

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

**Enterococcus Faecalis Ve Candida Albicans Üzerine Çeşitli Kök Kanal
İrrigasyon Solüsyonlarının Karşılaştırmalı Antimikrobiyal Analizi: *İn-Vitro* Bir
Çalışma**

Arş. Gör. Murat ÜNAL

UZMANLIK TEZİ
ENDODONTİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Funda KONT ÇOBANKARA

KONYA-2022

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

**ENTEROCOCCUS FAECALİS VE CANDIDA ALBİCANS
ÜZERİNE ÇEŞİTLİ KÖK KANAL İRRİGASYON
SOLÜSYONLARININ KARŞILAŞTIRMALI
ANTİMİKROBİYAL ANALİZİ: *İN-VİTRO* BİR ÇALIŞMA**

Arş. Gör. Murat ÜNAL

UZMANLIK TEZİ
ENDODONTİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Funda KONT ÇOBANKARA

Bu araştırma T.C. Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 21132112 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2022

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitim sürecim ve tez çalışmam boyunca kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösteren ve destek olan danışmanım Prof. Dr. Funda KONT ÇOBANKARA'ya

Uzmanlık eğitimim boyunca yardımlarını esirgemeyen hocalarım Prof. Dr. Sema BELLİ, Prof. Dr. Hale ARI AYDINBELGE ve Prof. Dr. Ayçe ÜNVERDİ ELDENİZ'e

Asistanlık sürecim boyunca endodonti alanında kendimi geliştirmeme yardımcı olacak bilgilerini benden esirgemeyen çok değerli kıdemli asistan arkadaşlarım Uzm. Dr. Valiahad AHADOV, Uzm. Dt. Faruk Feyyaz DAŞTAN'a

Asistanlık sürecim boyunca çok şey paylaştığım, manevi desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen eş kıdemli asistan arkadaşlarım Uzm. Dt. Ayşe DURU, Uzm. Dt. Gözde ÖZTÜRK ve Uzm. Dt. Hilal COŞKUN başta olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma ve yoğun tempomuzda bizlere sabırla yardımcı olan değerli personelimize

Tez çalışmamın gerçekleştirilmesindeki fikir, emek ve destekleri için Doç. Dr. Zafer SAYIN'a

Tez çalışmamın istatistik aşamasında bana yardımcı olan Mert DEMİRSÖZ'e

Uzmanlık sürecim boyunca varlığıyla bana güç veren, her konuda olduğu gibi zorlu tez sürecimde de en büyük destekçim olan sevgili Uzm. Dr. Fahrettin DUYSUŞ'a

Ve beni bu sayfaları yazacağım bu güzel günlere getiren, yaşadığım gururun sebepleri olan canım anneciğim ve babacığım ile birlikte canım kardeşlerime sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET.....	vii
1. GİRİŞ	1
1.1. Kök Kanallarından İzole Edilen Mikroorganizmalar	2
1.1.1. Enterococcus faecalis (<i>E. faecalis</i>).....	2
1.1.2. Candida albicans (<i>C. albicans</i>).....	4
1.2. Endodontik İrrigasyon	5
1.2.1. Sodyum Hipoklorit (NaOCl).....	6
1.2.2. Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (EDTA).....	14
1.2.3. Klorheksidin Diglukonat (CHX).....	16
1.2.4. Oktenidin Dihidroklorit (OCT)	19
1.2.5. Perasetik Asit (PAA).....	20
1.2.6. Etidronik Asit (HEBP,1-hydroxyethylidene-1, 1-bisphosphonic acid) 22	
1.2.7. Fitik Asit (IP ₆ , inozitol hekzakisfosfat, FA).....	23
1.2.8. Tannik Asit (TA).....	25
1.2.9. Borik Asit (BA)	27
1.2.10. Hegzagonal Boron Nitrit Nanopartikül (h-BN)	30
1.2.11. Hipokloröz Asit (HOCl).....	32
1.3. Endodontik Mikrobiyoloji Çalışmalarında Sıklıkla Kullanılan Deneysel Yöntemler.....	35
1.3.1 Agar Difüzyon Testi.....	35
1.3.2. MİK Testi	36
1.3.3. Direkt Kontakt Test (DKT)	36
1.3.4. Histolojik yöntem	37
1.3.5. Radyoaktif olarak işaretlenmiş bakteri görüntüleme yöntemi	37
2. GEREÇ VE YÖNTEM	38
2.1. İrrigasyon Solüsyonlarının Hazırlanması	38
2.2. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar	41
2.3. Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) Testi.....	42
2.4. Direkt Kontakt Test (DKT)	44
2.5. İstatistiksel Analiz	45
3. BULGULAR	47

3.1. MİK Testi Sonuçları	47
3.2. DKT Sonuçları	49
4. TARTIŞMA	61
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	89
6. KAYNAKLAR	92
7. EKLER.....	116
Ek-A Etik Kurul Kararı	116
8. ÖZGEÇMİŞ.....	117



SİMGELER VE KISALTMALAR

µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
°C	: Santigrad derece
%	: Yüzde
BA	: Borik asit
<i>C. albicans</i>	: Candida albicans
dk	: Dakika
DKT	: Direkt kontakt test
MİK	: Minimum inhibitör konsantrasyon
BHI	: Brain heart infussion
<i>E. faecalis</i>	: Enterococcus faecalis
HEBP	: Etidronik asit
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
GP	: Guta perka
PLS	: Polistren
FA	: Fitik asit
FTS	: Fizyolojik tuzlu su
h-BN	: Hegzagonal boron nitrit
OCI⁻	: Hipoklorit
HOCl	: Hipokloröz asit
Ca⁺²	: Kalsiyum iyonu
CO₂	: Karbondioksit
CHX	: Klorheksidin
Mg⁺²	: Magnezyum iyonu
MTT	: Metiltiazol difenil tetrazolyum
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
MTAD	: Mixture of tetracycline, acid and detergent

MBC	: Minimum bactericidal concentration
CLSM	: Confocal laser scanning microscopy
PCA	: Parakloroanilin
ppm	: Parts per million (milyonda bir birimi)
VBNC	: Viable but nonculturable
PAA	: Perasetik asit
PDL	: Periodontal ligament
pH	: Power of hydrogen
Na⁺	: Sodyum iyonu
NaOCl	: Sodyum hipoklorit
sn	: Saniye
CFU	: Colony forming units
TA	: Tannik asit
PA	: Phosphoric acid
PAA	: Perasetik asit
OKT	: Oktenidin
<i>S. aureus</i>	: Staphylococcus aureus
<i>E. coli</i>	: Escherichia coli
MRSA	: Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus
CTS	: Kitosan
PMMA	: Polimetil metakrilat
BOP	: Bleeding On Prob
CAL	: Clinical Attachment Level
GI	: Gingival Index
PD	: Pocket Deep
PVP-I	: Povidine İyodin

ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

***E. faecalis* ve *C. albicans*'a Karşı Çeşitli Kök Kanal İrrigasyon Solüsyonlarının Antimikrobiyal Etkinliği: *İn-Vitro* Çalışma**

Dt. Murat ÜNAL

Endodonti Anabilim Dalı

Uzmanlık Tezi /KONYA- 2022

Bu *in-vitro* çalışmanın amacı; endodontide yaygın olarak kullanılan %5.25 sodyum hipoklorit (NaOCl), %17 etilen diamid tetra asetik asit (EDTA) ve %2 klorheksidin (CHX) irrigasyon solüsyonları ile %0.1 oktenidin (OCT), %2 perasetik asit (PAA), %18 etidronik asit (HEBP), %1 fitik asit (FA), %25 tannik asit (TA), %1, %3 ve %5 borik asit (BA), 0.4 mg/ml nanopartiküllü hegzagonal boron nitrit (h-BN) ve %0.02 hipokloröz asit (HOCl) solüsyonlarının *E. faecalis* ve *C. albicans* üzerindeki antimikrobiyal etkinliklerini minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) ve direkt kontakt test (DKT) yöntemleriyle değerlendirmektir.

Öncelikle her bir solüsyondan 50 µl alınarak, aynı hacimde McFarland 0.5 olacak şekilde ayarlanan *E. faecalis* (ATCC 29212) ve *C. albicans* (ATCC 90028) suşları ile 96 kuyucuklu mikroyellere konulup, 1/1'den - 1/8192 oranlarına kadar olan seri dilüsyonları hazırlandı ve 37°C'de 24 saat süreyle inkübe edildi. Daha sonra mikroyeller ELISA okuyucuda tarandı. Değerlendirme sonunda solüsyonların *E. faecalis* ve *C. albicans*'ın üremesini durdurdukları son dilüsyonları MİK değeri olarak kaydedilerek MİK skorları belirlendi.

MİK testi sonucuna göre her iki mikroorganizmaya da herhangi bir antimikrobiyal etkinlik gösteremeyen 0.4 mg/ml h-BN ve %0.02 HOCl haricindeki diğer solüsyonların antimikrobiyal etkinlikleri, DKT yöntemiyle 30 sn, 60 sn, 5 dk ve 10 dk'lık temas sürelerinde % mikroorganizma ölüm oranları üzerinden hesaplandı.

İstatistiksel analizde solüsyonlar arasında genel bir değerlendirme yapmak için karışık düzen (mixed design) varyans analizi ve çoklu karşılaştırma testlerinden Bonferroni-Dunn testi, süre kıyaslamaları için ise Bonferroni-Dunn testleri kullanıldı. Tüm değerlendirmelerde önem düzeyi $p < 0.05$ olarak alındı.

MİK testinde elde edilen sonuçlara göre; %2 CHX, %0.1 OCT, %25 TA ve %2 PAA solüsyonları *E. faecalis* ve *C. albicans*'ın büyümesini düşük MİK skorlarında durdurdu (sırasıyla; (1/1024; 1/1024), (1/256; 1/1024), (1/4096; 1/8192), (1/32; 1/16)). %5,25 NaOCl, %2 PAA, %25 TA ve %2 FA (sırasıyla; (1/8; 1/4), (1/32; 1/16), (1/4096; 1/8192), (1 /2; 1/4)) hem fungusit hem de bakterisit etki gösterdi.

DKT yönteminde elde edilen sonuçlara göre; %5.25 NaOCl, %2 PAA, %18 HEBP, %0.1 OCT ve %2 CHX 30 sn'de *E. faecalis*'i tamamen ortadan kaldırdı ($p > 0.05$). %2 FA 60 sn, %25 TA 5 dk sonunda *E. faecalis*'i tamamen yok ederken, bunu artan konsantrasyon ve zamanlarda %1-3-5 BA ve %17 EDTA takip etti.

%5.25 NaOCl, %17 EDTA, %3-%5 BA, %2 FA, %25 TA, %2 PAA ve %2 CHX 30 sn'de ($p > 0.05$), %0.1 OCT ise 60 sn'de ($p < 0.05$) *C. albicans*'ı tamamen ortadan kaldırdı. 5 dk sonunda %18 HEBP hariç tüm solüsyonlar *C.albicans*'ı tamamen elimine etti ($p > 0.05$).

Mevcut çalışma şartları doğrultusunda diğer solüsyonlara göre, her iki mikroorganizmaya karşı yüksek antimikrobiyal etkinlik gösterdiği belirlenen solüsyonlar; %5.25 NaOCl, %2 CHX, %2 PAA, %0.1 OCT, 25%TA ve %2 FA olarak belirlenmiştir. Sonuç itibarıyla, geleneksel irrigasyon solüsyonlarından %5.25 NaOCl ve %2 CHX'e ilave olarak %2 PAA, %0.1 OCT, 25%TA ve %2 FA'nın da antimikrobiyal özellikleriyle alternatif endodontik irrigasyon solüsyonu olarak ümit vadecici ve klinik kullanım açısından tavsiye edilebilir nitelikte oldukları söylenebilir.

Anahtar sözcükler: Direkt kontakt test, antimikrobiyal etkinlik, irrigasyon solüsyonu

SUMMARY

REPUBLIC of TURKEY
SELCUK UNIVERSITY
FACULTY of DENTISTRY

Antimicrobial Efficacy of Various Root Canal Irrigation Solutions Against *E. faecalis* and *C. albicans*: An In-Vitro Study

Dt. Murat ÜNAL

**Department of Endodontics
Specialist Thesis / KONYA-2022**

The aim of this in-vitro study is to evaluate the antimicrobial activities of %5.25 sodium hypochlorite (NaOCl), %17 ethylene diamide tetra acetic acid (EDTA), %2 chlorhexidine (CHX) irrigation solutions which are widely used in endodontics, and %0.1 octenidine (OCT), %2 peracetic acid (PAA), %18 etidronic acid (HEBP), %2 phytic acid (PA), %25 tannic acid (TA), %1, %3 ve %5 boric acid (BA), 0.4 mg/ml nanoparticulate hexagonal boron nitride (h-BN) and %0.02 hypochlorous acid (HOCl) solutions against *E. faecalis* and *C. albicans* using the minimum inhibitory concentration (MIC) and direct contact test (DCT) methods.

Firstly, 50 µl of each solution was taken and placed in 96-well microplates with *E. faecalis* (ATCC 29212) and *C. albicans* (ATCC 90028) strains adjusted to McFarland 0.5 in the same volume and placed into microplates and serial dilutions of each solutions from 1/1 to 1/8192 were prepared and incubated at 37°C for 24 hours. Then, the microplates were scanned in an ELISA reader. At the end of the evaluation, the MIC scores were determined by recording the final dilutions that stopped the growth of *E. faecalis* and *C. albicans* of each solution.

Antimicrobial activities of the solutions other than 0.4 mg/ml h-BN and 0.02% HOCl, which do not show any antimicrobial activity against both microorganisms according to the MIC test results; it was calculated by DKT method and taking into account the microorganism mortality percentages at 30 second, 60 seconds, 5 minutes and 10 minutes.

In the statistical analysis, mixed-design variance analysis and Bonferroni-Dunn test, which is one of the multiple comparison tests, were used to make a general evaluation among the solutions, and Bonferroni-Dunn tests were used for time comparisons. The significance level was taken as $p < 0.05$ in all evaluations.

According to the results obtained in the MIC test; 2% CHX, 0.1% OCT, 25% TA, and 2% PAA inhibited the growth of *E. faecalis* and *C. albicans* at low MIC scores (respectively; (1/1024; 1/1024), (1/256; 1/1024), (1/4096; 1/8192), (1/32; 1/16)). 5.25% NaOCl, 2% PAA, 25% TA and 2% FA (respectively; (1/8; 1/4), (1/32; 1/16), (1/4096; 1/8192), (1/2; 1/4)) showed both fungicide and bactericide effects.

According to the results obtained in the DKT method, 5.25% NaOCl, 2% PAA, 18% HEBP, 0.1% OCT, and 2% CHX completely eliminated *E. faecalis* in 30 seconds ($p > 0.05$). 2% FA and 25% TA completely destroyed *E. faecalis* respectively; at 60 seconds and 5 minutes. That was followed by 1%, 3% and 5% BA and 17% EDTA at increasing concentrations and times. *C. albicans* were eliminated by 5.25% NaOCl, 17% EDTA, 3% and 5% BA, 2% FA, 25% TA, 2% PAA, and 2% CHX at 30 seconds ($p > 0.05$); by 0.1% OCT eliminated at the 60 seconds ($p < 0.05$). All solutions except of 18% HEBP completely eliminated *C. albicans* after 5 minutes ($p > 0.05$).

According to the current study conditions, solutions determined to show higher antimicrobial activity against both microorganisms compared to other solutions are 5.25% NaOCl, 2% CHX, 2% PAA, 0.1% OCT, 25% TA, and 2% FA. As a result, it can be said that 2% PAA, 0.1% OCT, 2% FA, and 25%TA, in addition to 5.25% NaOCl and 2% CHX, are promising alternative endodontic irrigation solutions with their antimicrobial properties and they can be recommended for clinical use.

Keywords: direct contact test; antimicrobial activity; endodontic irrigation solution

1. GİRİŞ

Kök kanal tedavisinin temel amacı, kök kanalının doku artıklarından ve mikroorganizmalardan arındırıldıktan sonra hermetik bir şekilde doldurulmasıdır. Dolayısıyla başarılı bir kök kanal tedavisi için hermetik kök kanal dolgusu öncesinde kök kanallarındaki doku artıkları ve mikroorganizmaların tamamen elimine edilmiş olması esastır. Ancak özellikle kompleks kök kanal anatomisi gözönüne alındığında bu amaca ulaşmak her zaman çok kolay olmayabilir (Alaçam 2012).

Yapılan çalışmalarda kök kanalının düzensiz anatomik yapısından dolayı hangi şekillendirme yöntemi kullanılırsa kullanılsın, kanal duvarlarının %30-%60'ı arasındaki bir bölümüne kanal aletleri ile temas edilmediği bildirilmiştir (Peters ve ark 2001, Hübscher ve ark 2003, Peters ve ark 2003). Peters ve ark. (2003) tarafından yapılan bir mikro-CT araştırması sonucunda; üst molar dişlerde döner aletler ile eğeleme yapıldığında; meziobukkal kanallarda 43 ± 29 , distobukkal kanallarda ise 33 ± 19 oranında hiç dokunulmamış kanal duvarı kaldığı gösterilmiştir. Özellikle geniş yan kanal, isthmus ve apikal delta gibi kanal aletlerinin hiç temas edemediği anatomik alanlardaki doku artıkları ve mikroorganizmaları uzaklaştırabilmenin en etkili yolu kök kanalının irrigasyonudur. Dolayısıyla; kök kanal irrigasyonu genel olarak, kök kanallarındaki bakterileri ve doku artıklarını uzaklaştırmadaki katkısından dolayı kök kanal tedavisinin en önemli bileşenlerinden biri olarak kabul edilir (Peters ve ark 2001).

Kök kanal sisteminin mekanik olarak şekillendirilme işlemleri sırasında, kanal aletlerinin dentin duvarını kesme etkinliği sonucu oluşan smear tabakası; ihtiva ettiği bakteri ve organik doku içeren debrisler dolayısı ile dekontaminasyona sebebiyet vermekle beraber, kök kanalını hermetik bir şekilde doldurmak için kullanılan dolgu malzemelerinin kök kanal duvarına adaptasyonunu da engeller. Kök kanalının efektif bir şekilde irrigasyona tabi olduğunun söylenebilmesi için; kullanılan irrigasyon solüsyon ve/veya solüsyonlarının kanalın ulaşılması en güç yerlerine dahi ulaşarak doku çözücü ve antimikrobiyal etkinlik göstermesi, smear ve biyofilm katmanlarını yok etmesi beklenir (Kimura ve ark 2000). Kök kanal sisteminde yıkama işleminin bu derece önem ihtiva ettiğinin anlaşılması ile birlikte; gerek irrigasyon materyalleri, gerekse irrigasyon uygulama yöntemleri üzerine geliştirmelerle irrigasyon işleminin etkinliği de arttırılmaya çalışılmakta ve

günümüzde de hala üzerinde çalışılmaya devam edilen olan önemli konulardan birisi olmaya devam etmektedir.

İrrigasyonun etkinliğini arttırmaya yönelik çabalarda özellikle inatçı enfeksiyonlarda kök kanalında bulunan mikroorganizmaların çeşidi de, kök kanal sisteminin morfolojik yapısı oranında önem arz etmektedir (Haapasalo ve ark 1986). *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) ve *Candida albicans* (*C. albicans*) gibi inatçı patojenlerin, kök kanal sisteminde kullanılan antimikrobiyal irrigasyon solüsyonlarına karşı direnç göstermesi özellikle bu mikroorganizmalara yönelik antimikrobiyal etkinliği yüksek irrigasyon solüsyonu üretme çabasının önemini ortaya çıkarmıştır (Molander ve ark 1998)

1.1. Kök Kanallarından İzole Edilen Mikroorganizmalar

İnatçı veya sekonder enfeksiyonlardaki mikrobiyolojik flora, kök kanalının primer enfeksiyonundan farklıdır. Primer kök kanal enfeksiyonları genel olarak miks enfeksiyon şeklinde olup, Gram (-) negatif anaerobik çubuklar baskındır. İnatçı sekonder enfeksiyonlarda mikroorganizmalar tek çeşittir veya birincil enfeksiyonlarla karşılaştırıldığında daha az çeşitlilik gösterir. Bu dişlerdeki enfeksiyonlarda genellikle *E. faecalis* başta olmak üzere birkaç Gram (+) anaerob bakteri türünü görmek mümkündür (Siren ve ark 1997). Kök kanal tedavisi yapılmış primer apikal periodontisli dişlerde *E. faecalis*'e yaklaşık 9 kat daha az oranda rastlanmıştır (Rôças ve ark 2004). Mantarlar da, birincil enfeksiyonlara göre ikincil enfeksiyonlarda daha yüksek oranda bulunmaktadır (Siqueira Jr ve Sen 2004, Tanaka ve ark 2004). *C. albicans* bu tür enfeksiyonlardan en sık izole edilen mantar türü olup *E. faecalis* gibi kök kanal sisteminde zor şartlarda bile yaşamlarını sürdürebilmektedir. Nitekim inatçı enfeksiyonlardan sorumlu *E. faecalis* ve *Candida* türlerinin çeşitli etkinlikteki yıkama solüsyonlarına rağmen kök kanal sisteminde invazyon özelliklerini devam ettirebildikleri pek çok çalışmada gösterilmiştir (Ørstavik ve Haapasalo 1990).

1.1.1. Enterococcus faecalis (*E. faecalis*)

E. faecalis; 10-45°C sıcaklıkta çoğalabilen, varlığını 60°C sıcaklıkta 30 dk boyunca sürdürebilen, diğer enterokok türleri gibi en zorlu şartlara dahi kolaylıkla adapte olabilen, Gram (+) fakültatif anaerob bir koktur. Osmolarite artışı, etanol, ısı, hidrojen peroksit (H_2O_2), asitlik ve alkaliliğin normal seviyelerdeki öldürücü

etkilerine karşı diğer mikroorganizmalara göre daha dayanıklıdır (Flahaut ve ark 1996). *E. faecalis*; antibiyotiklere direnç geliştirme kabiliyetine sahip, enterekokların neden olduğu enfeksiyonların %80'inden sorumlu tutulan, intraabdominal enfeksiyonlar, bakteriyemi, endokardit ve üriner sistem enfeksiyonları gibi problemlerin kaynağı olarak görülen bir koktur (Lewis ve Zervos 1990).

Farklı genetiksel polimorfizmler gösterebilen *E. faecalis*, boyutunun çok küçük olmasından dolayı dentin tübülleri içerisine 400 ile 1000 µm kadar penentre olup hayatını kolaylıkla sürdürebilir (Sedgley ve ark 2004). *In-vitro* çalışmalar *E. faecalis*'in çevresel strese maruz kaldığında bakteriler tarafından oluşturulan, hayatta kalma stratejisi olan yaşayabilir ancak kültürlenemez (VBNC) duruma girme ve bu durumdan kurtulma yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir (Lleo ve ark 2001). VBNC durumunda *E. faecalis*'in, olumsuz çevre koşullarında kendine koruma sağlayabilecek hücre duvarı değişiklikleri gösterdiği (Signoretto ve ark 2000) ve insan hücrelerine yapışma özelliklerini koruduğu belirtilmiştir (Pruzzo ve ark 2002). Biofilm oluşturma kabiliyetinden dolayı, bunu oluşturamayan mikroorganizmalara göre 1000 misli daha dayanıklı olan *E. faecalis* (Distel ve ark 2002), ayrıca kök kanal sisteminin derinliklerinde dışarıdan besin olmadan 12 ay kadar hayatını devam ettirdiği ortaya çıkarılmış bir bakteri türüdür (Distel ve ark 2002, Saffari ve ark 2018). *E. faecalis*'in ayrıca yaygın olarak kullanılan hastane kumaşları ve plastiklerinde 90 günden fazla (Neely ve Maley 2000), suda ise 4 aya kadar (Figdor ve ark 2003) hayatta kalma yeteneğine sahip olduğu da bildirilmiştir.

E. faecalis, kök kanal sisteminde bazen tek başına yaşayabilen ya da mikrofloranın baskın elemanı olarak varlığını sürdüren, semptomsuz ve inatçı lezyonların %24 ile %77'sinden izole edilen (Stuart ve ark 2006), primer enfeksiyonların çok küçük bir kısmından sorumluyken, kök kanal tedavisi bittikten sonra devam eden inatçı lezyonların asıl kaynağı olarak görülen mikroorganizmadır (Evans ve ark 2002). *E. faecalis*'in daha önce kanal tedavisi uygulanmamış olgularda hiç olmaması veya düşük düzeyde olması, bu bakteri türünün başarısızlıklara neden olan temel bakteri türü olduğunu kanıtlamaktadır (Sundqvist ve ark 1998, Siqueira ve ark 2002). Buna ilave olarak; radyografide apikal bölgede görülen lezyonlu dişlerden tek başına izole edilmesi bu durumun etyolojik faktörleri arasında en üst sırada düşünülmesine neden olmuş ve sıklıkla kök kanal tedavisi yapılmış dişlerde oluşan lezyonlarla ilişkilendirilmiştir (Portenier ve ark 2003).

1.1.2. *Candida albicans* (*C. albicans*)

Candida cinsine ait 200 farklı tür olmasına rağmen, Candidal enfeksiyonların %75'inin kaynağı, insanoğlunda ağız ve vajinal olarak gelişen fırsatçı enfeksiyonlardan sorumlu *C. albicans* 'tır (Jenkinson ve Douglas 2002).

C. albicans insan ağız ortamı ve sindirim sisteminde varlığını sürdüren pek çok mikroorganizmayla birlikte bulunurken, sağlıklı bireylerin ağızlarında %40 oranında, sağlıklı kadınların vajinal florasında %20-25 oranında bulunmaktadır. Sindirim sisteminde var olan başka patojen mikroorganizmaların üremesini engelleyen *C. albicans*, sağlıklı bireylerde organizmanın sahip olduğu bağışıklık sistemi ve diğer zararsız mikroorganizmaların varlığında kontrol altında tutulur. Fakat organizmanın vücut direncinin düştüğü, candidal türlerin çoğalmasını mümkün kılan pH'ın veya şekerin arttığı ortamlarda ve diğer mikroorganizmaların medikal antibiyotik kullanımı sonucu sayı olarak azaldığı durumlarda *C. albicans*, zararsız formu olan tek hücreli halden invaziv çok hücreli, küf gibi gerçek ve yalancı hifleri aynı anda içerebilen ipliksi, vücuda zarar veren formlara dönüşür. İpliksi haldeki *C. albicans* konağa bağlanmak için adhesin üretme yanısıra ortama, dokuları yok eden ve onlara tutunmayı sağlayan proteazları ve vücut savunmasını azaltan faktörleri de salar (Hube ve Naglik 2001). Odds'a göre, *C. albicans*'ın adhezyon ile kolonize olma ve hastalığa neden olma yeteneği arasında doğrudan bir ilişki vardır (Odds 1988).

Mantar türlerinin enfekte olmuş kök kanal boşluğunda bulunabileceğini gösteren birçok çalışma mevcuttur (LI 1952, Şen ve ark 1995, Waltimo ve ark 1997). *C. albicans*, incelenen deney modellerinde en sık görülen ve en virulent *Candida* türüdür. *C. albicans*, terminal nitelikte sayılabilecek şartlara uyum sağlama yeteneğine sahiptir. Dezenfekte edilmiş kök kanallarında, kanın nötr pH'ında ve vajinal kanalın asidik pH'ında bulunabileceği gibi, alkali pH ortamlarında dahi bulunabilecek seviyede farklı güç çevresel koşullara dayanma kabiliyetine sahiptir (Mühlschlegel ve Fonzi 1997, Waltimo ve ark 2005, Brändle ve ark 2008) Virülans faktörlerin değişkenliği sayesinde dentine tutunabilmekte ve hatta penetre olabilmektedir (Waltimo ve ark 1997). *C. albicans*'ın 8 aylık süre boyunca hayatta kalma, farklı çevresel koşullar altında insan dentin blokları, polistiren (PLS) ve cam üzerinde biyofilm oluşturma yeteneğini araştıran bir çalışma sonuçlarına göre; besinden yoksun *C. albicans*'ın statik, anaerobik koşullar altında hayatta kalabileceği ve insan dentininde biyofilmler oluşturabileceği bildirilmiştir. Enfekte kök

kanallarında mantarların bulunma sıklığı oransal olarak %1 ile %22 arasında değişmektedir (Sundqvist ve ark 1989, Waltimo ve ark 1997, Baumgartner ve ark 2000). Bir çalışmada tükürüğünde mantar türlerinin bulunduğu vakalarda dişlerin kök kanal sisteminde de korelasyon göstererek 13.8 kez daha fazla mantar bulunabileceği iddia edilmiştir (Egan ve ark 2002).

C. albicans uzun süreli kök kanal enfeksiyonlarında bulunur, invaze olabilir ve virülans etkinliğine sahiptir. Bu özelliklerinden dolayı periapikal bölgede yaşayabilme ve bu bölgeyi enfekte edebilme kabiliyeti önem arz etmektedir (Şen ve ark 1997). Çoğunlukla tedaviye direnç gösteren inatçı apikal periodontitisle beraber patolojilere eşlik ettiği bildirilmiştir (Peciulienė ve ark 2001). Ayrıca, kök kanal tedavisinden sonra başarısız olan vakalarda periradiküler bölgede inatçı *C.albicans* varlığı da önemli bir etken olabilir (Er ve ark 2017). Apikal periodontitis teşhisi olan 60 vakanın gözlemlendiği *in-vivo* bir çalışmada, incelenen dişlerin %10'unun kök kanalında kandidal türler olduğu ortaya çıkarılmıştır (Egan ve ark 2002).

1.2. Endodontik İrrigasyon

İrrigasyon işlemi genel olarak, “bir vücut boşluğu veya yaranın, su veya tedavi edici özellikteki bir sıvıyla yıkanması” olarak tarif edilir (Darcey ve ark 2016).

Kök kanallarında çalışılmaya başlandığı andan itibaren kök kanal boşluğunda nekrotik veya vital pulpal doku artıkları, kan hücreleri, mikroorganizmalar bulunur ve ayrıca dentin duvarları üzerinde organik ve inorganik materyaller içeren smear tabaka oluşur. Medikament yerleştirme veya dolgu gibi sonraki aşamalara geçilmeden önce tüm bu artıkların temizlenmesi gerekir. Bu amaca yönelik olarak kök kanal preparasyonu ile birlikte irrigasyon solüsyonlarının kullanılması; yumuşamış debris, pulpal doku artıkları ve mikroorganizmaların düzensiz dentin duvarlarından kök kanal sistemi dışına çıkarılabilmesini sağlar.

İrrigasyon işleminde kullanılacak ideal bir solüsyonunun;

1. Etkili bir şekilde germisit ve fungusit etki göstermesi
2. Periapikal dokulara zararlı olmaması
3. Solüsyonun kendi içinde kararlı (stabil) olması
4. Kullanımdan sonra uzun süre antimikrobiyal etkisini ve kalıcılığını koruması

5. Tatbikinden sonra dokunun kan, serum ve protein gibi türevlerinin varlığında aktif özelliklerini koruması
6. Smear tabakasını mümkün olduğunca aktif bir şekilde kaldırabilir olması
7. Düşük yüzey gerilimi göstermesi
8. Dentin/dentin tübüllerini dezenfekte edebilir seviyede olması
9. Periapikal dokuların onarımını bozmayacak içerikte olması
10. Diş yapısını herhangi bir lekelenmeye maruz bırakmaması
11. Bir kültür ortamında inaktivasyon sağlaması
12. Hücre aracılı oluşabilecek herhangi bir bağışıklık tepkisini indüklememesi ve diş dokusunu çevreleyen doku hücreleri için antijenik bir indükleyici olmamasıyla beraber, toksik ve kanserojen etkiler göstermemesi
13. Dentin dokusunun fiziksel özellikleri üzerinde herhangi bir olumsuz etkisi olmaması
14. Dolgu malzemelerinin marjinal adaptasyonuna olumsuz etkisi olmaması
15. Kullanımının ve uygulamasının kolay olması
16. Ucuz ve raf ömrünün uzun olması gibi özellikler göstermesi beklenir (Darcey ve ark 2016)

Yaygın Olarak Kullanılan Endodontik İrrigasyon Solüsyonları

1.2.1. Sodyum Hipoklorit (NaOCl)

NaOCl, ilk defa 18. yüzyılın sonlarında Fransa'da klorin gazının sodyum karbonat ile reaksiyonu sonucu ortaya çıkmış ve endüstride ağartma amacıyla kullanılmaya başlanmıştır. İlerleyen yıllarda elde etme prosedürlerinde meydana gelen teknik ilerleme ile *Dakin solüsyonu* adıyla hastane ortamında kullanılmaya başlanmıştır. NaOCl'yi kök kanal tedavisinde irrigasyon amacıyla ilk kez 1920'li yıllarda Coolidge kullanmıştır (Basrani 2015). NaOCl'nin, kimyager olan Henry Dakin ve şirurjist Alexsis Carrel tarafından enfekte yaralarda kullanımıyla tıp camiasında bilinirliği artmıştır (Zehnder 2006).

Konsantrasyonuna göre şeffaftan sarımsı renklere doğru değişkenlik gösterebilen, konfeksiyon ve gıda endüstrisinden kirli suların temizlenmesine ve çamaşırların ağartılmasına kadar çeşitli alanlarda kullanılabilen, dilüe kostik sodada

sıvı ya da gaz klorinin reaksiyonu ile elde edilen NaOCl'nin oluşum reaksiyonu aşağıdaki gibidir (Çalışkan 2006):



NaOCl, pH=10-12 aralığında stabilitesini daha iyi koruyabilen, alkalen formda bir solüsyondur (Sassone ve ark 2003). NaOCl; kök kanal dentininin duvarlarına kolayca yayılabilmesi, piyasadan temininin kolay ve ucuz olması, saklama süresinin uzun olması gibi avantajlarının yanında; mikroorganizmalara karşı yüksek düzeyde antimikrobiyal etki göstermesi ve organik yapı çözücü etkisinin bulunmasıyla endodontide vazgeçilmez bir solüsyon haline gelmiştir (Mohammadi 2008).

NaOCl; su ortamında Na^+ ve OCl^- (hipoklorit) şeklinde iyonlarına ayrışarak hipoklorik asitle (HOCl) dinamik denge reaksiyonu içerisine girer (McDonnell ve Russell 2001):



Proteinlerin yapıtaşları olan amino asitler, HOCl ve OCl^- iyonlarıyla hidrolize uğrar. Protein yapısında bulunan H^+ kısmına tutunan Cl^- iyonu, protein yapının kloramin bileşiğine dönmesine neden olur. Bakterileri enzimlerinin sahip oldukları sülfidril grupları, yüksek düzeyde antioksidan olan klorinin etkisiyle, geri dönüşümü olmayan bir yükseltgenme reaksiyonu içerisine girerek hasar alır (Estrela ve ark 2002). NaOCl'nin sahip olduğu yüksek pH dolayısı ile hücre sitoplazmik membranında geri dönüşü olmayan enzimatik hasar oluşturduğu bilinmektedir (Haapasalo ve ark 2010).

Etkili Konsantrasyonları

Endodontide irrigasyon solüsyonu olarak %0.5-6 aralığındaki konsantrasyonlarda kullanılan NaOCl'nin, konsantrasyonunun artmasıyla birlikte aktif klor içeriğindeki artış dolayısıyla etkisi de artmakla birlikte; toksisitesinin de doğru orantılı olarak arttığının bilinmesi NaOCl'nin hangi derişimde kullanılması ile ilgili görüş ayrılıklarının oluşmasına neden olmuştur (Frais ve ark 2001).

Zehnder (2006) ile Christensen ve ark (2008) tarafından antibakteriyel etkinlik için NaOCl'nin %1'lik konsantrasyonunun yeterli olduğu belirtilmektedir (Zehnder 2006, Christensen ve ark 2008). Gomes ve ark. (2001) tarafından yapılan

bir çalışmada %0.5'lik NaOCl'nin 30 dk'da, %5.25'lik NaOCl'nin ise 30 sn'de *E. faecalis*'i tamamen ortadan kaldırdığı belirtilmiştir (Gomes ve ark 2001). Bir başka çalışmada ise %0.5 NaOCl ve %5 NaOCl'nin antibakteriyel etkileri arasında belirgin bir fark bulunmadığı beyan edilmiştir (Byström ve Sunqvist 1985). Aynı şekilde Siqueira ve ark (2000) tarafından yapılan bir çalışmada da; kanal içi mikroorganizmaların yok edilmesinde %1'lik NaOCl'nin %5'lik NaOCl kadar etkili olduğu gösterilmiştir (Siqueira Jr ve ark 2000).

%0.5, %2.5, %5.25 konsantrasyonlarındaki NaOCl solüsyonlarının, kök kanal sisteminde çok sık rastlanan *Streptococcus mutans*, *Peptostreptococcus micros*, *Prevotella intermedia* ve *Porphyromonas gingivalis*'e karşı etkinliklerinin araştırıldığı bir çalışmada, %5.25 konsantrasyonundaki solüsyonun en kuvvetli etkiyi gösterdiği bildirilirken, %0.5 konsantrasyondaki solüsyonun daha az etkili olduğu belirtilmiş ve ayrıca %0.5 NaOCl'nin *C. albicans*'ı 30 dk'da ortadan kaldırmasına rağmen, %5.25 NaOCl'nin tüm mantar hücrelerini 15 sn'de elimine ettiği tespit edilmiştir (Yesilsoy ve ark 1995). Yine yapılan benzer bir çalışmada %0.5, %2.5, %5 NaOCl konsantrasyonlarının *E. faecalis*'i sırasıyla; 30 dk, 10 dk, 30 sn'de elimine ettikleri belirlenmiştir (Gomes ve ark 2001). Berber ve ark (2006) da %0.25, %2.5 ve %5.25'lik NaOCl'nin *E. faecalis*'e karşı etkinliklerini değerlendirdikleri çalışmada en etkili solüsyonun %5.25'lik konsantrasyona sahip NaOCl olduğunu bildirmişlerdir (Berber ve ark 2006).

NaOCl'nin, %0.5 ve %5.25 derişimleri birbiri ile kıyaslandığında antimikrobiyal yönden anlamlı bir fark olmamasına rağmen, doku çözme yeteneği derişimi yüksek olan lehine artmaktadır (Kandaswamy ve Venkateshbabu 2010).

Antimikrobiyal Etkisi

NaOCl'nin geniş bir antibakteriyel spektruma sahip olması, sporlara ve virüslere karşı öldürücü etkili olması ve organik doku çözme kabiliyetine sahip olması onun endodonti pratiği açısından 1920'li yıllardan günümüze kadar popüler bir irrigasyon solüsyonu olmasına neden olmuştur (Zehnder 2006).

Genel itibari ile çoğu antibakteriyel ajan organik yapı ve vücut sıvıları gibi ortamlarda etkinliklerini belirgin bir şekilde kaybederken; NaOCl'nin kan, serum ve albümin benzeri organik yapılar varlığında dahi etkinliğini devam ettirebildiği ve bakteri sporlarına, HIV ve hepatit hastalıklarına sebep veren virüslere karşı da etkili

olduğu bildirilmiştir (Hand ve ark 1978). NaOCl, inatçı ve sekonder enfeksiyonlara sahip kök kanal tedavili dişlerde yüksek düzeyde izole edilebilen *C. albicans*'a da antifungal etkilidir (Ferguson ve ark 2002).

NaOCl, organik dokularla temas sonucu aktif olan serbest klorin değerini zamanla kaybettiği için antimikrobiyal gücü de zamanla azalır. Bu durum, konsantrasyonun düşük olduğu NaOCl solüsyonlarında daha hızlı serbest klorin kaybına sebep olduğu için; NaOCl'nin yüksek konsantrasyonlarda kullanılmasının veya düşük konsantrasyonlarda kullanılacaksa da daha sık değiştirilmesi ve bolca kullanılmasıyla daha etkili olabildiği bildirilmiştir (Byström ve Sunqvist 1985, Hauman ve Love 2003, Alaçam ve Sungüvüt 2023). Albüminin, NaOCl ile karşılaşması durumunda protein yapısının bozulmaya başladığı ve hipokloritte de azalma meydana geldiği görülmüştür. Albümin varlığının hipokloröz asitin alpha1-antiproteinazı deaktive edici etkisini düşürdüğü de belirtilmiştir (Wasil ve ark 1987, Yan ve ark 1996).

Yapılan bazı laboratuvar çalışmaları, yüksek konsantrasyon değerlerine sahip NaOCl'nin *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı daha etkili olduğunu ortaya koymuştur (Gomes ve ark 2001, Kaur ve ark 2021).

Mikroorganizmalara karşı tam olarak nasıl etkinlik gösterdiği net olarak bilinmemekle birlikte NaOCl'nin organik doku çözme ve antimikrobiyal etkinliklerine sahip olabilecek özellikleri şu şekilde açıklanmıştır:

- Hücrelerin yapılarında bulunan proteinlere karşı oksidasyon ve hidroliz etme kabiliyeti
- Girdiği reaksiyonla hipoklorik asit meydana getirerek Cl^- salması
- Osmotik basınç oluşturma etkisi ile hücrelerin sıvı kaybetmesine neden olması (Johnson ve Remeikis 1993).

pH'ının 12 dolaylarında olması sayesinde güçlü bazik karakter gösteren NaOCl, stoplazma zarının sahip olduğu fosfolipit yapıyı irriversibl bir reaksiyonla parçalayarak hücre bütünlüğünü bozmaktadır. Hipokloröz asit ve hipoklorit iyonu sayesinde proteinlerin yapı taşı olan amino asitlerin hidrolize uğrayarak parçalanmasına neden olan NaOCl; *E. faecalis*, *C. albicans*, *A. israeli* gibi inatçı patojenlere karşı bu yolla güçlü antimikrobiyal etki sergilemektedir (Zehnder 2006).

Smear Tabaka ve Biyofilm Üzerine Etkisi

Dentin dokusunun, mekanik preparasyon sağlayan frezler ve kanal aletleri ile teması sonucu oluşan, bakteri yan ürünlerini de içerebilen organik ve inorganik yapılardan oluşan, 2-5µm kalınlığa sahip ve dentin tübül içerisinde de belirli seviyelere kadar uzanabilen iatrojenik yapı *smear tabakası* olarak adlandırılmıştır (Violich ve Chandler 2010). Smear tabakasının tek başına NaOCl ile ortadan kaldırılamayacağı, bununla beraber efektif bir uzaklaştırma sağlamak için şelasyon sağlayan ajanların kullanımına gereksinim olduğu bilinmektedir (Yamada ve ark 1983, Liolios ve ark 1997). Yapılan bazı çalışmalarla smear yapısını uzaklaştırmanın en etkili yolunun, NaOCl ve EDTA solüsyonlarının birlikte kullanımı ile olduğu ortaya çıkarılmıştır (Goldman ve ark 1981, Goldman ve ark 1982, Yamada ve ark 1983, Baumgartner ve Mader 1987). NaOCl'nin organik doku çözücü etkisi smear yapısı varlığında kısıtlanır. Öncelikle inorganik yapıyı çözmek için şelasyon ajanı kullanıldığında, NaOCl açığa çıkmış mevcut kollajen fibillerine etkiyerek çabuk bir şekilde dentinin yüzey kısmında kollajen harabiyetine neden olur (Grigoratos ve ark 2001).

NaOCl, kollojeni çözerek dentinde dejenerasyon sağlar. NaOCl'nin irrigasyonu esnasında meydana gelen oksijen zonunun; rezinlerin polimerize olmasını ve kenar uyumunu negatif şekilde etkilediği bildirilmiştir (Frankenberger ve ark 2000).

Şen ve ark (1999) tarafından yapılan bir çalışmada %1 NaOCl, %5 NaOCl ve %0.12 CHX'in dentinde smear tabakası varlığında 1, 5 ve 30. dk'larda *C. albicans*'a karşı antifungal etkinliklerinin olmadığı belirlenmiştir. Aynı çalışmada ayrıca; incelenen 10 numunenin 3'ünde yalnızca %5 NaOCl'nin 30. dk'da etkisinin başladığı, diğer numunelerin hepsinde etkisinin 60. dk'da ortaya çıktığı, smear tabakası varlığında *C. albicans*'ın solüsyona karşı daha dirençli olduğu bildirilmiştir (Şen ve ark 1999).

NaOCl'nin, kuvvetli proteolitik etkisi sayesinde organik yapıyı en etkin şekilde çözen, ilave olarak konsantrasyonunun artmasıyla bunu daha da kolay gerçekleştiren bir irrigasyon solüsyonu olduğu bildirilmiştir (Clarkson ve ark 2006). Hand ve ark (1978), NaOCl solüsyonunun seyreltilmesinin doku çözme gücü üzerindeki etkilerini incelemişler, %2.5'lik NaOCl solüsyonunun, %5.25'lik

NaOCl'nin yaklaşık üçte biri kadar etkili olduğunu, %1 ve % 0.5'lik NaOCl solüsyonlarının ise nekrotik dokuya etki yapmadığını belirtmişlerdir (Hand ve ark 1978). Moorer ve Wesselink (2003) ise, organik doku çözme özelliğinin organik dokunun miktarı, irrigasyon sıklığı ve dokunun yüzey alanı gibi üç faktöre bağlı olduğunu rapor etmişlerdir (Moorer ve Wesselink 2003).

NaOCl'nin Etkinliğinin Arttırılması

Solüsyonun konsantrasyonu, hacimce kullanılan miktarı, dezenfeksiyonu istenen doku ile temas etme zamanı, uygulanan sıcaklığı ve irrigasyonun aktivasyonu NaOCl'in etkinliğini değiştirmektedir (Stojicic ve ark 2010).

NaOCl endodontide %0.5 ile %6 arasında değişen konsantrasyonlarda kullanılmakta olan bir solüsyondur. NaOCl'nin antibakteriyel özellikleri, doku çözme kapasiteleri ve kostik potansiyelleri, konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Daha düşük pH ve yüksek konsantrasyonlarda etkinliği artmaktadır (Camps ve ark 2009, Rossi-Fedele ve ark 2012, Mampilly ve ark 2020)

NaOCl suda iyonize olarak sodyum (Na^+) ve hipoklorit (OCl^-) iyonlarını açığa çıkarır. Anyon olan hipoklorit (OCl^-) de hipokloröz asitle (HClO) denge reaksiyonu içerisinde. Ortamın pH'sının nötr ya da asidik olduğu durumlarda (pH =4-7) serbest klor hipokloröz asit şeklinde bulunurken, ortamın pH'sının yükselmesiyle (pH=9 ve üzeri) serbest klor hipoklorit şeklinde bulunur (Ascenzi 1995). Diş hekimliğinde sıklıkla kullanılan saf NaOCl'nin pH'ı 12 civarındadır ve içeriğinde bulunan serbest klor ClO^- formundadır. Her ikisinin de güçlü ajanlar olduğu bilinmekle birlikte; hipokloröz asidin (HOCl), hipoklorit (OCl^-) iyonundan yaklaşık 80-100 kat daha güçlü bir antimikrobiyal etkiye sahip olduğu öne sürülmüştür (Rossi-Fedele ve ark 2011). Tüm bu bilgilerin ışığında düşük pH değerlerinde daha etkili olduğu düşünülerek, NaOCl'nin etkinliği %1 bikarbonat ilave edilip pH'ı düşürülmek suretiyle arttırılabilir (Zehnder ve ark 2002). Ancak NaOCl'ye bikarbonat ilavesinin raf ömrünü kısalttığı ve etkinliğini de istenildiği kadar arttıramadığını bildiren araştırmacılar da vardır (Costigan 1936). %4.2 NaOCl solüsyonunun pH=12, 7.5 ve 6.5' taki (asetik asit eklenerek) antimikrobiyal etkinliği ve irrigasyonun ardından bakteri üremesi (varlığı veya yokluğu) enfekte *ex-vivo* kök kanallarında test edilmiş ve çalışma sonucunda pH=6.5 solüsyonunun dezenfeksiyon

kapasitesinin pH=12 solüsyonuna göre önemli derecede yüksek olduğu bildirilmiştir (Mercade ve ark 2009).

Dezenfeksiyon için; kullanılan solüsyon hacmi konsantrasyonundan daha önemli olup, fazla miktarda irrigan kullanımının düşük konsantrasyonun olumsuz etkilerini telafi ettiği belirtilmektedir (Siqueira Jr ve ark 2007). Taze NaOCl ile sık değişim de oldukça önemlidir. NaOCl'nin çözünme ve antimikrobiyal kapasitesinden sorumlu olan klor iyonu kararsızdır ve doku çözünmesinin ilk aşamasında 2 dk içinde hızla tüketilir, bu da sürekli yenileme için neden oluşturur. NaOCl bileşenlerinin çok hızlı inaktive olduğu unutulmamalı ve irrigasyon işlemi esnasında kök kanal sistemine sürekli taze irrigasyon solüsyonu eklenmelidir.

NaOCl'nin mikroorganizmaları öldürmek için ne kadar zamana ihtiyacı olduğu sorusuna bazı makaleler; %0.5 NaOCl'nin mikroorganizmaları 30 dk içinde, yüksek konsantrasyonlardaki NaOCl'nin ise 30 sn gibi oldukça kısa sürelerde yok ettiğini göstererek yanıt vermişlerdir (Vianna ve ark 2004, Mampilly ve ark 2020, Briseño-Marroquín ve ark 2022)

Solüsyonun ısısının yükseltilmesi, kollajen çözme etkinliğini ve antimikrobiyal özelliğini belirgin olarak arttırmaktadır. Cunningham ve Joseph (1980) tarafından yapılan bir çalışmada, %5.25'lik ve %2.6'lık NaOCl'nin 37°C'de aynı etkinlikte oldukları, 21°C'de (oda ısısında) ise, %5.25'lik NaOCl'nin daha etkin olduğu bildirilmiştir (Cunningham ve Joseph 1980). Isının yükseltilmesi, solüsyonun bakterisit etkisini arttırmaktadır. NaOCl'nin sıcaklığının arttırılması nekrotik dokuda bulunan *E. faecalis* karşısında daha etkili olmasını sağlamıştır (Sirtes ve ark 2005). Bunun yanında, 37°C'ye kadar ısıtılan solüsyon ancak dört saat boyunca özelliklerini yitirmeden stabil kalabilmektedir. Doku çözme kabiliyeti olarak incelendiğinde, 45°C'de %1 NaOCl solüsyonunun, 20°C'de %5.25 NaOCl solüsyonuyla aynı etkiyi gösterdiği belirlenmiştir. Sıcaklığı arttırılan düşük konsantrasyonlu NaOCl solüsyonunun organizmaya toksik etkisi, sıcaklığı arttırılmamış aynı solüsyona göre daha düşüktür (Sirtes ve ark 2005).

Düşük konsantrasyonlardaki NaOCl ultrasonik cihazlarla aktive edilerek kullanılmış ve etkisi yüksek konsantrasyonda aktivasyonsuz kullanım ile benzer bulunmuştur. Ultrasonik veya sonik sistemler NaOCl'nin etkisine olumlu katkıda bulunarak düşük konsantrasyonlarda kullanılmasına imkan tanımış, sonuç itibarıyla

de daha az toksisite göstermesine olumlu katkıda bulunulmuştur (Sjögren ve Sundqvist 1987, Wang ve ark 2015, Ahangari ve ark 2021).

NaOCl'nin dezavantajları

NaOCl, solunduğu veya cilde temas ettiği durumlarda, hasta ve hekim için toksik olabilen, kıyafetlerde leke bırakabilen, kök kanal apeksinden taşması durumunda hücrelerde nekroza neden olan, rengi anestezi solüsyonla karışabildiği için yanlışlıkla enjeksiyonu alerji meydana getirebilen bir solüsyondur (Sirtes ve ark 2005). Martin ve ark. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada; NaOCl'nin yüksek konsantrasyonda kullanılmasının apikal papilla kök hücrelerinin hayatta kalma oranını düşürdüğü, %1.5 NaOCl ve ardından %17 EDTA uygulanmasıyla bu durumun önüne geçilebileceği beyan edilmiştir.

NaOCl ve CHX solüsyonlarının karışması sonucu kimyasal geri dönüşümsüz bir reaksiyonla; kırmızı-kahve renkli, vücut dokuları için toksik, methemoglobine ve siyanoza sebebiyet veren bir tuz çökeltisi olan para-kloranilin (PCA) oluşmaktadır. Oluşan bu çökelti; dentin içerisinde mevcut tübül yapısını tıkamakla beraber, dişte renk değişimine de sebebiyet vermektedir (Rossi-Fedele ve ark 2012). Bir araştırmada, CHX solüsyonu ısısının 37°C'den daha yüksek sıcaklığa yükseltilmesi ile kahverengi çökeltinin artmaya başlayacağı ve beraberinde toksik etkisinin de artacağı bildirilmiştir (Mampilly ve ark 2020). CHX ve NaOCl karıştırıldığında oluşan çökeltide ve ayrıca farklı sıcaklıklardaki (37°C ve 45°C) %2.0 CHX'de aromatik amin (PCA gibi) varlığını tespit etmek için diazotizasyon adı verilen bir yöntem kullanılmış ve 45°C'ye ısıtılan CHX diazotize edildiğinde PCA veya başka bir aromatik amin varlığını gösteren sarı bir son ürün oluşmuştur (Basrani ve ark 2009). Mampilly ve ark (2020) da CHX'nin ısıya maruz kaldığında PCA oluşturmak üzere parçalanabileceğini ve sıcaklığının yükseltilmesinin önerilmeyeceğini bildirmişlerdir.

Pişkin ve Türkün (1995) tarafından yapılan bir çalışmada; %0.5 NaOCl'nin oda sıcaklığında bulunmasının, içeriğinden %34 oranında klor kaybetmesine sebep olduğu, buzdolabı gibi saklama koşullarıyla ideale yaklaştırıldığı durumda ise 200 gün boyunca aktif klor yapısını tamamen muhafaza ettiği rapor edilmiştir.

Ayrıca %5.25'lik NaOCl serum fizyolojiğe kıyasla, insanın dentin dokusunun elastik modülüsünün ve esneme gücünün azalmasına sebep olmaktadır. %0.5'lik solüsyonun böyle bir etkisi yoktur (Sim ve ark 2001).

1.2.2. Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (EDTA)

EDTA, tarihte ilk defa, Ferdinand Munz tarafından etilendiamin ve klorasetat'ın kimyasal işleminden geçirilmesi ile oluşturulmuştur. EDTA; smear tabakasında inorganik yapıyı şelasyon etkisi ile elimine edebilen, herhangi bir renge sahip olmayan, suda çözünebilen bir likit olarak irrigasyon solüsyonu amacıyla tavsiye edilmiştir (Basrani 2015). Güncel olarak etilen diamin, formaldehit, sodyum siyanürden oluşturulabilen EDTA, endodontide uygulanmaya 1957 senesinde %15'lik konsantrasyonda Nygaard-Ostby tarafından sunulmuştur (Hülsmann ve ark 2003). Formülü $C_{10}H_{16}N_2O_8$ şeklinde ifade edilen EDTA, sahip olduğu disodyum tuzuyla çok etkili bir şelasyon sağlamakla beraber, lübrikasyon etkisi gösterebilen, kök kanal sisteminde mekanik şekillendirmeye yardımcı, smear tabakasını ortadan kaldıracı, kanalın dezenfeksiyon ve temizlenmesine katkıda bulunan bir ajandır (Alaçam 2012).

EDTA kullanımı, önceleri dar kanalları rahat bir şekilde genişletme amacı taşıırken, dentinde uygulanan mekanik prosedürler sonucu smear tabakasının oluştuğunun keşfedilmesiyle, bu yapıyı ortadan kaldırmada aktif olarak kullanılmaya başlanmıştır (Weine 1982). Genel olarak %10 ve %17 konsantrasyon aralığında kullanımı rapor edilen EDTA'nın sıklıkla uygulanan konsantrasyonu %17 olarak bildirilmiştir. Serper ve Çalt (2002) pH=5-6 aralığında demineralize etkisinin en yüksek seviyelerde olduğunu bildirdikleri EDTA'nın etkinliğinin farklı pH'larda değişebileceğini rapor etmişlerdir.

%17'lik EDTA solüsyonu elde etmek için; 17 g disodyum tuzuyla beraber, 5 mol sodyum hidroksit'in 100 ml distile su içerisinde karıştırılması gerekir (Serper ve Çalt 2002). EDTA diş hekimliğinde sıvı ve krem şeklinde kullanılmaktadır. Krem kıvamında bulunan formunun; aletlerin mekanik enstrümantasyonu sonucunda oluşan smear tabakasını kaldırmada daha az etkili olduğu ve Ni-Ti döner enstrümanlarla yapılan preaparasyon sırasında meydana gelebilecek stresleri de solüsyon formuna göre daha zor ortadan kaldırdığı bildirilmiştir (Serper ve Çalt 2002).

Genel özellikleri

EDTA'nın demineralize edici mekanizması, her bir iyonunun yalnızca bir kalsiyum iyonu ile eşleşmesinden dolayı sınırlıdır. İstenen etkinin ancak yeteri kadar aktif solüsyonun dentin yüzeyi ile teması ile elde edebileceği bildirilmiştir (Alaçam 2012). EDTA solüsyonunun etkinliğinde; ajanın dentin yüzeyi ile temas etme süresi, pH'ı, derişimi, kök kanal sisteminin uzunluğu, dentinin sertlik derecesi önem teşkil eder (Cury ve ark 1981, Şen ve ark 1995). Sıralanan faktörler arasında en önemli pay, ajanın sahip olduğu pH değeridir (O'Connell ve ark 2000). En güçlü etkimenin nötr ve alkalik pH seviyelerinde elde edildiği bir çok araştırmacı tarafından deklare edilmiştir (Cury ve ark 1981, O'Connell ve ark 2000, Serper ve Çalt 2002, Yılmaz ve ark 2011). EDTA ile yıkamanın yavaş yapıp sürenin fazla tutulduğu durumlarda daha etkili sonuçlar alınabilmektedir. Solüsyon yeteri sürelerde tatbik edildiğinde, 50 µm derinliğe kadar dentini dekalsifikasyona uğratabileceği ve insan saç inceliğindeki kanalı açma yeteneğine sahip olduğu belirtilmiştir (Goldberg ve Spielberg 1982).

Endodontik tedavi esnasında kullanılan EDTA gibi şelasyon sağlayan solüsyonlar, kök dentinindeki +2 değerlikli Ca^{+2} ve Mg^{+2} elementleriyle şelasyon meydana getirerek bu yapılardan inorganik iyonları dekalsifiye eder (Doğan ve Çalt 2001). Bu esnada ortamda proton iyonu artışıyla, pH azalır ve EDTA böylece kendi etkinliğini sınırlamış olur. Bu sebep EDTA'nın, dentin yapısı içerisinde ancak 50 µm derinliğe kadar sınırlı etki gösterdiğini göstermiştir (Hülsmann ve ark 2003). Normal koşullar altında, 5 dk kullanım sonucunda EDTA, dentin dokusunda 20-30 µm kalınlığa kadar dekalsifikasyon etkisi sağlayabilmektedir (Scelza ve ark 2004). Yapılan bu çalışmalar neticesinde, pH arttıkça şelasyon etkisinin arttığı (Dwyer 2012), dentin yapısındaki hidroksilapatit kristallerinin çözünürlüğünün düştüğü (Theuns ve ark 1985) ve küçük boşluklara kadar penentre olma kabiliyetinin arttığı ortaya çıkarılmıştır (Ravnik ve ark 1962).

Olumsuz özellikleri

CHX ile EDTA'nın karıştırılması ile beyaz bir tuz çözeltisi oluşur (Rasimick ve ark 2008). EDTA ve NaOCl solüsyonlarının beraber kullanımında, EDTA etkinliğinde herhangi olumsuz bir değişim gözlenmezken, NaOCl'nin ortama EDTA ilave edilmesiyle klor derişiminde azalma meydana geldiği; bu yüzden iki ajanın ayrı olarak kullanılması gerektiği görüşü benimsenmiştir. Bu

olumsuz özelliklerine rağmen; tek başına %8.5 EDTA ile %17 EDTA + %1 NaOCI kombinasyonu kıyaslandığında *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal etkileri benzer bulunmuştur (Grawehr ve ark 2003).

Antimikrobiyal Etkisi

Belirli seviyeye kadar antimikrobiyal özellik gösterebilen EDTA'nın konsantrasyon ve pH değeri bunda belirleyici rol oynar. Antimikrobiyal etkinliği düşük olmasına rağmen kanal içerisine uygulandığında, mikroorganizmalara karşı salin solüsyonundan daha etkili bulunmuş ve bunun nedeni EDTA'nın biyofilm yapıyı yok etmesi olarak açıklanmıştır (Yoshida ve ark 1995). Hemodiyalize giren böbrek hastalarında yapılan bir araştırmada, katater yüzeyinde meydana gelen biyofilm yapının EDTA tarafından 24 saat içerisinde tam anlamıyla yok edildiği bulunmuştur (Kite ve ark 2004). EDTA'nın sınırlı olan antimikrobiyal etkisini mikroorganizma dış zarındaki katyon yapılarla şelasyon oluşturarak, hücrelerin stabilizasyonunu bozmak ve lipopolisakkaritlerin meydana çıkmasını sağlamak suretiyle oluşturduğu düşünülmektedir (Mampilly ve ark 2020). *C.albicans* üzerine antifungal etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada EDTA'nın CHX, hekzetidin, benzalkonyum klorür, povidon-iyot ve nistatine göre çok daha başarılı olduğu bildirilmiş ve çalışma neticesinde oral kandidoz görülme sıklığı fazla olabilecek hastalar için kök kanal yıkama işleminde EDTA kullanımı önerilmiştir (Sen ve ark 2000).

1.2.3. Klorheksidin Diglukonat (CHX)

Bilim insanları 1940'lı yıllarda antimalaryal etkili bir ajan üretmek amacıyla yaptıkları çalışmalar sonucunda sentetik özellikli kimyasal bir ajan olan CHX'i elde etmişlerdir. Diş hekimliği pratiğinde CHX diglukonat şeklinde uygulanan CHX; uzun yıllar işlem yapılacak bölgenin ağız dışı dezenfeksiyonunda ve klinisyenin el dezenfeksiyonunda kullanılmıştır (Fardai ve Turnbull 1986, Schäfer ve Bossmann 2001). Tıp tarihinde 1953 senesinden itibaren kullanıma sunulan CHX, merkez heksametilen zincir yönünde simetrik 4-klorofenil zincirine 2 adet biguanid grubun bağ yapması ile meydana gelir. Konsantrasyonunun düşük olduğu durumlarda bakteristatik, yüksek olduğu durumlarda bakterisit etki gösteren CHX; bakterilerin hücre çeperini dejenerasyona uğratarak, interselüler yapıların dış ortama göçüyle etkisini gösterir (Greenstein ve ark 1986, Ferguson ve ark 2003, Çalışkan 2006).

CHX oral dokularda plak kontrolü için kullanılabilen, kimyasal etkisi yüksek bir antiseptik solüsyondur. Kök kanal boşluğunun yıkanması için %2'lik CHX kullanılırken, ağız gargarası olarak genellikle %0.1-0.2 aralığında kullanımı tercih edilmektedir. Gerçek bir antimikrobiyal etkinin söz konusu olabilmesi için pH=5.5-7 arasında olması önemlidir (Siqueira Jr ve ark 2007).

Antmikrobiyal Etkisi

CHX kanal tedavisi alanında yıkama ajanı ve intrakanal medikaman olarak yer bulmuştur (Malkhassian ve ark 2009, Mohammadi ve Abbott 2009). Yüksek konsantrasyonlarda kullanımı daha avantajlı sonuçlara sahip olan CHX; düşük derişimde kalıcı zarar vermeden, hücre içi ortamdan potasyum ve fosfor gibi düşük kütleyle sahip iyonların dışarı çıkışını sağlayarak bakteristatik, konsantrasyonun artırılmasıyla beraber hücre zarına geri dönüşümsüz hasarlar vermek suretiyle de bakterisit etkiler meydana getirir (Basrani 2005). Katyonik bisguanid yapısında olan, 5.5-7 aralığında pH'a sahip CHX; bakteri hücre duvarı Gram boyası ile boyanabilen ya da boyanamayan aerop ve anaerop bakterilere, bakterilerin spor yapılarına, lipofilik virüslere, dermatofit ve fungilere karşı etkinliğe sahiptir (Jeansonne ve White 1994, White ve ark 1997). Her ne kadar bakterileri elimine etme kabiliyetine sahip olsa da, organik yapıları çözmede ve biofilmin kaldırılmasında etkin değildir (Bui ve ark 2008). CHX solüsyonunun klinisyenler tarafından çokça tercih edilmesinin bir diğer sebebi, dokulara tutunarak antimikrobiyal etkisini uzun süreler korumasıdır (Zamany ve ark 2003). Bir çalışmada %2'lik CHX'nin, antimikrobiyal etkisinin 48 saat kadar sürdüğü bildirilirken (Leonardo ve ark 1999), bir başka çalışmada %2 CHX'in antimikrobiyal etkisini 3 gün ile 12 haftaya kadar koruduğu bildirilmiştir (Zamany ve ark 2003). CHX'le temas süresinin antimikrobiyal aktivitesine etkisi üzerine yapılan bir araştırmada; antibakteriyel aktivitenin CHX'in uygulandığı yüzey ile teması 5 dk kadar sürdüğünde 4 haftaya kadar, 10 dk sürdüğünde ise 12 haftaya kadar devam ettiği belirtilmiştir (Khademi ve ark 2006).

CHX ve NaOCl'nin %0.2 ve %2'lik derişimlerinin enfekte edilmiş dentin kanallarında 100 µm kalınlıkta bakteri eliminasyonunda sayısal olarak aynı sonuçları meydana çıkardıkları bildirilmiştir (Vahdaty ve ark 1993). Endodontik tedavi prosedürleri için sıklıkla %2'lik CHX tavsiye edilmektedir (Siqueira Jr ve

ark 1998, Ferraz ve ark 2001, Gomes ve ark 2001, Zamany ve ark 2003, Sena ve ark 2006, Athanassiadis ve ark 2007). Bir çalışmada *E. faecalis*'e etkisi değerlendirilmek üzere sırasıyla %0.2, %1, %2 oranlarında kullanılan CHX'in tüm oranlarda etkili olduğu bildirilmiştir (Gomes ve ark 2001). *E. faecalis*'e karşı, CHX ve NaOCl solüsyonlarının farklı konsantrasyonlarının antibakteriyel etkinliklerinin incelendiği pekçok çalışma yapılmış olup, bu çalışmalarda; %2'lik CHX'in %5.25'lik NaOCl solüsyonundan daha etkili olduğu (Önçağ ve ark 2003), %2'lik CHX ve %5.25'lik NaOCl'nin aynı etkiye sahip olduğu (Jeansonne ve White 1994, Ercan ve ark 2004), %2 CHX ve %2 NaOCl'nin aynı etkiye sahip olduğu (Vahdaty ve ark 1993) gibi farklı sonuçlar bildirilmiştir. NaOCl ve CHX solüsyonlarının mantarlara karşı antimikrobiyal etkinliklerinin incelendiği bir çalışmada; smear yapısına sahip enfekte dentin yüzeylerinde NaOCl ve CHX'in antifungusit etkilerinin eşit olduğu, smear yapısının uzaklaştırıldığı dentin yüzeylerinde NaOCl'nin antifungal etkisi artmasına rağmen CHX'de herhangi bir artış olmadığı görülmüştür (Şen ve ark 1999).

Literatürde antimikrobiyal etki açısından, NaOCl'nin CHX'e karşı daha üstün olduğunu gösteren birçok çalışma da mevcuttur (Ringel ve ark 1982, Vianna ve ark 2006).

CHX'in dokulara toksik etkisinin NaOCl'den daha düşük seviyelerde olduğu çeşitli çalışmalarda ispanlanmıştır (Tatnall ve ark 1990, Johnson ve Remeikis 1993, Önçağ ve ark 2003).

Apeksi kapanmamış dişlerde, NaOCl'ye karşı istenmeyen etkiler sergileyebilen alerjik kimselerde CHX kullanılmalıdır (Kaufman ve Keila 1989, Hauman ve Love 2003). CHX'in önemli eksiklerinden birisi nekrotik yapıları çözücü etkisinin bulunmamasıdır (Marley ve ark 2001, Ercan ve ark 2004).

CHX'in diğer antimikrobiyal ajanlara karşı farkını ortaya koyduğu diğer önemli özelliği; diş yüzeyini örten pelikül tabakaya, tükürüğün sahip olduğu proteinlere, minenin hidroksilapatit kristallerine ve mukozaya tutunma yeteneğine sahip olmasıdır (Basrani ve ark 2002). Matris metallaproteinaz enzimini inhibe edici özelliğe sahip olan CHX, bu sayede dentine tutunur ve tübüllerin derinliklerine kadar rezinlerin infiltre olmasına ön ayak olarak, bağlanma kabiliyetine pozitif etkide bulunur (Gendron ve ark 1999).

Alternatif Endodontik İrrigasyon Solüsyonları

1.2.4. Oktenidin Dihidroklorit (OCT)

Bisprimidin analogu antimikrobiyal etkili bir ajan olan octenidin dihidroklorit (OCT); Sterling-Winthrop Araştırma Entstitüsünce oluşturulmuştur (Bailey ve ark 1984). Geniş spektrumlu antibakteriyel etkinliğe sahip olmasının yanısıra, hastalık yapabilen mantar ve maya sporlarına karşı da etkili bir ajandır. Antifungal ve antibakteriyel etkilerini CHX'e benzer şekilde, bakterilerde eksi yüklü hücre çeperinin bütünselliğini tahrip edip canlılıklarını sürdürme kabiliyetlerini etkileyerek, mantarlarda ise germ-tüp oluşumunu engelleyerek ve adhezyonunu bozarak gerçekleştirir (Sobel ve ark 1981, Slee ve O'Connor 1983, Sedlock ve Bailey 1985, Ghannoum ve ark 1990, Tietz ve ark 2005). Uygulanmasının ardından etkinliğinin uzun süre devam ettiği bildirilmiştir (Harke 1989, Pitten ve Kramer 1999). OCT'nin, uzun süreli bakteriyel adhezyon önleyici aktivitesinin CHX'den daha etkili olduğu gösterilmiş ve CHX ve hatta NaOCl'nin antimikrobiyal performansından daha iyi olduğu ileri sürülmüştür (Goel ve ark 2018). Yapılan fiziko kimyasal tetkiklerde; pH'ının 1.6-12.2 aralığında olmasının solüsyonu bozmadığı, gün ışığından etkilenmediği, 130°C'de yapı bütünlüğünü ve etkisini koruduğu ortaya çıkmıştır (Tirali ve ark 2006). Tirali ve ark. (2006)'nın OCT, NaOCl ve CHX solüsyonlarının *E. faecalis*, *C. albicans* ve bu iki mikroorganizmanın karıştırılması ile oluşturulan suşlara karşı etkinliklerini *in-vivo* agar difüzyon testi yaparak kıyasladıkları bir çalışmada; OCT'nin bütün derişimlerde diğer solüsyonlardan daha etkili olduğu belirtilmiştir. *E. faecalis*, *C. albicans* ve *S.aureus*'a karşı antimikrobiyal etkinliklerini ortaya çıkarılmak amacıyla *in-vitro* olarak yapılan bir başka çalışmada, OCT ve NaOCl solüsyonlarının farklı süre ve konsantrasyonlarda oluşturdukları etkiler incelenmiş ve tüm zaman ve konsantrasyonlarda OCT'nin NaOCl'den çok daha başarılı olduğu bulunmuştur (Tirali ve ark 2007). Coaguila-Llerena ve ark (2019) da konsantrasyonuna bağlı olarak OCT'nin, NaOCl'den daha etkili olduğunu ve nispeten daha az toksik olduğunu bildirmişlerdir.

Varghese ve Kurian tarafından 2020 yılında yapılan bir çalışmada, *E. faecalis*'e karşı antimikrobiyal etkinlik açısından kanal içi medikaman olarak OCT ve Ca(OH)₂ hem bağımsız olarak hem de ilaç aracılı taşıyıcı olarak kitosan (CTS) ile birlikte değerlendirilmiştir. Medikamanları 2 dk, 5 dk, 20 dk ve 60 dk'lık temas süreleriyle değerlendiren bu çalışma sonucuna göre; dört farklı ilaç grubunun

tümünün *E. faecalis*'e karşı 60 dk'lık zaman aralığında maksimum antimikrobiyal etkinlik gösterebildiği, tek başına kullanıldıklarında ise OCT ve Ca(OH)_2 'nin antimikrobiyal etkinliklerinin oldukça yüksek olduğu ancak Ca(OH)_2 'nin *E. faecalis*'e karşı antimikrobiyal etkinliğinin zamanla azaldığı tespit edilmiş ve ayrıca OCT'nin tüm zaman aralıklarında *E. faecalis* büyümesini inhibe ettiği belirtilmiştir.

Bununla birlikte bazı araştırmacılar da OCT'nin tek başına bir irrigant olma potansiyelinin zayıf doku çözücü özellikleri nedeniyle sınırlı olduğunu rapor etmişlerdir (Bhavsar ve ark 2022, Chundi ve ark 2022).

1.2.5. Perasetik Asit (PAA)

Perasetik asit (PAA); düşük konsantrasyonlarda bile bakteri, virüs, mantar ve sporlara karşı geniş antimikrobiyal spektruma sahip güçlü bir dezenfektandır. PAA, hastanelerde ve gıda endüstrisinde kullanılır (Sağsen ve ark 2012). Gastrointestinal endoskopların, dental ofis ekipmanlarının (Montebugnoli ve ark 2004) ve akrilik reçinelerin dezenfektanı olarak kullanılmıştır (Chassot ve ark 2006).

PAA; hidrojen peroksit, asetik asit ve stabilize edici ajanın dengeli bir karışımıdır. Ana aktif ajanı; hidrojen peroksit tarafından oluşturulan aktif bir oksijen molekülü ile bir asetik asit molekülünün stabilize kombinasyonudur (Chassot ve ark 2006, Tuna ve ark 2008). Etki mekanizması, yüksek oksitleme gücü veren hidrojen peroksit gibi oksitleyici ajanların, hücresel bileşenlerin kükürt (S-S) ve sülfidril (-SH) bağlarının oksidasyonunu ile sitoplazmik membran üzerinde ozmotik denge gibi fizyolojik fonksiyonları devre dışı bırakmasına dayanır (Chassot ve ark 2006, Tuna ve ark 2008, Pechacek ve ark 2015).

PAA, toksik ve/veya mutajenik yan ürünler, düşük pH, organik rezidüel materyal varlığında bile etkin bir aktiviteye sahiptir (Pechacek ve ark 2015, Moor ve ark 2016). Düşük konsantrasyonlarda (%0.00001 ile %0.2) bile güçlü bir biyosit olarak kabul edilir. Organik kalıntılar varlığında dahi etkin kalma avantajına sahip olup bu durumlarda, toksik olmayan ve mutajenik olmayan maddelere (asetik asit ve oksijen) ayrışır ve kısa sürede mükemmel dezenfeksiyon sağlar (Lensing ve Oei 1985, Kunigk ve Almeida 2001, Wutzler ve Sauerbrei 2004, Bore ve Langsrud 2005). Ayrıca stotoksitesinin geleneksel olarak kullanılan NaOCl , EDTA ve CHX'e

göre düşük olduğu birçok çalışmada rapor edilmiştir (Teixeira ve ark 2018, de Oliveira Brandão-Neto ve ark 2021)

Endodontide *E. faecalis* ile irriga edilmiş kök kanallarında EDTA + %2.5 NaOCl'ye benzer antibakteriyel aktiviteye sahip olduğundan son irrigasyon solüsyonu olarak %1 PAA kullanılması önerilmiştir (Cord ve ark 2014). Dornelles-Morgental ve ark (2011) tarafından yürütülen bir çalışmada, %1'lik bir PAA çözeltisinin, *E. faecalis*'e karşı %2.5 NaOCl ve %2 CHX'e benzer antimikrobiyal etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir. PAA'nın bir endodontik irrigasyon solüsyonu olarak önerilmesine potansiyel olarak izin veren bir diğer özellik, smear tabaka çözme yeteneğidir (Lottanti ve ark 2009, De-Deus ve ark 2011). PAA, antibiyofilm etkisine de sahiptir (Ordinola-Zapata ve ark. 2013). %1 PAA'in, %2.5 NaOCl veya %17 EDTA + %2.5 NaOCl ile karşılaştırıldığında kalsiyum hidroksitin kök kanallarından uzaklaştırılmasında önemli ölçüde daha etkili olduğu belirtilmiştir (Sağsen ve ark 2012). PAA'nın güçlü antimikrobiyal etkisinin ortamda organik madde varlığından etkilenmediği bildirilmiştir (Montebugnoli ve ark 2004, Chassot ve ark 2006). Yapılan *in-vitro* bir çalışmada; *E. faecalis* ile kontamine olmuş kavisli kök kanallarının temizlenmesinde %1 PAA'nın etkinliği, %17 EDTA + %2.5 NaOCl'ninkine benzer bulunmuştur (Cord ve ark 2014). Ordinola-Zapata ve ark (2013) tarafından yapılan bir çalışmada; Qmix, setrimid (Smear Clear), maleik asit, iyot bileşikler, MTAD, %4 PAA ve %2.5-5.25 NaOCl gibi çeşitli endodontik irrigasyon solüsyonlarının dentin biofilmlerine etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda %4 PAA ve %2.5-5.25 NaOCl dışındaki solüsyonların dentin biyofilmlerini ortadan kaldıramadığı, %4 PAA ve %2.5-5.25 NaOCl'nin biyofilmlerdeki canlı bakteri sayısını önemli ölçüde azalttığı ve ayrıca daha temiz dentin yüzeyleri sağladıkları rapor edilmiştir (Ordinola-Zapata ve ark 2013). Bu olumlu özelliklerinden dolayı bazı araştırmacılar tarafından, geleneksel irrigasyon solüsyonlarına alternatif olabileceği düşünülüp son yıkama solüsyonu olarak önerilmiştir (Cord ve ark 2014).

PAA'nın etkisinin hem zamana hem de konsantrasyona bağlı olduğu, uzun temas süreleri ve yüksek konsantrasyonlarda NaOCl'ye benzer şekilde daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterebileceği bildirilmiştir (Guerreiro-Tanomaru ve ark 2011, Ordinola-Zapata ve ark 2013).

1.2.6. Etidronik Asit (HEBP,1-hydroxyethylidene-1, 1-bisphosphonic acid)

Etidronik asit (1-hidroksietiliden-1,1-bisfosfonat veya HEBP olarak da bilinir) biyoyumlu bir şelatördür (Zehnder ve ark 2005). HEBP toksik değildir ve kemik hastalıklarını tedavi etmek için sistematik olarak kullanılmıştır. EDTA gibi, şelasyon yapma özelliğine sahiptir ve genellikle sabun gibi kişisel bakım ve ev ürünlerinde yardımcı olarak kullanılır (Russell ve Rogers 1999). NaOCl'nin özelliklerini bozmadan, bu solüsyon ile birlikte kullanılabilir (Girard ve ark 2005). Ayrıca kök kanalının dentin mineral içeriği üzerinde çok daha az etkisi vardır (Dineshkumar ve ark 2012). Bu nedenlerle EDTA veya sitrik asite potansiyel bir alternatif olarak önerilmiştir (De-Deus ve ark 2008, Kandaswamy ve ark 2011). HEBP; smear tabakayı EDTA ve sitrik asite benzer şekilde uzaklaştırırken, dentine karşı EDTA'dan daha az agresif etki göstererek soft şelatör bir ajan olarak isimlendirilmiştir (De-Deus ve ark 2008, Mampilly ve ark 2020).

NaOCl ile kısa sürede reaktivite göstermez (Zehnder ve ark 2005). 2008 yılında yapılan bir çalışmada, HEBP ve NaOCl'nin birlikte kullanımının tek başına %2.5'lik NaOCl'ye göre çok daha iyi doku çözücü etki gösterdiği rapor edilmiştir (De-Deus ve ark 2008). Bir başka çalışmada ise; NaOCl ve HEBP'nin birlikte kullanımında NaOCl'nin doku çözme kabiliyetinde bir değişiklik gözlemlenmediği bildirilmiştir (Tartari ve ark 2015). Yapılan bazı çalışmalarda, NaOCl/HEBP karışımında, HEBP'nin NaOCl'nin antibakteriyel etkinliğini kısa vadede etkilememesi ve NaOCl'nin toksik etki göstermesini önlemesi için dentinde en fazla 3 dk süresince kullanılabileceği rapor edilmiştir (Du ve ark 2014, Keskin ve ark 2021). Bazı çalışmalarda, antimikrobiyal etkinlik açısından NaOCl ve NaOCl/HEBP'nin beraber kullanımı arasında fark bulunmadığı bildirilmiştir (Iandolo ve ark 2019, Morago ve ark 2019). 2021 yılında yapılan bir çalışmada, %6 NaOCl, %6 NaOCl + %9 HEBP, kitosan (CNP) ve bakır katkılı kitosan nanopartiküllerinin (CU-CNP'ler) kök kanallarındaki *E. faecalis*'e karşı CU-CNP'leri hariç, yüksek bir eliminasyon sağlayamadıkları belirtilmiştir (Keskin ve ark 2021).

HEBP'nin NaOCl ile birlikte kullanıldığında smear tabakasını verimli bir şekilde çözdüğü gösterilmiştir (Zehnder ve ark 2005). 2005 yılında yapılan bir çalışmada, %18 HEBP ve %1 NaOCl karışımı kullanılması sonras HEBP'nin NaOCl'nin mevcut klorunda doza bağlı hafif bir azalmaya neden olduğu

belirtilmiştir (Girard ve ark 2005). HEBP'nin ayrıca EDTA'ya kıyasla kök dentininde daha az agresif olduğu öne sürülmüştür (Lottanti ve ark 2009). Tartari ve ark (2015) tarafından yapılan çalışmada NaOCl'nin doku çözme yeteneğinin HEBP ile karıştırıldığında azalmadığı gösterilmiştir. 2017 yılında yapılan bir çalışmada apikal üçlüden smear tabaka çıkarılmasında %9 ve %18 HEBP'nin %0.5 ve %1 PAA'ya göre daha verimli olduğu; koronal ve orta üçlüde ise %0.5 ve %1 PAA'nın daha iyi sonuçlar gösterdiği bulunmuştur. Aynı çalışmada kök dentini ve kanal dolgu patı arasında oluşan marjinal adaptasyon ile ilgili olarak da, %18 HEBP'nin daha iyi marjinal adaptasyon gösterdiği belirtilmiştir. Bu çalışma neticesinde HEBP'nin, kök kanallarının son irrigasyonu için umut verici bir aday olduğu öne sürülmüştür (Ulusoy ve ark 2017).

1.2.7. Fitik Asit (IP₆, inozitol heksakisfosfat, FA)

Fitik asit (IP₆), bitki tohumlarında ve tahılda fosforun ana depolama şeklidir. Basit ve uygun maliyetli bir takım prosedürler uygulanarak ekstrakte edilir (Bloot ve ark 2021). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, fitik asidin (FA), esas olarak hücre zarı hasarı mekanizması ile farklı gıda kaynaklı patojenlerin büyümesini inhibe etmede etkili olduğu öne sürülmüştür (Zhou ve ark 2019, Bloot ve ark 2021). FA'nın hücre membranı geçirgenliğinde büyük bir artışa neden olarak, hücre içi ATP konsantrasyonunda azalmaya yol açma kapasitesine sahip olduğu gösterilmiştir (Zhou ve ark 2019). Kimyasal olarak miyo-inositol 1,2,3,4,5,6-heksakisfosfat olarak tanımlanan FA, polivalent katyonlar için yüksek afinitesi nedeniyle büyük bir şelatlama potansiyeline sahip olduğu ve demir bağlama kapasitesinin yüksek olması nedeniyle, demir katalizli hidroksil radikallerinin oluşumunun güçlü bir inhibitörü olarak hareket ederek, belirgin bir antioksidan aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Graf ve Eaton 1990, Bloot ve ark 2021, Canan ve ark 2021). FA'nın; *S. aureus*, *L. monocytogenes* ve *S. typhimurium*'u etkili bir şekilde inhibe ettiği için gıda endüstrisinde ürünlerin raf ömrünün arttırılması için bir gıda koruyucusu olarak umut verici potansiyele sahip olduğu öne sürülmüştür (Boukhris ve ark 2020).

Eşsiz yapısı ve dikkat çekici özellikleri nedeniyle FA, diş yapıştırıcıları ve endodontik irrigasyon solüsyonu gibi çeşitli dental uygulamalarda kullanım için önerilmiştir (Nassar ve ark 2013, Nassar ve ark 2015, Forgione ve ark 2021, Nassar ve ark 2021). FA endodontide irrigasyon amacıyla yüksek negatif yük yoğunluğu

kasyonlarla şelatlama aktivitesini kolaylaştırdığı için smear tabakasını çıkarma kabiliyetine sahip alternatif bir kök kanal şelatlama maddesi olarak önerilmiştir. Aynı zamanda osteoblast benzeri hücrelerle biyouyumlu olduğu bildirilmiştir (Nassar ve ark 2015). Nassar ve ark. (2015) %1 FA'nın 1 dk'lık temas süresinde %17 EDTA ile karşılaştırıldığında; daha az sitotoksite gösterdiğini, MC3T3-E1 hücrelerinin farklılaşmasını etkilemediğini ve ayrıca 30 sn ve 1 dk boyunca uygulanan %1 FA'nın smear tabakasını her iki sürede de tamamen ortadan kaldırdığını bildirmişlerdir. Osteoblastlar üzerine olumsuz etkisi olmadığı ve dokulara karşı toksik olmadığı göz önüne alınarak rejeneratif endodontik tedavide nispeten daha toksik olan EDTA'nın yerini alması için dentinden büyüme faktörü salınım kabiliyetini kıyaslayan çalışmalar yapılmıştır (Deniz Sungur ve ark 2019). Yapılan bir çalışmada FA'nın EDTA'ya benzer bir etkiyle dentinde TGF- β salınımını ve hücre göçünü tetiklediği görülmüştür (Deniz Sungur ve ark 2019).

FA'nın çeşitli konsantrasyonlarda kullanım sonrasında rezin adhezyonu bağlanma kuvvetine etkisi birçok çalışmada araştırılmış ve FA'nın, NaOCl'nin rezin-dentin bağlantısı üzerindeki olumsuz etkilerini azalttığı bildirilmiştir (Nassar ve ark 2020, Nassar ve ark 2021).

FA diş hekimliğinde; rejenerasyon tedavileri yanı sıra dental simanların yapısında, ağız bakım ürünlerinde ve asitleme (ethching) ajanı olarak diş dokusunu asitlemede yaygın olarak kullanılmaktadır (Nassar ve ark 2021). Hayvan deneyleri sonucunda FA'nın kariyostatik özellik taşıdığı kanıtlanmış ve bu etkisinin, kalsiyum fosfatı ve diş minesinin çözülmesini engellemesinden kaynaklandığı belirtilmiştir (Taketa ve Phillips 1957, McClure 1960, Cole ve ark 1980). Bu nedenle çinko fosfat simanlar içerisinde %2-%6 oranlarında kullanılmak suretiyle; simanın kariostatik etki sağlaması ve dayanımının artırılması sağlanmaya çalışılmıştır.

FA'nın dentin asitleme işleminde fosforik asitten (PA) daha düşük konsantrasyonlarda smear tabakasını etkili bir şekilde çıkardığı ve ayrıca pulpa hücreleri üzerinde daha az olumsuz etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Nassar ve ark 2013). Kök kanalında periapikal bölgeye ekstrüzyon durumlarında EDTA ile karşılaştırıldığında, alkalik fosfataz aktivitesi ve canlılık testi sonuçlarına dayanarak

daha hızlı yara iyileşmesi sağladığı bildirilmiştir (Nassar ve ark 2015, Nassar ve ark 2020).

Bir *in-vitro* çalışmada FA'nın, planktonik *E. faecalis* üzerinde bakterisidal etkileri olduğu bildirilmiştir (Nassar ve Nassar 2016). Nassar ve ark. (2021) yılında yaptıkları güncel bir çalışmada; %0.5, %1 ve %2'lik FA'nın *E. faecalis* üzerinde 5 dk'da, %5 FA'nın ise 30 sn sonra bakterisit etkisi olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca FA test edilen mikroorganizmaların biyofilmlerini de yok ederek planktonik ve biyofilm kültürleri üzerinde kayda değer antimikrobiyal etki göstermiştir (Nassar ve ark 2021). Nassar ve Nassar (2016) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise; agar diffüzyon ve MİK testleri kullanılarak %5 FA'nın *E. faecalis*'e karşı antimikrobiyal etkinliği %5 NaOCl ve %2 CHX ile karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda; agar diffüzyonda %5 FA'nın en küçük inhibisyon çapı gösterdiği, MİK sonucuna göre ise düşük konsantrasyonlarda antimikrobiyal etkinlik gösterdiği belirtilmiştir (Nassar ve Nassar 2016). Aynı araştırmacılar, FA'nın Gram (+) ve Gram (-) bakteriler, ilaca dirençli suşlar ve *C. albicans* dahil olmak üzere çeşitli mikrobiyal suşlara karşı biyostatik ve biyosidal aktivitelere sahip olduğunu da bildirmişlerdir (Nassar ve ark 2021). Benzer şekilde güncel bir çalışmada da FA'nın, başarısız kök kanallarından sorumlu organizmalardan biri olan *E. faecalis*'in ortadan kaldırılmasında umut verici sonuçlar gösterdiği bildirilmiştir (Yeniçeri Özata ve ark 2022).

1.2.8. Tannik Asit (TA)

Tannik asit (TA), merkezi bir glikoz ünitesinden ve ona bağlı on gallik asit molekülünden oluşan, fenolik asit grubuna ait doğal bir tanendir (Aelenei ve ark 2009). Tanenler, doğada yaygın olarak bulunan bir polifenol grubudur. Bitkilerden kolayca elde edilebilirler. Polifenolik asitler gibi doğal bileşiklerin sağlık alanında kullanımı yeni, ekonomik ve çevre dostu bir yaklaşımdır (Vázquez-Calvo ve ark 2017, Guan ve ark 2020). TA; otsu ve odunsu bitkilerden, doğal kaynaklardan yüksek verimle ekstrakte edilebilen, bilimsel olarak büyük ilgi gören tanenlerin ana örneklerinden biridir (Dabbaghi ve ark 2019).

TA; mikroorganizmalara (bakteriler ve virüsler) karşı antimikrobiyal etki gösterebilen, antitümör ve antitümör özelliklere sahip, antioksidan ve homeostatik ajan olarak da kullanılabilen benzersiz birçok özelliğe sahip bir

bileşendir. Alerji, diyabet, parkinson, alzheimer ve kardiyovasküler hastalıklar gibi farklı hastalıkların gelişimine neden olan serbest radikalleri nötralize edebilir. TA'nın antikanser aktiviteye sahip olduğu kanıtlanmış olup şu anda biyomedikal uygulamalar için; biyoaktif özellikleri ortaya çıkardığı ve malzemelerin özelliklerini geliştirdiği için organik polimer katkı maddesi olarak da incelenmektedir. Gıda ürünlerinde ve çeşitli sarf malzemelerde yapı olarak kullanılabilecek bir bileşiktir (Corominas ve ark 2002, Uyama 2007, Gülçin ve ark 2010, Kim ve ark 2010, Rivero ve ark 2010, Božič ve ark 2012, Bouki ve ark 2013, Zhang ve ark 2013, Abbas ve ark 2014, Kumar ve Goel 2019).

TA'nın smear tabakasına etkilerinin incelendiği bir çalışmada, TA'nın dentine yapılan asitleme işlemi sırasında yüzeyel kısımdaki smear tabakasını uzaklaştırırken fosforik asit (PA) aksine, dentin tübüllerinde oluşan tıkaçları kaldırmadığı ve bu nedenle hassasiyet problemlerinde kullanılabileceği belirtilmiştir (Takahashi ve ark 1993).

TA, kolajenin kimyasal yapısının modifikasyonuna yol açan çapraz bağlanma yeteneğine sahip doğal bir polifenoldür ve bu özelliğiyle kron dentinin mekanik özellikleri üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Bedran-Russo ve ark 2007). Yapılan bir çalışmada irrigasyon solüsyonu olarak %20 TA kullanılmasının ardından, Roth patında %10 TA kullanımıyla sığır dişlerinde endodontik tedavi sonrası vertikal kök kırığına karşı direncin olumlu yönde etkilendiği rapor edilmiştir (Griswold 2015). Kök kanallarında son yıkama solüsyonu olarak TA kullanılmasının hem kök mikrosertliğini arttırdığı hem de epoksi rezinlerin kök dentinine bağlanma dayanımını arttırdığı bildirilmiştir (Örs ve ark 2019).

TA'nın antibakteriyel etkinliği üzerine yapılan bir çalışmada, özellikle *S. aureus* ve *E. faecalis*'e karşı antibakteriyel etki gösterdiği belirtilmiştir. Bu durum TA'ya karşı Gram (+) bakterilerin, Gram (-) olanlardan daha duyarlı olduğunu düşündürmüştür (Belhaoues ve ark 2020). TA, antimikrobiyal aktivitesinden sorumlu ana mekanizma olarak kabul edilen *NorA* akış pompası inhibitörü olarak işlev görür (Belhaoues ve ark 2020). Tanenlerin antibakteriyel etkinliği, bakteri hücre duvarından iç zara kadar geçebilmeleri, hücre metabolizmasına müdahale edebilmeleri ve bunun sonucunda da hücresel aktiviteleri bozmalarıyla

açıklanmaktadır. Gram (+) bakterilerde tanenlerin aktivitesi hızlıdır, ancak Gram (-) bakterilerde çift katmanlı membran varlığı nedeniyle daha yavaştır. Gram (-) bakteriler daha zararlıdır ve bazı hastalıklara neden olur; bu nedenle özellikle bu bakteri grubunun incelenmesi gerekmektedir. TA şimdiye kadar hem Gram (+) (esas olarak *S. aureus*) hem de Gram (-) olanlar (esas olarak *E. coli*) olmak üzere farklı bakteri türlerine karşı çalışılmıştır (Jöbstl ve ark 2006, Tucci ve Benghuzzi 2011, Theisen ve ark 2014, Dabbaghi ve ark 2019, Belhaoues ve ark 2020). TA, bakterilerin yüzeylere tutunmasını engeller (Tucci ve Benghuzzi 2011). Ayrıca, şeker ve amino asit alımı, bakteri büyümesini sınırlayan tannik asit tarafından engellenir (Pandey ve Negi 2018). Dong ve ark (2018) tarafından yapılan bir çalışmada TA'nın *S. aureus*'un hücre duvarı peptidoglikan tabakasına doğrudan bağlanarak hücre bütünlüğüne müdahale edip hücre yapısını bozabileceği ve metisiline dirençli *S. aureus* biyofilm oluşumunu engelleyebileceği ileri sürülmüştür (Dong ve ark 2018). Ortopedi alanında yapılan bir araştırmada, TA'nın implant etrafına uygulanmasının implant çevresinde bakteri çoğalmasını önlediği, osteoklastik aktiviteyi yavaşlattığı, aynı zamanda organizmayı implantın korozyonundan koruduğu belirtilerek; TA'nın gelecek vaad eden bir ajan olarak araştırmaya değer olduğu öne sürülmüştür (Sun ve ark 2022). Yapılan çalışmalarda TA'nın birçok farklı patojene karşı da antimikrobiyal etkisi olduğu ortaya çıkarılmıştır (Colak ve ark 2010, Kaczmarek 2020). Anthemis praecox (papatya) ekstraksiyon yoluyla elde edilen tanenlerin özellikle *S. aureus* ve *E. faecalis*'e karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir (Belhaoues ve ark 2020).

1.2.9. Borik Asit (BA)

Bor, periyodik tablonun 13. grubunda yer alan, atom numarası 5, atom kütlesi 10.811 g/mol ve kimyasal sembolü B olan bir metaloiddir. Bor bileşikleri yüzyıllardır bilinmesine rağmen, bir element olarak ilk kez Sir Humphry Davy, Gay-Lussac ve Thenard tarafından 1808 yılında keşfedilmiştir (Bolaños ve ark 2004). Bor, aralarında ¹⁰B ve ¹¹B'nin en kararlı olduğu farklı izotoplara sahiptir. Doğada elementel halde bulunmaz, organizmalarda fizyolojik açıdan önemli formları olan sodyum ve oksijen ile organobor kompleksleri oluşturur (Bolaños ve ark 2004). Bor, hidrojen, karbon, azot veya oksijen ile karşılaştırıldığında düşük bir yoğunluğa sahip olmasına rağmen, doğal olarak kayalarda, toprakta ve suda yaygın olarak bulunur (Woods 1994, Kot 2009). En önemli bor kaynakları yeryüzü suları

ve topraktır. Bor toprak ve su aracılığı ile bitki ve hayvanlara, bu sayede de insanlara geçmektedir (Demirtaş 2010).

Borat olarak, meyve, sebze ve baklagiller gibi gıdalarda bol miktarda olup, diyetlerde sıklıkla bulunur (Uysal ve ark 2009, Ince ve ark 2010). BA; şampuanlar, sabunlar ve deterjanlar, koltuk altı deodorantları, nemlendirici kremler, tıraş losyonları, nefes tazeleyiciler gibi birçok kozmetik ve kişisel bakım ürününde kullanılmaktadır (Shuler 1991).

Literatüre göre bor, etkilenen dokunun oksidan-antioksidan seviyesini düzenleyebilir. Glutasyonu (bir antioksidan ajan) ve analogunu arttırarak oksidatif hasarı önler (Ince ve ark 2010). BA, hücreler ve organizmalar üzerinde hem olumlu hem de olumsuz etkileri olan çok yönlü bir moleküldür. BA ve sodyum boratların üreme ve gelişme için toksik olduğu düşünülse de, yüksek dozlarda yapılan hayvan çalışmalarında normal kullanım koşulları altında borik asit ve sodyum boratlara maruz kalmanın, erkeklerde üreme için toksik olmadığı bildirilmiştir (Başaran ve ark 2012). Düşük konsantrasyonlardaki BA, hayvanlarda kemik mineralizasyonu ve bitkilerde hücre duvarı stabilitesi gibi çeşitli biyokimyasal süreçler için faydalıdır (Ishii ve ark 1999, Gallardo-Williams ve ark 2003). Ayrıca osteogenez ve kemiklerin korunmasında hayati bir role sahiptir. Bor eksikliğinde kemik yenilenmesi ve gelişimi olumsuz etkilenerek kemik kaybı riski artar (Hakki ve ark 2010).

BA; uçucu olmayan mineral özelliği ve düşük toksisite, mantar öldürücü etki ve herbisit özellikleri ile son zamanlarda endodontik tedavilerde kullanım amacıyla araştırılan dezenfektan ajanlardan birisi olmuştur (Quarles 2001). Mikrobiyal sistemlerin fizyolojik ve metabolik aktivitelerinde önemli rollere sahiptir (Tanaka ve Fujiwara 2008). İçeriğinde bor bulunan ilk doğal bileşik, gram pozitif bakteriler üzerinde etkili bir antibiyotik olan Boromycin'dir (Streptomyces antibiyotikus tarafından üretilir). Ayrıca bakteriyel antibiyotikler olan tartrolonlarda (Irschik ve ark 1995, Schummer ve ark 1996), borophisin, aplasmomycin (Nakamura ve ark 1977, Hunt 2003, Şezanka ve Sigler 2008) içeriğinde de bor bulunur. Borik asit ve onun tuzları olan boratlar, 1860'lardan beri tıpta bakterisit, fungusit ve antiseptik olarak kullanılmaktadır. Islanabilir toz, sıvı (sprey veya aerosol olarak uygulanır), emülsifiye edilebilir konsantre, granül veya tozlar olarak kullanılır. Son derece

uçucu, sentetik kimyasal pestisitlere karşı daha güvenli bir alternatif malzeme olarak kabul edilmiştir (Quarles 2001). Tıpta BA'nın, özellikle çoklu ilaca dirençli *C. albicans* suşlarının neden olduğu sorunlu enfeksiyonların tedavisi için alternatif bir çare olarak, vajinal mantar enfeksiyonlarının tedavisinde etkili olduğu kanıtlanmıştır (Iavazzo ve ark 2011). BA'nın genel olarak canlı organizmalar ve özel olarak mantarlar üzerindeki kesin etki mekanizması henüz belirsiz olmakla birlikte; De Seta ve ark (2009) antifungal özelliklerinin *C. albicans*'ın mayadan hiphaya geçişini önleme yeteneği ile açıklanabileceğini belirtmişlerdir. Pointer ve ark (2015) da *C. albicans*'ın öldürücü olmayan BA konsantrasyonlarına maruz kalmasıyla; BA'nın *C. albicans*'ın hifal sitoiskeletini bozarak invaziv büyümesini inhibe ettiğini ileri sürmüşlerdir.

BA üzerine diş hekimliğinde; CHX'e alternatif ağız gargarası olarak kullanımı (Sağlam ve ark 2013), smear tabakası kaldırma etkinliği (Vaca Guzmán Gallardo ve Nuñez Montaño 2017), dentin yapısının mineral içeriği üzerine etkileri (Akman ve ark 2016), kök dentininde kanal patlarının bağlanma dayanımına etkileri konularında (Eyüboğlu ve Olcay 2020, Jurema ve ark 2022) birçok araştırma yapılmıştır.

Borik asidin, periodontal doku sağlığına etkilerini inceleyen bir çalışma sonuçları; erken dönemde orta düzey cepler için tüm ağız sondalamada kanama (BOP), cep derinliği (PD) ve klinik ataçman seviyesi (CAL) skorlarının azalmasında daha üstün olması nedeniyle klorheksidine bir alternatif olabileceğini göstermiştir (Sağlam ve ark 2013). Kronik periodontitisli hastalarda periodontal tedavide irrigasyon solüsyonu olarak araştırılmış ve osteoblastik aktivite için sistemik borik asit kullanımı önerilmiştir (Demirer ve ark 2012). Demirer ve ark (2012) tarafından yapılan çalışmada; sistemik borik asit uygulamasının ligatür ile indüklenen bir sıçan modelinde deneysel periodontitiste periodontal inflamasyonu baskıladığı ve alveolar kemik kaybını azalttığı ve periodontal hastalıkları önlemede terapötik strateji açısından başarılı bulunduğu belirtilmiştir. Pham ve Phan (2020) subgingival dokulara %5 BA uygulamasının orta derecede derin cepler için tüm ağız BOP, gingival indeks (GI) ve ayrıca PD ve CAL azaltma konusunda üstün sonuçlar sağladığını ve %1 povidone iyodine (PVP-I) alternatif olabileceğini bildirmişlerdir.

2015 yılında yapılan bir çalışmada %5 BA'nın smear tabakayı etkili bir şekilde kaldıramadığı bildirilmiştir (Turk ve ark 2015). Culhaoglu ve ark (2017) da %10 BA'nın 55°C'ye ısıtılıp 60 sn uygulanmasının smear tabakanın tamamını kaldırdığını ancak %5 BA'nın başarısının düşük olduğunu beyan etmişlerdir. Aynı araştırmacılar %10 BA uygulanan servikal kök dentinindeki bağlanma dayanımının %5.25 NaOCl + %17 EDTA uygulanan grupla benzer olduğunu belirtmişlerdir.

%2, %4, %6 konsantrasyonlardaki BA'nın, *E. facealis* biyofilmi üzerine etkisini inceleyen bir çalışmada solüsyonların sırasıyla %18, %49 ve %69 oranında etkili olduğu gösterilmiştir (Recai ve ark 2013). Bir başka çalışmada %5 BA kullanımı ile *C. albicans* (ATCC 90028) da dahil olmak üzere birçok *Candida* türünün elimine edildiği bildirilmiştir (Gavilanes-Martínez ve ark 2021).

11.2.10. Hegzagonal Boron Nitrit Nanopartikül (h-BN)

Nanopartiküller, 1-100 nm boyutlarında partiküllerdir (Nune ve ark 2009). Hacim-yüzey oranlarının büyük, kimyasal yüzey karakterlerinin farklı olması sayesinde nanopartiküller ile formülasyon geliştirmek kolaydır. Nanopartiküller; suda çözünürlüklerine bağlı olarak biyoyararlanımlarının iyi olması, vücutta kalma sürelerinin uzun olması ve vücudun belli bölgelerine hedeflenebilme özellikleri nedeniyle özellikle görüntülemelerde kontrast madde olarak, biyosensörlerde, aşılarda üretiminde, antikanser ve antiinflamatuvar ilaçlarda, nükleik asit, gen, peptit ve proteinler için taşıyıcı sistemler olarak kullanılmaktadır (Panyam ve Labhasetwar 2003, Kreuter 2007).

Kullanımda olan birçok nanomateriyal bilhassa metal, metal oksit ve organik yapıdaki nanomalzemeler, hastalık yapabilme potansiyeline sahip bakteri ve viral yapılara karşı antimikrobiyal etkilere sahip olmaları nedeniyle birçok alanda kullanılmak üzere araştırılmıştır (Loomba ve Scarabelli 2013, Beyth ve ark 2015).

Bor nitrür (BN), doğada kendiliğinden oluşmayan; altıgen, kübik, vurtzit, rombohedral, turbostatik tarzı değişik kristal durumlara sahip olarak üretilebilir (Lipp ve ark 1989, Kempfer 1990). Farklı kristal içeriklerde, değişik fiziksel ve kimyasal özellikler sergilerler. Altıgen kristal yapıya sahip bor nitrür (hBN), bir grafit analogudur. Bu yüzden, beyaz grafit olarak isimlendirilmesi yapılır. hBN nanomateriyalleri, kimyasal olarak oldukça stabil, ısısal iletkenliği yüksek, oksidasyon

rezistansı olan, ısısal iletim ve elektrik yalıtımı mükemmel bir materyaldir (Weimer 1997, Shehzad ve ark 2016).

Yapılan çalışmalarda BN'ün nanotüplerinin (BNNT'ler), değişik hücre dizinlerine karşı sitotoksik etkili olmadığının gösterilmesi, BNNT'lerin sağlık alanında kullanımı için gelecek vadetmiştir (Rocca ve ark 2016, Li ve ark 2017). Günümüzde kozmetik sektörü, dental kompozitlerin, akriliklerin ve dental simanların yapısında h-BN kullanım alanı bulmuştur (Jedrzejczak-Silicka ve ark 2020).

2018 yılında Kıvanç ve ark tarafından yapılan bir çalışmada “beyaz grafit” olarak adlandırılan hegzagonal bor nitrür formunun (hBN) önceden oluşturulmuş biyofilm üzerinde yüksek antibiyofilm aktivitesi gösterdiği ve 0.025-0.1 mg/mL konsantrasyon aralığında hücreler üzerinde sitotoksik etki göstermediği belirtilmiştir (Kıvanç ve ark 2018). Shtansky ve ark (2022) h-BN'nin çok çeşitli alanlarda kullanılmakla beraber antimikrobiyal etki ve medikal ilaçların etkinliği alanlarında kullanımı ile ilgili olarak taşıyıcı nanopartikül şeklinde kullanımını önermişlerdir. Gudz ve ark (2020) tarafından yüzey nanotopografisi ile bakterilerin; siyah silikon, karbon nanotüpler, çinko oksit nano çubuklar ve bakır oksit nano tabakalar gibi birkaç nano yapıyla yüzeyle doğrudan fiziksel temasla inaktive oldukları rapor edilmiştir. Bu çalışmada, Gram (-) antibiyotiğe dirençli *E. coli* bakterilerinin nano yapıyla h-BN yüzeylere temas ederken fiziksel yıkım sonucunda öldükleri gösterilmiştir.

Bu nedenlerle h-BN son yıllarda en çok araştırılan materyallerden bir tanesi olmakla beraber dişhekimliği alanında antimikrobiyal etkileri bakımından yapılan çalışma sayısı çok azdır (Ma ve ark 2022).

Güncel bir çalışmada altıgen h-BN-titanyum dioksit (h-BN-TiO₂) parçacıklarının ilavesiyle, nanokompozit modifiye geleneksel cam iyonomer simanın (h-BN-TiO₂/GIC) mekanik ve antibakteriyel özelliklerinin arttığı ortaya çıkarılmıştır (Ma ve ark 2022). Ma ve ark (2022) tarafından yapılan bu çalışmada, 24 saatlik süre sonrası nanoparçacık eklenen cam iyonomer kompozitin SEM analizinde *S. mutans* sayısını %94 oranında azalttığı tespit edilmiştir. Aynı çalışmada ayrıca nanokompozitlerin L929 fibroblast hücrelerinin canlılığını etkilemediği ve h-BN-TiO₂/GIC kompozitlerinin biyolojik olarak uyumlu olduğu belirlenmiştir (Ma ve ark 2022)(Ma ve ark 2022)(Ma ve ark 2022)(Ma ve ark 2022)(Ma ve ark 2022)(Ma ve

ark 2022)(Ma ve ark 2022)(Ma ve ark 2022)(Ma ve ark 2022)(Ma ve ark 2022)(Ma ve ark 2022)(Ma ve ark 2022). Alqahtani (2020) ise farklı konsantrasyonlarda biyoyumlu h-BN nanopartikül ilavesinin, otopolimerizan polimetil metakrilat (PMMA) bazlı diş malzemelerinin ve kompozitlerin yapısal ve mekanik özelliklerini arttırdığını ileri sürmüştür (Alqahtani 2020). Ayrıca seramiklerin yapısına belirli oranlarda BN ilavesinin işlenebilirliğe olumlu katkıda bulunduğu da bildirilmiştir (Zhou ve ark 2021). h-BN'lerin dental seramiklerde kullanımı üzerine yapılan bir başka araştırmada da, h-BN ilavesiyle kırılma dayanımının %37 arttığı ve aynı zamanda biyoyumlu malzemeler oldukları rapor edilmiştir (Lee ve ark 2020).

1.2.11. Hipokloröz Asit (HOCl)

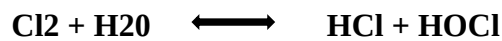
Konak savunmasında önemli bir yer tutan PMN lökosit, nötrofil ve makrofajlar gibi fagositoz yapan hücreler myeloperoksiz enzim aracılığı ile fagolizozomlarında hipokloröz asit (HOCl) üreterek geniş spektrumlu antimikrobiyal etkinlik sağlarlar (Wang ve ark 2007). Bu yüzden hipokloröz asit (HOCl); bağışıklık sistemimizde nötrofillerin fagositoz esnasında sentezlediği mikroorganizmaların ölümünden sorumlu fizyolojik bir molekül olarak tanımlanır (Öztoprak 2021).

HOCl *in-vitro* olarak 3 farklı kimyasal yöntemle üretilmektedir. Bu yöntemlerle HOCl oluşum reaksiyonları aşağıda gösterilmiştir (Wang ve ark 2007, Ateş 2020):

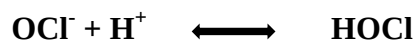
- i. NaCl elektrolizi ile:



- ii. Klor gazı hidrolizi ile:



- iii. Hipoklorit asidifikasyonu ile:



Solüsyon, su içerisinde OCl^- ve H^+ iyonlarına ayrılır. Bununla beraber pH'a bağlı olarak OCl^- ve HOCl oranları değişkenlik göstermektedir pH=3-6 aralığında HOCl daha baskınken pH'ın artmasıyla OCl^- oranları artmaktadır (Shi ve ark 2009). HOCl herhangi bir elektrik yükü taşımazken, hipoklorit iyonu (OCl^-) negatif elektrik yükü taşır. Negatif yüke sahip OCl^- , negatif yüke sahip hücre duvarının itilmesine neden olarak mikroorganizmaları öldürmede, HOCl 'ye göre daha az etkili olur (Tosa ve Yamasaki 2000).

Hipokloröz asit (HOCl); su ve NaCl 'nin elektrolizi ile (electrochemically activated solutions (EAS) veya elektrolize oksitleyici su (EOS)) üretilbildiği için ucuz ve aynı zamanda patojenlere karşı etkili bir dezenfektan olarak geniş kullanım alanı kazanmıştır (Wang ve ark 2007). Elde edilen HOCl , maksimum antimikrobiyal etkiye pH=3-6 seviyelerinde ulaşmaktadır (Wang ve ark 2007).

Hazırlanan HOCl çözeltileri; güneş ışığına maruz kaldığında 4. günden itibaren, güneş ışığından korunduğunda ise 15. günden itibaren klor miktarında azalma başlamaktadır (Rossi-Fedele ve ark 2011). $\text{OCl}^- / \text{HOCl}$ oranı azaldıkça yani HOCl miktarı arttıkça, azalan pH sebebiyle çözeltinin yarı ömrü artar (Nowell ve Hoigné 1992). UV radyasyon, güneş ışığı, hava ile temas ve 25°C 'den yüksek sıcaklık; HOCl çözeltilerinin stabilizasyonunu bozduğundan karanlık ve hava ile en az temas edebilecek bir ortamda saklanmaları gerekir (Park ve ark 2007).

FDA onaylı HOCl ticari ürünü Aquatine EC'nin (Sterilox Puricore, Malvern, PA, ABD) smear dokusunu uzaklaştırma etkinliğini NaOCl ile kıyaslamayı amaçlayan bir çalışmada HOCl 'nin EDTA ile kullanımının %6 NaOCl 'nin EDTA ile kullanımıyla benzer oranda smear tabaka kaldırdığı belirtilmiştir (Garcia ve ark 2010). 2000 yılında yapılan bir çalışmada elektrokimyasal olarak aktive edilerek elde edilen HOCl ile irrigasyonun, kök kanal duvarlarını etkili bir şekilde temizlediği ve geleneksel kök kanal tedavisinde NaOCl 'ye bir alternatif olabileceği bildirilmiştir (Solovyeva ve Dummer 2000).

Birçok yayında geniş antimikrobiyal spektruma sahip olduğu belirtilen HOCl 'nin 12 sn gibi çok kısa bir sürede etki ettiği ve antibakteriyel; antiviral, antifungal ve antiparaziter özellikleri olduğu gösterilmiştir (Wang ve ark 2007, Sakarya ve ark 2014, Yıldız ve ark 2020).

Albrich ve Hurst (1982) HOCl'ye duyarlı mikroorganizmaların milisaniyeler içerisinde yok edildiğini bildirmişlerdir (Albrich ve Hurst 1982). HOCl'nin 100 ppm'lik çözeltisi, 20 dk içerisinde *S. epidermidis* başta olmak üzere birçok stafilokok'ta %99 oranında bir azalma göstermiştir (Stroman ve ark 2017).

HOCl; NaOCl ve CHX ile karşılaştırıldığında ağız dokularındaki *Porphyromonas gingivalis*'i önemli ölçüde azaltmaktadır (Chen ve ark 2016). Diş fırçalarının HOCl ile dezenfekte edilmesi ağız içi patojen bakterilerin azalmasına sağlamaktadır (Lee ve Choi 2006). Yaraların temizlenmesinde kullanım alanı bulan HOCl'nin açık yaralarda bakteri eliminasyonunun sağlanmasında etkili bir ajan olduğu ve herhangi bir yan etkisinin olmadığı da gösterilmiştir (Stroman ve ark 2017)

Hsieh ve ark (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, NaOCl ve EOS (elektrolize oksijenli su) ile oluşturulan HOCl'nin, *E. faecalis* ve *S.mutans* üzerine antimikrobiyal etkisi ve zebra balığı embriyosuna karşı sitotoksitesi incelenmiştir. Çalışma sonucuna göre; HOCl, NaOCl ile benzer etki göstererek %99 bakteri eliminasyonu sağlamıştır. Ayrıca %1.5 NaOCl zebra balığı embriyolarını tamamen çözerken, hem %0.0125 hem de %0.0250 HOCl çok düşük toksisite göstermiş ve bu sonuçla HOCl'nin vital pulpa tedavisi için alternatif bir irrigasyon potansiyeline sahip olduğu doğrulanmıştır (Hsieh ve ark 2020). Yapılan birçok çalışmada da HOCl'nin stotoksitesinin NaOCl gibi toksik ajanlara göre çok daha düşük olduğu bildirilmiştir (Ring ve ark 2008, Hsieh ve ark 2020).

Zmuda ve ark (2020) *C. albicans* biyofilmlerini tedavi etmek için HOCl'nin, hem *in-vitro* hem de *ex-vivo* biyofilm modellerinde 6 saatlik tedaviden sonra mikroorganizma kolonilerinde (CFU) önemli bir azalma görüldüğünü ve HOCl'nin *C. albicans* biyofilmlerini elimine etmek için etkili bir yaklaşım olduğunu bildirmişlerdir.

Güncel bir çalışmada araştırmacılar 200 ppm HOCl solüsyonun *E.faecalis*'i 30 sn'de %5 NaOCl ile benzer oranda ortadan kaldırdığını bildirmişlerdir (YamadaY ve Hossain 2021). Açık yaraların irrigasyonu amacıyla *E. faecalis*'e karşı %0.01 HOCl ve %2.5 NaOCl'nin kullanıldığı güncel bir başka çalışmada iki solüsyonun da hemen hemen benzer antibakteriyel etki gösterdiği bulunmuştur (Anwar ve ark 2022).

1.3. Endodontik Mikrobiyoloji Çalışmalarında Sıklıkla Kullanılan DeneySEL Yöntemler

1.3.1 Agar Difüzyon Testi

Agar difüzyon testi, endodontik materyallerin antimikrobiyal aktivitesini incelemek için en sık kullanılan testlerden birisidir (Sassone ve ark 2008). Agar difüzyon test yönteminde test edilen mikroorganizmaların rahat üreyebileceği bir (besin açısından zengin kan, serum vb.) agar besiyeri kullanılır. Çalışmalarda bu amaç doğrultusunda %5-10 defibrine koyun kanlı agarı yaygın olarak kullanılır. Agar içerisinde, kesilerek veya fabrikasyon olarak üretilmiş dairesel punch alan cihazlar yardımıyla belirli çaplara sahip standart çukurlar meydana getirilerek etkisi araştırılmak istenen kimyasal ajan ile doldurulur (Erganiş ve Öztürk 2003). Agar difüzyon testi bir başka şekilde, önceden kimyasal madde ile doyurulmuş kağıt disklerin, seçilen bir mikroorganizma ile alt kültürlenmiş agar yüzeyine yerleştirilmesiyle de yapılır. Test edilecek mikroorganizma, agar yüzeye drigalsi ile yayılarak 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılır. Agar yüzeyinde kağıt disklerin çevresinde veya oluşturulan çukurlarda değişken çaplarda inhibisyon bölgeleri oluşur. Kağıt disk ya da çukurcularda oluşan inhibisyon çapı mm cinsinden ölçülerek çalışmada kullanılan antimikrobiyal ajanın etkinliği, elde edilen çapların boyutuna göre mukayese edilir. Agar difüzyon testi genellikle daha önce üzerinde araştırılma yapılmamış yeni kimyasal ajanların (bitkisel ekstraktlar, çeşitli solüsyonlar vb.) antimikrobiyal etkinliğini değerlendirmek için ön değerlendirme niteliği taşır.

Agar difüzyon yöntemi yaygın olarak uygulanmasına rağmen; test edilen materyalin gerçek antibakteriyel aktivitesi dışındaki birçok faktör, bu yöntemin güvenilirliğini ve tekrarlanabilirliğini etkileyebilir. Bu faktörler; kimyasal ajanın formülasyonunu (sıvı veya jel), moleküler boyutunu, malzemenin agar ortamında çözünürlülük ve difüzyon kabiliyetini, test materyali ile jel arasındaki teması, inokulum yoğunluğunu, agar viskozitesini, agar plakalarının saklama koşullarını ve inkübasyon süresini içerir. Ayrıca uygulama prosedürleri, malzemenin agar içine difüzyonunu da etkileyebilir (Tobias 1988, Vianna ve Gomes 2009). Antimikrobiyal etkinin agar plağında oluşan inhibisyon zonlarının çapının ölçülmesiyle; az duyarlı, duyarlı, çok duyarlı şeklinde basit yorumlanması, 24 saatlik inkübasyon süresince

ajanın agar plakla temasının klinik durumu yansıtmaması, kullanılan solüsyonun diffüze olabilme durumu agar difüzyon testinin dezavantajlarından biridir.

1.3.2. MİK Testi

MİK testi, antimikrobiyal aktivitesi belirlenecek kimyasal ajanın, üzerinde çalışma yapılacak mikroorganizmaya karşı, etkinlik gösterdiği minimum inhibitör konsantrasyonun tüpler ya da 96 kuyucuklu mikropleytler üzerinde seri dilüsyonlarla tespit edildiği, literatürde sıklıkla kullanılan ön değerlendirme testidir. Genellikle daha önce denenmemiş bitkisel ekstraktların etkinliklerinin ölçülmesinde kullanılan MİK yöntemi kullanılan kimyasal ajan hakkında ön değerlendirme niteliği taşımaktadır.

MİK yönteminde belirli konsantrasyonlarda alınan kimyasal ajan, önceden hazırlanmış içerisinde FTS bulunan kuyucuklara yerleştirilir ve üzerine çalışılan mikroorganizma ile eşit hacimlerde karıştırılarak seri şekilde dilüe edilir. 37°C’de 24 saat süre ile inkübe edilen mikropleytler ELISA okuyucuda taranarak veriler yazıcı aracılığıyla bilgisayar ortamına aktarılır. Değerlendirme sonunda mikroorganizma üremesinin durdurulduğu son dilüsyon, kullanılan kimyasal ajanın MİK değerine tekabül eder (Kowalska-Krochmal ve Dudek-Wicher 2021)

Küçük volümlerde çalışmaya imkan vermesi, uygulamasının kolay olması ve kantitatif veri sunmasından dolayı sıvı mikrodilüsyon yöntemi, mikroorganizmaların kullanılan irrigasyon solüsyonlarına karşı etkin minimum değerlerini ölçmek için sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (Reller ve ark 2009, Pierce-Hendry ve Dennis 2010).

1.3.3. Direkt Kontakt Test (DKT)

Direkt kontakt test yöntemi, belirli bir kimyasal maddenin antibakteriyel aktivitesini değerlendirmek için, bu maddenin sabit bir hacminin belirli bir süre için bir bakteri süspansiyonu ile karıştırıldığı farklı bir deneysel yaklaşımdır. Antibakteriyel aktivite, elde edilen karışımın bir besin ortamında kültürü ile doğrulanır ve böylece her mikroorganizma türünün, kimyasal madde ve bu madde ile temas ettiği süre içerisinde mikroorganizma üremesinin varlığı veya yokluğu şeklinde değerlendirilir (Sassone ve ark 2003, Sassone ve ark 2008).

Direkt kontakt test ile mikroorganizmaların planktonik ve biyofilm formları üzerine; kullanılan ajanların sıvı, jel ve pat halleri uygulanarak antimikrobiyal etkinlik araştırma çalışmaları yapılabilir. Ayrıca kullanılan kimyasal ajanların aynı çalışma içerisinde hem sıvı hem de jel hallerini kıyaslamayı mümkün kılar. DKT yöntemi; antimikrobiyal etkisi araştırılmak istenen kimyasal ajanın istenen temas sürelerinde etkinliğinin araştırılmasının yanında, tekrarlanabilir olması ve sunduğu verilerin kantitatif nitelik taşıması açısından da anlam taşır. Suda çözünemeyen malzemelerin test edilmesini de sağlayan nicel bir testtir. Test mikroorganizmaları ve test edilen ilaçlar arasındaki doğrudan ve yakın teması dayanır ve agar difüzyon testinden farklı olarak hem test edilen materyalin hem de ortamın difüzyon özelliklerinden neredeyse bağımsızdır. Tekrarlanabilir ve test edilen materyal ile temas ettirilen inokulumun boyutuna karşı duyarsızdır (Weiss ve ark 1996)

1.3.4. Histolojik yöntem

Histolojik yöntem basit bir tabirle, antimikrobiyal kimyasal uygulanmış dişlerin formalin yardımıyla fiksasyonu sağlanıp nitrik asit aracılığı ile demineralizasyonu gerçekleştikten sonra etanol ile dehidrate edilip histolojik kesit örnekleri alınması ve alınan kesitlerin ışık mikroskobu ya da SEM ile değerlendirilmesine dayanmaktadır (Safavi ve ark 1990, Berkiten ve ark 2000). Histolojik kesit yöntemiyle kesit alınan alandaki mikroorganizma varlığı gösterilebilmekte ancak mikroorganizmanın canlılığı hakkında fikir sağlanamamaktadır (Zapata ve ark 2008).

1.3.5. Radyoaktif olarak işaretlenmiş bakteri görüntüleme yöntemi

Bu yöntemde, deneysel prosedürle radyoaktif bir boyayla (^3H -timidin) işaretlenmiş mikroorganizma kök kanalını enfekte etmek için kullanılır. Enfekte edilen kök kanalları, kemomekanik preparasyon işlemi tamamlandıktan sonra FTS ile yıkanır. Şekillendirilmiş kök kanallarından numuneler alınır ve steril kağıt konlar kullanılarak alınan numunelerin radyoaktivitesi sıvı sintilasyon spektrometre aracılığı ile ölçülür (Rollison ve ark 2002).

Mevcut uzmanlık tez çalışmasının amacı; kök kanallarında irrigasyon amacıyla sık kullanılan solüsyonlarla (%5.25 NaOCl, %2 CHX ve %17 EDTA) bunlara alternatif olma potansiyeline sahip bazı solüsyonların (%0.1 OCT, %2 PAA, %18 HEBP, %2 FA, %25 TA, 0.4 mg/ml h-BN, 200 ppm (%0.02) HOCl, %1, %3 ve %5 BA) *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal etkinliklerini MIK ve DKT yöntemleri kullanarak 30 sn, 60 sn, 5 dk ve 10 dk'lık sürelerde test edip karşılaştırmaktır.



2. GEREÇ VE YÖNTEM

Kök kanal tedavisinde irrigasyon amacıyla kullanılan farklı solüsyonların antimikrobiyal etkinliklerinin değerlendirilmesi amacıyla planlanmış mevcut uzmanlık tez çalışmasının etik kurul onayı Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Değerlendirme Komisyonu'nun 30/04/2021 tarih ve 2021/10 sayılı kararı ile alındı (EK-A). Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP) tarafından desteklenen projeye (Proje no: 21132112) ait *in-vitro* çalışmalar Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji bölüm laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

Çalışmada kök kanal irrigasyonunda yaygın olarak kullanılan %5.25 sodyum hipoklorit (NaOCl), %17 etilendiamintetraasetik asit (EDTA), %2 klorheksidin (CHX) gibi geleneksel solüsyonların yanı sıra, farklı konsantrasyonlardaki %1, %3 ve %5 borik asit (BA), %0.02 hipokloröz asit (HOCl), %25 tannik asit (TA), %2 perasetik asit (PAA), %18 etidronik asit (HEBP), %2 fitik asit (FA), 0.4 mg/ml hegzagonal boron nitrit nanopartikül (h-BN), %0.1 oktenidin hidroklorür (OCT) gibi güncel irrigasyon solüsyonlarının *E. faecalis* ve *C. albicans* üzerine antimikrobiyal etkinlikleri, minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) ve direkt kontakt test (DKT) yöntemleriyle aşamalı ve karşılaştırmalı olarak incelendi.

2.1. İrrigasyon Solüsyonlarının Hazırlanması

Antimikrobiyal etkinliklerinin belirlenmesi amacıyla çalışmada kullanılacak irrigasyon solüsyonları ve üretici firmalar aşağıda listelenmiştir:

- %5.25 ve %10.5 sodyum hipoklorit (NaOCl; Endosolve HP, Imicryl, Konya, Türkiye)
- %17 ve %34 etilen diamin tetra asetik asit (EDTA; Imicryl, Konya, Türkiye)
- %2 ve %4 klorheksidin (CHX; Ceraxidin-C, Imicryl, Konya, Türkiye)
- %1, %3, %5 borik asit (BA; 1001651000, Sigma Aldrich, Darmstadt, Almanya)
- %0.020 (200 ppm) hipokloröz asit (HOCl; Crystalin, Natural Health Products-NHP, İzmir, Türkiye)
- %25 tannik asit (TA; ACS Reagents, 403040, Sigma Aldrich, ABD)
- %2 perasetik asit (PAA; 433241, Sigma Aldrich, ABD)
- %18 etidronik asit (HEBP; H6773, Sigma Aldrich, ABD)
- %2 fitik asit (FA; 593648, Sigma Aldrich, ABD)

- 0.4 mg/ml hegzagonal boron nitrit nanopartükül (h-BN; Bortek, Eskişehir, Türkiye)
- %0.1 oktenidin hidroklorür (OCT; Octenisept®, Schülke&Mayr, Norderstedt, Almanya)

MİK testi için solüsyonların yüzdeleri 2 katı değerine çıkarılıp sonrasında başlangıç konsantrasyonları ayarlanacağı için, hazır olarak satılan %5.25 ve %10.5'lik NaOCl (pH=12.8), %17 ve %34'lük EDTA (pH=12.1), %2 ve %4'lük CHX (pH=7) ve %0.020 HOCl (pH=6.7) solüsyonları DKT'de kullanılmak üzere başlangıç konsantrasyonlarında ve MİK testinde kullanılmak üzere 2 katı konsantrasyonlarında üretici firmalardan direkt solüsyon olarak temin edilmiştir. 2 katı konsantrasyonda hazırlanması mümkün olmayan HOCl ve OCT solüsyonları dışındaki diğer solüsyonlar da laboratuvarında DKT için başlangıç, MİK testi için başlangıç konsantrasyonlarının 2 katı konsantrasyonlarda hazırlanmıştır.

MİK ve DKT testlerinde kullanılmak üzere laboratuvarında hazırlanan solüsyonların hazırlanma aşamaları ve kullanıldıkları pH değerleri aşağıda ayrıntılı şekilde verilmiştir:

- BA'nın 100 ml % 2'lik solüsyonu; balon joje içerisindeki 2 gram BA tozu üzerine 100 ml seviyesine kadar steril distile su ilave edilip, tamamı gözle görülür bir partikül kalmayacak şekilde çözününceye kadar manyetik karıştırıcıda (Nüve, MK 418, Ankara, Türkiye) karıştırılmak suretiyle elde edildi. Aynı yöntemle %6'lık BA solüsyonu için 6 gram ve %10'luk BA solüsyonu elde etmek için 10 gram BA tozu üzerine karışımın hacmi 100 ml seviyesine gelene kadar distile su eklendi. Elde edilen solüsyonların pH'sı 4.8 olarak belirlendi. DKT yöntemi için normal konsantrasyonlarda kullanılmak amacıyla; MİK testinde 2 katı oranda hazırlanan %2, %6, %10 BA solüsyonları distile su ile yarı yarıya seyreltilerek %1, %3, %5 BA konsantrasyonları elde edildi.
- TA'nın 100 ml %25'lik solüsyonu; balon joje içerisindeki 25 gram TA tozu üzerine 100 ml seviyesine kadar distile su ilave edilip, tamamı gözle görülür partikül kalmayacak şekilde çözününceye kadar manyetik karıştırıcıda karıştırılmak suretiyle elde edildi. Elde edilen solüsyonun pH'sı 2.7 olarak ölçüldü. Aynı şekilde %50'lik TA elde etmek için 50 gram TA tozu kullanılarak hacimce distile su ile 100 ml'e tamamlandı.

- PAA'nın üretici firmadan temin edilen çözeltisinin %38 PAA içerdiğinden; 100 ml %2'lik solüsyonu balon joje içerisindeki 5 ml %38'lik PAA çözeltisi üzerine 100 ml hacmine ulaşana kadar steril distile su ilave edilip manyetik karıştırıcıda karıştırılarak elde edildi. Elde edilen solüsyonun pH'sı 2.2 olarak belirlendi. Aynı işlem basamakları kullanılarak 10 ml %38'lik PAA solüsyonu hacimce 100 ml'e tamamlanarak %4 PAA elde edildi.
- HEBP'nin üretici firmadan temin edilen çözeltisi %60 oranında HEBP içerdiğinden 100 ml %18 HEBP solüsyonu balon joje içerisindeki 30 ml %60'lık HEBP çözeltisi üzerine 100 ml seviyesine kadar steril distile su eklenip manyetik karıştırıcıda karıştırılmak suretiyle elde edildi. Elde edilen solüsyonun pH'sı 0.7 olarak ölçüldü. Aynı işlem basamakları kullanılarak %36 oranında HEBP elde edilmek için ise 60 ml %60'lık HEBP çözeltisinden balon jojeye yerleştirilerek hacim olarak 100 ml seviyesine kadar steril distile su ilave edilerek %36'lık HEBP solüsyonu elde edildi.
- FA'nın üretici firmadan temin edilen çözeltisi %50 oranında FA içerdiğinden 100 ml %2'lik FA solüsyonu, balon joje içerisindeki 4 ml %50'lik FA çözeltisi üzerine 100 ml seviyesine kadar steril distile su ilave edilip manyetik karıştırıcıda karıştırılmak suretiyle elde edildi. Elde edilen solüsyonun pH'sı 2.1 olarak kaydedildi. Aynı işlem basamakları kullanılarak %4'lük FA çözeltisi elde etmek için ise balon joje içerisine yerleştirilen 8 ml %50'lik FA orijinal solüsyonu hacim olarak 100 ml seviyesine kadar steril distile su ile tamamlanarak manyetik karıştırıcıyla karıştırılmak suretiyle elde edildi.
- h-BN nanopartikülün 100 ml 0.4 mg/ml'lik solüsyonu, balon joje içerisinde önceden otoklavlanarak sterilize edilen 40 mg h-BN tozu üzerine 100 ml seviyesine kadar steril distile su ilave edilip tamamı gözle görülür bir partikül kalmayacak şekilde çözününceye kadar manyetik karıştırıcıda karıştırılmak suretiyle elde edildi. Elde edilen solüsyonun pH'sı 7.2 olarak kaydedildi.

h-BN dışında hazırlanan her bir solüsyon, ileri dilüasyonları elde edilmeden önce 0.2 mm'lik selüloz asetat membran filtreden (GVS ABLUO™, Bologna, İtalya) geçirilerek sterilize edildi (Şekil 2.1 a-c). h-BN, partiküllerinin filtreden geçmemesi sebebiyle filtre kullanılarak değil, h-BN tozu otoklavlanmak suretiyle sterilize edildi.



Şekil 2.1. (a, b) İrrigasyon solüsyonlarının sterilizasyonunda kullanılan membran filtre
(c) İrrigasyon solüsyonlarının membran filtreler yardımıyla sterilizasyonu

2.2. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar

İrrigasyon solüsyonlarının MİK ve DKT çalışmaları, *Candida albicans* (*C. albicans*) ATCC 90028 ve *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) ATCC 29212 suşları üzerinde gerçekleştirildi. Standart suşlar S.Ü. Veteriner Fak. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kültür koleksiyonundan temin edildi.

Tüm hücre kültürü işlemleri ile irrigasyon solüsyonlarının MİK ve DKT reaksiyon solüsyonlarının hazırlanması ve uygulanması Sınıf II biyogüvenlik kabini (NUAIRE, NU-425-400S, ABD) içerisinde gerçekleştirildi (Şekil 2.2.).



Şekil 2.2. İrrigasyon solüsyonlarının hazırlandığı ve hücre kültürü işlemlerinin yapıldığı güvenlik kabini

Çalışma iki aşamada gerçekleştirildi. Birinci aşamada, 13 farklı irrigasyon solüsyonunun *C. albicans* ve *E. faecalis* için MİK değerleri belirlendi. 0.4 mg/ml h-BN ve %0.020 (200 ppm) HOCl solüsyonlarının kullanıldığı konsantrasyonlarda, 48. saat sonunda bile herhangi bir inhibitör etki görülmediğinden minimum inhibitör konsantrasyonları belirlenemedi. Bu nedenle her iki solüsyon da çalışmadan çıkarılarak DKT'e dahil edilmedi. MİK değerleri belirlenen diğer 11 solüsyon için ikinci aşamada DKT gerçekleştirildi.

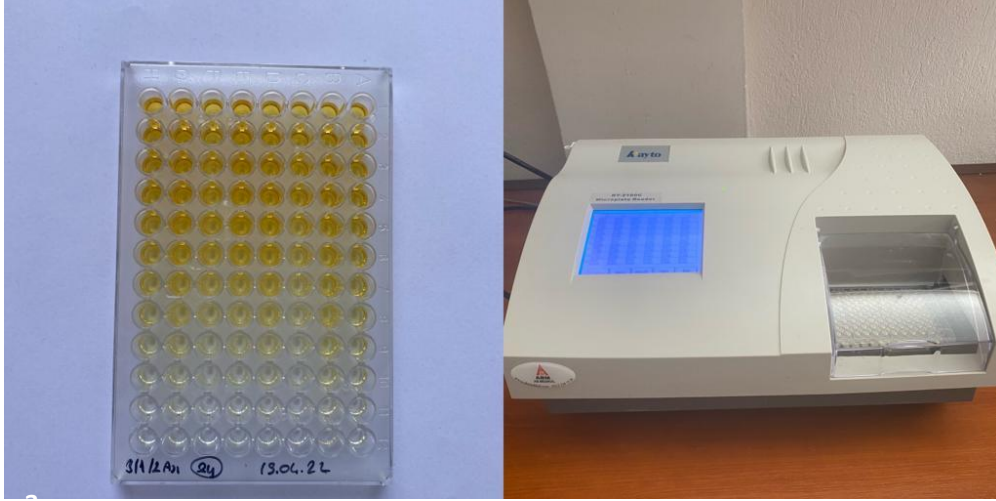
2.3. Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) Testi

Çalışmada kullanılan *E. faecalis* (ATCC 29212) ve *C. albicans* (ATCC 90028) suşları sırasıyla, %5 koyun kanlı agar besiyerlerine seyreltme metodu ile ekildi. Kültürler 37°C'de etüvde *E. faecalis* 24 saat, *C. albicans* için 48 saat süreyle inkübe edildi. Üreyen kültürlerden, Brain Heart İnfüzyon (BHI, Oxoid, ABD) besiyeri içerisinde, McFarland 0.5 (1.5×10^8 CFU/ml) konsantrasyonunda bakteri olacak şekilde süspansiyonlar hazırlandı (Şekil 2.3. a, b).



Şekil 2.3. (a) Mikroorganizmaların McFarland 0.5 (1.5×10^8 CFU/ml) konsantrasyonlarının ayarlandığı McFarland densitometre cihazı **(b)** Mikroorganizma vibrasyonunun sağlandığı vortex cihazı

Solüsyonların her birinden ikişer katlı olarak BHI (Brain Heart Infusion) ile 1/1-1/2048 konsantrasyonlarında dilüasyonlar hazırlandı. %25 TA solüsyonunun renginin, kıvamının ve kullanılan konsantrasyonunun yüksek olmasından dolayı; 12 yatay sütuna sahip mikropleytin 2. yatay sütunu da kullanılarak 24 kuyucukta dilüasyonları hazırlandı. Dilüasyonların her birinden 50 µl solüsyon 96 gözlü düz steril hücre kültür pleytlerinin çukurcuklarına konuldu ve üzerine aynı hacimde McFarland 0.5 konsantrasyonunda bakteri süspansiyonlarından eklendi (Şekil 2.4.a). Her bir test 3 kez tekrar edildi. Her tekrarda mikroorganizma eklenmemiş irrigasyon solüsyonları *negatif kontrol*, irrigasyon solüsyonu eklenmemiş mikroorganizma süspansiyonları *pozitif kontrol* olarak kullanıldı. Mikropleytler, 37°C’de oksijenli etüvde *E. faecalis* ve *C. albicans* için sırasıyla 24; 48 saat süreyle inkübe edildi. Mikropleytler inkübasyon öncesi ve sonrası ELISA okuyucuda (Rayto, RT-2100C, Çin) 450 nm dalga boyunda okunarak optik dansite (OD) değerleri kaydedildi (Şekil 2.4.b). Değerlendirme sonunda mikroorganizma üremesinin durdurulduğu son dilüsyon, kullanılan solüsyonun MİK değeri olarak kaydedildi.



Şekil 2.4. (a) 96 kuyucuklu mikropleyt (b) ELISA okuyucu (Rayto, RT-2100C, Çin)

İlk kuyucukta %50 oranında steril BHI içerisindeki mikroorganizma ve %50 oranında irrigantın karışması ile temin edilen solüsyonun aslında yarı değerine bakılmış olduğundan; MİK testi için solüsyonların konsantrasyonları 2 katı değerine çıkarılarak karışım elde edilip, sonrasında asıl bakılmak istenen başlangıç konsantrasyonları ayarlanmış oldu. Temin edilirken hazır olarak satılan ve 2 katı konsantrasyonda hazırlanması mümkün olmayan HOCl ve OCT solüsyonları ise 96 kuyucuklu plakanın ilk kuyusuna BHI yerleştirilmeden direkt mikroorganizma teması sağlanarak çalışmada araştırılmak istenen konsantrasyonda incelenmiş oldu.

Herbir solüsyonun MİK değerlerinin belirlenmesinin ardından *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı etki karakteristiklerinin (bakterisit/fungisit veya bakteriyostatik/fungistatik) belirlenmesi amacıyla; herbir solüsyonun MİK değerlerinin elde edildiği dilüasyonlarının bulunduğu pleytlerdeki çukurcuklardan 100 µl solüsyon alınarak %5 koyun kanlı agar besiyerlerine ekim yapıldı. Elde edilen kültürler 37°C'de etüvde 24-48 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında *E. faecalis* üremesi şekillenmeyen solüsyonlar “bakterisit”, üreme şekillenen solüsyonlar “bakteriyostatik” etkili olarak değerlendirildi. Aynı şekilde *C. albicans* üremesi şekillenmeyen solüsyonlar “fungisit”, üreme şekillenen solüsyonlar “fungistatik” etkili olarak değerlendirildi.

2.4. Direkt Kontakt Test (DKT)

Çalışmada kullanılan *E. faecalis* (ATCC 29212) ve *C. albicans* (ATCC 90028) standart suşları sırayla, %5 koyun kanlı agar besiyerine seyreltme metodu ile ekildi. Kültürler 37°C'de etüvde 24-48 saat süreyle inkübe edildi. Üreyen

kültürlerden fizyolojik tuzlu su (FTS) içerisinde, McFarland 0.5 (1.5×10^8 mikroorganizma/ml) konsantrasyonunda bakteri olacak şekilde süspansiyonlar hazırlandı.

Antimikrobiyal etkinliği belirlenecek solüsyonlardan 1.45 ml alınarak 2 ml'lik steril eppendorf tüpüne aktarıldı. Daha sonra tüpler içine 50 µl McFarland 0.5 konsantrasyonunda *E. faecalis* (ATCC 29212) ve *C. albicans* (ATCC 90028) suşları otomatik pipet yardımıyla eklenerek vorteks cihazı ile karıştırıldı (şekil 2.3.b). Kontakt süreleri 30 sn, 60 sn, 5 dk ve 10 dk olarak uygulandı. Her süre sonunda tüplerden 100 µl solüsyon alınarak, 0.9 ml steril FTS içerisinde, 10^{-1} 'den 10^{-6} dilüsyona kadar 10'ar katlı sulandırmaları yapıldı. Her bir sulandırmadan 100 µl, 3'er adet (10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}) kanlı agar besiyerine ekilerek, drigalski spatülü ile besiyeri yüzeyine yayıldı. Kültürler 37°C'de 24-48 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon sonunda ekim yapılan her bir sulandırmaya ait petri kabındaki mikroorganizma kolonileri gözle sayılarak kayıt altında alındı ve orijinal süspansiyonun 1 ml'sindeki mikroorganizma sayısı belirlendi. Aynı sulandırmayla ekim yapılan 3 adet petri kabındaki koloni sayılarının ortalaması alınarak bu sulandırmaya ait 0.1 ml süspansiyondaki koloni sayısı tespit edilmiş oldu. Elde edilen sayı 10 ile çarpılarak 1 ml'deki bakteri sayısı hesaplandı. 10^{-4} , 10^{-5} ve 10^{-6} sulandırmalara ait koloni sayılarının ortalaması alınarak orijinal süspansiyonun 1 ml'sindeki bakteri sayısı; CFU (Colony Forming Unit) birimi üzerinden belirlendi. Mikroorganizma ölüm oranlarının belirlenmesi için öncelikle; orjinal bakteri süspansiyonundaki mikroorganizma sayısından, solüsyon-mikroorganizma karışımı sonucu canlı kalan mikroorganizma sayıları çıkarılarak ölü mikroorganizma sayısı belirlendi. Elde edilen bu sayı (ölü mikroorganizma sayısı) orjinal süspansiyondaki mikroorganizma sayısına oranlanarak % hücre ölüm oranları belirlendi. Her bir test 3 kez tekrarlandı. Ortalaması alınan veriler istatistiksel olarak analiz edildi.

2.5. İstatistiksel Analiz

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 25 (IBM Corp. Released 2017. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp., ABD) istatistik paket programı kullanıldı. Çalışmada kategorik ve sürekli değişkenler için tanımlayıcı istatistikler (ortalama, standart sapma) verildi. Ayrıca parametrik testlerin ön şartlarından varyansların homojenliği “Levene” testi ile kontrol edildi. Normallik varsayımına “Shapiro-Wilk” testi ile bakıldı. Üç ve daha fazla grup

karşılaştırması için “Tek Yönlü Varyans Analizi” ve çoklu karşılaştırma testlerinden “Bonferroni testi” kullanıldı. Üç ve daha fazla farklı zamanda alınan ölçümlerin karşılaştırması için “Tekrarlı ölçümlerde Varyans Analizi” ve çoklu karşılaştırma testlerinden “Bonferroni testi” kullanıldı.

Grup-zaman etkileşimi için tekrarlı testler için küresellik varsayımı Mauchly testi ile kontrol edildi ve küresellik varsayımı sağlandığı durumda Sphericity Assumed testi uygulandı. Sağlanmadığı durumlar için ise epsilon değerine bakılarak 0.75’ten büyük olduğu durumlar için Huynh-Feldt testi, küçük olduğu durumlar için ise Greenhouse Geisser testi sonuçları değerlendirildi. Analizlerde tekrarlı ölçümler (Klinik Parametreler) ve gruplar arasında genel bir değerlendirme yapmak için karışık düzen (mixed design) varyans analizi ve çoklu karşılaştırma testlerinden Bonferroni-Dunn testi, zamanlar içinde Bonferroni- Dunn testi kullanıldı. $p < 0.05$ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. MİK Testi Sonuçları

Mevcut çalışmada *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal özellikleri araştırılan solüsyonların öncelikle, bu mikroorganizmalara karşı etkin konsantrasyon değerlerinin belirlenmesi için MİK testi uygulandı. MİK değerlerinin belirlendiği solüsyonlardan alınan örneklerin %5 koyun kanlı agarına ekilmesi sonucu bakteri ya da mantar üremesi görülüp görülmemesiyle de ilgili solüsyonların etki karakteristikleri (bakterisit/fungisit veya bakteriyostatik/fungostatik) belirlendi.

MİK testinde çalışmada kullanılan %0.02 hipokloröz asit (HOCl) ve 0.4 mg/ml h-BN nanopartikülü; 24. saat sonunda bile *E. faecalis* ve *C. albicans* üzerine herhangi bir inhibitör etki göstermediklerinden başarısız bulundu ve çalışmadan çıkarılarak DKT yöntemine dahil edilmedi.

%0.02 hipokloröz asit (HOCl) ve 0.4 mg/ml h-BN nanopartikülü haricindeki solüsyonlara ait MİK değerleri **Tablo 3.1.** ve **Tablo 3.2.**'de gösterilmiştir.

E. faecalis ve *C. albicans* üzerine (*E. faecalis*; *C. albicans*); %0.1 OCT (1/256; 1/1024), %2 CHX (1/1024; 1/1024), %25 TA (1/4096; 1/8192) solüsyonları; %2 PAA (1/32; 1/16), %5.25 NaOCl (1/8; 1/4), %17 EDTA (1/8; 1/16), %18 HEBP (1/32; 1/8) ve %2 FA (1/2; 1/4)'e göre daha düşük konsantrasyonlarda inhibisyon sağladı (Tablo 3.2.).

Solüsyonların *E. faecalis* ve *C. albicans*'in üremesini durdurduğu MİK değerlerinde; %5.25 NaOCl, %2 PAA, %2 FA ve %25 TA bakterisit ve fungisit etki gösterirken, %17 EDTA, %2 CHX, %0.1 OCT, %18 HEBP, %1, %3 ve %5 BA solüsyonlarının bakteriyostatik/fungistatik etkili oldukları tespit edildi (Tablo 3.1.).

Tablo 3.1. İrrigasyon solüsyonlarının *E. faecalis* ve *C. albicans*'ın üremesini durdurdukları son dilüsyonlarını gösteren minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri ve etki karakteristikleri

Solüsyon	<i>E. faecalis</i> MİK skoru	Bakterisit/ Bakteriyostatik etki	<i>C. albicans</i> MİK skoru	Fungusit/ Fungistatik etki
%17 EDTA	1/8	Bakteriyostatik	1/16	Fungistatik
%0.1 OCT	1/256	Bakteriyostatik	1/1024	Fungistatik
%5.25 NaOCl	1/8	Bakterisit	1/4	Fungusit
%1 BA	1/1	Bakteriyostatik	1/2	Fungistatik
%3 BA	1/1	Bakteriyostatik	1/2	Fungistatik
%5 BA	1/1	Bakteriyostatik	1/8	Fungistatik
%2 FA	1/2	Bakterisit	1/4	Fungusit
%25 TA	1/4096	Bakterisit	1/8192	Fungusit
%2 PAA	1/32	Bakterisit	1/16	Fungusit
%2 CHX	1/1024	Bakteriyostatik	1/1024	Fungistatik
%18 HEBP	1/32	Bakteriyostatik	1/8	Fungistatik
0.4 mg/ml h-BN	Etkisiz	Etkisiz	Etkisiz	Etkisiz
%0.02 HOCl	Etkisiz	Etkisiz	Etkisiz	Etkisiz

Tablo 3.2. İrrigasyon solüsyonlarının *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı MİK değerlerinin farklı birimlerle ifadesi

Solüsyon	Mikroorganizma	Oran	%	µg/ml	mg/ml
%17 EDTA	<i>E. faecalis</i>	1/8	2.125	21250	21.25
	<i>C. albicans</i>	1/16	1.06	10625	10.625
%0.1 OCT	<i>E. faecalis</i>	1/256	0,0004	0.0004	0.0000004
	<i>C. albicans</i>	1/1024	0.0001	0.001	0.000001
%5.25 NaOCl	<i>E. faecalis</i>	1/8	0.656	6562	6.56
	<i>C. albicans</i>	1/4	1.312	13120	13.12
%1 BA	<i>E. faecalis</i>	1/1	1	10000	10
	<i>C. albicans</i>	1/2	0.5	5000	5
%3 BA	<i>E. faecalis</i>	1/1	3	30000	30
	<i>C. albicans</i>	1/2	1.5	15000	15
%5 BA	<i>E. faecalis</i>	1/1	5	50000	50
	<i>C. albicans</i>	1/8	0.6	6250	6.25
%2 FA	<i>E. faecalis</i>	1/2	1	10000	10
	<i>C. albicans</i>	1/4	0.5	5000	5
%25 TA	<i>E. faecalis</i>	1/4096	0.006	61	0.061
	<i>C. albicans</i>	1/8192	0.003	30.5	0.03
%2 PAA	<i>E. faecalis</i>	1/32	0.0625	625	0.625
	<i>C. albicans</i>	1/16	0.125	1250	1.25
%2 CHX	<i>E. faecalis</i>	1/1024	0.002	19.53	0.02
	<i>C. albicans</i>	1/1024	0.002	19.53	0.02
%18 HEBP	<i>E. faecalis</i>	1/32	0.562	5620	5.62
	<i>C. albicans</i>	1/8	2.25	22480	22.48

3.2. DKT Sonuçları

Çalışmada kullanılan DKT yönteminde tüm solüsyonların *E. faecalis* ve *C. albicans* üzerine 4 farklı zamana (30 sn, 60 sn, 5 dk ve 10 dk) göre etkileri % mikroorganizma hücre ölüm oranları olarak elde edilerek istatistiksel olarak değerlendirildi ve sonuçlar toplu halde Tablo 3.3'te gösterildi. Ayrı olarak Tablo 3.4.'te sadece *E. faecalis*'le, Tablo 3.5.'te ise sadece *C. albicans*'la ilgili veri ve değerlendirme sonuçları gösterildi.



Tablo 3.3. DKT'te *E. faecalis* ve *C. albicans*'ın irrigasyon solüsyonlarıyla temas sürelerine (zamana) göre % hücre ölüm oranlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi

		30 sn	60 sn	5 dk	10 dk	$TI^{\dagger}$ (Grup)			$TI^{\&}$ (Grup X Zaman)		
						Test İst.	P	r	Test İst.	p	r
%17 EDTA	<i>E. faecalis</i>	35 ± 4 ^A	53±1 ^B	55±6 ^B	85±11 ^C	151.194	0.000	0.958	30.541	0.000	0.884
	<i>C. albicans</i>	100 ± 0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	0.000	1.000	0.000			
$TI^{\&}$ (Zaman)	Test İst.	636.944	9034.442	174.699	5.734						
	p	0.000	0.000	0.000	0.075						
	r	0.994	1.000	0.978	0.589						
%0.1 OCT	<i>E. faecalis</i>	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	0.000	1.000	0.000	3.987	0.042	0.407
	<i>C. albicans</i>	83±30 ^C	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	3.309	0.041	0.332			
$TI^{\&}$ (Zaman)	Test İst.	1.000	0.000	0.000	0.000						
	p	0.374	1.000	1.000	1.000						
	r	0.200	0.000	0.000	0.000						
%5.25 NaOCl	<i>E. faecalis</i>	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	0.000	1.000	0.000	0.000	1.000	0.000
	<i>C. albicans</i>	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	0.000	1.000	0.000			
$TI^{\&}$ (Zaman)	Test İst.	0.000	0.000	0.000	0.000						
	p	1.000	1.000	1.000	1.000						
	r	0.000	0.000	0.000	0.000						
%1 BA	<i>E. faecalis</i>	27±3 ^A	75±1 ^B	80±2 ^C	83±0 ^C	266.016	0.000	0.976	4.107	0.032	0.507
	<i>C. albicans</i>	62±29 ^B	65±26 ^B	100±0 ^D	100±0 ^D	18.144	0.000	0.731			
$TI^{\&}$ (Zaman)	Test İst.	4.352	0.436	303.755	6635.768						
	p	0.105	0.545	0.000	0.000						
	r	0.521	0.098	0.987	0.999						
%3 BA	<i>E. faecalis</i>	63±1 ^B	82±1 ^C	83±1 ^C	89±1 ^C	48.672	0.000	0.880	314.617	0.000	0.987
	<i>C. albicans</i>	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	0.000	1.000	0.000			
$TI^{\&}$ (Zaman)	Test İst.	3159.361	864.308	400.087	446.769						
	p	0.000	0.000	0.000	0.000						
	r	0.999	0.995	0.990	0.991						
%5 BA	<i>E. faecalis</i>	71±3 ^B	82±1 ^C	87±1 ^C	89±2 ^C	22.807	0.000	0.774	93.241	0.000	0.959
	<i>C. albicans</i>	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	0.000	1.000	0.000			

$Tl^{\text{§}}$ (Zaman)	Test İst. p r	357.046 0.000 0.989	3757.000 0.000 0.999	775.000 0.000 0.995	72.327 0.001 0.948						
%2 FA	<i>E. faecalis</i>	60±8 ^B	100±0 ^C	100±0 ^C	100±0 ^D	154.262	0.000	0.959	75.292	0.000	0.950
	<i>C. albicans</i>	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	0.005	1.000	0.001			
$Tl^{\text{§}}$ (Zaman)	Test İst. p r	74.989 0.001 0.949	1.000 0.374 0.200	1.000 0.374 0.200	1.000 0.374 0.200						
%25 TA	<i>E. faecalis</i>	34±11 ^A	46±22 ^A	100±0 ^D	100±0 ^D	221.048	0.000	0.971	32.772	0.000	0.891
	<i>C. albicans</i>	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	0.815	0.501	0.109			
$Tl^{\text{§}}$ (Zaman)	Test İst. p r	111.158 0.000 0.965	18.280 0.013 0.820	1.000 0.374 0.200	1.000 0.374 0.200						
%2 PAA	<i>E. faecalis</i>	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	0.000	1.000	0.000	0.000	1.000	0.000
	<i>C. albicans</i>	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	0.000	1.000	0.000			
$Tl^{\text{§}}$ (Zaman)	Test İst. p r	0.000 1.000 0.000	0.000 1.000 0.000	0.000 1.000 0.000	0.000 1.000 0.000						
%2 CHX	<i>E. faecalis</i>	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	0.000	1.000	0.000	0.000	1.000	0.000
	<i>C. albicans</i>	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	0.000	1.000	0.000			
$Tl^{\text{§}}$ (Zaman)	Test İst. p r	0.000 1.000 0.000	0.000 1.000 0.000	0.000 1.000 0.000	0.000 1.000 0.000						
%18 HEBP	<i>E. faecalis</i>	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	100±0 ^D	0.000	1.000	0.000	45.486	0.000	0.919
	<i>C. albicans</i>	66±3 ^B	72±2 ^B	78±1 ^B	82±1 ^C	343.275	0.000	0.981			
$Tl^{\text{§}}$ (Zaman)	Test İst. p r	408.754 0.000 0.990	543.222 0.000 0.993	3596.900 0.000 0.999	1115.872 0.000 0.996						

Tİ: Test istatistikleri, F: Varyans analizi. r: Etki Büyüklüğü [†]Gruplar arası karşılaştırma, [‡]Grup içi karşılaştırma, [§]Zamana göre değişimin gruplar arası karşılaştırılması, özet istatistikler ortalama ± standart sapma değer olarak verilmiştir. A<B<C<D: Aynı satırdaki farklı harf veya harf kombinasyonları istatistiksel açıdan anlamlı farklılığı ifade eder (p<0.05).

Tablo 3.4. DKT’te irrigasyon solüsyonlarının *E.faecalis*’le temas sürelerine (zamana) göre gösterdikleri % hücre ölüm oranlarının istatistiksel olarak değerlendirilip karşılaştırılması

Solüsyon	30 sn	60 sn	5 dk	10 dk	$T\bar{I}^{\ddagger}$ (Zaman)			$T\bar{I}^{\&}$ (Grup X Zaman)		
					F	P	r	F	p	R
%17 EDTA	35±4 ^A	53±1 ^B	55±6 ^B	85±11 ^D	151.194	0.001	0.958			
%0.1 OCT	100±0 ^E	100±0 ^E	100±0 ^E	100±0 ^E	0.001	0.999	0.001			
%5.25 NaOCl	100±0 ^E	100±0 ^E	100±0 ^E	100±0 ^E	0.001	0.999	0.001			
%1 BA	27±3 ^A	75±1 ^C	80±2 ^D	83±0 ^D	266.016	0.001	0.976			
%3 BA	63±1 ^C	82±1 ^D	83±1 ^D	89±1 ^D	48.672	0.001	0.880			
%5 BA	71±3 ^C	82±1 ^D	87±1 ^D	89±2 ^D	22.807	0.001	0.774	33.338	0.001	0.908
% FA	60±8 ^C	100±0 ^E	100±0 ^E	100±0 ^E	154.262	0.001	0.959			
%25 TA	34±11 ^A	46±22 ^A	100±0 ^E	100±0 ^E	221.048	0.001	0.971			
%2 PAA	100±0 ^E	100±0 ^E	100±0 ^E	100±0 ^E	0.001	0.999	0.001			
%2 CHX	100±0 ^E	100±0 ^E	100±0 ^E	100±0 ^E	0.001	0.999	0.001			
%18 HEBP	100±0 ^E	100±0 ^E	100±0 ^E	100±0 ^E	0.001	0.999	0.001			
$T\bar{I}^{\dagger}$ (Grup)	F	136.379	28.042	164.000	12.581					
	p	0.001	0.001	0.001	0.001					
	r	0.984	0.927	0.987	0.851					

Tİ: Test istatistikleri, F: Varyans analizi, r: Etki Büyüklüğü [†]Gruplar arası karşılaştırma, [‡]Grup içi karşılaştırma, [&]Zamana göre değişimin gruplar arası karşılaştırılması, özet istatistikler *ortalama ± standart sapma* değer olarak verilmiştir. A<B<C<D<E Aynı satırdaki farklı harf veya harf kombinasyonları istatistiksel açıdan anlamlı farklılığı ifade eder (p<0.05).

E. faecalis'le ilgili veri ve değerlendirmelere göre (Tablo 3.4.); 11 farklı solüsyon kendi aralarında ve ölçüm alınan dört farklı zamanda istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdi ($F=33.338$ $p=0.001$).

OCT, NaOCl, PAA, CHX ve HEBP solüsyonları ölçüm alınan dört farklı zamanda istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermezken ($p>0.05$); EDTA, %1 BA, %3 BA, %5 BA, FA ve TA solüsyonları ölçüm alınan dört farklı zamanda istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gösterdi ($p<0.05$) (***Zamana göre solüsyonların kendi içerisindeki farklılıklar***). Ölçüm alınan dört farklı zamanda solüsyonlardan alınan ölçümler arasında anlamlı farklılıklar gözlemlendi ($p<0.05$) (***Zamana göre solüsyonların birbirleri arasındaki farklılıklar***).

%0.1 OCT, %5.25 NaOCl, %2 PAA, %2 CHX ve %18 HEBP solüsyonları ölçüm yapılan tüm zamanlarda (30 sn, 60 sn, 5 dk ve 10 dk) %100 hücre ölüm oranlarına sahipti ($p>0.05$).

%17 EDTA solüsyonu için 30. sn ($\%35\pm4$)'de alınan ölçümler 60 sn ($\%53\pm1$) ve üzeri zamanlarda alınan ölçümlerden daha düşüktü ($p<0.05$). 60. sn'de alınan ölçüm ile 5. dk ($\%55\pm6$)'da alınan ölçümler arasında farklılık bulunmazken ($p>0.05$), her ikisi de 10. dk ($\%85\pm11$)'da alınan ölçümden daha düşüktü ($p<0.05$).

%1 BA solüsyonu için 30. sn ($\%27\pm3$) alınan ölçümler 60. sn ($\%75\pm1$) ve üzeri alınan ölçümlerden daha düşüktü ($p<0.05$). 5 dk ($\%80\pm2$) ve 10. dk ($\%83$) alınan ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken ($p>0.05$) her iki ölçüm de 60. sn'den daha yüksek % hücre ölüm oranına sahipti.

%3 BA solüsyonu için 30. sn (63 ± 1)'de alınan ölçümler 60. sn ($\%82\pm1$) ve üzeri alınan ölçümlerden daha düşüktü ($p<0.05$). 60. sn, 5 dk ($\%83\pm1$) ve 10. dk ($\%89\pm1$) alınan ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

%5 BA solüsyonu için 30. sn alınan ölçüm ($\%71\pm3$) en düşük orana sahip iken ($p<0.05$); 60. sn ($\%82\pm1$), 5. dk ($\%87\pm1$) ve 10. dk ($\%89\pm2$) ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

%2 FA solüsyonu için 30. sn ($\%60\pm8$)'de alınan ölçümler en düşük orana sahipken ($p<0.05$); 60. sn, 5. dk ve 10. dk alınan ölçümlerin tamamında %100'lük hücre ölüm oranları elde edildi ($p>0.05$).

%25 TA solüsyonu için 30. sn (%34±11) ve 60. sn (%46±22) ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$) ve her ikisi de %100'lük hücre ölüm oranları elde edilen 5. ve 10. dk ölçümlerinden daha düşüktü ($p<0.05$).

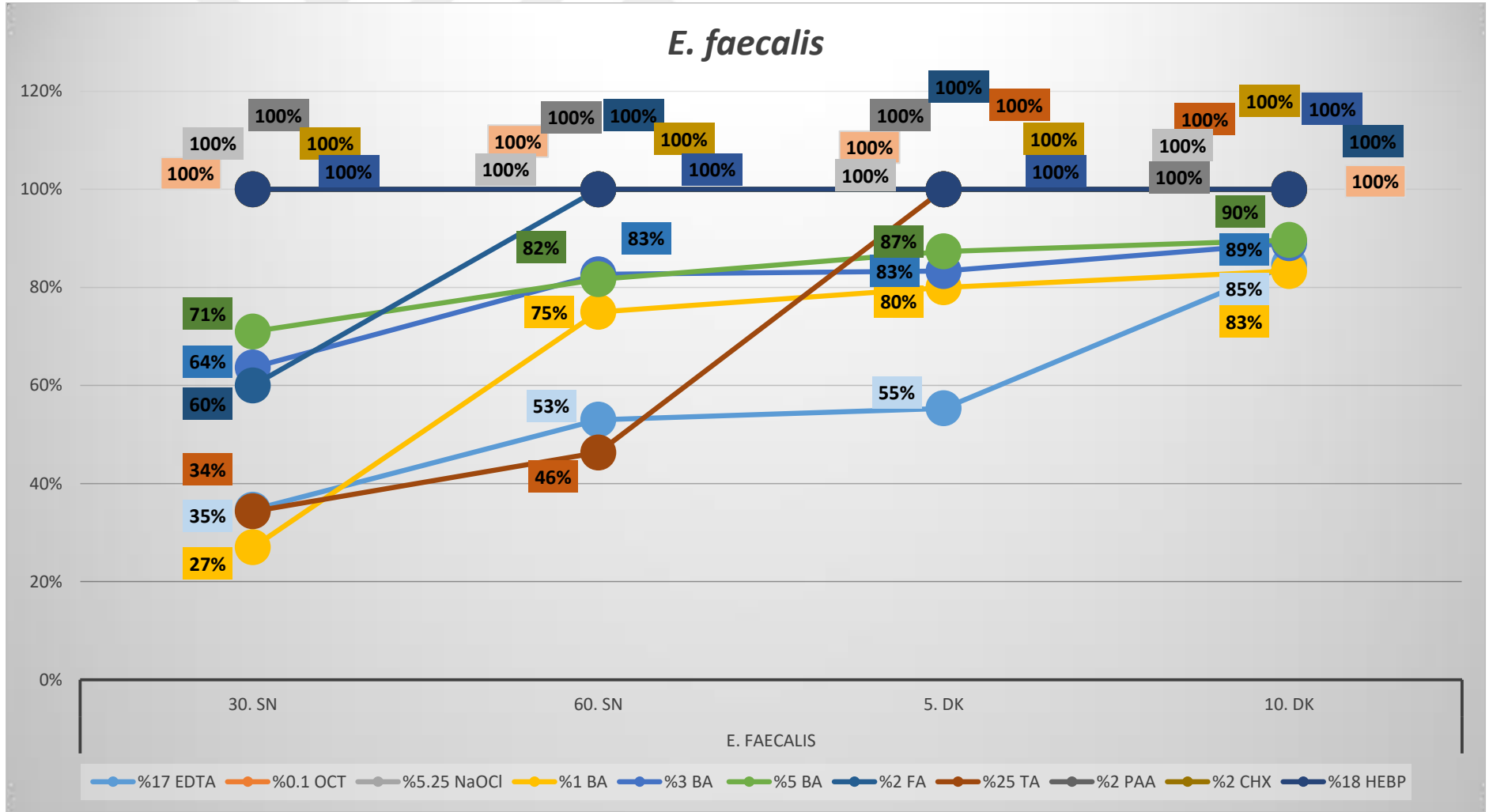
*Solüsyonların E. faecalis'le temas sürelerine göre birbirleri arasındaki farklılıklar incelendiğinde 30 sn'lik temasta aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmayan %17 EDTA (%35±4), %1 BA (%27±3) ve %25 TA (%34±11) solüsyonları ($p>0.05$) diğer solüsyonlarla karşılaştırıldıklarında en düşük % hücre ölüm oranlarına sahipti ($p<0.05$). Aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmayan %3 BA (%63±1), %5 BA (%71±3), %2 FA (%60±8) solüsyonları ($p>0.05$) yukarıda sayılan solüsyonlardan daha yüksek % hücre ölüm oranları gösterirken ($p<0.05$); %0.1 OCT, %5.25 NaOCl, %2 FA, %2 PAA, %2 CHX ve %18 HEBP solüsyonları %100 hücre ölüm oranları ile diğer tüm solüsyonlara göre en yüksek orana sahiplerdi ($p<0.05$). (**E. faecalis'le 30 sn temas sonrası; EDTA = %1 BA = TA < %3 BA = %5 BA = FA < OCT = NaOCl = PAA = CHX = HEBP**)*

*Solüsyonların E. faecalis'le temas sürelerine göre birbirleri arasındaki farklılıklar incelendiğinde 60 sn'lik temasta %25 TA (%46±22) solüsyonuyla diğer tüm solüsyonlardan çok daha düşük % hücre ölüm oranı tespit edildi ($p<0.05$). %17 EDTA (%53±1) %25 TA'den, %1 BA (%75±1) ise her ikisinden daha yüksek % hücre ölüm oranları gösterdi ($p<0.05$). Aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmayan %3 (%82±1) ve %5 (%82±1) BA ($p>0.05$) solüsyonları yukarıdaki tüm solüsyonlardan daha yüksek oran ($p<0.05$) gösterirken; %0.1 OCT, %5.25 NaOCl, %2 FA, %2 PAA, %2 CHX ve %18 HEBP solüsyonları %100 hücre ölüm oranları ile diğer tüm solüsyonlardan daha yüksek orana sahiplerdi ($p<0.05$). (**E. faecalis'le 60 sn temas sonrası; TA < EDTA < %1 BA < %3 BA = %5 BA < OCT = NaOCl = FA = PAA = CHX = HEBP**)*

Solüsyonların E. faecalis'le temas sürelerine göre birbirleri arasındaki farklılıklar incelendiğinde 5 dk'lık temasta %17 EDTA (%55±6) solüsyonuyla diğer tüm solüsyonlardan çok daha düşük % hücre ölüm oranı tespit edildi ($p<0.05$). Aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmayan %1 BA (%80±2), %3 BA (%83±1) ve %5 BA (%87±1) ($p>0.05$) solüsyonları %17 EDTA'dan daha yüksek oran ($p<0.05$) gösterirken; %0.1 OCT, %5.25 NaOCl, %2 FA, %25 TA, %2 PAA, %2 CHX ve %18 HEBP solüsyonları %100 hücre ölüm oranları ile diğer

solüsyonlardan yüksek orana sahiplerdi ($p<0.05$). (*E. faecalis*'le 5 dk temas sonrası; EDTA < %1 BA = %3 BA = %5 BA < OCT = NaOCl = FA = TA = PAA = CHX = HEBP)

*Solüsyonların E. faecalis'le temas sürelerine göre birbirleri arasındaki farklılıklar incelendiğinde 10 dk'lık temasta aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmayan %17 EDTA (85 ± 11), %1 BA (83) ve %3 BA (89 ± 1), %5 BA (89 ± 2) ($p>0.05$) solüsyonlarıyla; %100 hücre ölüm oranları gösteren %0.1 OCT, %5.25 NaOCl, %2 FA, %25 TA, %2 PAA, %2 CHX ve %18 HEBP solüsyonlarından daha düşük ölüm oranları tespit edildi ($p<0.05$). (*E. faecalis*'le 10 dk temas sonrası; EDTA = %1 BA = %3 BA = %5 BA < OCT = NaOCl = FA = TA = PAA = CHX = HEBP)*



Grafik 3.1. İrrigasyon solüsyonlarının *E. faecalis* üzerine zamana göre gösterdikleri antimikrobiyal etkilerinin istatistiksel analiz sonuçları

Tablo 3.5. DKT’te irrigasyon solüsyonlarının *C. albicans*’la temas sürelerine (zamana) göre gösterdikleri % hücre ölüm oranlarının istatistiksel olarak değerlendirilip karşılaştırılması

Solüsyon	30 sn	60 sn	5 dk	10 dk	$Tİ^{\ddagger}$ (Zaman)			$Tİ^{\&}$ (Grup X Zaman)		
					Test İst.	p	r	Test İst.	p	r
%17 EDTA	100±0 ^C	100±0 ^C	100±0 ^C	100±0 ^C	0.001	0.999	0.001			
%0.1 OCT	83±30 ^B	100±0 ^C	100±0 ^C	100±0 ^C	3.309	0.041	0.332			
%5.25 NaOCl	100±0 ^C	100±0 ^C	100±0 ^C	100±0 ^C	0.001	0.999	0.001			
%1 BA	62±29 ^A	65±26 ^A	100±0 ^C	100±0 ^C	18.144	0.001	0.731			
%3 BA	100±0 ^C	100±0 ^C	100±0 ^C	100±0 ^C	0.001	0.999	0.001			
%5 BA	100±0 ^C	100±0 ^C	100±0 ^C	100±0 ^C	0.001	0.999	0.001	3.205	0.001	0.593
% FA	100±0 ^C	100±0 ^C	100±0 ^C	100±0 ^C	0.005	0.999	0.001			
%25 TA	100±0 ^C	100±0 ^C	100±0 ^C	100±1 ^C	0.815	0.501	0.109			
%2 PAA	100±0 ^C	100±0 ^C	100±0 ^C	100±0 ^C	0.001	0.999	0.001			
%2 CHX	100±0 ^C	100±0 ^C	100±0 ^C	100±0 ^C	0.001	0.999	0.001			
%18 HEBP	66±3 ^A	72±2 ^A	78±1 ^A	82±1 ^B	343.275	0.001	0.981			
$Tİ^{\dagger}$ (Grup)	F	4.130	8.166	3030.773	795.324					
	p	0.003	0.001	0.001	0.001					
	r	0.652	0.788	0.999	0.997					

Tİ: Test istatistikleri, F: Varyans analizi, r: Etki Büyüklüğü [†]Gruplar arası karşılaştırma, [‡]Grup içi karşılaştırma, [&]Zamana göre değişimin gruplar arası karşılaştırılması, özet istatistikler ortalama ± standart sapma değer olarak verilmiştir. A<B<C: Aynı satırdaki farklı harf veya harf kombinasyonları istatistiksel açıdan anlamlı farklılığı ifade eder (p<0.05)

C. albicans'la ilgili veri ve değerlendirmelere göre (Tablo 3.5.); 11 farklı solüsyon kendi aralarında ve ölçüm alınan dört farklı zamanda istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdi ($F=3.205$ $p=0.001$).

EDTA, NaOCl, %3 BA, %5 BA, FA, TA, PAA ve CHX solüsyonları ölçüm alınan dört farklı zamanda istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermezken ($p>0.05$); OCT, %1 BA ve HEBP solüsyonları ölçüm alınan dört farklı zamanda farklılıklar gösterdi ($p<0.05$). ***(Zamana göre solüsyonların kendi içerisindeki farklılıklar)***. lm alınan dört farklı zamanda solüsyonlardan alınan ölçümler arasında anlamlı farklılıklar gözlendi ($p<0.05$). ***(Zamana göre solüsyonların birbirleri arasındaki farklılıklar)***.

%17 EDTA, %5.25 NaOCl, %3 BA, %5 BA, %2 FA, %25 TA, %2 PAA ve %2 CHX solüsyonları çalışmada yer alan 30 sn, 60 sn, 5 dk ve 10 dk'lık temas sürelerinin tamamında %100 ölüm oranları gösterdiler ($p>0.05$).

%0.1 OCT'nin 30 sn'lik temas süresinde gösterdiği hücre ölüm oranı (%83.30); %100 ölüm oranları gösteren diğer tüm zamanlardan istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşüktü ($p<0.05$).

%1 BA 30 (%62±29) ve 60 sn (%65±26)'lik temas sürelerinde birbirlerine benzer hücre ölüm oranına sahip iken 5. ve 10. dk'larda %100'lk hücre ölüm oranları ile ilk 60 sn'den daha yüksek orana sahipti ($p<0.05$).

%18 HEBP'in; 30 sn (%66±3), 60 sn (%72±2) ve 5 dk (%78±1)'lık temaslarda gösterdiği % hücre ölüm oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$). %18 HEBP'nin 10 dk'lık temas süresinde gösterdiği hücre ölüm oranı %82±1 olup, diğerlerinden istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksekti ($p<0.05$).

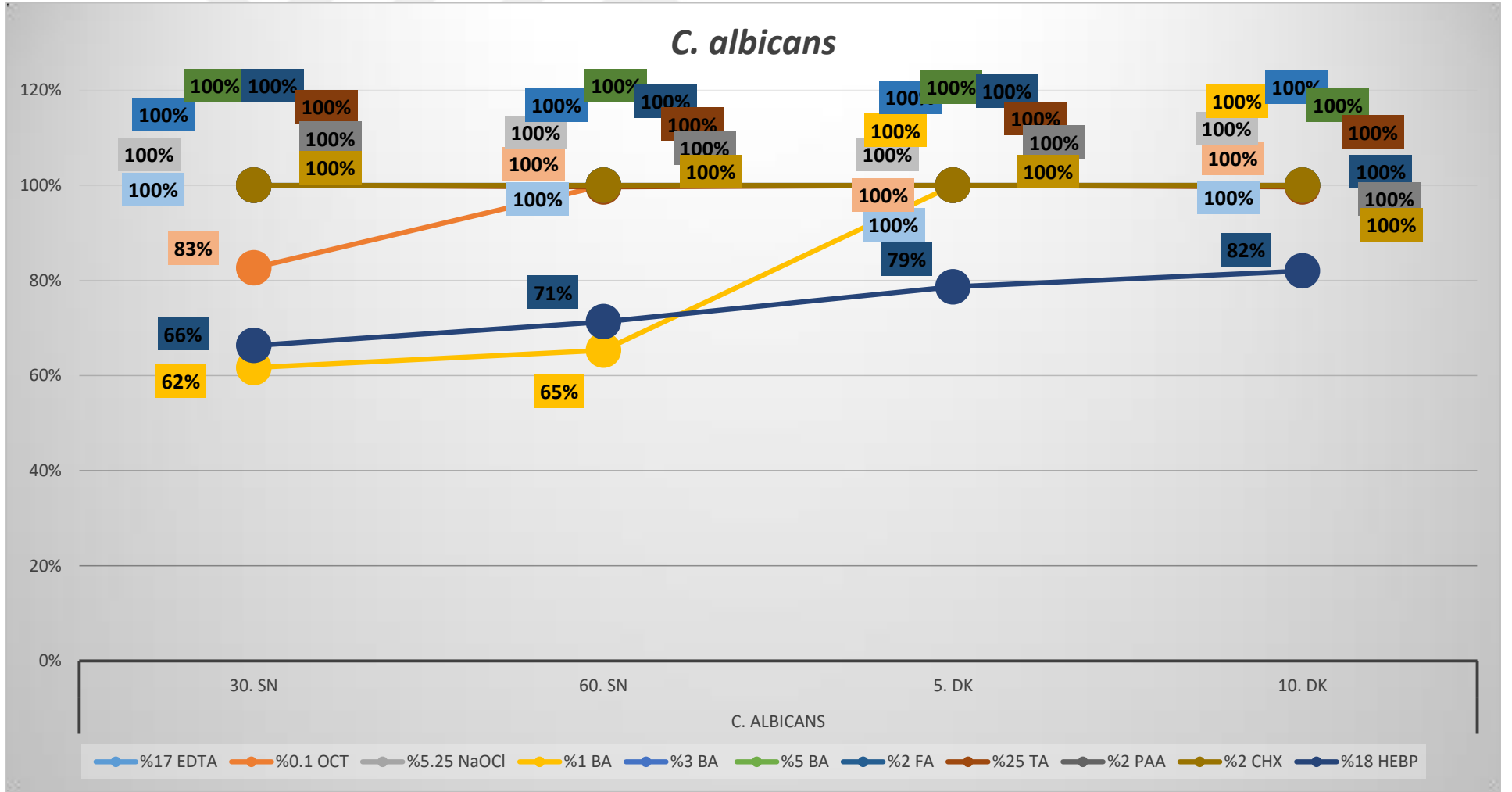
*Solüsyonların C. albicans'la temas sürelerine göre birbirleri arasındaki farklılıklar incelendiğinde 30 sn'lik temasta aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmayan %1 BA (%62±29) ve %18 HEBP (%66±3) solüsyonları ($p>0.05$) %0.1 OCT (%62±30)' den daha düşük % hücre ölüm oranlarına sahipti ($p<0.05$). %17 EDTA, %5.25 NaOCl, %3 BA, %5 BA, %2 FA, %25 TA, %2 PAA ve %2 CHX solüsyonları %100 hücre ölüm oranları ile diğer tüm solüsyonlardan daha yüksek orana sahipti ($p<0.05$). ***(C. albicans'la 30 sn temas sonrası; %1 BA****

= HEBP < OCT < EDTA = NaOCl = %3 BA = %5 BA = FA = TA = PAA = CHX)

*Solüsyonların C. albicans'la temas sürelerine göre birbirleri arasındaki farklılıklar incelendiğinde 60 sn'lik temas sonrasında aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmayan %1 BA (%65±26) ve %18 HEBP (%72±2) solüsyonlarının ($p>0.05$), %100 hücre ölüm oranları gösteren %17 EDTA, %0.1 OCT, %5.25 NaOCl, %3 BA, %5 BA, %2 FA, %25 TA, %2 PAA ve %2 CHX solüsyonlarından daha düşük ölüm oranları gösterdiği tespit edildi ($p<0.05$) (**C. albicans'la 60 sn temas sonrası; %1 BA = HEBP < EDTA = OCT = NaOCl = %3 BA = %5 BA = FA = TA = PAA = CHX**)*

*Solüsyonların C. albicans'la temas sürelerine göre birbirleri arasındaki farklılıklar incelendiğinde 5 dk'lık temas sonrasında %78±1'lik hücre ölüm oranıyla %18 HEBP; %100 hücre ölüm oranları gösteren diğer tüm solüsyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük hücre ölüm oranı göstermiş oldu ($p<0.05$). (**C. albicans'la 5 dk temas sonrası; HEBP < EDTA = OCT = NaOCl = %1 BA = %3 BA = %5 BA = FA = TA = PAA = CHX**)*

*Solüsyonların C. albicans'la temas sürelerine göre birbirleri arasındaki farklılıklar incelendiğinde 10 dk'lık temas sonrasında da %82±1'lik hücre ölüm oranıyla %18 HEBP; %100 hücre ölüm oranları gösteren diğer tüm solüsyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük hücre ölüm oranı göstermiş oldu ($p<0.05$). (**C. albicans'la 10 dk temas sonrası; HEBP < EDTA = OCT = NaOCl = %1 BA = %3 BA = %5 BA = FA = TA = PAA = CHX**)*



Grafik 3.2. İrrigasyon solüsyonlarının *C. albicans* üzerine zamana göre gösterdikleri antimikrobiyal etkilerinin istatistiksel analiz sonuçları

4. TARTIŞMA

Endodontide kök kanal sisteminde kullanılan irrigasyon solüsyonlarının antimikrobiyal etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla inatçı patojenik özelliklerinden dolayı hem *E. faecalis* hem de *C. albicans*; irrigasyon solüsyonlarının antimikrobiyal etkinliğini değerlendirmek için *in-vivo/in-vitro* deneysel yöntemlerde kullanılan önemli mikroorganizmalar olmuştur (Siqueira Jr ve ark 1997, Guerreiro-Tanomaru ve ark 2011, Luddin ve Ahmed 2013, Briseño-Marroquín ve ark 2022). Güçlü patojenik özelliklerinden dolayı *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı etkili olabilen irrigasyon ajanlarının, kök kanalında bulunabilen daha zayıf direnç mekanizmasına sahip mikroorganizmalara karşı daha rahat antimikrobiyal etkinlik göstereceği düşüncesiyle bizim çalışmamızda da *E. faecalis* (ATCC 29212) ve *C. albicans* (ATCC 90028) kullanılmıştır.

Bazı araştırmacılar antimikrobiyal etkinlik değerlendirme çalışmalarında, klinik durumu taklit edebilmek amacıyla kök kanallarına sekonder enfeksiyona maruz kalmış dişlerin kök kanallarından elde edilen mikroorganizma suşlarını uygulamışlardır (Deng ve ark 2009, Pappen ve ark 2010, Badr ve ark 2011, Stojicic ve ark 2012, Wang ve ark 2012). Ancak klinik izolatlar, çevresel etkenlerden etkilenecek zaman içerisinde genetik yapıda değişime uğrayabilir. Bunun sonucunda ise bazı genetik özellikleri daha ön plana çıkarken bazı genetik özelliklerinde gerileme ve kaybolma yaşanabilir. *E. faecalis*'in çevresel koşulların genetik yapısında değişikliğe yol açması sonucu biofilm meydana getirme kabiliyetini kaybedebileceğini belirten çalışmalar mevcuttur (Baldassarri ve ark 2001, Mohamed ve Huang 2007). Sonuç itibarıyla; klinik izolatların izole edildikleri ekolojik bölgeye göre farklı patojeniteler sergileyebilmesi, antimikrobiyal duyarlılıklarının farklı olma ihtimali, standart suş ve klinik izolatların kullanıldığı çalışmaların farklı sonuçlar gösterebilmesi ve yapılan diğer araştırmalar ile mukayese edilebilmesinin zorlaşması nedenleriyle mevcut çalışmada; farklı çalışmalarda birçok kez kullanılmış, genetik karakterleri belirli olan *E. faecalis* (ATCC 29212) ve *C. albicans* (ATCC 90028) standart suşları kullanılmıştır.

In-vivo ve *ex-vivo* araştırma yöntemlerinin yaygın bir dezavantajı, klinik durumlarda ortamda çok sayıda ve farklı türde mikroorganizma bulunabilmesidir. Bu nedenle bu tür çalışmalardan elde edilen sonuçların yalnızca belirli bir klinik durumu sınırlı ölçüde aktarabileceği gözönüne alınmalıdır. Mevcut çalışmada; irrigasyon

solüsyonlarının antimikrobiyal özellikleri *in-vitro* koşullar altında ve 2 farklı mikroorganizmaya karşı 2 farklı yöntem kullanılarak araştırılmıştır. Laboratuvar ortamında *in-vitro* olarak uygulanan çalışmaların klinik ortamı tamamıyla yansıtmama dezavantajına rağmen; *in-vivo* çalışmalarda da klinik şartlarda zamanlama sağlanmasındaki zorluklar, çalışma esnasında ağız ortamından kontaminasyon riskinin fazla olması, tedavi edilmesi istenen dişin mevcut kök kanal anatomisinin ve kanal içi mikro çeşitliliğin karmaşık yapısı, çalışmada kullanılacak solüsyonların hacim, zaman ve tatbikinin standardize şekilde yapılmasındaki zorluklar *in-vitro* deneysel prosedürlere göre daha güçtür. *In-vitro* çalışmalarda belirli bir standardın sağlanması daha kolay olduğu gibi ortaya çıkarılan sonuçlar da klinik çalışmaların gerçekleştirilmesi için öncülük eder. Bu gerekçelerle mevcut çalışma *in-vitro* koşullar altında gerçekleştirilmiştir.

İnsan veya sığır dişleri üzerinde yapılan *ex-vivo* araştırma modellerinde genellikle sterilizasyondan sonra ve araştırma parametreleri standardize edildikten sonra işleme başlanır (Zaura-Arite ve ark 2001, Sedgley ve ark 2005, Dornelles-Morgental ve ark 2011, Baldasso ve ark 2017, Hartmann ve ark 2019). Çalışmamızda kullanılan MİK ve DKT *in-vitro* modelleri; zaman tasarrufu, standartlaştırılmış parametreler ve tekrarlanabilirlik gibi avantajlara sahiptir. İnsan veya hayvan dişlerinin kullanılmadığı bu modelin kullanılmasının bir diğer avantajı ise, çok sayıda irrigasyon solüsyonunun bakterisit ve fungusit potansiyellerinin birbirleriyle daha kolay ve tekrarlanabilir şekilde karşılaştırılabilir olmasıdır.

Endodontik irrigantların, kök kanal patlarının, çeşitli medikamentlerin ve daha önce kullanılmamış ekstraktların antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmek için endodontide en sık kullanılan testlerden birisi de agar difüzyon testidir (Sassone ve ark 2008, Suwartini ve ark 2020, Basheer ve Sharma 2022). Bazı çalışmalarda test edilecek antimikrobiyal ajan tek başına agar difüzyon testi ile değerlendirilirken (Wahane ve ark 2019, Bansal ve ark 2020), bazı çalışmalarda bizim çalışmamızda olduğu gibi direkt kontakt test gibi başka yöntemlerle birlikte değerlendirilmiştir (Akçay ve ark 2010, Moazami ve ark 2020). Farklı irrigasyon solüsyonlarının antimikrobiyal etkinliklerinin agar difüzyon ve DKT ile incelendiği güncel bir çalışmada; agar difüzyon testinin, bir solüsyonun bir mikrobiyal suşa karşı ön antimikrobiyal potansiyel değerini elde etmek için kullanılabileceği ancak solüsyonunun difüzyon hızı ve agarın tamponlama kapasitesinin çalışma sonucunu

etkileyebileceği ve bu nedenle farklı irrigasyon solüsyonları veya mikroorganizmalar arasındaki karşılaştırmaları sınırlandırabileceği belirtilmiştir. Çalışmada ayrıca; diğer bir dezavantaj olarak agar difüzyon testinde mikroorganizmaların solüsyona maruz kalma süresinin en az 24 saat olmasının, bir kök kanalı irrigasyonunun bakteri ile temas halinde olacağı endodontik klinik durumu yansıtmayacağı beyan edilmiştir (Briseño-Marroquín ve ark 2022).

Agar difüzyon testinin yukarıdaki çalışmada bahsedilen dezavantajları yanı sıra antimikrobiyal etkinin agar plağında oluşan inhibisyon zon çaplarının ölçülmesiyle; az duyarlı, duyarlı, çok duyarlı şeklinde basit yorumlanması nedenleriyle mevcut çalışmamızda; doğru ya da doğrulanmış nitelikli ve kantitatif sonuçlar çıkaramayacağı öngörüsüyle agar difüzyon testi yerine MİK testi kullanılmıştır.

İlk defa kullanılacak irrigasyon solüsyonlarının antimikrobiyal etkinliklerinin incelenmesi için ön değerlendirme amacıyla MİK yöntemi de tek başına (Reller ve ark 2009, Pierce-Hendry ve Dennis 2010, Fan ve ark 2018, Bajrami ve ark 2020) ya da DKT gibi diğer bazı test yöntemleriyle birlikte kullanılmıştır (Kohli ve ark 2018). Mevcut çalışmamızda da, üzerinde çalışılan irrigasyon solüsyonlarının *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal etkinlikleri MİK ve DKT yöntemleri kullanılarak aşamalı şekilde değerlendirilmiştir.

DKT; çok sayıda mikroorganizmaya karşı, çok sayıda antimikrobiyal ajanın farklı sürelerdeki antimikrobiyal etkisini hızlı ve kantitatif şekilde ortaya koyabilmesi açısından önemli bir test yöntemidir (Derya ve Otkun 2017). Literatürde irrigasyon solüsyonlarının katı, sıvı, jel hallerinin ve kanal patlarının, planktonik olarak yetiştirilen mikroorganizmalara veya bir mikororganizma biyofilm modeline karşı antimikrobiyal etkinliklerinin DKT ile incelendiği birçok çalışma mevcuttur (Vianna ve ark 2004, Mo 2016, Šimundić Munitić ve ark 2019, Moazami ve ark 2020, Varghese ve Kurian 2020, Castillo-Villagomez ve ark 2022, Yehia ve ark 2022). Mevcut çalışmada, 11 adet irrigasyon solüsyonunun, 4 farklı sürede (30 sn, 60 sn, 5 dk, 10 dk) oluşturduğu antimikrobiyal etkiyi 2 farklı mikroorganizmaya karşı diğer *in-vitro* test yöntemlerine nazaran daha hızlı ve standart bir şekilde yapılmasını sağladığı için DKT yöntemi kullanılmıştır.

Sassone ve ark (2003) *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *Porphyromonas gingivalis* ve *Fusobacterium nucleatum*’a karşı NaOCl ve CHX’in 5 dk, 15 dk ve 30 dk’lık sürelerdeki antimikrobiyal aktivitelerini analiz etmek için DKT kullanmış ve yaptıkları deneyi 10 kez tekrarlayarak ortalama sonuç üzerinden değerlendirme yapmışlardır. Yine aynı yöntemin kullanıldığı birçok çalışmada genel olarak, yapılan deneyler ort. 3 kez tekrarlanmıştır (Vianna ve Gomes 2009, Guerreiro-Tanomaru ve ark 2011). Mevcut çalışmada DKT ile yapılan işlemler de güncel literatür taramalarına dayanarak 3 kez tekrarlanmış ve istatistiksel analizlerde bu 3 tekrar sonuçlarının ortalamaları kullanılmıştır.

İrrigantların antimikrobiyal etkinliğini değerlendiren bazı çalışmalarda rezidüel aktiviteyi önlemek için nötralize edici ajanlar kullanılırken (Ferraz ve ark 2001, Gomes ve ark 2001, Sena ve ark 2006), bazı çalışmalarda kullanılmamıştır (D’Arcangelo ve ark 1999, Tandjung ve ark 2007, Arias-Moliz ve ark 2010, Dewi ve ark 2020). Arias-Moliz ve ark (2010) bu tür çalışmalarda nötralize edici ajanların sonuçları etkileyebilecek çeşitli antimikrobiyal etkilere sahip olabileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca; literatürde çalışmamızda kullanılan OCT, HEBP, BA, PAA, TA, FA solüsyonları için herhangi bir antimikrobiyal etkisinin olmadığı belirtilen evrensel nötrleştirici ajanlardan bahsedilmemektedir. Bu nedenlerle mevcut çalışmamızda sadece NaOCl, OCT, CHX ve EDTA için nötrleştirici ajan kullanmak yerine, test edilen tüm ajanların etkisini aynı şekilde nötralize etmek için sadece damıtılmış su kullanılmış ve bu sayede çalışmadaki tüm gruplar aynı koşullar altında test edilmiştir.

Literatürde kök kanalında kullanılan NaOCl gibi geleneksel irrigasyon solüsyonlarının farklı pH değerlerinde farklı antimikrobiyal etkiler gösterdiğini belirten araştırmalar mevcut olmakla birlikte (Tawakoli ve ark 2017, Wright ve ark 2017) çalışmamızda; hazır olarak satın alınan solüsyonlar (OCT, NaOCl, EDTA, CHX) prospektüslerindeki pH değerlerinde, laboratuvar ortamında tarafımızca hazırlanan solüsyonlar (FA, PAA, BA, HEBP, TA) ise hazırlandıkları konsantrasyonlardaki pH değerlerinde kullanılmışlardır. Özellikle yeni solüsyonların literatürde farklı pH değerleriyle kullanımlarında antimikrobiyal etkinliklerinin karşılaştırıldığı çalışmaların nadir olması ve bu durumun mevcut çalışma amacının dışında olması sebepleriyle çalışmamızda her bir solüsyon hazırlandığı

konsantrasyonlardaki pH değerleriyle kullanılmış ve farklı pH değerleri kullanılarak yapılacak ileri çalışmalar için temel oluşturma niteliği kazanılmıştır.

Literatür taramalarında mevcut çalışmada kullanılan bazı alternatif irrigasyon solüsyonlarının antimikrobiyal etkinlikleri üzerine yeterli sayıda makale bulunmaması ve hatta bazılarıyla süre ile ilgili hiçbir çalışma olmaması mevcut alışmamızdaki DKT yönteminde solüsyonların literatürde en çok araştırıldığı 30 sn, 60 sn, 5 dk ve 10 dk'lık sürelerle antimikrobiyal etkinliklerinin karşılaştırılmasına dayanak oluşturmuştur.

MİK Testi

Mevcut çalışmada öncelikle, kullanılan irrigasyon solüsyonlarının *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı etkili oldukları minimum konsantrasyonlarını belirlemek amacıyla ön çalışma niteliğinde olan MİK testi uygulanmıştır. MİK testinde *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı mevcut konsantrasyonlarda bile herhangi bir etkinlik göstermediği belirlenen h-BN ve HOCl solüsyonları çalışmanın ikinci aşaması olan DKT'de kullanılmamıştır.

MİK testi optimal standardizasyon şartlarının sağlanması açısından oldukça güvenilir bir çalışma yöntemi olmakla birlikte bazı çalışmalarda benzer solüsyonların kullanıldığı sonuçlar arasında farklılıklar olabilmektedir (Tirali ve ark 2009, Bajrami ve ark 2020). Bu durumun olası nedenlerinden biri; kullllanılan *E. faecalis* ve *C. albicans* suşlarındaki farklılıklar ile suşlar standart ve aynı olsa bile elde edildikleri pasaj sayılarının mikroorganizmanın fenotipik ve genotipik özellikleriyle birlikte virölansını da etkilemesi olabilir. Mikroorganizmalar, elde edildikleri her pasajda bazı özelliklerini aktaramayıp kaybedebilmekte ya da daha güçsüzleşebilmektedir (Mohamed ve Huang 2007). Bundan başka ayrıca, verilerin elde edilmesinde kullanılan ELISA okuyucusunun kalibrasyonu, McFarland standardını sağlayan cihazın kalibrasyonu, uygulayıcının tecrübesi de MİK skorlarını etkileyebilmektedir (Sutton 2011). Bundan başka ayrıca; MİK testi sonucunda elde edilen verilerin çok yüksek hassasiyet gösteren mikro düzeyde veriler olması nedeniyle benzer çalışma sonuçları arasında görölen farklılıklar göz ardı edilerek önemsenmeyebilir.

Mevcut alışmamızda %5.25 NaOCl için MİK değeri *E. faecalis*'e karşı 1/8 (%0.656) ve *C. albicans*'a karşı 1/4 (%1.312) olarak bulunmuştur. 2011 yılında gümüş nanopartikölünün *E. faecalis* (ATCC 2367) suşuna karşı MİK değerini

belirlemeyi ve ayrıca %5.25 NaOCl ve %2 CHX solüsyonları ile karşılaştırmayı amaçlayan bir çalışmada %5.25 NaOCl'nin MİK değeri %0.328 olarak bildirilmiştir (Lotfi ve ark 2011). Çalışmamızda elde edilen sonucun buradaki değerden yaklaşık 2 kat daha düşük konsantrasyonda olmasının en önemli nedeni kullanılan *E. faecalis* suşlarının farklı olması ile ilgili olabilir. Olası bir başka neden de; ilgili çalışmada mevcut çalışmada kullanılan 96 kuyucuklu mikropleytlerle seyreltme yöntemi yerine cam tüpler kullanılmış olmasıdır.

S. aureus, *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı farklı konsantrasyonlardaki NaOCl ve OCT solüsyonlarının *in-vitro* antimikrobiyal etkinliklerinin belirlenmesi ve MİK değerlerinin tespiti amacıyla Tirali ve ark (2009) tarafından yapılan bir çalışmada, mevcut çalışmayla benzer standart suşlar kullanılmıştır (Tirali ve ark 2009). İlgili çalışma sonuçlarına göre; *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı 0.002 µg/ml olarak bulunan MİK değerleri mevcut çalışmamızda neredeyse aynı olarak *E. faecalis* ve *C. albicans*'e karşı sırasıyla, 0.004 µg/ml ve 0.001 µg/ml olarak tespit edilmiştir. Arada iki kat kadar konsantrasyon farkı olsa da çalışmalar mikro düzeylerde olduğu için değerler tolere edilebilir.

E. faecalis ve *C. albicans* üzerinde propolis, BioPure MTAD, %5 NaOCl ve %2 CHX solüsyonlarının MİK değerlerini karşılaştırmalı olarak değerlendiren bir başka çalışmada, *E. faecalis*'e karşı %5 NaOCl'nin MİK değeri 1/16 iken *C. albicans* için 1/4 olarak bulunmuştur (Arslan ve ark 2011). Mevcut çalışmada da *C. albicans*'a karşı benzer şekilde 1/4 dilüsyon değeri bulunurken *E. faecalis* için bulunan 1/8 değeri bahsedilen çalışmadan 2 katı olarak farklı çıkmıştır. MİK için elde edilen skor farklılıklarının nedeni; inokulum miktarlarının, besiyeri bileşimlerinin, solüsyon ya da kültür medyumunun pH değerleri farklılıklarının, mikroorganizmalar ve antimikrobiyal ajanlar arasındaki etkileşim üzerinde rol oynaması olabilir. Mevcut çalışma ile aynı *E. faecalis* (ATCC 29212) suşu üzerinde Bajrami ve ark (2020) tarafından yapılan bir başka çalışmada NaOCl için MİK değeri %0.7 bulunurken, Heiling ve ark (2001) tarafından %0.5 olarak bulunmuştur. Her iki çalışmada elde edilen sonuçlar, mevcut çalışmada NaOCl için elde edilen %0.656 ile benzerlik göstermektedir.

%17 EDTA solüsyonunun *E. faecalis* üzerine etkinliğini MİK yöntemiyle değerlendiren bir çalışmada, MİK skoru mevcut çalışmada bulunan 21.25 g/l'nin

yaklaşık 2 katı yani 42.5 g/l olarak bulunmuştur (Giardino ve ark 2020). Sonuçların farklı çıkmasının nedeni; ilgili çalışmada mevcut çalışmadan farklı olarak *E. faecalis* (ATCC 4083) suşu kullanılması olabilir. Al-Sheik Abidal ve ark. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada *E. faecalis*'e karşı MİK skorları, %17 EDTA için 1/512, %2 CHX için 1/64 olarak tespit edilmiştir. Sonuçlardaki farklılığın nedeni, ilgili çalışmada mevcut çalışmadan farklı olarak dilüasyon işlemi için cam tüp kullanılmış olması olabilir. *C. albicans* SK4b ve *C. albicans* ON47 suşlarının planktonik ve biyofilm hücrelerine karşı EDTA ve CHX ajanlarının antimikrobiyal etkinliğinin MİK yöntemiyle incelendiği bir çalışma sonuçlarına göre ise; iki farklı mantar suşu için EDTA %1 MİK değeri gösterirken, CHX solüsyonu 1.6 µg/ml değerini göstermiştir (Sivaranjani ve ark 2021). Mevcut çalışmada kullanılan suşlardan farklı olmasına rağmen, çalışmamızda EDTA için MİK oranı %1.06 bulunmuştur. Mevcut çalışmada CHX solüsyonu için MİK değeri ise 19,53 µg/ml bulunarak, ilgili çalışmadan farklı çıkmıştır. Bu tolere edilebilir farkın, her iki çalışmanın da mikro düzeyde yapılmış olması ve suşlardaki farklılık nedenleriyle meydana gelmiş olabileceği düşünülebilir.

Endüstriyel alanda yapılan bir çalışmada HEBP solüsyonunun *C. albicans*'a karşı MİK değeri 3125 µg/ml olarak bulunurken (Narayanan ve ark 2017), mevcut çalışmada 22480 µg/ml olarak bulunmuştur. İki çalışma sonucu arasındaki farklılık mikro düzeyde verilerin elde edildiği bu tür çalışmalarda önemsenebilir. Literatür taramalarında HEBP solüsyonunun *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı MİK testiyle değerlendirildiği başka çalışmaya rastlanmamıştır.

Literatürde FA ile ilgili *E. faecalis* ve *C. albicans* üzerine MİK yöntemiyle yapılan çalışmalar çok sınırlıdır. Aynı araştırmacı tarafından 5 yıl arayla yapılan güncel iki çalışmada, *E. faecalis* (ATCC 29212) suşuna karşı; FA %0.156 MİK skoru göstermiştir (Nassar ve Nassar 2016, Nassar ve ark 2021). Ayrıca son çalışmada araştırmacılar *C. albicans* için %1.25 MİK skoru elde etmişlerdir. Mevcut çalışmada FA için, *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı alınan MİK skorları sırasıyla %1 ve %0.5 olarak ölçülmüştür.

Mevcut çalışmamızda TA için MİK değeri *E. faecalis*'e karşı %0.006 (0.061 mg/ml), *C. albicans*'a karşı %0.003 (0.03 mg/ml) olarak bulunmuştur. Literatür taramalarında, belirli bir konsantrasyondaki TA solüsyonunun MİK skorlarını

inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak TA'nın farklı bitkilerin içeriğinde bulunan ekstrakt formlarının *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı MİK skorlarının incelendiği birçok çalışma mevcuttur (Belhaoues ve ark 2020, Saravanan ve ark 2020). Bir çalışmada, içeriğinde TA bulunan iki farklı bitkinin *E. faecalis*'e karşı MİK değerleri; *D. pinnata* ve *L. aspera* özütlerinde *E. faecalis* için 200 mg/ml olarak bildirilmiştir (Saravanan ve ark 2020). Mevcut çalışmadaki MİK skorlarının ilgili çalışmadan farklı çıkması, ilgili çalışmada yoğun bitkisel ekstrakt kullanılmış olması ile açıklanabilir.

BA üzerine yapılan çalışmalar genellikle tıp literatüründe yer alan ve *Candida* türleri üzerine yapılmış çalışmalardır (Adriztina ve ark 2018, Ulu ve ark 2018). Yapılan dental literatür taramalarında BA solüsyonuyla *E. faecalis* üzerine, farklı yöntemlerle yapılan çalışmalar bulunsa da (Recai ve ark 2013, Zer ve ark 2022), MİK yönteminin kullanıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Yapılan bir çalışmada, vajinal enfeksiyon için potansiyel bir tedavi ajanı olarak BA'nın, *C. albicans*'a karşı MİK yöntemi ile etkin dozuna bakılmıştır. Çalışma sonucunda MİK değerlerinin 1563 µg/ml ile 6250 µg/ml arasında olduğu ve BA'nın fungistatik özellikler sergilediği belirtilmiştir (De Seta ve ark 2009). Mevcut çalışmada kullanılan BA solüsyonu MİK değerleri de %1, 3, 5 lik konsantrasyonlar için sırasıyla; 5000 µg/ml (5 mg/ml), 15000 µg/ml (15 mg/ml), 6250 µg/ml (6.25 mg/ml) olarak bulunmuş olup, çalışma boyutunun mikrodüzeyde olduğu düşünülerek anlamlı şekilde benzer sonuçlar verdiği görülmüştür. BA solüsyonunun *C. albicans*'ın da aralarında bulunduğu çeşitli *Candida* türleri üzerine antimikrobiyal etkinliğinin araştırıldığı bir başka çalışma sonucuna göre ise MİK değeri *C. albicans* için 60 mg/ml olarak bulunmuştur (Eliuz 2020). Mikrodüzeyde değerlendirildiği gözönüne alındığında mevcut çalışmayla yakın sonuçlar ortaya çıktığı görülmektedir.

Mevcut çalışmamızda %2 PAA için MİK değeri *E. faecalis*'e karşı %0.0625, *C. albicans*'a karşı %0.125 olarak bulunmuştur. Literatür taramalarında %2 PAA solüsyonunun *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal etkinliğini MİK yöntemiyle değerlendirilen çalışmalara rastlanmamıştır.

DKT Yöntemi

Sodyum Hipoklorit (NaOCl)

NaOCl; mevcut çalışmada ve *E. faecalis* ve *C. albicans* üzerine antimikrobiyal etkinlik değerlendirilen birçok çalışmada, literatürde etkinliği en çok araştırılan konsantrasyon olan %5.25'lik konsantrasyonda kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı altın standart ve pozitif kontrol grubu olarak kullanılan NaOCl'nin günümüzde toksik etkisinin daha düşük ve etkisinin optimal olarak düşünüldüğü %2.5 konsantrasyonda kullanılmasını tavsiye eden çalışmalar (Essner ve ark 2011) olsa da, düşük konsantrasyonlarda antimikrobiyal etkisinin azaldığı (Tirali ve ark 2013, Briseño-Marroquín ve ark 2022) ya da aynı etki için daha uzun sürelerde uygulanması gerektiğini bildirilen çalışmalar da mevcuttur (Gomes ve ark 2001, Vianna ve Gomes 2009). Mevcut çalışmada toksik etkisinden bağımsız olarak, literatürde ve endodonti pratiğinde en çok kullanılan konsantrasyon olan %5.25 oranında kullanılmıştır (Taha 2019, Briseño-Marroquín ve ark 2022). Mevcut çalışmada %5.25 NaOCl'nin yer almasının diğer önemli nedenleri; *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı etkisinin yüksek düzeyde olması ve literatürde çalışmamızda kullanılacak yeni irrigasyon solüsyonlarıyla 4 farklı zaman diliminde ve DKT yöntemiyle karşılaştırmasının bulunmamasıdır. Mevcut çalışmadaki DKT testinde %5.25 NaOCl'nin hem *E. faecalis* hem de *C. albicans*'a karşı 30. sn'den itibaren tüm mikroorganizmaları yok ederek yüksek antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğu belirlenmiştir.

E. faecalis ve *C. albicans*'ın da dahil olduğu birçok endodontik patojene karşı, %0.2, %1 ve %2 CHX sıvı ve jel formlarının antimikrobiyal aktivitesini %0.5, %1, %2.5, %4 ve %5.25 NaOCl ile karşılaştırmak amacıyla DKT yöntemi ile yapılan bir çalışmada sıvı %1, %2 CHX'in *E. faecalis* ve *C. albicans*'ı 15 sn sonunda %100 elimine ettiği belirtilmiştir (Vianna ve ark 2004). Sıvı %0.2 CHX'in ise 15 sn de *C. albicans*'ı, 30 sn sonunda ise *E. faecalis*'i tamamen elimine ettiği bildirilmiştir. İlgili çalışmada, CHX jel formunun başarısının konsantrasyonuna bağlı olarak 15 sn ile 2 saat arasında uzadığı tespit edilmiştir. %5.25 NaOCl'nin ise 15 sn'de hem *E. faecalis* hem de *C. albicans*'ı tamamen ortadan kaldırdığı rapor edilirken, %0.5 NaOCl'nin 30 dk, %1 NaOCl'nin 20 dk, %2.5 NaOCl'nin 10 dk ve %4 NaOCl'nin 5 dk gibi uzayan sürelerde %100 antimikrobiyal etki gösterdiği bildirilmiştir. Bu ve benzer

Çalışmalarda (Vianna ve ark 2004, Vianna ve Gomes 2009, Briseño-Marroquín ve ark 2022) %5.25 NaOCl daha düşük konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında süre bakımından daha başarılı bulunması nedeniyle mevcut çalışmada NaOCl, %5.25'lik konsantrasyonda kullanılmıştır. Mevcut alışmada, Vianna ve ark (2004) tarafından kullanılan konsantrasyonlarda %5.25 NaOCl ve %2 CHX kullanılmış ve aynı method olan DKT yöntemiyle her iki solüsyon da 30 sn ve diğer tüm sürelerde aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadan aynı şekilde %100 antimikrobiyal sonuçlar ortaya çıkarmıştır ($p>0.05$). Aynı araştırmacının içinde bulunduğu bir ekip, 2001 yılında yine aynı yöntem ile sadece *E. faecalis* üzerine yaptıkları çalışmalarında da aynı sonuçları elde ederek mevcut çalışmamızla da uyumlu olan sonuçlarıyla kendi çalışmalarını doğrulamışlardır (Gomes ve ark 2001).

%1'lik konsantrasyondaki farklı ticari PAA solüsyonlarının, %2.5 NaOCl ve %17 EDTA'yla hem sitotoksite hem de *E. faecalis* biyofilmi üzerine antibiyofilm etkinliklerinin DKT yöntemiyle incelendiği bir çalışmada; 3. dk'da %2.5 NaOCl ve bazı PAA solüsyonlarının biofilmi tamamen elimine ettikleri bildirilmiştir (Viola ve ark 2022). İlgili çalışmada, mevcut çalışmadan farklı olarak yarı konsantrasyonda kullanılan %1 PAA ve %2.5 NaOCl solüsyonlarının *E. faecalis* biofilmini dahi kaldırması, çalışmamızda kullanılan planktonik formdaki *E. faecalis*'i rahat bir şekilde elimine edebileceğini gösterdiği için mevcut çalışmayı destekler nitelikte önem teşkil etmektedir.

Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (EDTA)

%17 EDTA solüsyonu smear tabakasının inorganik yapısını uzaklaştırmada organik dokuyu çözme kabiliyetine sahip NaOCl'nin çeşitli konsantrasyonlarıyla birlikte smear tabakasını uzaklaştırmak amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır (Torabinejad ve ark 2003, Guo ve ark 2014). Smear tabakasının inorganik kısmını uzaklaştırmadaki başarısından dolayı birçok çalışmada antimikrobiyal etkinliği de araştırılmıştır (Powell ve ark 2019, Raheem ve Ghaima 2021). Mevcut alışmamızda da literatürde en çok kullanılan konsantrasyonu olan %17'lik konsantrasyonda kullanılmış ve antimikrobiyal etki bakımından çalışmamızda araştırılması planlanan diğer irrigasyon solüsyonlarıyla karşılaştırılması amacıyla çalışmaya dahil edilmiştir.

Mevcut alışmada %17 EDTA, %5.25 NaOCl, %2 CHX, %3 BA, %5 BA, %2 FA, %25 TA ve %2 PAA solüsyonları *C. albicans*'a karşı tüm sürelerde

aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadan %100 başarılı bulunmuştur ($p>0.05$). Yapılan bazı çalışmalarda, EDTA solüsyonu antifungal etki bakımından mevcut çalışmadan farklı olarak zayıf bulunmuştur (Chandra ve ark 2010, Subramaniam ve ark 2022). Bir çalışmada, EDTA'nın agar plağı üzerinde bir inhibisyon bölgesi oluşturduğu ancak test tüpünde 24 saatlik inkübasyon sonrasında bile canlı mikroorganizma sayısını azaltamadığı gösterilmiştir (Ingle ve Baumgartne 2008). *C. albicans* (ATCC 60193) suşu üzerine, son yıkama solüsyonu olarak %6 NaOCl, %2 CHX, %17 EDTA ve BioPure MTAD'nin antifungal etkinliğini çekilmiş insan dişleri üzerinde karşılaştırmayı amaçlayan bir çalışma sonucuna göre; %6 NaOCl ve %2 CHX'in antifungal aktivitede eşit derecede etkili olup, BioPure MTAD ve %17 EDTA'ya göre istatistiksel olarak anlamlı derecede üstün olduğu gösterilmiştir ($p<0.05$) (Ruff ve ark 2006). %5.25 NaOCl, %2 CHX, %17 EDTA ve %1 klotrimazol solüsyonlarının *C. albicans* üzerine antifungal etkilerini, yukarıdaki çalışmada kullanılan yöntemle inceleyen bir başka çalışmada; %5.25 NaOCl ve %2 CHX'in antifungal aktivitede eşit derecede etkili olup, %1 klotrimazol ve %17 EDTA'ya üstün oldukları bildirilmiştir (Chandra ve ark 2010).

Bazı çalışmalarda ise EDTA solüsyonu, mevcut çalışmadakine benzer şekilde antifungal etkili bulunmuştur (Sen ve ark 2000, Akçay ve ark 2010). 2000 yılında yapılan bir çalışmada; diş tedavisi gören böbrek transplantasyonu geçirmiş bir hastanın ağız boşluğundan ve kök kanallarından alınan üç farklı *C. albicans* klinik izolatu; %2.5 NaOCl, %5 NaOCl, %17 EDTA ve %0.2 CHX gibi solüsyonlar ile povidon-iyodin, nistatin ve ketokonazol gibi antifungal ilaçların etkinliğini belirlemek amacıyla agar difüzyon yöntemi ile değerlendirilmiştir (Sen ve ark 2000). %17 EDTA'nın, rutin antifungal ilaçlara ve diğer tüm solüsyonlara kıyasla en yüksek antifungal aktiviteyi gösterdiği bildirilen bu çalışma sonucunda kök kanal tedavi işlemlerinde %17 EDTA kullanımı şiddetle tavsiye edilmiştir. Yapılan bu çalışma, yöntem ve kullanılan suşların klinik izolatlardan elde edilmesi nedenleriyle metod olarak mevcut çalışmadan farklılıklar göstermekle birlikte; mevcut çalışmada %17 EDTA için bulunan olumlu antifungal etki, bu çalışmayı destekler niteliktedir.

Gil ve ark (Gil ve ark 1994) EDTA'nın, *C. albicans*'ın protein ve DNA sentezini etkilemediğini beyan etmiş ancak EDTA'nın *C. albicans*'a karşı etkinlik göstermesini: mikroorganizma kolonizasyonunu engellemesi ve büyümeyi önleyici özellikler göstermesi olarak açıklamışlardır. Bazı çalışmalarda Ca^{+2} iyonları

varlığının, *C. albicans*'ın çeşitli hücre dışı matris proteinlerine yapışma kapasitesinde ve hücre morfogenezinin kontrolünde kritik bir rolü olduğu beyan edilmiştir (Klotz ve ark 1993, Thaweboon ve ark 2021). EDTA, ortamdaki Ca^{+2} iyonlarını şelatlayarak *C. albicans*'ın proteinlere, doza bağlı olarak bağlanmasını engeller. EDTA, hücre duvarlarından Ca^{+2} 'yı uzaklaştırarak, hücre duvarında çökmelere neden olur ve enzim reaksiyonunu engelleyerek *C. albicans*'ın büyümesini azaltır (Pugh ve Cawson 1980). *C. albicans* dentinde bulunan kollojen ve kalsiyumu kullanarak besin ihtiyacını karşılayabilir (Hagihara ve ark 1988).

Yukarıda açıklanan nedenlerle mevcut çalışmamızda %17 EDTA solüsyonunun antifungal etkili bulunmasının önemli bir gerekçesi çalışmamızda diş dokusu kullanımının olmadığı DKT yönteminin kullanılmış olması olabilir. DKT yönteminde EDTA, kültür medyumundaki *C. albicans*'a karşı incelenirken, klinik ortamda Ca^{+2} ve kollajen gibi ideal besin ortamı da barındıran diş dentin dokusu temasıyla incelenmektedir. Dolayısıyla laboratuvar ortamında yapılan ve diş dokusu kullanılmayan çalışmamızda, EDTA'nın şelasyon etkisini dentin dokusunda kaybetmek yerine mikroorganizma hücre duvar yapısına ve kültür medyumuna odaklayıp, *C. albicans* metabolizması için gerekli Ca^{+2} 'u hücre duvarından etkili bir şekilde uzaklaştırarak gösterdiği ve diş dokusu kullanılan çalışmalara göre daha başarılı sonuç ortaya çıkardığı düşünülebilir.

Akçay ve ark (2010) tarafından yapılan bir çalışmada süper oksit, %2.5 NaOCl, %2 CHX ve %5 EDTA'nın *E. faecalis* (ATCC 29212) ve *C. albicans* (ATCC 10239)'a karşı antimikrobiyal etkinlikleri disk difüzyon ve DKT yöntemleri kullanılarak karşılaştırılmıştır. DKT'de tüm solüsyonların 30 sn, 60 sn, 3 dk ve 5 dk sürelerinde *E. faecalis* ve *C. albicans*'ı etkili bir şekilde elimine ettikleri ($p>0.05$) bildirilmiştir. İlgili çalışmada EDTA ve NaOCl mevcut çalışmaya göre daha düşük konsanstrasyonlarda kullanılmasına rağmen; ortak olan 30 sn, 60 sn ve 5 dk sürelerinde *C. albicans*'a karşı %100 etkili bulunmuştur. İlgili çalışma mevcut çalışmada olduğu gibi *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı hem DKT yönteminin kullanılması hem de üç sürenin aynı olması (30 sn, 60 sn, 5 dk) bakımından yöntem olarak benzerlik göstermektedir. Mevcut çalışmada %17 EDTA, %2 CHX, %5.25 NaOCl solüsyonları *C. albicans*'ı tüm sürelerde %100 elimine ederken ($p>0.05$), *E. faecalis*'i %2 CHX ve %5.25 NaOCl tüm sürelerde %100 elimine etmiştir ($p>0.05$). Mevcut çalışmada %17 EDTA solüsyonu *E. faecalis*'e karşı zamanla artan

değerlerde etkinlik göstermiş olmasına rağmen 10. dk'nın sonunda ancak %84'lük eliminasyon sağlamıştır. EDTA için ilgili çalışmayla mevcut çalışma arasındaki bu sonuç farklılığı; mevcut çalışmada EDTA'nın %5 değil %17 konsantrasyonda kullanılmasıyla açıklanabilir.

İrrigantların antimikrobiyal etkinliğini değerlendiren bazı çalışmalarda, herhangi bir rezidüel aktiviteyi önlemek için nötralize edici ajanlar kullanılmasına rağmen (Ferraz ve ark 2001, Gomes ve ark 2001, Sena ve ark 2006), kültür ortamından kalsiyum uzaklaştırma özellikleri nedeniyle çalışmamızda EDTA için herhangi bir nötralize edici bir ajan kullanılmamıştır. Yukarıda bahsedilen benzer çalışmada da (Akçay ve ark 2010) nötralize edici ajan kullanılmamıştır.

Mevcut çalışmada EDTA; DKT'de *C. albicans*'a karşı NaOCl ve CHX kadar etkiliyken, *E. faecalis*'e karşı diğer solüsyonlar kadar başarılı etki gösteremese de zamana bağlı olarak etkisi artan nitelik göstermiştir. Çoğu araştırmada EDTA'nın antimikrobiyal etkisinin yeterli olmadığı rapor edilirken (Ingle ve Baumgartne 2008, Subramaniam ve ark 2022), Akçay ve ark (2010)'nın çalışmasında ve mevcut çalışmada benzer şekilde güçlü antifungal ve nispi antibakteriyel etki sergilemesi, inhibe edici ajan kullanılmamasına bağlı olarak solüsyonun rezidüel etkisinin bir süre daha devam etmesinden kaynaklı da olabilir.

Klorheksidin Diglukonat (CHX)

Endodontide sıklıkla kullanılan CHX solüsyonunun *E. faecalis* ve *C. albicans* üzerine etkileri birçok çalışmada ortaya konulmuştur (Cherian ve ark 2016). Doku çözme özelliğinin bulunmaması, NaOCl ile birleşiminde parakloranilin (PCA) oluşturması (Siddique ve ark 2019) gibi dezavantajları, mevcut çalışmaya CHX'e alternatif olabilecek solüsyonlar dahil edilmesinde gerekçe oluşturmuş ve bu irrigasyon solüsyonlarının CHX'le karşılaştırılmasında CHX en yaygın kullanılan %2'lik konsantrasyonda (Makkar ve ark 2015, Dewi ve ark 2020) kullanılmıştır.

Mevcut çalışmamızda CHX, test edilen tüm sürelerde hem *E. faecalis* hem de *C. albicans* üzerine %100 etkili bulunmuştur.

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada %1, %6, %10 sitrik asit (CA), %2 CHX ve sitrik asitle karıştırılmış CHX solüsyonlarının (%1, %6, %10 CA+CHX), smear tabaka kaldırma özellikleriyle birlikte *E. faecalis* (ATCC 29212) ve *C. albicans*

(ATCC 10231) suşları üzerine antimikrobiyal etkileri DKT yöntemiyle 30 sn, 60 sn, 90 sn, 120 sn sürelerinde incelenmiştir (Dewi ve ark 2020). Çalışma sonuçlarına göre; %2 CHX ve CHX içeren CA solüsyonları (%1, %6, %10 CAmCHX), hem *E. faecalis*'i hem de *C. albicans*'ı 30 sn sonunda tamamen ortadan kaldırmıştır. Dewi ve ark (2020)'nın bu çalışması; DKT yöntemi kullanılması, 30 sn ve 60 sn gibi ortak süreler bulunması ve ayrıca %2 CHX solüsyonunun mevcut çalışmada olduğu gibi *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı 30. sn'den itibaren %100 eliminasyon sağladığının gösterilmiş olması bakımlarından hem metot hem de elde edilen sonuçlar açısından mevcut çalışmamızla benzerlik göstermektedir.

CHX, *E. faecalis* üzerine antimikrobiyal etkinlik açısından PAA ile kıyaslandığı bazı çalışmalarda benzer ya da daha etkili bulunurken (Guerreiro-Tanomaru ve ark 2011, Ordinola-Zapata ve ark 2013, de Oliveira Brandão-Neto ve ark 2021), bazılarında daha az etkili bulunmuştur (Subha ve ark 2013, Arias-Moliz ve ark 2015). Mevcut çalışmamızda %2 CHX ve %2 PAA test edilen tüm sürelerde hem *E. faecalis* hem de *C. albicans* üzerine aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark olmaksızın %100 etkili bulunmuştur ($p<0.05$).

CHX'in *E. faecalis* üzerine antimikrobiyal etkinlik açısından FA ile kıyaslandığı bir çalışmada iki solüsyon da benzer etkili bulunmuştur (Brooks ve ark 2004). %2 CHX *E. faecalis* üzerine mevcut çalışmamızda test edilen tüm sürelerde %100 etkili bulunurken; %2 FA ilk 30 sn'de 60 ± 8 oranında, 60 sn temas sonrasında ise %100 etkili bulunmuştur ($p<0.05$).

CHX, *E. faecalis* üzerine antimikrobiyal etkinlik açısından OCT ile karşılaştırıldığı bazı çalışmalarda benzer ya da daha etkili bulunurken (Makkar ve ark 2015, Guneser ve ark 2016), bazılarında daha az etkili bulunmuştur (Tirali ve ark 2013, Cherian ve ark 2016, Bukhary ve Balto 2017). *C. albicans*'a karşı yapılan bir çalışmada ise OCT ve CHX benzer etkiler gösterirken (Ghivari ve ark 2017), bir başka çalışmada OCT'nin daha etkili olduğu hatta CHX'in etkisiz olduğu bildirilmiştir (Tirali ve ark 2013). Mevcut çalışmamızda %2 CHX ve %0.01 OCT test edilen tüm sürelerde hem *E. faecalis* hem de *C. albicans* üzerine %100 etkili bulunmuştur ($p>0.05$).

CHX'nin, *C. albicans* üzerine antimikrobiyal etkinlik açısından EDTA ile kıyaslandığı bir çalışmada, CHX başarılı bulunurken (Ruff ve ark 2006), bir başka

çalışmada EDTA daha etkili bulunmuştur (Sen ve ark 2000). Mevcut çalışmamızda %2 CHX ve %17 EDTA test edilen tüm sürelerde hem *E. faecalis* hem de *C. albicans* üzerine %100 etkili bulunmuştur ($p>0.05$).

Hem *E. faecalis* hem de *C. albicans*'a karşı yapılan bir antimikrobiyal etkinlik çalışmasında EDTA ve CHX etkili bulunmuştur (Akçay ve ark 2010). İki mikroorganizma üzerine yapılan bir başka çalışmada CHX, bu kez NaOCl ile kıyaslanmış ve her iki mikroorganizmaya karşı başarılı bulunmuştur (Vianna ve ark 2004).

Oktenidin Dihidroklorit (OCT)

%2.5 ve %5 $\text{Ca}(\text{OCl})_2$, %0.1 OCT, %2.5 NaOCl ve %2 CHX'in 10 dk boyunca L929 insan periodontal ligament (hPDL) hücreleriyle temasında sitotoksitesini ve hücre migrasyonunu metil-tiazol-tetrazolyum (MTT) ve nötr kırmızı (NR) analizleri ile değerlendiren bir çalışmada; test edilen hücre hatlarında %0.1 OCT'nin sitotoksitesi %2 CHX, %5 $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ ve %2.5 NaOCl'den daha düşük, hücre göçü ise %0.1 OCT, %2 CHX ve %2.5 $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ için daha yüksek bulunmuş ve bu nedenlerle OCT ve $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 'nin kök kanal irrigantı olarak kullanılma potansiyeline sahip oldukları belirtilmiştir (Coaguila-Llerena ve ark 2019). OCT'nin bu ve benzer diğer çalışmalarla (Schmidt ve ark 2016, Coaguila-Llerena ve ark 2020) geleneksel irrigantlardan daha az sitotoksite gösterdiği öne sürülerek alternatif olarak önerilmiş olması gözönüne alınarak, antimikrobiyal özellikleri incelenip diğer solüsyonlarla karşılaştırılmak üzere mevcut çalışmaya dahil edilmiştir.

OCT'nin uzun süreli bakteriyel adhezyon önleyici aktivitesinin CHX'den daha etkili olduğu gösterilmiştir (Goel ve ark 2018). Ayrıca, CHX-NaOCl karışımı sonucu parakloranilin (PCA) oluştuğu bilinmektedir. OCT-NaOCl karışımında ise beyazımsı bir çökelti oluşmakta, renk zamanla şeffafa değişirken, çökeltinin de dentin tübüllerini kısmen tıkadığı belirtilmektedir (Thaha ve ark 2017). Literatür taramalarında, oluşan bu beyazımsı çökeltinin toksik olduğu yönünde herhangi bir bilginin bulunmaması ve bakteriyel adhezyon önleyici aktivitesinin yüksek olması da OCT'ni CHX solüsyonuna alternatif olarak düşünmemize ve mevcut çalışmamızda yer vermemize neden diğer önemli nedenler olmuştur.

Ghivari ve ark. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, %0.1 OCT'nin *E. faecalis* ve *S. aureus*'a 30 sn'de, *C. albicans*'a 10 sn'de antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Aynı çalışmada OCT'nin ayrıca, *C. albicans*'a karşı %2 CHX ile benzer antifungal aktiviteye sahip olduğu, *E. faecalis* ve *S. aureus*'a karşı ise %5.25 NaOCl'ye kıyasla daha düşük etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. Mevcut çalışmamızda %0.1 OCT solüsyonu *E. faecalis*'e karşı 30. sn'de, *C. albicans*'a karşı 60. sn'de %100 etki göstermiş, NaOCl ve CHX ise çalışılan tüm sürelerde her iki mikroorganizmayı da %100 elimine ederek başarılı bulunmuştur.

E. faecalis'e karşı %2 CHX ile %0.1 OCT'nin antimikrobiyal etkilerini pasif ultrasonik irrigasyon ve pasif ultrasonik irrigasyon olmadan karşılaştıran *in-vitro* bir çalışmada, iki farklı derinlikte (200 µm ve 400 µm) dentin talaşı toplanarak CFU sayıları belirlenmiştir (Cherian ve ark 2016). Çalışma sonucunda pasif ultrasonik irrigasyonun, irrigantların antimikrobiyal etkisini arttırdığı ve %0.1 OCT'nin, hem 200 µm hem de 400 µm'de *E. faecalis*'e karşı % 2 CHX'den daha etkili olduğu bulunmuştur. Mevcut çalışmada *E. faecalis*'e karşı OCT ve CHX eşit derecede başarılı bulunurken, ilgili çalışmada OCT daha başarılı bulunmuştur. Mevcut çalışmada sonucun farklı çıkmasının nedeni, diğer çalışmanın dentin dokusu üzerinde yapılmış olması ve pasif ultrasonik aktivasyon kullanılmış olması olabilir.

Tirali ve ark (2009) tarafından yapılan *in-vitro* bir çalışmada farklı temas sürelerinde farklı konsantrasyonlardaki NaOCl (%0.5, %2.5, %5.25) ve OCT (%0.001, %0.01, %0.05, %0.10)'nin, *S. aureus*, *E. faecalis* ve *C. albicans* dahil olmak üzere dirençli mikroorganizmaların eliminasyonundaki etkinliği araştırılmış ve %2.5 NaOCl'nin aerobik (*C. albicans* ve *S. aureus*) ve fakültatif anaerob mikroorganizmaları (*E. faecalis*) ortadan kaldırmak için %5.25 NaOCl'den daha uzun bir süreye gereksinim duyduğu belirtilmiştir. Çalışma sonucunda ayrıca %0.1 ve %0.05 OCT'nin test edilen tüm mikroorganizmaları sadece 15 sn'de ortadan kaldırdığı; %0.001, % 0.01 OCT ve %0.5 NaOCl'nin ise mikroorganizmaların hiçbirinin büyümesini engellemeyemediği belirtilmiştir. Tirali ve ark (2009) çalışma sonucunda irrigasyonların antimikrobiyal etkilerini, en güçlüden en zayıfa doğru; %0.1 OCT = %0.05 OCT > %5.25 NaOCl > % 2.5 NaOCl şeklinde sıralamışlardır. Mevcut çalışmamızda ise *E. faecalis*'e karşı %5.25 NaOCl ve %0.1 OCT tüm sürelerde %100 etkili olarak benzer antibakteriyel etki göstermişlerdir.

Farklı konsantrasyonlardaki OCT (%0.025, %0.05 ve %0.1) ve CHX (%0.2, %1 ve %2)'nin *E. faecalis* (ATCC 29212)'e karşı antibakteriyel etkinliklerinin iki farklı yöntemle karşılaştırıldığı bir çalışmada, mikroskop ile CFU sayımı sonrası 3 dk'lık temas süresinden sonra %0.1 OCT ve %2 CHX konsantrasyonlarında bakteri kolonilerinin sıfıra indiği; agar diffüzyonda ise OCT'nin tüm konsantrasyonlarının %1 CHX ve %3 NaOCl'den daha büyük inhibisyon zonları gösterdiği bildirilmiştir (Makkar ve ark 2015).

Bir başka çalışmada, %0.1 OCT, %1 alexidin (ALX), %2 CHX ve %5.25 NaOCl'nin *E. faecalis*'e karşı antibakteriyel etkinliğini konfokal lazer taramalı mikroskopu (CLSM) kullanarak değerlendirmek için dentin diskleri üzerinde *E. faecalis* (ATCC 29212) biyofimi oluşturulmuştur (Bukhary ve Balto 2017). Enfekte dentin diskleri 10 dk süreyle solüsyonlara maruz bırakılmıştır. Çalışma sonucunda; NaOCl'nin; OCT, CHX ve ALX'e göre önemli ölçüde daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu ve OCT'nin, CHX ve ALX'ten daha etkili olduğu bildirilmiştir. Mevcut çalışmamızda %5.25 NaOCl, % 0.1 OCT, %2 CHX tüm sürelerde *E. faecalis* planktonik formuna aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadan %100 etkili çıkmıştır ($p>0.05$). Bukhary ve Balto (2017)'nin çalışmasında mevcut çalışmamızdan farklı olarak dentin diskleri ve CLSM kullanılmış olması nedenleriyle sonuçlar tam anlamıyla kıyaslanamasa da, OCT'nin biyofilme dahi etkisinin güçlü olduğunu görmek, bu solüsyonu CHX'e alternatif olarak düşünmemize ve çalışmamızda yer vermemize gerekçe oluşturmuştur. CHX'le ilgili olarak mevcut çalışmamızla ilgili çalışma arasındaki sonuç farklılığı; yöntem farklılıkları yanısıra çalışmamızda *E. faecalis* biyofilmi yerine planktonik formunun kullanılmış olması ile açıklanabilir.

2016 yılında yapılan bir çalışmada araştırmacılar, *E. faecalis* 'le enfekte dentin talaşları kullanarak %0.2 OCT, %2.5 ve %5.25 NaOCl, %2 CHX solüsyonlarının antibakteriyel etkinliklerini SEM ile karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar OCT'nin, NaOCl ve CHX kadar etkili olduğunu bildirmiş olup (Guneser ve ark 2016), mevcut çalışma sonuçlarımız bu sonucu destekler niteliktedir.

Goel ve ark (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, OCT'nin, CHX ve hatta NaOCl'nin antimikrobiyal performansından daha iyi olduğu ileri sürülmüştür. Coaguila-Llerena ve ark (2019) konsantrasyonuna bağlı olarak OCT'nin, NaOCl'den

daha etkili olduğunu ve nispeten daha az toksik olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde, daha önce yapılan bir çalışma da farklı konsantrasyonlardaki OCT'nin antimikrobiyal etkinliğinin, *S. aureus*, *E. faecalis* ve *C. albicans* gibi endodontik mikroorganizmalara karşı %5.25 NaOCl'den daha etkili olduğunu beyan etmiştir (Tirali ve ark 2009). Ancak bazı araştırmacılar OCT'nin tek başına bir irrigant olma potansiyelinin zayıf doku çözücü özellikleri nedeniyle sınırlı olduğunu rapor etmişlerdir (Bhavsar ve ark 2022, Chundi ve ark 2022).

Güncel bir çalışmada; %17 EDTA + %5.25 NaOCl, %0.1 OCT, %17 EDTA + %5.25 NaOCl + 1% clotrimazole ve fosfat salinin kullanıldığı, CFU sayımı ve CLSM yöntemleri ile nitel kantitatif değerlendirmelerin yapıldığı bir çalışmada, fosfat salin dışında kullanılan tüm endodontik irrigantların *C. albicans* (ATCC 90028)'a karşı etkili olduğu belirtilmiştir (Reddy ve ark 2020). Benzer solüsyonların da içinde bulunduğu ancak kombine kullanılmadıkları mevcut çalışmamızda da benzer şekilde; *C. albicans* üzerine %0.1 OCT 60. sn'den, %1 BA ve %18 HEBP haricindeki diğer tüm solüsyonlar ise 30.sn'den itibaren %100 etki göstererek başarılı bulunmuşlardır.

NaOCl, CHX ve OCT'nin farklı konsantrasyonlardaki antimikrobiyal aktivitesini *in-vitro* agar diffüzyon yöntemiyle *E. faecalis* (ATCC 29212), *C. albicans* (ATCC 10231) ve bunların karışımı üzerine değerlendiren bir çalışmada; %5.25 NaOCl, tüm suşlar için diğer NaOCl konsantrasyonlarından (%0.5, %2.5) daha iyi antimikrobiyal etki göstermiş, tüm OCT (%0.025, %0.05 ve %0.1) konsantrasyonları *C. albicans* ve *E. faecalis*'e karşı etkili bulunmuştur. Ayrıca %0.2 CHX tüm mikroorganizmalar üzerinde etkisiz bulunmuştur. Tüm deneysel çözeltilerin antibakteriyel etkinliği, suşların karıştırılması durumunda azalan etkinlik göstermiştir. Çalışmada ayrıca NaOCl'nin konsantrasyonunun azalmasıyla, antimikrobiyal etkinliğinin de önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir (Tirali ve ark 2013). Bu çalışmada kullanılan agar diffüzyon test yöntemi mevcut çalışmada kullandığımız yöntemden farklı bir yöntem olsa da, OCT'yi başarılı bularak ön plana çıkarmıştır. İlgili çalışmada %0.2 CHX'in başarısız bulunması ise mevcut çalışmadan 10 kat daha seyrek konsantrasyonda kullanılmasıyla açıklanabilir.

NaOCl, %2 CHX, CHX/setrimid çözeltisi (CHX+CTR), %0.1 OCT ve *Salvia officinalis* bitki ekstraktının *E. faecalis*'e karşı antimikrobiyal etkisini, dentin blokları

üzerinde SEM ile karşılaştıran bir çalışmada; irrigant uygulamasından sonra kök kanal dentin duvarlarından elde edilen bakteri koloni birimleri (CFU) sayılarak analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda %2.5 NaOCl, %5.25 NaOCl, CHX ve OCT gruplarında bakteri üremesi saptanmadığı bildirilirken, OCT'nin enfekte kök kanallarının tedavisinde endodontik irrigant olma potansiyeline sahip olduğu rapor edilmiştir (Guneser ve ark 2016). Çalışma, yöntem itibari ile mevcut çalışmadan farklı olmakla birlikte OCT'nin başarısını destekler nitelikte olduğu için mevcut çalışma sonuçlarımızla uyumludur.

Perasetik Asit (PAA)

Çalışmamıza, genel olarak literatürde antimikrobiyal etkinliği ile ilgili olumlu sonuçlar bulunması (Arias-Moliz ve ark 2015, Costa ve ark 2015, de Oliveira Brandão-Neto ve ark 2021, Briseño-Marroquín ve ark 2022), sitotoksitesinin nispeten başarılı olduğunun gösterilmesi (de Oliveira Brandão-Neto ve ark 2021), smear kaldırma etkinliğinin yeterli bulunması nedenleriyle dahil edilen PAA aynı zamanda diğer çalışmalarla kıyaslamasının daha rahat yapılabilmesi için çoğunlukla kullanıldığı %2'lik konsantrasyonda kullanılmıştır.

Mevcut çalışmamızda *C. albicans* ve *E. faecalis*'e karşı kullanılan %2 PAA solüsyonu 30 sn, 60 sn, 5 dk, 10. dk'larda %5.25 NaOCl ve %2 CHX solüsyonlarıyla istatistiksel olarak benzer sonuçlar göstererek antimikrobiyal etkinlik yönünden başarılı bulunmuştur ($p>0.05$).

2019 yılında yapılan bir çalışmada; sirke-hidrojen peroksitin farklı oranlarda karışımları, %0.5 NaOCl ve %0.2 PAA solüsyonlarının *C. albicans* ve *S. aureus* üzerine antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. Çalışma sonucunda; tüm sirke-hidrojen peroksit karışımlarının, %0.5 NaOCl ve %0.2 PAA'nın, *C. albicans* ve *S. aureus*'u etkin bir şekilde ortadan kaldırdığı bildirilmiştir (Soto ve ark 2019). Mevcut çalışmamızda daha yüksek konsantrasyonda kullanılan %2'lik PAA solüsyonu da 30. sn'den *C. albicans*'ı %100 elimine ederek ilgili çalışmayı destekler nitelik göstermiştir.

Ceretta ve ark (2008) tarafından yapılan bir mikrobiyolojik analizde; *C. albicans* kullanılarak 800 ppm, 1500 ppm, 2500 ppm PAA'nın dental ekipmanlar üzerinde çoğalan mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkileri agar diffüzyon ve MİK yöntemleri kullanılarak incelenmiştir. Çalışma sonucunda, diş ekipmanlarını

sterilize etmek için PAA'nın etkili olduğu ve 2500 ppm değerinin en iyi sonucu gösterdiği ve PAA'nın kliniklerde enfeksiyonların önlenmesi için kullanılabileceği bildirilmiştir. Mevcut alışmamızda da, %2 PAA'nın elde edilen MİK değerleri üzerinden bakterisit ve fungusit özellikte olduğu ortaya çıkarılmıştır.

C. albicans ve *Bacillus subtilis* (spor) ile *in-vitro* kontamine olmuş gta-perka konlarının dezenfeksiyonunda %2 PAA'nın etkinliğini değerlendirmeyi amaçlayan bir çalışmada; 2.5 dk'lık temas sonrasında mikrobiyal yapının %100'nn elimine edildiği bildirilmiştir. %2 PAA solüsyonu 1 dk'lık temas sonrasında gta-perka konlar üzerindeki biyofilmler üzerinde de etkili olmuştur (Salvia ve ark 2011). Benzer bir çalışmada da, *E. faecalis* ve *Bacillus subtilis* ile kontamine olmuş Resilon ve gta-perka konlarının 1 dk ve 5 dk'lık sürelerde %3 NaOCl, %2 CHX, %1 PAA ve %10 povidon-iyodinle temas sonrasında dezenfekte edilme oranları karşılaştırılmış ve bu çalışmada da 1 dk ve 5 dk'lık dezenfeksiyon işleminde %1 PAA en iyi sonuçları göstermiştir. İlgili çalışmada konların hızlı dezenfeksiyonunda ikinci en iyi sonucu %2 CHX gösterirken %3'lk NaOCl'nin üçüncü sırada yer aldığı bildirilmiştir (Subha ve ark 2013). Mevcut alışmamızda DKT yöntemi uygulanarak *C. albicans* ve *E. faecalis*'in planktonik formlarına karşı kullanılan %2 PAA solüsyonu da 30 sn, 60 sn, 5 dk, 10. dk'larda %5.25 NaOCl ve %2 CHX solüsyonlarıyla istatistiksel olarak benzer sonuçlar göstererek antimikrobiyal etkinlik yönünden başarılı bulunmuştur ($p>0.05$).

MTAD, Qmix, Smear Clear, %7 maleik asit, %2 iyot potasyum iyodür, %4 PAA, % 2.5 ve %5.25 NaOCl solüsyonlarının antibiyofilm etkilerinin incelendiği bir çalışmada; %4 PAA, %2.5 ve %5.25 NaOCl'nin biofilmdeki canlı bakteri sayısını önemli ölçüde azalttıkları ve temiz dentin yüzeyleri sağladıkları rapor edilmiştir (Ordinola-Zapata ve ark 2013).

2022 yılında yapılan güncel bir çalışmada kök kanal irrigasyon solüsyonu olarak farklı konsantrasyonlarda kullanılan PAA (%0.5, %1, %2), NaOCl (%1, %3, %5), CHX (%0.12, %0.2, %2) ve %0.9 NaCl'nin; *E. faecalis* (DSM 20478) ve *Parvimonas micra*'ya (DSM 20468) karşı etkinlikleri agar difüzyon ve DKT yöntemleri ile *in-vitro* olarak karşılaştırmıştır. *E. faecalis* ve *P. micra* ile 5 dk kontakt halinde bulunan PAA (%0.5, %1 ve %2); NaOCl (%1, %3 ve %5) ve CHX (%0.12, %0.2 ve %2) ile benzer bir antibakteriyel etkinlik göstermiştir (Briseño-

Marroquín ve ark 2022). Mevcut çalışmada kullanılan *E. faecalis* (ATCC 29212) suşu ilgili çalışmadan farklı olsa da, DKT yöntemi ile yapılan iki çalışmanın da 5. dk'sında elde edilen sonuçlar birbirleriyle korelasyon göstermektedir.

Arias-Moliz ve ark (2015) tarafından yapılan bir çalışmada %2.5 NaOCl ve %2.5 NaOCl + %9 HEBP karışımı, %2 PAA ve %2 CHX solüsyonlarının dentin üzerinde oluşturulmuş *E. faecalis* biyofilmleri üzerine antimikrobiyal etkileri değerlendirilmiştir. Konfokal mikroskopla ölü ve canlı hücre sayımı yapılan çalışma sonuçlarına göre; % 2.5 NaOCl ve NaOCl/HEBP karışımı, önemli ölçüde daha yüksek ölü hücre yüzdesi ile ilişkilendirilirken, bunu %2 PAA'nın izlediği bildirilmiştir. Kontrol grubu salin ile karşılaştırıldığında, %2 CHX'in önemli bir antimikrobiyal etkisinin gözlenmediği beyan edilmiştir. Mevcut çalışmadan farklı olarak %2 CHX'in etkisiz bulunması ve %2 PAA'nın %2.5 NaOCl'den daha az etkili bulunması; kullanılan yöntemlerin farklı olması ve mevcut çalışmanın biyofilm üzerinde yapılmamış olmasıyla ilişkilendirilebilir.

2011 yılında DKT yöntemiyle yapılan bir başka çalışmada, 30 sn, 60 sn, 3 dk, 10 dk sürelerle uygulanan %1 PAA, %2.5'lik NaOCl ve %2'lik CHX'in *E. faecalis*'e karşı antibakteriyel etkinliği değerlendirilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre; %2.5 NaOCl ve %2 CHX 30 sn sonunda ortamda mevcut tüm bakterileri elimine ederken; %2 PAA 3. dk'nın sonunda bakterilerin %86'sını, 10 dk sonunda ise tamamını ortadan kaldırmıştır (Guerreiro-Tanomaru ve ark 2011). Çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak %2 PAA solüsyonunun tüm sürelerde %100 etki göstermesi, ilgili çalışmadan farklı olarak %1 yerine %2 konsantrasyonda kullanılmasıyla açıklanabilir.

Endodontik tedavide son yıkama solüsyonu olarak kullanılması önerilen %2 PAA solüsyonunun, %5.25 NaOCl ve %2 CHX ile sitotoksitesini ve *E. faecalis* biofilmi üzerine antimikrobiyal etkinliğini karşılaştırmak amacıyla yapılan güncel bir çalışmada; %2 PAA'nın %5.25 NaOCl ve %2 CHX solüsyonlarından daha az sitotoksik etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. Ancak aynı çalışma %2 PAA'nın antibakteriyel etkisinin başarısız bulunduğunu bu yüzden kök kanalında son yıkama amacıyla kullanılamayacağını bildirmiştir (de Oliveira Brandão-Neto ve ark 2021). Mevcut çalışmada kullanılan %2 PAA'nın sonuçlarının bu çalışmadan farklı olarak

başarılı çıkması, hem *E. faecalis* planktonik formunun kullanılması hem de kullanılan test yöntemlerinin farklı olması ile açıklanabilir.

Etidronik Asit (HEBP, 1-hydroxyethylidene-1, 1-bisphosphonic acid)

HEBP; smear tabakayı etkili bir şekilde kaldırdığının ileri sürülmesi (Ulusoy ve ark 2017), birlikte kullanıldıklarında NaOCl'nin etkisini EDTA gibi kısıtlamaması (Tartari ve ark 2015) ve bazı çalışmalarda NaOCl ile birlikte kullanımda kök kanallarından hem *E. faecalis* hem de *C. albicans*'ı elimine edebildiğinin gösterilmiş olması (Arias-Moliz ve ark 2016, Karale ve ark 2016) nedenleriyle EDTA ve sitrik asit solüsyonlarına alternatif ajan olarak önerilmiş bir solüsyondur. Çalışmamızda; *E. faecalis* ve *C. albicans* üzerine antimikrobiyal etkilerini incelemek ve diğer solüsyonlarla karşılaştırmak amacıyla %18 konsantrasyonda kullanılmıştır.

%5, %7, %9, %18 konsantrasyonlarda kullanılan HEBP solüsyonlarının *E. faecalis*, *C. albicans* ve *P. aeruginosa* biyofilmlerine karşı antimikrobiyal ve antibiyofilm etkinliklerini inceleyen çalışmada *E. faecalis* üzerinde %9 ve %18 HEBP konsantrasyonları diğer konsantrasyonlardan daha etkin bulunurken, *C. albicans* üzerine %18 HEBP konsantrasyonu diğer konsantrasyonlardan daha etkin bulunmuştur (Erik 2016). Mevcut çalışmada da hem *C. albicans* hem de *E. faecalis*'e etki eden kapsayıcı konsantrasyonun %18 HEBP olabileceği düşünüldüğü için HEBP %18 konsantrasyonda kullanılmıştır.

2014 yılında yapılan bir çalışmada, *E. faecalis* biyofilmi üzerine %2.5 NaOCl /%9 HEBP karışımı, %2.5 NaOCl ve %9 HEBP solüsyonları 10 dk süresince uygulanarak antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirilmeye çalışılmıştır (Arias-Moliz ve ark 2014). Çalışma sonucunda; %9 HEBP'nin biyofilme karşı etkisiz olduğu ancak dentin tübülleri içindeki *E. faecalis*'leri öldürdüğü, ayrıca her iki NaOCl solüsyonunun da biyofilm üzerinde %100 etkili olduğu ve de dentin tübülleri içindeki bakterilere karşı en yüksek antibakteriyel etkinliği gösterdikleri bulunmuştur. Aynı çalışmada araştırmacılar NaOCl/HEBP karışımının mevcut klor içeriğini 60 dk boyunca koruduğunu da belirtmişlerdir. Mevcut çalışmamızda da HEBP, *E. faecalis*'e karşı tüm sürelerde %100 etkili bulunarak ilgili çalışmadaki HEBP'nin planktonik *E. faecalis*'e karşı etkili olduğu sonucu doğrulanmıştır.

C. albicans'a karşı %3 NaOCl, %2 CHX, %17 EDTA ve %18 HEBP solüsyonlarının antimikrobiyal etkinliklerinin dentin tozu bulunan ve bulunmayan

ortamlarda değerlendirildiği bir çalışmada; %3 NaOCl ve %17 EDTA, kök kanal tedavisinde dentin tozu varlığında bile, *C. albicans*'ın elimine edilmesinde umut verici ölçülebilir bir antimikrobiyal etki göstermiştir. %18 HEBP, dentin tozu varlığında daha az etkili antimikrobiyal etkinlik göstermiştir. Mevcut alışmamızda da HEBP *C. albicans*'a karşı diğer solüsyonlara göre daha zayıf olarak 30. sn'de etki göstermeye başlamış ve 10 dk'lık temas sonrasında bile ancak %82'lik bir hücre ölüm oranına ulaşmıştır. HEBP *C. albicans*'a karşı, çalışmamızda kullanılan tüm solüsyonlar içinde 10 dk'lık temas sonrasında %100 etkiye ulaşamayan tek solüsyon olmuştur ($p<0.05$). Yukarıdaki alışma sonucunu destekler nitelikteki bu sonuç; HEBP'nin *C. albicans*'a karşı etkinliği için klinik olarak daha uzun temas süresi gerekebileceğini göstermiştir.

Literatür taramalarında, mevcut çalışmaya benzer şekilde MİK ve sonrasında DKT'i kullanan ve %18'lik HEBP solüsyonun *E. faecalis* ve *C. albicans* zerine antimikrobiyal etkilerinin karşılaştırmalı olarak incelendiği benzer herhengi bir çalışmaya rastlanmamış olması nedeniyle çalışmamızın bu açıdan özgünlük içerdiği ve sonraki çalışmalara ışık tutma niteliğinde olduğu söylenebilir. Ayrıca bu nedenle %18'lik HEBP'yi mevcut çalışmada kullanılan diğer 10 solüsyonla ayrı ayrı veya tümüyle kıyaslayacak yeterli veri bulunmamaktadır. Mevcut alışmamızda %18 HEBP; *E. faecalis*'e karşı % 0.2 OCT, %5.25 NaOCl, %2 PAA, %2 CHX 'e benzer şekilde 30. sn'den itibaren tüm sürelerde %100 etkili bulunmuştur ($p>0.05$). *C. albicans*'a karşı ise; diğer solüsyonlara göre daha zayıf olarak 30. sn'de %1 BA'ya benzer şekilde en düşük % hücre ölüm oranına sahip bulunurken ($p>0.05$), 10 dk'lık temas sonrasında bile ancak %82'lik bir hücre ölüm oranına ulaşmış ve çalışmamızda kullanılan tüm solüsyonlar içinde 10 dk'lık temas sonrasında %100 etkiye ulaşamayan tek solüsyon olmuştur ($p<0.05$).

%18'lik HEBP solüsyonu için antimikrobiyal etkisinin olmadığı ya da az olduğu ile ilgili çalışmalar da mevcuttur (Karale ve ark 2016, Keskin ve ark 2021). Çalışma sonuçları arasındaki çelişki; kullanılan yöntemlerin, suşların, deney prosedürlerinin, gerçekleştiren klinisyenin el becerisinin ve deney tekrar sayılarının farklılığıyla ilgili olabilir.

Fitik Asit (FA, IP₆, inozitol heksakisfosfat)

FA ile endodonti alanında yapılan çalışmalar genel olarak smear tabakası uzaklaştırma etkinliği ve dentinde meydana getirdiği erezyon miktarının diğer şelatörlerle kıyaslanması şeklinde olmuştur (Kalçay ve Tınaz 2017, 2018, Yeniurt ve Tınaz 2021). Endodontik kullanımda FA'nın antimikrobiyal ve antibiyofilm etkinliği ile ilgili çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Bu nedenle %2 konsantrasyonda çalışmaya dahil edilerek *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal etkinliği değerlendirilmiş ve diğer solüsyonlarla karşılaştırılmıştır.

Çalışma sonucunda *E. faecalis*'e karşı 30 sn'de %3 BA ve %5 BA ile benzer ($p>0.05$); %17 EDTA, %25 TA ve %1 BA'dan daha etkili ($p<0.05$) olduğu ancak %100 etki gösteren %0.2 OCT, %5.25 NaOCl, %2 PAA, %2 CHX ve %18 HEBP'dan daha düşük ($p<0.05$) etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Ancak FA de 60. sn'den itibaren %100 etkinliğe ulaşmıştır.

C. albicans üzerine ise 30. sn'den itibaren tüm zamanlarda %17 EDTA, %5.25 NaOCl, %3 BA ve %5 BA, %25 TA, %2 PAA ve %2 CHX'e benzer şekilde %100 etkili bulunmuştur ($p>0.05$).

%17 EDTA, %5.25 NaOCl ve %0.5, %1, %2, %5 FA'nın *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal ve antibiyofilm aktivitelerini MİK ve DKT yöntemleriyle 30 sn, 60 sn, 5 dk zaman aralıklarında karşılaştıran bir çalışmaya göre; FA, test edilen tüm mikroorganizmalara karşı bakterisit bulunmuştur. %0.5, %1 ve %2 FA'nın *E. faecalis* üzerinde bakterisit etki göstermesi için 5 dk gerekirken, %5 FA'nın 30 sn sonra bakterisit etkisi olduğu beyan edilmiştir. İlgili çalışmada ayrıca %5 FA test edilen mikroorganizma biyofilmlerini de yok etmiştir (Nassar ve ark 2021). Sonuç olarak, %5 FA'nın planktonik ve biyofilm kültürleri üzerinde kayda değer antimikrobiyal etkileri olduğu ve *E. faecalis* üzerinde hızlı bakterisidal etkiler sergilediği ortaya çıkarılmıştır. %2 FA'nın *E. faecalis*'e karşı bakterisit etkinliği; mevcut çalışmamızda da doğrulanmıştır. Ancak mevcut çalışmada ilgili çalışmadan farklı olarak %2 FA'nın 5 dk değil 60. sn'de *E. faecalis*'in tamamını yok etmesi çalışmamızda inhibitör ajan kullanılmayıp seri dilüsyon yapılması ile açıklanabilir.

%5 NaOCl, %18 EDTA, %37 fosforik asit (PA) ve %2 CHX ve %5 FA solüsyonlarının *E. faecalis*'e etkinliğini değerlendirmek üzere agar difüzyon ve MİK yöntemi kullanılan bir çalışmada; FA agar difüzyon testinde en küçük inhibisyon

bölgesini göstermesine rağmen, MİK ve MBC sonuçlarında düşük konsantrasyonlarda FA'nın *E. faecalis*'e karşı antibakteriyel etki sergilediğini göstermiştir (Nassar ve Nassar 2016). En büyük inhibisyon zonunu %37 PA sergilerken %5 NaOCl, %18 EDTA ve %2 CHX arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı bildirilmiştir. Mevcut çalışmada kullanılan %2'lik FA konsantrasyonu ilgili çalışmadakinden düşük olmakla birlikte her iki çalışma sonucu FA'nın *E. faecalis*'e karşı gösterdiği antibakteriyel etki konusunda benzerlik göstermektedir.

Puvvada ve ark (2017); %1 FA, %5 NaOCl, %2 CHX , %1 FA + %5 NaOCl ve %1 FA+ %2 CHX solüsyonlarının *E. faecalis*'e karşı antimikrobiyal etkinliklerini agar diffüzyon yöntemi ile karşılaştırmışlar ve çalışma sonucunda tek başına %1 FA'nın diğer irrigantlara kıyasla agar plakta daha büyük inhibisyon bölgeleri oluşturduğunu ve antimikrobiyal aktivitesinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Puvvada ve ark 2017).

Güncel bir çalışmada, %1 FA, %17 EDTA ve %10 sitrik asit gibi şelasyon ajanlarının tek başına veya propolis ile birlikte kullanımında *E. faecalis* ve *C. albicans* üzerine antimikrobiyal etkinlikleri araştırılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre %1 FA *E. faecalis*'e etkili bulunurken, *C. albicans*'a karşı diğer solüsyonlarla aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmaksızın etkisiz bulunmuştur ($p > 0.05$) (Yeniçeri Özata ve ark 2022). Yeniçeri ve ark (2022)'nin çalışmasında kullanılan yöntemden ve FA konsantrasyonundan farklı olsa da, çalışmamızda *E. faecalis*'e karşı %2 FA 1 dk sonunda %100 etkili bulunmuştur. İlgili çalışmada %1 FA'nın *C. albicans*'a karşı yeterince etkili bulunmamasının nedeni, FA konsantrasyonunun %1 olmasıyla ilgili olabilir. Ayrıca ilgili çalışmada mevcut çalışmamızda kullanılan *C. albicans* ATCC 90028 standart suşundan farklı olarak *C. albicans* ATCC 10231 suşunun kullanımı da bu farklılığın sebeplerinden biri olarak düşünülebilir.

PAA (%0.5 ve %1), FA (%0.5 ve %1) ve NaOCl (%3 ve %5.25) solüsyonlarının *E. faecalis*'e karşı antimikrobiyal etkinliğini agar difüzyon ile karşılaştıran bir çalışmada, %1 PAA ve %1 FA'nın NaOCl solüsyonlarından çok daha büyük inhibisyon bölgeleri gösterdiği belirtilmiştir ($p < 0.05$) (Sowjanya ve ark 2020). Çalışmamızda da benzer şekilde %2 FA ve %2 PAA solüsyonlarının

antimikrobiyal etkinliklerinin güçlü çıkması ilgili çalışma sonuçlarını destekler niteliktedir.

Tannik Asit

Endodonti literatüründe TA'nın antimikrobiyal etkinliğinin incelendiği çalışma sayısı çok olmamakla birlikte %2, %5, %10, %15, %20 ve %25 gibi konsantrasyonlarda smear tabaka kaldırma etkinliğini değerlendiren çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Bitter 1989, Sabbak ve Hassanin 1998). Mevcut çalışmada; endodonti alanında smear tabaka kaldırma çalışmalarında sıklıkla kullanılan %25'lik konsantrasyonu kullanılmıştır (Bitter 1989, Sabbak ve Hassanin 1998). Böylece; smear tabaka kaldırma etkinliğinde en çok kullanılan bu konsantrasyonunu antimikrobiyal etkinlik araştırmasının yapıldığı çalışmamızda bu açıdan diğer solüsyonlarla karşılaştırılarak literatüre katkı sağlanmaya çalışılmıştır.

Mevcut çalışmada *E. faecalis* üzerine etkisi incelenen %25 TA, 30. ve 60. sn'lerde çok düşük etkili bulunmasına rağmen; 5. dk'dan itibaren %100 etki göstermiştir. *C. albicans* üzerine ise 30. sn'den itibaren tüm sürelerde %100 eliminasyon sağlamıştır.

T. chebula, T. belerica ve E. officinalis'in olgun meyvesinin ana bileşenini temsil eden TA'nın; bakteriyostatik ve bazı Gram (+) ve Gram (-) patojenlere karşı bakterisit olduğu bildirilmiştir (Jagadish ve ark 2009). Benzer şekilde mevcut çalışmamızda da %25 TA, MİK testi sonrasında hem bakterisit hem de fungusit etkili bulunmuştur.

TA'nın, antimikrobiyal ajanların çoğuna dirençli olan MRSA izolatlarına karşı antibakteriyel ve antibiyofilm aktivitelerini inceleyen bir çalışmada TA; *S.aerus*'a karşı güçlü bir aktivite göstererek, peptidoglikan hücre duvarının bütünlüğünü bozarak biyofilmi ortadan kaldırmıştır (Dong ve ark 2018).

Yapılan literatür taramalarında TA irrigasyon solüsyonu ile ilgili *E. faecalis* ve *C. albicans* üzerine antimikrobiyal etkinlik çalışmalarına genel anlamda mikrobiyoloji çerçevesinde ya da endodonti özelinde olarak rastlanmamıştır.

Borik Asit (BA)

BA'nın %1, 2, 4, 6 konsantrasyonları kullanılarak 1, 2, 5, 10, 30 dk'lık sürelerde aralarında *C. albicans* ve *E. faecalis*'in de bulunduğu 20 farklı

mikroorganizma üzerinde DKT ile antimikrobiyal etkinlik incelemesinin yapıldığı bir çalışmada; %1 BA'nın mikroorganizmalara karşı herhangi bir etkinlik göstermemiş, %2 BA *E. faecalis* üzerine 10. dk'da, %4 ve % 6 BA ise tüm sürelerde etkili bulunmuştur. %1 BA, *C. albicans*'a etki etmezken %2, 4 ve 6 BA tüm sürelerde etkili bulunmuştur (Zer ve ark 2022). Mevcut çalışmamızda da BA %3 ve %5 konsantrasyonlarda tüm sürelerde *C.albicans*'a karşı %100 etkili bulunmuş, %1'lik konsantrasyonu ise ancak 5. dk'dan itibaren etki göstermiştir.

C. albicans (ATCC 10239)'a karşı agar difüzyon yöntemiyle hidroksiapatit ve BA'nın etkinliğini araştıran bir çalışmada; hidroksiapatitin herhangi bir etkisi gözlenmezken, büyük inhibisyon çapı gösteren BA'nın *C. albicans*'a etkisinin iyi olduğu bildirilmiştir (Örs ve ark 2019). *C.albicans*'a karşı etkinlik konusunda mevcut çalışma sonuçlarımızda da BA özellikle %3 ve 5'lik konsantrasyonlarda 30 sn gibi oldukça kısa sürede etkili bulunduğundan bu sonuçla paralellik göstermektedir.

Mevcut çalışmamızda *E. faecalis*'e karşı; %1, %3 ve %5 BA solüsyonları 60 sn, 5 dk, 10 dk'lık temas sürelerinde etkili bulunmuştur ($p>0.05$). 30. sn'de %1 BA istatistiksel olarak anlamlı derecede en az etkili bulunurken ($p<0.05$), %3 ve %5 BA benzer etki göstermiştir ($p>0.05$).

Farklı irrigasyon solüsyonlarının lazer aktivasyonu ile kullanımda *E. faecalis* biofilmi üzerine etkinliği konusunda yapılan bir *in-vitro* çalışmada içeriğinde bor mineralini taşıyan sodium pentaborate pentahydrate (NaB) kullanılmıştır. Lazer aktivasyonun solüsyonların etkinliğini arttırmadığı ve NaB solüsyonunun, NaOCl ile benzer antibakteriyel etki gösterdiği bildirilmiştir ($p>0.05$) (BALAN ve ark 2020). Mevcut çalışmada, bu çalışmadan farklı olarak BA'nın bileşik halde değil, direkt steril salinle hazırlanan %1, 3 ve 5 derişimleri kullanılmıştır. Mevcut çalışmada ayrıca, BA'nın *E. faecalis* biofilmi yerine planktonik formu aktivasyon yapılmadan incelenmiştir. Çalışmamızda ilgili çalışmadan farklı olarak BA'nın tüm konsanstrasyon ve tüm süreler sonunda bakterileri tamamen ortadan kaldıramamış olması çalışmalar arasındaki bu farklılıklar nedeniyle olabilir.

%2, 4, 6 BA solüsyonlarının *E. faecalis* biofilmine karşı antibakteriyel ve antibiyofilm özelliklerini inceleyen bir çalışma sonuçlarına göre; BA solüsyonları içerisinde, %6'lık BA biofilm yapıda %69 bakteri eliminasyonu sağlayarak yüksek antibakteriyel etki göstermesine rağmen, bakterilerin tamamını ortadan kaldıran %5

NaOCl ile aynı antibakteriyel etkiyi sergileyemediği bildirilmiştir (Recai ve ark 2013). Yeni bir ürün olarak BA'nın, *E. faecalis* biyofilmlerine karşı önemli bakterisidal etki gösterdiği belirtilerek kök kanal dezenfeksiyonu için yüksek konsantrasyonlar ve uzun irrigasyon süreleriyle kullanımı tavsiye edilmiştir. Mevcut çalışmada %1, 3 ve 5 BA solüsyonunun *E. faecalis* üzerine etkinliği, ilgili çalışmadan farklı olarak DKT ile araştırıldığından sonuçların tam olarak kıyaslanması mümkün olmayabilir. Mevcut çalışmamızda BA'nın, konsantrasyon ve temas süresi arttıkça planktonik formdaki *E. faecalis*'e karşı etkinliği artmış ancak 10. dk sonunda bile tamamen elimine edememiştir.

Hegzagonal Boron Nitrit Nanopartikül (h-BN) ve HOCl

(h-BN) ile ilgili, endodonti alanında pek fazla çalışma yer almamakla birlikte 2018 yılında yapılan bir çalışmada ağızda bulunan bazı patojenlerin çoğalmasını önlediği, antibiofilm özellikler sergilediği ve kullanılan doza bağlı olarak hücreler üzerinde toksik etki sergilemediği bildirilmiştir (Kıvanç ve ark 2018). Mevcut çalışmamızda bu sonucun aksine h-BN, ön antimikrobiyal etkilerin saptandığı MİK skorlarında 24 saat ve 48 saat gibi uzun süreler sonunda dahi hem *E. faecalis* hem de *C. albicans* üzerine herhangi bir antimikrobiyal etki gösterememiş ve bu nedenle mevcut çalışmanın ikinci aşaması olan DKT'de kullanılmamıştır. Benzer şekilde HOCl solüsyonu da MİK skorlarında antimikrobiyal etki göstermediğinden mevcut çalışmadan çıkarılmıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Mevcut çalışma şartları gözönüne alınarak elde edilen önemli sonuçlar ve bu sonuçlarla ilişkili çıkarım ve öneriler:

1. Çalışmanın ilk aşamasında, kullanılan irrigasyon solüsyonlarının *E. faecalis* ve *C. albicans*'ın üremesini durdurduğu MİK değerlerinin tespit edildiği test sonucunda; 0.4 mg/ml h-BN ve %0.02 (200 ppm) HOCl solüsyonları, 24. saat sonunda bile herhangi bir inhibitör etki göstermediğinden başarısız kabul edilerek çalışmadan çıkarıldı. MİK testi ile elde edilen bu sonuç, bu tür antimikrobiyal çalışmalarda DKT öncesinde MİK değerlerine bakılmasının; zaman kazanımı ve gereksiz laboratuvar işlemlerini önlemesi açısından önemli olduğunu gösterdi.
2. Çalışmanın ikinci aşamasında kullanılan DKT'te %5.25 NaOCl, %2 CHX ve %2 PAA solüsyonları tüm temas sürelerinde hem *E. faecalis* hem de *C. albicans*'ın %100 eliminasyonunu sağladıkları için antimikrobiyal özellik yönünden başarılı bulundular. Klinik kullanım açısından birbirine alternatif sayılabilecek %2 CHX ve %0.1 OCT solüsyonları karşılaştırıldığında; %0.1 OCT de 30 sn'de *E. faecalis*'in tamamını ortadan kaldırırken *C. albicans*'a karşı 30. sn'de %83±30, diğer tüm zamanlarda %100 eliminasyon sağladı. Bu sonuca göre;

- %0.1 OCT solüsyonunun; CHX'ten farklı olarak %5.25 NaOCl ile karıştırıldığında herhangi bir kanserojen madde açığa çıkarmadığı genel bilgisi de göz önüne alınarak NaOCl'le birlikte kullanımda son yıkama solüsyonu olarak CHX'e alternatif bir irrigasyon solüsyonu olma potansiyeline sahip olduğu söylenebilir.

- %2 PAA her iki inatçı patojeni de 30 sn'de tamamen ortadan kaldırdığı tespit edildiği için antimikrobiyal özellik yönünden geleneksel irrigasyon solüsyonlarına alternatif bir ajan olarak tavsiye edilebilir.

3. DKT yönteminde; %5.25 NaOCl, %2 CHX, %0.1 OCT, %18 HEBP ve %2 PAA solüsyonlarının *E. faecalis*'i 30 sn sonunda tamamen ortadan kaldırdıkları tespit edildi ($p>0.05$). %2 FA solüsyonu ise; 30 sn içerisinde *C. albicans*'ı tamamen elimine ederken, *E. faecalis*'i 60 sn sonunda tamamen elimine etti. Bu sonuçlara göre;

- Klinik kullanımda *E. faecalis*'e karşı antimikrobiyal etkilerinden faydalanmak için; %5.25 NaOCl, %2 CHX, %0.1 OCT, %18 HEBP ve %2 PAA

solüsyonlarının minimum 30 sn uygulanması tavsiye ediliken, bu süre %2 FA için yeterli olmayıp en az 60 sn süreyle uygulanması gerekir.

- HEBP'nin NaOCl ile birlikte kullanıldığında EDTA gibi NaOCl'nin etkisini azaltmadığı genel bilgisi ve mevcut araştırma sonucu göz önüne alınarak %18 HEBP'nin *E. faecalis*'e karşı antimikrobiyal etki amacıyla EDTA'ya alternatif bir irrigasyon solüsyonu olma potansiyeline sahip olduğu söylenebilir.

- Literatürde antimikrobiyal özellikleri yönünden hakkında çok fazla çalışma bulunmayan %2 FA'in; mevcut çalışmada gösterdiği yüksek antimikrobiyal özellik göz önüne alındığında elde edilen sonucun, yeni çalışmalara öncülük etme niteliğinde olduğu söylenebilir.

4. Hem %17 EDTA hem de %1, %3 ve 5% BA, 10 dk'lık temas sonunda *E. faecalis*'i tamamen elimine edememiştir. 30 sn'lik sürede tüm solüsyonlar içerisinde %1 BA solüsyonu %17 EDTA ile beraber en düşük etkiyi gösteren solüsyonlar olurken ($p<0.05$); 60 sn ve 5 dk'lık sürelerde BA'nın tüm konsantrasyonları EDTA'dan nispeten daha etkili bulunmuştur ($p<0.05$). Bu sonuçlar ışığında;

- 60 sn'den itibaren %1 BA ile tüm sürelerde %3 ve %5 BA'nın *E. faecalis* üzerine %17 EDTA'dan daha etkili bulunması onun %17 EDTA'ya alternatif bir solüsyon olma potansiyeline sahip olduğunu gösterir. Ancak BA hakkında kesin kanı için daha yüksek konsantrasyonlarda kullanımı ile daha farklı özelliklerini de araştırmak üzere yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

5. Mevcut çalışmada *C.albicans*'a karşı; %5.25 NaOCl, %2 CHX, %17 EDTA, %2 PAA, %25 TA, %2 FA, BA (%3, %5) solüsyonlarının 30 sn sonunda ($p>0.05$), %0.1 OCT'nin 60 sn ve %1 BA'nın 5 dk sonunda %100 eliminasyon sağladığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre;

- Mevcut çalışmada kullanılan %2 PAA, %25 TA, %2 FA, %3 BA, %5 BA ve %0.1 OCT gibi nispeten yeni irrigasyon solüsyonlarının *C.albicans*'a karşı göstermiş oldukları bu antimikrobiyal başarı göz önünde bulundurularak alternatif irrigasyon solüsyonu olma potansiyelleri farklı özellikleriyle de araştırılmalıdır.

6. Mevcut çalışmada, %18 HEBP solüsyonu hariç tüm solüsyonlar, 10 dk temas süresi sonunda *C.albicans*'a karşı %100 eliminasyon sağlarken, %18 HEBP %82±1 oranında eliminasyon sağladı. %18 HEBP solüsyonu *E. faecalis*'e karşı çok daha hızlı etki gösterse de, *C. albicans*'a karşı geç etki göstermiş olduğundan klinik

kullanımda 10 dk dan daha uzun sürelerde kullanılması tavsiye edilir. Ancak kesin kanı için sitotoksitesinin izin verdiği sınırlarda daha yüksek konsantrasyonlarda ve/veya daha uzun temas süreleriyle yapılacak çalışmalarla araştırılmalıdır.



6. KAYNAKLAR

- Abbas SR, Sabir SM, Ahmad SD, Boligon AA, Athayde ML, 2014. Phenolic profile, antioxidant potential and DNA damage protecting activity of sugarcane (*Saccharum officinarum*). *Food Chem*, 147, 10-6.
- Adriztina I, Adenin LI, Lubis YM, 2018. Efficacy of boric acid as a treatment of choice for chronic suppurative otitis media and its ototoxicity. *Korean J Fam Med*, 39, 1, 2, 2-9.
- Aelenei N, Popa MI, Novac O, Lisa G, Balaita L, 2009. Tannic acid incorporation in chitosan-based microparticles and in vitro controlled release. *J Mater Sci: Mater Med*, 20, 5, 1095-102.
- Ahangari Z, Asnaashari M, Rad NA, Shokri M, Azari-Marhaba S, Asnaashari N, 2021. Investigating the Antibacterial Effect of Passive Ultrasonic Irrigation, Photodynamic Therapy and Their Combination on Root Canal Disinfection. *J Lasers Med Sci*, 12, e81,1-6.
- Akçay I, Türk BT, Pişkin B, Şen BH, Öztürk T, 2010. İrigasyon Solüsyonlarının *Candida Albicans* ve *Enterococcus Faecalis* Üzerindeki Antimikrobiyal Etkinliklerinin Değerlendirilmesi: in vitro çalışma. *Ege Üniv. Diş Hek. Fak. Derg.*, 31, 1, 47-52.
- Akman M, Belli S, Olcay K, Özçopur B, 2016. The effect of boric acid on root dentin mineral content and bond strength of AH-plus: A SEM-EDX study. *Türkiye Klinikleri J Dental Sci*, 22, 1, 14-20.
- Alaçam T, 2012. Ankara. Kök kanal tedavisinin endikasyon ve kontrendikasyonları. In: *Endodonti*. Eds: Alaçam T, Ed:1st. Ankara: Özyurt Matbaacılık, p. 253-62.
- Albrich J, Hurst J, 1982. Oxidative inactivation of *Escherichia coli* by hypochlorous acid: rates and differentiation of respiratory from other reaction sites. *FEBS letters*, 144, 1, 157-61.
- Alqahtani M, 2020. Effect of hexagonal boron nitride nanopowder reinforcement and mixing methods on physical and mechanical properties of self-cured PMMA for dental applications. *Materials*, 13, 10, 2323, 1-13.
- Anwar S, Sivalingam B, Vijayakumar N, Vivek K, Perumal LP, Prabha EA, 2022. An In Vitro comparison of the effect of wound irrigating solution (0.01% hypochlorous acid) and 2.5% sodium hypochlorite against *enterococcus faecalis*. *J Pharm Bioallied Sci*, 14, 5, 796-801.
- Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, González-Rodríguez MP, Valderrama MJ, Baca P, 2010. Eradication of *Enterococcus faecalis* biofilms by cetrimide and chlorhexidine. *J Endod*, 36, 1, 87-90.
- Arias-Moliz MT, Morago A, Ordinola-Zapata R, Ferrer-Luque CM, Ruiz-Linares M, Baca P, 2016. Effects of dentin debris on the antimicrobial properties of sodium hypochlorite and etidronic acid. *J Endod*, 42, 5, 771-5.
- Arias-Moliz MT, Ordinola-Zapata R, Baca P, Ruiz-Linares M, Ferrer-Luque CM, 2014. Antimicrobial activity of a sodium hypochlorite/etidronic acid irrigant solution. *J Endod*, 40, 12, 1999-2002.
- Arias-Moliz M, Ordinola-Zapata R, Baca P, Ruiz-Linares M, García García E, Hungaro Duarte M, Monteiro Bramante C, Ferrer-Luque C, 2015. Antimicrobial activity of chlorhexidine, peracetic acid and sodium hypochlorite/etidronate irrigant solutions against *Enterococcus faecalis* biofilms. *Int Endod J.*, 48, 12, 1188-93.

- Arslan S, Ozbilge H, Kaya EG, Er O, 2011. In vitro antimicrobial activity of propolis, BioPure MTAD, sodium hypochlorite, and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. *Saudi Med J*, 32, 5, 479-83.
- Ascenzi JM, 1995. Handbook of disinfectants and antiseptics, CRC Press, p. 133-58.
- Ateş FM, 2020. Water, Salt, Hypochlorous Acid and Infection Protection, Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 3, 2, 156-60
- Athanassiadis B, Abbott P, Walsh LJ, 2007. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. *Aust Dent J*, 52, S64-S82.
- Badr A, Omar N, Badria F, 2011. A laboratory evaluation of the antibacterial and cytotoxic effect of Liquorice when used as root canal medicament. *Int Endod J*, 44, 1, 51-8.
- Bailey DM, DeGrazia CG, Hoff SJ, Schulenberg PL, O'Connor JR, Paris DA, Slee AM, 1984. Bispyridinamines: a new class of topical antimicrobial agents as inhibitors of dental plaque. *J Med Chem*, 27, 11, 1457-64.
- Bajrami D, Stavileci M, Dragidella A, Kamberi B, Aliu N, 2020. In vitro Analysis of Minimal Inhibitory Concentrations of NaOCl, CHX, MTAD, and EDTA against *Enterococcus faecalis*. *J Int Dent Med Res*, 13, 2, 480-5.
- Balan G, Kalayci S, Yarat A, Akyüz S, Şahin F, 2020. An in-vitro study on the effectiveness of different irrigation solutions against *Enterococcus faecalis* with/without Erbium laser activation. *Eur J Res Dent*, 4, 2, 45-51.
- Baldassarri L, Cecchini R, Bertuccini L, Ammendolia MG, Iosi F, Arciola CR, Montanaro L, Di Rosa R, Gherardi G, Dicuonzo G, 2001. *Enterococcus* spp. produces slime and survives in rat peritoneal macrophages. *Med microbiol immunol*, 190, 3, 113-20.
- Baldasso FER, Cardoso LR, Silva VDd, Morgental RD, Kopper PMP, 2017. Evaluation of the effect of four final irrigation protocols on root canal dentin components by polarized light microscopy and scanning electron microscopy. *Microsc Res Tech*, 80, 12, 1337-43.
- Bansal R, Bansal M, Wazir ND, Matta MS, Jain S, Kaur J, 2020. Evaluation of Antimicrobial Activity of Different Herbal Products against *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, and *Enterococcus faecalis* Using Agar Diffusion Test: An In Vitro Study. *Dent J Adv Stud*, 8, 03, 109-14.
- Basheer SN, Sharma DK, 2022. Antimicrobial Efficacy of a Novel Irrigant, *Nigella–Eugenia* Oil Composite against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. *World J Dent*, 13, 2, 96-103.
- Basrani B, 2005. Chlorhexidine gluconate. *Aust Endod J*, 31, 2, 48-52.
- Basrani B, 2015. Endodontic irrigation. Chemical Disinfection of the root canal system. Cham, Switzerland: Springer International Publishing AG, 99-115
- Basrani B, Santos JM, Tjäderhane L, Grad H, Gorduysus O, Huang J, Lawrence HP, Friedman S, 2002. Substantive antimicrobial activity in chlorhexidine-treated human root dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 94, 2, 240-5.
- Basrani BR, Manek S, Fillery E, 2009. Using diazotization to characterize the effect of heat or sodium hypochlorite on 2.0% chlorhexidine. *J Endod*, 35, 9, 1296-9.
- Başaran N, Duydu Y, Bolt HM, 2012. Reproductive toxicity in boron exposed workers in Bandırma, Turkey. *J Trace Elem Med Biol*, 26, 2-3, 165-7.

- Baumgartner JC, Mader CL, 1987. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. *J Endod*, 13, 4, 147-57.
- Bedran-Russo AKB, Pereira PN, Duarte WR, Drummond JL, Yamauchi M, 2007. Application of crosslinkers to dentin collagen enhances the ultimate tensile strength. *Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater* 80B: 268–272.
- Belhaoues S, Amri S, Bensouilah M, 2020. Major phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities of *Anthemis praecox* Link aerial parts. *S Afr J Bot*, 131, 200-5.
- Berber V, Gomes B, Sena N, Vianna M, Ferraz C, Zaia A, Souza-Filho F, 2006. Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing *Enterococcus faecalis* within root canals and dentinal tubules. *Int Endod J*, 39, 1, 10-7.
- Berkiten M, Berkiten R, Okar İ, 2000. Comparative evaluation of antibacterial effects of Nd: YAG laser irradiation in root canals and dentinal tubules. *J Endod*, 26, 5, 268-70.
- Beyth N, Hourri-Haddad Y, Domb A, Khan W, Hazan R, 2015. Alternative antimicrobial approach: nano-antimicrobial materials. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 1-16.
- Bhavsar BA, Selvi T, Paliwal A, Ansari F, Beohar DS, Joseph T, 2022. Effect of herbal and chemical solution in tissue dissolution by using conventional irrigation and sonic irrigation system. *J Pharm Bioallied Sci*, 14, 5, 863.
- Bitter NC, 1989. A 25% tannic acid solution as a root canal irrigant cleanser: a scanning electron microscope study. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 67, 3, 333-7.
- Bloot APM, Kalschne DL, Amaral JAS, Baraldi IJ, Canan C, 2021. A Review of Phytic Acid Sources, Obtention, and Applications. *Food Rev Int*, 56, 1-20.
- Bolaños L, Lukaszewski K, Bonilla I, Blevins D, 2004. Why boron? *Plant Physiology and Biochemistry*, 42, 11, 907-12.
- Bore E, Langsrud S, 2005. Characterization of micro-organisms isolated from dairy industry after cleaning and fogging disinfection with alkyl amine and peracetic acid. *J Appl Microbiol*, 98, 1, 96-105.
- Boukhris I, Smaoui S, Ennouri K, Morjene N, Farhat-Khemakhem A, Blibech M, Alghamdi OA, Chouayekh H, 2020. Towards understanding the antagonistic activity of phytic acid against common foodborne bacterial pathogens using a general linear model. *Plos One*, 15, 4, 1-15.
- Bouki E, Dimitriadis VK, Kaloyianni M, Dailianis S, 2013. Antioxidant and pro-oxidant challenge of tannic acid in mussel hemocytes exposed to cadmium. *Mar Environ Res*, 85, 13-20.
- Božič M, Gorgieva S, Kokol V, 2012. Homogeneous and heterogeneous methods for laccase-mediated functionalization of chitosan by tannic acid and quercetin. *Carbohydrate polymers*, 89, 3, 854-64.
- Brändle N, Zehnder M, Weiger R, Waltimo T, 2008. Impact of growth conditions on susceptibility of five microbial species to alkaline stress. *J Endod*, 34, 5, 579-82.
- Briseño-Marroquín B, Callaway A, Shalamzari NG, Wolf TG, 2022. Antibacterial efficacy of peracetic acid in comparison with sodium hypochlorite or chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* and *Parvimonas micra*. *BMC Oral Health*, 22, 1, 1-9.

- Brooks G, Butel J, Morse S, 2004. Cultivation of microorganisms. Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology, 23rd Edition, McGraw-Hill Companies, New York, 62-4.
- Bui TB, Baumgartner JC, Mitchell JC, 2008. Evaluation of the interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate and its effect on root dentin. *J Endod*, 34, 2, 181-5.
- Bukhary S, Balto H, 2017. Antibacterial efficacy of octenisept, alexidine, chlorhexidine, and sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis* biofilms. *J Endod*, 43, 4, 643-7.
- Byström A, Sunqvist G, 1985. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J*, 18, 1, 35-40.
- Canan C, Kalschne DL, Ongaratto GC, Leite OD, Cursino ACT, Flores ELdM, Ida EI, 2021. Antioxidant effect of rice bran purified phytic acid on mechanically deboned chicken meat. *J Food Process Preserv*, 45, 9, e15716.
- Castillo-Villagomez P, Madla-Cruz E, Lopez-Martinez F, Rodriguez-Delgado I, Flores-Treviño JJ, Malagon-Santiago GI, de La Garza-Ramos MA, 2022. Antimicrobial effectiveness of root canal sealers against *Enterococcus faecalis*. *Biomater Investig Dent*, 9, 1, 47-51.
- Chandra SS, Miglani R, Srinivasan M, Indira R, 2010. Antifungal efficacy of 5.25% sodium hypochlorite, 2% chlorhexidine gluconate, and 17% EDTA with and without an antifungal agent. *J Endod*, 36, 4, 675-8.
- Chassot ALC, Poisl MIP, Samuel SMW, 2006. In vivo and in vitro evaluation of the efficacy of a peracetic acid-based disinfectant for decontamination of acrylic resins. *Braz Dent J*, 17, 117-21.
- Chen C-J, Chen C-C, Ding S-J, 2016. Effectiveness of hypochlorous acid to reduce the biofilms on titanium alloy surfaces in vitro. *Int J Mol Sci*, 17, 7, 1161.
- Cherian B, Gehlot PM, Manjunath MK, 2016. Comparison of the antimicrobial efficacy of octenidine dihydrochloride and chlorhexidine with and without passive ultrasonic irrigation-an invitro study. *J Clin Diagn Res: JCDR*, 10, 6, 71-7.
- Christensen CE, McNeal SF, Eleazer P, 2008. Effect of lowering the pH of sodium hypochlorite on dissolving tissue in vitro. *J Endod*, 34, 4, 449-52.
- Chundi B, Ndig P, Jayalakshmi K, 2022. Effect of Phytic acid on the tissue dissolving ability of Sodium hypochlorite: An ex-vivo study. *University J Dent Scie*, 8, 1.
- Clarkson R, Moule A, Podlich H, Kellaway R, Macfarlane R, Lewis D, Rowell J, 2006. Dissolution of porcine incisor pulps in sodium hypochlorite solutions of varying compositions and concentrations. *Aust Dent J*, 51, 3, 245-51.
- Coaguila-Llerena H, Rodrigues EM, Tanomaru-Filho M, Guerreiro-Tanomaru JM, Faria G, 2019. Effects of calcium hypochlorite and octenidine hydrochloride on L929 and human periodontal ligament cells. *Braz Dent J*, 30, 213-9.
- Coaguila-Llerena H, Rodrigues E, Santos C, Ramos S, Medeiros M, Chavez-Andrade G, Guerreiro-Tanomaru J, Tanomaru-Filho M, Faria G, 2020. Effects of octenidine applied alone or mixed with sodium hypochlorite on eukaryotic cells. *Int Endod J*, 53, 9, 1264-74.
- Colak SM, Yapici BM, Yapici AN, 2010. Determination of antimicrobial activity of tannic acid in pickling process. *Rom Biotechnol Lett*, 15, 3, 5325-30.
- Cole M, Eastoe J, Curtis M, Korts D, Bowen W, 1980. Effects of pyridoxine, phytate and invert sugar on plaque composition and caries activity in the monkey (*Macaca fascicularis*). *Caries Res*, 14, 1, 1-15.

- Cord CB, Velasco RVC, Lima LFRM, Rocha DGP, da Silveira Bueno CE, Pinheiro SL, 2014. Effective analysis of the use of peracetic acid after instrumentation of root canals contaminated with *Enterococcus faecalis*. *J Endod*, 40, 8, 1145-8.
- Corominas BG-T, Mateo JGa, Zamora LL, Calatayud JMn, 2002. Determination of tannic acid by direct chemiluminescence in a FIA assembly. *Talanta*, 58, 6, 1243-51.
- Costa SAdS, Paula OFPd, Silva CRG, Leão MVP, Santos SSFD, 2015. Stability of antimicrobial activity of peracetic acid solutions used in the final disinfection process. *Braz Oral Res*, 29, 1-6.
- Cunningham WT, Joseph SW, 1980. Effect of temperature on the bactericidal action of sodium hypochlorite endodontic irrigant. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 50, 6, 569-71.
- Cury JA, Bragotto C, Valdrighi L, 1981. The demineralizing efficiency of EDTA solutions on dentin: I. Influence of pH. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 52, 4, 446-8.
- D'Arcangelo C, Varvara G, De Fazio P, 1999. An evaluation of the action of different root canal irrigants on facultative aerobic-anaerobic, obligate anaerobic, and microaerophilic bacteria. *J Endod*, 25, 5, 351-3.
- Dabbaghi A, Kabiri K, Ramazani A, Zohuriaan-Mehr MJ, Jahandideh A, 2019. Synthesis of bio-based internal and external cross-linkers based on tannic acid for preparation of antibacterial superabsorbents. *Polym Adv Technol*, 30, 11, 2894-905.
- Darcey J, Jawad S, Taylor C, Roudsari RV, Hunter M, 2016. Modern endodontic principles part 4: irrigation. *Dent Update*, 43, 1, 20-33.
- De-Deus G, Namen F, Galan Jr J, Zehnder M, 2008. Soft chelating irrigation protocol optimizes bonding quality of Resilon/Epiphany root fillings. *J Endod*, 34, 6, 703-5.
- De-Deus G, Souza E, Marins J, Reis C, Paciornik S, Zehnder M, 2011. Smear layer dissolution by peracetic acid of low concentration. *Int Endod J*, 44, 6, 485-90.
- de Oliveira Brandão-Neto D, Mello JVZ, Marceliano-Alves MFV, de Carvalho Coutinho TM, Marceliano EFV, Galhardi MPW, Tavares VS, Dias APM, Lins RX, 2021. Final endodontic irrigation with 2% peracetic acid: antimicrobial activity and cytotoxicity. *Eur J Dent*, 15, 03, 533-8.
- De Seta F, Schmidt M, Vu B, Essmann M, Larsen B, 2009. Antifungal mechanisms supporting boric acid therapy of *Candida vaginitis*. *J Antimicrob Chemother*, 63, 2, 325-36.
- Demirer S, Kara MI, Erciyas K, Ozdemir H, Ozer H, Ay S, 2012. Effects of boric acid on experimental periodontitis and alveolar bone loss in rats. *Arch Oral Biol*, 57, 1, 60-5.
- Demirtaş A, 2010. Bor'un insan beslenmesi ve sağlığı açısından önemi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 41, 1, 75-80.
- Deng DM, Hoogenkamp MA, Exterkate RA, Jiang LM, van der Sluis LW, Jacob M, Crielaard W, 2009. Influence of *Streptococcus mutans* on *Enterococcus faecalis* biofilm formation. *J Endod*, 35, 9, 1249-52.
- Deniz Sungur D, Aksel H, Ozturk S, Yılmaz Z, Ulubayram K, 2019. Effect of dentine conditioning with phytic acid or etidronic acid on growth factor release, dental pulp stem cell migration and viability. *Int Endod J*, 52, 6, 838-46.

- Derya A, Otkun M, 2017. Bazı antiseptik ve dezenfektanların antibakteriyel etkinliklerinin araştırılması. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 74, 3, 211-20.
- Dewi A, Upara C, Chaiariyakul D, Louwakul P, 2020. Smear Layer Removal from Root Canal Dentine and Antimicrobial Effect of Citric Acid-modified Chlorhexidine. *Eur Endod J*, 5, 3, 257.
- Dineshkumar MK, Vinothkumar TS, Arathi G, Shanthisree P, Kandaswamy D, 2012. Effect of ethylene diamine tetra-acetic acid, MTAD™, and HEBP as a final rinse on the microhardness of root dentin. *J Conserv Dent: JCD*, 15, 2, 170.
- Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ, 2002. Biofilm formation in medicated root canals. *J Endod*, 28, 10, 689-93.
- Doğan H, Çalt S, 2001. Effects of chelating agents and sodium hypochlorite on mineral content of root dentin. *J Endod*, 27, 9, 578-80.
- Dong G, Liu H, Yu X, Zhang X, Lu H, Zhou T, Cao J, 2018. Antimicrobial and anti-biofilm activity of tannic acid against *Staphylococcus aureus*. *Nat Prod Res*, 32, 18, 2225-8.
- Dornelles-Morgental R, Guerreiro-Tanomaru JM, de Faria-Júnior NB, Hungaro-Duarte MA, Kuga MC, Tanomaru-Filho M, 2011. Antibacterial efficacy of endodontic irrigating solutions and their combinations in root canals contaminated with *Enterococcus faecalis*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 112, 3, 396-400.
- Du T, Wang Z, Shen Y, Ma J, Cao Y, Haapasalo M, 2014. Effect of long-term exposure to endodontic disinfecting solutions on young and old *Enterococcus faecalis* biofilms in dentin canals. *J Endod*, 40, 4, 509-14.
- Dwyer F, 2012. Chelating agents and metal chelates, 2nd edition, USA, Akademik Press Inc, p. 1-509.
- Egan M, Spratt D, Ng YL, Lam J, Moles D, Gulabivala K, 2002. Prevalence of yeasts in saliva and root canals of teeth associated with apical periodontitis. *Int Endod J*, 35, 4, 321-9.
- Eliuz EAE, 2020. Antifungal activity of boric acid and citric acid mixture as a sanitizer agent. *Current Researches in Science and Mathematics Sciences*, s. 59-70.
- Er, Çanakçı Bc, Tuncay Ö, Kahraman Y, 2017. Periapikal Lezyonlu Dişlerde *Candida Albicans*'in Elektronik-Burun Teknolojisi ve Mikrobiyolojik Kültür Yöntemi İle Değerlendirilmesi. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 26, 3, 223-6.
- Ercan E, Özekinci T, Atakul F, Gül K, 2004. Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite in infected root canal: in vivo study. *J Endod*, 30, 2, 84-7.
- Erganiş O, Öztürk A, 2003. Oral mikrobiyoloji ve immünoloji, Nobel Tıp, p.56
- Erik CE, 2016. Etidronik asit (HEBP)'in etkin konsantrasyonunun belirlenmesi ve antimikrobiyal etkinliğinin incelenmesi. Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Essner MD, Javed A, Eleazer PD, 2011. Effect of sodium hypochlorite on human pulp cells: an in vitro study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 112, 5, 662-6.
- Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spanó JCE, Marchesan MA, Pécora JD, 2002. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz Dent J*, 13, 113-7.
- Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D, 2002. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *Int Endod J*, 35, 3, 221-8.

- Eyüboğlu TF, Olcay K, 2020. The effect of final irrigation solutions used during regenerative endodontic treatment on the push-out bond strength of endodontic cements: An in vitro study. *Clinical Dentistry and Research*, 44, 3, 96-104.
- Fan W, Sun Q, Li Y, Tay FR, Fan B, 2018. Synergistic mechanism of Ag⁺–Zn²⁺ in anti-bacterial activity against *Enterococcus faecalis* and its application against dentin infection. *J Nanobiotechnology*, 16, 1, 1-16.
- Fardai O, Turnbull RS, 1986. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. *J Am Dent Assoc*, 112, 6, 863-9.
- Ferguson DB, Marley JT, Hartwell GR, 2003. The effect of chlorhexidine gluconate as an endodontic irrigant on the apical seal: long-term results. *J Endod*, 29, 2, 91-4.
- Ferguson J, Hatton J, Gillespie MJ, 2002. Effectiveness of intracanal irrigants and medications against the yeast *Candida albicans*. *J Endod*, 28, 2, 68-71.
- Ferraz CCR, de Almeida Gomes BPF, Zaia AA, Teixeira FB, de Souza-Filho FJ, 2001. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *J Endod*, 27, 7, 452-5.
- Figdor D, Davies JK, Sundqvist G, 2003. Starvation survival, growth and recovery of *Enterococcus faecalis* in human serum. *Oral Microbiol Immunol*, 18, 4, 234-9.
- Flahaut S, Frere J, Boutibonnes P, Auffray Y, 1996. Comparison of the bile salts and sodium dodecyl sulfate stress responses in *Enterococcus faecalis*. *Appl Environ Microbiol*, 62, 7, 2416-20.
- Forgione D, Nassar M, Seseogullari-Dirihan R, Thitthaweerat S, Tezvergil-Mutluay A, 2021. The effect of phytic acid on enzymatic degradation of dentin. *Eur J Oral Sci*, 129, 2, e12771.
- Frais S, Ng YL, Gulabivala K, 2001. Some factors affecting the concentration of available chlorine in commercial sources of sodium hypochlorite. *Int Endod J*, 34, 3, 206-15.
- Frankenberger R, Krämer N, Oberschachtsiek H, Petschelt A, 2000. Dentin bond strength and marginal adaption after NaOCl pre-treatment. *Oper Dent*, 25, 40-5.
- Gallardo-Williams MT, Maronpot RR, Turner CH, Johnson CS, Harris MW, Jayo MJ, Chapin RE, 2003. Effects of boric acid supplementation on bone histomorphometry, metabolism, and biomechanical properties in aged female F-344 rats. *Biol Trace Elem Res*, 93, 1, 155-69.
- Garcia F, Murray PE, Garcia-Godoy F, Namerow KN, 2010. Effect of aquatone endodontic cleanser on smear layer removal in the root canals of ex vivo human teeth. *J Appl Oral Sci*, 18, 403-8.
- Gavilanes-Martínez MA, Coral-Garzón A, Cáceres DH, García AM, 2021. Antifungal activity of boric acid, triclosan and zinc oxide against different clinically relevant *Candida* species. *Mycoses*, 64, 9, 1045-52.
- Gendron R, Grenier D, Sorsa T, Mayrand D, 1999. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8, and 9 by chlorhexidine. *Clin Diagn Laboratory Immunol*, 6, 3, 437-9.
- Ghannoum M, Elteen KA, Ellabib M, Whittaker P, 1990. Antimycotic effects of octenidine and pirtenidine. *J Antimicrob Chemother*, 25, 2, 237-45.
- Ghivari SB, Bhattacharya H, Bhat KG, Pujar MA, 2017. Antimicrobial activity of root canal irrigants against biofilm forming pathogens-An in vitro study. *J Conserv Dent: JCD*, 20, 3, 147.

- Giardino L, Savadori P, Generali L, Mohammadi Z, Del Fabbro M, De Vecchi E, Bidossi A, 2020. Antimicrobial effectiveness of etidronate powder (Dual Rinse® HEDP) and two EDTA preparations against *Enterococcus faecalis*: A preliminary laboratory study. *Odontology*, 108, 3, 396-405.
- Gil ML, Casanova M, Martínez JP, 1994. Changes in the cell wall glycoprotein composition of *Candida albicans* associated to the inhibition of germ tube formation by EDTA. *Arch Microbiol*, 161, 6, 489-94.
- Girard S, Paqué F, Badertscher M, Sener B, Zehnder M, 2005. Assessment of a gel-type chelating preparation containing 1-hydroxyethylidene-1, 1-bisphosphonate. *Int Endod J*, 38, 11, 810-6.
- Goel A, Mishra N, Tikku A, Chandra A, 2018. Comparative Evaluation of the Antimicrobial Efficacy of Chlorhexidine, Octenidine and Sodium Hypochlorite against *E. Fecalis*: An In-Vitro Study. *J Dent Med Sci*, 17, 7, 39-42.
- Goldberg F, Spielberg C, 1982. The effect of EDTAC and the variation of its working time analyzed with scanning electron microscopy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 53, 1, 74-7.
- Goldman LB, Goldman M, Kronman JH, Lin PS, 1981. The efficacy of several irrigating solutions for endodontics: a scanning electron microscopic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 52, 2, 197-204.
- Goldman M, Goldman LB, Cavaleri R, Bogis J, Lin PS, 1982. The efficacy of several endodontic irrigating solutions: a scanning electron microscopic study: part 2. *J Endod*, 8, 11, 487-92.
- Gomes B, Ferraz C, ME V, Berber V, Teixeira F, Souza-Filho F, 2001. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J.*, 34, 6, 424-8.
- Graf E, Eaton JW, 1990. Antioxidant functions of phytic acid. *Free Radic Biol Med*, 8, 1, 61-9.
- Grawehr M, Sener B, Waltimo T, Zehnder M, 2003. Interactions of ethylenediamine tetraacetic acid with sodium hypochlorite in aqueous solutions. *Int Endod J*, 36, 6, 411-5.
- Greenstein G, Berman C, Jaffin R, 1986. Chlorhexidine: an adjunct to periodontal therapy. *J Periodontol*, 57, 6, 370-7.
- Grigoratos D, Knowles J, Ng YL, Gulabivala K, 2001. Effect of exposing dentine to sodium hypochlorite and calcium hydroxide on its flexural strength and elastic modulus. *Int Endod J*, 34, 2, 113-9.
- Griswold JC, 2015. Effect of Tannic Acid on Resistance to Vertical Root Fracture in Endodontically Treated Bovine Teeth. Thesis, University of Illinois, at Chicago.
- Grossman LI, 1952. The use of antibiotics in root canal therapy. *Zahnarztl Rundsch*, 61, 24, 730-3.
- Guan S, Zhu K, Dong Y, Li H, Yang S, Wang S, Shan Y, 2020. Exploration of binding mechanism of a potential streptococcus pneumoniae neuraminidase inhibitor from herbaceous plants by molecular simulation. *Int J Mol Sci*, 21, 3, 1003.
- Guerreiro-Tanomaru JM, Morgental RD, Faria-Junior NB, Berbert FLCV, Tanomaru-Filho M, 2011. Antibacterial effectiveness of peracetic acid and conventional endodontic irrigants. *Braz Dent J*, 22, 4, 285-7.

- Guerreiro-Tanomaru JM, Morgental RD, Faria-Junior NB, Berbert FLCV, Tanomaru-Filho M, 2011. Antibacterial effectiveness of peracetic acid and conventional endodontic irrigants. *Braz Dent J*, 22, 285-7.
- Guneser MB, Akbulut MB, Eldeniz AU, 2016. Antibacterial effect of chlorhexidine-cetrimide combination, *Salvia officinalis* plant extract and octenidine in comparison with conventional endodontic irrigants. *Dent Mater J*, 35, 5, 736-41.
- Guo X, Miao H, Li L, Zhang S, Zhou D, Lu Y, Wu L, 2014. Efficacy of four different irrigation techniques combined with 60 C 3% sodium hypochlorite and 17% EDTA in smear layer removal. *BMC oral health*, 14, 1, 1-6.
- Gülçin İ, Huyut Z, Elmastaş M, Aboul-Enein HY, 2010. Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arab J of Chem*, 3, 1, 43-53.
- Haapasalo M, Ranta H, Ranta K, Shah H, 1986. Black-pigmented *Bacteroides* spp. in human apical periodontitis. *Infect Immun*, 53, 1, 149-53.
- Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y, 2010. Irrigation in endodontics. *Dent Clin*, 54, 2, 291-312.
- Hagihara Y, Kaminishi H, Cho T, Tanaka M, Kaita H, 1988. Degradation of human dentine collagen by an enzyme produced by the yeast *Candida albicans*. *Arch Oral Biol*, 33, 8, 617-9.
- Hakki SS, Bozkurt BS, Hakki EE, 2010. Boron regulates mineralized tissue-associated proteins in osteoblasts (MC3T3-E1). *J Trace Elem Med Biol*, 24, 4, 243-50.
- Hand RE, Smith ML, Harrison JW, 1978. Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. *J Endod*, 4, 2, 60-4.
- Harke H, 1989. Octenidine dihydrochloride, properties of a new antimicrobial agent. *Zentralblatt für Hygiene und Umweltmedizin Int J Hyg Environ Med*, 188, 1-2, 188-93.
- Hartmann RC, Neuvald L, Barth Jr V, de Figueiredo JAP, de Oliveira SD, Scarparo RK, Waltrick SB, Rossi-Fedele G, 2019. Antimicrobial efficacy of 0.5% peracetic acid and EDTA with passive ultrasonic or manual agitation in an *Enterococcus faecalis* biofilm model. *Aust Endod J*, 45, 1, 57-63.
- Hauman C, Love R, 2003. Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 1. Intracanal drugs and substances. *Int Endod J*, 36, 2, 75-85.
- Hauman C, Love R, 2003. Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 2. Root-canal-filling materials. *Int Endod J*, 36, 3, 147-60.
- Hsieh SC, Teng NC, Chu CC, Chu YT, Chen CH, Chang LY, Hsu CY, Huang CS, Hsiao GYW, Yang JC, 2020. The antibacterial efficacy and in vivo toxicity of sodium hypochlorite and electrolyzed oxidizing (EO) water-based endodontic irrigating solutions. *Materials*, 13, 2, 260.
- Hube B, Naglik J, 2001. *Candida albicans* proteinases: resolving the mystery of a gene family. *Microbiology*, 147, 8, 1997-2005.
- Hunt CD, 2003. Dietary boron: an overview of the evidence for its role in immune function. *J Trace Elem Exp Med: The Official Publication of the International Society for Trace Element Research in Humans*, 16, 4, 291-306.
- Hübscher W, Barbakow F, Peters OA, 2003. Root-canal preparation with FlexMaster: canal shapes analysed by micro-computed tomography. *Int Endod J*, 36, 11, 740-7.

- Hülsmann M, Heckendorff M, Lennon A, 2003. Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use. *Int Endod J*, 36, 12, 810-30.
- Iandolo A, Dagna A, Poggio C, Capar I, Amato A, Abdellatif D, 2019. Evaluation of the actual chlorine concentration and the required time for pulp dissolution using different sodium hypochlorite irrigating solutions. *J Conserv Dent: JCD*, 22, 2, 108.
- Iavazzo C, Gkegkes ID, Zarkada IM, Falagas ME, 2011. Boric acid for recurrent vulvovaginal candidiasis: the clinical evidence. *J Womens Health*, 20, 8, 1245-55.
- Ince S, Kucukkurt I, Cigerci IH, Fidan AF, Eryavuz A, 2010. The effects of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant activity, and DNA damage in rats. *J Trace Elem Med Biol*, 24, 3, 161-4.
- Ingle J, Baumgartne J, (2008). *Ingle's endodontics 6*. BC Decker; Maidenhead, New York: McGraw-Hill Education.
- Irschik H, Schummer D, Gerth K, Höfle G, Reichenbach H, 1995. The tartrolons, new boron-containing antibiotics from a myxobacterium, *Sorangium cellulosum*. *J Antibiot Res*, 48, 1, 26-30.
- Ishii T, Matsunaga T, Pellerin P, O'Neill MA, Darvill A, Albersheim P, 1999. The plant cell wall polysaccharide rhamnogalacturonan II self-assembles into a covalently cross-linked dimer. *J Biol Chem*, 274, 19, 13098-104.
- Jagadish L, Anand Kumar V, Kaviyaran V, 2009. Effect of Triphala on dental bio-film. *Indian J Sci Technol*, 2, 1, 30-3.
- Jeansonne MJ, White RR, 1994. A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. *J Endod*, 20, 6, 276-8.
- Jedrzejczak-Silicka M, Trukawka M, Piotrowska K, Mijowska E, 2020. Few-Layered Hexagonal Boron Nitride: Functionalization, Nanocomposites, and Physicochemical and Biological Properties. In: *Biochemical Toxicology-Heavy Metals and Nanomaterials*. Eds: IntechOpen, p.156-69
- Jenkinson HF, Douglas LJ, 2002. Interactions between *Candida* species and bacteria in mixed infection. In: *Polymicrobial Diseases*, Kim A. Brogden, Janet M. Guthmiller, 1st ed., Wiley, ASM Press, p: 357-73.
- Johnson BR, Remeikis NA, 1993. Effective shelf-life of prepared sodium hypochlorite solution. *J Endod*, 19, 1, 40-3.
- Jöbstl E, Howse JR, Fairclough JPA, Williamson MP, 2006. Noncovalent cross-linking of casein by epigallocatechin gallate characterized by single molecule force microscopy. *J Agric Food Chem*, 54, 12, 4077-81.
- Jurema ALB, Correia AMdO, Spinola MdS, Bresciani E, Caneppele TMF, 2022. Influence of different intraradicular chemical pretreatments on the bond strength of adhesive interface between dentine and fiber post cements: A systematic review and network meta-analysis. *Eur J Oral Sci*, 130, 1-14.
- Kaczmarek B, 2020. Tannic acid with antiviral and antibacterial activity as a promising component of biomaterials-A minireview. *Materials*, 13, 14, 3224.
- Kalçay M, Tınaz AC, 2017. Farklı Konsantrasyonlarda Kullanılan Fitik Asit Solüsyonlarının Kök Kanal Dentin Mikrosertliği Üzerindeki Etkileri. *Atatürk Üniv. Diş Hek.Fak.Derg.* s. 1-22.
- Kalçay M, Tınaz AC, 2018. Effects of different concentrations of phytic acid on smear layer removal and erosion. *Atatürk Üniv. Diş Hek.Fak.Derg.* 28, 3, 341-7.

- Kandaswamy D, Venkateshbabu N, 2010. Root canal irrigants. *J Conserv Dent: JCD*, 13, 4, 256.
- Kandaswamy D, Venkateshbabu N, Arathi G, Roohi R, Anand S, 2011. Effects of various final irrigants on the shear bond strength of resin-based sealer to dentin. *J Conserv Dent: JCD*, 14, 1, 40.
- Karale R, Odedra KM, Sirekha A, Champa C, Shetty A, Pushpalatha S, Sharma R, 2016. Effect of dentin on the antimicrobial efficacy of 3% sodium hypochlorite, 2% chlorhexidine, 17% ethylenediaminetetraacetic acid, and 18% etidronic acid on *Candida albicans*: An in vitro study. *J Conserv Dent: JCD*, 19, 5, 455.
- Kaufman AY, Keila S, 1989. Hypersensitivity to sodium hypochlorite. *J Endod*, 15, 5, 224-6.
- Kaur R, Bhullar KK, Deepali SM, Handa A, 2021. Comparison of Efficacy of 2.5% vs. 5.25% Concentrations of Sodium Hypochlorite Augmented by Different Irrigation Techniques in Eradication of *Enterococcus Faecalis* an In-Vitro Study. *Annals of R.S.C.B*, 25, 1, 6227-36.
- Kempfer L, 1990. The many faces of boron nitride. *Materials Engineering*, 107, 11, 41-4.
- Keskin NB, Aydın ZU, Uslu G, Özyürek T, Erdönmez D, Gündoğar M, 2021. Antibacterial efficacy of copper-added chitosan nanoparticles: A confocal laser scanning microscopy analysis. *Odontology*, 109, 4, 868-73.
- Khademi Aa, Mohammadi Z, Havaee A, 2006. Evaluation of the antibacterial substantivity of several intra-canal agents. *Aust Endod J*, 32, 3, 112-5.
- Kim T, Silva J, Kim M, Jung Y, 2010. Enhanced antioxidant capacity and antimicrobial activity of tannic acid by thermal processing. *Food Chem*, 118, 3, 740-6.
- Kimura Y, Wilder-Smith P, Matsumoto K, 2000. Lasers in endodontics: a review. *Int Endod J*, 33, 3, 173-85.
- Kite P, Eastwood K, Sugden S, Percival S, 2004. Use of in vivo-generated biofilms from hemodialysis catheters to test the efficacy of a novel antimicrobial catheter lock for biofilm eradication in vitro. *J Clin Microbiol*, 42, 7, 3073-6.
- Kıvanç M, Barutca B, Koparal AT, Göncü Y, Bostancı SH, Ay N, 2018. Effects of hexagonal boron nitride nanoparticles on antimicrobial and antibiofilm activities, cell viability. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 91, 115-24.
- Klotz SA, Rutten MJ, Smith RL, Babcock SR, Cunningham MD, 1993. Adherence of *Candida albicans* to immobilized extracellular matrix proteins is mediated by calcium-dependent surface glycoproteins. *Microb Pathog*, 14, 2, 133-47.
- Kohli D, Hugar SM, Bhat KG, Shah PP, Mundada MV, Badakar CM, 2018. Comparative evaluation of the antimicrobial susceptibility and cytotoxicity of husk extract of *Cocos nucifera* and chlorhexidine as irrigating solutions against *Enterococcus Faecalis*, *Prevotella Intermedia* and *Porphyromonas Gingivalis* an in-vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, 36, 2, 142.
- Kot FS, 2009. Boron sources, speciation and its potential impact on health. *Rev Environ Sci a Biotechnol*, 8, 1, 3-28.
- Kowalska-Krochmal B, Dudek-Wicher R, 2021. The minimum inhibitory concentration of antibiotics: Methods, interpretation, clinical relevance. *Pathogens*, 10, 2, 165.
- Kreuter J, 2007. Nanoparticles a historical perspective. *Int J Pharm*, 331, 1, 1-10.
- Kumar N, Goel N, 2019. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnol Rep*, 24, 1-10.

- Kunigk L, Almeida MC, 2001. Action of peracetic acid on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in suspension or settled on stainless steel surfaces. *Braz J Microbiol*, 32, 1, 38-41.
- Lee B, Kwon J-S, Khalid MW, Kim K-M, Kim J, Lim KM, Hong SH, 2020. Boron nitride nanoplatelets as reinforcement material for dental ceramics. *Dent Mater*, 36, 6, 744-54.
- Lee S-H, Choi B-K, 2006. Antibacterial effect of electrolyzed water on oral bacteria. *J Microbiol*, 44, 4, 417-22.
- Lensing H, Oei H, 1985. Investigations on the sporicidal and fungicidal activity of disinfectants. *Zentralbl Bakteriell Mikrobiolog Hyg B*, 181, 6, 487-95.
- Leonardo M, Tanomaru Filho M, Silva L, Nelson Filho P, Bonifácio K, Ito I, 1999. In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution. *J Endod*, 25, 3, 167-71.
- Lewis CM, Zervos M, 1990. Clinical manifestations of enterococcal infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 9, 2, 111-7.
- Li X, Wang X, Zhang J, Hanagata N, Wang X, Weng Q, Ito A, Bando Y, Golberg D, 2017. Hollow boron nitride nanospheres as boron reservoir for prostate cancer treatment. *Nat commun*, 8, 1, 1-12.
- Liolios E, Economides N, Parisis-Messimeris S, Boutsoukis A, 1997. The effectiveness of three irrigating solutions on root canal cleaning after hand and mechanical preparation. *Int Endod J*, 30, 1, 51-7.
- Lipp A, Schwetz KA, Hunold K, 1989. Hexagonal boron nitride: fabrication, properties and applications. *J Eur Ceram Soc*, 5, 1, 3-9.
- Lleo M, Bonato B, Tafi M, Signoreto C, Boaretti M, Canepari P, 2001. Resuscitation rate in different enterococcal species in the viable but non-culturable state. *J Appl Microbiol*, 91, 6, 1095-102.
- Loomba L, Scarabelli T, 2013. Metallic nanoparticles and their medicinal potential. Part II: aluminosilicates, nanobiomagnets, quantum dots and cochleates. *Ther Deliv*, 4, 9, 1179-96.
- Lotfi M, Vosoughhosseini S, Ranjkesh B, Khani S, Saghiri M, Zand V, 2011. Antimicrobial efficacy of nanosilver, sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate against *Enterococcus faecalis*. *Afr J Biotechnol*, 10, 35, 6799-803.
- Lottanti S, Gautschi H, Sener B, Zehnder M, 2009. Effects of ethylenediaminetetraacetic, etidronic and peracetic acid irrigation on human root dentine and the smear layer. *Int Endod J*, 42, 4, 335-43.
- Luddin N, Ahmed HMA, 2013. The antibacterial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against *Enterococcus faecalis*: A review on agar diffusion and direct contact methods. *J Conserv Dent: JCD*, 16, 1, 9.
- Ma Y, Guo Y-Z, Liu Y, Wang Y-R, Yang J-C, Kong X-Z, Jia H-L, Li R-Z, Han Q-Z, Zheng C-D, 2022. Mechanical and Antibacterial Properties of h-BN-TiO₂ Nanocomposite-Modified Glass Ionomer Cement. *Front Mater*, 9, 883027.
- Makkar S, Aggarwal A, Pasricha S, Kapur I, 2015. Comparative evaluation of octenidine hydrochloride and chlorhexidine as antibacterial root canal irrigant. *Indian J Oral Sci*, 6, 1, 10.
- Malkhassian G, Manzur AJ, Legner M, Fillery ED, Manek S, Basrani BR, Friedman S, 2009. Antibacterial efficacy of MTAD final rinse and two percent chlorhexidine gel medication in teeth with apical periodontitis: a randomized double-blinded clinical trial. *J Endod*, 35, 11, 1483-90.
- Mampilly J, Shetty K, Shetty H, 2020. Endodontic irrigating solutions, disinfection devices and techniques: A review. *J Dent Med Sci*, 19, 986-97.

- Marley JT, Ferguson DB, Hartwell GR, 2001. Effects of chlorhexidine gluconate as an endodontic irrigant on the apical seal: short-term results. *J Endod*, 27, 12, 775-8.
- McClure F, 1960. The cariostatic effect in white rats of phosphorus and calcium supplements added to the flour of bread formulas and to bread diets. *J Nutr*, 72, 2, 131-6.
- McDonnell G, Russell AD, 2001. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev*, 14, 1, 227.
- Mercade M, Duran-Sindreu F, Kuttler S, Roig M, Durany N, 2009. Antimicrobial efficacy of 4.2% sodium hypochlorite adjusted to pH 12, 7.5, and 6.5 in infected human root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 107, 2, 295-8.
- Mo AJ, 2016. Effect of NaOH solutions on planktonic bacteria, biofilms, and lipopolysaccharide, Thesis, University of British Columbia, Canada.
- Moazami F, Gholami A, Mehrabi V, Ghahramani Y, 2020. Evaluation of the antibacterial and antifungal effects of ProRoot MTA and nano-fast cement: an in vitro study. *J Contemp Dent Pract*, 21, 7, 760-4.
- Mohamed JA, Huang DB, 2007. Biofilm formation by enterococci. *J Med Microbiol*, 56, 12, 1581-8.
- Mohammadi Z, 2008. Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. *Int Dent J*, 58, 6, 329-41.
- Mohammadi Z, Abbott P, 2009. The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *Int Endod J*, 42, 4, 288-302.
- Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T, 1998. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J*, 31, 1, 1-7.
- Montebugnoli L, Chersoni S, Prati C, Dolci G, 2004. A between-patient disinfection method to control water line contamination and biofilm inside dental units. *J Hosp Infect*, 56, 4, 297-304.
- Moor K, Wotzka SY, Toska A, Diard M, Hapfelmeier S, Slack E, 2016. Peracetic acid treatment generates potent inactivated oral vaccines from a broad range of culturable bacterial species. *Front Immunol*, 7, 34.
- Moorer W, Wesselink P, 2003. 110th year Nederlands Tijdschrift voor Tandheelkunde. 2. Root canal treatment, intra-canal disinfectants and bacterial culture: past and present. *Ned Tijdschr Tandheelkd*, 110, 5, 178-80.
- Morago A, Ruiz-Linares M, Ferrer-Luque CM, Baca P, Rodríguez Archilla A, Arias-Moliz MT, 2019. Dentine tubule disinfection by different irrigation protocols. *Microsc Res Tech*, 82, 5, 558-63.
- Mühlschlegel F, Fonzi WA, 1997. PHR2 of *Candida albicans* encodes a functional homolog of the pH-regulated gene PHR1 with an inverted pattern of pH dependent expression. *Mol Cell Biol*, 17, 10, 5960-7.
- Nakamura H, Iitaka Y, Kitahara T, Okazaki T, Okami Y, 1977. Structure of aplasmomycin. *J Antibiot*, 30, 9, 714-9.
- Narayanan M, Sekar P, Pasupathi M, Mukhopadhyay T, 2017. Self-preserving personal care products. *Int J Cosmet Sci*, 39, 3, 301-9.
- Nassar M, Hiraishi N, Islam MS, Aizawa M, Tamura Y, Otsuki M, Kasugai S, Ohya K, Tagami J, 2013. Effect of phytic acid used as etchant on bond strength, smear layer, and pulpal cells. *Eur J Oral Sci*, 121, 5, 482-7.
- Nassar M, Hiraishi N, Islam MS, Romero MJ, Otsuki M, Tagami J, 2020. Effect of phytic acid as an endodontic chelator on resin adhesion to sodium hypochlorite-treated dentin. *Restor Dent Endod*, 45, 4, 1-9.

- Nassar M, Hiraishi N, Tamura Y, Otsuki M, Aoki K, Tagami J, 2015. Phytic acid: An alternative root canal chelating agent. *J Endod*, 41, 2, 242-7.
- Nassar M, Islam MS, AC SA, El-Damanhoury HM, Sauro S, Hiraishi N, 2021. Resin-Based Cement Applied to Enamel and Dentin Pre-Treated with Phytic Acid: An In Vitro Study. *Appl Sci*, 11, 24, 1-9.
- Nassar M, Nassar R, Maki H, Al-Yagoob A, Hachim M, Senok A, Williams D, Hiraishi N, 2021. Phytic acid: Properties and potential applications in dentistry. *Front Mater*, 8, 1-17.
- Nassar R, Nassar M, Vianna ME, Naidoo N, Alqutami F, Kaklamanos EG, Senok A, Williams D, 2021. Antimicrobial activity of phytic acid: An emerging agent in endodontics. *Front Cell Infect Microbiol*, 11,1-8.
- Nassar RI, Nassar M, 2016. Antimicrobial effect of phytic acid on *Enterococcus faecalis*. *Int Arab J Antimicrob Agents*, 6, 4, 1-7.
- Neely AN, Maley MP, 2000. Survival of enterococci and staphylococci on hospital fabrics and plastic. *J Clin Microbiol*, 38, 2, 724-6.
- Nowell LH, Hoigné J, 1992. Photolysis of aqueous chlorine at sunlight and ultraviolet wavelengths I. Degradation rates. *Water Research*, 26, 5, 593-8.
- Nune SK, Gunda P, Thallapally PK, Lin Y-Y, Laird Forrest M, Berkland CJ, 2009. Nanoparticles for biomedical imaging. *Expert Opin Drug Deliv*, 6, 11, 1175-94.
- O'Connell MS, Morgan LA, Beeler WJ, Baumgartner JC, 2000. A comparative study of smear layer removal using different salts of EDTA. *J Endod*, 26, 12, 739-43.
- Odds FC, 1988. *Candida and candidosis: a review and bibliography*, 2nd ed., Bailliere Tindall, London, UK, p. 468.
- Ordinola-Zapata R, Bramante CM, Brandão Garcia R, Bombarda de Andrade F, Bernardineli N, Gomes de Moraes I, Duarte MA, 2013. The antimicrobial effect of new and conventional endodontic irrigants on intra-orally infected dentin. *Acta Odontol Scand*, 71, 3-4, 424-31.
- Ørstavik D, Haapasalo M, 1990. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endod Dent Traumatol*, 6, 4, 142-9.
- Önçağ Ö, Hoşgör M, Hilmioğlu S, Zekioğlu O, Eronat C, Burhanoğlu D, 2003. Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. *Int Endod J*, 36, 6, 423-32.
- Örs SA, Aksel H, Eren SK, Zeybek D, 2019. Effect of tannic acid irrigation on microhardness of root canal dentin and bond strength of epoxy resin based sealer. *Selcuk Dent J*, 6, 2, 148-54.
- Öztoprak E, 2021. Deneysel sepsis modelinde intravenöz hipokloröz asit (HOCl) uygulamasının etkileri. Doktora tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Konya.
- Pandey A, Negi PS, 2018. Phytochemical composition, in vitro antioxidant activity and antibacterial mechanisms of *Neolamarckia cadamba* fruits extracts. *Nat Prod Res*, 32, 10, 1189-92.
- Panyam J, Labhasetwar V, 2003. Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue. *Adv Drug Deliv Rev*, 55, 3, 329-47.
- Pappen F, Shen Y, Qian W, Leonardo M, Giardino L, Haapasalo M, 2010. In vitro antibacterial action of Tetraclean, MTAD and five experimental irrigation solutions. *Int Endod J*, 43, 6, 528-35.

- Park GW, Boston DM, Kase JA, Sampson MN, Sobsey MD, 2007. Evaluation of liquid-and fog-based application of Sterilox hypochlorous acid solution for surface inactivation of human norovirus. *Appl Environ Microbiol*, 73, 14, 4463-8.
- Pechacek N, Osorio M, Caudill J, Peterson B, 2015. Evaluation of the toxicity data for peracetic acid in deriving occupational exposure limits: a minireview. *Toxicol Lett*, 233, 1, 45-57.
- Peciuliene V, Reynaud A, Balciuniene I, Haapasalo M, 2001. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. *Int Endod J*, 34, 6, 429-34.
- Peters L, Wesselink P, Buijs J, Van Winkelhoff A, 2001. Viable bacteria in root dentinal tubules of teeth with apical periodontitis. *J Endod*, 27, 2, 76-81.
- Peters OA, Peters CI, Schonenberger K, Barbakow F, 2003. ProTaper rotary root canal preparation: effects of canal anatomy on final shape analysed by micro CT. *Int Endod J*, 36, 2, 86-92.
- Pierce-Hendry SA, Dennis J, 2010. Bacterial culture and antibiotic susceptibility testing. *Compend Contin Educ Vet*, 32, 7, E1-E6.
- Pitten F-A, Kramer A, 1999. Antimicrobial efficacy of antiseptic mouthrinse solutions. *Eur J Clin Pharm*, 55, 2, 95-100.
- Portenier I, Waltimo TM, Haapasalo M, 2003. *Enterococcus faecalis* the root canal survivor and 'star' in post-treatment disease. *Endodontic topics*, 6, 1, 135-59.
- Powell A, Ghanem KG, Rogers L, Zinalabedini A, Brotman RM, Zenilman J, Tuddenham S, 2019. Clinicians' use of intravaginal boric acid maintenance therapy for recurrent vulvovaginal candidiasis and bacterial vaginosis. *Sex Transm Dis*, 46, 12, 810.
- Pruzzo C, Tarsi R, Lleò MdM, Signoretto C, Zampini M, Colwell RR, Canepari P, 2002. In vitro adhesion to human cells by viable but nonculturable *Enterococcus faecalis*. *Curr Microbiol*, 45, 2, 105-10.
- Pugh D, Cawson R, 1980. Calcium, sequestering agents and nystatin-interactions on cell wall morphology and fungistasis of *Candida albicans*. *Sabouraudia*, 18, 2, 157-9.
- Puvvada S, Prasanna Latha D, Jayalakshmi K, 2017. Comparative assessment of chelating and antimicrobial efficacy of phytic acid alone and in combination with other irrigants. *Int J Appl Dent Sci*, 3, 2, 19-22.
- Quarles W, 2001. Boric acid, borates and household pests. *The IPM Practitioner*, 23, 3, 1-12.
- Raheem NN, Ghaima KK, 2021. Antibiofilm activity of nystatin, aspirin and edta against candida albicans isolated from iraqi women with vulvovaginitis. *Medico-legal Update*, 21, 1, 703-11.
- Rasimick BJ, Nekich M, Hladek MM, Musikant BL, Deutsch AS, 2008. Interaction between chlorhexidine digluconate and EDTA. *J Endod*, 34, 12, 1521-3.
- Ravnik C, Sand H, Mörch T, 1962. Enamel lesions produced in vitro by solutions of EDTA and EDTA-sodium salts. *Acta Odontol Scand*, 20, 4, 349-58.
- Recai Z, Hubbezoglu I, OZDEMIR A, Tutku T, Sumer Z, Alici O, 2013. Antibacterial effect of different concentration of boric acid against enterococcus faecalis biofilms in root canal. *Marmara Dent J*, 1, 2, 76-80.
- Reddy NBN, Sridhar D, Rajkumar A, Murugesan S, Selvaraj K, Sankar S, 2020. Comparative Evaluation of Antifungal Activity of Octenidine: An In Vitro Confocal Laser Study. *J Contemp Dent Pract*, 21, 8, 906.

- Reller LB, Weinstein M, Jorgensen JH, Ferraro MJ, 2009. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. *Clin Infect Dis*, 49, 11, 1749-55.
- Şezanka T, Sigler K, 2008. Biologically active compounds of semi-metals. *Stud Nat Prod Chem*, 35, 835-921.
- Ring KC, Murray PE, Namerow KN, Kuttler S, Garcia-Godoy F, 2008. The comparison of the effect of endodontic irrigation on cell adherence to root canal dentin. *J Endod*, 34, 12, 1474-9.
- Ringel AM, Patterson SS, Newton CW, Miller CH, Mulhern JM, 1982. In vivo evaluation of chlorhexidine gluconate solution and sodium hypochlorite solution as root canal irrigants. *J Endod*, 8, 5, 200-4.
- Rivero S, Garcia MA, Pinotti A, 2010. Crosslinking capacity of tannic acid in plasticized chitosan films. *Carbohydr Polym*, 82, 2, 270-6.
- Rocca A, Marino A, Del Turco S, Cappello V, Parlanti P, Pellegrino M, Golberg D, Mattoli V, Ciofani G, 2016. Pectin-coated boron nitride nanotubes: In vitro cyto-/immune-compatibility on RAW 264.7 macrophages. *Biochim Biophys Acta (BBA) General Subjects*, 1860, 4, 775-84.
- Rôças IN, Siqueira Jr JF, Santos KR, 2004. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod*, 30, 5, 315-20.
- Rollison S, Barnett F, Stevens RH, 2002. Efficacy of bacterial removal from instrumented root canals in vitro related to instrumentation technique and size. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 94, 3, 366-71.
- Rossi-Fedele G, Doğramacı EJ, Steier L, De Figueiredo J, 2011. Some factors influencing the stability of Sterilox®, a super-oxidised water. *Br Dent J*, 210, 12, 3-1.
- Rossi-Fedele G, Doğramacı EJ, Guastalli AR, Steier L, de Figueiredo JAP, 2012. Antagonistic interactions between sodium hypochlorite, chlorhexidine, EDTA, and citric acid. *J Endod*, 38, 4, 426-31.
- Rossi-Fedele G, Guastalli AR, Doğramacı E, Steier L, De Figueiredo J, 2011. Influence of pH changes on chlorine-containing endodontic irrigating solutions. *Int Endod J*, 44, 9, 792-9.
- Ruff ML, McClanahan SB, Babel BS, 2006. In vitro antifungal efficacy of four irrigants as a final rinse. *J Endod*, 32, 4, 331-3.
- Russell R, Rogers M, 1999. Bisphosphonates: from the laboratory to the clinic and back again. *Bone*, 25, 1, 97-106.
- Sabbak S, Hassanin M, 1998. A scanning electron microscopic study of tooth surface changes induced by tannic acid. *The J Prosthet Dent*, 79, 2, 169-74.
- Safavi KE, Spngberg LS, Langeland K, 1990. Root canal dentinal tubule disinfection. *J Endod*, 16, 5, 207-10.
- Saffari F, Sobhanipoor MH, Shahravan A, Ahmadrajabi R, 2018. Virulence genes, antibiotic resistance and capsule locus polymorphisms in *Enterococcus faecalis* isolated from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Infect Chemother*, 50, 4, 340-5.
- Sağlam M, Arslan U, Buket Bozkurt Ş, Hakki SS, 2013. Boric acid irrigation as an adjunct to mechanical periodontal therapy in patients with chronic periodontitis: a randomized clinical trial. *J Periodontol*, 84, 9, 1297-308.
- Sağsen B, Üstün Y, Aslan T, Çanakçı BC, 2012. The effect of peracetic acid on removing calcium hydroxide from the root canals. *J Endod*, 38, 9, 1197-201.

- Sakarya S, Gunay N, Karakulak M, Ozturk B, Ertugrul B, 2014. Hypochlorous acid: an ideal wound care agent with powerful microbicidal, antibiofilm, and wound healing potency. *Wounds*, 26, 12, 342-50.
- Salvia ACRD, Teodoro GR, Balducci I, Koga-Ito CY, Oliveira SHGd, 2011. Effectiveness of 2% peracetic acid for the disinfection of gutta-percha cones. *Braz Oral Res*, 25, 23-7.
- Saravanan Y, Devaraj BS, Velusamy NK, Soundirarajan PS, Kandaswamy K, 2020. Phytochemical Extracts of *Leucas aspera* and *Dahlia pinnata* Exhibit Antimicrobial Properties in *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis*. *Curr Biotechnol*, 9, 4, 297-303.
- Sassone L, Fidel R, Fidel S, Vieira M, Hirata Jr R, 2003. The influence of organic load on the antimicrobial activity of different concentrations of NaOCl and chlorhexidine in vitro. *Int Endod J*, 36, 12, 848-52.
- Sassone LM, Fidel RAS, Murad CF, Fidel SR, Hirata Jr R, 2008. Antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine by two different tests. *Aust Endod J*, 34, 1, 19-24.
- Scelza MrFZ, Pierro V, Scelza P, Pereira M, 2004. Effect of three different time periods of irrigation with EDTA-T, EDTA, and citric acid on smear layer removal. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 98, 4, 499-503.
- Schäfer E, Bossmann K, 2001. Antimicrobial efficacy of chloroxylonol and chlorhexidine in the treatment of infected root canals. *Am J Dent*, 14, 4, 233-7.
- Schmidt J, Zyba V, Jung K, Rinke S, Haak R, Mausberg R, Ziebolz D, 2016. Cytotoxic effects of octenidine mouth rinse on human fibroblasts and epithelial cells—an in vitro study. *Drug Chem Toxicol*, 39, 3, 322-30.
- Schummer D, Schomburg D, Irschik H, Reichenbach H, Höfle G, 1996. Antibiotics from gliding bacteria, LXXV. Absolute configuration and biosynthesis of tartrolon B, a boron-containing macrodiolide from *Sorangium cellulosum*. *Liebigs Ann*, 1996, 6, 965-9.
- Sedgley C, Lennan S, Appelbe O, 2005. Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals ex vivo. *Int Endod J*, 38, 10, 735-42.
- Sedgley C, Lennan S, Clewell D, 2004. Prevalence, phenotype and genotype of oral enterococci. *Oral Microbiol Immunol*, 19, 2, 95-101.
- Sedlock DM, Bailey DM, 1985. Microbicidal activity of octenidine hydrochloride, a new alkanediylbis [pyridine] germicidal agent. *Antimicrob Agents Chemother*, 28, 6, 786-90.
- Sen BH, Akdeniz BG, Denizci AA, 2000. The effect of ethylenediamine-tetraacetic acid on *Candida albicans*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 90, 5, 651-5.
- Sena N, Gomes B, Vianna M, Berber V, Zaia A, Ferraz C, Souza-Filho F, 2006. In vitro antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against selected single-species biofilms. *Int Endod J*, 39, 11, 878-85.
- Serper A, Çalt S, 2002. The demineralizing effects of EDTA at different concentrations and pH. *J Endod*, 28, 7, 501-2.
- Shehzad K, Xu Y, Gao C, Duan X, 2016. Three-dimensional macro-structures of two-dimensional nanomaterials. *Chem Soc Rev*, 45, 20, 5541-88.
- Shi L, Wang Y, Wang Y, Liu Y, QI X, Zhao G, 2009. Disinfection efficacy of Medilox Super-oxidized water with neutral pH. *Chinese Journal of Nosocomiol*, 24.

- Shuler TR, 1991. Concentration of boron and other elements in human foods and personal-care products. *J Am Diet Assoc*, 91, 5, 558-68.
- Siddique R, Sureshababu NM, Somasundaram J, Jacob B, Selvam D, 2019. Qualitative and quantitative analysis of precipitate formation following interaction of chlorhexidine with sodium hypochlorite, neem, and tulsi. *J Conserv Dent: JCD*, 22, 1, 40.
- Signoretto C, del Mar Lleò M, Tafi MC, Canepari P, 2000. Cell wall chemical composition of *Enterococcus faecalis* in the viable but nonculturable state. *Appl Environ Microbiol*, 66, 5, 1953-9.
- Sim T, Knowles J, Ng YL, Shelton J, Gulabivala K, 2001. Effect of sodium hypochlorite on mechanical properties of dentine and tooth surface strain. *Int Endod J*, 34, 2, 120-32.
- Šimundić Munitić M, Poklepović Perićić T, Utrobičić A, Bago I, Puljak L, 2019. Antimicrobial efficacy of commercially available endodontic bioceramic root canal sealers: A systematic review. *PloS One*, 14, 10, 1-20.
- Siqueira Jr J, Machado A, Silveira R, Lopes H, De Uzeda M, 1997. Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal, in vitro. *Int Endod J*, 30, 4, 279-82.
- Siqueira Jr JF, Batista MM, Fraga RC, de Uzeda M, 1998. Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented gram-negative anaerobes and facultative bacteria. *J Endod*, 24, 6, 414-6.
- Siqueira Jr JF, Paiva SS, Rôças IN, 2007. Reduction in the cultivable bacterial populations in infected root canals by a chlorhexidine-based antimicrobial protocol. *J Endod*, 33, 5, 541-7.
- Siqueira Jr 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. *J Endod*, 26, 6, 331-4.
- Siqueira Jr JF, Sen BH, 2004. Fungi in endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 97, 5, 632-41.
- Sirtes G, Waltimo T, Schaetzle M, Zehnder M, 2005. The effects of temperature on sodium hypochlorite short-term stability, pulp dissolution capacity, and antimicrobial efficacy. *J Endod*, 31, 9, 669-71.
- Sivaranjani M, Liu F, White AP, 2021. Synergistic activity of tetrasodium EDTA, ethanol and chlorhexidine hydrochloride against planktonic and biofilm cells of clinically relevant pathogens. *J Glob Antimicrob Resist*, 24, 148-57.
- Sjögren U, Sundqvist G, 1987. Bacteriologic evaluation of ultrasonic root canal instrumentation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 63, 3, 366-70.
- Slee AM, O'Connor JR, 1983. In vitro antiplaque activity of octenidine dihydrochloride against preformed plaques of selected oral plaque-forming microorganisms. *Antimicrob Agents Chemother*, 23, 3, 379-84.
- Sobel J, Myers P, Kaye D, Levison M, 1981. Adherence of *Candida albicans* to human vaginal and buccal epithelial cells. *J Infect Dis*, 143, 1, 76-82.
- Solovyeva A, Dummer P, 2000. Cleaning effectiveness of root canal irrigation with electrochemically activated anolyte and catholyte solutions: a pilot study. *Int Endod J*, 33, 6, 494-504.
- Soto AF, Mendes EM, Arthur RA, de Cássia Negrini T, Lamers ML, Mengatto CM, 2019. Antimicrobial effect and cytotoxic activity of vinegar-hydrogen peroxide mixture: A possible alternative for denture disinfection. *J Prosthet Dent*, 121, 6, 966. e1-e6.

- Sowjanya T, Naidu S, Nadimpalli MV, Dondapati GD, Raju T, Prasad PK, 2020. Antimicrobial efficacy of synthetic and natural-derived novel endodontic irrigating solution an In vitro study. *J Int Clin Dent Res Org*, 12, 1, 21.
- Stojicic S, Shen Y, Qian W, Johnson B, Haapasalo M, 2012. Antibacterial and smear layer removal ability of a novel irrigant, QMiX. *Int Endod J*, 45, 4, 363-71.
- Stojicic S, Zivkovic S, Qian W, Zhang H, Haapasalo M, 2010. Tissue dissolution by sodium hypochlorite: effect of concentration, temperature, agitation, and surfactant. *J Endod*, 36, 9, 1558-62.
- Stroman DW, Mintun K, Epstein AB, Brimer CM, Patel CR, Branch JD, Najafi-Tagol K, 2017. Reduction in bacterial load using hypochlorous acid hygiene solution on ocular skin. *Clin Ophthalmol*, 11, 707-14.
- Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB, 2006. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod*, 32, 2, 93-8.
- Subha N, Prabhakar V, Koshy M, Abinaya K, Prabu M, Thangavelu L, 2013. Efficacy of peracetic acid in rapid disinfection of Resilon and gutta-percha cones compared with sodium hypochlorite, chlorhexidine, and povidone-iodine. *J Endod*, 39, 10, 1261-4.
- Subramaniam K, Antony SDP, Muralidharan N, 2022. Comparison of the Antimicrobial Efficiency of Curcuma Longa and 17% EDTA with 3% Sodium Hypochlorite Against *E. faecalis*, *C. albicans*: an in Vitro Study. *Int J Health Sci*, 6, 2, 4271-81.
- Sun Y, Qu Y, Zhao J, 2022. The application of tannic acid in orthopedics. *Front Mater*, 8, 567, 1-9.
- Sutton S, 2011. Determination of inoculum for microbiological testing. *J GXP compliance*, 15, 3, 49.
- Suwartini T, Anggraini E, Amin MF, Roeslan BO, 2020. The effectiveness of mixtures of tetracycline, acid and detergent, and mixtures of chlorhexidine and ethylenediaminetetraacetic acid in preventing the growth of *Enterococcus faecalis*: An Ex vivo study. *Sci Dent J*, 4, 2, 49.
- Şen B, Wesselink P, Türkün M, 1995. The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. *Int Endod J*, 28, 3, 141-8.
- Şen BH, Safavi KE, Spångberg LS, 1999. Antifungal effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine in root canals. *J Endod*, 25, 4, 235-8.
- Taha MY, 2019. Efficiency of sodium hypochlorite as root canal disinfectant against *Enterococcus faecalis*: An in vitro study. *EC Microbiology*, 15, 288-94.
- Takahashi H, Okamoto Y, Fujinaka S, Shintani H, 1993. A pilot study of exposure of the smear layer to tannic acid solutions. *J Prosthet Dent*, 70, 3, 261-3.
- Taketa F, Phillips PH, 1957. Oat hull fractions and the development of dental caries. *J Am Diet Assoc*, 33, 575-8.
- Tanaka M, Anguri H, Nonaka A, Kataoka K, Nagata H, Kita J, Shizukuishi S, 2004. Clinical assessment of oral malodor by the electronic nose system. *J Dent Res*, 83, 4, 317-21.
- Tanaka M, Fujiwara T, 2008. Physiological roles and transport mechanisms of boron: perspectives from plants. *Pflug Arch Eur J Phy*, 456, 4, 671-7.
- Tandjung L, Waltimo T, Hauser I, Heide P, Decker EM, Weiger R, 2007. Octenidine in root canal and dentine disinfection ex vivo. *Int Endod J*, 40, 11, 845-51.

- Tartari T, Guimarães B, Amoras L, Duarte MAH, Silva e Souza P, Bramante CM, 2015. Etidronate causes minimal changes in the ability of sodium hypochlorite to dissolve organic matter. *Int Endod J*, 48, 4, 399-404.
- Tatnall F, Leigh I, Gibson J, 1990. Comparative study of antiseptic toxicity on basal keratinocytes, transformed human keratinocytes and fibroblasts. *Skin Pharmacol Physiol*, 3, 3, 157-63.
- Tawakoli PN, Ragnarsson KT, Rechenberg DK, Mohn D, Zehnder M, 2017. Effect of endodontic irrigants on biofilm matrix polysaccharides. *Int Endod J*, 50, 2, 153-60.
- Teixeira PA, Coelho MS, Kato AS, Fontana CE, Bueno CE, Pedro-Rocha DG, 2018. Cytotoxicity assessment of 1% peracetic acid, 2.5% sodium hypochlorite and 17% EDTA on FG11 and FG15 human fibroblasts. *Acta Odontol Latinoam*, 31, 1, 11-5.
- Thaha KA, Varma RL, Nair MG, Joseph VS, Krishnan U, 2017. Interaction between octenidine-based solution and sodium hypochlorite: A mass spectroscopy, proton nuclear magnetic resonance, and scanning electron microscopy-based observational study. *J Endod*, 43, 1, 135-40.
- Thaweboon S, Saito T, Thaweboon B. Anti-Biofilm Formation of an Adhesive Containing Calcium Salts of Acidic Monomers against Oral Candida Related to Root Caries. *Key Engineering Materials*, 904, 282-6.
- Theisen LL, Erdelmeier CA, Spoden GA, Boukhallouk F, Sausy A, Florin L, Muller CP, 2014. Tannins from Hamamelis virginiana bark extract: characterization and improvement of the antiviral efficacy against influenza A virus and human papillomavirus. *PloS one*, 9, 1, 1-14.
- Theuns H, Van Dijk J, Driessens F, Groeneveld A, 1985. Effect of time, degree of saturation, pH and acid concentration of buffer solutions on the rate of in-vitro demineralization of human enamel. *Arch Oral Biol*, 30, 1, 37-42.
- Tietz A, Frei R, Dangel M, Bolliger D, Passweg JR, Gratwohl A, Widmer AF, 2005. Octenidine hydrochloride for the care of central venous catheter insertion sites in severely immunocompromised patients. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 26, 8, 703-7.
- Tirali R, Turan Y, AKAL N, Karahan C, NaOCl ve Octanisept in farklı konsantrasyonlarda kök kanal irrigasyon solusyonu olarak etkinliğinin in vitro incelenmesi. Ege Bölgesi Diş Hekimleri Odaları 7. Uluslar arası Kongresi, 2007, İzmir.
- Tirali RE, Bodur H, Sipahi B, Sungurtekin E, 2013. Evaluation of the antimicrobial activities of chlorhexidine gluconate, sodium hypochlorite and octenidine hydrochloride in vitro. *Aust Endod J*, 39, 1, 15-8.
- Tirali RE, Gulsahi K, Cehreli SB, Karahan ZC, Uzunoglu E, Elhan A, 2013. Antimicrobial efficacy of octenidine hydrochloride, MTAD and chlorhexidine gluconate mixed with calcium hydroxide. *J Contemp Dent Pract*, 14, 3, 456.
- Tirali RE, Turan Y, Akal N, Karahan ZC, 2009. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of NaOCl and Octenisept in elimination of endodontic pathogens. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 108, 5, 117-20.
- Tobias R, 1988. Antibacterial properties of dental restorative materials: a review. *Int Endod J*, 21, 2, 155-60.

- Torabinejad M, Khademi AA, Babagoli J, Cho Y, Johnson WB, Bozhilov K, Kim J, Shabahang S, 2003. A new solution for the removal of the smear layer. *J Endod*, 29, 3, 170-5.
- Tosa N, Yamasaki Y, 2000. Effect of organic substances on the residual chlorine contained in the strong acidic electrolyzed water. *J Jpn Soc Food Sci Technol (Japan)*, 47, 4, 287-95.
- Tucci M, Benghuzzi H, 2011. Evaluation of the antimicrobial efficacy of green tea extract (egcg) against streptococcus pyogenes in vitro-biomed 2011. *Biomed Sci Instrum*, 47, 177-82.
- Tuna SH, Keyf F, Gumus HO, Uzun C, 2008. The evaluation of water sorption/solubility on various acrylic resins. *Eur J Dent*, 2, 03, 191-7.
- Turk T, Kaval ME, Şen BH, 2015. Evaluation of the smear layer removal and erosive capacity of EDTA, boric acid, citric acid and desy clean solutions: an in vitro study. *BMC Oral Health*, 15, 1, 1-5.
- Ulu A, Balcioglu S, Birhanli E, Sarimeseli A, Keskin R, Koytepe S, Ates B, 2018. Poly (2-hydroxyethyl methacrylate)/boric acid composite hydrogel as soft contact lens material: Thermal, optical, rheological, and enhanced antibacterial properties. *J Appl Polym Sci*, 135, 35, 46575.
- 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. *Microsc Res Tech*, 80, 7, 687-92.
- Uyama H, 2007. Artificial polymeric flavonoids: synthesis and applications. *Macromol Biosci*, 7, 4, 410-22.
- Uysal T, Ustdal A, Sonmez MF, Ozturk F, 2009. Stimulation of bone formation by dietary boron in an orthopedically expanded suture in rabbits. *Angle Orthod*, 79, 5, 984-90.
- Vaca Guzmán Gallardo N, Nuñez Montaña M, 2017. A comparative evaluation in vitro of the degree of efficiency of three irrigating solutions for the removal of smear layer in endodontic treatment. *Univalle's Dental Clinic Cochabamba 2016. Revista de Investigación e Información en Salud*, 12, 05.
- Vahdady A, Ford TP, Wilson R, 1993. Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules in vitro. *Endod Dent Traumatol*, 9, 6, 243-8.
- Varghese VS, Kurian N, 2020. Effect of duration and dilution on antimicrobial efficacy of octenidine hydrochloride as an intracanal medicament with chitosan carrier against *Enterococcus faecalis* a modified direct contact test. *J Conserv Dent: JCD*, 23, 5, 463.
- Vázquez-Calvo Á, Jiménez de Oya N, Martín-Acebes MA, Garcia-Moruno E, Saiz J-C, 2017. Antiviral properties of the natural polyphenols delphinidin and epigallocatechin gallate against the flaviviruses West Nile virus, Zika virus, and dengue virus. *Front Microbiol*, 8, 1314.
- Vianna M, Horz H, Gomes B, Conrads G, 2006. In vivo evaluation of microbial reduction after chemo-mechanical preparation of human root canals containing necrotic pulp tissue. *Int Endod J*, 39, 6, 484-92.
- Vianna ME, Gomes BP, 2009. Efficacy of sodium hypochlorite combined with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 107, 4, 585-9.
- Vianna ME, Gomes BP, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CCR, de Souza-Filho FJ, 2004. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium

- hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 97, 1, 79-84.
- Viola KS, Coaguila-Llerena H, Rodrigues EM, Santos CS, Chávez-Andrade GM, Magro MG, Tanomaru-Filho M, Guerreiro-Tanomaru JM, Faria G, 2022. Different formulations of peracetic acid: effects on smear layer removal, dentine erosion, cytotoxicity and antibiofilm activity. *J Appl Oral Sci*, 30, 1-12.
- Violich D, Chandler N, 2010. The smear layer in endodontics—a review. *Int Endod J*, 43, 1, 2-15.
- Wahane KD, Kalpana SKSGD, Kalyani SPJM, Kagne S, 2019. Comparative Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Phytomedicinal Extracts and Chemical Irrigant against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*: In vitro study. *J Res Adv Dent*, 10, 1, 263-71.
- Waltimo T, Siren E, Torkko H, Olsen I, Haapasalo M, 1997. Fungi in therapy-resistant apical periodontitis. *Int Endod J*, 30, 2, 96-101.
- Waltimo T, Trope M, Haapasalo M, Ørstavik D, 2005. Clinical efficacy of treatment procedures in endodontic infection control and one year follow-up of periapical healing. *J Endod*, 31, 12, 863-6.
- Wang L, Bassiri M, Najafi R, Najafi K, Yang J, Khosrovi B, Hwong W, Barati E, Belisle B, Celeri C, 2007. Hypochlorous acid as a potential wound care agent: part I. Stabilized hypochlorous acid: a component of the inorganic armamentarium of innate immunity. *J Burns Wounds*, 6, 65-79.
- Wang Y, Xiao S, Ma D, Huang X, Cai Z, 2015. Minimizing concentration of sodium hypochlorite in root canal irrigation by combination of ultrasonic irrigation with photodynamic treatment. *Photochem Photobiol*, 91, 4, 937-41.
- Wang Z, Shen Y, Haapasalo M, 2012. Effectiveness of endodontic disinfecting solutions against young and old *Enterococcus faecalis* biofilms in dentin canals. *J Endod*, 38, 10, 1376-9.
- Wasil M, Halliwell B, Hutchison D, Baum H, 1987. The antioxidant action of human extracellular fluids. Effect of human serum and its protein components on the inactivation of α 1-antiproteinase by hypochlorous acid and by hydrogen peroxide. *Biochem J*, 243, 1, 219-23.
- Weimer AW, 1997. Thermochemistry and kinetics. In: Carbide, nitride and boride materials synthesis and processing. Eds: Springer, p. 79-113.
- Weine FS, 1982. Case report: three canals in the mesial root of a mandibular first molar . *J Endod*, 8, 11, 517-20.
- Weiss E, Shalhav M, Fuss Z, 1996. Assessment of antibacterial activity of endodontic sealers by a direct contact test. *Endod Dent Traumatol*, 12, 4, 179-84.
- White R, Hays G, Janer L, 1997. Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. *J Endod*, 23, 4, 229-31.
- Woods WG, 1994. An introduction to boron: history, sources, uses, and chemistry. *Environ Health Perspect*, 102, 7, 5-11.
- Wright PP, Kahler B, Walsh LJ, 2017. Alkaline sodium hypochlorite irrigant and its chemical interactions. *Materials*, 10, 10, 1147.
- Wutzler P, Sauerbrei A, 2004. Virucidal activity of the new disinfectant monopercitric acid. *Lett Appl Microbiol*, 39, 2, 194-8.
- Yamada RS, Armos A, Goldman M, 1983. A scanning electron microscopic comparison of a high volume final flush with several irrigating. *J Endod*, 9, 137-42.

- Yamada Y K, Hossain M, 2021. The Evaluation of Anti-Microbial-Effect to Enterococcus Faecalis by Hypochlorous Acid Water. *Int Jou Den&Oral Health*, 104, 10, 1-6.
- Yan L-J, Traber MG, Kobuchi H, Matsugo S, Tritschler HJ, Packer L, 1996. Efficacy of hypochlorous acid scavengers in the prevention of protein carbonyl formation. *Arch Biochem Biophys*, 327, 2, 330-4.
- Yehia NM, Al-Ashry S, Hashem A, Nabeel M, 2022. Evaluation of Antimicrobial Efficacy and Adaptability to Root Canal Dentin of Bioceramic Sealer Containing Nanoparticles (In-vitro Study). *J Fundam Clin Res*, 2, 1, 56-73.
- Yeniçeri Özata M, Acer Ö, Demirci Ö, Çolak M, Akın Tartuk G, 2022. Antimicrobial Activity of Phytic Acid, Citric Acid, and EDTA with and without Propolis against Enterococcus Faecalis and Candida Albicans. *J Dent Mater Tech*, 11, 3, 192-200.
- Yeniyurt İÖ, Tınaz C, 2021. Farklı Zaman Aralıklarında Sonik Ajitasyon ile Kullanılan Fitik Asit Solüsyonlarının Smear Tabakasını Uzaklaştırma Etkinliği ve Erozyon Üzerindeki Etkileri. *ADO Klinik Bilimler Derg.*, 10, 1, 13-9.
- Yesilsoy C, Whitaker E, Cleveland D, Phillips E, Trope M, 1995. Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. *J Endod*, 21, 10, 513-5.
- Yildiz İ, Tileklioğlu E, Yılmaz Ö, Ertabaklar H, Sakarya S, 2020. Stabilized hypochlorous acid, a topical therapeutic strategy for Trichomonas vaginalis infection: An in vitro study. *Parasitol Utd J*, 13, 1, 60-5.
- Yılmaz Z, Aktemur S, Buzoglu HD, Gümüşderelioglu M, 2011. The effect of temperature and pH variations on the surface tension of EDTA solutions. *J Endod*, 37, 6, 825-7.
- Yoshida T, Shibata T, Shinohara T, Gomyo S, Sekine I, 1995. Clinical evaluation of the efficacy of EDTA solution as an endodontic irrigant. *J Endod*, 21, 12, 592-3.
- Zamany A, Safavi K, Spångberg LS, 2003. The effect of chlorhexidine as an endodontic disinfectant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 96, 5, 578-81.
- Zapata RO, Bramante CM, de Moraes IG, Bernardineli N, Gasparoto TH, Graeff MS, Campanelli AP, Garcia RB, 2008. Confocal laser scanning microscopy is appropriate to detect viability of Enterococcus faecalis in infected dentin. *J Endod*, 34, 10, 1198-201.
- Zaura-Arite E, Van Marle J, Ten Cate J, 2001. Confocal microscopy study of undisturbed and chlorhexidine-treated dental biofilm. *J Dent Res*, 80, 5, 1436-40.
- Zehnder M, 2006. Root canal irrigants. *J Endod*, 32, 5, 389-98.
- Zehnder M, Kosicki D, Luder H, Sener B, Waltimo T, 2002. Tissue-dissolving capacity and antibacterial effect of buffered and unbuffered hypochlorite solutions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 94, 6, 756-62.
- Zehnder M, Schmidlin P, Sener B, Waltimo T, 2005. Chelation in root canal therapy reconsidered. *J Endod*, 31, 11, 817-20.
- Zer Y, Karabacak FN, Manay AB, 2022. Borik asitin dezenfektan etkinliğinin araştırılması. *Türk Hij Dent Biyol Derg*, 79, 1.
- Zhang Y, Su Y, Peng J, Zhao X, Liu J, Zhao J, Jiang Z, 2013. Composite nanofiltration membranes prepared by interfacial polymerization with natural material tannic acid and trimesoyl chloride. *J Membr Sci*, 429, 235-42.

- Zhou L, Zhang Y-f, Yi P, Wen Y, Dong C-f, Meng L-m, Yang S-f, 2021. Effects of BN content on the mechanical properties of nanocrystalline 3Y-TZP/Al₂O₃/BN dental ceramics. *Int J Miner Metall Mater*, 28, 11, 1854-60.
- Zhou Q, Zhao Y, Dang H, Tang Y, Zhang B, 2019. Antibacterial effects of phytic acid against foodborne pathogens and investigation of its mode of action. *J Food Prot*, 82, 5, 826-33.

