde yaşayan pek çok organizmadan biridir. Sağılıklı yetişkinlerin %40'ının ağızında, sağılıklı kadınların %20-25'inin vajinasında varlık gösterebilir. *C. albicans* sindirim sistemindeki varlığıyla başka patojen bakterilerin çoğalmasını engeller. Vücudun bağıışıklık sistemi ve diğıer zararsız bakteriler normal şartlarda *Candida*'yı kontrol altında tutarlar (Jenkinson ve Douglas 2002).

Ancak, diğıer bakterilerin sayısı *C. albicans*'a oranla azalırsa (örneğin antibiyotik kullanımından dolayı), bağıışıklık sistemi zayıflamışsa veya mayanın çoğalmasını sağılayan başka şartlar mevcutsa (yüksek şeker, yüksek pH) *C. albicans* zararsız olan tek hücreli biçiminden, çok hücreli, istilacı (invasif), küf gibi ipliksi biçimine dönüşür ve vücudu istilaya başlar. *C. albicans*'ın ipliksi biçimi hem psödohif, hem de gerçek hiflerden oluşabilir. *C. albicans* ipliksi bir biçime dönüşmesine ilaveten, konak dokulara bağlanmasını sağılayan adhesinler, dokuları hem imha etmeye hem de onlara daha iyi yapışmayı sağılayan proteazlar, ve vücudun bağıışıklık sisteminin tepkisini azaltan faktörler üretirler (Hube ve Naglik 2001).

Oral kavitede yaygın olarak oportunistik patojen olarak bulunan oral mantarların en önemli türü majör bir fungal patojen olan *Candida*'dır (Ramage ve ark. 2005). *C. albicans* predominant ve ağız enfeksiyonlarında en sık karşılaşılan mantar türüdür (Sullivan ve ark. 2004, Waltimo ve ark. 2004). Adaptif bir mikroorganizma olan *C. albicans*, *E. faecalis* gibi çeşitli virulans faktörleri salgılar (Odds 1987).

*C. albicans* 'blastospor' ve 'hif' şeklinde bulunabildiğıinden dolayı çoğı kez dimorfik mantar olarak tanımlanır. Çevresel koşullara bağılı olarak blastospor, germ tüpleri, gerçek hifler, yalancı hifler ve klamidosporlar



gibi çeşitli morfolojik şekillerde üreyebildiklerinden dolayı aslında bir polimorfik mantar olarak tanımlanabilir. Blastospordan hif şekline geçiş, kommensal durumdan patojenik bir duruma değişimi göstermektedir. Fakat maya şeklinden hif şekline dönüşüm önemli olmasına rağmen, bu durum enfeksiyonun oluşması için her zaman gerekli değildir (Siqueira ve ark. 2002c).

İnatçı endodontik enfeksiyonlu dişlerin kanallarındaki mikroorganizmaların araştırıldığı bir çalışmada 967 örnekten 47'sinde mantar izole edilmiştir. İzole edilen tüm mantarların *Candida* türüne ait olup en çok *C. albicans* olduğu görülmüştür. Bu çalışma sonucunda araştırmacılar inatçı apikal periodontitis vakalarında mantarların rolü olabileceğini düşünmüşlerdir (Waltimo ve ark. 1997).

Mantarların enfekte kök kanallarında izole edilebileceği yapılan çok sayıda çalışmayla gösterilmiştir (Grossman 1952, Sen ve ark. 1995b, Waltimo ve ark. 1997, Sen ve ark. 1997a, Sen ve ark. 1997b, Molander ve ark. 1998). Enfekte kök kanallarındaki varlıkları %1 ile %17 arasında değişmektedir (Baumgartner ve ark. 2000). Genellikle inatçı apikal periodontitis vakalarında görülmektedir (Peciuliene ve ark. 2001).

*C. albicans*'ın dentinofilik bir mikroorganizma olabileceği bildirilmiştir. Şen ve ark. (1997a) *C. albicans*'ın dentin duvarlarında çeşitli şekillerde çoğalarak dentin tübüllerine penetre olduğunu göstermişlerdir.

Sığır dişleri kullanılarak yapılan in vitro bir çalışmada 5 farklı *Candida* mantarı ile dişler enfekte edilmeye çalışılmış, SEM ile yapılan incelemeler sonucunda bu mantarlardan yalnızca *C. albicans* türünün dentinde kolonize olabildiği gözlenmiştir (Siqueira ve ark. 2002c).

Apikal periodontitisli 60 vakanın incelendiği in vivo bir çalışmada ise araştırılan kanalların 6'sından mantar izole edilmiştir. Aynı araştırmacılar tükürüğünde mantar bulunan hastaların kök kanallarında mantar bulunma ihtimalinin 13,8 kat arttığını ileri sürmüşlerdir (Egan ve ark. 2002).

1998 yılında yapılan in vivo bir çalışmada kanal tedavisi başarısız olmuş 24 vakanın 2 tanesinde *C. albicans* bulunmuştur (Sundqvist ve ark. 1998). PCR metodu kullanılan bir çalışmada 91 adet apikal periodontitisli dişin kök kanalından yalnızca 1 tanesinden mantar izole edilmiştir (Siqueira ve ark. 2002c). Yine PCR kullanılan başka bir çalışmada rastgele seçilen 24 periapikal lezyonlu örnekten 5 tanesinde (%21) *C. albicans* tespit edilmiştir (Baumgartner ve ark. 2000).

Kök kanal tedavisi tamamlandığı halde kronik apikal periodontitisli olan asemptomatik 40 adet dişin kök kanallarından alınan kültür örneklerinden 6'sında mantar gözlenmiş, bunların 3'ünün enterik türlerle beraber 3'ünün ise mono enfeksiyon olarak var olduğu tespit edilmiştir (Peciuliene ve ark. 2001).

Ağız boşluğunda mantar enfeksiyonlarının görülme sıklığının artması ve kök kanallarında bulunmalarının belirlenmesi sonrasında, mantarların endodontik enfeksiyonlardaki rolleri de fark edilmiştir (Siqueira ve ark. 2002c).

Mantarları elimine etmek için seans arası dezenfeksiyon medikamentleri ve bir takım antifungal ajanlar kullanılmıştır (Siqueira ve ark. 2001b, Ferguson ve ark. 2002). Kök kanalı enfeksiyonlarında lokal antibiyotik kullanımı uzun yıllardır merak konusu olmuştur. Ancak antibiyotik kokteyllerinin dentini tümüyle dezenfekte ettiği veya daha yüksek bir klinik başarı sağladığına dair bir bilgi yoktur. Topikal antibiyotik materyaller lokal bir konsantrasyon değişimine neden olurlar. Dentin tübüllerinde veya periapikal lezyonlarda bulunan mikroorganizmalar etkisi azaltılmış konsantrasyonlarda antibiyotikler ile temas ettiklerinde direnç geliştirebilirler. Bu yüzden antifungal ajanların lokal veya sistemik kullanımına yalnızca bazı semptomlarda, akut apikal periodontitisin tedavisinde mikrobiyolojik tanı yapılarak karar verilmelidir (Waltimo ve ark. 2000, Siqueira ve ark. 2001b, Ferguson ve ark. 2002).

## 1.2.Biyofilm

Biyofilm, bir yüzeye bağlanmış, polisakkarit ve proteinlerden oluşan ince bir tabaka matrikse gömülmüş mikroorganizma komuniteleri olarak tanımlanabilir. Mikrokoloniler polisakkarit, protein, tuz ve hücre materyalinden oluşan bir matriks içinde düzenli bir şekilde dağılmış olarak bulunurlar (Athanassiadis ve ark. 2007). Biyofilmin %15'ini hücreler %85'ini matriks oluşturur (Angles ve ark. 1993, Hausner ve Wuertz 1999).

Mikroorganizmalar aköz ortamda planktonik halde olmak yerine çoğunlukla biyofilm popülasyonları olarak bulunurlar. Oral biyofilmler karışıktır ve 30 veya daha çok bakteri cinsinden oluşurlar (Athanassiadis ve ark. 2007).

Farklı ortamlardaki biyofilmlerin içerikleri ve organizasyonları farklı olsa da temel olarak aynı oluşum safhalarını gösterirler. Bunlar bir film tabakasının depozisyonu, adezyonu, planktonik mikroorganizmaların polimerik matrikste kolonizasyonu, pek çok farklı organizmanın gelerek yüzeye yapışması ve biyofilm mikroorganizmalarının ayrılarak etrafa dağılmasıdır (Chavez de Paz 2007).

Biyofilmleri oluşturan mikrobiyal komüniteler alt tabakaya, bir arayüze veya birbirine irreversible olarak bağlı hücrelerden oluşurlar. Ekstraselüler polimerik substans (EPS) matriksi biyofilmlerdeki hücreler tarafından üretilir (Duggan ve Sedgley 2007).

Bu mikrokolonilerin içinde içlerinde sıvıların taşındığı, dış ortamdan ayrı kanallar vardır (Duggan ve Sedgley 2007, Estrela ve ark. 2009). Biyofilmler, birçok ökaryotik hücresel komüniteyi düzenleyen, hormon veya feromonlara (vücut dışına salgılanan hormonlar) benzeyen sinyallerle düzenlenirler. Bakteri hücrelerinin kendi aralarında iletişim kurmak için kullandıkları bu moleküllere quorum sensing molekülleri adı verilmiştir. Komünite konak defansına karşı koyacak kadar güçlenmeden protein toksinler gibi virulans faktörlerini üretmezler (Soares ve ark. 2010).

Biyofilmler bünyelerindeki hücelere çeşitli avantajlar sağlarlar, bunlardan en önemlisi de antiseptik, antibiyotik ve endüstriyel biyosidler gibi potansiyel olarak toksik ajanlardan korumalarıdır (Dunavant ve ark. 2006).

Biyofilmler antimikrobiyal ajanlara karşı çeşitli mekanizmalarla direnç geliştirirler;

1) Salgılanan polisakkarit matriks antibiyotik düffüzyonunu azaltır ve  $\beta$  laktamaz gibi ekstrasellüler enzimleri hapsederek tamponlar böylece  $\beta$  laktam grubu antibiyotikleri inaktive eder (Dunavant ve ark. 2006).

2) Quorum sensing adı verilen haberleşme mekanizması biyofilm için yararlı olan türlerin çoğalmasına katkıda bulunur (Portenier ve ark. 2003).

3) Biyofilm içinde korunan bakteri subpopülasyonları farklılaşmış gen ekspresyonu yapabildikleri bir hale geçerler (Portenier ve ark. 2003).

4) Bakteri hücreleri biyofilmin derin tabakalarına inerek kendilerini korurlar, uygulanan medikamentler yalnızca üst tabakadaki mikroorganizmaları etkileyebilirler (Dunavant ve ark. 2006).

5) Ayrıca biyofilm içerisinde bulunan bakteriler planktonik hücrelerden daha yavaş çoğalır ve hareket ederler bu durum antimikrobiyal ajanlarında etkisinin yavaş olmasına veya mikroorganizmaları hiç tanıyamamalarına sebep olur (Dunavant ve ark. 2006).

6) Biyofilm içindeki oksijensiz ortam ve pH'daki değişim bazı antibiotiklere karşı antogonistik etki gösterir (Athanassiadis ve ark. 2007).

Endodontideki biyofilmler intrakanal, external ve periapikal olarak sınıflandırılabilir (Ingle 2008);

### **1.2.1. İnrakananal Biyofilmler**

Endodontide biyofilm konsepti ilk defa 1987 yılında ortaya atılmıştır. Kök uçlarında periapikal enflamasyon bulunan çekilmiş dişlerin kök kanal içerikleri transmisyon elektron mikroskobu ile incelenmiş çok sayıda kok, rod ve filamentli bakteri topluluklarının yanı sıra bu

toplulukların arasını dolduran bakterilerin salgıladığı ekstrasellüler bir matriks varlığı gösterilmiştir (Nair 1987).

### **1.2.2. Extrakanal Biyofilmler**

Bu biyofilmlere asemptomatik apikal periodontitis veya fistül yolu oluşan kronik apikal apselerde rastlanmaktadır (Ingle 2008). Rezeksiyon sonrası alınan kök uçlarının SEM ile incelendiği bir çalışmada apikal foramenin etrafındaki kök uçlarında yüzeyin çeşitli bakterilerden oluşan devamlı düzgün bir tabaka ile kaplı olduğu gözlenmiştir (Tronstad ve ark. 1990). Endodontik tedavi sonrası apikal periodontitisin devam ettiği dişlerin incelendiği çalışmalarda kök uçlarında calculusa benzer birikimler (Ricucci ve ark. 2005) ve kalsifiye biyofilmler olduğu bildirilmiştir (Harn ve ark. 1998). Leonardo ve arkadaşları (2002) da çeşitli sebeplerle çekilmiş dişlerin SEM ile incelendiği başka bir çalışmada apikal periodontitisli dişlerin kök uçlarında biyofilm oluşumunu göstermişlerdir. Diğer bir çalışmada da kronik apikal periodontitisin apikaldeki periodontal lifleri yıktığı ve çeşitli derecelerde sement rezorpsiyonuna neden olduğu, bundan dolayı oluşan boşluklarda da biyofilmlerin geliştiği gösterilmiştir (Leonardo ve ark. 2007).

### **1.2.3. Periapikal Biyofilmler**

Bu biyofilmler kök kanal enfeksiyonu ile ilişkili olabilir veya olmayabilir. *Aktinomyceslerin* patojenitelerini nasıl gösterdikleri tam olarak anlaşılamadıysa da, enfeksiyona nasıl sebep olduklarını açıklayan bilgiler mevcuttur. Çoğu *Aktinomyces* türünün virulansı dokularda enfeksiyona sebep olamayacak kadar düşüktür. Ancak nekrotik pulpa dokusunun mikroorganizmaların invazyonuna direnci tamamen bitmiştir. *Aktinomyces* türlerinin bazılarında kanal içinde koagregasyonu sağlayan fimbriaları vardır. Bu yapı aktinomyceslerin kök kanal duvarı ve debris tutunmasına yardımcı olur. Apikal foramandan debrisin dışarı itildiği durumlarda bu bölgeye çıkan *Aktinomycesler* diğer bakterilere veya hücrelere yapışabilirler (Figdor ve ark. 1992). Konak dokularına veya bir protein polisakkarit matriks içine gömülü çok sayıda filamanlı yapışkan

kolonilere yerleşen *Aktinomyces* konak defansından kurtulabilirler (Figdor ve ark. 1992).

Oldukça düşük patojeniteye sahip *Aktinomyces* kolonileri akut bir yanıt oluşturmadan konak dokuyla denge içinde hayatlarını sürdürebilirler. İnatçı bir enfeksiyon oluşması için çok yüksek miktarda *Aktinomyces* hücresi gereklidir (Behbehani ve Jordan 1982). *Aktinomyceslerin* düşük patojenitesi, konak defansının minimal olduğu durumlarda kronik periapikal lezyonlara sebep olur.

Biyofilmlerin parçalanarak uzaklaştırılması pek çok çalışmaya konu olmuştur. Bir çalışmada NaOCl'in farklı konsantrasyonlarının tek ve çok türden oluşan biyofilmlerin büyümesi üzerine etkileri araştırılmış, birden fazla türün oluşturduğu biyofilmlerin daha yüksek dirence sahip olduğu ve direncin zamanla arttığı gösterilmiştir (Ozok ve ark. 2007).

Dunavant ve ark (2006) %1'lik NaOCl, %6'lık NaOCl, Smear Clear, %2'lik CHX, REDTA ve MTAD gibi ajanların biyofilmler üzerindeki etkilerini araştırmışlar ve test edilen ajanlar arasında anlamlı farklar olduğunu bildirmişlerdir. Biyofilm eliminasyonunda %1 ve 6'lık NaOCl solüsyonlarının her ikisi de %100'e yakın etki gösterirken, Smear Clear %78, %2'lik CHX %60, REDTA %27 ve MTAD %16 oranında başarılı bulunmuştur.

Giardino ve ark (2007) %5.25'lik NaOCl ve MTAD'nin *E. faecalis* biyofilmlerine etkilerini değerlendirmiş ve %5.25'lik NaOCl'in biyofilmi ortadan kaldırabildiğini, MTAD'nin ise böyle bir etkisi olmadığını bildirmişlerdir.

Başka bir çalışmada *E. faecalis* biyofilmlerinin 4 farklı antimikrobiyal irrigasyon ajanına karşı duyarlılıkları incelenmiş ve test edilen ajanlardan %6'lık NaOCl ile CHLOR-EX-TRA adındaki yeni çıkmış olan bir ajanın, %2'lik CHX ile CHX-Plus adındaki başka bir yeni ürüne göre biyofilmleri anlamlı derecede daha iyi temizlediği saptanmıştır (Williamson ve ark. 2009).

NaOCl, CHX, EDTA, sitrik asit ve fosforik asitin minimal biyofilm eliminasyon konsantrasyonlarının araştırıldığı bir çalışmada NaOCl biyofilmlere karşı en etkili ajan olarak bulunmuştur. Bu çalışmada %0.00625'lik konsantrasyonuyla NaOCl 1 dk sonra, % 2'lik konsantrasyonda CHX 5 dk sonra etki gösterirken, EDTA, sitrik asit ve fosforik asit ise test edilen konsantrasyon veya saatlerin hiçbirinde etkili olamamışlardır (Arias-Moliz ve ark. 2009). Yapılan çalışmaların sonucunda NaOCl biyofilmi temizleyebilen en etkili ajan olarak görünmektedir.

### **1.3.Kök Kanal İrrigasyonu**

Endodontik tedavide antimikrobiyal ajanlar yüzyıldan daha uzun bir süredir kullanılmaktadır. Serum, çeşitli antimikrobiyal ajanlar ve kombinasyonları irrigasyon amaçlı kullanılmıştır. En sık kullanılan antimikrobiyal ajanlar ise quarterner amonyum bileşikleri, iyodoforlar ve NaOCl olmuştur. (Spangberg ve Haapasalo 2002).

Enstrumentasyon sırasında kök kanallarının irrigasyonu için farklı ajanlar önerilmiştir. Teorik olarak kullanılacak solüsyonun taşıması gereken özellikler pulpanın durumuna göre değişebilir. Vital pulpa extirpasyonunda, serum doku ve dentin artıklarının uzaklaştırılması için yeterli olabilir ancak pulpa nekrotik ve enfekte ise mikrobiyal ürünler ve doku yıkım artıkları olacağından daha iyi bir çözücü gereksinimi vardır. Bundan dolayı da en yaygın kullanılan irrigasyon solüsyonu NaOCl'dir. Kullanımı birinci dünya savaşı sırasında gündeme gelmiştir. (Dakin 1915a, Dakin 1915b, Dakin 1916).

Endodontide irrigasyon, basit şekliyle kök kanallarının çeşitli sıvıların yardımı ile ıslatılması veya yıkanması olarak tarif edilebilir. Endodontide irrigasyonun amacı (Zehnder ve ark. 2006):

- Kök kanallarından organik ve inorganik debrisleri, enfekte materyalleri, yumuşak ve sert doku artıklarını hem fiziksel hem de kimyasal olarak uzaklaştırmak ve bu sayede bu materyallerin apikal

bölümde birikmesine, apikali tıkamasına ve bu bölgenin ulaşılabilir hale gelmesine engel olmak,

-Antibakteriyel özellikleri sayesinde kök kanalındaki mikroorganizmaları uzaklaştırmak,

-Kök kanallarını ıslatarak ve kayganlaştırarak mekanik preparasyonunun daha rahat yapılmasına olanak sağlamak,

- Kanal aletlerinin ulaşamadığı bölgeleri temizlemek ve dezenfekte etmek,

- Kök kanal dezenfeksiyonu için ara seanslarda kullanılan maddelerin etkisini arttırmak,

- Smear tabakayı uzaklaştırmak,

- Ağartıcı özellikleri ile renklenmiş dişlerin ağartılmasına yardımcı olmaktır.

İrrigasyonun endodontideki önemi anlaşıldıktan sonra hem irrigasyon materyalleri hem de uygulama yöntemlerindeki gelişmelerle irrigasyon işleminin etkinliği arttırılmaya çalışılmıştır (Desai ve Himel 2009).

İdeal bir irrigasyon solüsyonundan beklenen özellikler;

1) Smear tabakasını tamamen kaldırabilmesi,

2) Dentin tübüllerine penetre olarak dezenfekte edebilmesi,

3)Kanalda kolay nötralize olmaması, antibakteriyel etkisini sürdürebilmesi,

4)Dişin çevre dokularına antijenik, toksik veya karsinojenik etki göstermemesi,

5)Dentin dokusunun fiziksel özelliklerine olumsuz etki oluşturmaması,



- 6) Kanal dolgu maddesine olumsuz etkisinin olmaması,
- 7) Koronal restorasyonun pulpa odasına bağlanmasına olumsuz etki etmemesi,
- 8) Dişin rengini değiştirmemesi,
- 9) Uygulanmasının kolay olması,
- 10) Maliyetinin düşük olması,
- 11) Raf ömrünün uzun olması ve
- 12) Saklama kolaylığı olmasıdır (Ando ve Hoshino 1990, Armitage ve ark. 1983, Davis ve ark. 1972, Mjor ve Nordahl 1996, Sen ve ark. 1995b).

Endodontide şu ana kadar en sık kullanılan irrigasyon solüsyonları arasında NaOCl, EDTA, CHX ve MTAD sayılabilir.

### **1.3.1.Sodyum Hipoklorit (NaOCl)**

NaOCl, dilüe kostik sodada sıvı veya gaz olarak bulunan klorinin reaksiyona girmesi sonucu oluşan berrak, yeşilimsi sarı renkli bir sıvıdır ve oluşum reaksiyonu şu şekilde formüle edilebilir.



Çamaşırların beyazlatılmasında, tekstil ve gıda sanayisinde, su ve atık suların arıtılmasında ve endodontide dezenfeksiyon amaçlı kullanılır (Çalışkan 2006).

NaOCl ilk defa, 1788 yılında Fransız kimyacı Berthollet tarafından keşfedilmiş, 1847 yılında Semmelweis tarafından dezenfektan olarak kullanılmıştır (Bruch 2007). Birinci Dünya Savaşında %0,5'lik NaOCl solüsyonu yaraların dezenfeksiyonunda kullanılmıştır. Bu solüsyonun dokulara zarar vermeden ve yara iyileşmesini engellemeden güçlü

antibakteriyel etki gösterdiği tespit edilmiştir (Rutala ve Weber 1997). Bu solüsyon yüksek miktarda alkali içerir (Dakin 1915a). Birçok antiseptiğin aktivitesi organik doku ve sıvıların varlığında önemli ölçüde azalırken, NaOCl'in antibakteriyel etkisinin; kan ve serum albumin gibi organik materyallerin varlığında devam ettiği ve bakteri sporlarının yanı sıra, hepatit ve HIV patojenlerine de etkili olduğu bilinmektedir (Hand ve ark. 1978).

NaOCl solüsyonlarının yarılanma ömrü yaklaşık 500 gündür, kimyasal stabilitesi ısı, ışık ve atmosferik karbon dioksitten etkilenir. Bu sebeplerle de aktif kullanımının ideal saklama koşullarına bağlı olduğu iddia edilmektedir (Gerhardt ve Williams 1991, Johnson ve Remeikis 1993).

NaOCl solüsyonu ilk kez 1919 yılında Coolidge tarafından endodonti pratiğinde kullanılmış ve günümüzde endodontik tedavilerde en yaygın kullanılan irrigasyon solüsyonu haline gelmiştir (Coolidge 1919).

Bu solüsyonun antimikrobiyal etkinliğini açıklayan çeşitli teoriler vardır. Tepkimeye girmemiş hipokloröz asit bakteri enzimleri üzerine oksidatif etki oluşturarak germisidal etki göstermektedir. Hayati enzimleri inhibisyona uğrayan bakteriler ölürler. Hücre proteinlerini hidrolize ve okside eder ve bir miktar hücre sıvısının hücre dışına çıkmasına sebep olarak antimikrobiyal etkinlik gösterir. Ph'ı 11 ile 12 arasında değişmektedir. Bu pH'da doku proteinleri ile temasa geçmesiyle proteinlerde çözünme meydana getirir.

Antibakteriyel etki mekanizması tam olarak açıklanamamakla birlikte NaOCl'in doku çözücü ve antimikrobiyal etkilerinden sorumlu özellikleri şunlardır:

- Hücre proteinlerini okside ve hidrolize etme yeteneği,
- Hipoklorik asit oluşturarak  $Cl^-$  açığa çıkarması,

- Osmotik aktivite ile belli bir miktar hücre sıvısını dışarı çekmesi (Johnson ve Remeikis 1993).

Yüksek antimikrobiyal etkisi ve doku çözücü özellikleri olan NaOCl'in (Zehnder 2006, Mohammadi 2008) endodontide genellikle %0.5 ile %5.25 arasında değişen konsantrasyonları tercih edilmektedir (Waltimo ve ark. 2005).

Günümüzde NaOCl'in hangi konsantrasyonda daha etkin olduğuna dair ortak bir görüş yoktur. Bazı çalışmalar %0.5 ile %5 arasında antimikrobiyal etkinlik açısından fark olmadığını belirtirken (Bystrom ve Sundqvist 1985, Cvek ve ark. 1976, Pashley ve ark. 1985), diğer çalışmalar konsantrasyonun düşmesiyle etkinliğin azaldığını ileri sürmüşlerdir (Siqueira ve ark. 2000, Spratt ve ark. 2001, Gomes ve ark. 2001).

Aktif klor konsantrasyonu zaman içinde ve NaOCl'in yüzdesinin azalmasına bağlı olarak azalır, ısının artırılmasıyla materyalin yapısındaki suyun buharlaşmasına bağlı olarak artar (Gomes ve ark. 2001).

NaOCl organik dokularla temas ettiğinde reaksiyona girmesi sonucu solüsyon içerisindeki serbest klorin miktarı azalır. Bu da antimikrobiyal etkinin azalmasına sebep olur. Özellikle düşük konsantrasyonlarda bu durum çok belirgin gözlenmektedir. Bu yüzden yüksek konsantrasyonlu solüsyonların kullanımı ya da düşük konsantrasyonlu solüsyonların sık ve bol irrigasyonu önerilmiştir (Bystrom ve Sundqvist 1981, Bystrom ve Sundqvist 1985, Hauman ve Love 2003).

Farklı konsantrasyonlardaki NaOCl solüsyonlarının doku eritme özelliklerinin değerlendirildiği bir araştırmada, bu materyalin etkili bir doku çözücüsü olduğu ve aktivitesinin en az bir saat kadar sürdüğü gösterilmiştir (Trepagnier ve ark. 1977).

NaOCl solüsyonlarının sıgır pulpası, gingivası ve tendon kollajenini çözme yeteneğinin incelendiği bir çalışmada, %10'luk NaOCl çözeltisinin en etkin konsantrasyon olduğu, %2 ve %5'lik çözeltiler arasında önemli bir fark olmadığı saptanmıştır (Nakamura ve ark. 1985).

Sıcaklığın, NaOCl'in bakterisit özelliğine etkisinin incelendiği bir çalışmada, %2.6'lık NaOCl'in oda ısısına kıyasla, vücut sıcaklığında daha fazla antibakteriyel etki gösterdiği sonucu ortaya koyulmuştur (Cunningham ve Joseph 1980).

Siqueira ve ark. (2000) %1, 2.5 ve 5.25 konsantrasyonlarındaki NaOCl solüsyonlarının *E. faecalis* üzerindeki antibakteriyel etkinliğini karşılaştırarak, aralarında bir fark olmadığını ancak irrigasyon solüsyonunun konsantrasyonunun artmasıyla antibakteriyel etki hızında artış olabileceğini göstermişlerdir. Benzer şekilde *E. faecalis* kültürlerinde %100 ölüm gerçekleşmesi için %0,5'lik NaOCl ile 30 dk süre gerekirken %5,25'lik NaOCl ile ise 30 sn temasın yeterli olduğu bulunmuştur (Gomes ve ark. 2001). Diğer bir çalışmanın sonuçları da bu bulguyu destekler. Bu çalışmada % 0,5'lik NaOCl'in 30 dk'da, % 1'lik NaOCl'in 10 dk'da % 2,5'lik NaOCl'in 5 dk'da ve % 5,25'lik NaOCl'in ise 2 dk'da *E. faecalis*'i tamamen elimine edebildiği gösterilmiştir (Radcliffe ve ark. 2004).

Yeşilsoy ve ark. (1995) kök kanallarında sıklıkla karşılaşılan mikroorganizmalara karşı %0.5, 2.5 ve 5.25'lik konsantrasyonlarındaki NaOCl'in etkisini değerlendirmişler, %5.25 konsantrasyonundaki NaOCl'in mikroorganizmalar üzerine etkili olduğu ve etkinliğin en az %0.5 konsantrasyonda izlendiğini bildirmişlerdir.

Bunlara karşın Bystrom ve Sundqvist (1985) %0.5 ve %5 konsantrasyonlarda NaOCl'in antimikrobiyal etkinliklerini karşılaştırdıkları in vivo bir çalışmada, iki konsantrasyon arasında anlamlı bir fark bulamamışlardır.

İn vitro bir çalışmada kanal tedavisine dirençli mikroorganizmaların oluşturduğu biyofilm tabakasına en etkili solüsyonun %2,25'lik NaOCl olduğu ve %0,2'lik CHX ile % 2,25'lik NaOCl arasında antibakteriyel etki açısından anlamlı bir fark olmadığı gösterilmiştir (Spratt ve ark. 2001).

Smear tabakasının hem inorganik hem de organik bileşenleri vardır. Dentin tübüllerine invaze olabilen bu tabaka sağlam dentin, preentin,

pulpa artıkları, odontoblast uzantıları, irrigasyon ajanlarının artıkları ve bakterilerden oluşur (McComb ve Smith 1975, Mader ve ark. 1984, Sen ve ark. 1995a, Torabinejad ve ark. 2002).

Bu tabaka dentin tübüllerinde 6 ile 40 µm derinliğe kadar ilerleyebilir (Mader ve ark. 1984). Bu tabakanın içinde var olan bakteriler çoğalmaya devam edebilirler (Brannstrom 1984, Yamada ve ark. 1983). Kanala uygulanan medikamentlerin dentin tübülleri içerisine antimikrobiyal etkileri smear tabakası tarafından engellenebilir veya geciktirilebilir (Goldberg ve Abramovich 1977, Wayman ve ark. 1979, Yamada ve ark. 1983, Brannstrom 1984).

Smear tabakasını uzaklaştırmakta yetersiz kalan NaOCl'in EDTA gibi şelasyon yapıcı bir ajanla kombine kullanılmasının smear tabakasını en iyi şekilde uzaklaştırabileceği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Goldman ve ark. 1981, Goldman ve ark. 1982, Yamada ve ark. 1983, Baumgartner ve Mader 1987).

Organik ve inorganik bileşenlerle dolu kök kanallarına uygulanan dezenfektanların etkilerinin ortamın kimyasal yapısı sebebiyle azalabileceği ileri sürülmüştür. Bir çalışmada dentinin %1'lik NaOCl'in *E. faecalis*'e karşı antimikrobiyal etkisini inhibe ettiği gösterilmiştir (Haapasalo ve ark. 2000). Başka bir çalışmada %1 ve %5'lik NaOCl solüsyonlarının antibakteriyel etkilerinin %0,5 sığır serum albumininin varlığında inhibe olduğu bildirilmiştir (Sassone ve ark. 2003).

Albumin ve NaOCl arasındaki reaksiyon sonucunda protein degradasyonu ve hipokloritte azalma olmaktadır, ayrıca enflamasyon mekanizmaları üzerine yapılan çalışmalarda albuminin, hipokloröz asitin, alpha 1-antiproteinaz inaktivasyonunu azalttığı gösterilmiştir (Wasil ve ark. 1987, Yan ve ark. 1996).

Sığır serum albumini, dentin talaşı ve hidroksilapatit gibi organik bileşenlerin kullanıldığı başka bir çalışmada, %0.05 CHX, 50 µl kalsiyum

hidroksit ve %0.2-0.4 iyodin potasyum iyodid'in antimikrobiyal etkilerinin 1. saatten 24. saate kadar azaldığı gözlenmiştir (Portenier ve ark. 2001).

Sınırlı yüzey kontağı, kök kanallarının her tarafına ulaşamaması ve azda olsa nötralize olması gibi nedenlerle antibakteriyel etkinliği sınırlanan NaOCl, bakteri popülasyonunu azaltmakla birlikte tam olarak elimine edememektedir. Konsantrasyonu ve toksisitesinin doğru orantılı olarak arttığı bildirilen NaOCl'in, kök kanallarında etkili olan konsantrasyonlarının çevre dokular üzerinde son derece irrite edici olduğu açıklanmıştır. Konuyla ilgili yapılan araştırmalarda, yıkama solüsyonu olarak kullanılan %5.25'lik NaOCl'in; periradiküler dokulara taşması durumunda şiddetli ağrı, yanma hissi, ateş, hızla gelişen ödem, hematoma, nekroz ve apse gibi birtakım irritasyon ve doku hasarlarına neden olabileceği bildirilmektedir (Kartal ve ark. 1992, Hulsmann ve Hahn 2000, Serper ve ark. 2004).

Periapikal dokular üzerinde sitotoksik etki göstermesi yanında, aletler üzerinde korozyon oluşturması, hoş olmayan kokusu ve tek başına kullanıldığında smear tabakasını kaldıramaması gibi dezavantajları nedeniyle NaOCl'e alternatif bulmayı amaçlayan araştırmacılar, geniş antibakteriyel aktiviteye sahip irrigasyon solüsyonlarına yönelmişlerdir (Sabala ve Powell 1989, Hulsmann ve Hahn 2000, Torabinejad 2003).

Önemli avantajları olmasına rağmen yukarıda bahsedilen dezavantajları sebebiyle günümüzde halen NaOCl'e alternatif bir irrigasyon ajanı aranmaktadır.

### **1.3.2. Klorheksidin (CHX)**

CHX 1940'lı yıllarda antimalaryal bir ajan üzerinde çalışan bilim adamları tarafından elde edilmiş olan sentetik kemoterapötik bir ajandır ve o zamandan beri medikal alanlarda kullanılmaya başlanmıştır. Diş hekimliğinde daha çok CHX diglukonat halinde kullanılmaktadır. CHX, diş hekimliğinde hekimin el dezenfeksiyonunda ve operasyon alanının

ekstraoral temizliğinde kullanım alanı bulmuştur (Fardal ve Turnbull 1986, Schafer ve Bossmann 2001).

CHX antibakteriyel özelliği, toksik yan etkisi olmaması ve antiseptide etkin olması nedeniyle dermatoloji, üroloji ve jinekolojide de kullanılmaktadır (Çetin 1982).

Son yıllarda CHX'in endodonti pratiğinde kök kanal irrigasyon ajanı olarak kullanımı önerilmiş (Ferraz ve ark. 2001) ve endodontik enfeksiyonlardan sıklıkla izole edilen bakterilere karşı inhibitör etkisi olduğu gösterilmiştir (Cervone ve ark. 1990). pH'ı 5,5 ile 7 arasında değişen katyonik bir bisguaniddir. Aerop ve anaeroplarda dahil olmak üzere hem Gram (-) hem de Gram (+) bakterilere, bakteri sporlarına, lipofilik virüslere, dermatofitlere ve mantarlara karşı etkilidir (Jeansonne ve White 1994, White ve ark. 1997)

Bakterisit etkisi katyonik (pozitif yüklü) olmasından dolayı anyonik maddelere bağlanabilmesiyle oluşur. Düşük konsantrasyonları hücre membranı enzimlerini inhibe ederek, hücre zarı geçirgenliğini arttırır ve bu şekilde bakteristatik etki sağlar. Bu etkisi bakteriyostaz olarak adlandırılır. Yüksek konsantrasyonları ise sitoplazmik organellerin presipitasyonuna yol açarak bakterisit etki gösterir (Basrani ve ark. 2002).

CHX'i diğer antiseptiklerden ayıran en önemli özellik; hidroksilapatit, pelikül, tükürük glikoproteinleri ve müköz membranlara bağlanma yeteneğinin olmasıdır (Basrani ve ark. 2002). Organik ve inorganik olan bu dokulara bağlanan CHX yavaş salınım yaparak uzun süreli etki gösterebilmektedir (Leonardo ve ark. 1999).

Diş hekimliğinde kullanım alanları;

1. Gargara ve jel formu çürük profilaksisinde,
2. Cam iyonomer simanların içeriğinde,
3. Kavite dezenfeksiyonunda,
4. Ameliyatlarda hekimin el dezenfeksiyonunda ve operasyon alanının ekstraoral temizliğinde,

5. Endodontide medikament ve irrigasyon solüsyonu olarak sayılabilir.

Bir çalışmada ağız gargarası olarak kullanılan CHX'in, gargara sonrası yaklaşık %30'unun ağızda kaldığı ve 8-12 saat arasında yavaş salınım yaptığı ileri sürülmüştür. Aynı araştırmacılar, 24 saat sonra bile tükürükte rastladıkları CHX'in uzun süreli antibakteriyel etkisinin, yavaş salınım özelliği ile ilgili olduğunu açıklamışlardır (Bonesvoll ve ark. 1974).

CHX'in kanal içi medikament ve irrigasyon solüsyonu olarak kullanımının, çekilmiş dişlerin kök kanal florası üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada iki türlü kullanımda da CHX'in bakteri sayısında azalmaya sebep olduğu bulunmuştur (Delany ve ark. 1982).

%0,2 ve %2'lik CHX ve NaOCl ajanlarının eşit konsantrasyonlarının 100 µm derinliğindeki enfekte dentin tübüllerinde bulunan bakteri sayısını azaltmada eşit derecede etki gösterdikleri bulunmuştur (Vahdaty ve ark. 1993).

Çekilmiş dişler üzerinde yapılan bir in vitro çalışmada, %2'lik CHX ile %5,25'lik NaOCl'in antibakteriyel etkileri karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak önemli olmamakla birlikte CHX'in daha etkili olduğu iddia edilmiştir (Jeansonne ve White 1994). Yine başka bir çalışmada da %2'lik CHX'in *E. faecalis* üzerine antibakteriyel etkinliğinin %5,25'lik NaOCl'den daha üstün olduğu belirtilmiştir (Oncag ve ark. 2003).

Kök kanal dezenfeksiyonundaki etkinliğine rağmen CHX'in kök kanallarınının şekillendirilmesi esnasında esas kök kanal irrigasyon solüsyonu olarak kullanımı önerilmemektedir. (Naenni ve ark. 2004, Zehnder 2006). Bunun sebepleri şöyle sıralanabilir;

a) CHX nekrotik doku artıklarını çözememektedir (Naenni ve ark. 2004).



b) CHXin, Gram (-) bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkisi, Gram (+) bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkisinden daha azdır (Davies ve ark. 1954, Hennessey 1973, Emilson 1977,). Bununla birlikte, genellikle polimikrobiyal olan primer endodontik enfeksiyonlarda Gram(-) anaeroblar baskındır ve Enterekoklara nadiren rastlanılmaktadır. Laboratuvar deneylerindeki CHX'in Gram (+) bakterilere etkisi klinik yararının abartılmasına sebep olabilmektedir (Hamp ve Emilson 1973, Ringel ve ark. 1982, Siqueira ve ark. 2002b, Portenier ve ark. 2003).

Yapılan klinik bir çalışmada, kanal içindeki mikroorganizmaların redüksiyonunda, %2.5'lik NaOCl ile mi yoksa %0.2'lik CHX ile mi yapılan yıkama işleminin daha etkili olduğu araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda negatif kültürlerin elde edilmesinde NaOCl'in CHX'den anlamlı derecede daha etkili olduğu bulunmuştur. Fakültatif bakteriler için fark daha az önemliken, bu özellikle anaerobik bakteriler için geçerli bir durumdur. Bundan başka, hipokloritle kıyaslandığında, CHX ile elde edilen negatif kültürlerden pozitif kültürlere geçiş görülmüştür. Araştırmacılar, bu fenomeni CHX'in nekrotik doku artıklarını çözmemesine ve kanal sistemini temizleyememesine bağlamaktadırlar (Ringel ve ark. 1982).

CHX'in birçok avantajına rağmen dezavantajları da vardır. Bunlardan birisi dişleri, hareketli protezleri ve plastik restorasyonları kahverengiye boyamasıdır. Ayrıca CHX'in tat alma duyusunda değişikliğe neden olduğu bildirilmiştir. En belirgin olarak tatlı algılamada, sonra tuzlu ve asidik tatlarda, en azda acı algılamada hipojezi ve disjezi geliştiği görülmüştür (Fardal ve Turnbull 1986).

NaOCl ile CHX'in etkileşiminin araştırıldığı bir çalışmada iki ajan karıştırıldığında ortaya bir tortu çıktığı bulunmuş ve bu tortuya parakloroanilin adı verilmiştir. Bu tortunun toksik olduğu belirlenmiştir (Basrani ve ark. 2007).

CHX'in doku çözücü etkisinin olmaması, (Naenni ve ark. 2004) çalışmaları irrigasyon solüsyonu olarak kullanımından çok diğer

materyallerle kombine kullanımına yönlendirmiştir (Heling ve Chandler 1998).

İn vivo bir çalışmada NaOCl ve CHX glukonatin ayrı ayrı ve birlikte kullanıldıklarındaki antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte CHX'in NaOCl'den daha etkili olduğu, birlikte kullanıldıklarında ise antimikrobiyal etkinin belirgin şekilde arttığı bildirilmiştir (Kuruvilla ve Kamath 1998). Bu çalışmada NaOCl (%2.5) ile CHX'in (%0.2) birbiri ardı sıra kullanılması durumunda kök kanal mikrobiyal florasındaki bakterilerde %84.6 azalma tespit edilirken, sadece NaOCl ile %59.4 ve sadece CHX ile %70 azalma tespit edilmiştir.

Sığır serum albumininin kullanıldığı bir çalışmada organik bileşenlerin CHX, kalsiyum hidroksit ve iyodin potasyum iyodid'in antimikrobiyal etkilerini azalttığı gözlenmiştir (Portenier ve ark. 2001).

İn vitro bir araştırmada NaOCl'in farklı konsantrasyonları ile %2'lik CHX'in jel ve likit formunun kombinasyonlarının antibakteriyel etkinlikleri agar difüzyon testi ve direkt kontak test yöntemleri kullanılarak değerlendirilmiş ve denenen tüm kombinasyonların antibakteriyel etkinliğinin CHX'in tek olarak kullanımındaki antibakteriyel etkinliğinden daha başarılı olmadığı belirtilmiştir (Vianna ve Gomes 2009).

### **1.3.3.MTAD**

MTAD'nin içeriği doksisisiklin, sitrik asit ve yüzey aktif bir deterjan olan Tween-80 den oluşmaktadır ve pH'ı 2.15 civarındadır. Dentini dezenfekte ettiği ve smear tabakasını uzaklaştırdığı ileri sürülmüştür (Torabinejad ve ark. 2003a, Torabinejad ve ark. 2003b).

Yapılan in vitro bir çalışmada *E. faecalis*'e karşı MTAD'nin antimikrobiyal etkisi NaOCl ve EDTA ile karşılaştırılmış ve MTAD'nin daha etkili olduğu belirtilmiştir (Torabinejad ve ark. 2003c).

Başka çalışmada ise, %1.3 NaOCl ile MTAD'nin kombine kullanımının *E. faecalis*'e karşı NaOCl'in tek başına ve EDTA ile kombine kullanımlarından daha etkili olduğu belirtilmiş ve MTAD'nin %1.3 NaOCl'in ardından final irrigasyon solüsyonu olarak kullanımı önerilmiştir (Shabahang ve Torabinejad 2003).

MTAD ve Tetraclean gibi antibiyotik esaslı yeni jenerasyon endodontik irrigasyon materyallerinin antibakteriyel özelliklerinin değerlendirildiği bir çalışmada her iki solüsyonun *E. faecalis*'i elimine etmede %93-100 oranında başarılı olduğu belirtilmiş ve bunların bakterisidal etkilerinin hem içeriklerindeki antibiyotik komponentinden hem de formülasyonlarındaki diğer materyaller arasındaki sinerjik etkiden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (Ardizzoni ve ark. 2009).

Farklı konsantrasyonlardaki NaOCl, MTAD ve %2'lik CHX'in apikal dentin biyofilmi üzerine etkinliklerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, %3 ve %6'lık NaOCl solüsyonlarının biyofilm tabakasını parçalayabildiği, %2'lik CHX solüsyonunun etki edemediği, %1'lik NaOCl ve MTAD kombinasyonunun ise biyofilm tabakasını parçaladığı ancak mikroorganizmaları elimine edemediği gösterilmiştir (Clegg ve ark. 2006).

Çeşitli çalışmalarda MTAD'nin smear tabakasını etkili şekilde uzaklaştırma potansiyeline sahip olduğu belirtilmiştir (Beltz ve ark. 2003, Shabahang ve Torabinejad 2003, Torabinejad ve ark. 2003b, Torabinejad ve ark. 2003c, Mozayeni ve ark. 2009).

Nekrotik sıgır pulpa ve dentinin kullanıldığı bir çalışmada, doku örnekleri MTAD, NaOCl'in üç farklı konsantrasyonu ve %17'lik EDTA ile 2'şer saat bekletilmiş ve NaOCl'in dentinin tüm organik materyalini çözebildiği, EDTA'nın dentindeki inorganik materyali, pulpa ve dentinde bir miktarda organik madde çözebildiği, MTAD'nin ise EDTA ile benzer sonuçlar verdiği gösterilmiştir (Beltz ve ark. 2003).

MTAD'nin smear tabakasını uzaklaştırmadaki etkisini incelemek için yapılan başka bir çalışmada final irrigasyon solüsyonu olarak %17'lik

EDTA ile MTAD karşılaştırılmış, SEM ile yapılan incelemeler sonunda MTAD'nin %17'lik EDTA'dan apikal uçluda daha etkili olduğu gözlenmiştir (Mozayeni ve ark. 2009).

Kök kanallarının koronal, orta ve apikal bölümlerinin SEM ile incelendiği bir çalışmada, MTAD'nin intrakanal irrigasyon solüsyonu olarak kullanımında smear tabakasının büyük bir kısmını kaldırabildiği ancak smear tabakasının bazı organik parçalarının kök kanal duvarlarına yapışmış olarak kaldığı gösterilmiş, kanalın NaOCl ile irrigasyonunun final irrigasyon solüsyonu olarak kullanılacak olan MTAD'nin etkisini arttıracığı belirtilmiştir (Torabinejad ve ark. 2003b).

MTAD'nin final irrigasyon solüsyonu olarak etkisinin SEM ile değerlendirilmesi sonucunda koronal, orta ve apikal kök yüzeylerinde MTAD'nin smear tabakasını etkili bir şekilde kaldırabildiği gösterilmiştir (Torabinejad ve ark. 2003c).

MTAD'nin, avantajları; smear tabakasını kaldırabilme, inatçı bir mikroorganizma olan *E. faecalis*'i elimine edebilme, içerdiği doksisisiklinden dolayı sert dokulara bağlanabilme olarak sıralanabilir.

Dezavantajları ise piyasada kolay bulunamama, nispeten pahalı olma, solüsyon hazırlandıktan sonra 48 saat içinde tüketilme gereksinimi, ışık ile temas neticesinde dişte renklenmeye sebep olma ve *C. albicans* üzerine zayıf etki göstermesi olarak sayılabilir (Tay ve ark. 2006).

#### **1.3.4. Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (EDTA)**

EDTA dekalsifiye edici bir şelasyon ajanıdır. Şelasyon ajanları dentindeki kalsiyum iyonlarını bağlayarak şelat tuzlarını oluştururlar (Screenby ve Nikiforuk 1951). Endodontide EDTA kullanımı ilk kez 1957 yılında Nygaard-Ostby (1957) tarafından önerilmiştir.

EDTA iki temel reaksiyon prensibi ile çalışır. Birincisi kalsiyum iyonları ile bağlanarak hidrojen açığa çıkarmasıdır ve demineralize edici etkisini bu şekilde gösterir. İkincisi ortaya çıkan hidrojenin EDTA ile

tepkimeye girerek kalsiyum bağlama yeteneğini azaltmasıdır (Calvo Perez ve ark. 1989).

- 1)  $\text{EDTAH}^{-3} + \text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{EDTACa}^{-2} + \text{H}^{+}$
- 2)  $\text{EDTAH}^{-3} + \text{H}^{+} \rightarrow \text{EDTAH}_2^{-2}$

Mineral içeriği temel olarak fosfat ve kalsiyumdan oluşan ve lipofobik olan dentinin mineralleri suya karışabilmektedir. EDTA'nın disodyum tuzu kalsiyum iyonlarıyla reaksiyona girer ve dentinden daha fazla mineral çözünmesine sebep olur. Dekalsifikasyon bu şekilde oluşur (Pawlicka ve ark. 1981). Kalsiyum ile reaksiyona giren EDTA kararlı bir kompleks oluşturur. Serbest iyonların tümü bağlandığında daha fazla çözünme meydana gelmez. Ayrıca reaksiyon sonucu ortaya çıkan asit salınımı ortamın pH'nın düşmesine sebep olur. Düşen pH EDTA'nın protonlanmasına sebep olur ve EDTA'nın etkisi azalırken aynı zamanda hidroksilapatitlerin etkilenmesiyle dentin çözünürlüğü de düşer böylece demineralizasyon azalır (Seidberg ve Schilder 1974).

5 dakika sonunda 20-30 µm derinliğinde bir demineralizasyon izlenirken, uzun çalışma sürelerinde bu derinliğin 50µm'yi geçmediğinin gözlenmesi kendisini sınırlayan bir etkisi olduğu düşüncesini desteklemektedir (Nygaard-Ostby 1957).

Kök kanal şekillendirmesi sırasında kanal duvarlarında 1-5 µm kalınlığında bir smear tabakası oluşmaktadır (Goldman ve ark. 1981, Mader ve ark. 1984).

Hem inorganik hem de organik bileşenleri olan smear tabakası sağlam dentin, predentin, pulpa artıkları, odontoblast uzantıları, irrigasyon ajanlarının artıkları ve bakterilerden oluşmakta ve dentin tübüllerine invaze olabilmektedir (McComb ve Smith 1975, Mader ve ark. 1984, Sen ve ark. 1995a, Torabinejad ve ark. 2002).

Dentin tübüllerinde 6 ile 40 µm derinliğe kadar ilerleyebilen (Mader ve ark. 1984) bu tabakanın içinde var olan bakteriler çoğalmaya devam ederler (Yamada ve ark. 1983, Brannstrom 1984). Ayrıca kanala uygulanan

medikamentlerin dentin tübülleri içerisine antimikrobiyal etkileri smear tabakası tarafından engellenebilir veya geciktirilebilir (Goldberg ve Abramovich 1977, Wayman ve ark. 1979, Yamada ve ark. 1983, Brannstrom 1984).

Günümüzde en yaygın kullanılan irrigasyon solüsyonu NaOCl'tir. Ancak inorganik dentin parçalarını  ozememesi sebebiyle kök kanalının şekillendirilmesi sırasında oluşan smear tabakasını tek başına ortadan kaldıramamaktadır (Lester ve Boyde 1977) ve smear tabakasının tamamen uzaklaştırılması için asit veya Őelat rlerin kullanılması gereklidir (Yamada ve ark. 1983, Kockapan 1987).

Çok sayıda  alıŐma NaOCl'i takiben %17'lik EDTA solüsyonu ile yapılan irrigasyonun kök kanal duvarlarını smeardan temizleyebildiğini göstermiştir (McComb ve Smith 1975, Goldman ve ark. 1981, Hottel ve ark. 1999, Calt ve Serper 2000, Scelza ve ark. 2000).

Kök kanallarının SEM ile incelendiği bir çalışmada enstrumentasyon sonrası duvarlarda oluşan smear tabakasının temizlenmesinde birçok irrigasyon solüsyonunun sudan daha etkili olamadığı, EDTA kullanılan kanallarda ise temiz yüzeyler elde edilebildiği belirtilmiştir (McComb ve Smith 1975).

EDTA'in smear tabakasını kaldırmadaki etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada örnekler üç farklı EDTA karıŐımıyla irrigate edilmiş SEM ile incelenen yüzeylerin tamamen temizlenmiŐ olduğu gözlenmiştir (Aktener ve Bilkay 1993).

EDTA'in sınırlı da olsa belirli bir antibakteriyel aktivitesi vardır (Patterson 1963). EDTA'in antibakteriyel etkisi bakteri ile uzun süre direkt temas sağlandığında meydana gelmektedir ve antibakteriyel etkinin bakterilerin hücre duvarındaki katyonların Őelasyonu sonucu gerçekleştiği düşünülmektedir (Haapasalo ve ark. 2005).

1995 yılında yapılan bir çalışmada %15'lik EDTA solüsyonunun ultrasoniklerle birlikte kullanımı değerlendirilmiş ve kanal içi dezenfektan

kullanılmayan 129 kanalın 93'ünde bir hafta sonrasında bakteri üremesi gözlenmemiştir. Bu çalışma sonucunda bir kanaldan negatif kültürün ancak smear tabakası tamamen ortadan kaldırıldığında elde edilebileceği bildirilmiştir (Yoshida ve ark. 1995).

%17'lik EDTA'in antibakteriyel ve tübüler dezenfeksiyon etkilerinin incelendiği bir çalışmada bakteri sayısının 5 dk'lık NaOCl inkübasyonu sonrasında azaldığı ancak EDTA kullanımının anlamlı bir antimikrobiyal etki oluşturmadığı gösterilmiştir (Orstavik ve Haapasalo 1990) .

%3,5'lik NaOCl ve 0,5'lik EDTA ile irrigasyon sonrasında kanal duvarlarına yapışabilen *P. nigrescens*'in sayısında EDTA kullanılmayan kanallara oranla anlamlı derecede daha fazla azalma saptanmıştır (Yang ve Bae 2002).

%17'lik EDTA kullanılan ve kullanılmayan kanallarda *C. albicans* biyofilmleri üzerine smear tabakası varlığında %5'lik NaOCl ve %0,12'lik CHX eşit antifungal etkinlik sergilerken, smear tabakası uzaklaştırılan kanallarda ise %5'lik NaOCl daha kısa sürede etki göstermiştir (Caliskan 2004).

%17'lik EDTA ve %5'lik NaOCl'in kombine kullanımının NaOCl'in tek başına kullanımından daha iyi antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir (Bystrom ve Sundqvist 1985). EDTA'in NaOCl solüsyonu ile kombine kullanılması çeşitli araştırmacılar tarafından önerilmiştir (Bystrom ve Sundqvist 1985, Zehnder 2006).

Endodontide tüm bu ajanlar çok uzun zamandan beri kullanılmasına rağmen alternatif ajanların aranmasına devam edilmektedir.

#### **1.4.Bitkisel Ekstraktların İrrigasyon Ajanı Olarak Kullanılması**

Çok eski zamanlardan beri insanların, hastalıkları iyileştirmek için bitkileri kullandıkları bilinmektedir. Günümüzde de çeşitli hastalıkların tedavisinde bitkiler veya onlardan elde edilen ilaçların kullanımı söz konusudur (Arıkan 1992).

Binlerce yıldır yemeklere tat ve koku katmaları amacıyla kullanılan (Tiwari ve ark. 2009) çeşitli baharat ve bitkilerin antimikrobiyal etkilerinin olduğu da bilinmektedir (Salie ve ark. 1996). Ancak etki mekanizmaları tam olarak açıklanamamaktadır (Dorman ve Deans 2000). 19. Yüzyılın sonlarından itibaren yapılan bazı çalışmalar doğal olarak yetişen bazı bitki ve baharatların antimikrobiyal ve antifungal etkilerinin olduğunu belgelemiştir (Elegami ve ark. 2001, Sokovic ve ark. 2002, Singh ve ark. 2008).

Günümüzde de bitkisel antimikrobiyal ajanlara karşı büyük bir ilgi duyulmaktadır. Son yıllarda antibiyotiklere dirençli enfeksiyon riskinin artmış olması doğal antimikrobiyal maddelerin ilgi odağı haline gelmesine sebep olmuştur. Çeşitli yayınlarla bazı bitki ekstraktlarının antimikrobiyal özelliklerinin olduğu da gösterilmiştir (Rios ve ark. 1988, Cowan 1999, Cos ve ark. 2002).

Enfeksiyonlara sebep olan bakterilerin eliminasyonunda bitkisel ajanların kullanımını inceleyen çalışmaların yeni ilaçların geliştirilmesine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir (Cowan 1999).

Özellikle son yıllarda biberiye, okaliptüs ve karanfil bitkilerinin antimikrobiyal özellikleri ile ilgili literatürde yayınlanmış birçok yayın mevcuttur.

#### **1.4.1.Biberiye**

Biberiye yöresel olarak rosmarin, kuşdili, pürem ve süpürge çalısı isimleriyle anılmaktadır ve Lamiaceae familyasına aittir. Rosmarinus Latince kökenli 'denizin nemi' anlamına gelen bir kelimedir. Deniz iklimini sevmesi ve deniz kenarlarında çok bulunmasından dolayı bu şekilde anılmaktadır (Sasikumar 2004).

Her mevsim yeşil kalabilen bir bitkidir. Kökleri çok dallanan bu bitkinin boyu en fazla 200 cm'ye ulaşabilir (Ceylan 1996). Akdeniz ülkelerinde kendiliğinden yetişen veya kolayca kültürü yapılan aromatik bir bitkidir. Yapısındaki uçucu yağdan kaynaklanan hoşça giden aromasından



dolayı, özellikle Avrupa ve Kuzey Amerika ülkelerinde yaygın olarak kullanılan baharatlardan birisidir. Kozmetik endüstrisinde kolonya, losyon ve şampuan yapımında da kullanılmaktadır. (Banyai ve ark. 2003).

Biberiye son yıllarda doğal bir gıda koruyucusu olarak da kullanılmaktadır (Nassu ve ark. 2003) ve esansiyel yağının ana bileşenleri 1,8-cineole,  $\alpha$ -pinene, camphor, camphene, borneol, piperitone, linaloldur (Fu ve ark. 2007). Biberiye ekstresinin etken bileşenlerinin ise %0.3 karnosol, karnosik asit, rosmaridifenol, rosmariquinon ve %3 rosmarinik asit olduğu saptanmıştır (Yanishlieva ve ark. 2006). İçerdiği flavonoidler ile gaz giderici, uçucu yağı ile antidepresan, diterpenler ile de antimikrobiyal etkilere sahip olduğu bildirilmektedir (Sasikumar 2004).

Antimikrobiyal ve antifungal özellikleri olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Pandit ve Shelef 1994, Baratta ve ark. 1998, Oluwatuyi ve ark. 2004, Celiktas ve ark. 2007, El-Massry ve ark. 2008, Genena ve ark. 2008, Moghtader ve Afzali 2009).

Biberiye ekstraktının antimikrobiyal ve antioksidan etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada Gram (-) bakterilere Gram (+) bakterilerden daha fazla etki etmekle beraber test edilen tüm mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkisi olduğu gösterilmiştir (Klančnik ve ark. 2009a).

Biberiye ve karanfil esansiyel yağlarının birlikte ve ayrı ayrı kullanımlarında *S. epidermidis*, *E. coli* ve *C. albicans* suşlarına karşı antimikrobiyal etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada, her iki esansiyel yağında geniş spektrumlu antimikrobiyal ve antifungal etki gösterdiği bildirilmiştir (Fu ve ark. 2007).

Bozin ve ark. (2007) biberiye ve adaçayının 13 bakteri ve 6 mantar türü üzerindeki etkilerini incelemişler biberiyenin yüksek oranda antifungal ve *E. coli*, *S. typhi*, *S. enteritidis* ve *S. sonnei* türleri üzerine antimikrobiyal etkileri olduğu gösterilmiştir.

Çeşitli bitki esansiyel yağlarının *Arcobacter* türü mikroorganizmalara karşı inhibitör etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada biberiyenin bu

türün çoğalmasını tamamen inhibe edebildiği gösterilmiştir (Irkin ve ark. 2011).

#### 1.4.2. Okaliptüs

Myrtaceae familyasına ait olan Okaliptüs cinsi yaz kış yapraklarını dökmeyen aromatik bir bitkidir. Tomurcuklarının içinde küçük yarı şeffaf bezlere sarılı keskin kokulu bir yağ içerir. Meyvası odun kaplıdır (British Pharmacopeia 1988). Yağmur ormanları, kutuplar ve çöl kumu dışında her türlü yerde barınabilirler ve hızlı büyürler. Hızlı büyüdükleri için güneş enerjisinden en iyi yararlanacak şekilde karşılıklı yuvarlak büyük yapraklar geliştirirler. Büyüdükçe artan yaprak sayısı su kaybını da artırır, bu kaybı dengelemek için yapraklar çapraz dizilerek uzun şekil alırlar (Akyılmaz ve ar. 1979).

Genel olarak Avustralya ve yakınlarındaki adaların asli ağacıdır. Dünyada 4 milyon hektar Okaliptus üretim alanı vardır. Ülkemizde de okaliptüs ile ağaçlandırılmış 14 bin hektar alan bulunmaktadır.

Okaliptüs bitkisinin kabukları, meyvesi ve yaprakları halk arasında antienflamatuar ve antimikrobiyal etkileri için kullanılmıştır. Okaliptüs'ün içerdiği 1,8-cinole'un antiseptik, analjezik, antienflamatuar ve antibakteriyel etkileri olduğu gösterilmiştir (Tsiri ve ark. 2003, Ghalem ve Mohamed 2008).

Bir çalışmada okaliptüs, biberiye ve havlıcan bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkileri ve sinerjistik etki oluşturup oluşturmadıkları araştırılmış, havlıcanın hem biberiye hem de okaliptüs ile sinerjistik etkisi olduğu bulunmuştur. Bu çalışmanın sonucunda bu üç bitkininde antimikrobiyal etki gösteren bileşenleri olduğu ve kombinasyonlar halinde daha etkili hale geldikleri görülmüştür (Weerakkody ve ark. 2011).

Okaliptüsün esansiyel yağlarının kimyasal içeriği ile antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada *S. aureus* ve *E. coli* dışında test edilen tüm mikroorganizmalara karşı antibakteriyel etki gösterdiği gözlenmiştir (Ben Marzoug ve ark. 2010).

Karanfil ve okaliptüsü de içeren 30 farklı bitkinin ekstraktlarının candida biyofilmlerine karşı etkilerinin değerlendirildiği başka bir çalışmada, okaliptüsün %80.87, nanenin %74.16, zencefilin %40.46 ve karanfilin %28.57 oranlarında biyofilm eliminasyonu sağladığı görülmüştür (Agarwal ve ark. 2008).

Okaliptüs ve nane esansiyel yağlarının biyofilm oluşturan *S.Mutans* ve *S.Pyogenes* üzerine antimikrobiyal etkilerini değerlendiren bir çalışmada her iki esansiyel yağında biyofilm oluşumunu etkileyerek yavaşlattığı gösterilmiştir (Rasooli ve ark. 2008).

Başka bir çalışmada da okaliptüs bitkisinin dört farklı çeşidinin gram (+) ve (-) ikişer bakteri türüne, iki maya ve iki mantar türüne karşı antimikrobiyal etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Naceur ve ark. 2010).

### **1.4.3. Karanfil**

Karanfil dört mevsim yeşil kalabilen ve 8-12 m uzunluğa erişebilen bir bitkidir. Anavatanı Endonezyadır. Tomurcuklarının şeklinden dolayı adı Fransızcada çivi anlamına gelen clou kelimesinden gelir. Çiçek tohumları başlangıçta soluk renklidir ve dereceli olarak yeşile dönüşürler. Karanfiller boy uzunluğu 1.5-2 cm iken hasat edilirler. Karanfil ağacının tomurcuklarından elde edilen baharat, odunumsu, siyah renkli ve güzel kokuludur.

Karanfil yemeklerde sık kullanılan bir baharattır. Halk arasında diş ağrıları, böcek ısırıkları, gastroenterit ve intestinal parazitler içinde kullanılmıştır. Diş hekimliğinde yatıştırıcı olarak ve siman materyali olarakta kullanılmaktadır (Markowitz ve ark. 1992). Karanfilin esansiyel yağının antimikrobiyal aktivitesi olduğu rapor edilmiş (Yano ve ark. 2006) ve majör antimikrobiyal komponentinin öjenol olduğu bildirilmiştir (Bullarman ve ark. 1977).

Karanfil ve biberiye esansiyel yağlarının üçer ayrı gram (-) ve gram (+) bakteri türü ve iki mantara karşı antimikrobiyal etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada, her iki ajanında test edilen tüm

mikroorganizmalara karşı önemli antimikrobiyal etkiler gösterdiği görülmüştür (Fu ve ark. 2007).

Karanfil, su ile elde edilen ekstraktının *S. aureus*, *S. typhimurium*, *E. coli*, *S. epidermidis*, *L. plantarum* ve *P. vulgaris* türlerine karşı antimikrobiyal etkileri değerlendirildiğinde, test edilen tüm mikroorganizmalara karşı iyi bir inhibitör etki göstermiştir (Puangpronpitag ve ark. 2008).

On farklı baharattan elde edilen uçucu yağların farklı *E. coli* (O157:H7) suşlarına karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktivitenin test edilmesi sonucunda karanfil yağı en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi göstermiştir (Roura ve ark. 2005).

Dorman ve Deans (2000) karanfilinde dahil olduğu çeşitli bitkisel yağların antibakteriyel etkilerini incelemişler ve bunun sonucunda test edilen 25 mikroorganizmanın tümüne karşı antibakteriyel etki tespit etmişlerdir.

Tarçın, karanfil, yenibahar, biberiye, karabiber, mercanköşk, sarımsak ve kimyon uçucu yağlarının farklı dilüsyonlarının 2 adet Gram (-) ve 4 adet Gram (+) bakteri üzerine antibakteriyel etkileri değerlendirildiğinde kullanılan tüm baharat uçucu yağlarının antibakteriyel etki gösterdiği, karanfil, tarçın, yenibahar ve biberiyenin diğerlerine göre daha etkili olduğu gösterilmiştir (Ouattara ve ark. 1997).

İçlerinde karanfil, okaliptüs ve biberiyeninde bulunduğu 21 çeşit bitkinin esansiyel yağlarının antibakteriyel etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada bu bitkilerin esansiyel yağlarının 4 Gram (-) ve 2 Gram (+) bakteriye karşı antibakteriyel etki gösterdikleri belirlenmiştir (Prabuseenivasan ve ark. 2006).

Karanfil ve tarçın ekstraktlarının 21 farklı patojene karşı antibakteriyel etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada ekstraktların her ikisinin de test edilen tüm mikroorganizmalara karşı antibakteriyel etki gösterdikleri gözlenmiştir (Hoque ve ark. 2008).

Çeşitli bitkisel esansiyel yağların antimikrobiyal etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada karanfilin 3 patojene kaşı etki gösterdiği belirtilmiştir (Du ve ark. 2009).

Yapılan çok sayıda çalışmalarda biberiye, okaliptüs ve karanfil bitki esansiyel yağ ve ekstraktlarının antibakteriyel etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Genena ve ark. 2008, Ghalem ve Mohamed 2008). Ancak bu ajanların endodontik tedavide irrigasyon ajanı olarak kullanımı ile ilgili yapılmış bir çalışma yoktur.

Endodontide potansiyel kullanımı söz konusu olabilecek bitki ekstraktlarının antibakteriyel etkilerinin değerlendirilmesi için kullanılan çeşitli test metotları vardır.

### **1.5. Antibakteriyel Duyarlılık Testleri**

Antimikrobiyal duyarlılık testleri, bir antimikrobiyal ajanın belli bir bakteri türüne karşı in-vitro etkinliğini saptamak amacıyla uygulanan testlerdir. Antibiyotik duyarlılık testlerinde “difüzyon” ve “dilüsyon” olmak üzere başlıca iki metod kullanılır.

#### **1.5.1. Disk difüzyon testi**

Rutin laboratuvarlarda antibiyotik duyarlılığının saptanmasında en sık olarak kullanılan yöntem disk difüzyon testleridir. Kirby, Bauer, Sherris ve Truck gibi isimler tarafından 1966’da geliştirilmiştir (Bauer 1966). Bu test, kağıt disklere emdirilen antibiyotiğin, duyarlılığı araştırılan organizmanın inoküle edildiği besiyerine difüze olması temeline dayanmaktadır. Belirli konsantrasyonlarda antibiyotik ajan emdirilmiş kağıt diskler, test edilecek olan mikroorganizmanın inoküle edildiği katı besiyerlerine yerleştirilir. Diskler bir süre sonra çözünüp agara doğru difüze olurken, inoküle edilen mikroorganizma da çoğalmaya başlar. Belirli bir inkübasyon süresi sonrasında yapılan gözlemlerde antibiyotik ajanın inhibitör konsantrasyonlarının sağlandığı diskin çevresinde üreme görülmez. Mikroorganizma ilaca ne kadar duyarlı ise, diskin etrafında oluşan inhibisyon zonu o kadar geniş olacaktır. İnhibisyon zonunun çapı mm

şeklinde ölçülerek, standart zon tablolarına göre değerlendirmeler yapılır ve mikroorganizmanın kullanılan antimikrobik ajanlara karşı duyarlılık durumu belirlenir (Baron ve ark. 1994).

#### **1.5.1.1. E-test**

Günümüzde katı agar besiyerinde disk difüzyon tekniği ile minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinin saptanmasına olanak sağlayan yöntemler de tarif edilmiştir. MİK bir mikroorganizmanın üremesini önleyen en düşük ilaç konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır. Bu yöntemde antimikrobiyal ajan içeren, tek tarafında bir skala yer alan plastik şeritler kullanılır, test edilecek bakteri 0.5 McFarland yoğunluğa getirilip Mueller Hinton agar yüzeyine steril bir eküvyonla yayılır. Plastik şeritler antibiyotikli kısım alta gelecek şekilde önceden test edilecek mikroorganizmaların ekildiği agara yerleştirilir. Şeritlerin etrafında elips şeklinde bir inhibisyon zonu oluşur. Bu zonun skalada denk geldiği noktaya göre MİK hesaplaması yapılır (Baker ve ark. 1991, Citron ve ark. 1991, Jorgensen ve ark. 1991, Sanchez ve ark. 1992).

#### **1.5.2. Agar dilüsyon**

Dilüsyon testleri, bir antimikrobiyal ajanın bir mikroorganizmanın üremesini inhibe etmek veya öldürmek için gerekli olan minimum konsantrasyonunu belirlemek için uygulanır.

Bu metotta test edilecek her bir konsantrasyon farklı bir pleyte agarla karıştırılarak yerleştirilir. Böylece her plakta antibiyotiğin farklı konsantrasyonları bulunur. Test edilecek bakterinin yoğunluğu 0.5 McFarland bulanıklığa ayarlanır. Bu bakteri süspansiyonundan manuel olarak veya özel inokülatörler yardımıyla 1 ml inoküle edilir. Böylelikle agar yüzeyindeki bakteri sayısı ortalama  $10^4$  CFU/ml olur. İnoküle edilen plaklar 35°C 'de 18-24 saat süreyle inkübe edilir. MİK değeri üremenin engellendiği en düşük antibiyotik konsantrasyonudur. Maliyeti yüksek ve uygulaması zor olmakla birlikte oldukça iyi ve güvenilir bir test yöntemidir (Baron ve ark. 1994).

Belirlenen MİK değerleri kullanılarak yapılan deneylerde, deneyin sonuçlarının karşılaştırılabilir olması ve istatistiksel değerlendirme yapılabilmesi için örneklerden elde edilen mikrop sayılarının nicel olarak hesaplanması gerekmektedir. Bunun için çeşitli yöntemler kullanılır.

### **1.6. Mikrobiyolojik Sayım Yöntemleri**

Enfekte edilmiş ve antibakteriyel materyal ile muamele görmüş dişten mikrobiyolojik örnekler toplanır ve mikrobiyolojik sayıma başlanır. Örneklerin toplanması ya enfekte dentin talaşı örneğinin (Tanrıverdi ve ark. 1997) ya da steril kağıt konuların kanal içerisine yerleştirilerek kanal içeriğinin emdirilmesi ile yapılır (Jeanson ve White 1994, Aydın 2007, Ercan ve ark. 2004). Kök kanalından alınan bakteri örnekleri uygun besiyerlerine transfer edilerek kullanılan bakteri türüne en uygun ortamda inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonucunda üreyen bakterilerin sayı veya yoğunlukları çeşitli mikrobiyolojik teknikler kullanılarak belirlenir.

Sıvı bir besiyerinde bakterilerin sayılarının ölçülmesi çeşitli yollarla yapılmaktadır. Bunlar direkt sayma yöntemi ya da dolaylı yöntemlerdir.

#### **1.6.1. Direkt Mikroskop Sayımı**

Bu yöntemle özel bir mikroskop lamı olan Petroff-Hausser hücre sayma lamı kullanılarak belirli bir hacimdeki bakteri hücreleri mikroskop ile sayılır ve elde edilen miktar ile tüm örnekteki bakteri sayısı hesaplanır. Bu yöntemin prosedürleri ile canlı ya da cansız ayırt edilmeden tüm bakteri hücreleri sayılmaktadır, en büyük dezavantajı budur. Alternatif olarak belirli bir hacimdeki bakteri süspansiyonu bir filtreden geçirilerek filtre üzerinde kalan bakterilerin boyanması ve mikroskopta sayılması metotunda kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemde de yine canlı ve ölü bakteriler ayırt edilememektedir. Başka bir yöntemde ise 'Coulter counter' adı verilen elektronik bir partikül sayıcı kullanılır. Diğerlerine göre daha hızlı bir metottur (Baron ve ark. 1994).

### 1.6.2. İndirekt Yöntemlerle bakteri sayısının tespit edilmesi

Bakteriler sıvı besi yerlerinde üredikleri zaman belirli bir bulanıklık meydana getirirler. Bu sıvı ortamdaki geçen ışın demeti bakteri partiküllerine çarparak dağılır ve süspansiyonun içinden geçen ışık miktarı azalır. Bir sıvıdaki bulanıklığı içinden geçen ışın miktarı ile ölçmek için kullanılan aletlere spektrofotometre denir. İçinde hiç bakteri bulunmayan bir sıvının içinden geçen ışık miktarı ölçüldükten sonra bakteri bulunduran sıvıdan aynı ışık geçirildiğinde bakterilerin ışığın bir kısmını absorbe ettiği görülmektedir. İlk ölçülen ışık değeri ile bakteri ihtiva eden sıvıdan elde edilen ışık değeri karşılaştırılarak sıvıda bulunan hücre miktarı tahmini olarak hesaplanabilmektedir. Ancak bu yöntem sadece bir ml'de 10-100 milyon bakteri bulunan sıvıları inceleyebilmektedir. İçerisinde daha az bakteri bulunduran sıvılardaki absorbe edilen ışık miktarı tespit edilemediği için bu yöntemin uygulanması mümkün olmamaktadır (Baron ve ark. 1994).

Sıvı besiyerlerinde çeşitli teknikler ile belirlenen bakteri üremesi düzenli bir artış göstermez. Ortalama bir inkübasyon sürecindeki bakteri üremesi latent, logaritmik, durağan ve ölüm fazları olmak üzere dört periyot gösterir. Latent fazda bakteriler yeni girmiş oldukları ortama alışma süreci geçirirler ve bir süre çoğalma göstermezler. Logaritmik fazda kültür edilen bakteriler maksimum hızla bölünmeye başlarlar. Durağan fazda bakteri sayısında artış durmuştur, bu fazda çoğalan ve ölen bakteri sayıları eşitlenir. Ölüm fazında ise yeni bir kültür ortamına geçirilmedikleri sürece bakteri hücreleri ölmeye başlarlar (Arda 2000).

Bu çalışmadaki amacımız endodontide aktif olarak kullanılan irrigasyon solüsyonları ile bazı bitkisel ekstraktların *E. faecalis* ve *C. albicans* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkinliklerinin değerlendirilmesidir.



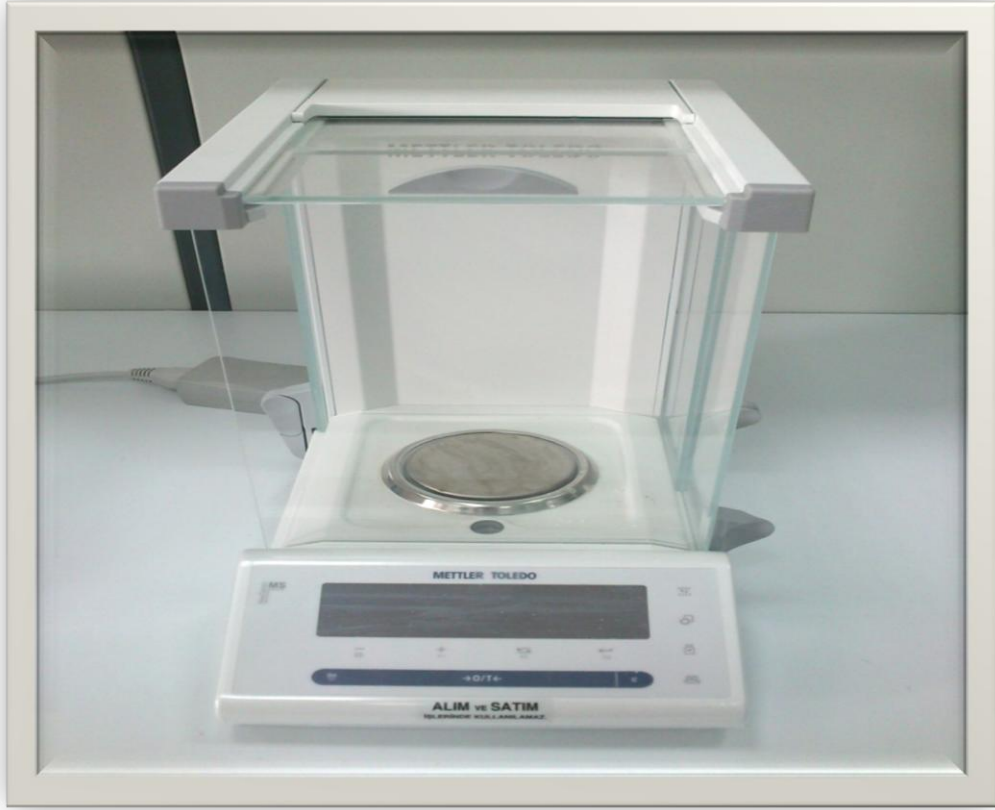
## 2.GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada yerel bir baharatçıdan temin edilen kurutulmuş biberiye, okaliptüs ve karanfil bitkileri kullanıldı. Bu bitkiler önce havanda dövülerek toz haline getirildi (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Bitkilerin toz haline getirilmesi için kullanılan havan

Bir hassas kantar (Mettler-Toledo XP205 Excellence, Inc, Columbus, USA) yardımıyla 40 mg'lık parçalara ayrıldı (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Bitkilerin tartılması için kullanılan hassas kantar

Hazırlanan 40 mg'lık bitki örneklerinin her biri ayrı ayrı süzgeç kağıtlarına yerleştirildi (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Çalışmada kullanılan süzgeç kağıtları

Toz haline getirildikten sonra tartılan bitkilerden ekstrakt elde edilmesi için bir ekstraksiyon makinası (Extraction Unit B-811 Standard, Buchi, Flawil, Switzerland) kullanıldı (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Ekstraktların hazırlandığı cihaz

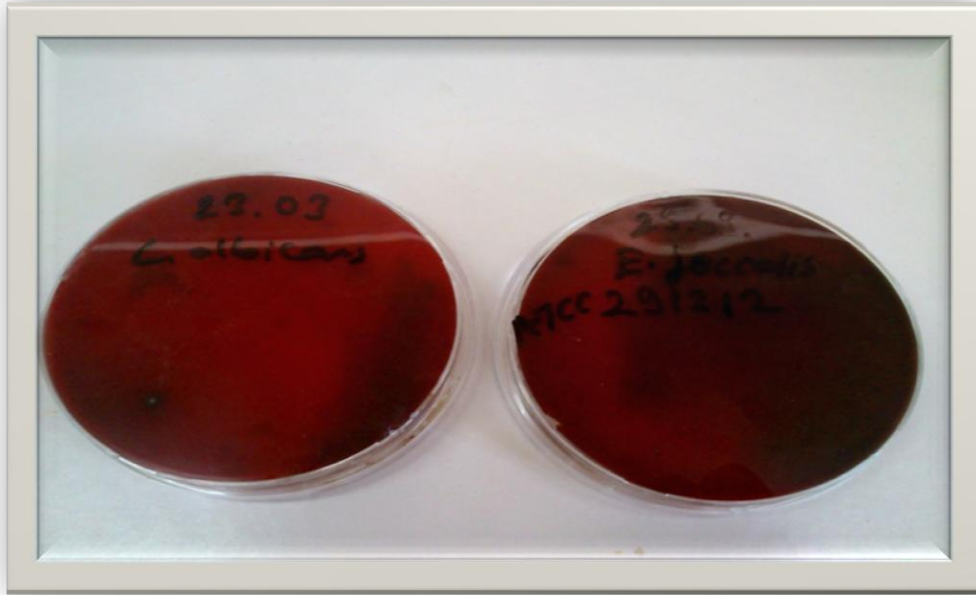
Ekstraksiyon işlemi sırasında çözücü olarak saf su kullanıldı. Her bir süzgeç kağıdının yerleştirildiği bölmeler 100 ml'ye tamamlanıncaya kadar saf su ile dolduruldu.

Saf suyun buharlaşabileceği şekilde sıcaklık ayarı ve döngüsü ayarlanan makinada döngüler sonlanıncaya kadar ekstraksiyon yapılarak bitkilerin ekstraktları (Şekil 2.5) elde edildi.



Şekil 2.5. Elde edilen ekstraktlar

Çalışmada kullanılan *E. faecalis* (ATCC 29212) ve *C. albicans* (MTCC 227) mikroorganizmaları Ankara Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsü'nden (Ankara, Türkiye) temin edildi. *E. faecalis* ve *C. albicans* suşları %5 defibrine kanlı besiyerinde sırasıyla 24 ve 48 saat süreyle inkübe edilerek taze kültürler elde edildi (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Taze kültürlerin elde edilmesi için kullanılan kanlı agar besiyerleri

Dişlere mikrobiyal ekim yapılmadan önce antimikrobiyal aktiviteleri test edilecek bitki ekstraktlarının MİK'larını belirlemek amacıyla Agar dilüsyon yöntemi kullanıldı.

Bu yöntemde antimikrobiyal özellikleri araştırılan biberiye, karanfil ve okaliptus ekstraktlarının çeşitli dilüsyonları *E. faecalis* için Mueller Hinton Agar ve *C. albicans* için Sabouraud Dextrose Agar içinde hazırlandı. Önceden steril edilen besiyerleri 50 °C'ye soğutulurak değişik dilüsyonlarda ekstraktlarla karıştırılarak petrilere döküldü (Şekil 2.7).

Kullanılan ekstrakt dilüsyonları 0,00312 ile 0,2mg/ml aralığında 2 katlı sulandırıldı.

Her bir ekstrakt grubu için petrilerdeki konsantrasyonlarımız

- 1) 0,2 mg/ml
- 2) 0,1 mg/ml
- 3) 0,05 mg/ml
- 4) 0,0.25 mg/ml
- 5) 0,0125mg/ml
- 6) 0,00625mg/ml
- 7) 0,00312mg/ml olacak şekilde ayarlandı.



Şekil 2.7. Agar dilüsyonda kullanılmak için hazırlanmış bir besiyeri

Bir dansitometre (Şekil 2.8) (Grant Instruments DEN-1 Compact Benchtop Densitometer, Cambridge, England) yardımıyla 0.5 McFarland bulanıklığa (Şekil 2.9) ayarlanan mikroorganizma süspansiyonları antibiotikli besiyerlerini kontamine etmek için kullanıldı.

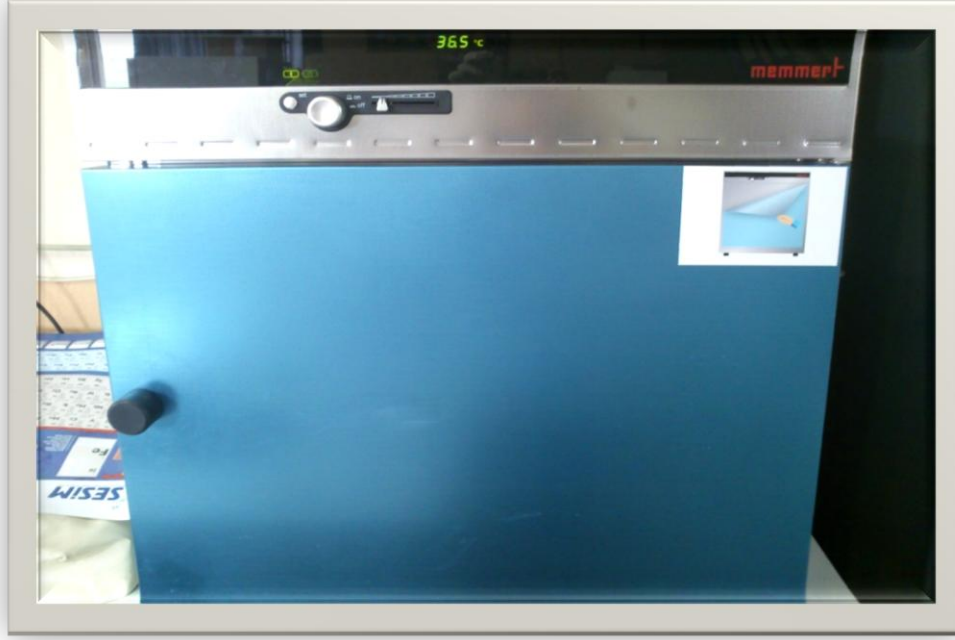


Şekil 2.8. Çalışmada kullanılan Dansitometre



Şekil 2.9. Bakteri süspansiyonları

Hazırlanan süspansiyonlardan farklı ekstrakt dilüsyonları içeren her bir petriye 1 ml inoküle edildi. İnoküle edilen plaklar 37 °C 24 saat süreyle inkübe edildi (Şekil 2.10).



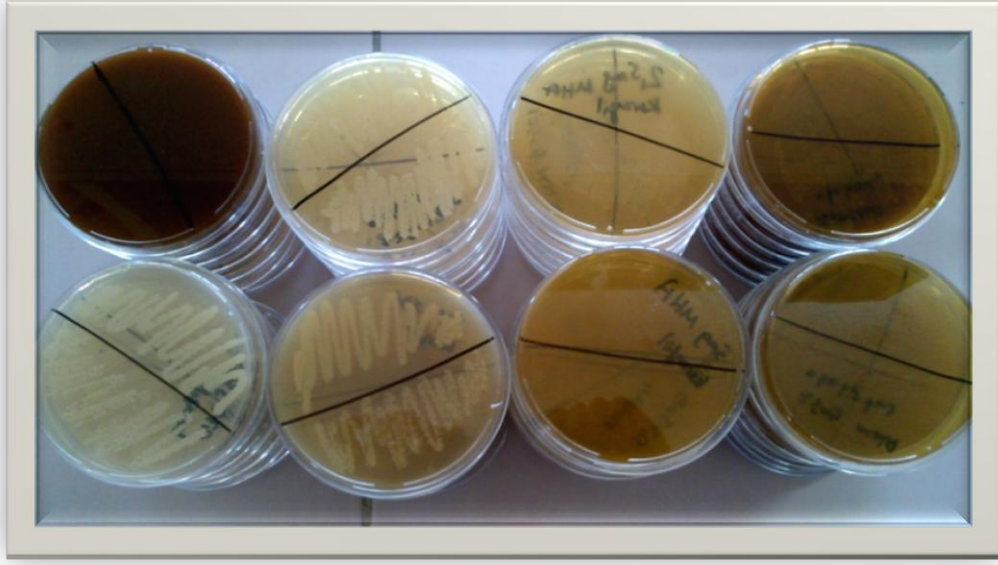
Şekil 2.10. Çalışmada kullanılan inkübatör

Üremenin engellendiği en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak belirlendi (Tablo 2.1) (Şekil 2.11).

	OKALİPTUS	KARANFİL	BİBERİYE
<i>E. faecalis</i>	0,05 mg/ml	0,05 mg/ml	0,2 mg/ml
<i>C. albicans</i>	0,2 mg/ml	0,2 mg/ml	0,2 mg/ml

Tablo 2.1. Ekstraktların MİK değerleri





Şekil 2.11. Minimum inhibitör konsantrasyonu belirlemek için kullanılan petriler

Çalışmada 144 adet çekilmiş tek köklü insan dişi kullanıldı. Tek köklü olmayan, çürüklü, restorasyonlu, fizyolojik gelişimini tamamlamamış veya rezorpsiyon gözlenen dişler çalışmaya dahil edilmedi. Dişlerin üzerindeki sert ve yumuşak doku artıkları bir kretuar yardımıyla temizlendikten sonra çalışma yapılıncaya kadar distile su içerisinde bekletildi.

Kökler standardizasyonun sağlanması için 12 mm olacak şekilde ayarlanarak dişlerin koronal kısımları su soğutması altında elmas diskler yardımıyla mine sement sınırından kesilerek uzaklaştırıldı. Sonrasında 15 numaralı bir K-File (Mani Inc., Tochigi, Japan) el aleti kanala yerleştirilerek ucu apikal açıklıkta görülene kadar ilerletildi. Kanal aletin kanalda ilerletilen kısmı ölçülerek çalışma boyu 1mm kısa olacak şekilde tespit edildi. Çalışma boyları belirlenen dişlerin kanalları üretici firmanın talimatları doğrultusunda elektrikli motora (X Smart, Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Switzerland) takılan ProTaper (Dentsply, Tulsa Endodontics, OK, USA) döner kanal aletleri ile şekillendirildi.

Protaper döner kanal aletleri ile 300 devir/dk'da şekillendirilmeye başlandı. Öncelikle SX eğesi ile köklerin koronal üçlüsü genişletildi. Daha

sonra S1 ve S2 eğeleri ile çalışma boyuna kadar ilerlenerek koronal 2/3 lük kısım şekillendirildi. Apikal üçlü ise sırasıyla F1, F2 ve F3 numaralı eğeler kullanılarak ve tüm kanalların apikal genişlikleri #F3 olacak şekilde şekillendirildi. Preparasyon boyunca kanallar her bir eğe kullanımından sonra 1 ml %5.25'lik NaOCl (Yurt Kimya, Ankara, Türkiye) solüsyonu ile irriga edildi.

Kök kanallarının genişletilmesi tamamlandıktan sonra smear tabakası uzaklaştırılmadan SEM örneği için 2 diş ayrıldı. Kalan 142 dişe smear tabakasını kaldırmak için 3 ml %5.25'lik NaOCl ve 3 ml %18'lik EDTA (Ultradent Products, Inc, Jordan, USA) ile 1'er dakika yıkama yapıldıktan sonra 1dk 5 ml distile su ile irrigasyon yapıldı (Teixeira et al. 2005). Smear tabakası çıkartılmayan iki diş ve uzaklaştırılan dişlerden rastgele seçilen iki diş ayrılarak SEM incelemesi için hazırlandı.

Bu işlem için bir elmas separe yardımıyla köklerin bukkal ve lingual yüzeylerinde dik yönde sığ oluklar açıldı ve longitudinal yönde kuvvet uygulanarak iki eşit parçaya ayrıldı (Teixeira et al. 2005).

Hazırlanan örnekler Selçuk Üniversitesi Bilimsel ve Teknik Araştırma Laboratuvarı'nda vakumlu bir ortamda ince bir altın film tabakası ile kaplanarak (Cressington Sputtercoater 1088 auto, Cranberry Twp, PA, USA) eşitli büyütmelede SEM altında incelendi.

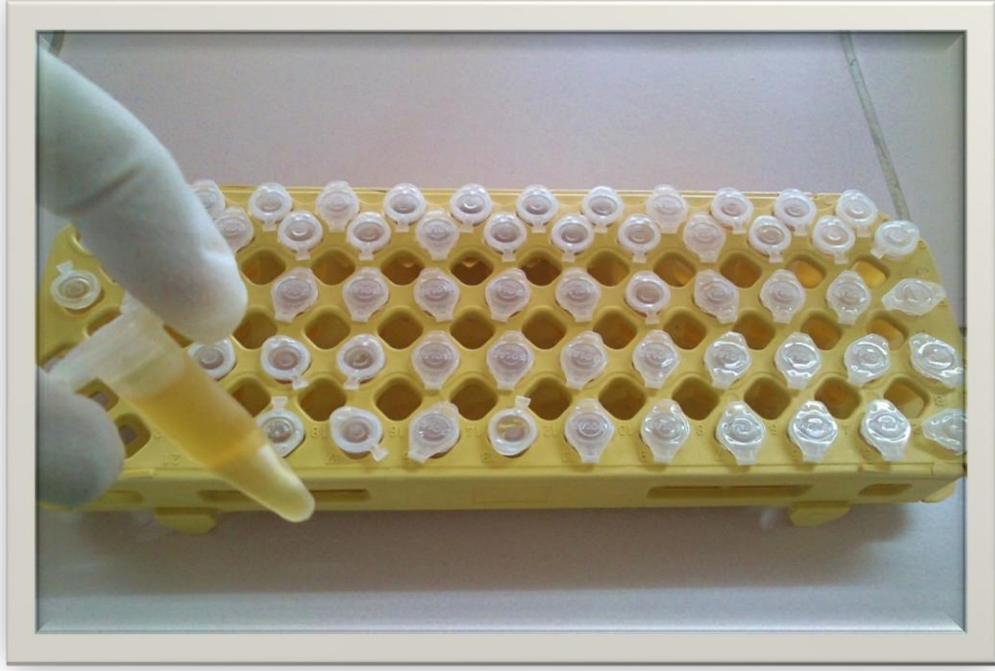
Kanal preperasyonu tamamlanan 140 diş su dolu metal kaplar içerisine yerleştirilerek 121°C'de 1 atm basınçta 20 dk süresince otoklavda steril edildi (JSM, Portugal). Örnekler Biosafety Level 2 lamin air-flow kabin (Merck, Germany) içerisinde açıldı. Kökler kontaminasyonu engellemek amacıyla tırnak cilası ile cilalandı.

içerisinde BHI (BHI, Oxoid, Basingstoke, UK ) ve Triptik Soy (TSB, Oxoid, Basingstoke, UK) besiyerleri bulunan tüpler otoklavda steril edildi. Otoklavdan çıkartılan tüplerdeki besiyerlerini optik dansiteleri bir dansitometre yardımıyla McFarland No: 0.5 standardına ayarlanarak enfekte edildi (şekil 2.12).



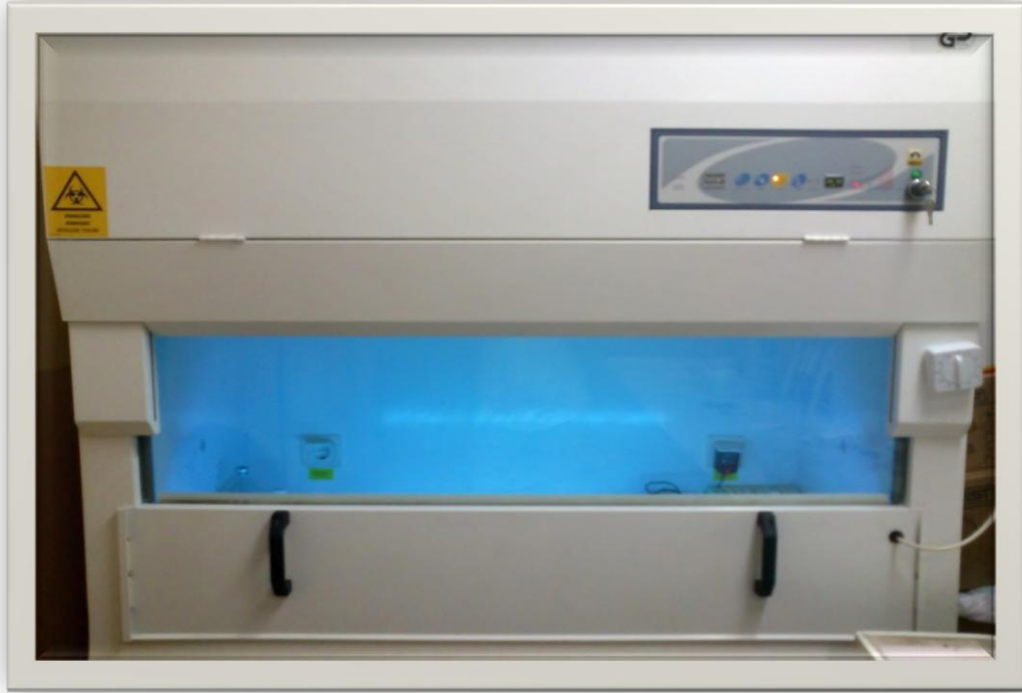
Şekil 2.12. Tüplerdeki Sıvı besiyerleri

Deney için kullanılan 140 adet steril ependorf tüpleri her birinde 70'er tüp olacak şekilde iki gruba ayrıldı. Her gruptan 10'ar adet ependorf tüpüne negatif kontrol olarak steril besiyerleri yerleştirildi. Kalan 60'ar adet ependorf tüpüne ise birinci grupta *E. faecalis* ve ikinci grupta *C. albicans* ile kontamine optik dansitesi 0,5 Mc Farland'a ayarlan besiyerleri paylaştırıldı. Dişler ependorf tüplere yerleştirildi ve 37 °C'de 48 saat etüvde bekletilerek inkübe edildi (Şekil 2.13).



Şekil 2.13. Kontamine besiyeleri ve dişlerin yerleştirildiği Ependorf tüpleri

Enfekte edilen dişler BSL 2 air-flow (Merck, Germany) kabin içerisinde açıldı ve irrigasyon işlemlerine geçildi (Şekil 2.14).



Şekil 2.14. Biosafety Level 2 air-flow kabin

*E. faecalis* ve *C. albicans* için iki ana gruba ayrılan dişlerden irrigasyon prosedürlerine göre 7'şer alt grup oluşturuldu.

Grup 1.(negatif kontrol) Steril edilmiş dişler 5 ml serum fizyolojik (Eczacıbaşı, Baxter, İstanbul, Türkiye) ile irrigate edildi..

Grup 2.(pozitif kontrol) Enfekte kök kanalları 5 ml serum fizyolojik ile irrigate edildi.

Grup 3.5 ml %5.25 NaOCl (Yurt Kimya, Ankara, Türkiye) ile irrigasyon uygulandı.

Grup 4.5 ml %2 CHX (Klorhex, Drogan İlaç San, Ankara, Türkiye) ile irrigasyon.

Grup 5.5ml MİK'daki Biberiye ekstraktı ile irrigasyon.

Grup 6.5ml MİK'daki Okaliptüs ekstraktı ile irrigasyon.

Grup 7.5ml MİK'daki Karanfil ekstraktı ile irrigasyon.

Enfekte edilen kökler yukarıda belirtilen şekilde 2'şer dakika süre ile 27 gauge'luk endodontik irrigasyon iğneleri (KerrHawe SA, Biggio, Switzerland) kullanılarak irrigate edildi.

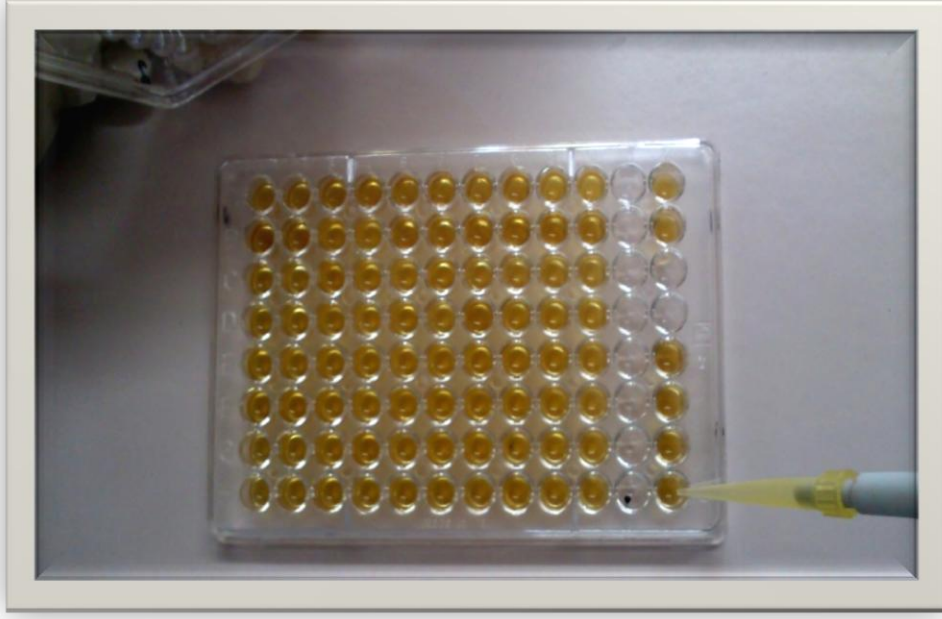
Sonrasında kanalların her biri 1'er ml serum fizyolojik ile irrigate edildi. Irrigasyon işlemleri bittikten sonra F3 nolu steril kağıt konlar (Sure endo, Sure Dent, Sangdaewon dong, Korea) kök kanallarına yerleştirildi ve kök kanal içeriğini tamamen emmesi için 1dk bekletildi.

*E. faecalis* ile enfekte edilen köklerden irrigasyon prosedürleri sonrasında kağıt konlar 1ml steril BHI broth içeren tüp içerisine, *C. albicans* ile enfekte edilen köklerden irrigasyon prosedürleri sonrasında elde edilen kağıt konlar ise Triptik Soy Broth (TSB) içeren tüplere konuldu. Tüpler Vortex cihazına (Velp Vortex Mixer ZX3, Yogyakarta Indonesia) yerleştirilerek 1 dk boyunca 15 herzde çalkalandı (Şekil 2.15).



Şekil 2.15. Çalışmada kullanılan Vortex cihazı

Her çalkalanan besiyerinden 200 µl örnek sıvı alınarak 96 kuyucuklu steril ELISA pleyti (Costar 3599, Corning, NY, USA) içerisindeki bir kuyucuğa aktarıldı. İşlem her örnek için 2 kez tekrarlandı ve sonrasında örneklerin ortalaması alındı (Şekil 2.16).



Şekil 2.16. Çalışmada kullanılan Elisa Pleytlerine örneklerin yerleştirilmesi

Örnek sıvıların aktarımı tamamlandıktan sonra pleyt ELISA okuyucusuna (BioTek ELx800, Absorbance Microplate Reader, Winooski, VT, USA) yerleştirildi. İlk ölçümleri 0. saatte olacak şekilde 450 nm dalga boyunda ilk optik yoğunluklar (OD) kaydedildi. 12. Saate kadar her saat başında, ikinci 12 saatte 2 saatte bir, son 24 saatte ise 6 saatte bir OD kaydı yapılmaya devam edildi. Örnekler ölçümler arasında 37 °C’de bekletilmek üzere inkübatöre yerleştirildi (Şekil 2.17).



Şekil 2.17. Çalışmada kullanılan Elisa okuyucusu

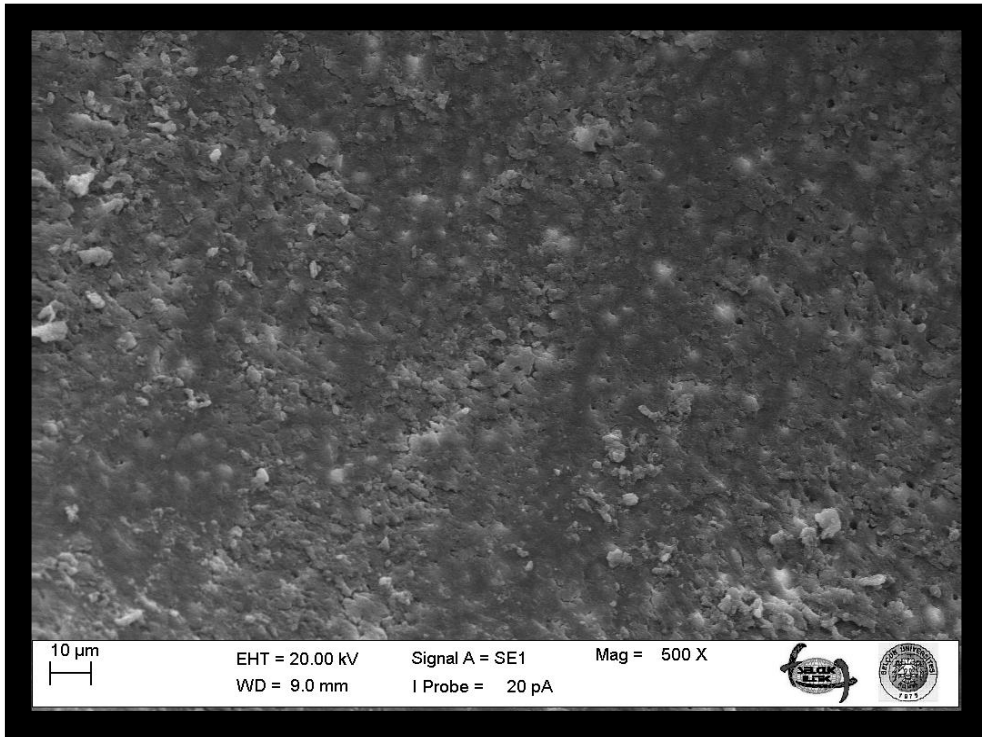
%5.25'lik NaOCl, %2'lik CHX, biberiye, okalıptüs ve karanfil ekstraktlarının *E. faecalis* ve *C. albicans* mikroorganizmalarına karşı antibakteriyel etkinlikleri Kruskal Wallis ve Chi kare testleri kullanılarak değerlendirildi.

Kruskal Wallis testi sonucunda anlamlı çıkan saatlerde ikili kıyaslamalar post hoc dunn testi ile yapıldı. İstatiksel analizler SPSS 16.0 for Windows (SPSS Inc, Chicago, IL) bilgisayar programında gerçekleştirildi.

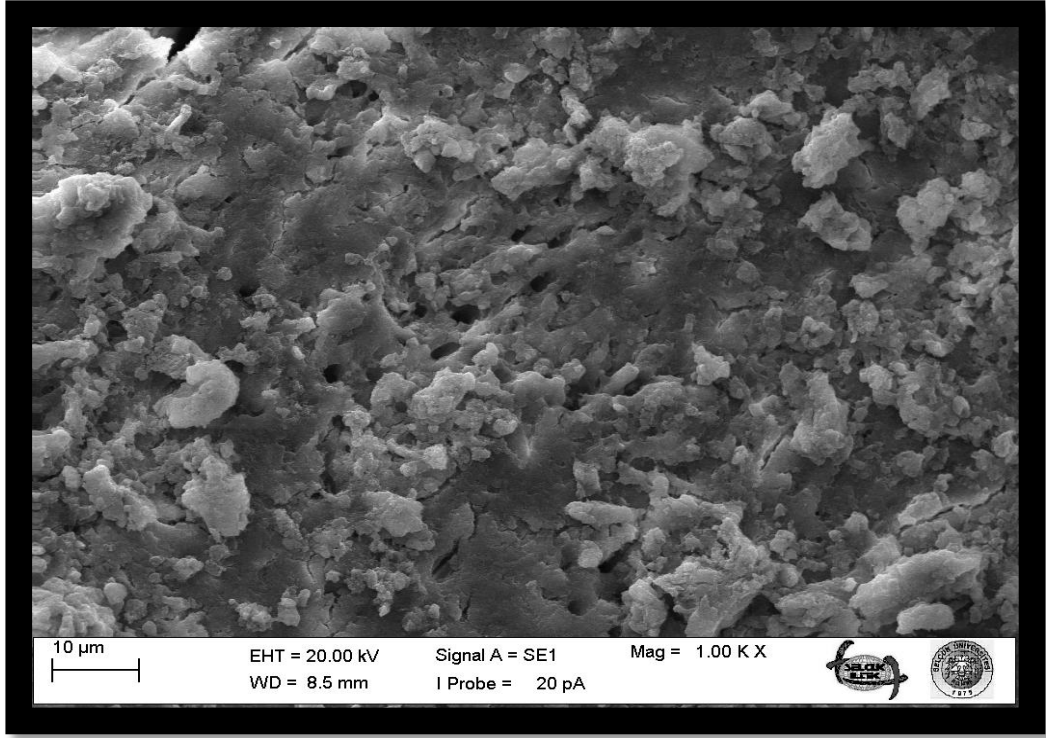


### 3.BULGULAR

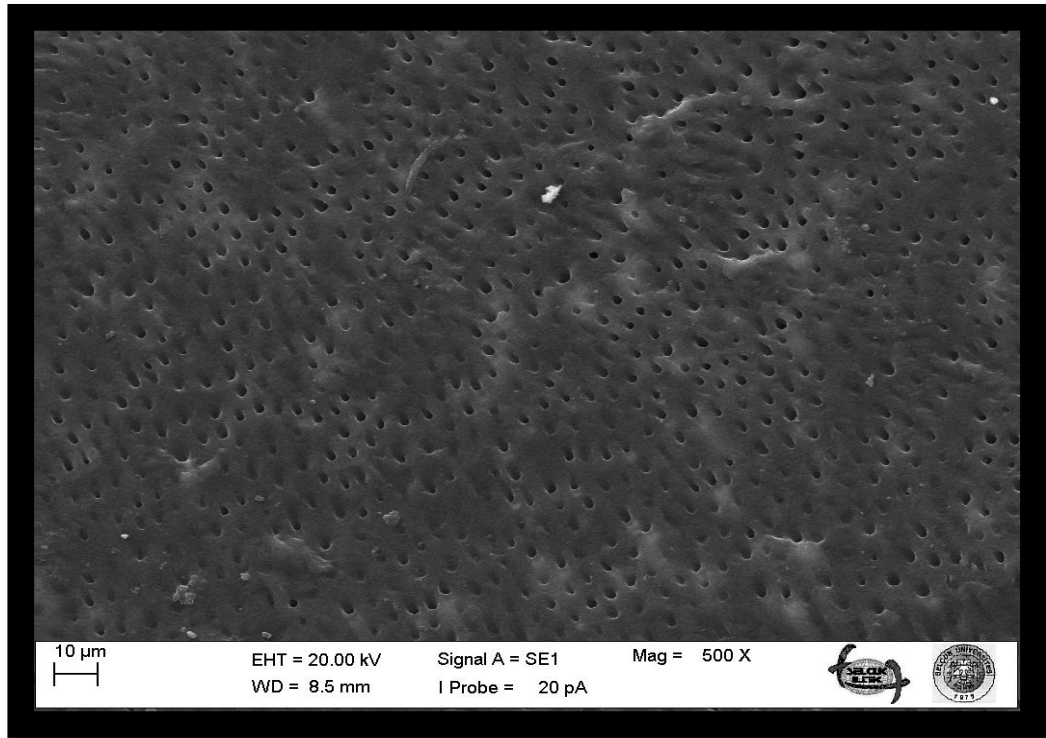
SEM incelemesi sonucunda preperasyonun hemen sonrasında ayrılan iki dişte kök kanallarında yoğun bir smear tabakası varlığı tespit edildi (Şekil 3.1,3.2). NaOCl ve EDTA kullanımı ile smear tabakası uzaklaştırma işlemlerinin uygulandığı iki dişteki SEM değerlendirmesi sonucunda smear tabakasının tamamen uzaklaştırıldığı ve dentin tübüllerinin tamamen açıldığı görüldü (Şekil 3.3,3.4).



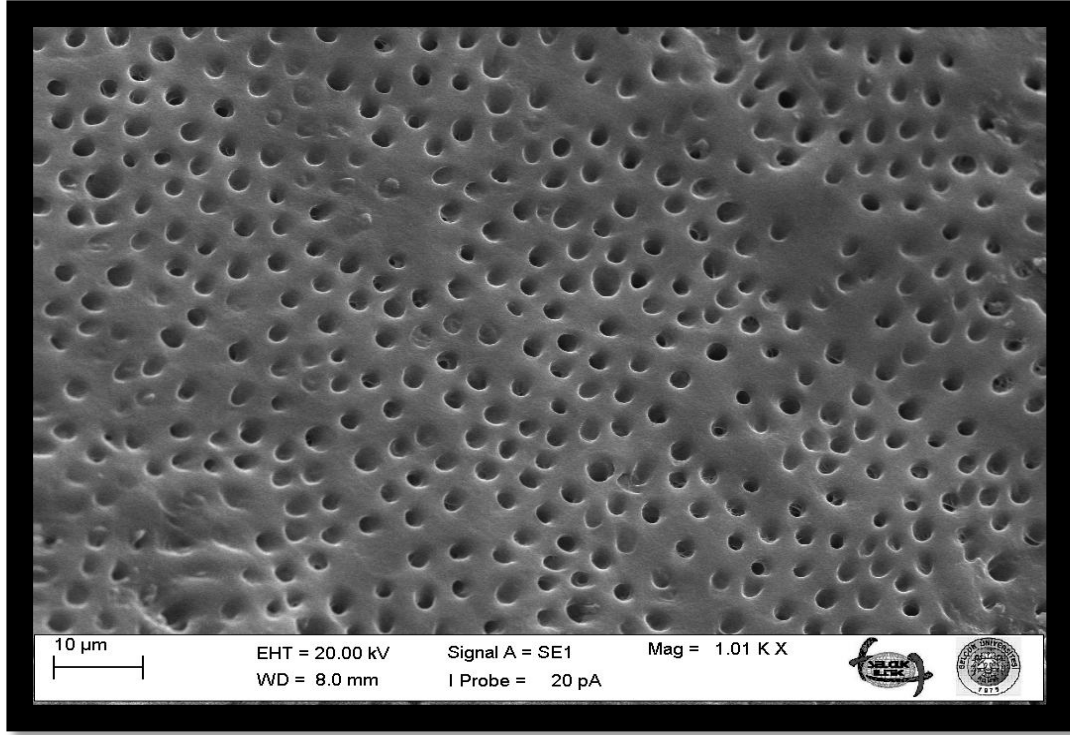
Şekil 3.1. Preperasyon sonrası Smear tabakası uzaklaştırılmamış kök kanal yüzeylerinin 500 X büyütmede SEM ile alınan görüntüsü



Şekil 3.2. Preperasyon sonrası Smear tabakası uzaklaştırılmamış kök kanal yüzeylerinin 1000 X büyütmede SEM ile alınan görüntüsü



Şekil 3.3. Preperasyon sonrası Smear tabakası uzaklaştırılan kök kanal yüzeylerinin 500 X büyütmede SEM ile alınan görüntüsü



Şekil 3.4. Preperasyon sonrası Smear tabakası uzaklaştırılan kök kanal yüzeylerinin 1000 X büyütmede SEM ile alınan görüntüsü

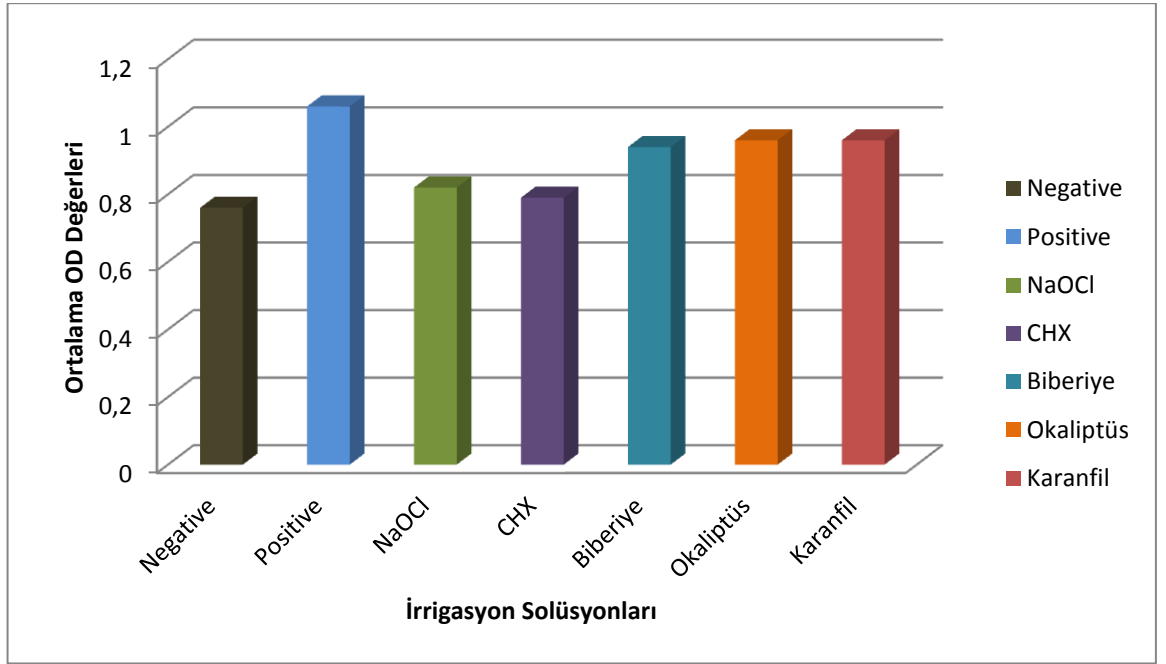
### 3.1. *E. faecalis* ile kontamine edilen grubun OD değerlerinin değerlendirilmesi

Çalışmada *E. faecalis* ile kontamine edilen dişlerin deneysel irrigasyon prosedürleri sonrasında kök kanallarından alınan örneklerin 450 nm’de spektrofotometrik incelemesinde elde edilen OD değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması tablo 3.1’de gösterilmiştir.

	s0	s1	s2	s3	s4	s5	s6	s7	s8	s9	s10	s11	s12	s14	s16	s18	s20	s22	s24	s30	s36	s42	s48
<b>Negatif</b>	0,75 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,75 <sup>a</sup>	0,75 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,75 <sup>a</sup>	0,75 <sup>a</sup>	0,75 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,75 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>
<b>Pozitif</b>	0,75 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,75 <sup>a</sup>	0,77 <sup>a</sup>	0,77 <sup>a</sup>	0,80 <sup>b</sup>	0,83 <sup>b</sup>	0,87 <sup>b</sup>	0,91 <sup>b</sup>	0,95 <sup>b</sup>	0,99 <sup>b</sup>	1,04 <sup>b</sup>	1,09 <sup>b</sup>	1,14 <sup>b</sup>	1,18 <sup>b</sup>	1,21 <sup>b</sup>	1,24 <sup>b</sup>	1,28 <sup>b</sup>	1,30 <sup>b</sup>	1,32 <sup>b</sup>	1,34 <sup>b</sup>	1,34 <sup>b</sup>	1,34 <sup>b</sup>
<b>NaOCl</b>	0,75 <sup>a</sup>	0,74 <sup>a</sup>	0,75 <sup>a</sup>	0,75 <sup>a</sup>	0,75 <sup>a</sup>	0,75 <sup>a</sup>	0,75 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,77 <sup>a</sup>	0,78 <sup>a</sup>	0,79 <sup>a</sup>	0,80 <sup>a</sup>	0,80 <sup>a</sup>	0,80 <sup>a</sup>	0,81 <sup>a</sup>	0,81 <sup>a</sup>	0,81 <sup>c</sup>	0,89 <sup>c</sup>	0,90 <sup>c</sup>	0,91 <sup>c</sup>	0,92 <sup>c</sup>	0,93 <sup>c</sup>	0,93 <sup>c</sup>
<b>CHX</b>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,77 <sup>a</sup>	0,77 <sup>a</sup>	0,78 <sup>a</sup>	0,78 <sup>a</sup>	0,79 <sup>a</sup>	0,80 <sup>a</sup>	0,80 <sup>a</sup>	0,80 <sup>a</sup>	0,81 <sup>a</sup>	0,81 <sup>a</sup>	0,81 <sup>a</sup>	0,82 <sup>a</sup>	0,82 <sup>a</sup>	0,82 <sup>a</sup>
<b>Biberiye</b>	0,74 <sup>a</sup>	0,74 <sup>a</sup>	0,74 <sup>a</sup>	0,74 <sup>a</sup>	0,75 <sup>a</sup>	0,75 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,78 <sup>a</sup>	0,81 <sup>c</sup>	0,83 <sup>c</sup>	0,88 <sup>c</sup>	0,91 <sup>c</sup>	0,95 <sup>c</sup>	0,98 <sup>b</sup>	1,02 <sup>b</sup>	1,05 <sup>b</sup>	1,08 <sup>b</sup>	1,11 <sup>b</sup>	1,14 <sup>b</sup>	1,16 <sup>d</sup>	1,18 <sup>d</sup>	1,18 <sup>d</sup>	1,18 <sup>d</sup>
<b>Okaliptüs</b>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,75 <sup>a</sup>	0,75 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,77 <sup>a</sup>	0,81 <sup>b</sup>	0,83 <sup>bc</sup>	0,86 <sup>bc</sup>	0,90 <sup>bc</sup>	0,93 <sup>bc</sup>	0,97 <sup>bc</sup>	1,00 <sup>b</sup>	1,03 <sup>b</sup>	1,07 <sup>b</sup>	1,11 <sup>b</sup>	1,14 <sup>b</sup>	1,16 <sup>b</sup>	1,18 <sup>d</sup>	1,20 <sup>d</sup>	1,21 <sup>d</sup>	1,21 <sup>d</sup>
<b>Karanfil</b>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,77 <sup>a</sup>	0,77 <sup>a</sup>	0,79 <sup>b</sup>	0,82 <sup>bc</sup>	0,86 <sup>bc</sup>	0,90 <sup>bc</sup>	0,92 <sup>c</sup>	0,96 <sup>bc</sup>	0,99 <sup>b</sup>	1,03 <sup>b</sup>	1,07 <sup>b</sup>	1,10 <sup>b</sup>	1,14 <sup>b</sup>	1,17 <sup>b</sup>	1,19 <sup>d</sup>	1,20 <sup>d</sup>	1,21 <sup>d</sup>	1,21 <sup>d</sup>

Tablo.3.1. Çalışmada E. faecalis ile kontamine edilen dışların deneysel irrigasyon prosedürleri sonrasında kök kanallarından alınan örneklerin 450 nm'de spektrofotometrik incelemesinde elde edilen OD değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması

Deneyde irrigasyon ajanlarının kullanımından sonra *E. faecalis* ile kontamine köklerden alınan örneklerin tüm zamanlardaki (0-48 saat) OD değerlerinin ortalamaları Grafik 3.1’de gösterilmektedir. Negatif kontrol, %2’lik CHX %5,25’lik NaOCl grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ( $p>0.05$ ). Bu gruplar ile pozitif kontrol ve diğer bitki ekstrakt grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi ( $p<0.05$ ). Pozitif kontrol ve biberiye, okaliptüs ile karanfil ekstraktları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

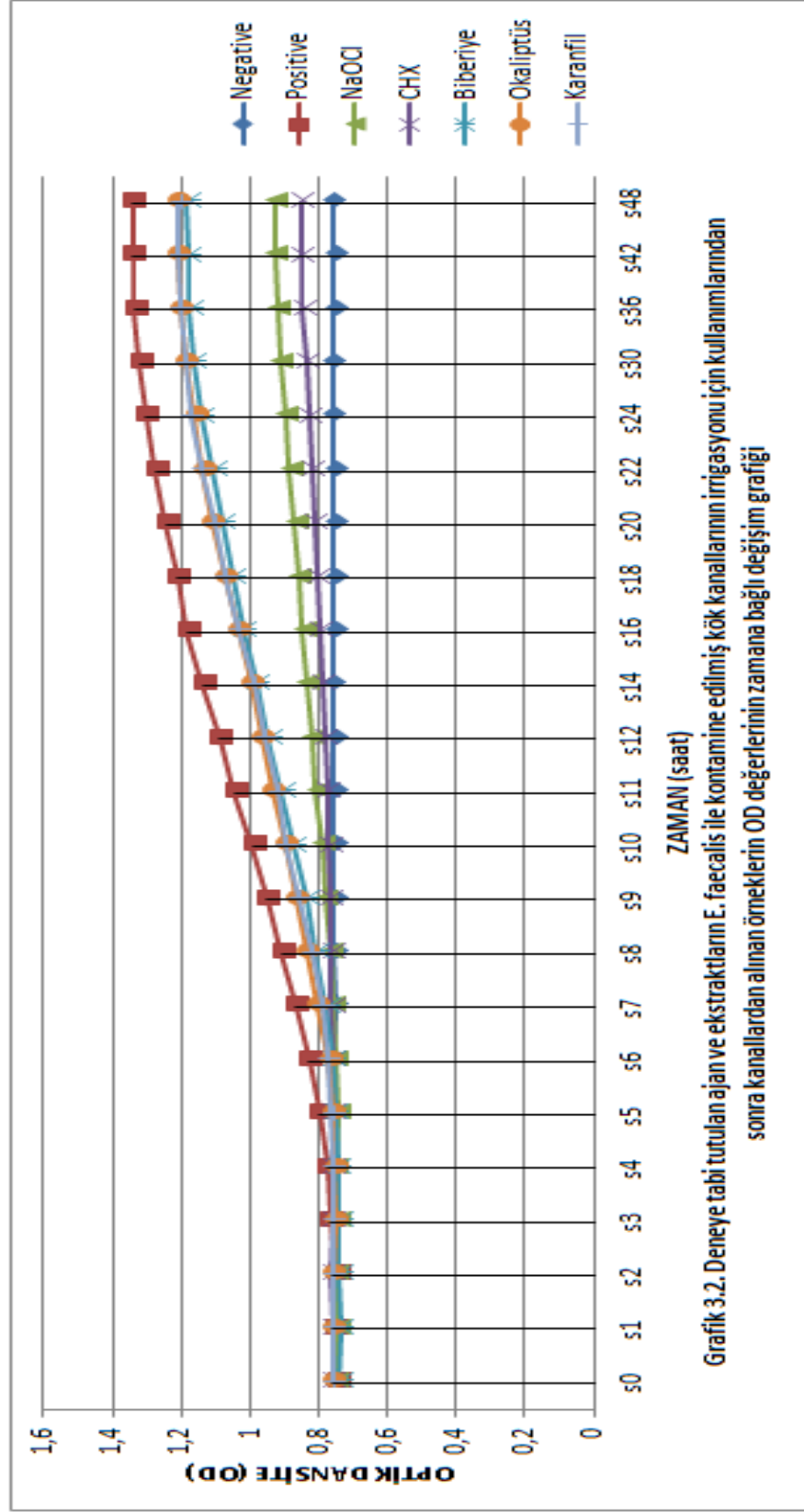


**Grafik 3.1. İrrigasyon sonrasında elde edilen OD değerleri ortalamaları**

Deneysel olarak *E. faecalis* ile enfekte edilen kök kanallarının farklı irrigasyon solüsyonları ile irrigasyonlarının sonrasında kök kanallarından spektrofotometrik değerlendirme için alınan örneklerin inkübasyonu sonucu zamana bağlı olarak elde edilen OD değerlerinin eğrileri Grafik 3.2’de gösterilmiştir.

Grafik 3.2 değerlendirildiğinde NaOCl ile irrigede edilen grubun OD değerleri 20. saatte artış gösterirken, CHX ile irrigede edilen grubun OD değerlerinin saatlerin hiçbirinde anlamlı bir artış göstermediği görülmektedir. Biberiye, okaliptüs ve karanfil OD değerlerinin ise 7. saatten itibaren önemli miktarda arttığı görülmektedir. Pozitif kontrol grubunun OD değerleri 5. saatte artmaya başlarken, negatif kontrol grubunun OD değerlerinin ise olması gerektiği gibi hiçbir saatte artmadığı gözlenmiştir.

Yapılan Chi kare testi sonucunda *E. faecalis* zerinde antibakteriyel etkinliği test edilen irrigasyon solüsyonları arasında hangi saatlerde anlamlı bir fark ortaya çıktığı tespit edilmiştir. ( $p < 0,05$ ). Post hoc dunn testi ile de kullanılan ajanlardan hangileri arasında anlamlı fark bulunduğu tespit edildi ( $z > 1,96$ ).



Grafik 3.2. Deneeye tabi tutulan ajan ve ekstraktların E. faecalis ile kontamine edilmiş kök kanallarının irrigasyonu için kullanımlarından sonra kanallardan alınan örneklerin OD değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği

0-6. saatler arasında elde edilen OD değerlerinin karşılaştırılması sonucu gruplar arasında anlamlı fark olduğu yapılan Chi kare testiyle belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ). İlk dört saatte gruplar arasında herhangi bir fark gözlenmedi. 5. saatten itibaren sadece pozitif kontrol grubunda artış meydana gelmeye başlamasıyla beraber diğer gruplarla arasında anlamlı bir fark gözlenmeye başladı ( $z > 1,96$ ).

6-12. saatler arasında elde edilen OD değerlerinin karşılaştırılması sonucu gruplar arasında anlamlı fark olduğu yapılan Chi kare testiyle belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ). Post hoc dunn testi ile de kullanılan ajanlardan hangileri arasında anlamlı fark bulunduğu tespit edildi ( $z > 1,96$ ). Negatif kontrol grubu ile NaOCl ve CHX grubu hariç diğer tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir ( $z > 1,96$ ). Pozitif kontrol grubu ile okaliptüs ve karanfil grupları hariç diğer tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir ( $z > 1,96$ ). 6. saate kadar %5.25'lik NaOCl ve %2'lik CHX grubu ile diğer deneysel gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmezken ( $z < 1,96$ ), 8. saatten itibaren bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmeye başlamıştır ( $z > 1,96$ ). Biberiye, okaliptüs ve karanfil grupları arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ( $z < 1,96$ ).

12-18. saatler arasında elde edilen OD değerlerinin karşılaştırılması sonucu gruplar arasında anlamlı fark olduğu yapılan Chi kare testiyle belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ). Post hoc dunn testi ile de kullanılan ajanlardan hangileri arasında anlamlı fark bulunduğu tespit edildi ( $z > 1,96$ ). Bu saat aralığında negatif kontrol grubu ile %5.25'lik NaOCl ve %2'lik CHX grupları ile diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlenmiştir ( $z > 1,96$ ). 12. ve 18. saatler arasında NaOCl ve CHX gruplarının birbirleri arasında ve diğer bitki ekstraktlarının birbirleri arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $z < 1,96$ ).

18-24. saatler arasında elde edilen OD değerlerinin karşılaştırılması sonucu gruplar arasında fark olduğu yapılan Chi kare testiyle tespit edilmiştir ( $p < 0,05$ ). Post hoc dunn testi ile de kullanılan ajanlardan hangileri arasında anlamlı fark bulunduğu tespit edildi ( $z > 1,96$ ). Bu zaman aralığında negatif kontrol grubu ve %2'lik CHX grubu ile diğer tüm gruplar arasında anlamlı bir



fark gözlenmiştir ( $z > 1.96$ ). Pozitif kontrol grubu ve diğer bitki ekstrakt grupları ile %2'lik CHX ve %5.25'lik NaOCl arasında anlamlı bir fark gözlenirken ( $z > 1.96$ ), bu grupların birbirleri arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir ( $z < 1.96$ ). 20. saatten itibaren %5,25'lik NaOCl grubu ile %2'lik CHX grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir ( $z > 1.96$ ). Bitkisel ekstrakt grupları arasında ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $z < 1.96$ ).

24-48. saatler arasında elde edilen OD değerlerinin karşılaştırılması sonucu gruplar arasında fark olduğu yapılan Chi kare testiyle tespit edilmiştir ( $p < 0,05$ ). Post hoc dunn testi ile kullanılan ajanlardan hangileri arasında anlamlı fark bulunduğu tespit edildi ( $z > 1.96$ ). Bu saatler arasında, negatif kontrol grubu ve %2'lik CHX grubu ile diğer tüm gruplar arasında ve pozitif kontrol grubu ile tüm gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir ( $z > 1.96$ ). 20. saatten itibaren %5.25'lik NaOCl grubu ile %2'lik CHX grubu arasında başlayan farklılık bu saat diliminde de devam etmektedir. Ayrıca bu iki grup ile diğer deneysel gruplar arasında da istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar devam etmektedir ( $z > 1.96$ ). Biberiye okaliptüs ve karanfil grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $z < 1.96$ ).

Tüm bu değerlendirmeler sonucunda *E. faecalis*'e karşı %2'lik CHX ve OD değerlerinde hafif bir miktar yükseliş göstermekle birlikte %5,25'lik NaOCl'in yeterli antibakteriyel kapasiteye sahip olduğu, ancak deneysel gruplardaki biberiye, okaliptüs ve karanfilin yeterli antibakteriyel etkinlik göstermediği sonucuna ulaşılmıştır.

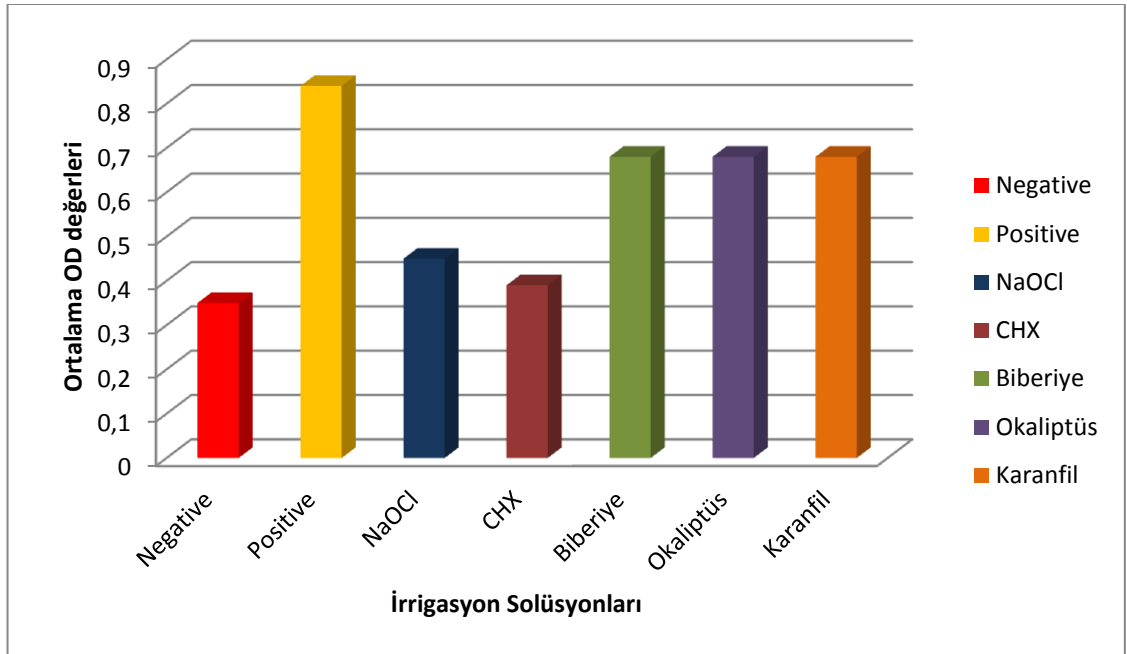
### **3.2. *C. albicans* ile kontamine edilen grubun OD değerlerinin değerlendirilmesi**

Çalışmada *C. albicans* ile kontamine edilen dişlerin deneysel irrigasyon prosedürlerine tabi tutulmasından sonra kök kanallarından alınan örneklerin 450 nm'de spektrofotometrik incelemesinde elde edilen OD değerleri tablo 3.2'de gösterilmiştir.

	s0	s1	s2	s3	s4	s5	s6	s7	s8	s9	s10	s11	s12	s14	s16	s18	s20	s22	s24	s30	s36	s42	s48
<b>Negative</b>	0,34 <sup>a</sup>	0,34 <sup>a</sup>	0,34 <sup>a</sup>	0,34 <sup>a</sup>	0,34 <sup>a</sup>	0,34 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,36 <sup>a</sup>	0,36 <sup>a</sup>	0,36 <sup>a</sup>	0,36 <sup>a</sup>
<b>Positive</b>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,36 <sup>a</sup>	0,38 <sup>a</sup>	0,39 <sup>a</sup>	0,41 <sup>b</sup>	0,46 <sup>b</sup>	0,50 <sup>b</sup>	0,56 <sup>b</sup>	0,64 <sup>b</sup>	0,73 <sup>b</sup>	0,82 <sup>b</sup>	0,92 <sup>b</sup>	1,02 <sup>b</sup>	1,11 <sup>b</sup>	1,20 <sup>b</sup>	1,27 <sup>b</sup>	1,33 <sup>b</sup>	1,37 <sup>b</sup>	1,39 <sup>b</sup>	1,40 <sup>b</sup>	1,40 <sup>b</sup>
<b>NaOCl</b>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,36 <sup>a</sup>	0,36 <sup>a</sup>	0,37 <sup>a</sup>	0,37 <sup>c</sup>	0,37 <sup>c</sup>	0,38 <sup>c</sup>	0,39 <sup>c</sup>	0,40 <sup>c</sup>	0,41 <sup>c</sup>	0,42 <sup>c</sup>	0,43 <sup>c</sup>	0,45 <sup>c</sup>	0,46 <sup>c</sup>	0,47 <sup>c</sup>	0,48 <sup>c</sup>	0,49 <sup>c</sup>	0,50 <sup>c</sup>	0,50 <sup>c</sup>	0,50 <sup>c</sup>
<b>CHX</b>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,36 <sup>a</sup>	0,36 <sup>a</sup>	0,36 <sup>a</sup>	0,36 <sup>a</sup>	0,36 <sup>a</sup>	0,36 <sup>a</sup>	0,37 <sup>a</sup>	0,37 <sup>a</sup>	0,37 <sup>a</sup>	0,37 <sup>a</sup>	0,38 <sup>a</sup>	0,38 <sup>a</sup>	0,38 <sup>a</sup>	0,38 <sup>a</sup>	0,38 <sup>a</sup>	0,39 <sup>a</sup>	0,39 <sup>a</sup>	0,39 <sup>a</sup>
<b>Biberiye</b>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,36 <sup>a</sup>	0,36 <sup>a</sup>	0,37 <sup>a</sup>	0,38 <sup>b</sup>	0,39 <sup>c</sup>	0,42 <sup>c</sup>	0,45 <sup>cd</sup>	0,51 <sup>d</sup>	0,56 <sup>d</sup>	0,63 <sup>d</sup>	0,70 <sup>d</sup>	0,79 <sup>d</sup>	0,87 <sup>d</sup>	0,95 <sup>d</sup>	1,02 <sup>d</sup>	1,10 <sup>d</sup>	1,14 <sup>d</sup>	1,18 <sup>d</sup>	1,18 <sup>d</sup>
<b>Okalptüs</b>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,36 <sup>a</sup>	0,37 <sup>a</sup>	0,38 <sup>b</sup>	0,40 <sup>b</sup>	0,42 <sup>b</sup>	0,47 <sup>d</sup>	0,52 <sup>d</sup>	0,57 <sup>d</sup>	0,63 <sup>d</sup>	0,70 <sup>d</sup>	0,79 <sup>d</sup>	0,86 <sup>d</sup>	0,94 <sup>d</sup>	1,02 <sup>d</sup>	1,11 <sup>d</sup>	1,16 <sup>d</sup>	1,18 <sup>d</sup>	1,18 <sup>d</sup>
<b>Karanfil</b>	0,34 <sup>a</sup>	0,34 <sup>a</sup>	0,34 <sup>a</sup>	0,34 <sup>a</sup>	0,34 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,37 <sup>a</sup>	0,38 <sup>b</sup>	0,40 <sup>b</sup>	0,43 <sup>b</sup>	0,47 <sup>d</sup>	0,51 <sup>d</sup>	0,56 <sup>d</sup>	0,62 <sup>d</sup>	0,68 <sup>d</sup>	0,77 <sup>d</sup>	0,84 <sup>d</sup>	0,92 <sup>d</sup>	1,00 <sup>d</sup>	1,07 <sup>d</sup>	1,13 <sup>d</sup>	1,16 <sup>d</sup>	1,16 <sup>d</sup>

Tablo.3.2. Çalışmada C. albicans ile kontamine edilen dişlerin deneysel irrigasyon prosedürleri sonrasında kök kanallarından alınan örneklerin 450 nm'de spektrofotometrik incelemesinde elde edilen OD değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması

Deneyde kullanılan irrigasyon ajanlarının tüm zamanlardaki (0-48 saat) OD değerlerinin ortalamaları Grafik 3.3’de gösterilmektedir. Negatif kontrol, NaOCl, CHX grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ( $p>0.05$ ). CHX ile NaOCl solüsyonları antibakteriyel olarak biberiye okaliptüs ve karanfil ekstraktlarına oranla anlamlı derecede daha etkin bulundular ( $p<0.05$ ). Pozitif kontrol ve diğer bitki ekstrakt grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

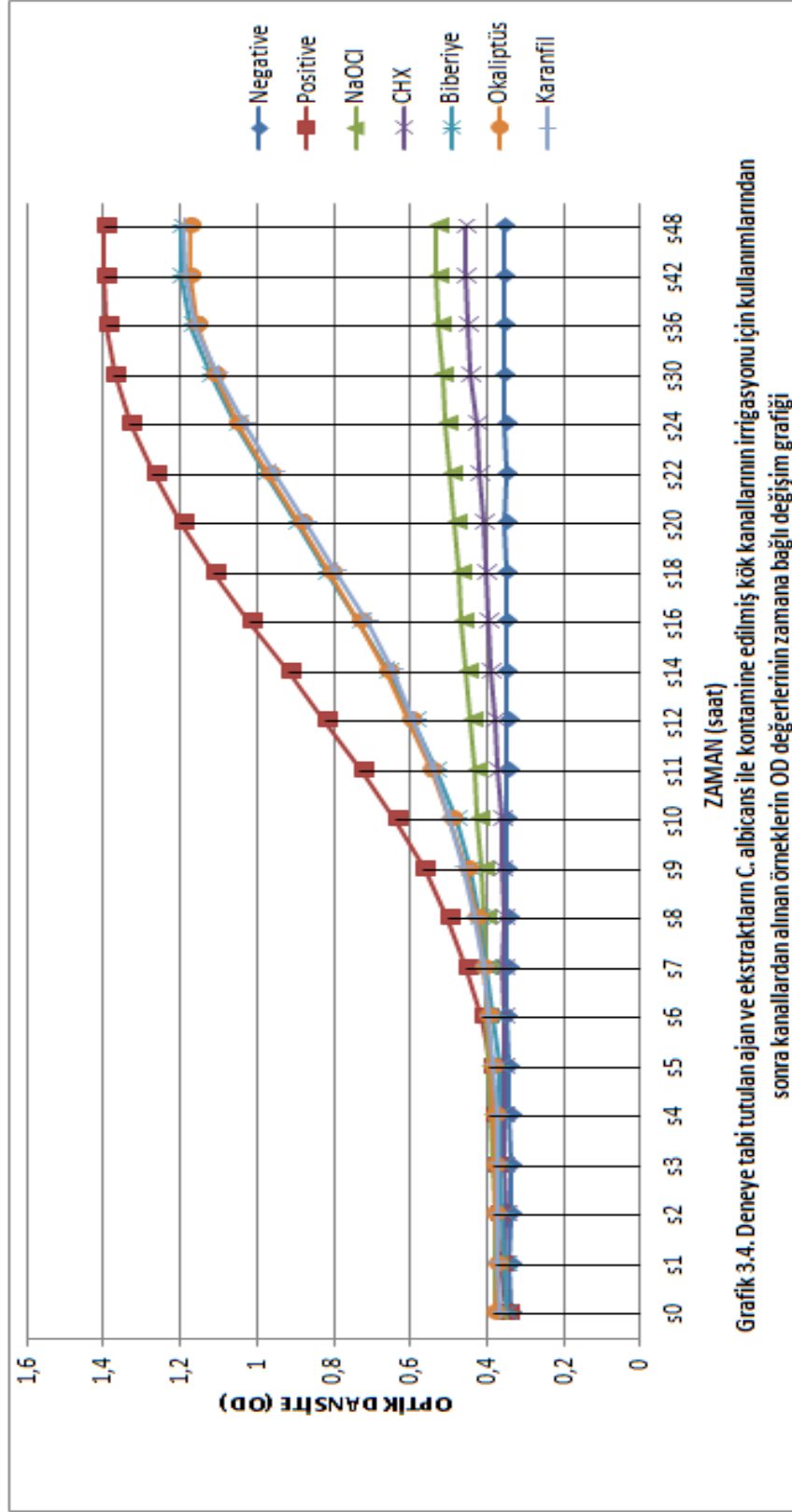


**Grafik 3.3. İrrigasyon sonrasında elde edilen OD değerleri ortalamaları**

Deneyisel olarak *C. albicans* ile enfekte edilen kök kanalları farklı irrigasyon solüsyonları ile irrigasyon sonrasında kök kanallarından spektrofotometrik değerlendirme için alınan örneklerin inkübasyonu sonucu zamana bağlı olarak elde edilen OD değerlerinin eğrileri Grafik 3.4'de gösterilmektedir.

Grafik 3.4 değerlendirildiğinde pozitif kontrol grubunun OD değerleri 6. saatte artış göstermeye başlarken, negatif kontrol grubunun OD değerleri saatlerin hiç birinde artış göstermemiştir. NaOCl ile irrigate edilen grubun OD değerleri 7. saatten sonra artış göstermeye başlarken CHX ile irrigate edilen grubun OD değerleri hiçbir saatte artış göstermemiştir. Biberiye, okaliptüs ve karanfil ekstraktları ile irrigate edilen gruplardan alınan örneklerin OD değerleri 7. saatte artış göstermeye başlamıştır.

Yapılan Chi kare testi sonucunda *C. albicans* mikroorganizması üzerinde antibakteriyel etkinliği test edilen irrigasyon solüsyonları arasında hangi saatlerde anlamlı bir fark ortaya çıktığı tespit edilmiştir. ( $p < 0,05$ ). Yapılan Post hoc dunn testi ile de kullanılan ajanlardan hangileri arasında anlamlı fark bulunduğu tespit edilmiştir ( $z > 1,96$ ).



Grafik 3.4. Deneysel tabii tutulan ajan ve ekstraktların C. albicans ile kontamine edilmiş kök kanallarının irrasyonu için kullanılmırlarından sonra kanallardan alınan örneklerin OD değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği

0-6. saatler arasında elde edilen OD değerlerinin karşılaştırılması sonucu gruplar arasında anlamlı fark olmadığı yapılan Chi kare testiyle belirlenmiştir ( $p>0,05$ ).

6-12. saatler arasında elde edilen OD değerlerinin karşılaştırılması sonucu gruplar arasında anlamlı fark olduğu yapılan Chi kare testiyle belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). Post hoc dunn testi ile de kullanılan ajanlardan hangileri arasında anlamlı fark bulunduğu tespit edildi ( $z>1,96$ ). 6. saatten sonra negatif kontrol grubu ve %2'lik CHX grubu ile diğer tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmeye başlandı ( $z>1,96$ ). %5.25'lik NaOCl grubu ile %2'lik CHX grubu arasında 7. saatten sonra anlamlı fark gözlenmiştir ( $z>1,96$ ). Biberiye, okaliptüs ve karanfil grupları arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ( $z<1,96$ ).

Yapılan Chi kare testiye 12-18. saatler arasında elde edilen OD değerlerinin karşılaştırılması sonucu gruplar arasında anlamlı fark olduğu belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). Post hoc dunn testi ile de kullanılan ajanlardan hangileri arasında anlamlı fark bulunduğu tespit edildi ( $z>1,96$ ). Negatif kontrol grubu ve %2'lik CHX grubu ile diğer tüm gruplar arasında anlamlı fark gözlenmiştir ( $z>1,96$ ). Pozitif kontrol grubu ve %5,25'lik NaOCl grubu ile tüm gruplar arasında anlamlı fark gözlenmiştir ( $z>1,96$ ). Biberiye okaliptüs ve karanfil grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $z<1,96$ ).

18-24. saatler arasında elde edilen OD değerlerinin karşılaştırılması sonucu gruplar arasında anlamlı fark olduğu yapılan Chi kare testi ile belirlendi ( $p<0,05$ ). Post hoc dunn testi ile de kullanılan ajanlardan hangileri arasında anlamlı fark bulunduğu tespit edildi ( $z>1,96$ ). Negatif kontrol grubu ve %2'lik CHX grubu ile diğer tüm gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir ( $z>1,96$ ). Pozitif kontrol grubu ve %5,25'lik NaOCl grubu ile tüm gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir ( $z>1,96$ ). Biberiye okaliptüs ve karanfil grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $z<1,96$ ).

24-48. saatler arasında elde edilen OD elde edilen OD değerlerinin karşılaştırılması sonucu gruplar arasında anlamlı fark olduğu yapılan Chi kare testi ile belirlendi ( $p < 0,05$ ). Post hoc dunn testi ile de kullanılan ajanlardan hangileri arasında anlamlı fark bulunduğu tespit edildi ( $z > 1,96$ ). Negatif kontrol grubu ve %2'lik CHX grubu ile diğer tüm gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir ( $z > 1,96$ ). Pozitif kontrol grubu ve %5,25'lik NaOCl grubu ile tüm gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir ( $z > 1,96$ ). Biberiye okalıptüs ve karanfil grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $z < 1,96$ ).

Tüm bu değerlendirmeler sonucunda *C. albicans*'a karşı %2'lik CHX ve hafif bir miktar OD değerleri yükselse de %5,25'lik NaOCl'in yeterli antibakteriyel kapasiteye sahip olduğu, ancak deneysel gruplardaki biberiye, okalıptüs ve karanfilin yeterli antibakteriyel etkinlik göstermediği sonucuna ulaşılmıştır.

#### 4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Başarılı bir endodontik tedavinin amacı, kök kanalının uygun bir şekilde genişletilip dezenfekte edildikten sonra biyolojik olarak uyumlu bir kanal dolgu materyali ile sızdırmaz bir şekilde üç boyutlu olarak doldurulmasıdır (Çalışkan 2006). Bu amacın sağlanması için kök kanallarının enstrumentasyonu sırasında ve sonrasında enfeksiyon kontrolü için antibakteriyel esaslı irrigasyon solüsyonlarının kullanılması gereklidir. Dezenfeksiyon için doğru bir irrigasyon solüsyonunun kullanılması kritik önem taşır. Geçmişten günümüze bu amaçla farklı irrigasyon solüsyonları kullanılmıştır. En sık kullanılanlar arasında NaOCl, CHX ve MTAD sayılabilir (Bence 1980, Weine 1982, Schilder 1983).

NaOCl doku çözücü ve antibakteriyel özellikleri sebebiyle sıklıkla tercih edilen bir irrigasyon solüsyonudur. Ancak periapikal dokular üzerinde sitotoksik etki göstermesi, bunun yanı sıra aletler üzerinde korozyon oluşturması, hoş olmayan kokusu ve tek başına kullanıldığında smear tabakasını kaldıramaması gibi dezavantajları alternatif bir solüsyon arayışına sebep olmuştur (Sabala ve Powell 1989, Hulsmann ve Hahn 2000, Torabinejad 2003).

CHX'in endodontik enfeksiyonlardan sıklıkla izole edilen bakterilere karşı inhibitör etkisi olduğu gösterilmiştir (Cervone ve ark. 1990). Geniş antimikrobiyal spektruma sahip olan CHX'in dezavantajları doku artıklarını çözmemesi, dişleri, hareketli protezleri ve plastik restorasyonları kahverengiye boyaması ve tat alma duyusunda değişikliğe neden olmasıdır (Fardal ve Turnbull 1986).

MTAD, dentini dezenfekte ettiği ve NaOCl ile beraber kullanıldığında smear tabakasını uzaklaştırdığı ileri sürülen bir irrigasyon solüsyonudur (Torabinejad ve ark. 2003a, Torabinejad ve ark. 2003b). Bu solüsyonun piyasada kolay bulunamaması, nispeten pahalı olması, solüsyon hazırlandıktan sonra 48 saat içinde tüketilme gereksinimi, ışık ile temas neticesinde dişte renklenmeye sebep olması ve *C. albicans* üzerine zayıf etki göstermesi gibi dezavantajları vardır (Tay ve ark. 2006).



Endodontide tüm bu ajanlar çok uzun zamandan beri kullanıldıkları halde yukarıda bahsedilen dezavantajlarından dolayı alternatif ajan arayışı devam etmektedir.

Çok eski zamanlardan beri insanlar, hastalıkları iyileştirmek için bitkileri kullanmışlardır. Günümüzde de çeşitli hastalıkların tedavisinde bitkiler veya onlardan elde edilen ilaçlar kullanılmaktadır (Arıkan 1992).

19. Yüzyılın sonlarından itibaren yapılan bazı çalışmalarla doğal olarak yetişen bazı bitki ve baharatların antimikrobiyal ve antifungal etkilerinin olduğu belgelenmiştir (Elegami ve ark. 2001, Sokovic ve ark. 2002, Singh ve ark. 2008). Enfeksiyonlara sebep olan bakterilerin eliminasyonunda bitkisel ajanların kullanımını inceleyen çalışmaların yeni ilaçların geliştirilmesine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir (Cowan 1999).

Özellikle son yıllarda biberiye (Pandit ve Shelef 1994, Baratta ve ark. 1998, Oluwatuyi ve ark. 2004, Celiktas ve ark. 2007, El-Massry ve ark. 2008, Genena ve ark. 2008, Moghtader ve Afzali 2009), okaliptüs (Weerakkody ve ark. 2011) ve karanfil (Roura ve ark. 2005, Yano ve ark. 2006, Fu ve ark. 2007, Puangpronpitag ve ark. 2008) bitkilerinin antimikrobiyal özellikleri ile ilgili literatürde yayınlanmış birçok yayın mevcuttur.

Bu bitkilerin ekstraktlarının elde edilmesinde çeşitli çözücüler kullanılmaktadır. Diklorometan, metanol, etanol, etil asetat, hegzan, aseton, dietil eter ve su bu çözücülerdendir (Tan ve ark. 2008, Ennajar ve ark. 2009, Hofling ve ark. 2010, Rao ve ark. 2010, Weerakkody ve ark. 2011).

Su dışındaki bu çözücülerin her birinin organik dokular için toksik özellikleri vardır. Ekstraksiyon sonrasında çözücüler uçurulsa da, bileşimde bir miktar kalabileceği göz önünde bulundurularak çalışmamızda su ile elde edilen ekstraktların kullanılması tercih edilmiştir.

Bu çalışmada kullanılan bitkiler çözücü olarak saf suyun tercih edildiği bir ekstraksiyon makinası (Extraction Unit B-811 Standard, Japan) kullanılarak üretici firmanın talimatları doğrultusunda 12 saat boyunca çalıştırıldı ve bitki ekstraktları elde edildi. Elde edilen ekstraktlar deney

yapılıncaya kadar ısı ve ışıktan etkilenmemesi için cam şişelerde, buzdolabında ve karanlık bir ortamda saklandılar.

Çalışmamızda yeni materyaller kullanılacağı için MİK değerleri daha önceden belirlenmiş değildi. Bu yüzden bir ön çalışma ile test edilecek ajanların test edilen mikroorganizmalara karşı MİK değerleri belirlendi. Alternatif antimikrobiyal ajanların aktivitesinin etkinliğini kanıtlamak ve ortamdaki tüm bakterilerin ölmesi için gerekli konsantrasyonlarının belirlenmesi amacıyla sıklıkla kullanılan 2 in vitro teknik vardır. Dilüsyon adı verilen metod ile gerekli antimikrobiyal ajan miktarı nicel olarak belirlenir. Disk difüzyon adlı metotta ise antimikrobiyal ajanı içeren disklerin etrafında oluşan inhibisyon çaplarının büyüklüğü etkinlik varlığını gösterir. Bu tekniklerin her ikisinin de avantajları ve dezavantajları vardır (Estrela ve ark. 2001).

Disk difüzyon yöntemi kolay, standart oldukça ucuz olan ve endodontik dezenfektan ve irrigasyon solüsyonlarının antimikrobiyal aktivitesini test etmede genel olarak kabul edilen bir metottur. Ancak materyalin pH'ı, inkübasyon süresi, toksisitesi, duyarlılığı gibi bazı faktörler petrillerdeki test materyallerinin antimikrobiyal aktivitelerini etkileyebilmektedir. Disk difüzyon metodunda tespit edilen inhibisyon zonun büyüklüğü, test medikamentinin çözünebilirliği ve yayılabilirliğine dayanmaktadır. Bu yüzden etkili konsantrasyonun belirlenmesi zordur. Yukarıda bahsedilen dezavantajlarından dolayı kesin tahminler bu çalışmalara göre yapılmamalıdır (Estrela ve ark. 2001).

Dilüsyon testleri bir antimikrobiyal ajanın bir mikroorganizmanın üremesini inhibe etmek veya öldürmek için gerekli olan minimum konsantrasyonunu belirlemek için uygulanır. Kalite bakımından diğer testlere üstünlüğü tartışılmaz olan bu yöntemin rutinde kullanımı yaygın değildir. Bunun sebebi zaman alıcı ve pahalı bir metot olmasıdır. Bu çalışmada kullanılan materyallerin test edilen mikroorganizmalara karşı hangi konsantrasyonlarda kullanılacağı daha önceden belirlenmemiş olduğundan ve diğer metotlara göre daha güvenilir sonuçlar verdiğinden, MİK belirlemek amacıyla agar dilüsyon testi kullanılmıştır.

Enterokoklar %5 oranında kan içeren herhangi bir besiyerinde çoğaltılabilirler. Enterokoklar için standart besiyerleri Beyin-kalp infüzyon, Todd-Hewitt broth veya Mueller Hinton agardır. Enterokoklar 35-37°C'de anaerop şartlarda üretilebilirler. Bundan dolayı da bu çalışmanın kültür kısmında mikroorganizmaların çoğaltılması için 37 °C'de anaerop ortamda Mueller Hinton Agar kullanarak üreme sağlandı.

Mantarlar, endodontik örneklerden seçici ortam kullanılarak çoğaltılabilirler. Bakterilere göre yüksek pH'a dayanıklıdırlar, bu yüzden mantarların çoğaltılmasında çeşitli seçici ortamlar kullanılmaktadır. Saboraud agar ağız mantarlarının çoğaltılmasında sıklıkla kullanılan bir agardır. pH'ı asidiktir (pH=5,6), böylece bir çok bakterinin üremesini engellerken mantarların ve asidurik organizmaların üremesine izin verir (Waltimo ve ark. 2004).

Mantarlar aynı zamanda laktobasil izolasyonunda kullanılan Rogosa agar ve *S. mutans* ve ilişkili streptokokların çoğaltılması için ideal olan Mitis Salivarius agar gibi asidurik bakterileri hedef alan bazı seçici ortamlarda üreyebilmektedir. Ancak, bu ortamlar ağız mantarlarının üretilmesinde özel olarak kullanılmamaktadır (Waltimo ve ark. 2004).

Yapılan araştırmalar sonucunda mantarların hedef mikroorganizma olduğu durumlarda Saboraud Dekstroz Agar'ın tercih edilmesi uygun görülmüştür (Waltimo ve ark. 2004). Bu yüzden çalışmamızın kültür kısmında mantarlar için Saboraud Dekstroz Agar besiyeri kullanıldı.

Bu araştırmada *C. albicans* ve *E. faecalis* ile enfekte edilen kök kanallarına uygulanan güncel dezenfektanlar ile alternatif bitkisel irrigasyon ajanlarının antimikrobiyal etkinlikleri in vitro olarak incelenmiştir.

In vivo çalışmalarda; deney prosedürü sırasında kontaminasyon riski yüksektir ve hasta ile ilgili zamanlamada çeşitli zorluklar yaşanabilir. Ayrıca çalışma ile ilgili standardizasyon zorluğu gibi problemlerde vardır. In vitro araştırmalar, in vivo araştırmaları direkt olarak yansıtmamakla beraber in vivo çalışmalara öncülük etmektedirler. Çünkü kök kanalı nekrotik veya canlı

dokuları ve bunların sıvılarını içermektedir. Bu durum medikamentlerin etkinliğini azaltmaktadır. Antimikrobiyal etkisi konusunda ilk defa çalışma planlanan solüsyonlar için in vivo bir çalışma yapmak ise doğru değildir ve öncelikle in vitro çalışmalar yapılmalıdır. Çalışmamız bu sebeple in vitro olarak planlanmıştır.

Çalışmamızda tek köklü, tek kanallı, yeni çekilmiş insan kesici dişleri kullanıldı. Kök kanallarındaki mikroorganizmaların eliminasyonu amacıyla kullanılan antibakteriyel ajanların etkinliklerinin değerlendirildiği in vitro çalışmaların pek çoğunda insan veya hayvan dişleri kullanılmıştır. Biz çalışmamızda hayvan dişlerindeki dentinal tübüller ve boyutlardaki farklılıklar dolayısıyla insan dişleri kullanmayı tercih ettik.

Standardizasyon sağlamak ve diş boyutundaki farklılıkların çalışma sonuçları üzerine bir etkisinin olmaması için aynı boyutta diş kullanılmaya çalışıldı ve kök uzunlukları 12 mm olacak şekilde kronlar uzaklaştırıldı. Çalışmada kullanılan dişler deney yapıncaya kadar distile suda bekletildi.

Düzgün bir şekillendirme kök kanallarının temizlenmesini ve doldurulmasını da kolaylaştırmaktadır. Endodontide birçok kök kanal şekillendirme yöntemi geliştirilmiş ve kullanılmıştır. Son yıllarda kök kanal preparasyonunu daha kolay ve kısa süreli hale getirebilmek için pek çok alet, cihaz ve teknik geliştirilmiştir. Özellikle Ni-Ti alaşımının döner aletlerde kullanımı, preparasyonun bitimi için gerekli zamanı azaltma, hekim yorgunluğunu en aza indirme ve uygulama hatalarını azaltabilme özelliklerinden dolayı kök kanal tedavisinde önemli bir gelişme olarak kabul edilmektedir (Thompson ve Dummer 1998). Son yıllarda yapılan çalışmaların çoğunluğunda kanal genişletmek için protaper sistem tercih edilmiştir. Bu çalışmada kök kanal genişletmeleri protaper eğeleri kullanılarak yapılmıştır.

Yapılan birçok çalışmada kök kanal preparasyon işlemlerinin kanal duvarlarında, dentin tübüllerinin 40 µm kadar içerisine uzanabilen yaklaşık 1-2 µm kalınlığında bir smear tabakası oluşturduğu gösterilmiştir (Mader ve ark. 1984, Cengiz ve ark. 1990). Smear tabakasının hem inorganik hem de organik bileşenleri vardır. Dentin tübüllerine invaze olabilen bu tabaka

sağlam dentin, predentin, pulpa artıkları, odontoblast uzantıları, irrigasyon ajanlarının artıkları ve bakterilerden oluşur (McComb ve Smith 1975, Mader ve ark. 1984, Sen ve ark. 1995a, Torabinejad ve ark. 2002).

Smear tabakasının varlığı irrigasyon solüsyonlarının ve kanal dezenfektanlarının dentin tübüllerine ulaşmasına engel olduğu halde (Khedmat ve Shokouhinejad 2008) kaldırılmamasını savunanlar olmuştur. Smear tabakasının koronal ve apikal mikrosızıntının engellenmesinde etkili olduğu (Goldberg ve ark. 1995), bakterilerin dentin tübüllerine ilerlemesinde bariyer görevi gördüğü (Meryon ve Brook 1990, Love ve ark. 1996, Perez ve ark. 1996) ve kök kanal dolgu maddelerinin kanal duvarlarına adaptasyonuna da katkısının olduğu (Gutmann 1993) ileri sürülmüştür. Ancak son yıllarda smear tabakasının kaldırılması gerektiği rapor edilmiştir (George ve ark. 2005, Garcia ve ark. 2010).

Smear tabakası bünyesindeki bakteriler canlı kalıp çoğaldığında mikrobiyal ürünlere rezervuar görevi görebilir (Pashley ve ark. 1987). Bu tabaka bakterilerin daha derin dentin dokularına ilerleyebilmesi için substrat görevi görebilirken (George ve ark. 2005), dolgu maddesi ile kanal duvarı arasında bariyer olarak (White ve ark. 1984) sızıntıya neden olabilir (Cobankara ve ark. 2004). Ayrıca dezenfektan ajanların penetrasyonunu azaltarak derinlerde yerleşen bakterilere ulaşmasına engel olabilir (Yamada ve ark. 1983) ve kendisi enfekte olarak irrigasyon solüsyonlarının ve medikamentlerin antimikrobiyal etkisini azaltabilir (Foster ve ark. 1993, Orstavik ve Haapasalo 1990).

Yapılan çalışmalarda araştırmacılar kök kanallarını test edilecek mikroorganizma ile enfekte etmeden önce preparasyon sırasında oluşan smear tabakasını uzaklaştırarak, dentin kanallarının tamamen temizlenip dentin tübül ağzlarının açılmasını sağlamışlardır. (Safavi ve ark. 1985, Orstavik ve Haapasalo 1990, Behnen ve ark. 2001, Ferraz ve ark. 2001, Oliveira ve ark. 2007, Mercade ve ark. 2009).

Smear tabakasının tamamen uzaklaştırılmasının kök kanal irrigasyonu ve medikamentlerinin dentin tübüllerine penetrasyonunu ve kök kanal dolgu

maddesinin kök kanal duvarına adaptasyonunu kolaylaştıracağı gösterilmiştir (Torabinejad ve ark. 2002, Adanir ve ark. 2006) .

Günümüzde smear tabakasını kaldıracak, bu tabakanın organik ve inorganik içeriği üzerine etkili tek bir ürün bulunmamaktadır. Bu tabakayı kaldırmak için farklı birçok solüsyon ve bunların ortak kullanımı önerilmektedir (Teixeira ve ark. 2005, Caron ve ark. 2010, Garcia ve ark. 2010).

Çalışmamızda test edilecek solüsyonların antibakteriyel etkinliğinin inceleneceği gruplardaki tüm dişlerde enfekte etme işlemi öncesinde preparasyon esnasında oluşan smear tabakasını kaldırmak için 3 ml %5,25'lik NaOCl ve 3 ml %18'lik EDTA ile 1'er dakika yıkama yapıldıktan sonra yine 1 dakika ve 5 ml distile su ile irrigasyon uygulandı (Teixeira ve ark. 2005).

İki adet örnek preperasyon sonrasında, iki adet örnek ise smear tabakası uzaklaştırıldıktan sonra SEM ile incelendi. Uygulanan smear kaldırma işlemleri sonrasında bu tabakanın tamamen ortadan kaldırıldığı gözlemlendi.

Çalışmamızda kök kanalları enfekte edilmeden önce, kullanılan köklerin dış yüzeyleri, irrigasyon solüsyonunun kök ucundan taşmasını ve oluşabilecek herhangi bir sızıntıyı önlemek amacıyla iki kat tırnak cilası ile kaplandı. Polimerize olmuş tırnak cilası içerisindeki çözücülerin muhtemel antibakteriyel etkisi, daha önce yapılmış olan bir çalışma sonucuna göre ihmal edilebilecek kadar düşük seviyede bulunduğundan (Haapasalo ve Orstavik 1987) bizim çalışmamızda da göz önünde bulundurulmadı.

Kök kanal irrigasyon solüsyonlarının antimikrobiyal etkinliklerinin değerlendirilmesinde uygulanan işlemlere en fazla direnç gösteren mikroorganizmalarla çalışılması o materyalle ilgili elde edilen verilerin diğer pek çok mikroorganizma içinde geçerli olması yönünden önemlidir. Kök kanal irrigasyon solüsyonlarının antimikrobiyal etkinliklerinin incelenmesinde kullanılan ve birçok antimikrobiyal ajana karşı yüksek direnç gösteren fakültatif anaerob Gram (+) kok *E. faecalis*, inatçı apikal periodontitiste sıklıkla monokültür olarak bulunmaktadır (Pinheiro ve ark.

2003). Müdahale edilmemiş pulpası nekroz enfekte kök kanallarında az sayıda bulunan bu mikroorganizma (Sundqvist 1992) çevresel koşullar değiştiğinde çok hızlı çoğalabilmektedir (Radcliffe ve ark. 2004). Bu mikroorganizmanın kök kanallarından eliminasyonu oldukça zordur ve endodontik tedavi sonrası başarısızlıklara neden olabilmektedir (Siqueira ve ark. 1997). Endodontik tedavi sonrası devam eden apikal periodontitisli kök kanallarında, primer apikal periodontitisli kök kanallarına nazaran 9 kat daha fazla *E. faecalis* bulunduğu tespit edilmiştir (Rocas ve ark. 2004).

Endodontik enfeksiyonlarda *C. albicans*'ın görülme sıklığı özellikle son on yıldır dikkat çekmektedir. Mantarlar primer kök kanalı enfeksiyonlarında nadiren, tekrarlayan kök kanalı enfeksiyonlarında ise sıklıkla görülmektedirler (Waltimo ve ark. 1997, Ruff ve ark. 2006). *C. albicans*'ın çoğunlukla inatçı kök kanalı enfeksiyonlarında görülmesinin sebepleri; dentin kanallarına invaze olabilmesi ve yaygın olarak kullanılan kanal içi medikamentlere karşı dirençli olması olabilir (Siqueira ve Sen 2004).

Bu çalışmada dişleri enfekte etmek için *E. faecalis* ve *C. albicans* kullanıldı. Bunun sebebi, ağız boşluğundaki en dirençli mikroorganizma türleri olarak bilinmeleridir (Haapasalo ve Orstavik 1987, Siqueira ve Sen 2004). İnatçı apikal periodontitis vakalarından izole edilen bu mikroorganizmaların (Nair ve ark. 2005) eliminasyonlarının oldukça zor olması, sebep oldukları endodontik enfeksiyonların tedavilerinde de sıklıkla problemler yaşanmasına yol açmaktadır (Siqueira ve ark. 1997, Stuart ve ark. 2006).

Mikrobiyolojik çalışmaların sonuçlarının etkilenmemesi açısından kontaminasyonun olmaması ve sterilizasyon çok önemlidir. Bu yüzden deneyde kullanılacak dişler enfekte edilmeden önce sterilizasyon için 121 °C'de, 1 atm basınçta 20 dakika süresince otoklavda steril edildiler (Gomes ve ark. 2003).

*E. faecalis* kullanılan *in vitro* çalışmalarda inokülasyon süreleri 24 saatten 1 aya kadar değişmektedir (Behnen ve ark. 2001, Eddy ve ark. 2005, Oliveira ve ark. 2007). Bir çalışmada *E. faecalis*'in 21 günlük inkübasyonu

sonrası dentin tübüllerine 400-500 µm penetre olabileceği belirtilirken (Fuss ve ark. 2002) başka bir çalışmada dentin tübüllerine penetrasyon için 7 günlük inkübasyon süresinin (Oliveira ve ark. 2007), diğer bir çalışmada ise 4 haftalık inkübasyon süresinin (Johal ve ark. 2007) gerekli olduğu belirtilmiştir.

Haapasalo ve Orstavik (1987) sığır dişlerinden hazırladıkları 4 mm'lik silindirik örnekler üzerinde yaptıkları bir in vitro çalışmada, smear tabakasını kaldırdıktan sonra hazırladıkları blokları üç hafta boyunca *E. faecalis*'le enfekte etmişlerdir. Araştırmacılar bu örneklerden aldıkları SEM görüntülerinde kanal lümeninden dentin kanallarının içerisine doğru 500 µm derinlikte bakterilerin mevcut olduğunu, hatta bazı dentin bloklarında bakteri penetrasyonunun 1000 µm'ye kadar ulaştığını rapor etmişlerdir. Bu araştırmacılar *E. faecalis*'in 24 saat içinde dentin kanallarına 300–400 µm'ye kadar ulaşabildiğini ve daha fazla inkübe edilmiş olan dentin kanallarındaki bakteri penetrasyonu arasında fark olmadığını göstermişlerdir. Bu sebeple de deneysel çalışmalarda daha kısa süreli inkübasyon sürelerinin kullanılabilceğini belirtmişlerdir. Behnen ve ark. (2001) yaptıkları in vitro bir çalışmada hazırladıkları 5 mm yükseklikteki silindirik örnekleri 24 saat boyunca *E. faecalis* ile inkübe etmişler ve bu sürenin dentin tübüllerini enfekte etmek için yeterli olduğunu rapor etmişlerdir.

Doktora tez çalışması için yapılan bir pilot çalışmada 24 saatte yeterli inokulasyon sağlanamadığı için 48 saatlik inokulasyonun uygun olduğuna karar verilmiştir (Yılmaz 2008). Aynı şekilde bir başka tez çalışmasında 24 saatte bir tazesini ile değiştirilmek suretiyle toplam 48 saatlik inkübasyon süresinin sonunda, kanal içerisindeki mikroorganizma sayısının sonraki deneyler için yeterli miktarlara ulaştığı bildirilmiştir (Akyürek 2008). Çalışmamızda yukarıdaki çalışmalar göz önünde bulundurularak tüm gruplarda inkübasyon süresi 48 saat olarak belirlenmiştir.

İnsan veya hayvan dişlerinde irrigasyon solüsyonlarının etkinliklerinin araştırıldığı çalışmalarda sıklıkla mikrobiyolojik sayım yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemle çeşitli tekniklerle kök kanallarından elde edilen örneklerdeki canlı kalmış mikroorganizmaların sayıları tayin



edilmektedir. Mikrobiyolojik sayımlarda kök kanalından örnek alınması sıklıkla iki şekilde yapılmaktadır. Bunlardan ilki enfekte dentin talaşının örnek olarak alınması, ikincisi ise steril kağıt konların kanal içerisine yerleştirilmesi ve belli bir süre kanalda bekletilen bu konların besiyerine transfer edilmesidir (Siqueira ve ark. 1997, Helling ve Chandler 1998, Oncag ve ark. 2003, Eddy ve ark. 2005).

Dentin talaşının alındığı mikrobiyolojik örnekleme yönteminde kök kanal duvarlarının tamamından ve tüm yüzeylere eşit mesafeden örnek alınması mümkün değildir. Bu sebeple de bu yöntemin standardizasyonunun sağlanması zor gibi görünmektedir. Ayrıca bu yöntemde, dentin talaşı alınması sırasında kullanılan döner aletlerin oluşturduğu ısı toplanan örneklerdeki bakteri sayısında azalmaya sebep olabilir ve çok küçük miktarlarda alınan örneklerde standardizasyon sağlamadaki zorluklar ile kontamine olmuş dentinin hangi bölgede yer aldığı veya tamamen kontamine olup olmadığının tespit edilememesi gibi ilave dezavantajları da olabilir.

Çalışmamızda kök kanallarından kağıt kon ile örnek alma yöntemi kullanılmıştır. Dentin tübüllerinde veya lateral kanallardaki bakterilerin kağıt konlar ile alınan örnekler ile tam olarak belirlenememesine rağmen bu yöntem klinik ve laboratuvar olarak yapılan pek çok deneyde kullanılmıştır (Siqueira ve ark. 1997, Dahlen ve ark. 2000, Hancock ve ark. 2001, Oncag ve ark. 2003, Pinheiro ve ark. 2003, Ercan ve ark. 2004, Gomes ve ark. 2004).

Antibakteriyel ajan ile muamele edilmiş köklerden örnekler toplandıktan sonra canlı kalmış bakteriler; direk ya da indirek yöntemler kullanılarak sayılırlar. Çalışmamızda indirek bir sayım metodu olan spektrofotometrik sayım uygulanmıştır. Bu yöntemde sabit dalga boyuna sahip bir ışık kaynağının kullanıldığı spektrofotometre cihazı kullanılmaktadır. Uygulanması pratiktir ve farklı zamanlarda ölçümlerin tekrarlanabilmesine de izin vermektedir. Diğer metotlara nazaran daha standart veriler elde edilen bu yöntemde bir dişten alınan örnekten birden fazla sayıda kültür oluşturularak verilerin sağlamanın yapılması da mümkündür. Bu özellikler ile bakterilerin üreme süreçleri sayısal veriler elde

edilerek belirlenebilmekte ve yöntemin bilimsel olarak daha güvenilir olmasını sağlamaktadır. Bu yöntem dışındaki hiçbir yöntemde belirli zaman aralıklarında bakterilerin üreme süreçleri izlenememektedir, inkübasyon sürecinde hangi zaman aralığında üremenin başladığı, devam edip etmediği ya da hangi dönemlerde durup hızlandığı tespit edilebilmektedir.

Spektrofotometre cihazı ile ölçüm sırasında örneklerin yerleştirildiği pleytler in vivo ortam şartlarının sağlanması amaçlanarak etüvde bekletilmiştir. Spektrofotometre cihazı her okuma öncesinde pleyti çalkalayarak homojen bir bulanıklık sağlamıştır.

Çalışmamızda, antibakteriyel solüsyonlar ile irrije edilmiş enfekte kök kanallarından alınan örneklerdeki bakteri üremesinin normal bakteri üremesi ile kıyaslaması yapılmıştır. İnkübasyon sürecinde hangi zaman aralığında üremenin gerçekleştiği, yavaşladığı ve gerilediği net bir şekilde tespit edilmiş ve sonuç itibarıyla de elde edilen bu verilerle, test edilen solüsyonlarının etkinlikleri hakkında daha fazla veri kazanılmıştır.

İyi bir kök kanal tedavisinin yapılabilmesi için uyulması gereken kritik noktalardan birisi de irrigasyondur. Kök kanalında bulunan mikroorganizmaların uzaklaştırılmasında irrigasyon solüsyonları önemli bir görev üstlenmektedir. Aynı zamanda kullanılan irrigasyon solüsyonlarının tipi, içeriği, konsantrasyonu, pH'ı, uygulama süresi, uygulama tekniği mikroorganizmaların eliminasyonunda oldukça önemlidir (Radcliffe ve ark. 2004, Sedgley ve ark. 2005, Johal ve ark. 2007).

NaOCl'in uzun yıllardır kanal tedavisinde irrigasyon solüsyonu olarak kullanılması (Jeansonne and White 1994) birçok in vitro çalışmada değerlendirilmesine sebep olmuştur.

NaOCl, kanal içerisindeki organik dokuyu çözebilme yeteneği ve bakterilere karşı geniş spektrumlu olan etkisinden dolayı kök kanallarının kemomekanik temizliğinde %0,5-5,25 konsantrasyonlarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Jeansonne ve White 1994, Zehnder ve ark. 2002). Berber ve ark.(2006) yaptıkları çalışmada NaOCl'in %0,5-5,25 konsantrasyonları

arasında antimikrobiyal etkinlik bakımından fark olmadığını fakat solüsyonun dentine penetrasyonunu değerlendirdiklerinde konsantrasyon azaldıkça solüsyonun dentin tübüllerindeki antimikrobiyal etkisinin azaldığını belirtmişlerdir. Kök kanallarında kullanılan NaOCl'in antimikrobiyal aktivitesi irrigasyonun konsantrasyonuna, sıcaklığına, uygulama miktarına uygulama zamanına ve hipokloröz asit (HCIO) konsantrasyonuna bağlıdır (Estrela ve ark. 2003, Gomes ve ark. 2001). Gomes ve ark. (2001) *E. faecalis*'i kök kanallarından elimine edebilmek için %5,25'lik NaOCl'i 5 dakikalık uygulamanın, Abdullah ve ark. (2005) ise 2 dakikalık uygulamanın yeterli olduğunu belirtmişlerdir.

Kök kanal sisteminin temizleme ve şekillendirilmesinde irrigasyon solüsyonunun miktarının önemli olduğu bildirilmiştir (Sedgley ve ark. 2005). Sedgley ve ark. (2005) yapmış oldukları çalışmada kanal içerisine uygulanan 6 ml irrigasyon solüsyonunun 3 ml irrigasyon solüsyonuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla antibakteriyel etki gösterdiğini rapor etmişlerdir. Aynı çalışmada kanal içerisinde çalışma boyundan 1 mm geride yerleştirilen iğne ucunun 5 mm geride yerleştirilen iğne ucundan daha etkin bir şekilde irrigasyon sağladığını rapor etmişlerdir (Sedgley ve ark. 2005). Başka bir çalışmada Vinothkumar ve ark. (2007) irrigasyon iğne ucu dizaynının kök kanalından bakterileri uzaklaştırma etkinliğini incelemişlerdir. Yapmış oldukları çalışmanın sonucuna göre yan taraftan açılan endodontik iğne ucunun kliniklerde yaygın olarak kullanılan hipodermik iğne ucundan daha etkin olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada kök kanallarının irrigasyonu 1 dk süre içinde 5 ml solüsyon kullanılarak steril 27 gaujluk endodontik iğne ucu çalışma boyundan 1mm kısa olacak şekilde yerleştirilerek yapıldı. Çalışmamızda örnek alma işlemi öncesinde kök kanallarının final irrigasyonu steril serum fizyolojik ile yapıldı. Bu şekilde çalışmanın sonuçlarının kanalda kalmış olabilecek irrigasyon solüsyonundan etkilenmesi önlenilmek istendi. Deneyde standardizasyonun sağlanması için tüm işlemler tek bir araştırmacı tarafından yapıldı.

Bystrom ve Sundqvist (1985) kanal içerisinde %0,5'lik NaOCl'in *E. faecalis*'in eliminasyonunda serum fizyolojikten daha etkili olduğunu, Valera ve ark. (2009) %1'lik NaOCl'in, Vianna ve ark. (2006) %2,5'luk NaOCl'in, Abdullah ve ark. (2005) ise %3'lük NaOCl'in kullanılması gerektiğini belirtirken, Siqueira ve ark. (2000) ise %0,5-5'lik konsantrasyonu arasında önemli fark olmadığını belirtmişlerdir. NaOCl'in düşük konsantrasyonları daha az antimikrobiyal etki gösterirken (Siqueira ve ark. 2000) yüksek konsantrasyonları daha fazla ve daha hızlı antimikrobiyal etki göstermektedir (Gomes ve ark. 2001). Ferraz ve ark. (2007) NaOCl'nin en etkili konsantrasyonunun %5,25'lik konsantrasyonu olduğunu belirtmişlerdir.

Çalışmamızda *E. faecalis* ve *C. albicans*'ın kök kanallarından uzaklaştırılmasında NaOCl %5,25'lik konsantrasyonunda kullanılmıştır. Bu çalışmanın bulgularına göre %5,25'lik NaOCl kanal içerisinde, literatürdeki çalışmalara benzer şekilde *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı oldukça etkili bulunmuştur.

Uzun yıllardan beri en yaygın kullanılan irrigasyon solüsyonlarından birisi olan NaOCl yüksek konsantrasyonlarda oldukça irritandır (Kuruvilla ve Kamath 1998). Düşük konsantrasyonda ise spesifik mikroorganizmalara karşı etkisizdir (Leonardo ve ark. 1999).

Uzun yıllardan beri periodontolojide ağız gargarası olarak kullanılan CHX (Gjeremo 1974, Lindskog ve ark. 1998), endodontide de irrigasyon solüsyonu ve kanal içi medikament olarak kullanılmaktadır (Ferraz ve ark. 2007, Siqueira ve de Uzeda 1997). CHX bakteri hücre duvarına adsorbe olur ve intraselüler komponentlere sızarak (Gomes ve ark. 2003) 48 saatten 21 güne kadar etki gösterebilir (White ve ark. 1997). CHX %0,2 ile %2 konsantrasyonlar arasında kullanılmaktadır. Bizim çalışmamızda da CHX %2'lik konsantrasyonda kullanılmıştır ve CHX ile irrigasyon yapılan örneklerde kanal içerisindeki mikroorganizmaların tamamı elimine edilmiştir. Bu grup negatif kontrol grubu ile anlamlı bir şekilde benzerlik göstermiştir.

Yeşilsoy ve ark. (1995) CHX'in biyoyumlu olduğunu ancak kanal duvarını NaOCl kadar iyi temizleyemediğini bulmuşlardır. Buna karşın

çalışmalarında, Estrela ve ark. (2003)'nin bulgularının aksine CHX'in hem *E. faecalis*'e karşı oldukça etkili olduğunu hem de bu etkisinin NaOCl'den daha iyi olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları Menezes ve ark. (2004)'nin %2'lik CHX'in %2,5'lük NaOCl'den daha etkili irrigasyon solüsyonu olduğunu bildirdikleri çalışmanın sonucunu destekler niteliktedir.

Vianna ve ark. (2004), Sassone ve ark. (2008) ve Vianna ve Gomes (2009) yaptıkları çalışmalarla CHX'in *E. faecalis*'e karşı antibakteriyel etki gösterdiğini belgelemişlerdir.

Bizim çalışmamızda da *E. faecalis* ve *C. albicans*'ın kök kanallarından uzaklaştırılmasında %2'lik CHX kullanılmıştır. Çalışmamızın sonuçlarına göre CHX ile irrigate edilen gruplarda literatürdeki çalışmaları destekleyecek şekilde deney süresindeki tüm saatlerde OD değerlerinde negatif kontrol grubu ile benzerlik göstererek hiç artış olmamıştır.

Enfeksiyonlara sebep olan bakterilerin eliminasyonunda bitkisel ajanların kullanımını inceleyen çalışmaların yeni ilaçların geliştirilmesine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Özellikle son yıllarda biberiye, okaliptüs ve karanfil bitkilerinin antimikrobiyal özellikleri ile ilgili literatürde yayınlanmış birçok yayın mevcuttur (Pandit ve Shelef 1994, Baratta ve ark. 1998, Dorman ve Deans 2000, Tsiri ve ark. 2003, Oluwatuyi ve ark. 2004 , Roura ve ark. 2005, Yano ve ark. 2006, Bozin ve ark. 2007, Celiktas ve ark. 2007, Fu ve ark. 2007, Agarwal ve ark. 2008, El-Massry ve ark. 2008, Genena ve ark. 2008, Ghalem ve Mohamed 2008, Hoque ve ark. 2008, Puangpronpitag ve ark. 2008, Du ve ark. 2009, Klančnik ve ark. 2009b, Moghtader ve Afzali 2009, Ben Marzoug ve ark. 2010, Naceur ve ark. 2010, Weerakkody ve ark. 2011) .

Yapılan çok sayıda çalışmalarla bu bitki ekstraktlarının güçlü antibakteriyel ve antifungal etkileri olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda bu sebeple bu bitkilerin kullanımını tercih edilmiştir.

Biberiye ekstraktlarının antimikrobiyal ve antifungal özellikleri olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Pandit ve Shelef 1994, Baratta ve ark.

1998, Oluwatuyi ve ark. 2004, Bozin ve ark. 2007, Celiktaş ve ark. 2007, El-Massry ve ark. 2008, Genena ve ark. 2008, Klancnik ve ark. 2009b, Moghtader ve Afzali 2009).

Biberiyeninde dahil olduğu çeşitli aromatik bitkilerden elde edilen ekstraktların antimikrobiyal etkilerinin incelendiği bir çalışmada 25 farklı bakteri ve bir mantar türüne karşı antimikrobiyal etkiler değerlendirilmiştir. Test edilen ajanlar belirlenen bakterilerin tamamına ve mantara karşı inhibitör etki göstermişlerdir (Baratta ve ark. 1998).

Bozin ve ark. (2007) biberiye ve adaçayının esansiyel yağlarının antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerini değerlendirmiş, deneyde kullandıkları 13 bakteri, 6 mantar ve 5 dermatofiset üzerinde antimikrobiyal etki belirlemişlerdir.

Oluwatuyi ve ark. (2004) bir çalışmada biberiye ekstraktlarının çeşitli direnç mekanizmaları gösterdiği bilinen *S. aureus*'a karşı antibakteriyel etkilerini değerlendirmiş ve gösterdikleri antibakteriyel ve inhibitör etkinin doğal ürünleri ilgi çekici potansiyel hedefler haline getirdiğini belirtmişlerdir.

İçlerinde biberiyenin de bulunduğu çeşitli bitkisel ekstraktların *E.coli* ve *S. aureus* üzerine inhibitör ve bakterisidal etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada biberiye içeriğinin bakteriler üzerinde anlamlı inhibitör etkileri olduğu gözlenmiştir (Vegara ve ark. 2011).

Bir çalışmada karanfil ve biberiyenin de içinde bulunduğu 18 farklı bitki ve baharat ekstraktı antilisterial etkileri için değerlendirilerek test edilen ajanlardan yalnızca karanfil ve biberiyenin anlamlı etkiler gösterdiği bulunmuştur. Bu çalışmada biberiyenin hem su hem de etanol ile elde edilen ekstraktları değerlendirilmiş ve su ile elde edilmiş ekstraktın etanole oranla daha düşük etki gösterdiği belirlenmiştir (Pandit ve Shelef 1994).

Biberiyenin metanol ile elde edilen ekstraktının 37 farklı dirençli mikroorganizmaya karşı antibakteriyel etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada *S. aureus* ve *E. faecalis* bakterilerinde tamamen inhibisyon

sağlanmıştır. Diğer bakteriler üzerinde de çeşitli boyutlarda etki belirlenmiştir (Zampini ve ark. 2013).

Biberiye esansiyel yağının insan patojenleri üzerine etkilerinin değerlendirildiği bir başka çalışmada streptomisin ve nistatine oranla daha yüksek antibakteriyel ve antifungal etkileri olduğu belirlenmiştir (Kazemi ve ark. 2012)

Bizim yaptığımız çalışmanın sonucunda biberiyenin su ile elde edilen ekstraktının *E. faecalis* örneklerinde 8. Saatten sonra *C. albicans* örneklerinde ise 5. saatten sonra bakteri üremesi olduğu belirlendi. Diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında biberiyenin etkisinin antibakteriyel etkisinin kötü olması diğer çalışmalardan farklı olarak bu çalışmada ekstrakt hazırlanmasında su kullanılmasın abğlı olabilir Ex vivo çalışmalarda inhibitör etkileri olduğu saptanan ekstraktın kanal içinde etkisiz kalmasını dentin tübüllerine penetrasyonundaki yetersizliğe ve kanal içeriği sebebiyle etkisinin nötralize olmasına bağlı olduğu düşünülebilir. Ayrıca Klancnik ve ark. (2009a) biberiye ekstraktının gram pozitif bakterilere karşı daha az etkili olduğunu göstermiştir. Bu da bizim çalışmamızın sonuçlarıyla benzerdir.

Zampini ve ark. (2013) biberiyenin *E. faecalis* bakterisini tamamen inhibe ettiğini göstermesine rağmen bizim çalışmamızda ise inhibisyon etkisinin yetersiz olduğu belirlenmiştir. Zampini ve ark. (2013) çalışmalarında çözücü olarak metanol kullanırken biz su kullandık ayrıca onların çalışmalarında dentin kullanılmamış olması sebebiyle iki çalışmada farklı sonuçlar elde edilmiş olabilir.

Okaliptüs ekstraktlarının antimikrobiyal ve antifungal özellikleri olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Tsiri ve ark. 2003, Agarwal ve ark. 2008, Ghalem ve Mohamed 2008, Ben Marzoug ve ark. 2010, Naceur ve ark. 2010, Weerakkody ve ark. 2011).

Agarwal ve ark. (2008) 30 farklı bitkisel yağı *C. albicans* biofilmlerine karşı değerlendirmiş, disk difüzyon metodunu kullandıkları çalışmalarında 18 bitkinin *C. albicans*'a karşı etkili olduğunu bulmuşlardır. Bu çalışmada

biofilm redüksiyonunda en fazla etkiyi sırasıyla okaliptüs %80.87, nane %74.16, zencefil % 40.46 ve karanfil %28.57 oranlarıyla göstermişlerdir.

Ben Marzoug ve ark. (2010), Naceur ve ark. (2010) yaptıkları çalışmaların sonucunda okaliptüsün antimikrobiyal ve antifungal etkileri olduğunu gözlemlemişlerdir

Ghalem ve Mohamed (2008) çeşitli okaliptüs türlerinin yapraklarından elde edilen esansiyel yağların gram pozitif bir bakteri olan *S. aureus* ve gram negatif bir bakteri olan *E. coli* üzerine etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada özellikle *E. coli* üzerine test edilen ajanların mükemmel bir inhibitör etki gösterdikleri bulunmuş ve okaliptüs ekstraktlarının mikrobiostatik, antiseptik ve dezenfektan olarak kullanımlarının faydalı olabileceği bildirilmiştir.

Çalışmamızın sonucunda Okaliptüs'ün su ile elde edilen ekstraktı ile irrigasyon sonrası *E. faecalis* örneklerinde 7. saatten sonra *C. albicans* içinde yine 7. saatten sonra bakteri üremesi olduğu belirlendi.

Agarwal ve ark. (2008) okaliptusu *C. Albicans*'a karşı en etkin bitkisel ajan olarak bildirmelerine rağmen bizim çalışmamıza bu sonuçlar çelişmektedir. Bu iki çalışma arasında çözücü farklılığı ve Agarwal'ın çalışmasından farklı olarak bizim çalışmamızda dentin kullanılması gibi temel farklılıklar vardır.

Karanfil ekstraktlarının antimikrobiyal ve antifungal özellikleri olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Dorman ve Deans 2000, Roura ve ark. 2005, Yano ve ark. 2006, Fu ve ark. 2007, Ghalem ve Mohamed 2008, Hoque ve ark. 2008, Puangpronpitag ve ark. 2008, Du ve ark. 2009).

İçinde karanfilinde bulunduğu çeşitli bitkisel yağların 25 farklı bakteri türüne karşı antibakteriyel etkileri değerlendirildiğinde test edilen tüm mikroorganizmalara karşı anlamlı derecede inhibitör etkiler gözlenmiştir (Dorman ve Deans 2000).



Bir çalışmada karanfil esansiyel yağı ve sulu ekstraktlarının 100 farklı bakteri türüne karşı antibakteriyel potansiyeli değerlendirilmiş, esansiyel yağın tüm bakterilere karşı güçlü bir etki gösterdiği, su ile elde edilen ekstraktlarında özellikle *P. aeruginosa* türüne karşı etkili olduğu belirlenmiştir (Saeed ve Tariq 2008).

Çalışmamızın sonucunda karanfilin su ile elde edilen ekstraktı ile irrigasyon sonrasında *E. faecalis* örneklerinde 7. saatten sonra *C. albicans* içinde 7. saatten sonra bakteri üremesi olduğu belirlendi.

Bu çalışmanın sonucunda hem *E. faecalis*'e hem *C. albicans*'a karşı CHX ile NaOCl solüsyonlarının, biberiye okaliptüs ve karanfil ekstraktlarına oranla anlamlı derecede daha etkin oldukları bulundu. CHX ile NaOCl solüsyonlarının gösterdikleri antibakteriyel etki arasında anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte CHX solüsyonunun NaOCl solüsyonundan daha etkili olduğu görüldü.

Çalışmamızda NaOCl ile irrigate edilen örneklerde OD değerlerinin 22. saate kadar negatif kontrol grubuyla anlamlı şekilde benzer olduğu ve sonuç itibariyle NaOCl'in *E. faecalis*'e karşı antibakteriyel özellik gösterdiği belirlenmiştir. Dolayısıyla bu araştırma sonuçları diğer araştırmacıların bulgularını destekler niteliktedir.

NaOCl'in %5.25'lik solüsyonunun *C. albicans*'a karşı antibakteriyel etki gösterdiği bildirilmiştir (Sen ve ark. 1999, Waltimo ve ark. 2000, Vianna ve ark. 2004). Çalışmamızda NaOCl ile irrigate edilen örneklerde OD değerlerinin 16. Saatten itibaren negatif kontrol grubu ile anlamlı bir fark göstermeye başladığı belirlenmiştir.

CHX'in *E. faecalis*'e ve *C. albicans*'a karşı antibakteriyel özellik gösterdiği pek çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Jeanson ve White 1994, Oncag ve ark. 2003, Vianna ve Gomes 2009, Vianna ve ark. 2004). Çalışmamızda da CHX ile irrigasyon yapılan örneklerin zamana bağlı OD değişimlerinin negatif kontrol grubu ile tüm saat dilimlerinde istatistiksel olarak benzerlik gösterdiği belirlendi.

Çalışmamızda biberiye ve karanfil ekstraktları ile irrigasyon yapılan örneklerin zamana bağlı OD değerleri *E. faecalis* için 8. Okaliptüs ise 7. Saatten itibaren artış göstermeye başladı. *C. albicans* için biberiye, karanfil ve okaliptüs 5. Saatten itibaren negatif kontrol grubu ile anlamlı bir fark gösterdiği belirlenmiştir.

Daha önceki yapılan çalışmalarda bu ekstraktların yüksek antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmişse de bizim yaptığımız çalışmada test edilen bakterilere karşı etkili bir inhibisyon sağlanamamıştır. Yaptığımız ön çalışmada önceden yapılmış çalışmalarla paralel olacak şekilde *E. faecalis* ve *C. albicans* bakterilerinin her ikisi için de total eliminasyonu sağlayan MİK değerleri belirlenmiş olmasına rağmen, kök kanallarının çalışmaya dahil olmasıyla solüsyonların etkinliği çok büyük ölçüde azalmıştır.

Çalışmamızın bulgularına göre %5,25'lik NaOCl ve %2'lik CHX kanal içerisinde, literatürdeki çalışmalara benzer şekilde *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı oldukça etkili bulunmuştur. Bu mikroorganizmaların eliminasyonunda biberiye, okaliptüs ve karanfil ekstraktları NaOCl ve CHX kadar etkili bulunmamakla birlikte anlamlı olmasa da steril serum fizyolojiktan daha iyi etki göstermişlerdir.

Bu çalışmanın sonucunda;

1. NaOCl ve CHX'in bu iki mikroorganizma için çok yüksek antibakteriyel etkileri olduğu belirlendi.
2. Biberiye, okaliptüs ve karanfilin NaOCl ve CHX'e iyi bir alternatif olmadığı belirlendi.
3. Bu araştırma bahsedilen ekstraktlar için endodonti alanında değerlendirilen ilk çalışma olmasından dolayı daha fazla çalışmalara ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

ABDULLAH M, NG YL, GULABIVALA K, MOLES DR, SPRATT DA. (2005) Susceptibilities of two *Enterococcus faecalis* phenotypes to root canal medications. *J Endod*,31,30-36.

ADANIR N, COBANKARA FK, BELLI S. (2006) Sealing properties of different resin-based root canal sealers. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*,77,1-4.

AGARWAL V, LAL P, PRUTHI V. (2008) Prevention of *Candida albicans* biofilm by plant oils. *Mycopathologia*,165,13-19.

AKTENER BO, BILKAY U. (1993) Smear layer removal with different concentrations of EDTA-ethylenediamine mixtures. *J Endod*,19,228-231.

AKYILMAZ M., AVCIOĞLU E., GÜNAŞTI R. (1979) : *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. Fidanının Yetiştirilmesi Tekniği Üzerine Araştırmalar, Kavak ve Hızlı Gelişen Tür Orman Ağaçları Araştırma Enstitüsü, Yıllık Bülten No: 14, İzmit, S: 96-128

AKYÜREK B. (2008) Son yıkamada kullanılan farklı kök kanalı yıkama solüsyonlarının antifungal ve antibakteriyel etkinliklerinin *in vitro* olarak incelenmesi, T.C. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.

ANDO N, HOSHINO E. (1990) Predominant obligate anaerobes invading the deep layers of root canal dentin. *Int Endod J*,23,20-27.

ANGLES ML, MARSHALL KC, GOODMAN AE. (1993) Plasmid Transfer between Marine Bacteria in the Aqueous Phase and Biofilms in Reactor Microcosms. *Appl Environ Microbiol*,59,843-850.

ARDA, M. (2000). Temel Mikrobiyoloji. İkinci baskı. Ankara: Medisan Yayın Serisi

ARDIZZONI A, BLASI E, RIMOLDI C, GIARDINO L, AMBU E, RIGHI E, NEGLIA R. (2009) An *in vitro* and *ex vivo* study on two antibiotic-based endodontic irrigants: a challenge to sodium hypochlorite. *New Microbiol*,32,57-66.

ARIAS-MOLIZ MT, FERRER-LUQUE CM, ESPIGARES-GARCIA M, BACA P. (2009) *Enterococcus faecalis* biofilms eradication by root canal irrigants. *J Endod*,35,711-714.

ARIKAN S. (1992) Bazı tohumlu bitki ekstraktlarının çeşitli mikroorganizmalar üzerindeki antibakteriyel etkileri. *Kükem Dergisi*,15,39-47.

ARMITAGE GC, RYDER MI, WILCOX SE. (1983) Cemental changes in teeth with heavily infected root canals. *J Endod*,9,127-130.

ATHANASSIADIS B, ABBOTT PV, WALSH LJ. (2007) The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. *Aust Dent J*,52,S64-82.

AYDİN C, TUNCA YM, SENSES Z, BAYSALLAR M, KAYAOĞLU G, ORSTAVİK D (2007). Bacterial reduction by extensive versus conservative root canal instrumentation *in vitro*. *Acta Odontol. Scand.*, 65: 167-170.

BAKER CN, STOCKER SA, CULVER DH, THORNSBERRY C. (1991) Comparison of the E Test to agar dilution, broth microdilution, and agar diffusion susceptibility testing techniques by using a special challenge set of bacteria. *J Clin Microbiol*,29,533-538.

BANYAI ES, TULOK MH, HGEDÜS A, RENNER C, VARGAIS. (2003) Antioxidant effect of various rosemary (*Rosmarium officinalis* L.) clones. *Acta Biologica Szegediensis*,47,111-113.

BARATTA MT, DORMAN HJD, DEANS SG, BIONDI DM, RUBERTO G. (1998) Chemical composition, antimicrobial and antioxidative activity of laurel, sage, rosemary, oregano and coriander essential oils. *J Essent Oil Res*,10,618-627.

BARON EJ, PETERSON LR, FINEGOLD SM. (1994) Methods for testing antimicrobial effectiveness. In: Bailey and Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. (pp 168-193). St. Louis: Mosby-Year Book, Inc.

BASRANI B, SANTOS JM, TJADERHANE L, GRAD H, GORDUYSUS O, HUANG J, LAWRENCE HP, FRIEDMAN S. (2002) Substantive antimicrobial activity in chlorhexidine-treated human root dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*,94,240-245.

BASRANI BR, MANEK S, SODHI RN, FILLERY E, MANZUR A. (2007) Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. *J Endod*,33,966-969.

BAUER, AW, KIRBY WMM, SHERRIS JC, TURCK M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology* 45, 493-6.

BAUMGARTNER JC, MADER CL. (1987) A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. *J Endod*,13,147-157.

BAUMGARTNER JC, WATKINS BJ, BAE KS, XIA T. (1999) Association of black-pigmented bacteria with endodontic infections. *J Endod*,25,413-415.

BAUMGARTNER JC, WATTS CM, XIA T. (2000) Occurrence of *Candida albicans* in infections of endodontic origin. *J Endod*,26,695-698.

BEHBEHANI MJ, JORDAN HV. (1982) Comparative pathogenicity of *Actinomyces* species in mice. *J Med Microbiol*,15,465-473.

BEHNEN MJ, WEST LA, LIEWEHR FR, BUXTON TB, MCPHERSON JC, 3rd. (2001) Antimicrobial activity of several calcium hydroxide preparations in root canal dentin. *J Endod*,27,765-767.

BELTZ RE, TORABINEJAD M, POURESMAIL M. (2003) Quantitative analysis of the solubilizing action of MTAD, sodium hypochlorite, and EDTA on bovine pulp and dentin. *J Endod*,29,334-337.

BEN MARZOUG HN, BOUJILA J, ENNAJAR M, LEBRIHI A, MATHIEU F, COUDERC F, ABDERRABA M, ROMDHANE M. (2010) Eucalyptus (*gracilis*, *oleosa*, *salubris*, and *salmonophloia*) essential oils: their chemical composition and antioxidant and antimicrobial activities. *J Med Food*,13,1005-1012.

BENCE R. (1980) Handbook of clinical endodontics. 2nd ed. St. Louis, The C.V. Mosby Company, sf.1

BERBER VB, GOMES BP, SENA NT, VIANNA ME, FERRAZ CC, ZAIA AA, SOUZA-FILHO FJ. (2006) Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing *Enterococcus faecalis* within root canals and dentinal tubules. *Int Endod J*. 2006 Jan;39(1):10-7.

BONESVOLL P, LOKKEN P, ROLLA G. (1974) Influence of concentration, time, temperature and pH on the retention of chlorhexidine in the human oral cavity after mouth rinses. *Arch Oral Biol*,19,1025-1029.

BOOTH MC, BOGIE CP, SAHL HG, SIEZEN RJ, HATTER KL, GILMORE MS. (1996) Structural analysis and proteolytic activation of *Enterococcus faecalis* cytolysin, a novel lantibiotic. *Mol Microbiol*,21,1175-1184.

BOZIN B, MIMICA-DUKIC N, SAMOJLIK I, JOVIN E. (2007) Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils. *J Agric Food Chem*,55,7879-7885.

BRANNSTROM M. (1984) Smear layer: pathological and treatment considerations. *Oper Dent Suppl*,3,35-42.

BRITISH PHARMACOPOEIA, (1988) Vol. 2, HMSO, London, A137-A138

BRUCH MK. (2007) Toxicity and safety of topical sodium hypochlorite. *Contrib Nephrol* ;154:24-38

BULLARMAN LB, LIEU FY, SEIER SA. (1977) Inhibition of growth and aflatoxin production of cinna- mon and clove oils : Cinnamic aldehyde and eugenol. *J. Food Sci*,42,1107-1109.

BURNS RC, HERBRANSON EJ. (1998) *Tooth Morphology and Cavity Preparation, Pathways of the Pulp* ed. Cohen S, Burns RC 7th ed. Mosby, sf 150.

BYSTROM A, SUNDQVIST G. (1981) Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res*,89,321-328.

BYSTROM A, SUNDQVIST G. (1985) The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J*,18,35-40.

CALISKAN MK. (2004) Prognosis of large cyst-like periapical lesions following nonsurgical root canal treatment: a clinical review. *Int Endod J*,37,408-416.

CALT S, SERPER A. (2000) Smear layer removal by EGTA. *J Endod*,26,459-461.

CALVO PEREZ V, MEDINA CARDENAS ME, SANCHEZ PLANELLS U. (1989) The possible role of pH changes during EDTA demineralization of teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*,68,220-222.

CARON G, NHAM K, BRONNEC F, MACHTOU P. (2010) Effectiveness of different final irrigant activation protocols on smear layer removal in curved canals. *J Endod*,36,1361-1366.

CASTELLUCI A. (2004) *Endodontics*.pb Il Tridente (Firenze) pg.17-9

CELIKTAS Y, KOCABAS H, BEDIR E, SUKAN V, OZEK T, BASER KHC. (2007) Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chem.*,100,553-559.

CENGIZ T, AKTENER BO, PISKIN B. (1990) Effect of dentinal tubule orientation on the removal of smear layer by root canal irrigants. A scanning electron microscopic study. *Int Endod J*,23,163-171.

CERVONE F, TRONSTAD L, HAMMOND B. (1990) Antimicrobial effect of chlorhexidine in a controlled release delivery system. *Endod Dent Traumatol*,6,33-36.

CEYLAN, A. (1996) Uçucu Yağ Bitkileri. Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları. İzmir.sf 222

CHAVEZ DE PAZ LE, MOLANDER A, DAHLEN G. (2004) Gram-positive rods prevailing in teeth with apical periodontitis undergoing root canal treatment. *Int Endod J*,37,579-587.

CHAVEZ DE PAZ LE. (2007) Redefining the persistent infection in root canals: possible role of biofilm communities. *J Endod*,33,652-662.

CITRON DM, OSTOVARI MI, KARLSSON A, GOLDSTEIN EJ. (1991) Evaluation of the E test for susceptibility testing of anaerobic bacteria. *J Clin Microbiol*,29,2197-2203.

CLEGG MS, VERTUCCI FJ, WALKER C, BELANGER M, BRITTO LR. (2006) The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentin biofilms in vitro. *J Endod*,32,434-437.

CLEWELL DB. (1981) Plasmids, drug resistance, and gene transfer in the genus *Streptococcus*. *Microbiol Rev*,45,409-436.

COBANKARA FK, ADANIR N, BELLI S. (2004) Evaluation of the influence of smear layer on the apical and coronal sealing ability of two sealers. *J Endod*,30,406-409.

COOLIDGE ED. (1919) The diagnosis and treatment of conditions from diseased dental pulps. *J Ame Dent Assoc* ; 6: 337-349

COS P, HERMANS N, DE BRUYNE T, APERS S, SINDAMBIWE JB, VANDEN BERGHE D, PIETERS L, VLIETINCK AJ. (2002) Further evaluation of Rwandan medicinal plant extracts for their antimicrobial and antiviral activities. *J Ethnopharmacol*,79,155-163.

COWAN MM. (1999) Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev*,12,564-582.

CUNNINGHAM WT, JOSEPH SW. (1980) Effect of temperature on the bactericidal action of sodium hypochlorite endodontic irrigant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*,50,569-571.

CVEK M, NORD CE, HOLLENDER L. (1976) Antimicrobial effect of root canal debridement in teeth with immature root. A clinical and microbiologic study. *Odontol Revy*,27,1-10.

ÇALIŞKAN MK. (2006) Endodontide Tanı ve Tedavi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; s. 401-32

ÇETİN E.T. (1982) Dezenfeksiyon, Antisepsi Sterilizasyon İşlemleri ve HastanedeUygulanışları. *İ.Ü. Tıp Fak. Yayınları*, İstanbul.:53-54

DAHLEN G, SAMUELSSON W, MOLANDER A, REIT C. (2000) Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from the root canal. *Oral Microbiol Immunol*,15,309-312.

DAKIN HD. (1915a) The Antiseptic Action Of Hypochlorites: The Ancient History of the "New Antiseptic.". *Br Med J*,2,809-810.

DAKIN HD. (1915b) On the Use of Certain Antiseptic Substances in the Treatment of Infected Wounds. *Br Med J*,2,318-320.

DAKIN HD. (1916) The Behaviour of Hypochlorites on Intravenous Injection and Their Action on Blood Serum. *Br Med J*,1,852-854.

DAVIES GE, FRANCIS J, MARTIN AR, ROSE FL, SWAIN G. (1954) 1:6-Di-4'-chlorophenyldiguanidohexane (hibitane); laboratory investigation of a new antibacterial agent of high potency. *Br J Pharmacol Chemother*,9,192-196.

DAVIS SR, BRAYTON SM, GOLDMAN M. (1972) The morphology of the prepared root canal: a study utilizing injectable silicone. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*,34,642-648.

DE MOOR RJ. (2002) C-shaped root canal configuration in maxillary first molars. *Int Endod J*,35,200-208.

DELANY GM, PATTERSON SS, MILLER CH, NEWTON CW. (1982) The effect of chlorhexidine gluconate irrigation on the root canal flora of freshly extracted necrotic teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*,53,518-523.

DESAI P, HIMEL V. (2009) Comparative safety of various intracanal irrigation systems. *J Endod*,35,545-549.

DISTEL JW, HATTON JF, GILLESPIE MJ. (2002) Biofilm formation in medicated root canals. *J Endod*,28,689-693.

DORMAN HJ, DEANS SG. (2000) Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J Appl Microbiol*,88,308-316.

DU WX, OLSEN CW, AVENA-BUSTILLOS RJ, MCHUGH TH, LEVIN CE, FRIEDMAN M. (2009) Effects of allspice, cinnamon, and clove bud essential oils in edible apple films on physical properties and antimicrobial activities. *J Food Sci*,74,M372-378.

DUGGAN JM, SEDGLEY CM. (2007) Biofilm formation of oral and endodontic *Enterococcus faecalis*. *J Endod*,33,815-818.

DUNAVANT TR, REGAN JD, GLICKMAN GN, SOLOMON ES, HONEYMAN AL. (2006) Comparative evaluation of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilms. *J Endod*,32,527-531.

EDDY RS, JOYCE AP, ROBERTS S, BUXTON TB, LIEWEHR F. (2005) An in vitro evaluation of the antibacterial efficacy of chlorine dioxide on *E. faecalis* in bovine incisors. *J Endod*,31,672-675.

EGAN MW, SPRATT DA, NG YL, LAM JM, MOLES DR, GULABIVALA K. (2002) Prevalence of yeasts in saliva and root canals of teeth associated with apical periodontitis. *Int Endod J*,35,321-329.

EL-MASSRY KF, FAROUK A, ABOU-ZEID M. (2008) Free radical scavenging activity and lipoxygenase inhibition of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) volatile oil. *J Essent Oil Bear Plants* 11,536-543.

ELEGAMI AA, ALMAGBOUL AZ, OMER ME, EL TOHAMI MS. (2001) Sudanese plants used in folkloric medicine: screening for antibacterial activity. Part X. *Fitoterapia*,72,810-817.

EMILSON CG. (1977) Susceptibility of various microorganisms to chlorhexidine. *Scand J Dent Res*,85,255-265.

ENNAJAR M, BOUAJILA J, LEBRIHI A, MATHIEU F, ABDERRABA M, RAIES A, ROMDHANE M. (2009) Chemical composition and antimicrobial and antioxidant

activities of essential oils and various extracts of *Juniperus phoenicea* L. (Cupressaceae). *J Food Sci*,74,M364-371.

ERCAN E, OZEKINCI T, ATAKUL F, GUL K. (2004) Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite in infected root canal: in vivo study. *J Endod*,30,84-87.

ESTRELA C, BAMMANN LL, PIMENTA FC, PECORA JD. (2001) Control of microorganisms in vitro by calcium hydroxide pastes. *Int Endod J*,34,341-345.

ESTRELA C, RIBEIRO RG, ESTRELA CR, PECORA JD, SOUSA-NETO MD. (2003) Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. *Braz Dent J*,14,58-62.

ESTRELA C, SYDNEY GB, FIGUEIREDO JA, ESTRELA CR. (2009) Antibacterial efficacy of intracanal medicaments on bacterial biofilm: a critical review. *J Appl Oral Sci*,17,1-7.

EVANS M, DAVIES JK, SUNDQVIST G, FIGDOR D. (2002) Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *Int Endod J*,35,221-228.

FARDAL O, TURNBULL RS. (1986) A review of the literature on the use of chlorhexidine in dentistry. *J Am Dent Assoc.*,112,863-869.

FERGUSON JW, HATTON JF, GILLESPIE MJ. (2002) Effectiveness of intracanal irrigants and medications against the yeast *Candida albicans*. *J Endod*,28,68-71.

FERRAZ CC, GOMES BP, ZAIA AA, TEIXEIRA FB, SOUZA-FILHO FJ. (2001) In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *J Endod*,27,452-455.

FERRAZ CC, GOMES BP, ZAIA AA, TEIXEIRA FB, SOUZA-FILHO FJ. (2007) Comparative study of the antimicrobial efficacy of chlorhexidine gel, chlorhexidine solution and sodium hypochlorite as endodontic irrigants. *Braz Dent J*,18,294-298.

FIGDOR D, SJOGREN U, SORLIN S, SUNDQVIST G, NAIR PN. (1992) Pathogenicity of *Actinomyces israelii* and *Arachnia propionica*: experimental infection in guinea pigs and phagocytosis and intracellular killing by human polymorphonuclear leukocytes in vitro. *Oral Microbiol Immunol*,7,129-136.

FIGDOR D, DAVIES JK, SUNDQVIST G. (2003) Starvation survival, growth and recovery of *Enterococcus faecalis* in human serum. *Oral Microbiol Immunol*,18,234-239.

FLAHAUT S, FRERE J, BOUTIBONNES P, AUFRAY Y. (1996a) Comparison of the bile salts and sodium dodecyl sulfate stress responses in *Enterococcus faecalis*. *Appl Environ Microbiol*,62,2416-2420.

FLAHAUT S, BENACHOUR A, GIARD JC, BOUTIBONNES P, AUFRAY Y. (1996b) Defense against lethal treatments and de novo protein synthesis induced by NaCl in *Enterococcus faecalis* ATCC 19433. *Arch Microbiol*,165,317-324.

FLAHAUT S, HARTKE A, GIARD JC, BENACHOUR A, BOUTIBONNES P, AUFRAY Y. (1996c) Relationship between stress response toward bile salts, acid and heat treatment in *Enterococcus faecalis*. *FEMS Microbiol Lett*,138,49-54.

FOSTER KH, KULILD JC, WELLER RN. (1993) Effect of smear layer removal on the diffusion of calcium hydroxide through radicular dentin. *J Endod*,19,136-140.



FU Y, ZU Y, CHEN L, SHI X, WANG Z, SUN S, EFFERTH T. (2007) Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination. *Phytother Res*,21,989-994.

FUSS Z, MIZRAHI A, LIN S, CHERNIAK O, WEISS EI. (2002) A laboratory study of the effect of calcium hydroxide mixed with iodine or electrophoretically activated copper on bacterial viability in dentinal tubules. *Int Endod J*,35,522-526.

GALLI D, LOTTSPREICH F, WIRTH R. (1990) Sequence analysis of *Enterococcus faecalis* aggregation substance encoded by the sex pheromone plasmid pAD1. *Mol Microbiol*,4,895-904.

GARBEROGLIO R, BRANNSTROM M. (1976) Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol*,21,355-362.

GARCIA F, MURRAY PE, GARCIA-GODOY F, NAMEROW KN. (2010) Effect of Aquatine Endodontic Cleanser on smear layer removal in the root canals of ex vivo human teeth. *J Appl Oral Sci*,18,403-408.

GENENA AK, HENSE H, SMANIA A, SOUZA SM. (2008) Rosemary (*Rosmarinus officinalis*): a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide. *Ciencia Tecnol Aliment* 28,463-469.

GEORGE S, KISHEN A, SONG KP. (2005) The role of environmental changes on monospecies biofilm formation on root canal wall by *Enterococcus faecalis*. *J Endod*,31,867-872.

GERHARDT DE, WILLIAMS HN. (1991) Factors affecting the stability of sodium hypochlorite solutions used to disinfect dental impressions. *Quintessence Int*,22,587-591.

GHALEM BR, MOHAMED B. (2008) Antibacterial activity of leaf essential oils of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus camaldulensis*. *Afr J Pharm Pharmacol* 2,211-215.

GIARD JC, HARTKE A, FLAHAUT S, BENACHOUR A, BOUTIBONNES P, AUFRAY Y. (1996) Starvation-induced multiresistance in *Enterococcus faecalis* JH2-2. *Curr Microbiol*,32,264-271.

GIARDINO L, AMBU E, SAVOLDI E, RIMONDINI R, CASSANELLI C, DEBBIA EA. (2007) Comparative Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Sodium Hypochlorite, MTAD, and Tetraclean against *Enterococcus faecalis* Biofilm. *J Endod* ; 33:852-5

GILMORE MS, SEGARRA RA, BOOTH MC. (1990) An HlyB-type function is required for expression of the *Enterococcus faecalis* hemolysin/bacteriocin. *Infect Immun*,58,3914-3923.

GJERMO P. (1974) Chlorhexidine in dental practice. *J Clin Periodontol*,1,143-152.

GOLDBERG F, ABRAMOVICH A. (1977) Analysis of the effect of EDTAC on the dentinal walls of the root canal. *J Endod*,3,101-105.

GOLDBERG F, MASSONE EJ, ARTAZA LP. (1995) Comparison of the sealing capacity of three endodontic filling techniques. *J Endod*,21,1-3.

GOLDMAN LB, GOLDMAN M, KRONMAN JH, LIN PS. (1981) The efficacy of several irrigating solutions for endodontics: a scanning electron microscopic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*,52,197-204.

GOLDMAN M, GOLDMAN LB, CAVALERI R, BOGIS J, LIN PS. (1982) The efficacy of several endodontic irrigating solutions: a scanning electron microscopic study: Part 2. *J Endod*,8,487-492.

GOMES BPFA, LILLEY JD, DRUCKER DB. (1996) Variations in the susceptibilities of components of the endodontic microflora to biomechanical procedures. *Int Endod J*,29,235-241.

GOMES B, FERRAZ CC, VIANNA M, BERBER V, F. T, SOUZA-FILHO FJ. (2001) *In vitro* antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J*,34,424-428.

GOMES BP, SOUZA SF, FERRAZ CC, TEIXEIRA FB, ZAIA AA, VALDRIGHI L, SOUZA-FILHO FJ. (2003) Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine *in vitro*. *Int Endod J*,36,267-275.

GOMES BP, PINHEIRO ET, GADE-NETO CR, SOUSA EL, FERRAZ CC, ZAIA AA, TEIXEIRA FB, SOUZA-FILHO FJ. (2004) Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiol Immunol*,19,71-76.

GRIFFEE MB, PATTERSON SS, MILLER CH, KAFRAWY AH, NEWTON CW. (1980) The Relationship of *Bacteroides-Melaninogenicus* to Symptoms Associated with Pulpal Necrosis. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics*,50,457-461.

GROSSMAN LI. (1952) [The use of antibiotics in root canal therapy]. *Zahnartzl Rundsch*,61,730-733.

GUTMANN JL. (1978) Prevalence, location, and patency of accessory canals in the furcation region of permanent molars. *J Periodontol*,49,21-26.

GUTMANN JL. (1993) Adaptation of injected thermoplasticized gutta-percha in the absence of the dentinal smear layer. *Int Endod J*,26,87-92.

HAAPASALO M, RANTA H, RANTA K, SHAH H. (1986) Black-Pigmented *Bacteroides Spp* in Human Apical Periodontitis. *Infect Immun*,53,149-153.

HAAPASALO M, ORSTAVIK D. (1987) *In vitro* infection and disinfection of dentinal tubules. *Journal of Dental Research*,66,1375-1379.

HAAPASALO HK, SIREN EK, WALTIMO TM, ORSTAVIK D, HAAPASALO MP. (2000) Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an *in vitro* study. *Int Endod J*,33,126-131.

HAAPASALO A, UDNAES T, ENDAL U. (2003) Persistent, recurrent, and acquired infection of the root canal system post-treatment. *Endodontic Topics*,6.

HAAPASALO M, ENDAL U, ZANDI H, COIL JM. (2005) Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. *Endodontic Topics*,77-102.

HADDAD GY, NEHME WB, OUNSI HF. (1999) Diagnosis, classification, and frequency of C-shaped canals in mandibular second molars in the Lebanese population. *J Endod*,25,268-271.

HAHN CL, OVERTON B. (1997) The effects of immunoglobulins on the convective permeability of human dentine *in vitro*. *Arch Oral Biol*,42,835-843.

HAMP SE, EMILSON CG. (1973) Some effects of chlorhexidine on the plaque flora of the beagle dog. *J Periodontal Res Suppl*,12,28-35.

HANCOCK HH, SIGURDSSON A, TROPE M, MOISEIWITSCH J. (2001) Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics*,91,579-586.

HAND RE, SMITH ML, HARRISON JW. (1978) Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. *J Endod*,4,60-64.

HARN WM, CHEN YH, YUAN K, CHUNG CH, HUANG PH. (1998) Calculus-like deposit at apex of tooth with refractory apical periodontitis. *Endod Dent Traumatol*,14,237-240.

HARTKE A, GIARD JC, LAPLACE JM, AUFRAY Y. (1998) Survival of *Enterococcus faecalis* in an oligotrophic microcosm: changes in morphology, development of general stress resistance, and analysis of protein synthesis. *Appl Environ Microbiol*,64,4238-4245.

HAUMAN CH, LOVE RM. (2003) Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 2. Root-canal-filling materials. *Int Endod J*,36,147-160.

HAUSNER M, WUERTZ S. (1999) High rates of conjugation in bacterial biofilms as determined by quantitative in situ analysis. *Appl Environ Microbiol*,65,3710-3713.

HEARD F, WALTON RE. (1997) Scanning electron microscope study comparing four root canal preparation techniques in small curved canals. *Int Endod J*,30,323-331.

HELING I, CHANDLER NP. (1998) Antimicrobial effect of irrigant combinations within dentinal tubules. *Int Endod J*,31,8-14.

HENNESSEY TS. (1973) Some antibacterial properties of chlorhexidine. *J Periodontal Res Suppl*,12,61-67.

HOFLING JF, ANIBAL PC, OBANDO-PEREDA GA, PEIXOTO IA, FURLETTI VF, FOGLIO MA, GONCALVES RB. (2010) Antimicrobial potential of some plant extracts against *Candida* species. *Braz J Biol*,70,1065-1068.

HOQUE MM, BARI ML, JUNEJA VK, KAWAMOTO S. (2008) Antimicrobial activity of cloves and cinnamon extracts against food borne pathogens and spoilage bacteria, and inactivation of *Listeria monocytogenes* in ground chicken meat with their essential oils. *Report of National Food Research Institute*,72,9-21.

HOTTEL TL, EL-REFAI NY, JONES JJ. (1999) A comparison of the effects of three chelating agents on the root canals of extracted human teeth. *J Endod*,25,716-717.

HSU Y, KIM S. (1997). The resected root surface. The issue of canal isthmuses. *Dent Clin North Am. Dent Clin North Am.* 3: 529-540

HUBBLE TS, HATTON JF, NALLAPAREDDY SR, MURRAY BE, GILLESPIE MJ. (2003) Influence of *Enterococcus faecalis* proteases and the collagen-binding protein, Ace, on adhesion to dentin. *Oral Microbiol Immunol*,18,121-126.

HUBE B., NAGLIK J. (2001) *Candida albicans* proteinases: resolving the mystery of a gene family. *Microbiology*. 147:1997–2005

HULSMANN M, HAHN W. (2000) Complications during root canal irrigation-- literature review and case reports. *Int Endod J*,33,186-193.

IKE Y, CRAIG RA, WHITE BA, YAGI Y, CLEWELL DB. (1983) Modification of *Streptococcus faecalis* sex pheromones after acquisition of plasmid DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*,80,5369-5373.

INGLE JI, BAKLAND LK, BAUMGARTNER JC. (2008) *Endodontics*. PMPH-USA, St Louis 6th ed. sf.268-85

IRKIN R, ABAY S, AYDIN F. (2011) Inhibitory effects of some plant essential oils against *Arcobacter butzleri* and potential for rosemary oil as a natural food preservative. *J Med Food*,14,291-296.

JEANSONNE MJ, WHITE RR. (1994) A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. *J Endod*,20,276-278.

JENKINSON HW, DOUGLAS LJ. (2002) *Polymicrobial Diseases*, Ed. Brogden KA, Guthmiller JM Washington (DC): ASM Press. chapter 18

JOHAL S, BAUMGARTNER JC, MARSHALL JG. (2007) Comparison of the antimicrobial efficacy of 1.3% NaOCl/BioPure MTAD to 5.25% NaOCl/15% EDTA for root canal irrigation. *J Endod*,33,48-51.

JOHNSON BR, REMEIKIS NA. (1993) Effective shelf-life of prepared sodium hypochlorite solution. *J Endod*,19,40-43.

JONES RN, MARSHALL SA, PFALLER MA, WILKE WW, HOLLIS RJ, ERWIN ME, EDMOND MB, WENZEL RP. (1997) Nosocomial enterococcal blood stream infections in the SCOPE Program: antimicrobial resistance, species occurrence, molecular testing results, and laboratory testing accuracy. SCOPE Hospital Study Group. *Diagn Microbiol Infect Dis*,29,95-102.

JORGENSEN JH, HOWELL AW, MAHER LA. (1991) Quantitative antimicrobial susceptibility testing of *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae* by using the E-test. *J Clin Microbiol*,29,109-114.

KAKEHASHI S, STANLEY HR, FITZGERALD RJ. (1965) The Effects of Surgical Exposures of Dental Pulps in Germ-Free and Conventional Laboratory Rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*,20,340-349.

KARTAL N, YANIKOGLU F, GONUL T, AFSAR H. (1992) Evaluation of the variation in chemical composition and surface topography of different brands of gutta percha cones. *J Marmara Univ Dent Fac*,1,257-262.

KASAHARA E, YASUDA E, YAMAMOTO A, ANZAI M. (1990) Root canal system of the maxillary central incisor. *J Endod*,16,158-161.

KAZEMI M, ROSTAMI H, AMERI A. (2012) The study of Compositions and antimicrobial properties of essential oil of *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis* on human pathogens.

KHEDMAT S, SHOKOUHINEJAD N. (2008) Comparison of the efficacy of three chelating agents in smear layer removal. *J Endod*,34,599-602.

KIRKEVANG LL, ORSTAVIK D, HORSTED-BINDSLEV P, WENZEL A. (2000) Periapical status and quality of root fillings and coronal restorations in a Danish population. *Int Endod J*,33,509-515.

KLANCNIK A, GUZEJ B, KOLAR MH, ABRAMOVIC H, MOZINA SS. (2009a) In vitro antimicrobial and antioxidant activity of commercial rosemary extract formulations. *J Food Prot*,72,1744-1752.

KLANCNIK A, GUZEJ B, JAMNIK P, VUCKOVIC D, ABRAM M, MOZINA SS. (2009b) Stress response and pathogenic potential of *Campylobacter jejuni* cells exposed to starvation. *Res Microbiol*,160,345-352.

KNUTSSON G, JONTELL M, BERGENHOLTZ G. (1994) Determination of plasma proteins in dentinal fluid from cavities prepared in healthy young human teeth. *Arch Oral Biol*,39,185-190.

KOCKAPAN C. (1987) [Electron microscopic study on the structure of the smear layer]. *Dtsch Zahnarztl Z*,42,1028-1034.

KRAMER IR. (1960) The vascular architecture of the human dental pulp. *Arch Oral Biol*,2,177-189.

KURUVILLA JR, KAMATH MP. (1998) Antimicrobial activity of 2.5% sodium hypochlorite and 0.2% chlorhexidine gluconate separately and combined, as endodontic irrigants. *J Endod*,24,472-476.

LEONARD BA, BENSING BA, HEDBERG PJ, RUHFEL RE, CHUNG JW, DUNNY GM. (1995) Pheromone-inducible gene regulation and signalling for the control of aggregation substance expression in the conjugative plasmid pCF10. *Dev Biol Stand*,85,27-34.

LEONARDO MR, TANOMARU FILHO M, SILVA LA, NELSON FILHO P, BONIFACIO KC, ITO IY. (1999) In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution. *J Endod*,25,167-171.

LEONARDO MR, ROSSI MA, SILVA LA, ITO IY, BONIFACIO KC. (2002) EM evaluation of bacterial biofilm and microorganisms on the apical external root surface of human teeth. *J Endod*,28,815-818.

LEONARDO MR, ROSSI MA, BONIFACIO KC, DA SILVA LA, ASSED S. (2007) Scanning electron microscopy of the apical structure of human teeth. *Ultrastruct Pathol*,31,321-325.

LESTER KS, BOYDE A. (1977) Scanning electron microscopy of instrumented, irrigated and filled root canals. *Br Dent J*,143,359-367.

LEWIS CM, ZERVOS MJ. (1990) Clinical manifestations of enterococcal infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*,9,111-117.

LINDE A, GOLDBERG M. (1993) Dentinogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med*,4,679-728.

LINDSKOG S, PIERCE AM, BLOMLOF L. (1998) Chlorhexidine as a root canal medicament for treating inflammatory lesions in the periodontal space. *Endod Dent Traumatol*,14,186-190.

LOVE RM, CHANDLER NP, JENKINSON HF. (1996) Penetration of smeared or nonsmeared dentine by *Streptococcus gordonii*. *Int Endod J*,29,2-12.

LOVE RM. (2001) *Enterococcus faecalis*--a mechanism for its role in endodontic failure. *Int Endod J*,34,399-405.

LOVE RM. (2002) The effect of tissue molecules on bacterial invasion of dentine. *Oral Microbiol Immunol*,17,32-37.

LOWMAN JV, BURKE RS, PELLEU GB. (1973) Patent accessory canals: incidence in molar furcation region. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*,36,580-584.

MADER CL, BAUMGARTNER JC, PETERS DD. (1984) Scanning electron microscopic investigation of the smeared layer on root canal walls. *J Endod*,10,477-483.

MAKINEN PL, CLEWELL DB, AN F, MAKINEN KK. (1989) Purification and substrate specificity of a strongly hydrophobic extracellular metalloendopeptidase ("gelatinase") from *Streptococcus faecalis* (strain OG1-10). *J Biol Chem*,264,3325-3334.

MARKOWITZ K, MOYNIHAN M, LIU M, KIM S. (1992) Biologic properties of eugenol and zinc oxide-eugenol. A clinically oriented review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*,73,729-737.

MCCOMB D, SMITH DC. (1975) A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *J Endod*,1,238-242.

MENEZES MM, VALERA MC, JORGE AO, KOGA-ITO CY, CAMARGO CH, MANCINI MN.(2004) In vitro evaluation of the effectiveness of irrigants and intracanal medicaments on microorganisms within root canals. *Int Endod J*. 37(5):311-9.

MERCADE M, DURAN-SINDREU F, KUTTLER S, ROIG M, DURANY N. (2009) Antimicrobial efficacy of 4.2% sodium hypochlorite adjusted to pH 12, 7.5, and 6.5 in infected human root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*,107,295-298.

MERYON SD, BROOK AM. (1990) Penetration of dentine by three oral bacteria in vitro and their associated cytotoxicity. *Int Endod J*,23,196-202.

MJOR IA, NORDAHL I. (1996) The density and branching of dentinal tubules in human teeth. *Arch Oral Biol*,41,401-412.

MOGHTADER M, AFZALI D. (2009) Study of the antimicrobial properties of the essential oil of rosemary. *American-Eurasian J Agric. & Environ. Sci*,5,393-397.

MOHAMMADI Z. (2008) Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. *Int Dent J*,58,329-341.

MOHAMMADI Z, ABBOTT PV. (2009) Antimicrobial substantivity of root canal irrigants and medicaments: a review. *Aust Endod J*,35,131-139.

MOLANDER A, REIT C, DAHLEN G, KVIST T. (1998) Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J*,31,1-7.

MOORER WR, WESSELINK PR. (1982) Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite. *Int Endod J*,15,187-196.

MOZAYENI MA, JAVAHERI GH, POORROOSTA P, ASHARI MA, JAVAHERI HH. (2009) Effect of 17% EDTA and MTAD on intracanal smear layer removal: a scanning electron microscopic study. *Aust Endod J*,35,13-17.

MÖLLER ÅJR, FABRÍCIUS L, DAHLÉN G, ÖHMAN AE, HEYDEN G. (1981) Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scand J Dent Res* 89:475–484

MURRAY BE. (1990) The life and times of the *Enterococcus*. *Clin Microbiol Rev*,3,46-65.

NACEUR H, MARZOUG B, BOUAJILA J, ENNAJAR M, LEBRIHI A, MATHIEU F, COUDERC F, ABDERRABA M, ROMDHANE M. (2010) *Eucalyptus* (*gracilis*, *oleosa*, *salubris*, and *salmonophloia*) Essential Oils: Their Chemical Composition and Antioxidant and Antimicrobial Activities. *Journal of Medicinal Food*,13,1005-1012.

NAENNI N, THOMA K, ZEHNDER M. (2004) Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. *J Endod*,30,785-787.

NAIR PN. (1987) Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. *J Endod*,13,29-39.

NAIR PN, SJOGREN U, KREY G, SUNDQVIST G. (1990a) Therapy-resistant foreign body giant cell granuloma at the periapex of a root-filled human tooth. *J Endod*,16,589-595.

NAIR PN, SJOGREN U, KREY G, KAHNBERG KE, SUNDQVIST G. (1990b) 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. *J Endod*,16,580-588.

NAIR PN. (1998) New perspectives on radicular cysts: do they heal? *Int Endod J*,31,155-160.

NAIR PN, HENRY S, CANO V, VERA J. (2005) Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*,99,231-252.

NAKAMURA H, ASAI K, FUJITA H, NAKAZATO H, NISHIMURA Y, FURUSE Y, SAHASHI E. (1985) The solvent action of sodium hypochlorite on bovine tendon collagen, bovine pulp, and bovine gingiva. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*,60,322-326.

NALBANDIAN J, GONZALES F, SOGNAES RF. (1960) Sclerotic age changes in root dentin of human teeth as observed by optical, electron, and x-ray microscopy. *Journal of Dental Research*,39,598-607.

NASSU RT, GONCALVES LA, PEREIRA DA SILVA MA, BESERRA FJ. (2003) Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. *Meat Sci*,63,43-49.

NYGAARD-OSTBY B. (1957) Chelation in root canal therapy: ethylenediaminetetraacetic acid for cleansing and widening of root canals. *Odontol Tids.*,65,311.

ODDS FC. (1987) Recent advances in the biology of *Candida*. *Ann Biol Clin (Paris)*,45,553-557.

OLIVEIRA JC, SIOUEIRA JF, ALVES GB, HIRATA R JR, ANDRADE AF. (2000) Detection of *Porphyromonas endodontalis* in infected root canals by 16S rRNA gene-directed polymerase chain reaction. *J Endod Dec*; 26(12): 729-32.

OLIVEIRA DP, BARBIZAM JV, TROPE M, TEIXEIRA FB. (2007) In vitro antibacterial efficacy of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*,103,702-706.

OLUWATUYI M, KAATZ GW, GIBBONS S. (2004) Antibacterial and resistance modifying activity of *Rosmarinus officinalis*. *Phytochemistry*,65,3249-3254.

ONCAG O, HOSGOR M, HILMIOGLU S, ZEKIOGLU O, ERONAT C, BURHANOGLU D. (2003) Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. *Int Endod J*,36,423-432.

ORSTAVIK D, HAAPASALO M. (1990) Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endod Dent Traumatol*,6,142-149.

OUATTARA B, SIMARD RE, HOLLEY RA, PIETTE G, BEGIN A. (1997) Antibacterial Activity of Selected Fatty Acids and Essential Oils Against Six Meat Spoilage Organisms. *International Journal of Food Microbiology*,37,155-162.

OZOK AR, WU MK, LUPPENS SB, WESSELINK PR. (2007) Comparison of growth and susceptibility to sodium hypochlorite of mono- and dual-species biofilms of *Fusobacterium nucleatum* and *Peptostreptococcus (micromonas) micros*. *J Endod*,33,819-822.

PANDIT VA, SHELEF LA. (1994) Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Food Microbiol*,11,57-63.

PASHLEY DH, NELSON R, KEPLER EE. (1982) The effects of plasma and salivary constituents on dentin permeability. *Journal of Dental Research*,61,978-981.

PASHLEY EL, BIRDSONG NL, BOWMAN K, PASHLEY DH. (1985) Cytotoxic effects of NaOCl on vital tissue. *J Endod*,11,525-528.

PASHLEY DH, ANDRINGA HJ, DERKSON GD, DERKSON ME, KALATHOOR SR. (1987) Regional variability in the permeability of human dentine. *Arch Oral Biol*,32,519-523.

PASHLEY, DH, WALTON RE, SLAVKIN HC. (1994) Histology and Physiology of the Dental Pulp. *Endodontics*: 320-354.

PATTERSON SS. (1963) In vivo and in vitro studies of the effect of the disodium salt of ethylenediamine tetra-acetate on human dentine and its endodontic implications. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*,16,83-103.

PAWLICKA H, PIATKOWSKA D, HAJDUKIEWICZ G. (1981) Effectiveness of cleansing agents in root canal preparation. A scanning electron microscopy study. *Stomatol DDR*,31,684-688.

PECIULIENE V, BALCIUNIENE I, ERIKSEN HM, HAAPASALO M. (2000) Isolation of *Enterococcus faecalis* in previously root-filled canals in a Lithuanian population. *J Endod*,26,593-595.

PECIULIENE V, REYNAUD AH, BALCIUNIENE I, HAAPASALO M. (2001) Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. *Int Endod J*,34,429-434.

PEREZ F, CALAS P, ROCHD T. (1996) Effect of dentin treatment on in vitro root tubule bacterial invasion. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*,82,446-451.



PETERS LB, WESSELINK PR, MOORER WR. (1995) The fate and the role of bacteria left in root dentinal tubules. *Int Endod J*,28,95-99.

PETERS LB, WESSELINK PR, BUIJS JF, VAN WINKELHOFF AJ. (2001a) Viable bacteria in root dentinal tubules of teeth with apical periodontitis. *J Endod*,27,76-81.

PETERS OA, LAIB A, GOHRING TN, BARBAKOW F. (2001b) Changes in root canal geometry after preparation assessed by high-resolution computed tomography. *J Endod*,27,1-6.

PETERS LB, VAN WINKELHOFF AJ, BUIJS JF, WESSELINK PR. (2002) Effects of instrumentation, irrigation and dressing with calcium hydroxide on infection in pulpless teeth with periapical bone lesions. *Int Endod J*,35,13-21.

PINHEIRO ET, GOMES BP, FERRAZ CC, TEIXEIRA FB, ZAIA AA, SOUZA FILHO FJ. (2003) Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. *Oral Microbiol Immunol*,18,100-103.

PORTENIER I, HAAPASALO H, RYE A, WALTIMO T, ORSTAVIK D, HAAPASALO M. (2001) Inactivation of root canal medicaments by dentine, hydroxylapatite and bovine serum albumin. *Int Endod J*,34,184-188.

PORTENIER I, WALTIMO TM, HAAPASALO M. (2003) *Enterococcus faecalis*: The root canal survivor and 'star' in post-treatment disease. *Endodontic Topics*,6,135-159.

PRABUSEENIVASAN S, JAYAKUMAR M, IGNACIMUTHU S. (2006) In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC Complementary and Alternative Medicine*,6,39-47.

PUANGPRONPITAG D, AREEJITRANUSORN P, BOONSIRI P, SUTTAJIT M, YONGVANIT P. (2008) Antioxidant activities of polyphenolic compounds isolated from *Antidesma thwaitesianum* Mull. Arg. seeds and marcs. *J Food Sci*,73,C648-653.

QING Y, AKITA Y, KAWANO S, KAWAZU S, YOSHIDA T, SEKINE I. (2006) Cleaning efficacy and dentin micro-hardness after root canal irrigation with a strong acid electrolytic water. *J Endod*,32,1102-1106.

OUATTARA, B, SIMARD RE, HOLLEY RA. (1997) Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology*, **37**, 155-162.

RADCLIFFE CE, POTOURIDOU L, QURESHI R, HABAHBEH N, QUALTROUGH A, WORTHINGTON H, DRUCKER DB. (2004) Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J*,37,438-446.

RAMAGE G, SAVILLE SP, THOMAS DP, LOPEZ-RIBOT JL. (2005) *Candida* biofilms: an update. *Eukaryot Cell*,4,633-638.

RAO K, CH B, NARASU LM, GIRI A. (2010) Antibacterial activity of *Alpinia galanga* (L) Willd crude extracts. *Appl Biochem Biotechnol*,162,871-884.

RASOOLI I, FAKOOR MH, YADEGARINIA D, GACHKAR L, ALLAMEH A, BAGHER MB. (2008) Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils. *Int. J. Food Microbiol.*,122,135-139.

RAY HA, TROPE M (1995) Periapical status of endodontically treated teeth in relation to the technical quality of the root filling and the coronal restoration. *International Endodontic Journal* 28, 12–8

RICUCCI D, MARTORANO M, BATE AL, PASCON EA. (2005) Calculus-like deposit on the apical external root surface of teeth with post-treatment apical periodontitis: report of two cases. *Int Endod J*,38,262-271.

RINGEL AM, PATTERSON SS, NEWTON CW, MILLER CH, MULHERN JM. (1982) In vivo evaluation of chlorhexidine gluconate solution and sodium hypochlorite solution as root canal irrigants. *J Endod*,8,200-204.

RIOS JL, RECIO MC, VILLAR A. (1988) Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. *J Ethnopharmacol*,23,127-149.

ROCAS IN, SIQUEIRA JF, JR., SANTOS KR. (2004) Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod*,30,315-320.

ROURA SI, VALLE E, PONCE AG, MOREIRA MR. (2005) Inhibitory Parameters of Essential Oils to Reduce a Food Borne Pathogen. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*,38,565-570.

RUFF ML, MCCLANAHAN SB, BABEL BS. (2006) In vitro antifungal efficacy of four irrigants as a final rinse. *J Endod*,32,331-333.

RUOFF KL, DE LA MAZA L, MURTAGH MJ, SPARGO JD, FERRARO MJ. (1990) Species identities of enterococci isolated from clinical specimens. *J Clin Microbiol*,28,435-437.

RUTALA WA, WEBER DJ. (1997) Uses of inorganic hypochlorite (bleach) in health-care facilities. *Clin Microbiol Rev*,10,597-610.

SABALA CL, POWELL SE. (1989) Sodium hypochlorite injection into periapical tissues. *J Endod*,15,490-492.

SAEED S, TARIQ P. (2008) In vitro antibacterial activity of clove against gram negative bacteria. *Pak. J. Bot*,40,2157-2160.

SAFAVI KE, DOWDEN WE, INTROCASO JH, LANGELAND K. (1985) A comparison of antimicrobial effects of calcium hydroxide and iodine-potassium iodide. *J Endod*,11,454-456.

SALIE F, EAGLES PF, LENG HM. (1996) Preliminary antimicrobial screening of four South African Asteraceae species. *J Ethnopharmacol*,52,27-33.

SANCHEZ ML, BARRETT MS, JONES RN. (1992) The E-Test applied to susceptibility tests of gonococci, multiply-resistant enterococci, and *Enterobacteriaceae* producing potent beta-lactamases. *Diagn Microbiol Infect Dis*,15,459-463.

SASIKUMAR, B. (2004) Rosemary. In *Handbook of herbs and spices Vol. 2*, Edited By Peter, K.V. CRC Pres, Woodhead Publishing Ltd., England

SASSONE LM, FIDEL R, FIDEL S, VIEIRA M, HIRATA R, JR. (2003) The influence of organic load on the antimicrobial activity of different concentrations of NaOCl and chlorhexidine in vitro. *Int Endod J*,36,848-852.

SASSONE LM, FIDEL RA, MURAD CF, FIDEL SR, HIRATA R JR.(2008) Antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine by two different tests. Aust Endod J. 34(1):19-24.

SCELZA MF, ANTONIAZZI JH, SCELZA P. (2000) Efficacy of final irrigation--a scanning electron microscopic evaluation. J Endod,26,355-358.

SCHABERG DR, CULVER DH, GAYNES RP. (1991) Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. Am J Med,91,72S-75S.

SCHAFFER E, BOSSMANN K. (2001) Antimicrobial efficacy of chloroxylenol and chlorhexidine in the treatment of infected root canals. Am J Dent.,14,233-237.

SCHILDER H, (1983) Vertical compaction of warm gutta percha. In Gerstein H. Ed.: Techniques in clinical endodontics. Philadelphia. W.B. Saunders Company, sf.76

SCREEBNEY LM, NIKIFORUK G. (1951) Demineralization of hard tissues by organic chelating agents. Science,113,560.

SEDGLEY CM, LENNAN SL, CLEWELL DB. (2004) Prevalence, phenotype and genotype of oral enterococci. Oral Microbiol Immunol,19,95-101.

SEDGLEY CM, LENNAN SL, APPELBE OK. (2005) Survival of Enterococcus faecalis in root canals ex vivo. Int Endod J,38,735-742.

SEDGLEY C, NAGEL A, DAHLEN G, REIT C, MOLANDER A. (2006) Real-time quantitative polymerase chain reaction and culture analyses of Enterococcus faecalis in root canals. J Endod,32,173-177.

SEIDBERG BH, SCHILDER H. (1974) An evaluation of EDTA in endodontics. Oral Surg Oral Med Oral Pathol,37,609-620.

SEN BH, PISKIN B, DEMIRCI T. (1995a) Observation of bacteria and fungi in infected root canals and dentinal tubules by SEM. Endod Dent Traumatol,11,6-9.

SEN BH, WESSELINK PR, TURKUN M. (1995b) The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. Int Endod J,28,141-148.

SEN BH, SAFAVI KE, SPANBERG LS. (1997a) Colonization of Candida albicans on cleaned human dental hard tissues. Arch Oral Biol,42,513-520.

SEN BH, SAFAVI KE, SPANBERG LS. (1997b) Growth patterns of Candida albicans in relation to radicular dentin. Oral Surg Oral Med Oral Radiol Endod,84,68-73.

SEN BH, SAFAVI KE, SPANBERG LS. (1999) Antifungal effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine in root canals. J Endod,25,235-238.

SERPER A, OZBEK M, CALT S. (2004) Accidental sodium hypochlorite-induced skin injury during endodontic treatment. J Endod,30,180-181.

SHABAHANG S, TORABINEJAD M. (2003) Effect of MTAD on Enterococcus faecalis-contaminated root canals of extracted human teeth. J Endod,29,576-579.

SINGH G, KAPOOR IP, SINGH P, DE HELUANI CS, DE LAMPASONA MP, CATALAN CA. (2008) Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of Zingiber officinale. Food Chem Toxicol,46,3295-3302.

SIQUEIRA JF, JR., DE UZEDA M. (1997) Intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. *J Endod*,23,167-169.

SIQUEIRA JF, JR., MACHADO AG, SILVEIRA RM, LOPES HP, DE UZEDA M. (1997) Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal, in vitro. *Int Endod J*,30,279-282.

SIQUEIRA JF, JR., ROCAS IN, FAVIERI A, LIMA KC. (2000) Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. *J Endod*,26,331-334.

SIQUEIRA JF, ROCAS IN, OLIVEIRA JCM, SANTOS KRN. (2001a) Molecular detection of black-pigmented bacteria infections of endodontic origin. *J Endod*,27,563-566.

SIQUEIRA JF, JR., ROCAS IN, MAGALHAES FA, DE UZEDA M. (2001b) Antifungal effects of endodontic medicaments. *Aust Endod J*,27,112-114.

SIQUEIRA JF, JR., ROCAS IN, LOPES HP. (2002a) Patterns of microbial colonization in primary root canal infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*,93,174-178.

SIQUEIRA JF, JR., ROCAS IN, SOUTO R, DE UZEDA M, COLOMBO AP. (2002b) *Actinomyces* species, streptococci, and *Enterococcus faecalis* in primary root canal infections. *J Endod*,28,168-172.

SIQUEIRA JF, JR., ROCAS IN, LOPES HP, ELIAS CN, DE UZEDA M. (2002c) Fungal infection of the radicular dentin. *J Endod*,28,770-773.

SIQUEIRA JF, JR., ROCAS IN. (2004) Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*,97,85-94.

SIQUEIRA JF, JR., SEN BH. (2004) Fungi in endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*,97,632-641.

SIREN EK, HAAPASALO MP, RANTA K, SALMI P, KEROSUO EN. (1997) Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. *Int Endod J*,30,91-95.

SJOGREN U, HAGGLUND B, SUNDQVIST G, WING K. (1990) Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. *J Endod*,16,498-504.

SOARES JA, CARVALHO MAR, SANTOS SMC, MENDONÇA RMC, RIBEIRO-SOBRINHO AP, BRITO-JÚNIOR M, MAGALHÃES PP, SANTOS MH, FARIAS LM. (2010) Effectiveness of Chemomechanical Preparation with Alternating Use of Sodium Hypochlorite and EDTA in Eliminating Intracanal *Enterococcus faecalis* Biofilm. *Journal of Endodontics* Volume 36, Issue 5, Pages 894–898

SOKOVIC M, TZAKOU O, PITAROKILI D, COULADIS M. (2002) Antifungal activities of selected aromatic plants growing wild in Greece. *Nahrung*,46,317-320.

SPANGBERG A, HAAPASALO A. (2002) Rationale and efficacy of root canal medicaments and root filling materials with emphasis on treatment outcome. *endodontic Topics*,2,35-58.

SPRATT DA, PRATTEN J, WILSON M, GULABIVALA K. (2001) An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates. *Int Endod J*,34,300-307.

STUART CH, SCHWARTZ SA, BEESON TJ, OWATZ CB. (2006) *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod*,32,93-98.

SULLIVAN DJ, MORAN GP, PINJON E, AL-MOSAID A, STOKES C, VAUGHAN C, COLEMAN DC. (2004) Comparison of the epidemiology, drug resistance mechanisms, and virulence of *Candida dubliniensis* and *Candida albicans*. *FEMS Yeast Res*,4,369-376.

SUNDQVIST G, JOHANSSON E, SJOGREN U. (1989) Prevalence of Black-Pigmented *Bacteroides* Species in Root-Canal Infections. *J Endod*,15,13-19.

SUNDQVIST G. (1992) Ecology of the root canal flora. *J Endod*,18,427-430.

SUNDQVIST G. (1994) Taxonomy, Ecology, and Pathogenicity of the Root-Canal Flora. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics*,78,522-530.

SUNDQVIST G, FIGDOR D, PERSSON S, SJOGREN U. (1998) Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*,85,86-93.

TAM A, YU DC. (2002) Location of canal isthmus and accessory canals in the mesiobuccal root of maxillary first permanent molars. *J Can Dent Assoc* 1: 28-33

TAN M, ZHOU L, HUANG Y, WANG Y, HAO X, WANG J. (2008) Antimicrobial activity of globulol isolated from the fruits of *Eucalyptus globulus* Labill. *Nat Prod Res*,22,569-575.

TANRIVERDİ F, ESENER T, ERGANİŞ O, BELLİ S.(1997) An in vitro test model for investigation of disinfection of dentinal tubules infected with *Enterococcus faecalis*. *Braz Dent J*. 8(2):67-72.

TAY FR, HOSOYA Y, LOUSHINE RJ, PASHLEY DH, WELLER RN, Low DC. (2006) Ultrastructure of intraradicular dentin after irrigation with BioPure MTAD. II. The consequence of obturation with an epoxy resin-based sealer. *J Endod*;32:473-7.

TEIXEIRA CS, FELIPPE MC, FELIPPE WT. (2005) The effect of application time of EDTA and NaOCl on intracanal smear layer removal: an SEM analysis. *Int Endod J*,38,285-290.

THOMPSON B, DUMMER AO. (1998) Shaping ability of ProFile rotary nickel-titanium instruments with ISO sized tips in simulated root canals: Part 2. *Int Endodc J*, Volume 31, Issue 4 Pages 233–310

TIWARI BK, VALDRAMIDIS VP, O'DONNELL CP, MUTHUKUMARAPPAN K, BOURKE P, CULLEN PJ. (2009) Application of natural antimicrobials for food preservation. *J Agric Food Chem*,57,5987-6000.

TOLEDO-ARANA A, VALLE J, SOLANO C, ARRIZUBIETA MJ, CUCARELLA C, LAMATA M, AMORENA B, LEIVA J, PENADES JR, LASA I. (2001) The enterococcal surface protein, Esp, is involved in *Enterococcus faecalis* biofilm formation. *Appl Environ Microbiol*,67,4538-4545.

TORABINEJAD M, HANDYSIDES R, KHADEMI AA, BAKLAND LK. (2002) Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*,94,658-666.

TORABINEJAD M. (2003) Why are we doing so many surveys? *J Endod*,29,847.

TORABINEJAD M, SHABAHANG S, APRECIO RM, KETTERING JD. (2003a) The antimicrobial effect of MTAD: an in vitro investigation. *J Endod*,29,400-403.

TORABINEJAD M, CHO Y, KHADEMI AA, BAKLAND LK, SHABAHANG S. (2003b) The effect of various concentrations of sodium hypochlorite on the ability of MTAD to remove the smear layer. *J Endod*,29,233-239.

TORABINEJAD M, KHADEMI AA, BABAGOLI J, CHO Y, JOHNSON WB, BOZHILOV K, KIM J, SHABAHANG S. (2003c) A new solution for the removal of the smear layer. *J Endod*,29,170-175.

TREPAGNIER CM, MADDEN RM, LAZZARI EP. (1977) Quantitative study of sodium hypochlorite as an in vitro endodontic irrigant. *J Endod*,3,194-196.

TRONSTAD L, BARNETT F, CERVONE F. (1990) Periapical bacterial plaque in teeth refractory to endodontic treatment. *Endod Dent Traumatol*,6,73-77.

TROPE M, BERGENHOLTZ G. (2002) Microbiological basis for endodontic treatment: can a maximal outcome be achieved in one visit? *Endodontic Topics*,40-53.

TSIRI D, KRETSI O, CHINOUBI, SPYROPOULOS CG. (2003) Composition of fruit volatiles and annual changes in the volatiles of leaves *Eucalyptus camaldulensis* dehn. growing in Greece. *Flav Fragr J* 18,244-247.

VAHDATY A, PITT FORD TR, WILSON RF. (1993) Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules in vitro. *Endod Dent Traumatol*,9,243-248.

VALERA MC, SILVA KC, MAEKAWA LE, CARVALHO CA, KOGA-ITO CY, CAMARGO CH, LIMA RS. (2009) Antimicrobial activity of sodium hypochlorite associated with intracanal medication for *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis* inoculated in root canals. *J Appl Oral Sci.* 17(6):555-9

VEGARA AS, FUNES BL, MARTÍ BN, SAURA BD, MÍCOL BV, VALERO M. (2011) Bactericidal activities against pathogenic bacteria by selected constituents of plant extracts in carrot broth. *Food Chemistry Volume 128, Issue 4, 15, Pages 872–877*

VERTUCCI FJ, HADDIX JE, BRITTO LR. (2006). *Tooth Morphology and Access Cavity Preparation. Pathways of the Pulp* (Cohen S, Hargreaves KM ed) 9th Ed. St Louis. Mosby, s.: 299-310

VIANNA ME, GOMES BP, BERBER VB, ZAIA AA, FERRAZ CC, DE SOUZA-FILHO FJ. (2004) In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*,97,79-84.

VIANNA ME, HORZ HP, GOMES BP, CONRADS G.(2006) In vivo evaluation of microbial reduction after chemo-mechanical preparation of human root canals containing necrotic pulp tissue. *Int Endod J.*;39(6):484-92.

VIANNA ME, GOMES BP. (2009) Efficacy of sodium hypochlorite combined with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*,107,585-589.

VINOTHKUMAR TS, KAVITHA S, LAKSHMINARAYANAN L, GOMATHI NS, KUMAR V. (2007) Influence of irrigating needle-tip designs in removing bacteria inoculated into instrumented root canals measured using single-tube luminometer. *J Endod*. Jun;33(6):746-8. Epub 2007 Apr 24.

WALTIMO TM, SIREN EK, TORKKO HL, OLSEN I, HAAPASALO MP. (1997) Fungi in therapy-resistant apical periodontitis. *Int Endod J*,30,96-101.

WALTIMO TM, ORSTAVIK D, SIREN EK, HAAPASALO MP. (1999a) In vitro susceptibility of *Candida albicans* to four disinfectants and their combinations. *Int Endod J*,32,421-429.

WALTIMO TM, SIREN EK, ORSTAVIK D, HAAPASALO MP. (1999b) Susceptibility of oral *Candida* species to calcium hydroxide in vitro. *Int Endod J*,32,94-98.

WALTIMO TM, ORSTAVIK D, MEURMAN JH, SAMARANAYAKE LP, HAAPASALO MP. (2000) In vitro susceptibility of *Candida albicans* isolates from apical and marginal periodontitis to common antifungal agents. *Oral Microbiol Immunol*,15,245-248.

WALTIMO T, HAAPASALO M, ZEHNDER M, MEYER J. (2004) Clinical Aspects Related to Endodontic Yeast Infections. *Endod Topics*,9,66-78.

WALTIMO T, TROPE M, HAAPASALO M, ORSTAVIK D. (2005) Clinical efficacy of treatment procedures in endodontic infection control and one year follow-up of periapical healing. *J Endod*,31,863-866.

WALTON ER, TORABINEJAD M. (2002) *Endodontics: Principles And Practice*,p:206-238.

WASIL M, HALLIWELL B, HUTCHISON DC, BAUM H. (1987) The antioxidant action of human extracellular fluids. Effect of human serum and its protein components on the inactivation of alpha 1-antiproteinase by hypochlorous acid and by hydrogen peroxide. *Biochem J*,243,219-223.

WAYMAN BE, KOPP WM, PINERO GJ, LAZZARI EP. (1979) Citric and lactic acids as root canal irrigants in vitro. *J Endod*,5,258-265.

WEERAKKODY NS, CAFFIN N, LAMBERT LK, TURNER MS, DYKES GA. (2011) Synergistic antimicrobial activity of galangal (*Alpinia galanga*), rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and lemon iron bark (*Eucalyptus staigerana*) extracts. *J Sci Food Agric*,91,461-468.

WEINE FS. (1982) *Endodontic therapy*. 3rd ed. St. Louis. The C.V. Mosby Company, sf.526-27

WELLER RN, NIEMCZYK SP, KIM S. (1995) Incidence and position of the canal isthmus. Part 1. Mesiobuccal root of the maxillary first molar. *J Endod*,21,380-383.

WHITE RR, GOLDMAN M, LIN PS. (1984) The influence of the smeared layer upon dentinal tubule penetration by plastic filling materials. *J Endod*,10,558-562.

WHITE RR, HAYS GL, JANER LR. (1997) Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. *J Endod*,23,229-231.

WILLIAMSON AE, CARDON JW, DRAKE DR. (2009) Antimicrobial susceptibility of monoculture biofilms of a clinical isolate of *Enterococcus faecalis*. *J Endod*,35,95-97.

YAGI Y, KESSLER RE, SHAW JH, LOPATIN DE, AN F, CLEWELL DB. (1983) Plasmid content of *Streptococcus faecalis* strain 39-5 and identification of a pheromone (cPD1)-induced surface antigen. *J Gen Microbiol*,129,1207-1215.

YAMADA RS, ARMAS A, GOLDMAN M, LIN PS. (1983) A scanning electron microscopic comparison of a high volume final flush with several irrigating solutions: Part 3. *J Endod*,9,137-142.

YAN LJ, TRABER MG, KOBUCHI H, MATSUGO S, TRITSCHLER HJ, PACKER L. (1996) Efficacy of hypochlorous acid scavengers in the prevention of protein carbonyl formation. *Arch Biochem Biophys*,327,330-334.

YANG ZP, YANG SF, LIN YC, SHAY JC, CHÍ CY. (1988) C-shaped root canals in mandibular second molars in a Chinese population. *Endod Dent Traumatol*. 4:160–3

YANG SE, BAE KS. (2002) Scanning electron microscopy study of the adhesion of *Prevotella nigrescens* to the dentin of prepared root canals. *J Endod*,28,433-437.

YANISHLIEVA NV, MARINOVA E, POKORNY J. (2006) Natural antioxidants from herbs and spices. *Eur J Lipid Sci Technol*,108,776-793.

YANO Y, SATOMI M, OIKAWA H. (2006) Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. *Int J Food Microbiol*,111,6-11.

YESİL SOY C, WHITAKER E, CLEVELAND D, PHILLIPS E, TROPE M (1995). Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. *J. Endod*. 21:513-515

YILMAZ E. (2008) Çeşitli kök kanalı medikamentlerinin mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkilerinin in-vitro olarak incelenmesi, T.C. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.

YOSHIDA T, SHIBATA T, SHINOHARA T, GOMYO S, SEKINE I. (1995) Clinical evaluation of the efficacy of EDTA solution as an endodontic irrigant. *J Endod*,21,592-593.

ZAMPINI C, ARIAS M, CUDMANI N, ORDONEZ AA, ISLA MI, MORENO S. (2013) Antibacterial potential of non-volatile constituents of *Rosmarinus officinalis* against 37 clinical isolates of multidrug-resistant bacteria. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*,12,201-208.

ZEHNDER M, KOSICKI D, LUDER H, SENER B, WALTIMO T. (2002) Tissue-dissolving capacity and antibacterial effect of buffered and unbuffered hypochlorite solutions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*,94,756-762.

ZEHNDER M. (2006) Root canal irrigants. *J Endod*,32,389-398.

ZEHNDER M, LUDER HU, SCHATZLE M, KEROSUO E, WALTIMO T. (2006) A comparative study on the disinfection potentials of bioactive glass S53P4 and calcium hydroxide in contra-lateral human premolars ex vivo. *Int Endod J*,39,952-958.



## ÖZGEÇMİŞ

20 Mart 1986 tarihi Yozgat ili Yerköy ilçesi doğumluyum. İstanbul Hüseyin Avni Sözen Anadolu Lisesi'nden mezun oldum. İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği fakültesinde lisans eğitimimi tamamladıktan sonra Karadeniz Teknik Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı'nda doktora eğitimime başladım. 2012 yılında yatay geçiş yaparak doktora eğitimimi Kırıkkale Üniversitesi Diş hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim dalında tamamladım.