



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

ENDODONTİ ANABİLİM DALI

**DENTİN TÜBÜLLERİ İÇİNDE KOLONİZE
OLAN BAKTERİLERİN YOK EDİLMESİNDE
BEŞ FARKLI İRRİGASYON PROTOKOLÜNÜN
ETKİNLİĞİ: BİR KONFOKAL LAZER
ÇALIŞMASI**

Şeyba Sara DOĞAN

UZMANLIK TEZİ

Prof. Dr. Tamer TAŞDEMİR

TRABZON-2023



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

ENDODONTİ ANABİLİM DALI

**DENTİN TÜBÜLLERİ İÇİNDE KOLONİZE
OLAN BAKTERİLERİN YOK EDİLMESİNDE
BEŞ FARKLI İRRİGASYON PROTOKOLÜNÜN
ETKİNLİĞİ: BİR KONFOKAL LAZER
ÇALIŞMASI**

Şeyba Sara DOĞAN
ORCID:0000-0003-3463-5912

UZMANLIK TEZİ

Prof. Dr. Tamer TAŞDEMİR
ORCID:0000-0001-8512-5280

TRABZON-2023

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun şekilde hazırlanarak yazıldığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallara bağlı kalarak elde ettiğimi, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezimin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici davranışımın olmadığını tezimin BAP koordinasyon birimi tarafından TDH-2022-10057 proje kodu ile desteklendiğini beyan ederim.

.../.... 2023

Şeyba Sara DOĞAN

İthaf

Bu yüksek uzmanlık tezimi, bugünlere gelmemde büyük emeği olan sevgili aileme ve her daim yanımda olan sevgili eşim Emrah Mansuroğlu'na ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca büyük bir özveri ile bana her zaman destek olan, deneyimlerini benimle paylaşan, bu süreçte sabrımı, hoşgörüsünü ve desteğini bana hissettiren danışman hocam Prof. Dr. Tamer Taşdemir'e

Uzmanlık sürecimde tüm bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, tez süreci boyunca fikir ve önerileri ile destek olup eğitimime büyük katkıda bulunan değerli hocalarım Doç. Dr. Davut Çelik ve Dr. Öğr. Üyesi Tuğba Koşar'a

Deney çalışmalarımı tamamlama sürecimde gösterdikleri ilgi, özen ve yardımlar için Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Tuba Dinçer ve Doktora Öğrencisi Ümit Uzun'a, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Celal Kurtuluş Buruk'a

Asistanlık hayatım boyunca her anımı paylaştığım ve desteğini hep yanımda hissettiğim canım kıdemlilerim Merve Dilara Onat'a ve Feyzanur Bayraktar'a, 10 senedir üzüntü ve sevinçlerimi paylaştığım canım dostum Murat Taşdemir'e, birlikte çalışmaktan keyif aldığım çalışma arkadaşlarım Ece Ezgi Erdinç, Sevil Zırhlı, İzel Topal, Tunahan Aktaş, Damla Akkaya, Münevver Kaya, Şeyma Kandemir Genç ve Abdulrahman Neccaroğlu'na ve her zaman yanımda olduklarını bildiğim sevgili öğrencilerim Süheyla Şentürk ve Kardelen Kaynak'a

Yardımları ve güler yüzleri ile çalışmaktan mutluluk duyduğum bölüm personelimiz Betül Akçay, Yeşim Yılmaz Aydın, Hilal Tandoğan, Yurdanur Usta, Seda Albayrak'a

Hayatım boyunca her başarımda emekleri olan, maddi manevi hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, sevgi ve ilgileriyle bana destek olan canım annem Advije Doğan'a, canım babam Ali Doğan'a, Trabzon'da beni hiç yalnız bırakmayan sevgili ablam Şeyma Şahin ve eşi Bekir Şahin'e, varlıklarıyla her daim güç veren sevgili kardeşlerim Sude Ebrar Doğan, Şüheda Doğan Beyköylü, ve Ahmet Berat Beyköylü'ye ve hep yanımda olan, tez çalışmam sırasında beni destekleyen, yüreklendiren yol arkadaşım Emrah Mansuroğlu ve ailesine

Tüm kalbimle teşekkür ederim...

Şeyba Sara DOĞAN

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇ KAPAK SAYFASI

ONAY

BEYAN..... iii

İthaf iv

TEŞEKKÜR.....v

İÇİNDEKİLER..... vi

TABLolar DİZİNİ viii

ŞEKİLLER DİZİNİ ix

RESİMLER DİZİNİx

ÖZETxiv

1. GİRİŞ ve AMAÇ1

2. GENEL BİLGİLER.....3

2.1. Endodontik Enfeksiyonlar3

2.2. Kök Kanalından İzole Edilen Mikroorganizmalar4

2.2.1. Enterokoklar ve Enterococcus Faecalis4

2.2.1.1. Enterococcus Faecalis5

2.2.1.2. Mantarlar5

2.2.1.3. Virüsler6

2.3. Biyofilm6

2.3.1. Biyofilm Bakterilerinin Çevresel Tehditlerden Korunması7

2.3.2. Antimikrobiyallere Karşı Geliştirilmiş Tolerans7

2.4. Biyofilm Saptama Yöntemleri.....8

2.4.1. Taramalı Elektron Mikroskobu8

2.4.2. Konfokal Lazer Taramalı Mikroskop9

2.5. Apikal Periodontitis9

2.6. Kök Kanal İrrigasyonu10

2.6.1. İrrigasyon Cihazları ve Teknikleri11

2.6.1.1. Manuel Aktivasyon Yöntemleri11

2.6.1.2. Endodontik Fırçalar.....13

2.6.2. Makine Destekli Aktivasyon Yöntemleri14

2.6.2.1. Ultrasonik Sistemler ile İrrigasyon14

2.6.2.2. Sonik Sistemler ile İrrigasyon15

2.6.2.3. Basınç Değişim Sistemleri.....16

2.6.2.4. XP Endofinisher.....	17
2.6.2.5. GentleWave.....	17
2.6.2.6. Lazerle İrrigasyon Yöntemi.....	18
2.6.3. Kök Kanal İrrigasyon Solüsyonları.....	19
2.6.3.1. Sodyum Hipoklorit.....	19
2.6.3.2. Klorheksidin Glukonat.....	20
2.6.3.3. Etilendiamintetraasetik asit.....	21
2.6.3.4. Etidronik Asit.....	23
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	24
3.1. Etik Kurul Onayı.....	24
3.2. Örneklem Büyüklüğünün Hesaplanması.....	24
3.3. Örnek Seçimi.....	24
3.4. Örnek Preparasyonu.....	25
3.5. Mikroorganizma Suşu ve Besiyerlerinin Hazırlanması.....	27
3.6. İrrigasyon solüsyonun aktivasyonu.....	28
3.7. Örneklerden Kesit Alınması.....	31
3.8. Örneklerin Boyanması.....	33
4. BULGULAR.....	37
4.1. <i>E.faecalis</i> 'in Dentin Tübül Penetrasyonuna Ait Bulgular.....	37
4.1.1. Ölü Bakterilerin Dentin Tübül Penetrasyon Derinliği.....	39
5. TARTIŞMA.....	42
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	51
7. KAYNAKÇA.....	52
EKLER.....	67
Ek 1. Etik Kurul Onay Belgesi.....	68
ÖZGEÇMİŞ.....	69

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No

Sayfa

Tablo 1. Farklı irrigasyon sistemleri ve kontrol grubunun apikal, orta ve koronal üçlüye göre ölü bakteri maksimum dentin tübül penetrasyon derinliğine ait ortalama, standart sapma ve ortanca değerleri (µm)	41
---	----



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No

Sayfa

Şekil 1. Farklı irrigasyon aktivasyon sistemleri ve kontrol grubunun koronal, orta ve apikal üçlü seviyelerindeki ölü bakteri maksimum dentin tübül penetrasyon derinlikleri (µm).

40



RESİMLER DİZİNİ

Resim No

Sayfa

Resim 1. Çalışma için seçilen mandibular premolar dişler	25
Resim 2. Dişlerin deney aşamasından önce bukko-lingual (a) ve mezyo-distal (b) yönden alınan radyografileri.....	25
Resim 3. Preparasyon için T-Must resiprokal eğeler (a), resiprokasyon modunda kullanılan endodontik Ai-Motor (b).....	26
Resim 4. Akrilik rezin içine gömülerek plastik kaba yerleştirilen diş örnekleri.....	26
Resim 5. Örneklerin 37°C’de 21 gün boyunca inkübe edilmesi	27
Resim 6. Standart iğne grubunda kullanılan yandan açılı 30-gauge irrigasyon iğnesi	28
Resim 7. Çalışmada kullanılan NaOCl (a) ve EDTA (b) solüsyonları.....	29
Resim 8. Çalışmamızda kullanılan EndoAktivatör sonik irrigasyon cihazı	29
Resim 9. Çalışmamızda kullanılan TA 200 cihazına bağlanan EDDY uç	31
Resim 10. Çalışmamızda kullanılan İrriflex	30
Resim 11. Çalışmamızda kullanılan Irrisafe uçlar (a) ve Ultrasonik Cihaz (b)	30
Resim 12. Kesim öncesi akrilik blokların işaretlenmesi	32
Resim 13. Çalışmada kullanılan Mikrocut cihazı (a) ve dişlerden elmas disk kullanılarak kesit alınması (b).....	32
Resim 14. Dişlerden elde edilen ve alınan bölgeye göre isimlendirilen kesitler (koronal (C), orta (M), apikal (A))	33
Resim 15. Örneklerin boyanması için kullanılan LIVE/DEAD BacLight bakteriyel canlılık kiti	33
Resim 16. Diş örneklerinin alüminyum folyoyle kapatılması	34
Resim 17. Kesitlerin Konfokal Lazer Taramalı Mikroskop ile görüntülenmesi.....	35
Resim 18. Kesitlerin görüntülediği Konfokal Lazer Taramalı Mikroskop cihazı.....	35
Resim 19. Ölü bakterileri gösteren kırmızı floresans (a), canlı bakterileri gösteren yeşil floresans (b) ve ölü ve canlı bakterilerin karşılaştırılmış görüntüleri (c).....	35
Resim 20. Ölü bakteri maksimum penetrasyon derinliği hesaplanması.....	36
Resim 21. Kontrol grubunun koronal (a), orta (b) ve apikal (c) kesitlerinin KLTM görüntüleri	37
Resim 22. Standart iğne irrigasyonu grubunun koronal (a), orta (b), apikal (c) kesitlerinin KLTM görüntüleri	37

Resim 23. Endoaktivatör grubunun koronal (a), orta (b), apikal (c) kesitlerinin KLTM görüntüleri	38
Resim 24. EDDY grubunun koronal (a), orta (b), apikal (c) kesitlerinin KLTM görüntüleri	38
Resim 25. İrriflex grubunun koronal (a), orta (b), apikal (c) kesitlerinin KLTM görüntüleri	38
Resim 26. Pasif ultrasonik irrigasyon grubunun koronal (a), orta (b), apikal (c) kesitlerinin KLTM görüntüleri	38



KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

Ni-ti	Nikel-titanyum
Dk	Dakika
Sn	Saniye
Rpm	Devir/Dakika
Ark.	Arkadaşları
TEM	Taramalı elektron mikroskobu
KLTM	Konfokal Lazer Taramalı Mikroskop
Hz	Hertz
EA	Endoaktivatör
PUİ	Pasif Ultrasonik İrrigasyon
MDİ	Manuel-Dinamik İrrigasyon
E.faecalis	Enterococcus Faecalis
C.albicans	Candida Albicans
EPS	Hücre Dışı Polisakkarit
PALM	Foto Aktivasyon Lokalizasyon Mikroskop
SIM	Yapısal Aydınlatma Mikroskop
MTA	Mineral Trioksit Agregat
GW	Gentlewave
LAI	Lazerle Aktive Edilen İrrigasyon
PBS	Fosfat Tamponlu Salin
PIBS	Foton indüklü Fotoakustik Dalgalanma Tekniği
PAI	Foto-aktif Dezenfeksiyon
Mm	Milimetre
CW	Saat Yönü
CCW	Saat Yönünün Tersi
Simgeler	
Ca(OH)₂	kalsiyumhidroksit
CHX	klorheksidin glukonat
EA	etidronik asit
EDTA	etilendiamin tetraasetik asit
NaOCl	sodyum hipoklorit

PI	propidyum iyodur
%	yüzde
<	küçük
>	büyük
±	artı-eksi
°C	santigrat derece
µm	mikrometre



ÖZET

Dentin Tübülleri İçinde Kolonize Olan Bakterilerin Yok Edilmesinde Beş Farklı İrrigasyon Protokolünün Etkinliği: Bir Konfokal Lazer Çalışması

Bu tez çalışmasının amacı; farklı irrigasyon aktivasyon sistemlerinin (Standart iğne irrigasyonu (SNİ), Endoaktivatör (EA), EDDY, İrriflex ve Pasif ultrasonik irrigasyon (PUİ)) dentin tübülleri içine kolonize bakterilere etkisinin Konfokal Lazer Taramalı Mikroskop (KLTM) analizi kullanılarak karşılaştırmaktır.

Çalışmaya 60 adet mandibular insan dişi dahil edildi. Dişler beş deney grubu (n=10) ve bir kontrol grubuna (n=10) ayrıldı. Tüm diş örnekleri standardizasyon sağlamak için 18 mm de eşitlendi. Dişler T-Endo Must döner eğeleri ile 40.04 çapa kadar şekillendirildi. Örnekler akrilik rezin bloklara gömülerek steril edildi. Ardından *E.faecalis* ekim işlemi tamamlanıp 21 gün inkübe edildi. Diş örnekleri final irrigasyonu sırasında SNİ, EA, EDDY, İrriflex ve PUİ (İrrisafe) yöntemleri kullanılarak aktive edildi. Pozitif kontrol grubunda herhangi bir irrigasyon yapılmadı. Dişlerden apikalden sırasıyla 2, 5, 8 mm uzaklıklardan 1 ± 0.1 mm kalınlıklarında horizontal enine kesitler alındı. Alınan kesitler LIVE/DEAD BacLight Canlılık kiti kullanılarak boyandı ardından örnekler KLTM ile görüntülendi. Elde edilen görüntüler Leica Application Suite-Advanced Fluorescence (version 2.6.0.7266; Leica Microsystems CMS GmbH) yazılımı kullanılarak dentin tübüllerine kolonize ölü bakterilerin maksimum penetrasyon derinliği değerlendirildi. İstatistiksel analiz için Kruskal Wallis, Mann Whitney U testi ve Bonferroni düzeltmesi kullanıldı.

Kontrol grubu ölü bakteri maksimum penetrasyon derinliği her üç kesitte de tüm deney gruplarından anlamlı olarak daha düşük; PUİ grubu, apikal ve koronal üçlüde diğer deney gruplarından anlamlı olarak daha yüksek penetrasyon derinliği göstermiştir ($p<0.05$). Koronal üçlüde SNİ grubu; EA, PUİ, EDDY ve İrriflex deney gruplarından anlamlı olarak daha düşük penetrasyon derinliği göstermiştir ($p<0.05$). EA ve EDDY gruplarının koronal üçlüde ölü bakteri penetrasyon derinliği karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark görülmezken ($p>0.05$); EA ve EDDY grupları, İrriflex grubuna göre daha yüksek penetrasyon derinliği göstermiştir ($p<0.05$). Orta üçlüde SNİ grubu; EA, PUİ, EDDY ve İrriflex deney gruplarından anlamlı olarak daha düşük penetrasyon derinliği göstermiştir

($p<0.05$). EA ve PUI grupları arasında anlamlı fark görülmezken ($p>0.05$); EDDY ve EA grupları, İrriflex grubundan daha yüksek penetrasyon derinliği göstermiştir ($p<0.05$). Apikal üçlüde SNİ grubu; EA, PUI, EDDY ve İrriflex gruplarından anlamlı olarak daha düşük penetrasyon derinliği göstermiştir. EA grubu, İrriflex grubundan anlamlı olarak daha yüksek penetrasyon derinliği göstermiştir ($p<0.05$). Kesit seviyelerine göre yapılan grup içi karşılaştırmalarda; SNİ ve İrriflex gruplarında koronal üçlüdeki penetrasyon derinliği, apikal üçlünden anlamlı olarak daha yüksek bulunurken ($p<0.01$) PUI, EDDY ve EA gruplarında apikal üçlüdeki penetrasyon derinliği diğer kesitlere göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p<0.01$).

Çalışmamızın sonuçlarına baktığımızda irrigasyon solüsyonu kullanmadığımız pozitif kontrol grubu dışında tüm gruplarda istatistiksel olarak önemli bir *E.faecalis* türünde azalma görülse de hiçbir grupta *E.faecalis* yüzde yüz elimine edilememiştir. Bu da kullanılan irrigasyon protokollerinin daha fazla geliştirilmesi ve daha fazla araştırma yapılması gerektiği göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *E.faecalis*, Konfokal Lazer Taramalı Mikroskop, İrrigasyon

ABSTRACT

The Effectiveness of Five Different Irrigation Protocols in Elimination of Bacteria Colonizing in Dentin Tubules: A Confocal Laser Study

The aim of this thesis study is to compare the effects of different irrigation activation systems (Standard needle irrigation (SNI), Endoactivator (EA), EDDY, Irriflex and Passive ultrasonic irrigation (PUI)) on bacteria colonizing dentinal tubules using Confocal Laser Scanning Microscope (CLSM) analysis.

Sixty mandibular human teeth were included in the study. The teeth were divided into five experimental groups (n=10) and a control group (n=10). All tooth samples were equilibrated at 18 mm to ensure standardization. The teeth were shaped with T-endo Must rotary files up to a diameter of 40.04. The samples were sterilized by embedding in acrylic resin blocks. Then, planting with *E.faecalis* was completed and incubated for 21 days. Tooth samples were activated during the final irrigation using SNI, EA, EDDY, Irriflex and PUI (Irrisafe) methods. No irrigation was performed in the positive control group. Horizontal cross-sections of 1 ± 0.1 mm thickness were taken from the teeth at a distance of 2, 5, 8 mm, respectively, from the apical sections taken were stained using the LIVE/DEAD BacLight Vitality kit, then the samples were visualized with CLSM. The maximum penetration depth of dead bacteria colonizing the dentinal tubules was evaluated using the Leica Application Suite-Advanced Fluorescence software. Kruskal Wallis, Mann Whitney U test and Bonferroni correction were used for statistical analysis.

The maximum penetration depth of dead bacteria in the control group was significantly lower than in all experimental groups in all three sections. SNI group in the coronal triad; EA showed significantly lower penetration depth than PUI, EDDY and Irriflex experimental groups ($p < 0.05$). When the dead bacteria penetration depth in the coronal third of the EA and EDDY groups was compared, there was no significant difference between the groups ($p > 0.05$); EA and EDDY groups showed higher values than Irriflex group ($p < 0.05$). SNI group in the middle third; EA showed significantly lower penetration depth than PUI, EDDY and Irriflex experimental groups ($p < 0.05$). While there was no significant difference between EA and PUI groups ($p > 0.05$); EDDY and EA groups showed higher penetration

depth than Irriflex group ($p<0.05$). SNI group in the apical third; EA showed significantly lower penetration depth than PUI, EDDY and Irriflex groups. The EA group showed significantly higher penetration depth than the Irriflex group ($p<0.05$). In group comparisons made according to cross-section levels; While the penetration depth in the coronal third was significantly higher than the apical third in the SNI and Irriflex groups ($p<0.01$) the penetration depth in the apical third in the PUI, EDDY and EA groups was found to be significantly lower than in the other sections ($p<0.01$).

When we look at the results of our study, although a statistically significant *E.faecalis* decrease was observed in all groups except the positive control group in which we did not use irrigation solution, *E.feacalis* could not be eliminated %100 in any group. This indicated that the irrigation protocols used should be developed further and further research should be done.

Keywords: irrigation, confocal laser scanning microscope, *E.faecalis*

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Pulpa ve periodontal doku hastalıklarına sebep olan ana etkenin bakteriyel enfeksiyon olduğu bilinmektedir. Enfekte kök kanalındaki mikroorganizmaların uzaklaştırılması zordur (1–3). İntraradiküler bakterilerin yetersiz eradikasyonunun sebebi kök kanal sisteminin karmaşık morfolojisinin yanı sıra kanal içi bakterilerin, antimikrobiyal ajanların çoğuna dirençli biyofilmler halinde organize olmasıdır (4, 5). Bakteriler ve yan ürünlerinin etkin bir şekilde ortamdan uzaklaştırılamaması kalıcı inflamasyona veya iyileşmenin gecikmesine neden olabilir (5).

Başarılı bir kanal tedavisinin temelinde; doğru teşhisin konulması, diş anatomisi ve morfolojisine uygun bir tedavi planının geliştirilmesi, tüm kök kanal sisteminin debridmanı, dezenfeksiyonu ve sızdırmaz bir biçimde doldurulması vardır. Lateral ve aksesuar kanallar, kanal eğrilikleri, kanal duvarı düzensizlikleri, isthmuslar gibi morfolojik faktörler tam debridmanı neredeyse imkansız hale getirir (6). Yapılan klinik ex vivo ve çalışmalar kök kanallarının kompleks anatomik yapısı nedeni ile mekanik preparasyonun; tek başına kök kanallarını bakterilerden ve enfekte doku artıklarından tamamen temizleyemediğini, mekanik preparasyon sırasında prepare edilmemiş alanların kaldığını göstermiştir. Sadece mekanik preparasyon ile etkin temizleme yapılamaması nedeniyle irrigasyon işlemi son derece önemlidir (7).

Uygun kanal enstrümantasyonu ve sodyum hipoklorit (NaOCl) ile yeterli irrigasyon, bakteri sayısını azaltabilse de *Enterococcus faecalis*’i (*E.faecalis*) kök kanalından tamamen uzaklaştıramayabilir (5, 8). İntraradiküler mikroorganizmaları yok edebilmek ve üç boyutlu temizlik sağlamak için kök kanal şekillendirilmesi sırasında kullanılan irrigasyon solüsyonlarının aktive edilmesi önerilmektedir (6).

İrrigasyon solüsyonları; sonikler, ultrasonikler ve lazerler gibi cihazlar yardımıyla kanal içinde aktive edilebilmektedir (9). Son yıllarda bu konuda yeni teknik veya yöntem arayışları devam etmektedir.

Bu in-vitro çalışmanın amacı; mandibular premolar dişler prepare edilirken final irrigasyon aşamasında kullanılan farklı irrigasyon aktivasyon sistemlerinin (Standart iğne irrigasyonu, Pasif ultrasonik irrigasyon, EndoActivator, EDDY ve Irriflex), dentin tübüllerine penetre olan *E.faecalis* bakterileri üzerindeki antibakteriyel etkilerini karşılaştırmalı olarak incelemektir. Çalışmanın sıfır hipotezi, test edilen irrigasyon

aktivasyon yöntemlerinin dentin tübüllerindeki bakterilere etkilerinin birbirleriyle benzer olacağı yönündedir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Endodontik Enfeksiyonlar

Endodontik enfeksiyonlar anatomik yerleşimlerine (intraradiküler veya ekstraradiküler enfeksiyon) ve mikroorganizmaların kök kanalına ne kadar sürede ulaştığına (primer, sekonder veya kalıcı enfeksiyon) göre sınıflandırılabilirler. Genellikle primer ve sekonder endodontik enfeksiyonlar, intraradiküler yerleşimlidir ve tedavi edilmez veya yetersiz tedavi edilirlse ekstraradiküler enfeksiyonlara neden olabilirler (10–12). Primer enfekte kök kanalları, mikroorganizmaların pulpa dokusuna ulaşp orada kolonize olduğu ve pulpal yapının bozulduğu tedavi edilmemiş kanallardır. Mikrobiyata 10-30 türden oluşur ve kanalın apikal üçte birinde bulunan türler, apikal periodontitisin patogenezinde önemli bir role sahiptir (10–13).

Sekonder enfekte kök kanalları, genellikle tedavi sonrası gelişen apikal periodontitis ile ilişkilidir bu da endodontik tedavinin başarısızlığını göstermektedir. Bu durumda mikroorganizmalar, kemomekanik prosedürlerle uzaklaştırılamamış (kalıcı enfeksiyon) veya kök kanal dolgusunun koronal sızıntısıyla kanalı istila etmiş olabilirler (sekonder enfeksiyon) (10–14). *Parvimonas micra*, *Propionibacterium* türleri ve *Pseudoramibacter alactolyticus* gibi anaerobik bakteriler dahil olmak üzere diğer bakteri türleri sekonder enfeksiyonlarda yaygın olarak rapor edilmektedir. *Candida* türleri, primer enfeksiyonlu dişlere göre endodontik olarak başarısız olan dişlerin kök kanallarında daha sık bulunur (10, 11, 14, 15).

Endodontik olarak başarısız kanallarda, fakültatif anaerob ve gram pozitif bakteriler baskındır bunun nedeni enstrümantasyona ve antiseptik ajanlara karşı artan dirençtir (14, 16–18). Molander ve arkadaşlarına göre fakültatif anaeroblar özellikle gram pozitif olanlar, bir süre düşük metabolik aktiviteye sahip sessiz fazda hayatta kalabilir ve kök kanal tedavisi sırasında veya sonrasında koronal sızıntı gibi faktörlerle beslenme koşullarını değiştirebilir bu yüzden bakteri üremesine neden olabilirler (18).

Ekstraradiküler enfeksiyonlara çoğunlukla intraradiküler enfeksiyonlar neden olur. Apikal apseler, ekstraradiküler biyofilmler ile karakterizedirler. Bununla birlikte *Actinomyces spp.*'nin neden olduğu apikal aktinomikozlar gibi bağımsız ekstraradiküler enfeksiyonlar da vardır (19, 20).

Akut apikal apse, ekstraradiküler enfeksiyonun en yaygın şeklidir. Akut apikal apselerde bulunan mikrobiyal topluluklar; esas olarak *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Dialister* ve *Treponema* gibi gram-negatif basiller, gram-pozitif koklar ve anaerobik mikroorganizmaların (izolatların yaklaşık %90'ı) baskın olduğu topluluktur. Bunlar, zorunlu anaerob bakterilerin fakültatif anaerob bakterilerden 3 ile 4 kat daha fazla olduğu polimikrobiyal enfeksiyonlardır (19, 21–24).

Kronik apikal apse, bu lezyonun patognomik bir işareti olarak bilinen bir fistül yoluyla yavaş yavaş pü oluşumu ve periapikal bölgede bir enflamasyon ile karakterizedir. Radyografik olarak, apikal kemik yıkımının radyolüsent belirtileri görülür (25). Rôças ve arkadaşları; *Porphyromonas endodontalis* (%100), *Dialister invisus* (%89), *Parvimonas micra* (%78) ve *Solobacterium moorei*'nin (%78) kronik apikal apsede görülen en yaygın türler olduğunu bildirmişlerdir (26).

2.2. Kök Kanalından İzole Edilen Mikroorganizmalar

2.2.1. Enterokoklar ve *Enterococcus Faecalis*

Hem insanların hem de hayvanların mikroflorasının önemli bir parçası olan Enterokok türlerinin kökenleri çevresel kaynaklardan, hayvan ve insan kaynaklarına kadar çeşitlilik göstermektedir. Enterokokus cinsine ait türler; insanların ve diğer memelilerin gastrointestinal sistemi de dahil kuşlar, sürüngenler, böcekler, bitkiler, su ve toprakta bulunabilirler. Ayrıca genitoüriner sistem ve ağız boşluğunu kolonize edebilirler. Enterokokal enfeksiyonlar arasında; bakteriyemi, cerrahi yara enfeksiyonu, hepatobiliyer sepsis, idrar yolu enfeksiyonları, endokardit, neonatal sepsis ve periradiküler apseler yer alır (27).

Enterokoklar genellikle konjugatif transpozonlar, feromon duyarlı plazmitler ve diğer geniş konak menzilli plazmitler üzerinde taşınan direnci kodlayan genlerin değişimi yoluyla antibiyotik direnci kazanırlar (28). *E.faecalis* klinik enfeksiyonla ilişkili en yaygın tür iken *E.faecium* antibiyotiğe karşı yüksek direnç gösterir. Bu nedenle hastane kaynaklı enfeksiyonların başında *Enterococcus* türleri gelmektedir (27). Bunun nedeni; Enterokokların 10°C ile 45°C arası sıcaklıklara, hipotonik, hipertonic, asidik veya alkali ortamlara son derece dayanıklı olmasıdır (29).

2.2.1.1. Enterecoccus Faecalis

E.faecalis; spor oluşturmeyen, fakültatif anaerobik ve gram pozitif bir koktur. *E.faecalis* 0.5 ile 1 µm çapında ve ovaldır. Tek tek, çiftler halinde veya kısa zincirler halinde bulunup sıklıkla zincir yönünde uzarlar. Kanlı agar üzerindeki yüzey kolonileri dairesel, pürüzsüz ve bütündür (30). *E.faecalis*, 11.5'e ulaşan yüksek alkali pH ve besin maddelerinin yetersiz olduğu zorlu ortamlarda hayatta kalma yeteneğine sahiptir (4, 27). Diğer mikroorganizmaların dentin tübüllerinde yaklaşık 300 µm derinliğe kadar nüfuz ettikleri bildirilirken *E.faecalis* 500 µm derinliğe kadar uzanabilir (31).

E.faecalis, tedavi edilmeyen kök kanallarındaki floranın küçük bir bölümünü oluşturmaya rağmen kök kanal tedavisi sonrası kalıcı periradiküler lezyonların etiolojisinde önemli rol oynadığı düşünülen bir mikroorganizmadır. Primer endodontik enfeksiyon vakalarının sadece %18'inde tespit edilirken kök kanal tedavili dişlerdeki prevalansı %67'dir (4, 32).

E.faecalis'in diğer bakterilerin sinerjistik desteği olmaksızın kök kanal duvarlarında bir biyofilm oluşturması, doldurulan kanallarda mono-enfeksiyon olarak büyümesi ve antimikrobiyal ajanlara karşı yüksek direnci bu bakteriyi kök kanal tedavisi başarısızlığında kritik bir patojen haline getirir (33). Ayrıca marjinal periodontitis, enfekte olmuş kök kanalları ve periradiküler apseler dahil olmak üzere oral enfeksiyonlardan en sık izole edilen türdür (34).

E.faecalis'in kök kanal tedavisi sırasında kullanılan irrigasyon solüsyonlarına ve kalsiyum hidroksite (Ca(OH)_2) karşı dirençli olduğu bilinmektedir (35). Ca(OH)_2 'e karşı direnç, bazı *Candida* türleri ve *Actinomyces radicidentis* gibi endodontik başarısızlıkla ilişkilendirilen diğer birkaç mikroorganizmada da görülmektedir. Bunun nedeni; bu mikroorganizmaların kök kanallarından uzaklaştırılmasını engelleyen farklı virülans ve direnç mekanizmalarına sahip olmalarıdır (36).

2.2.1.2. Mantarlar

Enfekte kök kanallarının yaklaşık %3-18'inde, *Candida* türleri izole edilmiştir. Sistematik bir inceleme ve meta-analiz, *Candida* (*C.*) *albicans*'ın enfekte kök kanallarından en sık izole edilen mantar türü olduğunu göstermiştir (37).

C.albicans; diş protezleri ve dentin gibi hem biyotik hem de abiyotik yüzeylere bağlanır. Dentinofiliktir, dentin duvarlarına kolonize olup dentin tübüllerine nüfuz eder ve

biyofilmler oluşturur. Yuvarlak *C. albicans* hücreleri, 60-90 dakikada dentin yüzeylerine tutunur ve 24 saatte olgunlaşan bir bazal biyofilm tabakası oluşturmak üzere çoğalırlar (38,39). Olgun biyofilmler; hücre dışı matrisler içine gömülü, kalın ve fizyokimyasal olarak sert yapılar oluşturan hifal, psödohifal ve maya formlarından oluşan çok sayıda polimorfik hücre katmanını içerir. Daha sonra, olgun biyofilmlerden gelen yuvarlak maya hücreleri, uzak bölgeleri enfekte etmek için dağılır. Biyofilmlerdeki *C. albicans* 10-100 kat daha fazladır. Hem hücre büyümesi ve metabolizması yavaşladığı hem de hücre dışı polimerik maddeler (EPS) ve koruyucu faktörler tarafından korunduğu için konakçı immün yanıtlarına ve antifungal tedaviye dirençlidir (39, 40). Bu nedenle biyofilmlerdeki *C.albicans*'ı uzaklaştırmak planktonik hücrelere göre daha zordur ve kök kanal tedavisine yanıt vermeyen inatçı (refrakter) endodontik enfeksiyonlarda yaygın olarak bulunur (41).

Periapikal dokularda maya varlığına ilişkin çok az rapor vardır. Vaka raporları, ekstraradiküler maya varlığının öncelikle bağışıklığı baskılanmış hastalarla ilişkili olduğunu göstermektedir (42, 43). İdeal kök kanal tedavilerine rağmen devam eden bu tür şüpheli ekstraradiküler enfeksiyon vakalarının iyileşmesi için endodontik mikrocerrahi müdahale gerekebilir (43).

2.2.1.3. Virüsler

Herpes virüslerin; periapikal patoloji, akut periodontitis, diş eti ve oral mukozanın akut inflamasyonunun patogenezinde yer aldığı son yıllarda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Endodontik enfeksiyonlar; pulpitis ve periapikal periodontitise neden olan inflamatuvar hücrelerin akışına yol açan fırsatçı mikroorganizmaların göçü ile başlatılan polimikrobiyal, çok aşamalı bir inflamatuvar yanıttır. Bu inflamatuvar hücreler, latent herpes virüslerinin potansiyel reaktivasyonu ile oluşur bu da konakçı immün tepkisinde bozulmaya ve ardından akut endodontik inflamasyona neden olur (44, 45).

2.3. Biyofilm

Biyofilm; bir yüzeye eklenmiş, kendi ürettiği hücre dışı polimerik matris içine alınmış bakteri hücrelerinden oluşan oldukça organize bir yapıdır. Biyofilm; hücre dışı DNA'ya, hücre dışı proteinlere ek olarak hücre dışı polisakkaritlerin matrisine gömülü hücrelerden oluşan, mikrobiyal bir topluluk olarak da düşünülebilir. Biyofilmler; bir mikrobiyota yoğunlaşma tabakasına, bir alt tabakaya, ara yüze veya birbirlerine geri dönüşümsüz olarak bağlanabilirler (46, 47).

Genel olarak tam bileşimi, mevcut mikroorganizmalara ve besinlere göre değişir. Ayrıca biyofilmlerdeki organizmalar, büyüme hızı ve gen transkripsiyonuna göre değişmiş bir fenotip sergilerler (48, 49). Biyofilmlerdeki bakterilerin fizyolojik özellikleri, bir kültür ortamındaki aynı bakteriye kıyasla kısmen farklıdır çünkü biyofilmlerdeki mikroorganizmalar matrisleri tarafından çevresel streslerden korunurlar (50). Bu yapı besinlerin tutulmasını sağlar ve aynı veya farklı türden çeşitli yerleşik bakteri arasında metabolik iş birliğine izin verir. Bir biyofilmdeki organize iç yapı, farklı büyüme gereksinimlerine sahip bakterilerin kendi mikro ortamlarında hayatta kalmalarını sağlar (51).

Biyofilm içindeki mikroorganizmalar, antimikrobiyal ajanlara ve konak savunma mekanizmalarına karşı planktonik türlere göre yaklaşık 1000 kat daha dirençli olabilirler (9). Çünkü bakteriyel hücreler, biyofilmlerde planktonik durumlarından daha yavaş çoğalırlar ve bu nedenle antimikrobiyal ajanlardan daha geç etkilenirler (52). Ayrıca biyofilm mikrobiyal hücrelere hazır bir ortam sağlayarak onların hayatta kalmasını ve kalıcılığını daha da artırır (53, 54).

2.3.1. Biyofilm Bakterilerinin Çevresel Tehditlerden Korunması

Bakteriler, hücre yüzey yapıları (örneğin, kapsül) veya hücre dışı salgılar (örneğin, hücre dışı polisakkarit) üretme yeteneğine sahiptir. EPS; tüm yerleşik bakterilerin pH değişimleri, ozmotik şok, UV radyasyonu ve kuruma gibi çeşitli çevresel streslerden korunmasını sağlayabilir. Ayrıca bu yapı, mikroorganizmalara ulaşmadan önce EPS matriksinden difüze olması gereken zararlı maddelerin etkisini de hafifletir (55, 56).

2.3.2. Antimikrobiyallere Karşı Geliştirilmiş Tolerans

Uzun süreli ilaç kullanımı, değişen gen ekspresyonu ve direnç genlerinin transferi nedeniyle mikroorganizmalar arasında direnç gelişimine yol açarak antimikrobiyal ajanı etkisiz hale getirir (56, 57). Bakteri hücrelerinde EPS matrisi, β -laktamaz gibi hücre dışı enzimleri yakalayarak bir bariyer görevi görür ve böylece β -laktam antibiyotikleri etkisiz hale getirir. Besinlerin tükenmesi nedeniyle bakteriler hareketsiz bir duruma zorlanır ve böylece korunurlar (58).

Antimikrobiyal toleranstan sorumlu başka bir mekanizma; oksijen, biyofilm yüzeyindeki bakteriler tarafından tamamen tüketilebildiğinden biyofilm topluluğunun derinliklerindeki anaerobik nişlerin konumudur (59). Kalıcı olarak bilinen bir alt popülasyon genellikle biyofilm topluluğu içinde bulunur. Bu ısrarcı topluluk, herhangi bir bakteri tipine

ait olabilir ve birçok antimikrobiyal ajan tarafından öldürülmeye karşı oldukça dirençli bir fenotip sergiler (60, 61).

2.4. Biyofilm Saptama Yöntemleri

Biyofilm analizleri; mikroorganizmaların sayısı ve türü, yerleşik mikrobiyal nüfusun canlılık durumu (ölü / yaşayan hücreler), yaş, kalınlık miktarı (tek katmanlı veya çok katmanlı), yapı ve biyofilmlerin yüzey topografisini ortaya çıkarmak için mikrobiyolojik kültür teknikleri, kolorimetrik teknikler, mikroskopik teknikler gibi farklı teknikler, biyokimyasal yöntemler ve moleküler yöntemler kullanılır (62).

Kök kanallarındaki bakterilerin sayısının belirlenmesinde; kök kanallarından paper pointlerle örnekler alınarak indirekt olarak ‘dilüsyonla sayma yöntemi’, pulvarizasyon sonrası dilüsyonla sayma yöntemi, kültürlerin bulanıklığı doğrultusunda bakteri sayısının belirlendiği ‘türbidimetrik yöntem’ (spektrofotometre) ayrıca günümüzde sık kullanılan TEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) ve KLTM (Konfokal Lazer Taramalı mikroskobu) ile bakteri sayısının tespit edildiği yöntemler mevcuttur (63–65).

Bakterilerin substratlara yapışmasını, biyofilmlerin yapısını ve biyofilm yapısındaki bakterilerin dağılımını, tipini ve canlılığını değerlendirmek için farklı mikroskopik yöntemler de kullanılmıştır (62). STED (Uyarılmış Emisyon Tükenmesi Mikroskobu), PALM (Foto-Aktivasyonlu Lokalizasyon Mikroskobu) ve SIM (Yapısal Aydınlatma Mikroskobu) gibi yeni mikroskopik teknikler, çözünürlük açısından bazı sınırlamaları ortadan kaldırılabirler. Mikroskopik yöntemlerde; bakteriyel biyofilm, floresan olan bir boya ile (örn. propidyum iyodür) veya doğası gereği floresan olmayan (örn. safranin) maddelerle boyanır. Birçok yüksek çözünürlüklü ışık mikroskobu, yüzeydeki bakteri hücrelerinin sayılmasını sağlayabilir (62).

2.4.1. Taramalı Elektron Mikroskobu

TEM kullanımı, floresan boyaların kullanımıyla ilgili bazı sınırlamaların üstesinden gelir. Bu teknik, bir bakterinin hücresel yüzeyi veya hücre zarındaki hasarın tanımlanması gibi morfolojik yapıların ayrıntılı analizinin yanı sıra niteliksel bilgi sağlamak için mikrobiyal sistemlerin taranmasına olanak tanır. Ayrıca ekosistemlerdeki yapısal değişiklikleri saptayarak hücreden hücreye etkileşimlerin analizine izin verir (66, 67). Bununla birlikte bu tür bir mikroskopi için numuneler, genellikle hücre dışı polimerik matrisin bozulmasına neden olan yüksek vakum koşullarında hazırlanır (68). Çevresel TEM

gibi düşük vakumlu yöntemler bu açıdan daha yararlı olabilir. Bu tekniklerin ana dezavantajı; fiksasyon, dehidrasyon, dondurarak veya kritik noktada kurutma ve püskürtme gibi kapsamlı numune hazırlama adımlarına duyulan ihtiyaçtır. Bu işlemler, orijinal biyofilm morfolojisini büyük ölçüde etkileyebilir (51).

2.4.2. Konfokal Lazer Taramalı Mikroskop

Son yıllarda KLTM, biyofilm yapısını incelemek için kullanışlı bir yöntem olarak ortaya çıkmıştır çünkü KLTM biyofilm hücrelerine zarar vermeden araştırılmasına izin verir. KLTM’de floresan belirteçlerin kullanılması, belirli hücrelerin veya hatta hücre dışı matrisin bileşenlerinin görüntülenmesine izin verir (69). Spesifik belirteçlerin kullanımı (örneğin, canlı/ölü) canlı ve ölü bakterilerin farklılaşmasına izin verir ve sıklıkla yeşil veya kırmızı floresan sinyallerle gösterilir (70, 71). Bunun yanı sıra KLTM biyo-kütlenin üç boyutlu yapılandırılmasını kullanarak biyofilm yapısının bozulmasına neden olan irrigasyon solüsyonlarının ve tekniklerinin etkinliği hakkında bir fikir sahibi olmamızı sağlar. Tekniğin sınırlaması olan daha yüksek çözünürlüklü görüntüleme gerektiren hücresel ince yapıyı görselleştirememesi ışık mikroskobu ile aynıdır (51).

Işık mikroskobu, doğrudan in vitro numuneler veya histolojik kesitler üzerinde biyofilm analizleri için kullanılan nispeten ucuz, kullanımı kolay ve hızlı temel bir tekniktir (72).

2.5. Apikal Periodontitis

Apikal periodontitis; bir dişin kök ucunu çevreleyen dokuları etkileyen ve kök kanal enfeksiyonunun neden olduğu bir hastalıktır. Hastalık, akut apse gelişimi de dahil olmak üzere farklı klinik şekillerde kendini gösterebilir (23).

Apikal periodontitis; genellikle diş çürüğü, diş kırığı, travma veya iyatrojenik hasar nedeniyle dişin pulpa dokusunun yaralanmasından sonra ortaya çıkar. Dental pulpa, hafif ile orta dereceli yaralanmadan kaynaklanan reversible pulpitisten iyileşebilirken kalıcı veya geniş hasar pulpa dokularında irreversible seviyelerde inflamasyonla sonuçlanır. Tedavi edilmeyen irreversible pulpitisi dişler, pulpa nekrozuna ve kök kanal sisteminde bakteriyel kolonizasyona neden olurlar (73).

Apikal periodontitis, ısıarak şiddetlenen donuk veya zonklayıcı bir ağrı ile karakterizedir. Etkilenen diş, vitalite testine genellikle negatif veya gecikmeli pozitif yanıt verirken diş perküsyona karşı oldukça hassastır (74).

Apikal periodontitis; tedavi edilmeyen dişlerde, nekrotik bir pulpanın primer enfeksiyona karşı bir savunma tepkisiyken endodontik tedavi prosedürlerinden sonraki sekonder bir enfeksiyona bağlı olarak da gelişebilir. Sekonder bir enfeksiyona bağlı olarak gelişen apikal periodontitis, ya primer kök kanal enfeksiyonunun başarısız endodontik tedavisinden ya da yetersiz koronal tıkama nedeniyle bakteriyel sızıntının gerçekleşmesinden kaynaklanır (74).

“Apikal periodontitis” isminden de anlaşıldığı üzere lezyon, tipik olarak kök kanalının apikal foramen yoluyla periodonsiyum ile iletişim kurduğu kök uçlarına yakın bölgesinde gelişir. Ayrıca endodontik kökenli inflamatuvar periodontal lezyonlar, köklerin lateralinde veya çok köklü dişlerin furkasyonlarında bulunan anatomik veya iyatrojenik açıklıklarda da ortaya çıkabilir (74).

Aynı klinik hastalıkla ilişkili bireyler arasında endodontik mikrobiyaya değişkenlik göstermiştir; yani tür zenginliği ve çeşitliliği açısından hiçbir kök kanal enfeksiyonu aynı değildir. Bu nedenle apikal periodontitis etiyolojisi de heterojenite gösterir (75).

Endodontik tedavinin temel amacı; dişin ağız boşluğunda sağlıklı kalabilmesi için apikal periodontitisin önlenmesi veya tedavi edilmesidir (76). Apikal periodontitisin kanal içindeki bakterilerden kaynaklandığı bilinmektedir (77, 78). Bu nedenle tedavisi etkenin ortadan kaldırılmasıdır. Sonuç olarak mevcut tedavi protokolleri (izolasyon, kanal hazırlığı, antibakteriyel irriganlar ve intraradiküler ilaçlar) bakteriyel eliminasyona yönelik prosedürlerdir (79).

2.6. Kök Kanal İrrigasyonu

Endodontide kök kanal irrigasyonu; lubrikasyon sağlayarak enstrümantasyonu kolaylaştırmak, debrisleri, mikroorganizmaları, smear tabakasını uzaklaştırmak ve apikal debris birikimini önlemek için yapılır. İrrigasyon maddeleri etkilerini mekanik, kimyasal ve biyolojik olarak gösterir. Mekanik olarak; irrigasyon solüsyonlarını kanal duvarlarına iletilir. Kimyasal olarak aktif bileşenler; organik ve inorganik kalıntıları uzaklaştırır. Biyolojik olarak; kanaldaki mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etki, onları etkisiz hale getirmeye veya öldürmeye yardımcı olur (80). İrrigasyon; dentin ve ege arasındaki sürtünmeyi azaltır, eğelerin kesme etkinliğini artırır, dokuyu çözer ve özellikle ultrasonik enerji kullanımı sırasında hem eğeyi hem de dişi soğutur. Ayrıca irrigasyon; debrisin apikale itilmesini, planktonik ve biyofilm bakterilerinin periapikal dokulara çıkışını engelleyebilir. En önemli irrigasyon solüsyonları, organik veya inorganik doku üzerinde

doku çözücü aktiviteye sahiptir. Ayrıca bazı irrigasyon solüsyonları, antimikrobiyal aktiviteye de sahiptir ve bunlar doğrudan temas halinde olan bakteri ve mayaları aktif olarak öldürürler (81).

Geleneksel irrigasyon yöntemleri, irrigasyon solüsyonunu en iyi ihtimalle iğne ucunun sadece 1 mm ötesine iletebilirler. Bu; lateral kanallar, aksesuar kanallar, isthmuslar ve anastomoz bölgelerinde tedaviden sonra mikroorganizmaların çoğalmasına neden olabilir. Bu nedenle irrigasyon maddelerinin temizleme etkinliğini artırmak ve mikroorganizmaların tamamen yok edilmesini sağlamak için irrigasyon solüsyonlarının aktive edilmesi önerilmiştir.

Kök kanal sistemi içinde irrigasyon solüsyonlarının aktive edilmesi için farklı teknikler ve irrigasyon aktivasyon cihazları mevcuttur. Bunlar; el eğeleri, güta-perkalar, kanal fırçaları, sonik ve ultrasonik cihazlar, döner fırçalar ve basınç değişim cihazları gibi ekipmanları içerir (82, 83).

2.6.1. İrrigasyon Cihazları ve Teknikleri

2.6.1.1. Manuel Aktivasyon Yöntemleri

Geleneksel İrrigasyon Yöntemi

Kök kanal irrigasyonunda en klasik yöntem; bir şırınga ve iğne kullanılarak yapılan irrigasyondur (84). Genellikle apikal bölgeye ulaşımı sağlamak için küçük boyutlu 27-gauge veya tercihen 30-gauge iğneler kullanılır (85). Geleneksel şırınga iğneleri ile irrigasyon işlemi günümüzde hem genel diş hekimleri hem de endodontistler tarafından geniş biçimde kabul görmektedir (81).

Etkili olabilmesi için irrigasyon solüsyonlarının tüm kanal duvarları ile doğrudan teması olmalıdır. Geleneksel iğne ile irrigasyon sırasında sıvı değişimi, irrigasyon iğnesinin ucunun sadece kısa bir mesafe ötesine uzanır (86). İğne ile irrigasyon, pozitif basınç sistemiyle çalışmaktadır ve bu sistem kök kanal sisteminin apikal üçte birinde irrigant değişimini önemli ölçüde engelleyen bir apikal vapor lock oluşturabilir (87).

Apikal ekstrüzyondan kaçınmak için akış hızı iğnenin boyutuna ve tasarımına göre ayarlanmalıdır. Şırınganın pistonuna uygulanan kuvvet de irrigasyon maddesinin ekstrüzyonu üzerinde belirleyici bir etkiye sahiptir. Bu nedenle diş hekimleri, irrigasyon solüsyonlarını aşırı kuvvetle uygulama konusunda dikkatli olmalıdır. Şırınga irrigasyonu

düşük ve sabit bir basınçla gerçekleştirilmelidir (88). Aksi durumda irrigasyon solüsyonları periapikal dokulara taşıp doku hasarına ve postoperatif ağrıya neden olabilirler (89).

Teknik; irrigasyon solüsyonunu kanala, farklı çaplara sahip iğneler/kanüller yoluyla pasif olarak verilmesi veya iğnenin kanal boşluğunda yukarı ve aşağı hareket ettirilerek aktive edilmesi şeklinde uygulanır. Irrigasyon iğnesinin penetrasyon derinliği, çapı, solüsyonun akış hızı, kanal duvarları ve apeksi üzerindeki basınçta önemli bir etkiye sahip olabilir. Irrigasyon iğnesinin uç boyutu, irrigasyonun kanalda ne kadar derine nüfuz edebileceğini büyük ölçüde belirleyecektir (82).

Irrigasyonun etkinliğinde iğne ucu tasarımı önemlidir. Etkinliği kolaylaştırmak ve güvenlik risklerini en aza indirmek için iğne ucu tasarımında son yıllarda çeşitli değişiklikler yapılmıştır. Açık uçlu iğne, ucu apekse doğru irrigasyonu ifade eder ve intraradiküler basıncı artırır. Böylece kök kanal duvarlarında daha fazla basınç oluşturup irrigasyonun hidrodinamik aktivasyonunu iyileştirir ve apikal ekstrüzyon olasılığını azaltır (90).

Farklı boyutlarda (1-20 mL) plastik şırıngalar, irrigasyon işleminde yaygın kullanılırlar. Büyük hacimli şırıngalar zaman tasarrufu sağlasa da basınç açısından kontrol edilmeleri daha zordur ve kazalar meydana gelebilir. Bu nedenle güvenliği ve kontrolü en üst düzeye çıkarmak için daha büyük şırıngalar yerine 1 ile 5 mL'lik şırıngaların kullanılması önerilir (81).

Geleneksel iğneli irrigasyon tekniği, kanal sisteminin anatomik karmaşıklığı nedeniyle yeterince etkili temizleme sağlayamamaktadır (91). Yapılan çalışmalarda, irrigasyon solüsyonunun iğne ucunun 1.5-2.0 mm ötesine ulaşamadığı ve etkinliğinin kök kanalının koronal ve orta üçlüsü içinde sınırlı kaldığı bildirilmiştir (82, 92).

İrriflex

Güncel bir irrigasyon iğnesi, kapalı ucun hemen altında arka arkaya iki yan deliği bulunan esnek polietilenden üretilen İrriFlex® (Produits Dentaires SA (PD), Vevey, İsviçre)'tir. Üreticisi, tam olarak dentin duvarlarını hedef alan yan deliklerinin irrigasyonu dengelediğini iddia etmiştir. Sıvı koronal üçlüye yayılırken hızı sabittir. İrriflex tasarımı ile daha az apikal ekstrüzyona yol açarken, yüksek yan akış hızıyla solüsyonun koronale doğru akışını kolaylaştırır. İrriflex'in esnek gövdesi, eğimli köklerin apikal alanlarına erişimi kolaylaştırır ve dentin duvarına zarar vermez. Kök kanal şekline uyması ve kök kanal duvarları boyunca rahat hareket etmesi için 04 konisite açısıyla tasarlanmıştır (81).

Manuel-Dinamik İrrigasyon

Apikal kanal irrigasyonunun tam olarak uygulanma zorluğu, solüsyonların kanala nüfuz etmesini kolaylaştırmak çeşitli yeni tekniklerin geliştirilmesine yol açmıştır. Bunlardan biri, çalışma uzunluğunda apikale yerleştirilen güta-perka konların kullanımını içeren Manuel dinamik irrigasyon (MDİ) yöntemidir (93, 94). Bu yöntemde ya kök kanalı içine güta-perka ya da ana apikal eğe yerleştirilip dakikada 100 titreşimle yukarı aşağı doğru hareket ettirilir. Bu hareketin, apikal üçlüde sürekli irrigan akışına izin verdiği ve smear tabakasını kaldırdığına inanılır. Tekniğin ekonomik olması ve kolay uygulanabilir olması gibi birçok avantajı vardır (95). MDİ yönteminin faydaları yakın zamanda yapılan birkaç çalışmada gösterilmiştir (93, 94).

Çalışmalar, MDİ'nin yukarı ve aşağı hareketlerinin etkili bir hidrodinamik etki üretebileceğini göstermiştir. MDİ'de eğelerden ziyade güta-perka konların kullanılmasının nedeni kanal duvarlarıyla temas ettiklerinde yeni bir smear tabakası oluşturma riskini barındırmaması ve basamak oluşumu veya transportasyon gibi preparasyon hatalarına yol açmamasıdır. MDİ tekniği zaman alıcı bir prosedür olarak değerlendirildiği için klinisyenler tarafından rutin endodontik uygulamaya dahil edilmemiş olabilir (83).

2.6.1.2. Endodontik Fırçalar

Endodontik fırçalar, kanallardaki debrislerin çıkarılmasında ve irrigasyon solüsyonlarının aktivasyonu amacıyla kullanılır. Endodontik fırçalar, kanal duvarlarına hafif basınçla uygulanırlar. Bu amaç için endodontide EndoBrush, CanalBrush ve 30-gauge'luk irrigasyon iğnesi üzerine fırça yerleştirilmiş olan NaviTip FX geliştirilmiştir (96).

EndoBrush

Bükülmüş tellere yerleştirilmiş plastik kıllardan oluşan ve kök kanalındaki debrisleri gidermek için tasarlanmış bir spiral fırçadır. Fırça, esnek olduğundan ve kıllar kanal düzensizliklerine kadar uzanabileceğinden sıkışan doku ve debrislerin çıkarılmasına yardımcı olabilir. Yapılan çalışmalarda Endobrush (C&S Microinstruments Ltd, Kanada) ile enstrümantasyonun, kök kanalının debridasyonunda tek başına el eğesiyle enstrümantasyondan önemli ölçüde daha iyi olduğunu göstermiştir (96).

CanalBrush

Kök kanal debridmanı sırasında ve kanal içindeki debris azaltmak için polipropilenden yapılmış esnek bir mikro fırça önerilmiştir (97). CanalBrush (CanalBrush,

Colténe Whaledent GmbH+Co. KG, Langenau, Almanya), sonik ve ultrasonik irrigasyon teknikleri ile kavisli kanalların apikal kısmındaki kanal düzensizliklerinden debrislerin uzaklaştırılmasında şırınga irrigasyonundan daha etkilidir (98).

NaviTip FX

Son zamanlarda üzeri fırça kaplı 30 gauge bir irrigasyon iğnesi piyasaya sunulmuştur. Yapılan bir çalışma NaviTip FX'in (NaviTip FX, Ultradent Products Inc., South Jordan, UT), kök kanal preparasyonunda irrigasyon iğnesi olarak kullandığında kök kanal duvarlarının koronal üçte birinde apikal ve orta üçte birlik kısımlardan daha etkili temizlik sağladığını göstermiştir (83).

2.6.2. Makine Destekli Aktivasyon Yöntemleri

2.6.2.1. Ultrasonik Sistemler ile İrrigasyon

Ultrasonik enerjinin kök kanalını temizlenmesi ve dezenfeksiyonunu kolaylaştırmak amacıyla kullanılması endodontide uzun bir geçmişe sahiptir (99). Ses enerjisi ile karşılaştırıldığında ultrasonik enerji, yüksek frekanslar ancak düşük genlikler üretir. Ultrasonik uçlar, insan işitsel algı sınırının (>20 kHz) ötesinde olan 25-30 kHz'lik ultrasonik frekanslarda salınım yapacak şekilde tasarlanmıştır ve enine bir titreşimle çalışırlar (83).

Endodontide ultrasonikler; kanal içi tıkanıklıkların giderilmesi, irrigasyon aktivasyonu, mineral trioksit agregat (MTA) yerleştirilmesi, kırık aletin kanaldan çıkartılması ve cerrahi endodontik tedavide kullanılırlar (100).

Ultrasonik aktivasyon, eş zamanlı ultrasonik enstrümantasyon ve irrigasyon (UI) ile veya bunlar olmadan gerçekleştirilebilir (26, 36). Ultrasonik aktivasyonunun eş zamanlı enstrümantasyon olmadan kullanıldığı teknik pasif ultrasonik irrigasyon (PUİ) olarak adlandırılır ve ilk olarak 1980'de Weller ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır (101). Ultrasonik aktivasyon bir irrigan kaynağı ile kullanıldığında, ultrasonik irrigasyon olarak adlandırılır (102). Ultrasonik uçların etkin çalışabilmesi için kanal duvarına temas etmeden kanal içinde serbestçe hareket edebilmesi gerekir (103). UI sırasında dentinin kesilmesini ve dolayısıyla hazırlanan kök kanalının şeklini kontrol etmek zordur. Preparasyonun sonunda perforasyonların yanı sıra oldukça düzensiz şekilli kanallar elde edilebilir. Bu nedenle UI, genellikle geleneksel el eğelerine bir alternatif olarak algılanmamalıdır. Aksine endodonti literatürü, kanal preparasyonu tamamlandıktan sonra pasif ultrasonik aktivasyonun daha avantajlı olduğunu desteklemektedir (83).

PUI, bakteri agregasyonlarının kanaldan uzaklaşmasını sağlayacak kuvvette akustik bir akış sağlar (104). Akustik mikro dalgalanmanın rolü; NaOCI solüsyonunu kanalın içinde sürekli hareket ettirerek, bakterileri ayrıştırmak ve debrisleri kanal duvarlarından uzaklaştırmaktır (100). Yapılan çalışmalar, PUI'nin kök kanalları ve isthmusların içindeki debrisleri ve smear tabakasının uzaklaştırılmasında şırınga irrigasyonundan daha etkili olduğunu bildirmiştir (105).

2.6.2.2. Sonik Sistemler ile İrrigasyon

Tronstad ve arkadaşları, 1985'te endodonti için sonik bir aletin kullanımını test etmişlerdir. Sonik irrigasyon, daha düşük bir frekansta (1-6 kHz) çalışması ve daha küçük kesme gerilmeleri üretmesi bakımından ultrasonik irrigasyondan farklıdır (106). Sonik enerji daha yüksek genlik veya daha fazla ileri geri uç hareketi üretir. Ayrıca sonik cihazların salınım modelleri ultrasoniklerden farklıdır (107).

EDDY

EDDY (VDW, Münih, Almanya) yeni bir sonik irrigasyon aktivasyon sistemidir. Uç tasarımı; 25.04 boyutunda, esnek poliamiddan üretilmiş, steril, tek kullanımlık ve ucu keskin olmayan bir alettir. Hava basınçlı bir piyasemen (Air Scaler) tarafından 5000 ile 6000 Hz ile etkinleştirilir (86). EDDY, ultrasonik cihazlara benzer 'kavitasyon' ve 'akustik akış' oluşturarak karmaşık kök kanal sistemlerinin etkili bir şekilde temizlenmesini sağlar (108).

EndoAktivatör

EndoAktivator (EA) (DENTSPLY Tulsa Dental Specialties, Tulsa, OK, ABD) kanal sistemlerinin irrigasyonu için sonik enerjiyi kullanan bir irrigasyon aktivasyon yöntemidir. Bu sistem iki aparata sahiptir; farklı frekanslarda (33, 100 ve 167 Hz) çalıştırılabilen bir angulduruva ve farklı boyutlarda tek kullanımlık esnek polimer uçlar (Sarı 15/02, Kırmızı 25/04, Mavi 35/04) (91). Pille çalışan cihaz, 2.000-10.000 döngü/dakika arasında titreşim sağlar. Üretici manuel şırınga ve endodontik irrigasyon iğnesi ile kanalın temizlenmesi, şekillendirilmesi ve irrigasyonu tamamlandıktan sonra bu cihazın kullanılmasını önermektedir (109). Kanal içerisine irrigasyon solüsyonu yerleştirildiğinde pasif olarak yerleşen uçlar, 30-60 saniye boyunca 10.000 döngü/dakikada ileri geri hareketlerle etkinleştirilir. Sonik irrigasyonla kullanılan bu sistemle kanalların etkin bir biçimde temizlendiği bildirilmiştir (110, 111).

EA, kanala yeni irrigan salınımı yapmaz ancak irriganın kanala nüfuz etmesini ve yenilenmesini kolaylaştırır. Son zamanlarda yapılan iki çalışma; EA kullanımının, geleneksel iğneli irrigasyona kıyasla solüsyonun apekten itilme riskinde herhangi bir artış olmaksızın solüsyonun penetrasyonunu ve kanalın mekanik temizliğini kolaylaştırdığını göstermiştir (108, 112).

MM1500

MM1500 Sonic Air (Micro-Mega, Besançon, Fransa); sonik dalgaları endodontik aletler boyunca ileten, havayla çalışan titreşimli bir el aletidir. 8 kHz'lik sonik frekans aralığında çalışır. Bir kavitasyon eylemi oluşturmak için Risp Sonic veya Shaper Sonic eğeleriyle birlikte kullanılabilir (113, 114).

Vibringe

Vibringe (Vibringe BV, Amsterdam, Hollanda), pille oluşan titreşimleri (9000 cpm) manuel olarak kullanılan irrigasyon ile birleştiren yeni bir sonik irrigasyon sistemidir. Vibringe, geleneksel şırınga türünü kullanır ve buna sonik aktivasyonu ekler (81).

2.6.2.3. Basınç Değişim Sistemleri

Endovac

EndoVac (Discus Dental, Smart Endodontics, Culver City, CA) apikal negatif basınçlı irrigasyon sistemidir. 3 bileşeni vardır; mikro kanül (MICRO), makro kanül (MACRO) ve ana uygulama ucu (MDT). MDT aynı anda hem irrigasyonu iletir hem de tahliye eder. Makro kanül, hazneden kanalın koronal ve orta bölümlerine irrigasyonu yaymak için kullanılır. Mikro kanül, 12 mikroskobik delik içerir ve debrisleri tam çalışma uzunluğuna kadar tahliye edebilir. Nielsen ve Baumgartner, EndoVac'ın apikaldeki kök kanal debridmanı için pozitif basınçlı iğne irrigasyonuna göre daha iyi olduğu sonucuna varmıştır (108).

Rinsendo

Rinsendo (RE) (Air Techniques Inc, New York, NY) basınç-emme teknolojisini kullanan irrigasyon sistemidir. Basınç-emme döngüsü dakikada yaklaşık 100 kez değişir (83). Sistem; bir angulduruva, 7 mm uzunluğunda açıklığına sahip bir kanül ve irrigan taşıyan şırıngadan oluşur. Angulduruva dental hava kompresörü ile çalışır ve 6.2 ml/dk irrigasyon hızına sahiptir. Araştırmalar, kök kanal sisteminin temizlenmesinde umut verici

sonuçlar bildirirse de irrigasyon solüsyonunun periapikal ekstrüzyonu da bildirilmiştir (108). Yapılan alışmalar, Rinsendo'nun manuel dinamik irrigasyona kıyasla debrisi kök kanal duvarlarından uzaklaştırmada daha az etkili olduğunu göstermiştir (83).

Endosafe

Endosafe (VPro; Vista Dental, Racine, WI) negatif basınçlı irrigasyon aktivasyon sistemidir. Yeni versiyonu VPro EndoSafe; son derece esnek, açık uçlu 30-gauge iğne ucu ve katlanabilir tahliye başlığı sayesinde irriganı aynı anda hem çalışma uzunluğuna iletir hem de tahliye eder. Mandibular molarların meziyal kanallarında yapılan çalışmada, geleneksel iğne ile irrigasyona kıyasla Endosafe'in debridmanı daha iyi uzaklaştırdığı bildirilmiştir (115, 116).

2.6.2.4. XP Endofinisher

Son zamanlarda, kök kanal duvar temizliğindeki etkinliği artırmak için konik olmayan bir nikel-titanyum (NiTi) döner alet olan XP endofinisher (XP-endo Finisher; FKG, La Chaux-de-Fonds, Switzerland) ticari ismiyle yeni eğe tasarlanmıştır. XP-endofinisher eğenin şeklini östenit fazına dönüştürmesine olanak tanıyan vücut sıcaklığına yakın bir geçiş sıcaklığına sahip ısıl işlem görmüş NiTi MaxWire alaşımından (Martensite-Austenite Electropolish-FleX) yapılmıştır (117).

Uç boyutu 30'dur ve vücut sıcaklığına yakın sıcaklıkta genişleyerek apikal birkaç milimetre derinlikte bir "kaşık" şekli elde eden yeni bir alaşım teknolojisini benimser. Alet rotasyon modunda kullanıldığında östenitik fazdaki şekli; eğenin dentine zarar vermeden veya kanalın anatomisini değiştirmeden, irrigasyon solüsyonlarının aktive ederek kök kanallarının ulaşılamayan bölgelerine ulaşıp temizlenmesini sağlar. Silva ve arkadaşlarının yaptığı yakın tarihli çalışmada XP-endofinisher R aletlerinin kanal boşluğunda kalan dolgu malzemesinin çıkarılmasında etkili olduğunu bildirmiştir (118).

2.6.2.5. GentleWave

GentleWave (GW) (Sonendo Inc, Laguna Hills, CA) minimum şekillendirme prosedürleriyle kök kanalını temizlemek için geliştirilmiş yeni bir irrigasyon sistemidir. Dişin içindeki gazdan arındırılmış sıvıda geniş bir ses dalgaları spektrumu oluşturan güçlü bir hidrodinamik kavitasyon oluşturur (119).

GW sistemi; minimum mekanik temizlik ve şekillendirmeden sonra kök kanal sistemini temizlemek ve dezenfekte etmek için gelişmiş sıvı dinamiği, akustik enerji ve doku

özme kimyası kullanan multisonik bir dezenfeksiyon teknolojisidir. Yapılan alışmalar, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 'in uzaklaştırılmasında yandan açılı iğne veya pasif ultrasonik irrigasyona kıyasla GW sisteminin daha iyi olduğunu ve hatta kırık aletlerin çıkarılmasında da etkili olduğunu göstermiştir (120).

Ayrıca önceki çalışmalar; $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 'in kanaldan uzaklaştırılmasında, debris, gütaperka, pat artıkları ve biyofilmlerin temizlenmesinde ve kanaldan uzaklaştırılmasında GW ile umut verici sonuçlar göstermiştir (121).

2.6.2.6. Lazerle İrrigasyon Yöntemi

Kök kanal sisteminin endodontik tedavisi için lazerlerin kullanımı, 1970'lerin başından beri bildirilmiş olmasına rağmen lazer fotonik enerjisinin termal hasarlara yol açması nedeniyle kabul edilme süreci yavaş olmuştur. Birçok araştırmacı da lazerlerin etkinliğinin; güç seviyesi, maruz kalma süresi, dokudaki ışığın absorpsiyonu, kök kanalının geometrisi ve uç-hedef mesafesi gibi birçok faktöre bağlı olduğunu bildirmiştir (122). Lazer enerjisi, endodontik tedavi sırasında dentinal smear tabakasının çıkartılması için kullanılmıştır. Er:YAG lazerin (dalga boyu 2.940 nm); kök kanalının temizlenmesi, şekillendirilmesi ve genişletilmesi amacıyla kullanımı FDA tarafından onaylanmıştır (123).

Kök kanalı temizliği ve dezenfeksiyonu için çeşitli lazer dalga boyları araştırılmıştır:

Erbiyum: itriyum alüminyum garnet (Er:YAG), 2940 nm;

Erbiyum, krom: itriyum skandiyum galyum garnet (Er,Cr:YSGG), 2780 nm;

Neodim: itriyum alüminyum granat (Nd:YAG), 1064 nm;

Diyot, 635 ile 980 nm; potasyum titanil fosfat (KTP), 532 nm;

Karbondioksit (CO_2), 9600 ve 10 600 nm (124)

Erbiyum lazerlerin (Er:YAG ve Er,Cr:YSGG) dalga boyları, su ve hidroksiapatit tarafından iyi emilir bu nedenle irrigasyon solüsyonlarını aktive edebilirler (123, 125).

Lazerle aktive edilen irrigasyon (LAI), kök kanal irrigasyonu için güçlü bir yöntem olarak tanıtılmıştır. Lazer radyasyonu, lazer enerjisinin güçlü absorpsiyonu ile optik bozulma yoluyla sıvıda geçici kavitasyon üretir. LAI, kök kanal duvarından smear tabakasının kaldırılmasını sağlayabilir ancak aynı zamanda irriganın apekten dışarı taşmasına da neden olabilir (126).

İrriganların ve dezenfektan solüsyonların sekonder kanallara ve derin dentin tübüllerine erişiminin zor olması dikkat çekicidir. Schoop ve ark. Nd:YAG, diyot, Er:YAG

ve Er,Cr:YSGG lazer ışınlarının dentinin daha derin katmanlarının dezenfeksiyonu için uygun olduğunu ve endodontik dezenfeksiyon işleminde kullanılabileceğini göstermiştir. Lazerler, kanalların irrigasyon ve dezenfeksiyon solüsyonlarının ulaşamadığı lateral kanallara ve derin dentin tübülleri gibi alanlara nüfuz edebilir ve mikroorganizmaları ortadan kaldırabilirler.

Nd:YAP lazer, aktif lazer ortamı olarak neodimiyum kristal katkılı itriyum alüminyum perovskit kullanan bir lazerdir. Nd:YAG lazerin dalga boyuna yakın olan 1.34 μm 'de kızılötesinde yayılır. Ayrıca Nd:YAP, su tarafından Nd:YAG lazere göre 20 kat daha fazla emilir. Esnek fiber optiği, kanalın eğimleri nedeniyle ultrasonik enstrümantasyonun etkisinin sınırlı olduğu kavisli kök kanallarında enerji iletilmesine olanak tanır. Bazı çalışmalar da Nd:YAP lazerin kök kanallarındaki smear tabakasının kaldırılmasında başarılı bir şekilde kullanılabileceğini bildirmiştir. Ancak bu tip lazerlerin endodontide kullanılması ısı artışına ve periodontal doku hasarına neden olabilir (127).

LAI tekniği, düşük ayarlarda lazerlerin fotomekanik etkileriyle ilgili olarak intraradiküler sıvılarda kavitasyon ve akustik akışın oluşturulmasına dayanır. Erbium lazer enerjisinin su ve NaOCl'de güçlü emilimi, buharlaşmaya neden olur ve buhar kabarcıkları oluşturur. Bu büyük eliptik kabarcıklar 100 ile 200 μs sonra patlayarak ikincil kavitasyon etkisini tetikler. Bu, fotoakustik ve fotomekanik etkilerin bir sonucu olarak intraradiküler kavitasyona ve şok dalgalarına yol açar (124).

2.6.3. Kök Kanal İrrigasyon Solüsyonları

Pulpoperiapikal lezyonlarda mikroorganizmaların rolü olduğu kanıtlanmıştır (128, 129). Kanalın tek başına mekanik olarak hazırlanması, özellikle karmaşık anatomiye sahip vakalarda bakterileri tamamen ortadan kaldıramaz (130). Bu nedenle, mikroorganizmaları öldürmek ve kalan debrisleri uzaklaştırmak ve dezenfeksiyon sağlamak için irrigasyon solüsyonlarının kullanılması gereklidir (131).

2.6.3.1. Sodyum Hipoklorit

NaOCl, en sık kullanılan kök kanal irrigasyon solüsyonudur (132). NaOCl 'nin dünya çapında kök kanal irrigasyon solüsyonu olarak kullanılması esas olarak pulpal dokuyu çözme yeteneği, yüksek antimikrobiyal etkinliği ve kolay ulaşılabilir olmasından kaynaklanmaktadır (133). NaOCl'nin bakterileri, spor oluşturan bakterileri, mantarları,

protozoaları, virüsleri ve bakteri sporlarını hızla öldürmesi geniş spektrumlu bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (134, 135).

NaOCl endodontide %0,5 ile %6 arasında çeşitli konsantrasyonlarda kullanılır. Bazı in vitro çalışmalar, NaOCl'nin daha yüksek konsantrasyonlarda *E.faecalis* ve *C.albicans* 'a karşı daha etkili olduğunu iddia ederken başka klinik çalışmalar ise hem düşük hem de yüksek konsantrasyonların kök kanal sisteminden bakterileri azaltmada eşit derecede etkili olduğunu göstermiştir (7, 136). %1 NaOCl gibi düşük konsantre çözelti, kabul edilebilir biyolojik uyum gösterir (133). Bir araştırmaya göre %0.5 veya %3 NaOCl kullanıldığında kök kanalındaki bakteri seviyelerinde önemli bir azalma olmuştur. Yapılan başka bir çalışmada %2.5 NaOCl kullanılarak yapılan kemomekanik preparasyon sonrasında kök kanalındaki bakteri çeşitliliği önemli ölçüde azalmıştır (137).

NaOCl'nin daha yüksek konsantrasyonlarda daha iyi doku çözme yeteneği vardır (138). Ancak daha yüksek NaOCl konsantrasyonları, daha düşük konsantrasyonlardan daha toksiktir (139). Bu yüzden intraradiküler irrigasyon için daha düşük konsantrasyonlar kullanılacaksa düşük konsantrasyonların etkilerini artırmak için solüsyonun daha yüksek hacimde ve daha sık aralıklarla kullanılması önerilir (140). NaOCl gibi bir antimikrobiyal irrigant ile birleştirilmiş enstrümantasyonun tek başına enstrümantasyondan daha fazla negatif kültür verdiği gösterilmiştir (141, 142).

NaOCl, spesifik olmayan bir oksitleyici ajandır. Oksidasyon reaksiyonlarının ürünleri aşındırıcıdır. Çözeltiler, özellikle konsantre formlarda kullanıldıklarında cildi yakar ve göz hasarına neden olurlar. NaOCl'nin vital dokular üzerindeki toksik etkileri; hemoliz, epitelyal ülserasyon ve nekrozu içerir (143).

2.6.3.2. Klorheksidin Glukonat

Klorheksidin Glukonat (CHX); polibiguanid grubuna ait, pH'ı 5.5 ile 7 arasında olan, iki simetrik dört klorofenil halkası ve bir merkezi heksametilen zinciri ile birbirine bağlanan iki biguanid grubundan oluşan kuvvetli bazik bir moleküldür. CHX tuzu, suda kolayca çözünür ve çok kararlıdır (144).

CHX diş plağının kimyasal kontrolü için yaygın olarak kullanılan güçlü bir antiseptiktir. CHX'in geniş antimikrobiyal aktiviteye sahip olması ve kök kanallarında uzun süre kalıcılığı nedeniyle endodontik bir irrigant olarak da kullanılır (131). CHX, bakterilerin hücre duvarının dış katmanlarına zarar vererek bakterinin negatif yüklü yüzeylerine

elektrostatik olarak bağlanarak hücre duvarını geçirgen hale getirerek geniş spektrumlu bir antimikrobiyal ajan rolü oynar. Yapılan çalışmalarda, NaOCl ve CHX'in (%2) antibakteriyel etkinliğinin karşılaştırmış fakat genel olarak iki çözelti arasında önemli bir fark bildirilmemiştir (145). Bir irrigant olarak CHX'in antibakteriyel etkinliği, konsantrasyonuna bağlıdır. Yapılan çalışmada, %2 CHX'in in vitro olarak %0.12 CHX'ten daha iyi bir antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir (146).

Konsantrasyonuna bağlı olarak CHX, bakteriyostatik etkinin yanında bakterisidal etkiye de sahip olabilir. Yüksek konsantrasyonlarda CHX, bir deterjan görevi görür ve hücre zarına zarar vererek bakterisit etkisini gösterir ve sitoplazmanın çökmesine neden olur. Düşük konsantrasyonlarda CHX, bakteriyostatiktir ve hücre kalıcı olarak hasar görmeden düşük moleküler ağırlıklı maddelerin (potasyum ve fosfor) hücre zarından dışarı sızmasına neden olur (145).

CHX; organik doku, biyofilm veya inorganik maddeyi çözemediği için bu durum etkili temizleme yapamamasına neden olabilir (147). Bu nedenle tek irrigasyon solüsyonu olarak kullanılamaz. Dentine adezyonu ve 12 haftaya kadar antimikrobiyal aktivite gösterebildiği için son irrigasyon solüsyonu olarak kullanılması önerilmiştir (72). Ayrıca CHX'in kanal içinde uzun süre antimikrobiyal aktivite göstermesi (dentine adezyon), NaOCl'nin kullanıldığı başarısız ortograd vakaların retreatment tedavisi için daha uygun bir solüsyon olduğunu gösteren bazı kanıtlarda vardır (148). CHX insan hücreleri için sitotoksik olmasına rağmen dişin apeksinin ötesine ekstrüde edilirse NaOCl gibi akut bir tepkiye neden olmaz (145). Bu nedenle CHX, NaOCl'nin taşma riskinin olduğu açık apeksli veya perforasyonlu dişlerde ve son irrigasyonda maksimum antimikrobiyal etki istendiğinde Etilendiamintetraasetik asitten (EDTA), sonra dezenfeksiyonu daha da kolaylaştırmak için kullanılabilir (149).

2.6.3.3. Etilendiamintetraasetik asit

EDTA; bir aminopolikarboksilik asit olup renksiz, suda çözünür bir ajandır (145). Endodontik enstrümantasyon, kök kanal duvarlarında bir smear tabakası oluşturur. Smear tabakası, nekrotik olup içinde mikroorganizmalar ve mikrobiyal antijenler içerdiğinden bu tabaka uzaklaştırılmalıdır (150,151). Smear tabakası; dentin tübüllerini tıkar ve mikroorganizmaları, NaOCl irrigasyonunun etkilerinden koruyabilir (148).

EDTA, tek başına smear tabakasını etkili bir şekilde kaldıramaz; smear tabakasının organik bileşenlerini uzaklaştırmak için NaOCl gibi bir proteolitik bileşenle birlikte

kullanılmalıdır (152). EDTA, normalde %17'lik bir konsantrasyonda kullanılır ve 1 dakikadan daha kısa bir süre boyunca kök kanal duvarı ile doğrudan temas halinde olduğunda smear tabakasını kaldırabilir. Benzer konsantrasyonda sitrik asit, EDTA'dan biraz daha güçlü görünse de her iki ajan da smear tabakasını kaldırmada yüksek etkinlik göstermektedir. Temizleme yeteneklerine ek olarak şelatörler, kök kanal duvarlarına yapışan biyofilmleri de ayrabilirler. EDTA, standart kanal tedavilerinde smear tabakasını uzaklaştırmanın yanında revaskülarizasyon tedavisinde dentin matriksinden büyüme faktörlerinin salınmasını da sağlar (154).

EDTA solüsyonu, nötr veya hafif alkalidir; asidik bir pH'ta çökelir. Genellikle %17 veya %15'lik solüsyon olarak kullanılır ancak bazı araştırmalar %5'lik hatta %1'lik EDTA solüsyonunun smear tabakasını uzaklaştırmak için yeterince güçlü olduğunu öne sürmüştür. Smear tabakasının çıkarılması için önerilen süre yaklaşık 1 dakikadır ancak kalın tabakalarda bu süre uzayabilir (53). Smear tabakasının tamamen kaldırılması ancak EDTA ile son irrigasyondan önce NaOCl kullanıldığında sağlanabilir (154, 155). Fakat EDTA, NaOCl'nin etkisini büyük ölçüde zayıflatır bu yüzden peş peşe kullanılmamalıdır (156, 157).

EDTA'nın antimikrobiyal aktivitesi çok azdır veya hiç yoktur ancak bazı çalışmalar EDTA'nın antifungal aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir.(154, 155). EDTA, hücreyi öldürmeden bakteri hücre zarını zayıflatır ve bakteri hücre duvarına daha güçlü bir şekilde saldıran CHX gibi diğer kimyasallarla sinerjistik bir şekilde kullanılabilir (158). Ayrıca EDTA; CHX ile karıştırıldığında beyaz, bulanık bir çökelti oluşturur (156, 157). Şelatörlerin dar, eğimli, kalsifiye kanalları aşarak açıklık oluşturmadaki etkisi; hem kanal genişliğine hem de mevcut aktif madde miktarına bağlıdır çünkü demineralizasyon süreci tüm şelatörler kalsiyum ile kompleksler oluşturma kadar devam eder (145).

Kök kanal duvarı dentininin NaOCl ve EDTA'ya maruz kaldığı sıranın, kök kanal duvarındaki dentin erozyonu seviyesi üzerinde etkisi vardır. Qian ve arkadaşları, NaOCl'den sonra son irrigasyon olarak demineralize edici maddeler kullanıldığında hiçbir erozyon tespit edilmezken ilk olarak EDTA ve ardından %5.25 NaOCl kullanıldığında peritübüler ve intertübüler dentin erozyonu tespit edildiğini bildirmişlerdir. Yani EDTA, son irrigant olarak NaOCl'den sonra kullanılan bir şelatördür (150, 159, 160). EDTA, salin solüsyonundan önemli ölçüde daha iyi bir antimikrobiyal etkiye sahiptir. En güçlü etkisini NaOCl ile sinerjik olarak kullanıldığında gösterir (145).

2.6.3.4. Etidronik Asit

Kemik rezorpsiyonunu önleyen bir madde olan etidronik asit (EA), tıpta osteoporoz veya Paget hastalığının tedavisinde kullanılmış ve dentin yapısı üzerindeki etkisi nedeniyle geleneksel şelatörlerin yerine kullanılması önerilmiştir. Bu irrigan, EDTA veya sitrik asitinkine benzer şekilde smear tabakasına etki eder (145). Fakat EA'nın EDTA'ya kıyasla kök dentini üzerinde daha az agresif olduğu öne sürülmüştür (161).

EA, tek başına smear tabakasını kaldıramaz bu nedenle NaOCl ile bir karışım olarak kullanılması önerilmiştir (7, 161). Bu karışımın hem organik hem de inorganik dokulara karşı etkili olması, enstrümantasyon boyunca kullanıldığında smear tabakasının kaldırılmasını sağlar. Ayrıca yapılan çalışmalarda, EA ve NaOCl karıştırıldıktan sonra NaOCl 'nin antimikrobiyal aktivitesinde herhangi bir azalma olmadığı ve kullanılan patların dentine bağlanma kuvvetinin arttığı görülmüştür (145).

Bu çalışmanın amacı, beş farklı irrigasyon aktivasyon sisteminin (SNİ, , EA, EDDY, İrriflex ve PUI (Irrisafe)) dentin tübüllerine kolonize bakterilere etkisini karşılaştırmaktır. Çalışmanın sıfır hipotezi, dentin tübüllerine kolonize ölü bakteri penetrasyon derinliği bakımından irrigasyon aktivasyon yöntemleri arasında anlamlı fark olmamasıdır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Etik Kurul Onayı

Çalışma için Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 2021-380 sayılı karar ile etik kurul izni alınmıştır (Ek 1).

Çalışmada kullanılacak diş örneklerine *E.faecalis* ekim ve inokülasyon işlemi Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında, örneklerin KLTM ile görüntülenmesi Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.2. Örneklem Büyüklüğünün Hesaplanması

Örneklem boyutunun hesaplanmasında Qiang Li'nin araştırması (162) baz alındı. Örnek büyüklüğü, PASS for Windows yazılımı (ver. 15.0; NCSS Inc. Kaysville, UT, ABD) ile belirlendi. 0.95 güven katsayısı ($\alpha = 0.05$) ve 0.85 güç ($\beta = 0.15$) ile KLTM analizi için minimum örneklem büyüklüğü ise her grupta minimum 3 olarak hesaplanmıştır. KLTM analizi için toplam örneklem büyüklüğü 60 (her grupta 10) olarak belirlenmiştir.

3.3. Örnek Seçimi

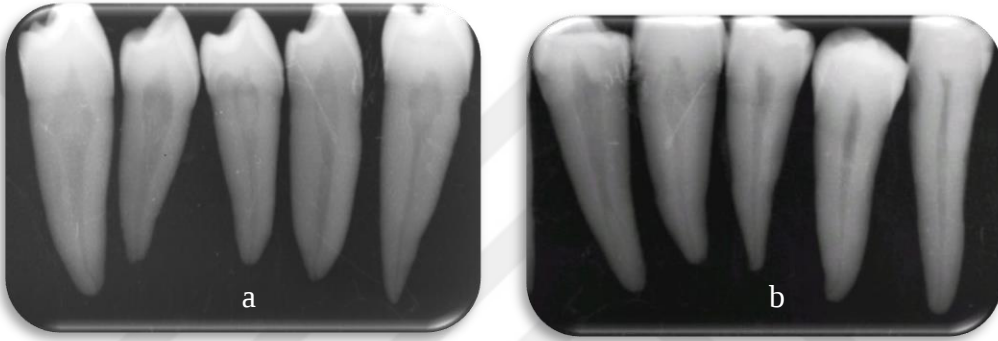
Çalışmada 60 adet çekilmiş mandibular insan premolar dişi tercih edildi. Örnekler çalışmada kullanılıncaya kadar %0,1'lik timol solüsyonunda (Tıb-Tek İlaç ve Hammadde Ltd. Şti. İstanbul, Türkiye) saklanmıştır.

Protetik veya periodontal nedenlerle çekim endikasyonu konulan dişlerin; çürüksüz, daha önce yapılmış kök kanal dolgusu bulunmayan, apeksi kapalı, çatlak ve kırık olmamasına dikkat edildi (Resim 1). Bu kriterleri sağlamayan dişler çalışmaya dahil edilmedi. Her diştten bukko-lingual (Resim 2a) ve mezyo-distal yönlerden (Resim 2b) radyograf alındı. Alınan radyograflar Sopro İmaging 2.20 yazılımı ile görüntülendi.

Görüntüleme sonucunda birden fazla kanala, kanal kalsifikasyonuna ve rezorbsiyona sahip dişler çalışmadan çıkarıldı. Elenen dişlerin yerine ilave dişler eklendi.



Resim 1. Çalışma için seçilen mandibular premolar dişler



Resim 2. Dişlerin deney aşamasından önce bukkalo-lingual (a) ve mezyo-distal (b) yönden alınan radyografileri

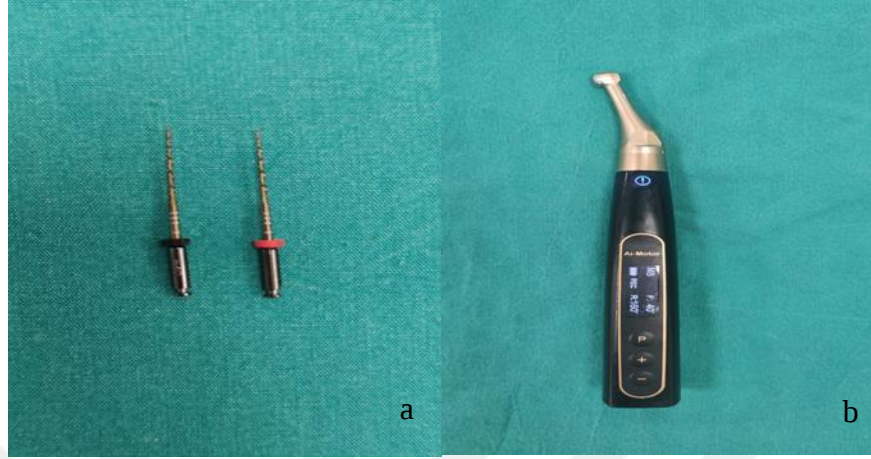
3.4. Örnek Preparasyonu

Örneklerin standardizasyonu için bütün dişlerin kökleri, 18 ± 1 mm uzunluğunda olacak şekilde dişlerin koronal kısmı yüksek hızlı bir el aletine takılan 012 no'lu elmas fissur frez (Sunshine Diamonds, Langenhagen, Almanya) kullanılarak uzaklaştırıldı.

2 numaralı elmas rond frez (Sunshine Diamonds) yardımıyla örnek dişlerin giriş kavimleri açıldı. #10 numaralı K tipi eğe (Antaeos, VDW GmbH, Münih, Almanya) apikal uçta görülene kadar ilerletilip, gözlemlendiği boydan 1 mm kısa olacak şekilde çalışma boyu belirlendi.

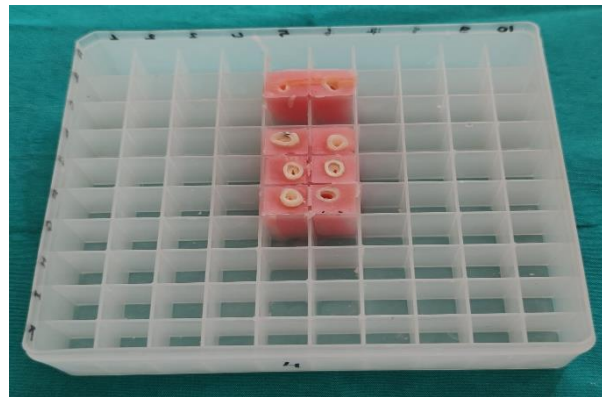
Kök kanal preparasyonları üretici firmanın talimatlarına göre T-Endo Must NiTi eğe sistemi (Dentac, İstanbul, Türkiye) (Resim 3a) ile gerçekleştirildi. 25/.06 ve 40/.04 boyutlarındaki eğeler 160 CCW (saat yönünün tersi), 40 CW (saat yönü) açılarında resiprokasyon moduna ayarlanan Ai-Motor Endomotor (Woodpecker DTE, Tokyo, Çin) ile birlikte kullanıldı (Resim 3b). Preparasyon esnasında, her bir eğe değişikliği sonrasında 30

gauge ucu kapalı yandan açık iğne kullanılarak 2 ml % 2,5 NaOCl (Chloraxid CERKAMED, Nisko, Polonya) ile kök kanalları irriye edildi.



Resim 3.Preparasyon için T-Must resiprokal eğeler (a), resiprokasyon modunda kullanılan endodontik Ai-Motor (b)

Hazırlanan dişler akrilik rezine gömülerek çalışma blokları hazırlandı (Resim 4). Dişlerin koronal bölgesinin üst yüzeyinin, akrilik resin maddenin yüzeyi ile aynı seviyede olacak şekilde hazırlandı. Hazırlanan köklerin içine akrilik maddesinin girmemesi için kanal ağzları teflon bantla kapatıldı. Akrilik resin sertleştikten sonra örnekler otoklavlanabilen ağzı kapaklı, plastik kaplara yerleştirildi ve 121°C ısı ve 1 atm basınç altında 15 dk süreyle steril edildi.



Resim 4. Akrilik resin içine gömülerek plastik kaba yerleştirilen diş örnekleri

3.5. Mikroorganizma Suşu ve Besiyerlerinin Hazırlanması

Çalışmada kullanılan *E.faecalis* (ATCC 29212, American Type Culture Collection) suşu KTÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarından temin edildi ve 50 ml beyin kalp infüzyonu (BHI; Difco Laboratories, Detroit, MI, ABD) ve %0.25 glukoz içeren besiyeri içerisine inokule edildi. 24 saat inkübasyonu sonrasında elde edilen taze kültürleri kullanıldı. Kontamine etmek için her bir kanal, 30 gauge steril 1 mL’lik insülin şırıngaları kullanılarak *E.faecalis* süspansiyonu ile dolduruldu. Örnekler daha sonra 10 mL BHI suyu içeren 15 mL’lik bir tüpe yerleştirildi ve bakterilerin kanal duvarında ve dentinal tübüllerde kolonizasyonunu sağlamak için %100 nemde 37°C’de 21 gün boyunca inkübe edildi (Resim 5). Kültür ortamının alikotları (5.0 mL), her 3 günde bir taze ortam ile değiştirildi. BHI içerisindeki *E.faecalis* süspansiyonunun optik densitesi, yaklaşık 1.5×10^8 koloni/ml olacak şekilde McFarland No:0.5 standardına göre karşılaştırılarak ayarlandı.

Örnekler, kök kanallarının *E.faecalis* ile kontamine olduğunu ve biyofilm kontaminasyonunu doğrulamak için onar dişten oluşan rastgele 6 gruba ayrıldı. Plastik kaplar işaretlenerek gruplar birbirinden ayrıldı.



Resim 5. Örneklerin 37°C’de 21 gün boyunca inkübe edilmesi

3.6. İrrigasyon solüsyonun aktivasyonu

Diş örnekleri uygulanan irrigasyon aktivasyon prosedürüne göre; 5 deney (n=10) ve 1 kontrol (n=10) grubu olacak şekilde rastgele 6 gruba ayrıldı;

1. Standart İğne İrrigasyonu (SNI)
2. Endoaktivatör (EA)
3. EDDY
4. İrriflex
5. Pasif Ultrasonik İrrigasyon (PUI)
6. Pozitif kontrol

Grup 1: Standart İğne İrrigasyonu

2.5 mL' lik bir şırıngaya takılan (Ayset A.Ş, İstanbul, Türkiye) 30-gauge ucu kapalı yandan açık endodontik iğne (Steri Irrigation Tips, Diadent, Cheongju, Kanada) (Resim 6) çalışma uzunluğundan 2 mm daha kısa olacak şekilde kök kanalına yerleştirildi. İrrigasyon esnasında iğne, kanal içerisinde hafifçe ileri geri hareket ettirildi. Kök kanalları 1 ml %17'lik EDTA (Endo-Solution CERKAMED, Nisko, Polonya) ve 1 ml %2.5'lik NaOCl ile 20'şer saniye boyunca irrigate edildi. Bu döngü üç kez tekrar edildi. Toplamda 3 ml EDTA ve 3 ml NaOCl solüsyonu 1'er dakika olacak şekilde uygulandı (Resim 7).



Resim 6. Standart iğne grubunda kullanılan yandan açılı 30-gauge irrigasyon iğnesi



Resim 7. Çalışmada kullanılan NaOCl (a) ve EDTA (b) solüsyonları

Grup 2: EndoAktivatör (Sonik İrrigasyon)

İrrigasyon solüsyonu, 30-gauge yandan açılı endodontik iğne ile kök kanalına gönderildi. EA uç, çalışma boyunun 2 mm gerisinde konumlandırıldı. 20 saniyelik 3 set olmak üzere toplam 3 ml %17 EDTA ve 3 ml %2,5 NaOCl solüsyonu aktive edildi. EA başlığına 25/.04 kırmızı EA uç (Dentsply Maillefer) takıldı ve 10.000 döngü olacak şekilde ayarlanıp 1 dakika boyunca aktive edildi (Resim 8).



Resim 8. Çalışmamızda kullanılan EndoAktivatör sonik irrigasyon cihazı

Grup 3: EDDY (Sonik İrrigasyon)

1 ml %17 EDTA ve 1 ml %2.5 NaOCl ve irrigasyon solüsyonları kanala 30-gauge yandan açılan bir endodontik iğne kullanılarak gönderildi. TA 200 cihazına takılan 25/.04 esnek poliamid uç 18 mm çalışma uzunluğunun 2 mm gerisinde olacak şekilde kanala

yerleştirildi ve 20 saniye boyunca aktive edildi (Resim 9). Bu döngü üç kez tekrarlandı. Toplamda 3 ml %17 EDTA ve 3 ml %2.5 NaOCl solüsyonu kullanıldı.



Resim 9. Çalışmamızda kullanılan TA 200 cihazına bağlanan EDDY uç

Grup 4: İrriflex

2.5 ml'lik bir dental şırıngaya takılan 0.04 konik açılı 30-gauge polipropilenden üretilen IrriFlex® uç 18 mm çalışma boyundan 2 mm kısa olacak şekilde kanala yerleştirildi. %17 EDTA ve %2.5 NaOCl 20 saniyelik 3 set halinde ve 2-3 mm ileri-geri hareketlerle toplam 1 dk boyunca uygulandı. Toplamda 3 ml %17 EDTA ve 3 ml %2.5 NaOCl İrriflex ile aktive edildi (Resim 10).



Resim 10. Çalışmamızda kullanılan İrriflex

Grup 5: Pasif Ultrasonik İrrigasyon

EA protokolüne benzer şekilde, 1 ml %17 EDTA ve 1 ml %2.5 NaOCl irrigasyon solüsyonları kanala bir endodontik iğne kullanılarak gönderildi. Ucuna IRR 20/25 paslanmaz çelik uç (çap: 0.20 mm, uzunluk: 25 mm; Irrisafe uç, Satelec Acteon Group, Merignac, Fransa) (Resim 11a) takılan ultrasonik cihaz (P5 Newtron XS, Satelec Acteon Group, Merignac, Fransa) (Resim 11b) 9 numaralı kuvvete ayarlanıp çalışma boyunun 2 mm gerisinde olacak şekilde kanala yerleştirildi, 20 saniye boyunca aktive edildi. Bu döngü üç kez tekrarlandı. Aktivasyon sırasında ultrasonik uç kanal duvarlarına temas ettirilmeden 2-3 mm ileri geri hareket ettirildi.



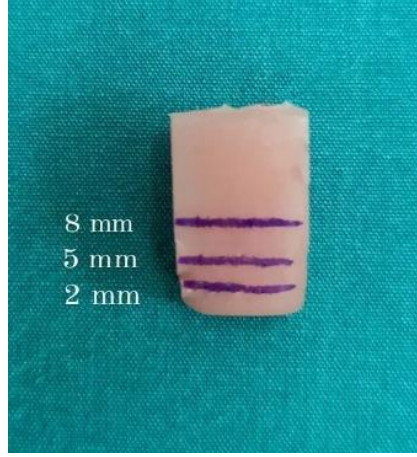
Resim 11. Çalışmamızda kullanılan Irrisafe uçlar (a) ve Ultrasonik Cihaz (b)

Grup 6: Pozitif Kontrol

E.faecalis kontaminasyonunun kök kanallarında oluşturduğu biyofilm tabakasını görmek ve doğrulamak için bu gruba herhangi bir irrigasyon prosedürü uygulanmadı.

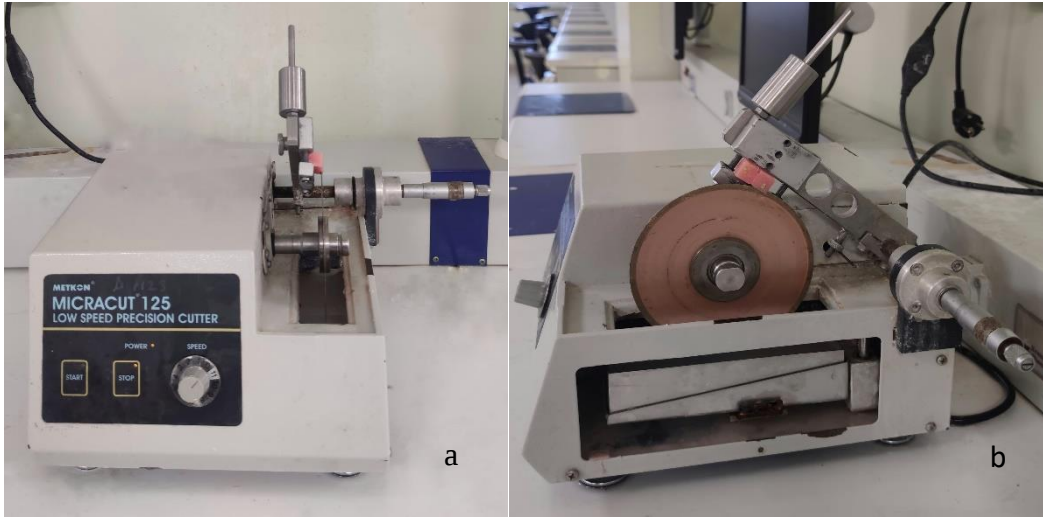
3.7. Örneklerden Kesit Alınması

Final irrigasyonunun ardından diş örnekleri 3 ml distile su kullanılarak irrigate edildi. Örnekler paper pointlerle (Maillefer, Ballaigues, İsviçre) kurutuldu. Akrilik bloklara yerleştirilmiş diş örnekleri apikalden itibaren 2-3 mm, 5-6 mm ve 8-9 mm aralıklarında asetat kalemiyle çizildi (Resim 12).

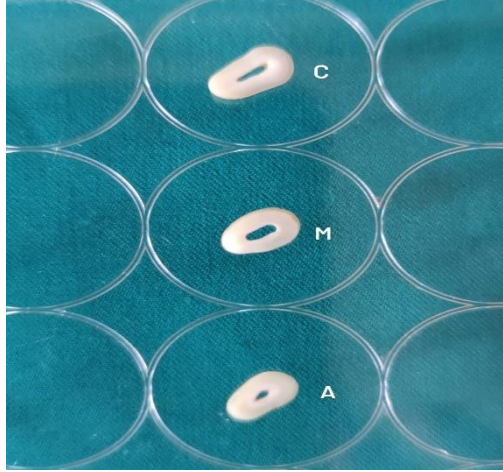


Resim 12. Kesim öncesi akrilik blokların işaretlenmesi

Mikrocut cihazına (Metkon Microcut 125, Bursa, Türkiye) (Resim 13a) takılan 0.3 mm kalınlığındaki bir elmas disk (Metkon) su soğutması altında kullanılarak işaretlenen seviyelerden yaklaşık 1 ± 0.1 mm kalınlığında horizontal kesitler alındı (Resim 13b). Her diş için apikal, orta ve koronal olmak üzere üç bölgeden kesitler alındı (Resim 14). Kesit kalınlıkları dijital bir kumpas (Gomax, Hong-Kong, Çin) yardımıyla kontrol edildi.



Resim 13. Çalışmada kullanılan Mikrocut cihazı (a) ve dişlerden elmas disk kullanılarak kesit alınması (b)



Resim 14. Dişlerden elde edilen ve alınan bölgeye göre isimlendirilen kesitler (koronal (C), orta (M), apikal (A))

3.8. Örneklerin Boyanması

Alınan her bir kesite, üretici talimatlarına göre hazırlanan LIVE/DEAD BacLight Bakteriyel Canlılık Kiti (Molecular Probes, Inc., Eugene, OR) uygulandı (Resim 15).



Resim 15. Örneklerin boyanması için kullanılan LIVE/DEAD BacLight bakteriyel canlılık kiti

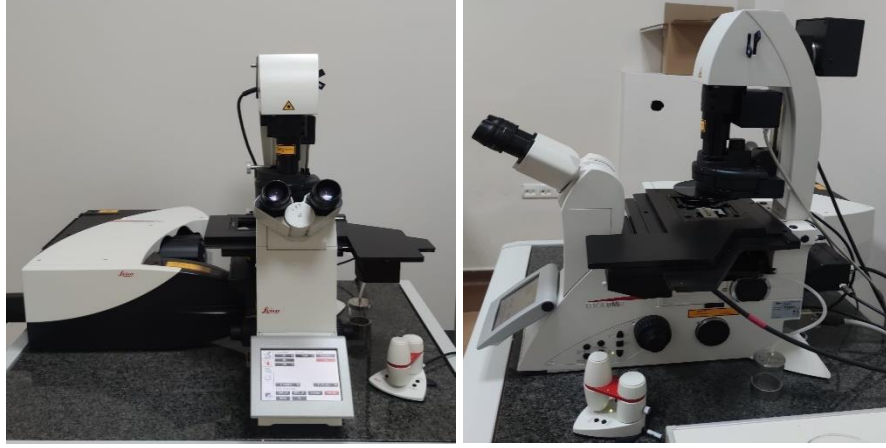
Uygulanan canlılık kiti, inkübasyon için 37°C'de 15 dakika boyunca örnek yüzeyinde bekletildi ardından örnekler reaksiyonu durdurmak ve kök kanal duvarlarına tutunmayan bakterileri ortamdan uzaklaştırmak için 1 mL fosfat tamponlu salin (PBS) ile yıkandı. Bakteriyel kitin ortam ışığından etkilenmesinin önüne geçmek amacıyla örnekler, inkübasyon süresi boyunca alüminyum folyoyla kapatıldı (Resim 16).



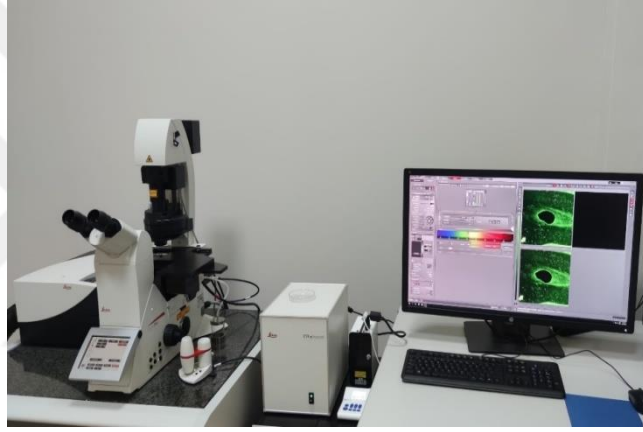
Resim 16. Diş örneklerinin alüminyum folyoyla kapatılması

LIVE/DEAD BacLight Bakteriyel Canlılık Kiti ile boyanan ve deney prosedürleri sonrası bozulmamış hücre zarlarına sahip canlı bakteriler, SYTO® 9 (yeşil floresans) 488 nm uyarma/emisyon dalga boyunda ve deney prosedürleri sonrası zarları zarar görmüş ölen bakteriler, propidyum iyodür (PI - kırmızı floresans) 543 nm uyarma/emisyon dalga boyunda lazerler ile KLTM (Leica, TCS SP8 MP, Mannheim, Almanya) kullanılarak 2 farklı kanalda (kırmızı ve yeşil) görüntülendi.

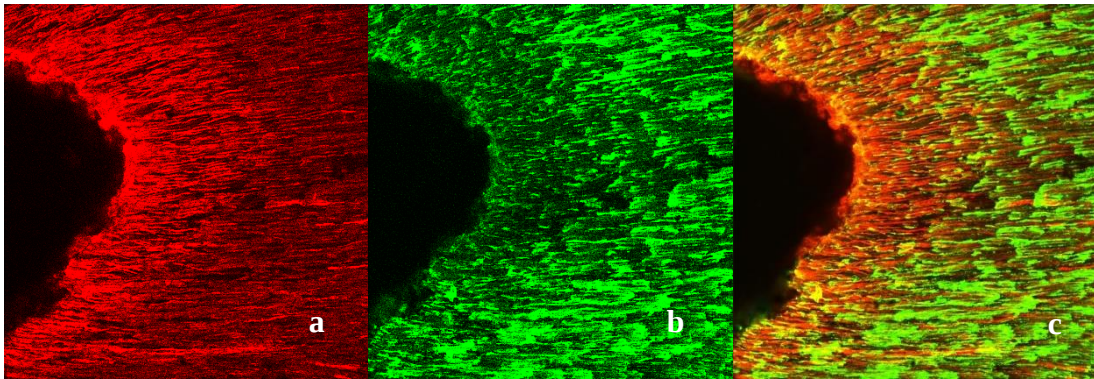
LIVE/DEAD BacLight Bakteriyel Canlılık Kiti kullanılarak boyanan kesitler, lam üzerine yerleştirilip 20×2 büyütmede KLTM ile görüntülendi (Resim 17). Görüntüler, yeşil ve kırmızı floresan boyanın başlangıç ve bitiş noktası net görünecek şekilde tarandı (Resim 18). Test gruplarına ait örneklerdeki dentin tübüllerine penetre olan ölü bakterilerin derinliğinin kantitatif analizi için elde edilen KLTM görüntüleri, Leica Application Suite-Advanced Fluorescence yazılımı (version 2.6.0.7266; LAS AF, Leica Microsystems GmbH) kullanılarak analiz edildi. Yazılım dentin tübüllerine penetre olan kırmızı (ölü bakteriler) floresanın derinliğini ölçtü (Resim 19). Ölçüm değerleri kanal lümeni ile kırmızı floresanın sonlandığı nokta arasındaki mesafe ölçülerek elde edildi (Resim 20).



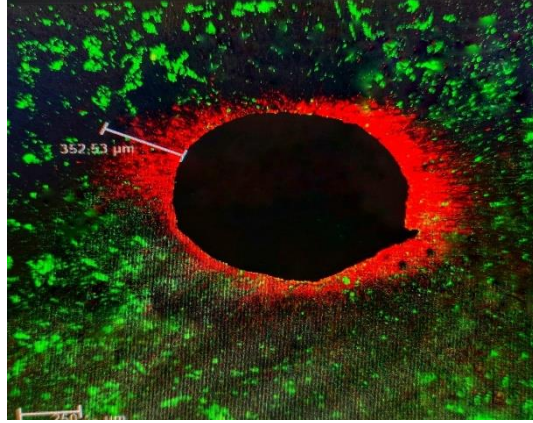
Resim 17. Kesitlerin Konfokal Lazer Taramalı Mikroskop ile görüntülenmesi



Resim 18. Kesitlerin görüntülediği Konfokal Lazer Taramalı Mikroskop cihazı



Resim 19. Ölü bakterileri gösteren kırmızı floresans (a), canlı bakterileri gösteren yeşil floresans (b) ve ölü ve canlı bakterilerin çakıştırılmış görüntüleri (c).



Resim 20. Ölü bakteri maksimum penetrasyon derinliği hesaplanması

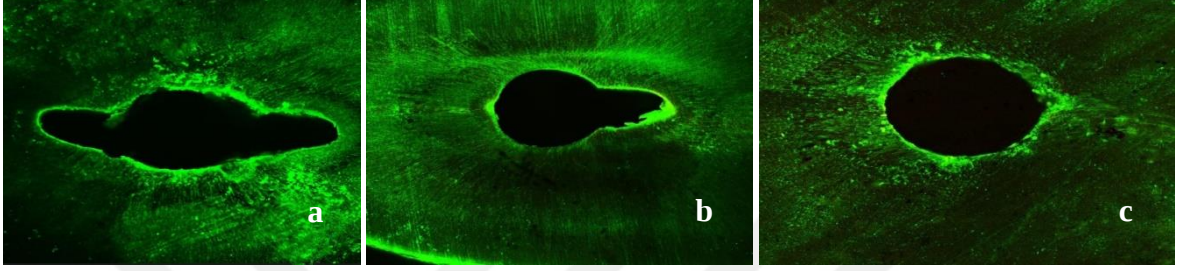
3.9. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızda ölü (kırmızı) bakteri penetrasyon derinliği SPSS for Windows 17.0 programı kullanılarak analiz edildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler; ortanca, minimum-maksimum, ortalama ve standart sapma değerleri olarak hesaplandı. İstatistiksel analizlerde Kruskal Wallis testi, Mann Whitney U testi ve Bonferroni düzeltmesi (kesit seviyeleri için kritik p değeri $p < 0.017$, ikili grup karşılaştırmaları için kritik p değeri $p < 0.01$) kullanıldı. Gruplar arası $p < 0.05$ düzeyi, istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

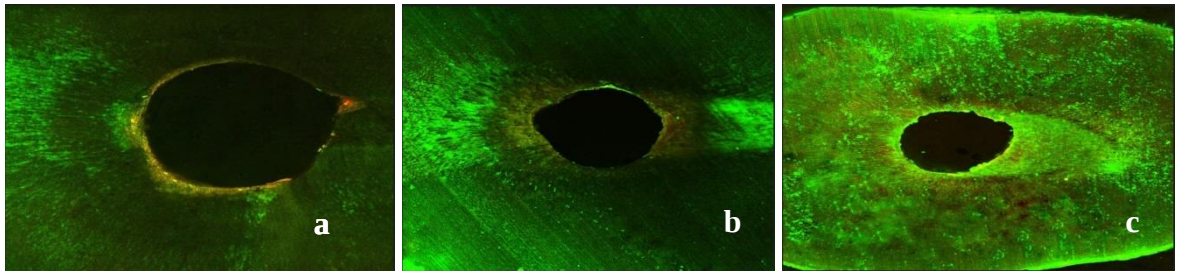
4.1. *E.faecalis*'in Dentin Tübül Penetrasyonuna Ait Bulgular

E. faecalis'in 21 günlük inokülasyonundan sonra pozitif kontrol grubu için rastgele seçilen diş örneklerinin, alınan her kesitte dentin tübüllerinde *E. faecalis* kontaminasyonu ve biyofilm formasyonunun olduğu KLTM ile elde edilen görüntülerde doğrulandı.

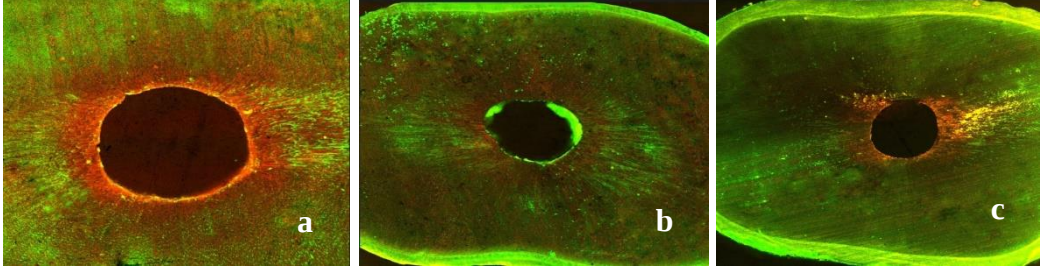


Resim 21.Kontrol grubunun koronal (a), orta (b) ve apikal (c) kesitlerinin KLTM görüntüleri

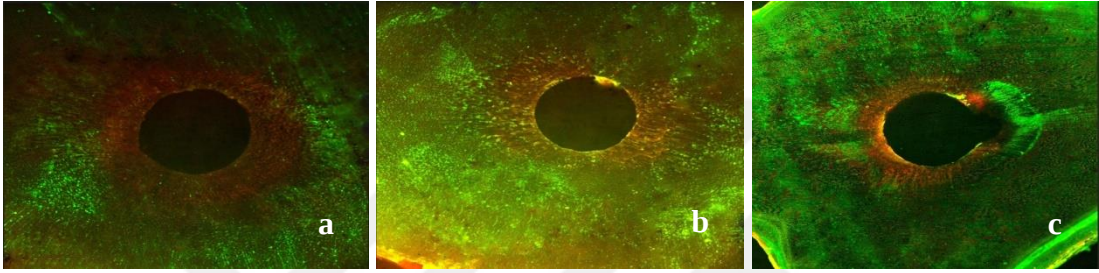
Test edilen SNİ, EA, EDDY, İrriflex ve PUI irrigasyon aktivasyon yöntemleri uygulaması sonrası incelenen örneklerin koronal, orta ve apikal kesitlerinin KLTM görüntüleri Resim 22-26'te gösterilmiştir.



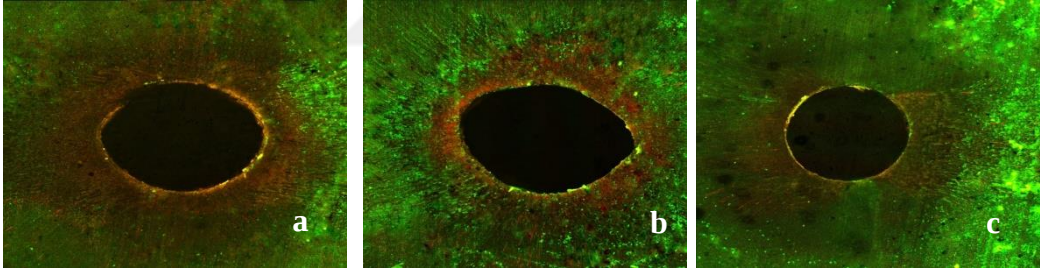
Resim 22.Standart iğne irrigasyonu grubunun koronal (a), orta (b), apikal (c) kesitlerinin KLTM görüntüleri



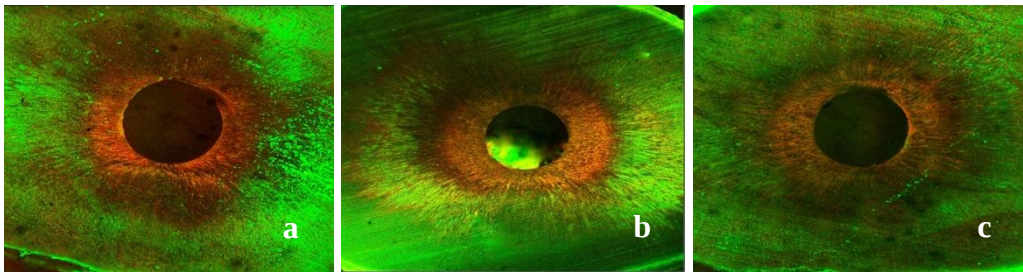
Resim 23.Endoaktivatör grubunun koronal (a), orta (b), apikal (c) kesitlerinin KLTm görüntüleri



Resim 24. EDDY grubunun koronal (a), orta (b), apikal (c) kesitlerinin KLTm görüntüleri



Resim 25. İrriflex grubunun koronal (a), orta (b), apikal (c) kesitlerinin KLTm görüntüleri



Resim 26.Pasif ultrasonik irrigasyon grubunun koronal (a), orta (b), apikal (c) kesitlerinin KLTm görüntüleri

4.1.1. Ölü Bakterilerin Dentin Tübül Penetrasyon Derinliği

SNİ, EA, EDDY, İrriflex, PUİ ve kontrol gruplarına ait; apikal, orta ve koronal üçlü seviyelerindeki ölü bakterilerin (kırmızı) dentin tübül penetrasyon derinliğini gösteren ortalama $\pm$ standart sapma ve ortanca (minimum-maksimum) değerleri (μm) Tablo 1' de sunulmuştur. Gruplar arası karşılaştırmada ortalama maksimum penetrasyon derinliği değerleri Şekil 1' de gösterilmiştir.

Test edilen beş farklı irrigasyon aktivasyon yöntemlerinin hiç birinin kök kanalındaki *E.faecalis* biyofilmini tam olarak yok edemediği tespit edilmiştir. Ölü bakterilerin maksimum dentin tübül penetrasyon derinlik değerleri karşılaştırıldığında; kontrol grubu, tüm deney gruplarından her üç kesitte de anlamlı olarak daha düşük penetrasyon derinliği göstermiştir ($p<0.05$). PUİ grubu, apikal ve koronal üçlüde diğer deney gruplarından anlamlı olarak daha yüksek penetrasyon derinliği göstermiştir ($p<0.05$).

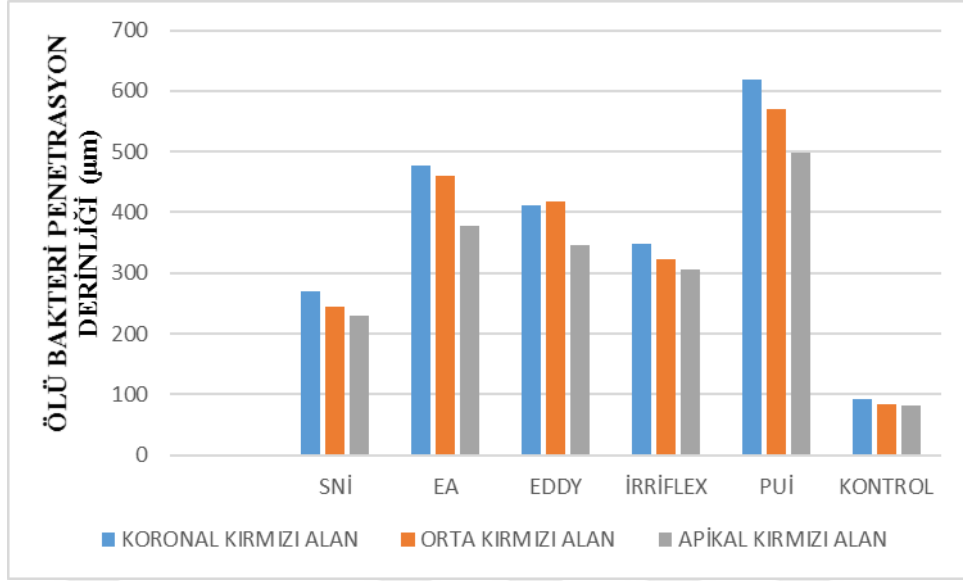
Koronal üçlüde SNİ grubu; EA, PUİ, EDDY ve İrriflex deney gruplarından anlamlı olarak daha düşük penetrasyon derinliği göstermiştir ($p<0.05$). EA ve EDDY gruplarının koronal üçlüde ölü bakteri penetrasyon derinliği karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark görülmezken ($p>0.05$); EA ve EDDY grupları, İrriflex grubuna göre daha yüksek değerler göstermiştir ($p<0.05$).

Orta üçlüde SNİ grubu; EA, PUİ, EDDY ve İrriflex deney gruplarından anlamlı olarak daha düşük penetrasyon derinliği göstermiştir ($p<0.05$). EA ve PUİ grupları arasında anlamlı fark görülmezken ($p>0.05$); EDDY ve EA grupları, İrriflex grubundan daha yüksek penetrasyon derinliği göstermiştir ($p<0.05$).

Apikal üçlüde SNİ grubu; EA, PUİ, EDDY ve İrriflex gruplarından anlamlı olarak daha düşük penetrasyon derinliği göstermiştir. EA grubu İrriflex grubundan anlamlı olarak daha yüksek penetrasyon sergilemiştir ($p<0.05$).

Tüm kesitlerde en yüksek ölü bakteri penetrasyon derinlik değeri, PUİ grubunun koronal üçlüsünde ($618.74 \mu\text{m}$) bulunurken en düşük değer kontrol grubunun apikal üçlüsünde ($49.28 \mu\text{m}$) bulunmuştur.

Kesit seviyelerine göre yapılan grup içi karşılaştırmalarda; SNİ ve İrriflex gruplarında koronal üçlüdeki penetrasyon derinliği, apikal üçlüden anlamlı olarak daha yüksek bulunurken ($p<0.01$) PUİ, EDDY ve EA gruplarında apikal üçlüdeki penetrasyon derinliği diğer kesitlere göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p<0.01$).



Şekil 1. Farklı irrigasyon aktivasyon sistemleri ve kontrol grubunun koronal, orta ve apikal uçlu seviyelerindeki ölü bakteri maksimum dentin tübül penetrasyon derinlikleri (µm).

Tablo 1. Farklı irrigasyon sistemleri ve kontrol grubunun apikal, orta ve koronal üçlüye göre ölü bakteri maksimum dentin tübül penetrasyon derinliğine ait ortalama, standart sapma ve ortanca değerleri (µm)

GRUPLAR		KORONAL	ORTA	APİKAL	
SNİ	Ortalama±SS	269.29±27.51540	245.46±29.96879	229.81±31.98314	p ^{a-b} =0.005
	Ortanca(IQR)	273.91(218.75-299.78) ^{a,B,C}	238.25 (196.32-279.76) ^C	228.12(182.90-271.71) ^{b,C}	
EA	Ortalama±SS	478.15±55.22984	460.42±67.77459	378.71±59.95365	p ^{a-b} =0.005
	Ortanca(IQR)	480.83(404.19-589.57) ^{b,B,D}	469.25(365.42-547.62) ^{b,B,D}	361.16(320-518.11) ^{a,B,D}	
EDDY	Ortalama±SS	411.37±48.96529	418.19±39.60210	345.10±43.06347	p ^{a-b} =0.005 p ^{a-c} =0.007
	Ortanca(IQR)	411.92(348.06-484.61) ^{c,B,G}	415.80(340.18-498.99) ^{b,B,G}	337.30(300.00-413.83) ^{a,B,E}	
İRRİFLEX	Ortalama±SS	347.38±32.23513	323.42±18.64204	306.54±23.49657	p ^{a-b} =0.005
	Ortanca(IQR)	342.42(305.91-397.43) ^{b,B,E}	316.62(302.24-353.79) ^{B,E}	301.09(283.55-368.00) ^{a,B,E}	
PUİ	Ortalama±SS	618.74±59.40993	570.29±101.91699	498.05±80.86058	p ^{a-b} =0.005
	Ortanca(IQR)	604.08(557.40-745.32) ^{b,B,F}	544.05(469.86-751.97) ^{b,B,D}	487.95(413.02-662.63) ^{a,B,F}	
KONTROL	Ortalama±SS	91.60±11.45593	83.78±19.07999	81.70±20.92512	
	Ortanca(IQR)	94.14(72.86-105.69) ^A	84.00(53.79-109.22) ^A	79.92(49.28-112.22) ^A	
		p ^{A-B,B-C,A-C,D-F,G-F} <0.001 p ^{D-E} =0.007	p ^{A-B,A-C,D-E,D-G,G-E} <0.001	p ^{A-B,A-C,D-E,E-F} <0.001 p ^{D-F} =0.002	

SNİ: standart iğne irrigasyonu; EA: EndoAktivatör; EDDY, İrriflex, PUİ: pasif ultrasonik irrigasyon; SS: standart sapma; IQR: the interquartile range (minimum-maksimum). Farklı üst karakterler (satırlar için abc, sütunlar için ABC) gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermektedir. Diğer tüm ikili karşılaştırmalarda p>0.05'dir. (sütunlar için p<0,01, satırlar için p<0,017 post hoc düzeltme).

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada *E.faecalis* ile kontamine edilen dişlerde farklı irrigasyon aktivasyon yöntemlerinin (SNİ, EDDY, EA, PUİ ve İrriflex) etkinliği, KLTM kullanılarak karşılaştırmalı olarak incelendi. Dentin tübüllerine kolonize ölü bakteri penetrasyon derinliği bakımından irrigasyon aktivasyon yöntemleri arasında anlamlı fark olduğu için çalışmanın sıfır hipotezi reddedildi.

Başarılı bir kanal tedavisinin temelinde; doğru teşhisin konulması, diş anatomisi ve morfolojisine uygun bir tedavi planının geliştirilmesi, tüm kök kanal sisteminin debridmanı, dezenfeksiyonu ve sızdırmaz bir biçimde doldurulması vardır. Ancak lateral ve aksesuar kanallar, kanal eğrilikleri, kanal duvarı düzensizlikleri, isthmuslar gibi morfolojik faktörler tam debridmanı neredeyse imkansız hale getirir (6). Yapılan ex vivo ve klinik çalışmalar kök kanal anatomisinin bu kompleks yapısı nedeni ile mekanik enstrümantasyonun; kök kanallarını bakterilerden ve enfekte doku artıklarından tek başına tamamen temizleyemediğini, mekanik preparasyon sırasında dokunulmayan alanların kaldığını göstermiştir. Sadece mekanik preparasyon ile etkin temizleme yapılamaması nedeniyle irrigasyon işlemi son derece önemlidir (7).

Uygun kanal enstrümantasyonu ve NaOCI ile yeterli irrigasyon bakteri sayısını azaltabilse de bakteriyel biyofilmi kök kanalından tamamen uzaklaştıramayabilir (5, 8). İntraradiküler mikroorganizmaları yok edebilmek ve üç boyutlu temizlik sağlamak için kök kanal şekillendirilmesi sırasında kullanılan irrigasyon solüsyonlarının aktive edilmesi önerilmektedir (6). Literatürde farklı irrigasyon aktivasyon yöntemlerinin dentin tübüllerine kolonize bakteriler üzerindeki etkisini inceleyen çalışmalar olduğu halde (162–164) SNİ, EA, EDDY, İrriflex ve PUİ yöntemlerinin *E.faecalis* biyofilmi üzerindeki etkisini karşılaştıran herhangi bir çalışma yer almamaktadır.

Ex vivo çalışmalarda biyofilmleri büyütme için; steril hidroksiapatit (HA) diskler (165), çekilmiş dişlerden hazırlanan örnekler (166) ve çekilmiş dişler (167) kullanılan yüzeyler arasındadır. Deney şartlarının klinik koşulları en iyi yansıtabilmesi için çalışmamızda tek köklü, çürüksüz, kırık ve çatlak olmayan, çekilmiş mandibular insan premolar dişleri kullanılmıştır.

Yapılan çalışmalar incelendiğinde kullanılan dişlerin kuron kısmı uzaklaştırılarak diş boylarında standardizasyon sağlanmıştır (63, 168). Şimdiki çalışmada tüm dişlerde bakteri ekimini kolaylaştırmak için standart 18 mm boy belirlenmiştir.

Paslanmaz çelik aletlerin sahip olduğu sertlik ve döngüsel yorgunluğa karşı azalan esnekliğinin aksine NiTi döner eğe sistemi, süper esneklik ve şekil hafızası gibi özelliklere sahiptir. Bu özellikler aletlere esneklik ve yorulma direnci sağlar (168, 169).

Rotasyona kıyasla resiprokal hareketin döngüsel yorgunluğa daha yüksek direnç göstermesi ve kısa çalışma süresi gibi avantajları (170) nedeniyle çalışmamızda resiprokal hareketle kullanılan T-Endo Must eğeleri ile kök kanal preparasyonu gerçekleştirilmiştir.

Güncel kök kanal preparasyon sistemlerinin çoğu, tek veya birkaç eğe kullanılarak kanal preparasyonunu tamamlamaktadır. Plotino ve ark (171) yapmış olduğu çalışmada, 25.06 boyutlu NiTi eğelerle yapılan preparasyonda molar dişlerin koronal ve orta üçte birlik kısmında yeterli debrimantasyon elde etmişlerdir. Apikal üçte birlik kısımdaysa 40.04 boyutlu eğe ile yapılan debrimantasyonun daha etkili olduğunu bildirmişlerdir (171). Ahmad ve ark. (172) yaptıkları çalışmada, kök kanallarında akustik akım ile debrimantasyonun gerçekleşmesi için apikal preparasyon çapının en az #40 olması gerektiğini vurgulamışlardır. Bu çalışmaların sonuçları göz önüne alınarak çalışmamızda yeterli irrigasyon sağlanması ve debrislerin uzaklaştırılması için tüm örnekler T-Endo Must resiprokal eğeler ile 40.04 boyutlu eğeye kadar belirlenen çalışma boyunda şekillendirilmiştir.

E.faecalis, insan ağız boşluğunda, gastrointestinal sistemde ve vajinada bulunan fakültatif anaerob gram-pozitif bir koktur. Karmaşık ekolojik ortamlarda yaşayabilen bu tür, bulunduğu çevreye iyi adaptasyon gösterir. *E.faecalis*, tedavi edilmeyen kök kanallarındaki floranın küçük bir bölümünü oluşturur. Kök kanal tedavisi sonrası kalıcı periradiküler lezyonların etiolojisinde önemli rol oynayan bir mikroorganizmadır. Primer endodontik enfeksiyon vakalarının sadece %18'inde tespit edilirken kök kanal tedavili dişlerdeki görülme sıklığı %67'dir (4, 32). Ayrıca *E.faecalis*; aksesuar kanallar, apikal deltalar ve isthmuslar gibi ana kanallardan uzak ulaşılamayan alanlarda biyofilm oluşturma ve kolonize olma yeteneğine sahiptir. Antimikrobiyal ajanların etkisini azaltan mekanizması ile kök kanal tedavisi sırasında kemomekanik enstrümantasyonla elimine edilmesini engeller (173). Molander ve ark. (174), Rôças ve ark. (175) yapmış olduğu çalışmalarda *E.faecalis*'in alkali ortam (176) ve uzun süreli açlık (177) gibi yaşanması zor koşullara karşı dirençli olduğunu rapor etmişlerdir. Bütün bu özelliklere sahip olması ve başarısız endodontik tedavili dişlerin kök kanal sisteminden izole edilmesi gibi nedenlerle mevcut çalışmamızda kök kanallarının kontaminasyonu için *E.faecalis* seçilmiştir (4, 14).

Kanalın tek başına mekanik olarak şekillendirilmesi, özellikle karmaşık anatomiye sahip vakalarda bakterileri tamamen ortadan kaldıramaz (130). Bu nedenle mikroorganizmaları yok etmek, kalan debrisleri uzaklaştırmak ve kanal içi dezenfeksiyonu sağlamak için irrigasyon solüsyonlarının kullanılması gereklidir (131). Endodontik irrigant olarak NaOCl genellikle %0.5 ile % 6 arasındaki konsantrasyonlarda kullanılır. %1 NaOCl gibi düşük konsantre çözelti kabul edilebilir biyolojik uyum gösterir (133). Fakat kök kanal tedavisi sırasında hangi konsantrasyonlarda kullanılması gerektiği konusunda fikir birliği yoktur. Bazı in vitro çalışmalar; NaOCl'in yüksek konsantrasyonlarının *E.faecalis* ve *C. albicans*'a karşı daha etkili olduğunu gösterirken bazı çalışmalar, hem düşük hem de yüksek konsantrasyonların kök kanal sistemindeki bakteri sayısını azaltmada eşit derecede etkili olduğunu göstermiştir (7, 136). %0.5 ve %3 NaOCl kullanılan bir çalışmada kök kanalındaki bakteri seviyelerinde önemli bir azalma görülürken %2.5 NaOCl kullanılarak yapılan başka bir çalışmada kemomekanik preparasyon sonrasında kök kanalındaki bakteri çeşitliliğinin önemli ölçüde azaldığı rapor edilmiştir (137). Tüm bu veriler göz önüne alındığında şimdiki çalışmada %2.5 NaOCl kullanılmıştır.

Endodontik enstrümantasyonda, özellikle NiTi döner ege sistemleri kullanıldığında kök kanal duvarlarında bir smear tabakası oluşur. Smear tabakası, nekrotik olup içinde mikroorganizmalar ve mikrobiyal antijenler içerdiğinden bu tabaka uzaklaştırılmalıdır (150, 151). Smear tabakası dentin tübüllerini tıkar ve mikroorganizmaları, NaOCl irrigasyonunun etkilerinden koruyabilir (148). EDTA solüsyonu, tek başına smear tabakasını etkili bir şekilde kaldıramaz ve smear tabakasının organik bileşenlerini uzaklaştırmak için NaOCl gibi bir proteolitik bileşenle kullanılmalıdır (152). Çalışmamızda hem smear tabakası hem de organik bileşenleri uzaklaştırmak için final irrigasyon aşamasında %2.5 NaOCl ve %17 EDTA birlikte kullanılmıştır.

Irrigasyon solüsyonunu ileten iğne ucunun apekse yakınlığı irrigasyonda önemli bir rol oynar. Etkili olması için iğne ucunun dışın apeksine yakın olması gerekir (178). Küçük çaplı irrigasyon iğneleri, kanalın daha derinlerine ulaşp daha etkili temizleme sağlar (179). Küçük çaplı iğnelerin daha büyük çaplı iğnelere göre önemli ölçüde daha iyi irrigant değişimi sağladığı da bildirilmiştir (180). Bu nedenle mevcut çalışmada final irrigasyon için yandan açılan 30 gauge irrigasyon iğnesi kullanılmıştır.

EA, kök kanal sisteminin irrigasyonu için sonik enerjiyi kullanan bir irrigasyon aktivasyon yöntemidir. Bu sistem; farklı frekanslarda (33, 100 ve 167 Hz) çalıştırılabilen bir

angulduruva ve farklı boyutlarda esnek polimer uçlar (Sarı 15/02, Kırmızı 25/04, Mavi 35/04) (91) olmak üzere iki aparata sahiptir. Pille çalışan cihaz, 2.000-10.000 döngü/dakika arasında titreşim sağlar (109). İrrigasyon solüsyonuyla dolu kanala pasif olarak yerleşen uçlar, 30-60 saniye boyunca 10.000 döngü/dakikada ileri geri hareketlerle etkinleştirilir. Sonik irrigasyonla kullanılan bu sistemle kanalların etkin bir biçimde temizlendiği bildirilmiştir (110, 111). Çalışmamızda EA, üretici firmanın talimatları doğrultusunda çalışma boyundan 2 mm kısa yerleştirilerek 2-3 mm ileri geri hareketlerde kullanılmıştır.

EDDY; uç tasarımı 25.04 boyutunda, esnek poliamidden üretilmiş, steril, tek kullanımlık ve ucu keskin olmayan yeni bir sonik irrigasyon aktivasyon sistemidir. Hava basınçlı bir piyasemen (Air Scaler) tarafından 5000 ile 6000 Hz ile etkinleştirilir (86). EDDY, ultrasonik cihazlara benzer 'kavitasyon' ve 'akustik akış' oluşturarak karmaşık kök kanal sistemlerinin etkili bir şekilde temizlenmesini sağlar (108). Bu nedenle çalışmamızda üretici firmanın talimatları doğrultusunda TA 200 cihazına takılan EDDY sonik uç 20 sn boyunca çalıştırılmıştır.

İrriFlex®, kapalı ucun hemen üstünde arka arkaya iki yan deliği bulunan esnek polietilen bir endodontik iğnedir. Üreticisi, dentin duvarlarını hedef alan yan deliklerinin irrigasyonu dengelediğini iddia etmiştir. İrriFlex tasarımı ile daha az apikal ekstrüzyona yol açarken yüksek yan akış hızıyla solüsyonun koronale akışını kolaylaştırır. İrriFlex'in esnek gövdesi, eğimli kanalların apikal alanlarına erişimi kolaylaştırır ve dentin duvarına zarar vermez. Kök kanal şekline uyması ve kök kanal duvarları boyunca rahat hareket etmesi için 04 konisite açısıyla tasarlanmıştır (81). Çalışmamızda İrriFlex®, üretici talimatları doğrultusunda kök kanalına çalışma uzunluğunun 2 mm gerisinde yerleştirilerek kullanılmıştır.

PUİ, bakteri agregasyonlarının yok olmasına neden olan kuvvetlerle akustik bir akış sağlar (104). Akustik mikro akışın rolü; NaOCI solüsyonunu kanalın etrafında sürekli hareket ettirerek, bakterileri ve debrisleri kaldırarak irrigasyonun aktivitesini daha da artırmaktır (100). Ultrasonik uçlar, insan işitsel algı sınırının (>20 kHz) ötesinde olan 25-30 kHz'lik ultrasonik frekanslarda salınım yapacak şekilde tasarlanmıştır ve enine bir titreşimle çalışırlar (83). Çalışmamızda ultrasonik cihaza takılan Irrisafe uç üretici firmanın talimatları doğrultusunda çalışma uzunluğundan 2 mm kısa yerleştirilerek 2-3 mm ileri geri hareketler ile uygulanmıştır. Tüm diş örneklerinde her biri 20 sn olacak şekilde 3 periyot, toplam 1 dakika boyunca aktivasyon gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada farklı irrigasyon protokollerinin dentin tübüllerine kolonize bakterilere etkisini değerlendirmek için KLTM kullanılmıştır. KLTM, yalnızca biyofilm yapısındaki bakterileri görselleştirmesinin yanı sıra enfekte dentindeki canlı ve ölü bakterileri ayırt etmeye de imkan sağlamakta (70, 181) ve biyofilme zarar vermeden biyofilmin araştırılmasına izin vermektedir. Floresan belirteçlerin kullanımı, belirli hücrelerin hatta hücre dışı matris bileşenlerinin görüntülenmesine de olanak sağlar (69). Spesifik belirteçlerin kullanımı canlı ve ölü bakterilerin farklılaşmasına izin verir ve sıklıkla yeşil veya kırmızı floresan sinyallerle belirtilir (70, 71).

Literatürde farklı irrigasyon aktivasyon yöntemlerinin dentin tübüllerine kolonize bakterilere etkisini değerlendirmek için farklı derinlik seviyesinde kırmızı (ölü bakteri) ve yeşil floresansın (canlı bakteri) yoğunluklarının (164) ölçüldüğü, maksimum penetrasyon derinliğinin (162) hesaplandığı çalışmalar mevcuttur. Literatürdeki bu veriler eşliğinde, çalışmamızda dentin tübüllerine penetre ölü bakterilerin maksimum penetrasyon derinliği hesaplanarak değerlendirme yapılmıştır.

Literatürdeki birçok in vivo ve in vitro çalışmanın sonuçlarına paralel olarak, bu çalışmada karşılaştırılan tüm irrigasyon aktivasyon teknikleri pozitif kontrol grubuna kıyasla dentin tübüllerine penetre olabilen bakterileri önemli ölçüde azaltmıştır. Bununla birlikte her irrigasyon protokolü, kök kanal sistemi içindeki farklı kesitlerdeki bakterileri elimine etmede farklı etkinlik göstermiştir. PUİ; EA, EDDY, SNİ ve İrriflex gruplarından koronal, orta ve apikal kesitte daha fazla ölü bakteri penetrasyon derinliği göstermiştir. Çalışmamızda alınan kök kesitleri (apikal, orta, koronal) karşılaştırıldığında apikal üçlü diğer kesitlere göre tüm deney gruplarında anlamlı olarak daha düşük ölü bakteri penetrasyon derinliği göstermiştir. Azim ve ark.'nın (164) KLTM analizi ile %6 NaOCl kullandıkları SNİ, EA, XPF ve PIPS (Foton İndüklü Fotoakustik Dalgalanma Tekniği) irrigasyon aktivasyon yönteminin kök kanal yüzeyinin 50-100-150 µm derinlikte kesitlerini inceledikleri çalışmalarında PIPS grubu hariç ölü bakteri yüzdesi en yüksek koronalde bildirilmiş olup bunu orta ve apikal bölge takip etmiştir. PIPS grubunda ise kanal seviyeleri arasında ölü bakteri yüzdesi açısından fark bildirilmemiştir. Zeng ve ark.'nın (182) KLTM analizi kullanarak %3 NaOCl kullanarak SNİ ve EDDY aktivasyonunun antibakteriyel etkinliğini araştırdıkları çalışmada araştırılan irrigasyon aktivasyon yöntemlerinin koronal ve orta bölgeye kıyasla apikal bölgede daha az etkili olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmaların sonuçları bizim çalışmamızın sonuçları ile benzer olup dentin tübül sayısının apikalden

koronale doğru artması ve dentin tübüllerinin koronal ve orta bölgede daha yoğun ve büyük olmasının (183) bu sonuca neden olduğunu düşünmekteyiz.

Bhuva ve ark.'nın (64) tek köklü dişlerin kanallarında %1 NaOCl kullandıkları çalışmalarında PUI ve SNI ile antimikrobiyal etkinliğini SEM ve KLTM analizleriyle karşılaştırmışlar ve kesitler arasında anlamlı fark bulunmadığını bildirmişlerdir. Bizim bulgularımızla olan bu farkın nedeni iki çalışmadaki PUI protokolü farklılığına ve o çalışmada kullanılan düşük NaOCI konsantrasyonuna bağlanabilir.

Bao ve ark.'nın (184) tek kanallı 54 premolar diş ve %3 NaOCl kullanarak XP Endo finisher eğenin SNI ve PUI ile antimikrobiyal etkinliğinin SEM analiziyle karşılaştırdıkları çalışmada alınan kesitler arasında anlamlı fark olmadığını bildirmişlerdir. Bizim bulgularımızla olan bu farkın nedeni iki çalışmada kullanılan toplam NaOCI miktarının farklı olmasına bağlanabilir.

Çalışmamızla uyumlu olarak farklı çalışmalarda manuel veya döner enstrümantasyondan sonra PUI kullanımının bakteri sayısında önemli bir azalma sağladığı (185, 186) ve SNI'den daha etkili sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir (187, 188). Cachovan ve ark.'nın (189) hidrodinamik sistem (RinsEndo), PUI (Piezo smart) ve SNI'yi karşılaştıran çalışmasında, her iki aktivasyon yönteminin antibakteriyel etkisini SNI'den daha yüksek bulmuşlardır. PUI kullanımıyla elde edilen bu olumlu sonuçlar 2 ana faktöre bağlanabilir:

1. Yüksek güçlü ultrason, akustik akışın etkisiyle bakteriyel biyofilmlerin dağılmasına neden olarak ortaya çıkan planktonik bakterileri NaOCl'nin aktivitesine karşı daha duyarlı hale getirebilir.
2. Oluşan kaviteasyon, bakteri hücre zarını geçici olarak zayıflatarak NaOCl'ye karşı daha geçirgen hale getirebilir (83).

SNI, diğer deney gruplarına göre her kesitte daha az ölü bakteri penetrasyon derinliği göstermiştir. SNI, koronal kök segmentinde en iyi penetrasyon derinliğine sahipken bunu orta ve apikal segment takip etmiştir. Bu sonuç, irrigasyon solüsyonunun irrigasyon iğnesinden ayrılıp akarken artan irrigasyon hızından kaynaklanabilir, bu da daha derin penetrasyona ve dezenfeksiyona olanak tanır (190). Hız düştükçe penetrasyon etkinliği azalabilir. Berutti ve ark.'nın (191, 192) yapmış olduğu çalışmada, kimyasal dezenfektanların aktive edilmeden dentine yalnızca 100 µ kadar nüfuz edebildiğini bildirmişlerdir. Konvansiyonel iğnenin statik irrigasyon rezervuarı, irrigasyon solüsyonunun kök kanal sisteminin tüm yönlerine nüfuz etme, yayılma ve temizleme etkisini kısıtlar (109,

193). Bu bilgiler ışığında çalışmamızda SNİ grubunun, diğer aktivasyon yöntemlerinden daha az etkili olmasının dentin tübüllerine düşük penetrasyon yeteneğinden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda EA ile irrigasyon aktivasyonu yapılan grup ölü bakteri penetrasyon derinliği açısından PUI grubundan daha düşük, SNİ ve İrriflex grubundan daha yüksek penetrasyon derinliği göstermiştir. Pedulla ve ark.'nın (194) ultrasonik cihaz (Endoultra) ile aktive edilen %3 NaOCl ile beraber SNİ irrigasyonu ve EA kullanarak *E. faecalis* ile enfekte olmuş dişler üzerindeki antimikrobiyal etkisinin değerlendirdiği çalışmada PUI grubu, EA ve SNİ grubundan daha yüksek antimikrobiyal etkinlik göstermiştir. NaOCl'nin pasif ultrasonik cihaz veya EndoUltra ile ultrasonik aktivasyonu, tedaviden sonra veya 24 saat sonra EA'ya kıyasla biyofilm sayısını önemli ölçüde azaltmıştır. Bu bulgular, ultrasonik irrigasyonun bakteriyel biyofilm elimine etmede sonik aktivasyondan daha etkili olduğunu ortaya koymuştur. Bu sonuç çalışmamızın sonucuyla uyumlu olup sonik aktivasyonun, ultrasonik cihazlardan daha az etkili olmasını daha düşük frekansla daha az akustik akış üretmesinden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Balic ve ark.'nın (195) yapmış olduğu çalışmada QMix veya %2.5 NaOCl ile beraber bir Er:YAG lazer, EA, PIPS ve SNİ kullanarak kanal içi *E. faecalis* biyofilmine antibakteriyel etkinlikleri değerlendirilmiştir. En iyi antibakteriyel etkinlik, hem NaOCl hem de QMix kullanılan EA grubunda görülmüştür. EA polimer ucunun sonik salınımı ile etkileşen irrigasyon solüsyonu, mikroakustik akış oluşturarak biyofilmin yok edilmesini ve etkili debridmantasyonu sağlar. Bu çalışmada EA, SNİ'ye kıyasla NaOCl'nin etkisini iyileştirmiştir ancak PIPS'den farklı olmamıştır. Enova ve ark.'nın (196) *E. faecalis* üzerinde bir diyet lazer ışınlaması, foto-aktif dezenfeksiyon (PAD), %2.5 NaOCl ile beraber SNİ ve EA ile antimikrobiyal etkisini değerlendirmek için yaptığı çalışmada PAD ve EA sisteminin kök kanal enfeksiyonunu azaltmada tek başına diyet lazer ve SNİ'ye göre daha başarılı olduğunu bildirmişlerdir. Pasqualini ve ark.'nın (196) %5 NaOCl kullanarak SNİ ve EA kök kanalındaki antibakteriyel etkinliğini değerlendirdiği çalışmada EA ile aktivasyonun, kök kanalındaki bakteri sayısını azaltmada SNİ'den daha etkili olduğunu göstermişlerdir.

Fernandes ve ark.'nın (197) 60 adet çekilmiş mandibular premolar diş kullanılarak EA, PUI ve Easy Clean (EC) irrigasyon aktivasyon yöntemlerinin antibakteriyel etkisini karşılaştırdıkları çalışmada, final preparasyon boyutunu #20 olarak belirlemişlerdir. Çalışmanın sonucunda sonik ve ultrasonik grupların antibakteriyel etkisinin benzer

olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmanın final preparasyon boyutunun şimdiki çalışmanın final preparasyon boyutundan küçük olması sonuçlar arasındaki farkı açıklayabilir.

Huffaker ve ark.'nın (198) bakteri kültür analizi kullanarak yaptığı çalışmada % 0.5 NaOCl ile beraber SNİ ve EA yöntemlerinin benzer antibakteriyel etkinlik gösterdiğini bildirmiştir. Bu çalışmanın bizim çalışmamızdan farklı sonuçlar göstermesi araştırmacıların kullandığı düşük NaOCl konsantrasyonuna ve kullanılan irrigasyon iğnesinin çapının 27 gauge olmasına bağlı olabilir.

EDDY, ultrasonik cihazlara benzer 'kavitasyon' ve 'akustik akış' oluşturarak kompleks kök kanallarının daha iyi bir şekilde temizlenmesini sağlar (108). EDDY, diğer sonik aktivasyon sistemlerinden daha yüksek bir frekansta (6000 Hz) çalışmaktadır (199, 200). Hidrodinamik etki aletin uç salınım modelini ve genliğini de belirlemektedir. Daha yüksek frekans, daha yüksek bir akış hızına neden olur. EA'nın salınım genliğinin 1.2 mm ve EDDY'nin 0.35 mm'dir (201, 202). İki sonik cihazın dentin tübüllerine kolonize olan bakterileri elimine etme açısından farklılıklar yaratabileceği düşünüldüğünden çalışmamızda karşılaştırılmış ancak EA, tüm dentin tübül penetrasyonu parametrelerinde ve tüm kesitlerde diğer sonik sistem olan EDDY ile benzer penetrasyon değerleri göstermiştir. Zeng ve ark.'nın (203) KLTM analizi kullanılarak yaptıkları çalışmada %2 NaOCI kullanarak EDDY, EA ve SNİ'nin antibakteriyel etkinliğini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlar mevcut çalışma sonuçlarımıza benzer olup EDDY ve EA, SNİ grubundan daha fazla bakteri eliminasyonu sağlarken EA ve EDDY arasında anlamlı bir fark olmadığı bildirilmiştir.

Güncel literatürde irrigasyonda yeni bir iğne tasarımı olan İrriflex ile ilgili literatür bilgisi sınırlı olup çalışmamızda kullandığımız irrigasyon aktivasyon tekniklerini karşılaştıran benzer çalışmalar bulunmamıştır. Irrigasyon ajanlarını sonik uçlar ile aktive eden EA ve EDDY ile ilgili de literatürde sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (204). Çalışmamızda elde ettiğimiz verilere göre İrriflex, alınan her kesitte SNİ grubundan yüksek penetrasyon derinliği göstermiştir. Koronal ve orta segmentte İrriflex; PUİ, EDDY ve EA gruplarından daha düşük penetrasyon derinliği gösterirken apikal segmentte, EA ve PUİ gruplarından daha düşük penetrasyon derinliği göstermiştir.

Dentin tübüllerinin çapları, genç ve yaşı bireylerde farklılık gösterir. Tübüller gençlerde genişken yaşı bireylerde daha dardır (205). Çalışmada yaş grubu dikkate alınmadan çekilmiş insan dişleri kullanılmasının dentin tübüllerine penetre olan bakteri sayısı üzerindeki etkisi çalışmanın limitasyonlarından biri sayılabilir. Bu çalışmanın diğer limitasyonları, KLTM analizi için diş örneklerinden su soğutması altında elmas disk kullanarak kesitler alınması ve kompleks kök kanal anatomisine sahip dişlerin çalışmaya dahil edilmeyip tek köklü dişlerde değerlendirme yapılmasıdır.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan çalışmada 5 farklı irrigasyon aktivasyon yönteminin dentin tübüllerine kolonize bakterilere etkisi incelenmiştir. Elde edilen bulgulara göre sonuçlar ve öneriler aşağıda sıralanmıştır:

1. Gruplar arasında fark olması nedeniyle çalışmanın sıfır hipotezi reddedildi. Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre pozitif kontrol grubu dışındaki tüm deney gruplarında bakteriyel eliminasyon sağlanmıştır. Fakat hiçbir grupta yüzde yüz eliminasyon sağlanamamıştır.
2. Dentin tübüllerindeki bakterilerin biyofilm yapısına zarar vermeden floresan belirteçler kullanarak ölü ve canlı bakterilerin net ayrımını sağlaması sebebiyle KLTM'nin uygun bir görüntüleme sistemi olduğu görülmüştür.
3. SNİ, en düşük penetrasyon ölü bakteri derinliği göstermiştir. Buna karşın PUİ grubunda daha fazla ölü bakteri penetrasyon derinliği elde edilmiştir. Klinik imkanlar elverişli ise final irrigasyon aktivasyonunda PUİ tercih edilebilir.
4. Yeni bir iğne tasarımı olan IrriFlex ile diğer aktivasyon tekniklerinin karşılaştırıldığı daha fazla çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır.
5. In vitro çalışmalarda bulunan sonuçlar klinik ortama aktarılırken dikkatli olunmalıdır.

7. KAYNAKÇA

1. Goldman M, Pearson AH (1969). Postdébridement bacterial flora and antibiotic sensitivity. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 28.
2. Bender Ib, Seltzer S (1952). Combination of antibiotics and fungicides used in treatment of the infected pulpless tooth. *Journal of the American Dental Association* (1939) 45.
3. Rubin LM, Skobe Z, Krakow AA, Gron P (1979). The effect of instrumentation and flushing of freshly extracted teeth in endodontic therapy: a scanning electron microscope study. *Journal of Endodontics* 5.
4. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U (1998). Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics* 85.
5. 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. *Journal of Endodontics* 31.
6. Schilder H (1974). Cleaning and shaping the root canal. *Dental Clinics of North America* 18.
7. Byström A, Sundqvist G (1981). Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *European Journal of Oral Sciences* 89.
8. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ (1965). The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 20.
9. Neelakantan P, Cheng CQ, Mohanraj R, Sriraman P, Subbarao C, Sharma S (2015). Antibiofilm activity of three irrigation protocols activated by ultrasonic, diode laser or Er: YAG laser in vitro. *International Endodontic Journal* 48.
10. Siqueira JF, Rôças IN (2005). Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: Part 2 - Redefining the endodontic microbiota. *Journal of Endodontics* 31.
11. Siqueira JF, Rôças IN (2009). Diversity of Endodontic Microbiota Revisited. *Journal of Dental Research* 88.
12. Gomes BPF de A, Herrera DR (2018). Etiologic role of root canal infection in apical periodontitis and its relationship with clinical symptomatology. *Brazilian Oral Research* 32.
13. Munson MA, Pitt-Ford T, Chong B, Weightman A, Wade WG (2002). Molecular and cultural analysis of the microflora associated with endodontic infections. *Journal of Dental Research* 81.

14. Pinheiro ET, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Sousa ELR, Teixeira FB, Souza-Filho FJ (2003). Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *International Endodontic Journal* 36.
15. Rôças IN, Siqueira JF (2008). Root canal microbiota of teeth with chronic apical periodontitis. *Journal of Clinical Microbiology* 46.
16. Gomes BPFA, Lilley JD, Drucker DB (1996). Associations of endodontic symptoms and signs with particular combinations of specific bacteria. *International Endodontic Journal* 29.
17. Gomes BPFA, Lilley JD, Drucker DB (1996). Clinical significance of dental root canal microflora. *Journal of Dentistry* 24.
18. Molander A, Reit C, Dahlén G, Kvist T (1998). Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *International Endodontic Journal* 31.
19. Tronstad L, Barnett F, Riso K, Slots J (1987). Extraradicular endodontic infections. *Dental Traumatology* 3.
20. Fouad AF (2017). Endodontic Microbiology and Pathobiology: Current State of Knowledge. *Dental Clinics of North America* 61.
21. Montagner F, Jacinto RC, Signoretti FGC, Sanches PF, Gomes BPFA (2012). Clustering behavior in microbial communities from acute endodontic infections. *Journal of Endodontics* 38.
22. Rolim De Sousa EL, Randi Ferraz CC, Figueiredo De Almeida Gomes BP, Tavares Pinheiro E, Batista Teixeira F, de Souza-Filho FJ (2003). Bacteriological study of root canals associated with periapical abscesses. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics* 96.
23. Siqueira JF, Rôças IN (2013). Microbiology and treatment of acute apical abscesses. *Clinical Microbiology Reviews* 26.
24. Rôças IN, Siqueira JF (2018). Frequency and levels of candidate endodontic pathogens in acute apical abscesses as compared to asymptomatic apical periodontitis. *PLoS ONE* 13.
25. Glickman GN, Bakland LK, Fouad AF, Hargreaves KM, Schwartz SA (2009). Diagnostic Terminology: Report of an Online Survey. *Journal of Endodontics* 35.
26. Rôças IN, Siqueira JF (2012). Characterization of microbiota of root canal-treated teeth with posttreatment disease. *Journal of Clinical Microbiology* 50.
27. Fisher K, Phillips C (2009). The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology* 155.
28. Rice EW, Messer JW, Johnson CH, Reasoner DJ (1995). Occurrence of high-level aminoglycoside resistance in environmental isolates of enterococci. *Applied and Environmental Microbiology* 61.

29. Huycke MM, Sahm DF, Gilmore MS (1998). Multiple-drug resistant enterococci: The nature of the problem and an agenda for the future. *Emerging Infectious Diseases* 4.
30. Schleifer KH, Kilpper-Balz R (1984). Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* 34.
31. Salas H, Castrejon A, Fuentes D, Luque A, Luque E (2021). Evaluation of the penetration of CHX 2% on dentinal tubules using Conventional Irrigation, Sonic Irrigation (EDDY) and Passive Ultrasonic Irrigation (PUI) techniques: An in vitro study. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry* 13.
32. Siqueira JF (1996). A scanning electron microscopic evaluation of in vitro dentinal tubules penetration by selected anaerobic bacteria. *Journal of Endodontics* 22.
33. Alghamdi F, Shakir M (2020). The Influence of *Enterococcus faecalis* as a Dental Root Canal Pathogen on Endodontic Treatment: A Systematic Review. *Cureus*. doi:10.7759/cureus.7257.
34. Rôças IN, Siqueira JF, Santos KRN (2004). Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *Journal of Endodontics* 30.
35. Byström A, Claesson R, Sundqvist G (1985). The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of the infected root canals. *Endodontics & Dental Traumatology*.
36. Barbosa-Ribeiro M, De-Jesus-Soares A, Zaia AA, Ferraz CCR, Almeida JFA, Gomes BPFA (2016). Quantification of lipoteichoic acid contents and cultivable bacteria at the different phases of the endodontic retreatment. *Journal of Endodontics* 42.
37. Mergoni G, Percudani D, Lodi G, Bertani P, Manfredi M (2018). Prevalence of *Candida* Species in Endodontic Infections: Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of Endodontics* 44.
38. Douglas LJ (2003). *Candida* biofilms and their role in infection. *Trends in Microbiology* 11.
39. Chandra J, Kuhn DM, Mukherjee PK, Hoyer LL, McCormick T, Ghannoum MA (2001). Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: Development, architecture, and drug resistance. *Journal of Bacteriology* 183.
40. Gulati M, Nobile CJ (2016). *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. *Microbes and Infection* 18.
41. Sudbery PE (2011). Growth of *Candida albicans* hyphae. *Nature Reviews Microbiology* 9.
42. Damm DD, Neville BW, Geissler RH, White DK, Drummond JF, Ferretti GA (1988). Dentinal candidiasis in cancer patients. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 65.

43. Eidelman D, Neuman I, Kuttin ES, Pinto M, Beemer AM (1978). Dental sepsis due to *Candida albicans* causing urticaria: Case report. *Annals of Allergy* 41.
44. Jokinen Ma, Kotilainen R, Poikkeus P, Poikkeus R, Sarkkí L (1978). Clinical and radiographic study of pulpectomy and root canal therapy. *European Journal of Oral Sciences* 86.
45. Kerekes K, Tronstad L (1979). Long-term results of endodontic treatment performed with a standardized technique. *Journal of Endodontics* 5.
46. Flemming HC, Wingender J, Szewzyk U, Steinberg P, Rice SA, Kjelleberg S (2016). Biofilms: An emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology* 14.
47. Marsh PD (2004). Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries Research* (Vol. 38).
48. Costerton JW, Stewart PS (2001). Battling biofilms. *Scientific American* 285.
49. Diaz PI (2011). Microbial diversity and interactions in subgingival biofilm communities. *Periodontal Disease* (Vol. 15).
50. Caggianiello G, Kleerebezem M, Spano G (2016). Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: from health-promoting benefits to stress tolerance mechanisms. *Applied Microbiology and Biotechnology* 100.
51. Neelakantan P, Romero M, Vera J, Daood U, Khan AU, Yan A, Cheung GSP (2017). Biofilms in Endodontics—Current status and future directions. *International Journal of Molecular Sciences* 18.
52. Dunavant TR, Regan JD, Glickman GN, Solomon ES, Honeyman AL (2006). Comparative Evaluation of Endodontic Irrigants against *Enterococcus faecalis* Biofilms. *Journal of Endodontics* 32.
53. Ramachandra JA, Nihal NK, Nagarathna C, Vora MS (2015). Root canal irrigants in primary teeth. *World Journal of Dentistry* 6.
54. Siqueira JF, Rôças IN (2011). Optimising single-visit disinfection with supplementary approaches: A quest for predictability. *Australian Endodontic Journal* 37.
55. Flemming HC (2016). Eps—then and now. *Microorganisms* 4.
56. Davey ME, O'toole GA (2000). Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular Genetics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64.
57. Barbosa-Ribeiro M, De-Jesus-Soares A, Zaia AA, Ferraz CCR, Almeida JFA, Gomes BPFA (2016). Antimicrobial susceptibility and characterization of virulence genes of *enterococcus faecalis* isolates from teeth with failure of the endodontic treatment. *Journal of Endodontics* 42.
58. Portenier I, Waltimo T, Ørstavik D, Haapasalo M (2005). The susceptibility of starved, stationary phase, and growing cells of *Enterococcus faecalis* to endodontic medicaments. *Journal of Endodontics* 31.
59. Gerdes K, Semsey S (2016). Microbiology: Pumping persisters. *Nature* 534.

60. Kaldalu N, Hauryliuk V, Tenson T (2016). Persisters—as elusive as ever. *Applied Microbiology and Biotechnology* 100.
61. Zhao J, Shen Y, Haapasalo M, Wang Z, Wang Q (2016). A 3D numerical study of antimicrobial persistence in heterogeneous multi-species biofilms. *Journal of Theoretical Biology* 392.
62. Kishen A, Haapasalo M (2010). Biofilm models and methods of biofilm assessment. *Endodontic Topics* 22.
63. Miller TA, Baumgartner JC (2010). Comparison of the Antimicrobial Efficacy of Irrigation Using the EndoVac to Endodontic Needle Delivery. *Journal of Endodontics* 36.
64. Bhuva B, Patel S, Wilson R, Niazi S, Beighton D, Mannocci F (2010). The effectiveness of passive ultrasonic irrigation on intraradicular *Enterococcus faecalis* biofilms in extracted single-rooted human teeth. *International Endodontic Journal* 43.
65. Brito PRR, Souza LC, Machado de Oliveira JC, Alves FRF, De-Deus G, Lopes HP, Siqueira JF (2009). Comparison of the Effectiveness of Three Irrigation Techniques in Reducing Intracanal *Enterococcus faecalis* Populations: An In Vitro Study. *Journal of Endodontics* 35.
66. Kelleher SM, Habimana O, Lawler J, O'reilly B, Daniels S, Casey E, Cowley A (2016). Cicada Wing Surface Topography: An Investigation into the Bactericidal Properties of Nanostructural Features. *ACS Applied Materials and Interfaces* 8.
67. Alhede M, Qvortrup K, Liebrechts R, Høiby N, Givskov M, Bjarnsholt T (2012). Combination of microscopic techniques reveals a comprehensive visual impression of biofilm structure and composition. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 65.
68. Stewart PS, Costerton JW (2001). Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet* 358.
69. Peterson BW, He Y, Ren Y, Zerdoum A, Libera MR, Sharma PK, van Winkelhoff AJ, Neut D, Stoodley P, van der Mei HC, *et al.* (2015). Viscoelasticity of biofilms and their recalcitrance to mechanical and chemical challenges. *FEMS Microbiology Reviews* 39.
70. Zapata RO, Bramante CM, de Moraes IG, Bernardineli N, Gasparoto TH, Graeff MSZ, Campanelli AP, Garcia RB (2008). Confocal Laser Scanning Microscopy Is Appropriate to Detect Viability of *Enterococcus faecalis* in Infected Dentin. *Journal of Endodontics* 34.
71. Ma J, Wang Z, Shen Y, Haapasalo M (2011). A new noninvasive model to study the effectiveness of dentin disinfection by using confocal laser scanning microscopy. *Journal of Endodontics* 37.
72. Sen BH, Akdeniz BG, Denizci AA (2000). The effect of ethylenediamine-tetraacetic acid on *Candida albicans*. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics* 90.

73. Abbott P v. (2004). Classification, diagnosis and clinical manifestations of apical periodontitis. *Endodontic Topics* 8.
74. Lush V (2010). Textbook of endodontology, 2nd edition. *British Dental Journal* 208.
75. Siqueira JF, Rôças IN, Rosado AS (2004). Investigation of bacterial communities associated with asymptomatic and symptomatic endodontic infections by denaturing gradient gel electrophoresis fingerprinting approach. *Oral Microbiology and Immunology* 19.
76. Stone J (2011). Treatment of endodontic infections. *British Dental Journal* 210.
77. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ (1965). The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 20.
78. Moller A, Fabricius L (1981). Influence on periapical tissue of indigenous oral bacteria and necrotic pulp in monkeys. *Scandinavian Journal of Dental Research* 89.
79. Byström A, Claesson R, Sundqvist G (1985). The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Dental Traumatology* 1.
80. Bott R (2014). *Cohen's Pathways of the Pulp Expert Consult*. Igarss 2014.
81. Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y (2010). Irrigation in Endodontics. *Dental Clinics of North America* 54.
82. Boutsoukakis C, Lambrianidis T, Kastrinakis E, Bekiaroglou P (2007). Measurement of pressure and flow rates during irrigation of a root canal ex vivo with three endodontic needles. *International Endodontic Journal* 40.
83. Gu L sha, Kim JR, Ling J, Choi KK, Pashley DH, Tay FR (2009). Review of Contemporary Irrigant Agitation Techniques and Devices. *Journal of Endodontics* 35.
84. Gliksberg J (1995). An in vitro evaluation of the irrigating characteristics of ultrasonic and subsonic handpieces and irrigating needles and probes. *Journal of Endodontics* 21.
85. Park E, Shen Y, Khakpour M, Haapasalo M (2013). Apical pressure and extent of irrigant flow beyond the needle tip during positive-pressure irrigation in an in vitro root canal model. *Journal of Endodontics* 39.
86. Urban K, Donnermeyer D, Schäfer E, Bürklein S (2017). Canal cleanliness using different irrigation activation systems: a SEM evaluation. *Clinical Oral Investigations* 21.
87. Nielsen BA, Craig Baumgartner J (2007). Comparison of the EndoVac System to Needle Irrigation of Root Canals. *Journal of Endodontics* 33.
88. Susila A, Minu J (2019). Activated irrigation vs. Conventional non-activated irrigation in endodontics – A systematic review. *European Endodontic Journal* 4.

89. Ehrlich DG, Brian JD, Walker WA (1993). Sodium hypochlorite accident: Inadvertent injection into the maxillary sinus. *Journal of Endodontics* 19.
90. Sedgley CM, Nagel AC, Hall D, Applegate B (2005). Influence of irrigant needle depth in removing bioluminescent bacteria inoculated into instrumented root canals using real-time imaging in vitro. *International Endodontic Journal* 38.
91. Heilborn C, Reynolds K, Johnson JD, Cohenca N (2010). Cleaning efficacy of an apical negative-pressure irrigation system at different exposure times. *Quintessence international (Berlin, Germany : 1985)* 41.
92. Tay FR, Gu L sha, Schoeffel GJ, Wimmer C, Susin L, Zhang K, Arun SN, Kim J, Looney SW, Pashley DH (2010). Effect of Vapor Lock on Root Canal Debridement by Using a Side-vented Needle for Positive-pressure Irrigant Delivery. *Journal of Endodontics* 36.
93. Huang TY, Gulabivala K, Ng YL (2008). A bio-molecular film ex-vivo model to evaluate the influence of canal dimensions and irrigation variables on the efficacy of irrigation. *International Endodontic Journal* 41.
94. McGill S, Gulabivala K, Mordan N, Ng YL (2008). The efficacy of dynamic irrigation using a commercially available system (RinsEndo®) determined by removal of a collagen “bio-molecular film” from an ex vivo model. *International Endodontic Journal* 41.
95. Andrabi SM ukhtar UN, Kumar A, Zia A, Iftekhar H, Alam S, Siddiqui S (2014). Effect of passive ultrasonic irrigation and manual dynamic irrigation on smear layer removal from root canals in a closed apex in vitro model. *Journal of investigative and clinical dentistry* 5.
96. Keir DM, Senia ES, Montgomery S (1990). Effectiveness of a brush in removing postinstrumentation canal debris. *Journal of Endodontics* 16.
97. Taşdemir T, Çelik D, Er K, Yildirim T, Ceyhanli KT, Yeşilyurt C (2011). Efficacy of several techniques for the removal of calcium hydroxide medicament from root canals. *International Endodontic Journal* 44.
98. Weise M FR (2007). Four methods for cleaning simulated lateral extensions of curved root canals-a SEM evaluation. *International Endodontic Journal* 979–1007.
99. Plotino G, Pameijer CH, Maria Grande N, Somma F (2007). Ultrasonics in Endodontics: A Review of the Literature. *Journal of Endodontics* 33.
100. Walmsley Ad (1987). Ultrasound and root canal treatment: the need for scientific evaluation. *International Endodontic Journal* 20.
101. Weller RN, Brady JM, Bernier WE (1980). Efficacy of ultrasonic cleaning. *Journal of Endodontics* 6.
102. Curtis TO, Sedgley CM (2012). Comparison of a continuous ultrasonic irrigation device and conventional needle irrigation in the removal of root canal debris. *Journal of Endodontics* 38.

103. Lumley PJ, Walmsley AD, Walton RE, Rippin JW (1992). Effect of precurving endosonic files on the amount of debris and smear layer remaining in curved root canals. *Journal of Endodontics* 18.
104. Burleson A, Nusstein J, Reader A, Beck M (2007). The In Vivo Evaluation of Hand/Rotary/Ultrasound Instrumentation in Necrotic, Human Mandibular Molars. *Journal of Endodontics* 33.
105. Van der Sluis LWM, Versluis M, Wu MK, Wesselink PR (2007). Passive ultrasonic irrigation of the root canal: A review of the literature. *International Endodontic Journal* 40.
106. Ahmad M, Pitt Ford TR, Crum LA (1987). Ultrasonic debridement of root canals: An insight into the mechanisms involved. *Journal of Endodontics* 13.
107. Walmsley Ad, Lumley Pj, Laird Wre (1989). The oscillatory pattern of sonically powered endodontic files. *International Endodontic Journal* 22.
108. Desai P, Himel V (2009). Comparative Safety of Various Intracanal Irrigation Systems. *Journal of Endodontics* 35.
109. Ruddle C (2015). Endodontic disinfection: Tsunami irrigation. *Saudi Endodontic Journal* 5.
110. Sabins RA, Johnson JD, Hellstein JW (2003). A comparison of the cleaning efficacy of short-term sonic and ultrasonic passive irrigation after hand instrumentation in molar root canals. *Journal of Endodontics* 29.
111. Jensen SA, Walker TL, Hutter JW, Nicoll BK (1999). Comparison of the cleaning efficacy of passive sonic activation and passive ultrasonic activation after hand instrumentation in molar root canals. *Journal of Endodontics* 25.
112. Townsend C, Maki J (2009). An In Vitro Comparison of New Irrigation and Agitation Techniques to Ultrasonic Agitation in Removing Bacteria From a Simulated Root Canal. *Journal of Endodontics* 35.
113. Lumley PJ, Harrington E, Walmsley AD, Marquis PM (1996). Taper and stiffness of sonic endodontic files. *Endodontics and Dental Traumatology* 12.
114. Chandran A, Gaffoor F, Gopakumar R, Girish S, Soumya S, Nair M (2021). Comparison of the efficacy of K-File, canal brush technique, and sonic irrigation technique in the retrievability of calcium hydroxide and metapex intracanal medicaments from root canals: An in vitro cone-beam computed tomography analysis. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences* 13.
115. Jiang LM, Lak B, Eijsvogels LM, Wesselink P, van der Sluis LWM (2012). Comparison of the cleaning efficacy of different final irrigation techniques. *Journal of Endodontics* 38.
116. Siu C, Baumgartner JC (2010). Comparison of the debridement efficacy of the endovac irrigation system and conventional needle root canal irrigation in vivo. *Journal of Endodontics* 36.

117. Kfir A, Blau-Venezia N, Goldberger T, Abramovitz I, Wigler R (2018). Efficacy of self-adjusting file, XP-endo finisher and passive ultrasonic irrigation on the removal of calcium hydroxide paste from an artificial standardized groove. *Australian Endodontic Journal* 44.
118. De-Deus G, Belladonna FG, Zuolo AS, Cavalcante DM, Carvalhal JCA, Simões-Carvalho M, Souza EM, Lopes RT, Silva EJNL (2019). XP-endo Finisher R instrument optimizes the removal of root filling remnants in oval-shaped canals. *International Endodontic Journal* 52.
119. Crozeta BM, Chaves de Souza L, Correa Silva-Sousa YT, Sousa-Neto MD, Jaramillo DE, Silva RM (2020). Evaluation of Passive Ultrasonic Irrigation and GentleWave System as Adjuvants in Endodontic Retreatment. *Journal of Endodontics* 46.
120. Erratum: Effectiveness of Gutta-percha/Sealer Removal during Retreatment of Extracted Human Molars Using the GentleWave System (Journal of Endodontics (2019) 45(6) (808–812), (S0099239919301189), (10.1016/j.joen.2019.02.009)) (2019). *Journal of Endodontics* 45.
121. Velardi JP, Alquria TA, Alfirdous RA, Corazza BJM, Gomes APM, Silva EG, Griffin IL, Tordik PA, Martinho FC (2022). Comparison of GentleWave system and passive ultrasonic irrigation with minimally invasive and conventional instrumentation against LPS in infected root canals. *Scientific Reports* 12.
122. Torabinejad M (2011). Root canal irrigants and disinfectants. *Endodontics: colleagues for excellence*.
123. Diaci J, Gaspirc B (2012). Comparison of Er:YAG and Er, Cr:YSGG lasers used in dentistry. *Journal of the Laser and Health Accademy* 2012.
124. Do QL, Gaudin A (2020). The efficiency of the ER: YAG laser and photon-induced photoacoustic streaming (PIPS) as an activation method in endodontic irrigation: A literature review. *Journal of Lasers in Medical Sciences* 11.
125. de Moor RJ, Delmé KI (2009). Laser-assisted cavity preparation and adhesion to erbium-lased tooth structure: part 1. Laser-assisted cavity preparation. *The journal of adhesive dentistry* 11.
126. de Groot SD, Verhaagen B, Versluis M, Wu MK, Wesselink PR, van der Sluis LWM (2009). Laser-activated irrigation within root canals: Cleaning efficacy and flow visualization. *International Endodontic Journal* 42.
127. Namour A, Geerts S, Zeinoun T, de Moor R, Nammour S (2016). Safety irradiation parameters of Nd:YAP laser beam for endodontic treatments: An in vitro study. *BioMed Research International* 2016.
128. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ (1965). The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 20.

129. Sundqvist G (1994). Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 78.
130. The Anatomy of the Root-Canals of the Teeth of the Permanent Dentition. (1925). *JAMA: The Journal of the American Medical Association* 85.
131. Mohammadi Z, Abbott P v. (2009). The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *International Endodontic Journal* 42.
132. Walton RE, Torabinejad M (2010). *Principles and Practice of Endodontics 4th edition. Principles and practice of endodontics*.
133. Estrela C, Estrela CRA, Barbin EL, Spanó JCE, Marchesan MA, Pécora JD (2002). Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Brazilian dental journal* 13.
134. McDonnell G, Russell AD (1999). Antiseptics and disinfectants: Activity, action, and resistance. *Clinical Microbiology Reviews* 12.
135. Siqueira JF (1998). Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented gram-negative anaerobes and facultative bacteria. *Journal of Endodontics* 24.
136. Cvek M, Nord CE, Hollender L (1976). Antimicrobial effect of root canal débridement in teeth with immature root. A clinical and microbiologic study. *Odontologisk revy* 27.
137. Gonçalves LS, Rodrigues RCV, Andrade Junior CV, Soares RG, Vettore MV (2016). The effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine as irrigant solutions for root canal disinfection: A systematic review of clinical trials. *Journal of Endodontics* 42.
138. Hand RE, Smith ML, Harrison JW (1978). Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. *Journal of Endodontics* 4.
139. Spangberg L, Engström B, Langeland K (1973). Biologic effects of dental materials. 3. Toxicity and antimicrobial effect of endodontic antiseptics in vitro. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 36.
140. Siqueira JF, Rôças 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. *Journal of Endodontics* 26.
141. Peters OA (2004). Current challenges and concepts in the preparation of root canal systems: A review. *Journal of Endodontics* 30.
142. McGurkin-Smith R, Trope M, Caplan D, Sigurdsson A (2005). Reduction of intracanal bacteria using GT rotary instrumentation, 5.25% NaOCl, EDTA, and Ca(OH)₂. *Journal of Endodontics* 31.
143. Hülsmann M, Hahn W (2000). Complications during root canal irrigation - Literature review and case reports. *International Endodontic Journal* 33.
144. Greenstein G, Berman C, Jaffin R (1986). Chlorhexidine: An Adjunct to Periodontal Therapy. *Journal of Periodontology* 57.

145. Basrani B, Haapasalo M (2012). Update on endodontic irrigating solutions. *Endodontic Topics* 27.
146. Basrani B, Tjäderhane L, Santos JM, Pascon E, Grad H, Lawrence HP, Friedman S (2003). Efficacy of chlorhexidine- and calcium hydroxide-containing medicaments against *Enterococcus faecalis* in vitro. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics* 96.
147. Yamashita JC, Tanomaru Filho M, Leonardo MR, Rossi MA, Silva LAB (2003). Scanning electron microscopic study of the cleaning ability of chlorhexidine as a root-canal irrigant. *International Endodontic Journal* 36.
148. Carrotte P (2004). Endodontics: Part 7 preparing the root canal. *British Dental Journal* 197.
149. Haapasalo M (2011). Can I use chlorhexidine as the only irrigating solution in my endodontic treatments? *Journal of the Canadian Dental Association* 77.
150. Craig Baumgartner J, Mader CL (1987). A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. *Journal of Endodontics* 13.
151. 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. *Journal of Endodontics* 9.
152. Goldman M, Kronman JH, Goldman LB, Clausen H, Grady J (1976). New method of irrigation during endodontic treatment. *Journal of Endodontics* 2.
153. Kim SG, Malek M, Sigurdsson A, Lin LM, Kahler B (2018). Regenerative endodontics: a comprehensive review. *International Endodontic Journal* 51.
154. Haapasalo M, Qian W, Shen Y (2012). Irrigation: beyond the smear layer. *Endodontic Topics* 27.
155. Goldman M, Goldman LB, Cavaleri R, Bogis J, Sun Lin P (1982). The efficacy of several endodontic irrigating solutions: a scanning electron microscopic study: part 2. *Journal of Endodontics* 8.
156. Basrani BR, Manek S, Fillery E (2009). Using Diazotization to Characterize the Effect of Heat or Sodium Hypochlorite on 2.0% Chlorhexidine. *Journal of Endodontics* 35.
157. Basrani BR, Manek S, Sodhi RNS, Fillery E, Manzur A (2007). Interaction between Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Gluconate. *Journal of Endodontics* 33.
158. Stojicic S, Shen Y, Qian W, Johnson B, Haapasalo M (2012). Antibacterial and smear layer removal ability of a novel irrigant, QMiX. *International Endodontic Journal* 45.
159. Loel DA (1975). Use of acid cleanser in endodontic therapy. *Journal of the American Dental Association* (1939) 90.

160. Baumgartner JC, Brown CM, Mader CL, Peters DD, Shulman JD (1984). A scanning electron microscopic evaluation of root canal debridement using saline, sodium hypochlorite, and citric acid. *Journal of Endodontics* 10.
161. Ulusoy Öİ, Zeyrek S, Çelik B (2017). Evaluation of smear layer removal and marginal adaptation of root canal sealer after final irrigation using ethylenediaminetetraacetic, peracetic, and etidronic acids with different concentrations. *Microscopy Research and Technique* 80.
162. Li Q, Zhang Q, Zou X, Yue L (2020). Evaluation of four final irrigation protocols for cleaning root canal walls. *International Journal of Oral Science* 12.
163. al Shahrani M, Divito E, Hughes C v., Nathanson D, Huang GTJ (2014). Enhanced removal of enterococcus faecalis biofilms in the root canal using sodium hypochlorite plus photon-induced photoacoustic streaming: An in vitro study. *Photomedicine and Laser Surgery* 32.
164. Azim AA, Aksel H, Zhuang T, Mashtare T, Babu JP, Huang GTJ (2016). Efficacy of 4 Irrigation Protocols in Killing Bacteria Colonized in Dentinal Tubules Examined by a Novel Confocal Laser Scanning Microscope Analysis. *Journal of Endodontics* 42.
165. Stojicic S, Shen Y, Haapasalo M (2013). Effect of the source of biofilm bacteria, level of biofilm maturation, and type of disinfecting agent on the susceptibility of biofilm bacteria to antibacterial agents. *Journal of Endodontics* 39.
166. Del Carpio-Perochena AE, Bramante CM, Duarte MAH, Cavenago BC, Villas-Boas MH, Graeff MS, Bernardineli N, de Andrade FB, Ordinola-Zapata R (2011). Biofilm dissolution and cleaning ability of different irrigant solutions on intraorally infected dentin. *Journal of Endodontics* 37.
167. Anić I, Matsumoto K (1995). Comparison of the sealing ability of laser-softened, laterally condensed and low-temperature thermoplasticized gutta-percha. *Journal of Endodontics* 21.
168. Pasqualini D, Cuffini AM, Scotti N, Mandras N, Scalas D, Pera F, Berutti E (2010). Comparative evaluation of the antimicrobial efficacy of a 5% sodium hypochlorite subsonic-activated solution. *Journal of Endodontics* 36.
169. Barbosa IB, Ferreira FG, Scelza P, Adeodato C, Caldas IP, Gonçalves FP, Masterson D, Zaccaro Scelza MF (2020). Structural analysis of NiTi endodontic instruments: A systematic review. *Iranian Endodontic Journal* 15.
170. Prichard J (2012). Rotation or reciprocation: A contemporary look at NiTi instruments? *British Dental Journal* 212.
171. Plotino G, Özyürek T, Grande NM, Gündoğar M (2019). Influence of size and taper of basic root canal preparation on root canal cleanliness: a scanning electron microscopy study. *International Endodontic Journal* 52.

172. Ahmad M, Pitt Ford TR, Crum LA, Walton AJ (2009). Ultrasonic debridement of root canals: Acoustic cavitation and its relevance. *International Endodontic Journal* 42.
173. Siqueira JF, Rôças IN (2008). Clinical Implications and Microbiology of Bacterial Persistence after Treatment Procedures. *Journal of Endodontics* 34.
174. Nair PNR, 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 Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 99.
175. Rôças IN, Hülsmann M, Siqueira JF (2008). Microorganisms in Root Canal-treated Teeth from a German Population. *Journal of Endodontics* 34.
176. Flahaut S, Hartke A, Giard JC, Auffray Y (1997). Alkaline stress response in *Enterococcus faecalis*: Adaptation, cross- protection, and changes in protein synthesis. *Applied and Environmental Microbiology* 63.
177. Hartke A, Lemarinier S, Pichereau V, Auffray Y (2002). Survival of *Enterococcus faecalis* in seawater microcosms is limited in the presence of bacterivorous zooflagellates. *Current Microbiology* 44.
178. Abou-Rass M, Piccinino M v. (1982). The effectiveness of four clinical irrigation methods on the removal of root canal debris. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 54.
179. Senia ES, Marshall FJ, Rosen S (1971). The solvent action of sodium hypochlorite on pulp tissue of extracted teeth. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 31.
180. Druttman Acs, Stock Cjr (1989). An in vitro comparison of ultrasonic and conventional methods of irrigant replacement. *International Endodontic Journal* 22.
181. Parmar D, Hauman CHJ, Leichter JW, Mcnaughton A, Tompkins GR (2011). Bacterial localization and viability assessment in human ex vivo dentinal tubules by fluorescence confocal laser scanning microscopy. *International Endodontic Journal* 44.
182. Zeng C, Willison J, Meghil MM, Bergeron BE, Cutler CW, Tay FR, Niu L, Ma J (2018). Antibacterial efficacy of an endodontic sonic-powered irrigation system: An in vitro study. *Journal of Dentistry* 75.
183. Kuçi A, Alaçam T, Yavaş Ö, Ergul-Ulger Z, Kayaoglu G (2014). Sealer penetration into dentinal tubules in the presence or absence of smear layer: A confocal laser scanning microscopic study. *Journal of Endodontics* 40.
184. Bao P, Shen Y, Lin J, Haapasalo M (2017). In Vitro Efficacy of XP-endo Finisher with 2 Different Protocols on Biofilm Removal from Apical Root Canals. *Journal of Endodontics* 43.

185. Cunningham WT, Martin H (1982). A scanning electron microscope evaluation of root canal débridement with the endosonic ultrasonic synergistic system. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 53.
186. Martin H, Cunningham WT, Norris JP, Cotton WR (1980). Ultrasonic versus hand filing of dentin: A quantitative study. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 49.
187. Spoleti P, Siragusa M, Spoleti MJ (2003). Bacteriological evaluation of passive ultrasonic activation. *Journal of Endodontics* 29.
188. Huque J, Kota K, Yamaga M, Iwaku M, Hoshino E (1998). Bacterial eradication from root dentine by ultrasonic irrigation with sodium hypochlorite. *International Endodontic Journal* 31.
189. Cachovan G, Schiffner U, Altenhof S, Guentsch A, Pfister W, Eick S (2013). Comparative antibacterial efficacies of hydrodynamic and ultrasonic irrigation systems in vitro. *Journal of Endodontics* 39.
190. Boutsoukakis C, Lambrianidis T, Kastrinakis E (2009). Irrigant flow within a prepared root canal using various flow rates: A Computational Fluid Dynamics study. *International Endodontic Journal* 42.
191. Mohammadi Z (2008). Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. *International Dental Journal* 58.
192. Berutti E (1997). Penetration ability of different irrigants into dentinal tubules. *Journal of Endodontics* 23.
193. Paul ML, Mazumdar D, Niyogi A, Baranwal AK (2013). Comparative evaluation of the efficacy of different irrigants including MTAD under SEM. *Journal of Conservative Dentistry* 16.
194. Pedullà E, Genovese C, Messina R, la Rosa GRM, Corsentino G, Rapisarda S, Arias-Moliz MT, Tempera G, Grandini S (2019). Antimicrobial efficacy of cordless sonic or ultrasonic devices on *Enterococcus faecalis*-infected root canals. *Journal of investigative and clinical dentistry* 10.
195. Balić M, Lucić R, Mehadžić K, Bago I, Anić I, Jakovljević S, Plečko V (2016). The efficacy of photon-initiated photoacoustic streaming and sonic-activated irrigation combined with QMiX solution or sodium hypochlorite against intracanal *E. faecalis* biofilm. *Lasers in Medical Science* 31.
196. Bago I, Plečko V, Gabrić Pandurić D, Schauperl Z, Baraba A, Anić I (2013). Antimicrobial efficacy of a high-power diode laser, photo-activated disinfection, conventional and sonic activated irrigation during root canal treatment. *International Endodontic Journal* 46.
197. Fernandes KGC, da Silva BB, Boer NC, Mandarin DR, Moreti LCT, Kato AS, Bueno CEDS, Limoeiro AGDS, Pinheiro SL, de Martin AS, *et al.* (2020). The

- effectiveness of three irrigation systems in the *Enterococcus faecalis* reduction after instrumentation with a reciprocating instrument. *European Journal of Dentistry* 14.
198. Huffaker SK, Safavi K, Spangberg LSW, Kaufman B (2010). Influence of a passive sonic irrigation system on the elimination of bacteria from root canal systems: A clinical study. *Journal of Endodontics* 36.
 199. Khaord P, Amin A, Shah M, Uthappa R, Raj N, Kachalia T, Kharod H (2015). Effectiveness of different irrigation techniques on smear layer removal in apical thirds of mesial root canals of permanent mandibular first molar: A scanning electron microscopic study. *Journal of Conservative Dentistry* 18.
 200. Mancini M, Cerroni L, Iorio L, Armellini E, Conte G, Cianconi L (2013). Smear layer removal and canal cleanliness using different irrigation systems (EndoActivator, EndoVac, and passive ultrasonic irrigation): Field emission scanning electron microscopic evaluation in an in vitro study. *Journal of Endodontics* 39.
 201. Swimberghe RCD, Buyse R, Meire MA, de Moor RJG (2021). Efficacy of different irrigation technique in simulated curved root canals. *Lasers in Medical Science* 36.
 202. Ahmad M, Pitt Ford TR, Crum LA (1987). Ultrasonic debridement of root canals: Acoustic streaming and its possible role. *Journal of Endodontics* 13.
 203. Zeng C, Everett J, Sidow S, Bergeron BE, Tian F, Ma J, Tay FR (2021). In vitro evaluation of efficacy of two endodontic sonic-powered irrigant agitation systems in killing single-species intracanal biofilms. *Journal of Dentistry* 115.
 204. Gupta J, Nikhil V, Jha P (2014). Corelation between machines assisted endodontic irrigant agitation and apical extrusion of debris and irrigant: A laboratory study. *Scientific World Journal* 2014.
 205. Xu C, Wang Y (2012). Chemical composition and structure of peritubular and intertubular human dentine revisited. *Archives of Oral Biology* 57.



EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onay Belgesi



T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
TIP FAKÜLTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU

Sayı: 24237859- 909
Konu: Etik Kurul Onayı

09.12.2021

Sayın; Prof. Dr. Tamer TAŞDEMİR
Endodonti ABD

“Dentin Tübülleri İçerisinde Kolonize Bakterilerin Uzaklaştırılmasında Beş Farklı İrrigasyon Protokolünün Etkinliği: Bir Konfokal Lazer Çalışması” başlıklı etik kurul 2021/380 protokol numaralı çalışma önerisi raportör ve etik kurul görüşleri doğrultusunda; tıbbi etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilginizi ve gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Faruk AYDIN
Etik kurul Başkanı

Ek: 1 adet onay belgesi

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Şeyba Sara Doğan
Uyruğu : T.C.
Doğum Tarihi ve Yeri :
Medeni Durumu :
Tel :
e-mail :
Yazışma Adresi : Karadeniz Teknik Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi,
Endodonti Anabilim Dalı Merkez/TRABZON

Eğitim Bilgileri

Derece	Mezun	Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
1. Uzmanlık Eğitimi	Karadeniz Teknik Üniversitesi Diş Hek. Fak.	2019-2023	
2. Yüksek Lisans	Atatürk Üniversitesi Diş Hek. Fak.	2018	
3. Lise	Hacı Sami Boydak Anadolu Lisesi	2012	

YABANCI DİL

İngilizce