GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Gazi
1926

ENZİMATİK TEKNOLOJİ İLE KEMOMEKANİK ÇÜRÜK UZAKLAŞTIRMA YÖNTEMİNİN İN VİTRO OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

AYFER BURCU AYTAR

UZMANLIK TEZİ
ÇOCUK DİŞ HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

EKİM 2022

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

  bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

AYFER BURCU AYTAR

26.10.2022

ENZİMATİK TEKNOLOJİ İLE KEMOMEKANİK ÇÜRÜK UZAKLAŞTIRMA YÖNTEMİNİN İN VİTRO OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ
(Uzmanlık Tezi)

AYFER BURCU AYTAR

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

EKİM 2022

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanı olan Brix 3000'in çürük uzaklaştırma etkinliğini lazer floresan cihazı (DIAGNOdent Pen), çürük tespit boyası, mikrobiyal kültür ve real-time PCR yöntemlerini kullanarak geleneksel yöntemle karşılaştırmaktır. Çalışmaya, 64 adet dentin çürüğü bulunan süt azı dişi dahil edilmiş olup, standardizasyon ICDAS-II kriterleri ve DIAGNOdent Pen ölçümlerine göre sağlanmıştır. ICDAS-II skor 6'ya sahip olan dişler ve DIAGNOdent Pen ölçümleri 30 ve üzeri olan dişler seçilmiştir. 32 tanesinde geleneksel yöntemle, 32 tanesinde Brix 3000 kemomekanik çürük uzaklaştıma ajanı kullanılarak çürükler uzaklaştırılmıştır. Çürük uzaklaştırma işlemi öncesi ve sonrasında dentin talaşları toplandıktan sonra, her iki grupta rezidüel çürüklerin varlığını değerlendirmek amacıyla DIAGNOdent Pen cihazı ile ölçümler yapılmış ve 0-13 arası değerler çürüksüz kabul edilmiştir. DIAGNOdent Pen ile ölçümler yapıldıktan sonra, çürük tespit boyası kullanılarak her iki grupta rezidüel çürüklerin varlığı değerlendirilmiş ve dentinin koyu renkli boyanmalarında rezidüel çürüklerin varlığı kaydedilirken, açık renkli boyanmalarda kavite çürüksüz kabul edilmiştir. Çürükler uzaklaştırılmadan önce ve sonra alınan dentin talaşı örneklerinin mikrobiyal kültür ve real-time PCR yöntemleriyle elde edilen değerlerinin azalma miktarları değerlendirilmiştir. DIAGNOdent Pen ölçümleri sonucu 0-13 arası değerlerin çoğunlukla geleneksel yöntemde, 14 ve üzeri değerlerin Brix 3000'de olduğu bulunmuş ve geleneksel yöntemin çürük uzaklaştırma etkinliği daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Çürük tespit boyası ile boyanma değerlendirildiğinde geleneksel yöntem tedavi sonrası boyanma olan dişlerin sayısı, Brix 3000'den daha az bulunmuş ve geleneksel yöntemin çürük uzaklaştırma etkinliği daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Çürükler uzaklaştırılmadan önce ve sonra alınan dentin talaşı örneklerindeki azalma miktarının S. mutans ve total bakteri açısından mikrobiyal kültür değerlendirilmesi sonucu her iki yöntemin çürük uzaklaştırma etkinlikleri benzer bulunmuştur ($p>0,05$). Çürükler uzaklaştırılmadan önce ve sonra alınan dentin talaşı örneklerindeki azalma miktarının S. mutans açısından real-time PCR ile değerlendirilmesi sonucu Brix 3000'in çürük uzaklaştırma etkinliği daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Sonuç olarak çalışmamızda kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanı Brix 3000'in çürüğü uzaklaştırmada etkili bir yöntem olduğu ve geleneksel yöntemin dezavantajları da göz önüne alındığında özellikle çocuklarda geleneksel yönteme alternatif bir ajan olabilceği düşünülmektedir.

Bilim Kodu : 10101.03

Anahtar Kelimeler : Kemomekanik çürük uzaklaştırma, minimal invaziv diş hekimliği

Sayfa Adedi : 132

Danışman : Prof. Dr. Ayşegül ÖLMEZ

IN VITRO EVALUATION OF CHEMOMECHANICAL CARIES REMOVAL WITH ENZYMATIC TECHNOLOGY
(Speciality Thesis)

AYFER BURCU AYTAR

GAZİ UNIVERSITY
FACULTY OF DENTISTRY

OCTOBER 2022

ABSTRACT

The aim of this study; compare the caries removal efficiency of a chemomechanical caries removal agent named Brix 3000 with the traditional method using laser fluorescent device (DIAGNOdent Pen), caries detection dye, microbial culture and real-time PCR methods. 64 primary molars with dentinal caries were included in the study. Selection criteria; ICDAS-II score 6 and DIAGNOdent Pen measurements of 30 and above. Caries were removed using conventional method in 32 teeth and chemomechanical caries removal agent named Brix 3000 in 32 teeth. After caries removal procedures dentin samples were collected and measurements were made with the DIAGNOdent Pen device to evaluate the presence of residual caries in both groups. DIAGNOdent device values between 0-13 were accepted as caries-free. Then, the presence of residual caries was evaluated in both groups using caries detection dye. While the presence of residual caries was noted in dark staining of dentin, it was accepted as caries-free in light staining. The decrease in the values obtained by microbial culture and real-time PCR methods of dentin samples taken before and after caries removal was evaluated. As a result of DIAGNOdent Pen measurements, it was found that values between 0-13 were mostly in the traditional method, values of 14 and above were found in Brix 3000. Caries removal efficiency of the traditional method was found to be higher ($p<0.05$). When staining with caries detection dye was evaluated, the number of teeth stained after the traditional method was found to be less than Brix 3000 and the caries removal efficiency of the traditional method was found to be higher ($p<0.05$). As a result of the microbial culture evaluation of the decrease in the dentin samples taken before and after the caries removal in terms of S. mutans and total bacteria, the caries removal efficiencies of both methods were found to be similar ($p>0.05$). The caries removal efficiency of Brix 3000 was found to be higher as a result of the evaluation of the reduction amount in the dentin samples taken before and after the caries removal with real-time PCR for S. mutans ($p<0.05$). In conclusion, in our study, it is thought that the chemomechanical caries removal agent named Brix 3000, is an effective method for caries removal. Brix 3000 may be an alternative agent to the traditional method, especially in children, considering the disadvantages of the traditional method.

Science Code : 10101.03

Key Words : Chemomechanical caries removal, minimal intervention dentistry

Page Number : 132

Supervisor : Prof. Dr. Ayşegül ÖLMEZ

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca tecrübeleriyle bana yol gösteren desteğini ve sevgisini her zaman yanımda hissettiğim değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Ayşegül Ölmez'e,

Uzmanlık eğitimim boyunca akademik ve klinik tecrübelerini benimle paylaşan, tez döneminde benden yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ ve Dr. Öğrt. Üyesi Nagehan AKTAŞ'a,

Tezimin mikrobiyolojik kısmının gerçekleştirilmesinde büyük emeği olan ve her konuda yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Gülçin AKCA ve Tülay PEKMEZ'e,

TDH-2022-7517 proje kodlu BAP projesi desteği ile tez çalışmama katkı sağlayan Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Gazi pedodonti ailesine katıldığımdan beri bana yol gösteren ve deneyimlerini paylaşan değerli hocalarıma ve birlikte çalışmaktan keyif aldığım, bana her konuda yardımcı olmaya çalışan, özellikle de tezim konusunda emeklerini esirgemeyen Gazi pedodonti kızlarına,

Uzmanlık eğitimine birlikte başladığım, yaşadığımız türlü zorluklara birlikte göğüs gerdiğimiz, birlikte gülüp daha çok ağladığımız, hep yanımda olan eşkıdemlilerim Dt. Simge POLAT, Dt. Gamze Nazlı YANAR, Dt. Damla Gökçe SÖNMEZ, Dt. Nur Özge ÖZTÜRK'e, tatlı çömezim Dt. Nazile PEHLİVAN'a ve biricik Uzm. Dt. Bahar TEKLİ'ye,

Tüm hayatım boyunca benden sevgisini ve desteğini esirgemeyen, bu süreçte her zaman yanımda olduklarını hissettiğim sevgili annem Hülya AYTAR, babam Emin Suat AYTAR, abim Ahmet Burak AYTAR ve ailemizin en miniği Alper Berk AYTAR'a,

Tüm diş hekimliği hayatım boyunca hiç bitmeyen dertlerimi sabırla dinleyen, sevgisi ve ilgisiyle bana sonuna kadar destek olan, en çok nazımı ve kahrımı çeken, beni her koşulda güldürmeyi başarabilen, tezimde çok emeği olan, en sevdiğim Alper AYDOĞDU'ya,

Uzmanlığımın son zamanlarında hayatıma giren, bu süreçte gerek geç saatlere kadar çalışırken beni bekleyerek gerek bunaldığımda beni yalayarak destek olan, her gördüğünde kuyruk sallayıp göbeğini açan, sevgisini her fırsatta gösteren en sevdiğim LUKA'ya,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET …….. iv

ABSTRACT …….. v

TEŞEKKÜR …… vi

İÇİNDEKİLER ……. vii

ÇİZELGELERİN LİSTESİ ……..…. x

ŞEKİLLERİN LİSTESİ …… xii

RESİMLERİN LİSTESİ …… xiii

SİMGELER VE KISALTMALAR …… xiv

1. GİRİŞ …….. 1

2. GENEL BİLGİLER ……. 5

2.1. Diş Çürüğü ……. 5

2.2. Diş Çürüğünün Etiyolojisi ve Oluşum Mekanizması ……. 6

2.3. Diş Çürüğünün Mikrobiyolojisi ……. 9

2.3.1. *Streptococcus mutans (S. mutans)* …… 10

2.4. Çürük Uzaklaştırma Yöntemleri …… 13

2.4.1. Mekanik, dönen aletler ……. 14

2.4.2. Mekanik, dönmeyen aletler …….. 17

2.4.3. Foto-ablasyon (Lazer) …….. 21

2.4.4. Kemomekanik yöntemler ……. 22

2.5. Rezidüel Çürük Tespit Yöntemleri ……. 33

2.5.1. Görsel ve dokunsal yöntemler …….. 34

2.5.2. Elektriksel iletkenlik ölçümleri …… 35

2.5.3. Çürük tespit boyaları …… 36

2.5.4. Floresan yöntemler …… 38

Sayfa

2.6. Mikrobiyolojik Tanı Yöntemleri …… 41

2.6.1. Geleneksel yöntemler …….. 41

2.6.2. Moleküler yöntemler …… 43

3. GEREÇ VE YÖNTEM …….. 47

3.1. Etik Kurul Onayı …… 47

3.2. Dişlerin Seçilmesi ve Örneklerin Hazırlanması ……. 47

3.3. Çalışma Dizaynı ……. 49

3.4. Çalışma Protokolü …….. 50

3.4.1. Brix 3000 ile çürüklerin uzaklaştırılması ……. 50

3.4.2. Geleneksel yöntem ile çürüklerin uzaklaştırılması …….. 53

3.4.3. Geleneksel ve kemomekanik çürük uzaklaştırma yöntemleri sonrası rezidüel çürük varlığının değerlendirilmesi ……. 55

3.4.4. Mikrobiyolojik değerlendirme ……. 56

3.5. İstatistiksel analizlerin yapılması …… 64

4. BULGULAR …… 67

4.1. DIAGNOdent Pen Ölçümlerinin Değerlendirilmesi …….. 67

4.1.1. DIAGNOdent Pen ölçümlerinin tedavi öncesi ve tedavi sonrası değerlerinin karşılaştırılması …… 67

4.1.2. DIAGNOdent Pen ile ölçülen tedavi sonrası değerler ve tedavi öncesi-sonrası arasındaki değişim açısından geleneksel yöntem ve Brix 3000'in karşılaştırılması ……. 68

4.1.3. DIAGNOdent Pen ölçüm değerlerinin rezidüel çürük varlığı açısından geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile ilişkisinin incelenmesi …….. 69

4.2. Çürük Tespit Boyası ile Rezidüel Çürük Varlığının Değerlendirilmesi … 69

4.2.1. Araştırmacılar arası uyumun değerlendirilmesi …….. 69

4.2.2. Çürük tespit boyasının geleneksel yöntem ve Brix-3000 ile tedavi sonrasında boyanma oranları arasındaki ilişkilerin incelenmesi …. 70

Sayfa

4.3. Tedavi Sonrası DIAGNOdent Pen Ölçüm Değerleri ile Çürük Tespit Boyası İlişkisi ……..… 71

4.4. Tedaviden Önce ve Tedaviden Sonra Alınan Örneklerin Mikrobiyolojik olarak Değerlendirilmesi ……..…. 71

4.4.1. *S. mutans* miktarının değerlendirilmesi ……..….. 71

4.4.2. Total bakteri miktarının değerlendirilmesi ……..…. 76

5. TARTIŞMA ……..…. 79

5.1. Gereç ve Yöntemin Tartışılması …… 81

5.2. Bulguların Tartışılması ……..…. 90

5.2.1. DIAGNOdent Pen ile değerlendirilen bulguların tartışılması ……. 90

5.2.2. Çürük tespit boyası ile değerlendirilen bulguların tartışılması …… 92

5.2.3. DIAGNOdent Pen ve çürük tespit boyası ilişkisinin tartışılması … 94

5.2.4. Mikrobiyolojik bulguların tartışılması …… 95

6. SONUÇ VE ÖNERİLER ……. 101

KAYNAKLAR ……. 105

EKLER ……. 127

EK-1. Etik kurul onayı ……. 128

ÖZGEÇMİŞ ……. 132

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 2.1. Çürük uzaklaştırma yöntemleri ……. 14

Çizelge 3.1. ICDAS-II skorları …….. 48

Çizelge 3.2. DIAGNOdent Pen değerleri …….. 48

Çizelge 3.3. TYCSB agar içeriği …… 57

Çizelge 3.4. DNA çoğaltma işlemi sırasındaki ısıl döngü ……. 63

Çizelge 4.1. Geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile tedaviden önce ve tedaviden sonra ölçülen DIAGNOdent Pen değerleri …… 67

Çizelge 4.2. DIAGNOdent Pen ölçüm değerlerinin geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile ilişkisi …….. 68

Çizelge 4.3. DIAGNOdent Pen ölçüm değerlerinin rezidüel çürük varlığı açısından geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile ilişkisi …….. 69

Çizelge 4.4. Geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile tedavi sonrasında çürük tespit boyası boyanma durumu arasındaki ilişki ……. 70

Çizelge 4.5. Tedavi sonrası ölçülen DIAGNOdent Pen değerlerinin çürük tespit boyasıyla boyanma durumları arasındaki ilişki ……. 71

Çizelge 4.6. Geleneksel yöntemle tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin *S. mutans* değerleri (log_{10}) …… 72

Çizelge 4.7. Brix 3000 ile tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin *S. mutans* değerleri (log_{10}) ……. 73

Çizelge 4.8. Geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin *S. mutans* mikrobiyal kültür değerleri (log_{10}) ve değişim miktarları ……. 74

Çizelge 4.9. Geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin *S. mutans* real-time PCR değerleri (log_{10}) ve değişim miktarları ……. 75

Çizelge 4.10. Geleneksel yöntemle tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin total bakteri değerleri (log_{10}) …….. 76

Çizelge 4.11. Brix 3000 ile tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin total bakteri değerleri (log_{10}) …… 77

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 4.12. Geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin total bakteri mikrobiyal kültür değerleri (log_{10}) ve değişim miktarları ……. 78

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 2.1. Diş çürüklerinde patolojik ve koruyucu faktörler ……..…. 6

Şekil 2.2. Çürük oluşumunda rol oynayan etkenler …… 7

Şekil 2.3. PCR oluşum aşamaları …… 45

Şekil 3.1. DNA ekstraksiyonu ……. 61

Şekil 3.2. Real-time PCR'da çıkan *S. mutans* reaksiyonlarının grafiksel görünümü ……..…… 64

Şekil 3.3. Real-time PCR'da çıkan total bakteri reaksiyonlarının grafiksel görünümü ……. 64

Şekil 4.1. DIAGNOdent Pen ile ölçülen tedavi öncesi, tedavi sonrası ve değişim değerlerinin geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile ilişkisini gösteren çubuk grafikleri …… 68

Şekil 4.2. Geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile çürük boyası boyanma oranına ait çubuk grafiği …….. 70

Şekil 4.3. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası alınan örneklerin *S. mutans* mikrobiyal kültür değerlerinin çubuk grafikleri …….. 74

Şekil 4.4. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası alınan örneklerin *S. mutans* real-time PCR değerlerinin çubuk grafikleri …… 75

Şekil 4.5. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası alınan örneklerin total bakteri mikrobiyal kültür değerlerinin çubuk grafikleri …….. 78

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim **Sayfa**

Resim 3.1. Ependorf tüp …….. 50

Resim 3.2. Ekskavatör ……. 51

Resim 3.3. Brix 3000 jel …….. 51

Resim 3.4. (a) Brix 3000 ile çürük uzaklaştırma işlemi öncesi, (b) Brix 3000'in kaviteye uygulanması, (c) Çürük uzaklaştırma işlemi, (d) Çürük uzaklaştırma işlemi sonrası ……. 52

Resim 3.5. Çelik rond frez …… 53

Resim 3.6. (a) Geleneksel yöntemle çürük uzaklaştırma işlemi öncesi, (b) Çürük uzaklaştırma işlemi, (c) Çürük uzaklaştırma işlemi sonrası.. 54

Resim 3.7. DIAGNOdent Pen cihazı …… 55

Resim 3.8. Çürük tespit boyası …… 56

Resim 3.9. (a) Çürük tespit boyasının kaviteye uygulanması, (b) çürük tespit boyasının yıkandıktan sonraki görüntüsü ……. 57

Resim 3.10. Drigalski özesi ……. 58

Resim 3.11. TYCSB agarda yapılan ekim sonucu (a) çürük uzaklaştırma işlemi öncesi, (b) çürük uzaklaştırma işlemi sonrası üreyen *S. mutans* kolonilerilerinin morfolojik görüntüsü …… 59

Resim 3.12. Kanlı agarda yapılan ekim sonucu (a) çürük uzaklaştırma öncesi, (b) çürük uzaklaştırma işlemi sonrası üreyen kolonilerilerin morfolojik görüntüsü …… 59

Resim 3.13. DiaRex® Bakterilerden DNA Ekstraksiyon Kiti …… 60

Resim 3.14. Spin kolon ……..…….. 61

Resim 3.15. Real-time PCR cihazı …….. 63

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
%	Yüzde
=	Eşittir işareti
>	Büyüktür işareti
<	Küçüktür işareti
≥	Büyük eşittir işareti
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
°C	Santigrat derece
atm	Atmosfer basıncı
Al_2O_3	Alümina
$C_2H_3NaO_2$	Sodyum asetat
CO_2	Karbon dioksit
ct	Isıl döngü eşiği
dk	Dakika
g	Gram
H_2O	Hidrojen di oksit (su)
kHz	Kilohertz
log	Logaritma
lt	Litre
M	Mol
mg	Miligram
$MgCl_2$	Magnezyum Klorür

Simgeler	Açıklama
ml	Mililitre
mM	Milimol
NaCL	Sodyum klorür
Na_2HCO_3	Sodyum bikarbonat
NaOCl	Sodyum hipoklorit
Na_2SO_3	Sodyum sülfit
nm	Nanometre
pH	Çözeltinin asitlik-bazlık derecesini ölçü birimi
U/mg	Enzimin saflık derecesini gösteren ölçü birimi
unit/ml	Mililitredeki enzim miktarını gösteren ölçü birimi
sn	Saniye

Kısaltmalar	Açıklama
ART	Atravmatik restoratif tedavi
ATPaz	Adenozin trifosfataz
CFU	Koloni oluşturan birimler
DNA	Deoksiribo nükleik asit
dNTP	Deoksnükleotid trifosfatlar
dsDNA	Çift sarmallı DNA
EBE	Kapsülleyici tampon emülsiyonu
ECM	Elektronik çürük monitörü
EÇÇ	Erken çocukluk çağı çürüğü
EPS	Ekzopolisakkarit
Er:YAG	Erbiyum katkılı: İtriyum Alüminyum Garnet
Er,Cr:YSGG	Erbium, Krom katkılı: İtriyum, Skandiyum, Galyum Garnet
FACE	Floresan destekli çürük kazısı
FDA	Gıda ve İlaç Dairesi
FTF	Fruktoziltransferaz

Kısaltmalar	Açıklama
gDNA	Genomik DNA
GTF	Glikoziltransferaz
HRM	Yüksek çözünürlüklü erime
ICDAS	Uluslararası çürük belirleme ve değerlendirme sistemi
ITR	İnterim terapötik restorasyon
KHN	Knoop sertlik sayısı
LF	Lazer floresan
MSB	Mitis salivarius basitrasin
NCBI	Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
NMAB	N-monokloroaminobütirik asit
NMG	N-monokloroglisin
PBS	Fosfat tamponlu salin
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PEKK	Polieter keton keton
primer F	Forward primer
primer R	Reverse primer
RNA	Ribonükleik asit
rRNA	Ribozomal RNA
RTF	Azaltılmış taşıma sıvısı
S. mutans	*Streptococcus mutans*
TYCSB	Triptikaz Maya özütü Sistein Sükroz Basitrasin
QLF	Kantitatif ışık etkili floresan
qPCR	Kantitatif PCR

1.GİRİŞ

Diş çürüğü; biyofilm aracılı, bulaşıcı olmayan, multifaktöriyel bir hastalık olarak tanımlanmaktadır [1]. Tüm ağız hastalıkları arasında en sık görülen kronik hastalıklardan biridir [2]. Dental biyofilm içerisindeki bakterilerin ekolojik değişiminden kaynaklanır [3]. Bu durum, demineralizasyon ve remineralizasyon arasında dengesizliğe neden olarak diş sert dokularında mineral kaybına yol açar [4]. Bu sürecin sonucunda çürük lezyonu gelişir [1].

Çürük lezyonun erken evreleri genellikle semptomsuzdur, ancak diş çürüğünün ileri evreleri ağrıya, enfeksiyonlara ve apselere neden olabilir [5]. Bu nedenle, çürük lezyonlarının mümkün olduğunca erken bir şekilde tedavi edilmeleri önemlidir [6].

Geleneksel çürük uzaklaştırma yöntemleri, frezler ve döner aletler gibi mekanik araçlar kullanarak çürükleri uzaklaştırırlar [2]. Diş çürüklerinin geleneksel yöntemle uzaklaştırılması, çocuklarda işlem sırasında problem yaratmaktadır [7]. Çürük uzaklaştırma sırasında karşılaşılan en ciddi sorunlar kaygı, korku ve ağrıdır [2,8]. Ağrı lokal anestezi ile kontrol altına alınabilse bile [9], iğne korkusu, gürültü ve el aletinin titreşimi rahatsızlık nedeni olmaya devam etmektedir [2]. Ayrıca bu yöntemle çürüklerin uzaklaştırılması, sağlam diş yapısını da uzaklaştırarak diş yapısının gereksiz yere zayıflamasına neden olmaktadır ve pulpa dokusu üzerinde zararlı termal etkilere sahiptir [7]. Bu sorunların üstesinden gelmek için alternatif minimal invaziv çürük uzaklaştırma yöntemleri geliştirilmiştir [10].

Minimal invaziv felsefe, Black'in geleneksel operatif konseptlerine bir yanıt olarak ortaya çıkan ve dişlerin ömür boyu işlevsel kalmasını sağlamaya çalışan bir felsefedir [11]. Amaç çürük oluşumunu önleyerek ve ilerlemesini durdurarak diş dokularının korunmasıdır, bu sayede çürük uzaklaştırma işlemi mümkün olduğunca az doku kaybı ile gerçekleştirilmektedir [12]. Minimal invaziv yöntemlerin amacı; enfekte dentin tabakasını uzaklaştırmak ve etkilenmiş dentin tabakasını korumaktır [7].

Kemomekanik çürük uzaklaştırma yöntemi; enfekte dokuları uzaklaştıran, sağlıklı diş yapılarını koruyan ve hasta rahatsızlığını önleyen minimal invaziv bir yöntemdir [7]. Çürük diş dokularının uzaklaştırılmasına yardımcı olmak için çürük dokuyu çözebilen solüsyon veya jeller içermektedir [13]. Çürük dokuyu yumuşatma prensibi ile hareket ederek uzaklaştırılmasını kolaylaştıran bu ajanlar sodyum hipoklorit (NaOCl) veya enzim bazlı ajanlardır [2]. Papain içerikli enzim bazlı ajanlar üzerinde yapılan değişiklikler sonucunda Brix 3000 ortaya çıkmıştır [14].

Brix 3000, 2012 yılında Arjantin'de tanıtılan papain bazlı bir jel formülasyonudur [14]. Brix 3000, yeşil papaya ağacının meyvelerinden elde edilir. Brix 3000, diğer papain bazlı ajanlardan farklı olarak yüksek konsantrasyonda (3000 U/mg) papain içerir ve kapsülleyici tampon emülsiyonu (encapsulation buffer emulsion, EBE) teknolojisi ile biyokapsüle edilmiştir [13]. Bu sayede hasarlı dokuyu daha kolay bir şekilde, hasara veya pulpa sitotoksisitesine neden olmadan uzaklaştırabilir [15]. Ayrıca, bakterisidal, bakteriyostatik ve antiinflamatuar özelliklere sahiptir [16].

Diş çürüklerinin klinik olarak değerlendirilmesi dentinin rengine ve sertliğine dayanan görsel ve dokunsal yöntemlerle yapılmaktadır [17]. Bu yöntem subjektif bir yöntem olduğu için, çürük uzaklaştırma işleminin bittiği son nokta klinik olarak kolayca tanımlanamaz [18]. Bunun sonucunda, çürük kolaylıkla gözden kaçabilir ve kavitede rezidüel çürük bırakılabilir [19]. Rezidüel çürük, çürükler uzaklaştırıldıktan sonra kavitede kalan çürüğü tanımlamaktadır [20]. Kavitede kalan rezidüel çürük, diş yapısının daha fazla kaybına neden olarak pulpa iltihabına ve hatta diş canlılığının kaybına neden olabilir [21]. Bu nedenle çürük uzaklaştırma işlemi sırasında ve sonrasında rezidüel çürüklerin objektif olarak değerlendirilmesi için görsel ve dokunsal yöntemlere ek olarak destekleyici tanı yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır [21].

Çürük tespit boyaları, boya ve çoğunlukla propilen glikol içeren çözücü olmak üzere iki bileşenden oluşmaktadır [22]. İçeriğindeki boya enfekte dentinde bulunan denatüre kollajene bağlanır, bu sayede sadece enfekte dentini boyar [7]. Çürük uzaklaştırma sırasında enfekte dentinin doğru şekilde uzaklaştırılmasına yardımcı olmak [23] ve çürük

uzaklaştırma sonrası rezidüel çürüklerin varlığını değerlendirmek amacıyla kullanılmaktadır [7].

Lazer floresan cihazları, diş yüzeylerinin floresan yoğunluğunu ölçer ve nicel olarak görüntüler [24]. Diş yüzeyleri lazer ile ışınlandığında, ışığın ağız içi bakteri metabolitleri tarafından emilmesi ve floresan yayması prensibine dayanır [25]. DIAGNOdent Pen cihazı, demineralizasyon bölgelerini tespit etmeye yönelik invaziv olmayan bir araçtır ve dişten geri saçılan floresanı algılayabilir [23]. Bu özelliği sayesinde, çürük sürecinin aşamasına göre 0 ile 99 arasında nicel bir değer görüntülenmektedir [21,25]. DIAGNOdent Pen cihazı, çürüklerin tespit edilmesi amacıyla geliştirilmiştir, ancak rezidüel çürük teşhisinde de kullanım alanı bulunmaktadır [23].

Mikrobiyal kültür yöntemi, laboratuvar ortamında üretilebilen mikroorganizmalara odaklanır [26] ve mikroorganizmaları karakterize etmek amacıyla seçici besiyerleri kullanılır [27]. Mikrobiyal kültür yöntemi, diş çürükleri ile ilişkili mikroorganizmalar hakkında önemli bilgiler sağlamaktadır [28].

Polimeraz zincir reaksiyonu (polymerase chain reaction, PCR), çeşitli dokulardan elde edilen deoksiribo nükleik asit (DNA) ve ribonükleik asit (RNA)'yı incelemek için kullanılan bir yöntemdir [29] ve bir DNA segmentinin spesifik olarak kopyalanabileceği nükleik asitlerin in vitro sentezini sağlar [30]. Real-time PCR, amplifikasyonu izlemek için PCR ve floresan yöntemlerini birleştirir [31]. Floresan emisyonu, PCR ürünlerinin miktarı ile doğru orantılı olarak artan sinyaller üretir [30]. Bu yöntem *Streptococcus mutans* gibi tek bir hedef türü belirlerken, toplam bakteri miktarının da belirlenmesini sağlar [23]. Bu yöntem nicel doğruluk için altın standart olarak kabul edimektedir [32].

Son zamanlarda kemomekanik ajanlar üzerinde yapılan çalışmaların sadece birkaçı, çürük uzaklaştırma etkinliğini mikrobiyolojik olarak değerlendirmiştir [33-36]. Çürük lezyonun biyofilminde *Streptococcus mutans* en fazla sayıda bulunan tür değildir; bunun dışında asidojenik ve asidürik potansiyele sahip birçok mikroorganizma bulunmaktadır. Bununla birlikte, *Streptococcus mutans*, önemli bir ekzopolisakkarit (EPS) üreticisi olduğu ve

karyojenik biyofilm oluşumunu hızla modüle edebildiği için çalışmalarda sıklıkla incelenmektedir [1].

Bu çalışmanın amacı; kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanı Brix 3000'in çürük uzaklaştırma etkinliğini lazer floresan cihazı (DIAGNOdent Pen), çürük tespit boyası, mikrobiyal kültür ve real-time PCR yöntemleriyle değerlendirmektir. Elde edilen bulgular geleneksel yöntemle çürük uzaklaştırma ile karşılaştırılacaktır.

2.GENEL BİLGİLER

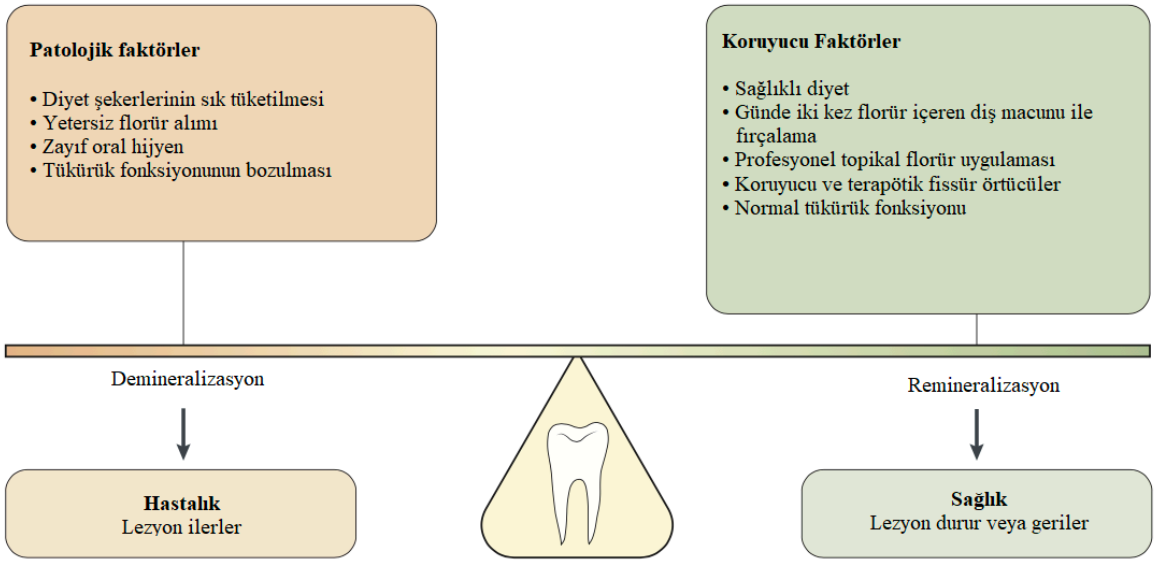
2.1. Diş Çürüğü

Diş çürükleri, dünya çapında en yaygın görülen kronik enfeksiyon hastalıklarından biridir [37] ve asit üreten bakteriler ile fermente olabilen karbonhidratlar arasındaki karmaşık etkileşimden kaynaklanır [38]. Diş çürükleri, çocukluk çağının en yaygın hastalıklardan biri olarak kabul edilir ve dünya çapında çocukların %60-90'ını etkiler [39]. Erken çocukluk çağı çürükleri (EÇÇ); altı yaşından küçük çocukların süt dişlerindeki çürük, kayıp veya restore edilmiş dişlerin varlığını tanımlamak için kullanılan bir terimdir [40-42]. Şiddetli erken çocukluk çağı çürükleri; üç yaşından küçük bir çocukta herhangi bir düz yüzeyli çürük belirtisi veya çürük, kayıp veya dolgulu diş yüzey skorunun 3 yaşında 4 veya daha fazla, 4 yaşında 5 veya daha fazla, 5yaşında 6 veya daha fazla olması olarak tanımlanır [42]. EÇÇ genellikle maksiller süt kesici dişlerde başlar, bunu dişlerin sürme paternine göre sırasıyla birinci azı dişleri, köpek dişleri ve ikinci azı dişleri takip eder [40].

Diş çürükleri, diş sert dokularının demineralizasyon ve remineralizasyonu arasındaki denge kaybı sonucunda oluşan biyofilm aracılı, multifaktöriyel, dinamik bir hastalıktır [41]. Kompleks biyofilm içindeki mikrobiyolojik kaymalarla başlar [43], biyofilmin homeostatik dengesinin bozulması sonucu oral floranın asidojenik ve asidürik üyelerinin diğer türlere göre selektif bir ekolojik avantaj elde etmesiyle ortaya çıkar [44]. Biyofilm bakterileri tarafından diyetle fermente olabilen karbonhidratların metabolizması sonucu üretilen organik asitler ile dişin mineral yapısı demineralize edilir [45].

Dinamik çürük süreci, hızla değişen demineralizasyon ve remineralizasyon periyotlarından oluşur [45,46]. Demineralizasyon, diş yüzeyinden kalsiyum, fosfat ve karbonatın difüzyonu sonucu meydana gelir [37,47]. Remineralizasyon ise, demineralizasyon sırasında kaybedilen mineralin yerine koyulmasıdır [48]. Demineralizasyon ve remineralizasyon dengede olduğunda veya denge remineralizasyon lehine olduğunda diş yüzeyi lokal oral çevre ile denge durumundadır [46]. Dengeyi sağlığa veya hastalığa çevirebilecek koruyucu ve patolojik faktörler Şekil 2.1'de özetlenmiştir [45]. Koruyucu

faktörlerin baskınlığı remineralizasyonu ve lezyonun durmasını desteklerken [45,46], patolojik faktörlerin baskınlığı demineralizasyon ve diş çürüğü ile sonuçlanır [37].



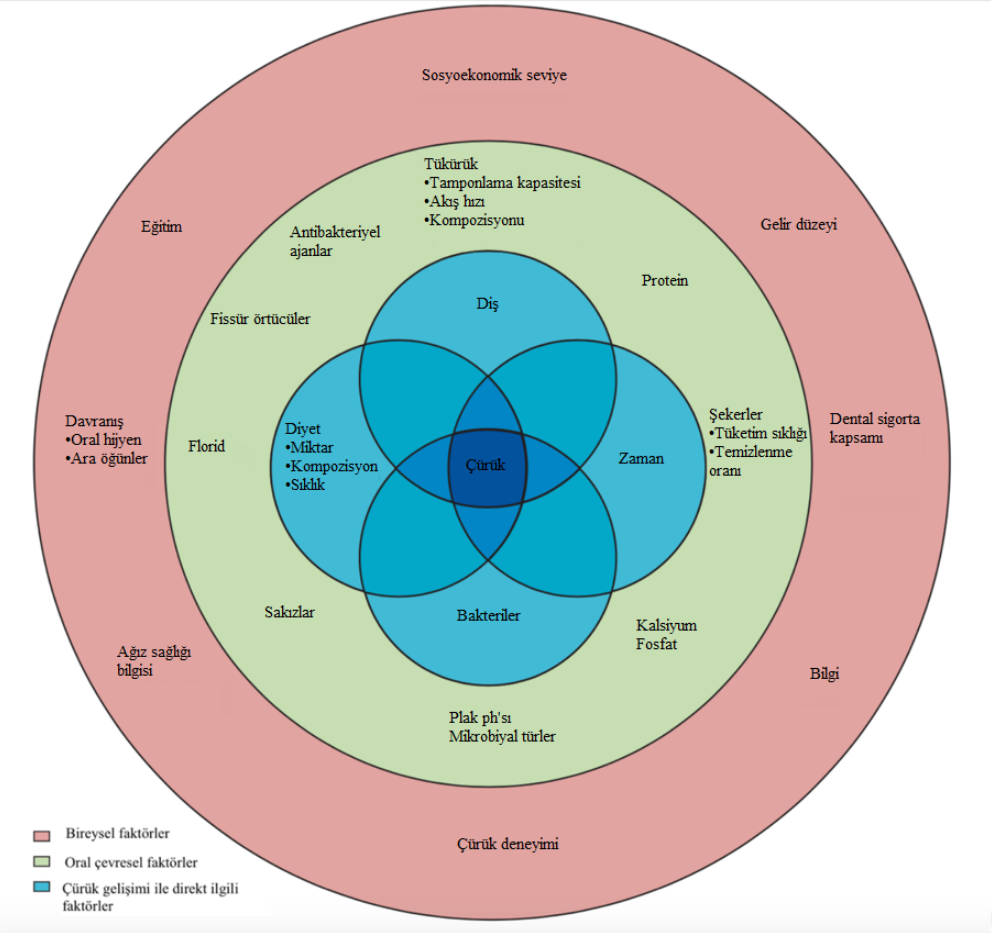
Şekil 2.1. Diş çürüklerinde patolojik ve koruyucu faktörler [39]

Çürük, diş yapısının inorganik kısmının demineralizasyonuna ve organik kısmının tahrip olmasına neden olmaktadır. Dentin çürükleri, klinik özelliklerinin yanı sıra kimyasal ve mikroskobik yapıları bakımından da farklı olan iki ayrı katmandan oluşur [7]. Dış tabaka (enfekte dentin); demineralize olan, remineralizasyon kabiliyeti olmayan [49], dentin tübüllerinin mikro yapısında bozulma, kollajen liflerinde geri dönüşümsüz bozulma ve belirgin bakteri penetrasyonu gösteren tabakadır [7,50]. İç tabaka (etkilenen dentin); remineralize olabilen [49], intertübüler dentinin demineralizasyonunu, tübüllerde kristal birikimini, minimal kollajen matriks bozulmasını ve bakteriyel invazyon olmadığını gösteren tabakadır [50]. Ayrıca, iç tabaka proteolitik ataklara ve çürük sürecinin ilerlemesine karşı daha dirençlidir [7].

2.2. Diş Çürüğünün Etiyolojisi ve Oluşum Mekanizması

Diş çürükleri; diş yüzeylerinde oluşan karyojenik biyofilmlerin oluşumunu destekleyen oral mikroorganizmalar [40], diş yapısı ve diyet karbonhidratları arasındaki karmaşık

etkileşimlerden kaynaklanır. Bu etkileşimlerin yanı sıra genetik etkiler [45,46], diş tedavisi hizmetlerine erişimi değiştiren sosyoekonomik ve çevresel faktörler [40] ile davranışsal ve konakçı faktörleri içeren multifaktöriyel bir hastalıktır [6,7]. Tükürük akışı, tükürük bileşimi, florür uygulamaları, diyet şekerlerinin tüketimi, oral hijyen alışkanlıkları [43], ebeveyn eğitim düzeyi, karyojenik türlerin edinilme yaşı, diş anatomisi, mine bileşimi ve plak mikroflorasından etkilenir [51]. Şekil 2.2'de çürük oluşumunda rol oynayan etkenler gösterilmiştir [43]:



Şekil 2.2. Çürük oluşumunda rol oynayan etkenler [37]

Dental biyofilm ve diyet şekerleri, çürük ifadesini yönlendiren temel etiyolojik faktörlerdir ve birinin yokluğunda diğeri dişin çürümesine neden olamaz [46].

Dişler, oral mikrobiyatanın dişlere bağlanmasını kolaylaştıran ve esas olarak tükürükten elde edilen proteinler ve glikoproteinlerden oluşan bir pelikıl tabakası ile kaplıdır. Bu

tabaka, diş yüzeyindeki erken kolonize edici bakterilerin yapışması için bağlanma bölgeleri sağlayarak dental biyofilm oluşumuna yol açar [45]. Dental biyofilm, birçok bakteri türünün kolonizasyonu ve büyümesi için mükemmel bir yapışma yeri sağlar [52]. Böylece, mikrobiyal komplekse katkıda bulunur [53] ve yüzey minesini tükürük ve ağız boşluğundan ayırarak fiziksel bir bariyer görevi görür. İkincil kolonize edici türler erken kolonize edici türlere bağlanarak biyofilmin karmaşıklığı artar [45].

Diyetin ana etkisi, dental biyofilmin pH'ı üzerindeki etkisidir. Dental biyofilmin kompozisyonunu, metabolik aktivitesini, tükürük akışını ve bileşimini değiştirerek biyofilm pH'ı üzerinde etki gösterir [46]. Diyet karbonhidratlarında artış, hem tükürüğün metabolizma ürünlerini uzaklaştırma kapasitesini, hem de tükürüğün tampon sisteminin nötralize etme gücünü aşabilen ek asit üretimi ile sonuçlanır. Bu durum plağın daha sık asitlenmesine neden olur [52]. Bu durum, asit üretiminin artmasına ve düşük pH ortamına yol açar [38]. Diğer diyet faktörleri; karbonhidrat türü, gıdanın kalıcılığı, ağızda kalma süresi, gıdalarda kalsiyum, fosfat ve florür gibi koruyucu faktörlerin varlığıdır [46]. Dental plak bakterilerinin enerji kaynağı olarak kullanabileceği herhangi bir karbonhidrat, mikrobiyotanın virülansına az veya çok katkıda bulunur, bu nedenle karyojenik potansiyele sahiptir [52]. Sükroz insan diyetindeki en karyojenik karbonhidrat olarak kabul edilir [46,52]. Bunun nedeni, sükrozun asidik son ürünlere hızla fermente olması ve plakta EPS'ye dönüştürülebilen tek diyet karbonhidratı olmasıdır [52].

Tükürük antibakteriyel, antiviral ve antifungal özelliklere sahiptir. Bakterilerin diş yüzeyini kaplayan pelikıla bağlanmasında reseptör olarak işlev gören prolinden zengin glikoproteinler içerir [37]. Tükürük faktörleri; tükürük akış hızı, tampon kapasitesi, dişlerin tükürük bezi deliklerine yakınlığı ve tükürük film kalınlığını içermektedir [46]. Tükürük, bakteriler için gerekli olan besinlerin alınmasına izin verir [37,45] ancak diğer yandan, bakterilerin kolonize yüzeylerden mekanik olarak uzaklaştırılmasını destekler [37]. Artan tükürük salgılama hızı, diş minesinin asitlere maruz kalma süresini azaltmaya yardımcı olur [37] ve ağız ortamını nötr bir pH'ta tamponlayarak yararlı mikrobiyotanın korunmasında önemli bir role sahiptir [45].

Diş çürükleri, diş yüzeyine özgü biyofilm topluluğunun bileşimindeki değişimin bir sonucu olarak ortaya çıkar [37]. Ekolojik değişim; artan demineralize asit üretimi ile bakterileri karyojenik bir duruma dönüştürür [54], karyojenik mikroorganizmalar çoğalarak biyofilmde baskın pozisyonu alır [46]. Biyofilmdeki bu bakteriler, fermente olabilen karbonhidratların metabolizmasının bir yan ürünü olarak laktik, formik, asetik ve propiyonik asit gibi zayıf organik asitler üretirler [11,37,47]. Laktik asit şeker metabolizmasının baskın son ürünüdür ve çürük oluşumunda rol oynayan ana asit olarak kabul edilir [45]. Biyofilmde asit birikimi oldukça pH, dişin mineral fazı olan hidroksiapatitin çözünmeye başladığı kritik noktaya düşer [46].

Kritik pH kavramı Stephan tarafından ortaya atılmıştır [55]. Minenin çözüldüğü kritik pH olarak kabul edilen ortalama pH 5,5'te hidroksiapatit kristalleri demineralize olmaya başlar [37,46,47]. Mineral kaybı; pörözitenin artmasına, mine kristalleri arasındaki boşlukların genişlemesine ve yüzeyin yumuşamasına yol açar, bu da asitlerin dişin daha derinlerine yayılmasına izin vererek yüzey altındaki mineralin demineralizasyonuna neden olur [45]. Çürük süreci daha da ilerlerse minede mikro kavitasyon oluşumu ile yüzey porozitesi artar. Bunun sonucunda, lezyonun yüzey tabakası çökerek fiziksel kavitasyona neden olabilir [46].

2.3. Diş Çürüğünün Mikrobiyolojisi

Mikrobiyom ifadesi; Joshua Lederberg tarafından vücudumuzda yaşayan, sağlık ve hastalık durumlarının belirteçleri olan mikroorganizmaların ekolojik popülasyonunu belirtmek için kullanılmıştır [56]. Virüsler, protozoalar, arkeler, mantarlar, bakteriler [38,57] ve mayaları içeren oral mikroorganizmalar ağızda oral mikrobiyom olarak bilinen heterojen bir ekolojik sistem oluşturur [58]. Oral mikrobiyom, insan vücudundaki en komplike ve en çeşitli bakteri floralarından biridir [57].

Diş yüzeyindeki oral mikrobiyom, dental biyofilm olarak bilinen polimikrobiyal topluluklar oluşturma eğilimindedir [58]. Mikrobiyal koloniler sadece oral homeostazın korunmasında önemli rollere sahip olmakla kalmaz, aynı zamanda ağız hastalıklarında da önemlidirler [57]. Karyojenik koşullar altında; karyojenik bakteriler diğer oral bakterilerle

rekabet ederek mikrobiyal dengenin bozulmasına neden olurlar. Bunun sonucunda karyojenik bakteriler karbonhidratları metabolize eder ve aşırı miktarda asit üretimine neden olurlar. Bu da, pH düşüşüne ve sonuç olarak dişin demineralizasyonuna ve çürümesine yol açar [59].

Diş çürüğünün etiyolojisini açıklamak için üç ana hipotez geliştirilmiştir: spesifik plak hipotezi, spesifik olmayan plak hipotezi ve ekolojik plak hipotezi [60].

- Spesifik plak hipotezine göre; çürük lezyonları yüksek oranlarda *Streptococcus mutans* ve *Streptococcus sobrinus* insidansı göstermektedir, *Laktobacillus'*lar ise ileri düzeydeki çürük lezyonlarında bulunmaktadır.

- Spesifik olmayan plak hipotezi; dental biyofilmlerde bulunan diğer bakterilerin de şekerlerden düşük pH üretebileceğini, çürüğün biyofilmin metabolik aktivitesinin bir sonucu olduğunu desteklemektedir.

- Ekolojik plak hipotezi; spesifik bakteri ismi olmadan bakteri fonksiyonu (hızlı asit üretimi ve üretilen asidik koşullara tolerans) ve çürüğe neden olan bir ortamın temel gereksinimini vurgulamaktadır. Bu hipotez, çürüklerin mikrobiyal etiyolojisinin en makul açıklaması olarak kabul edilmektedir [45].

2.3.1. *Streptococcus mutans (S. mutans)*

Streptococcus cinsine ait bakteriler, insan vücudunun hemen her yerinde bulunurlar ve ağız boşluğu ile üst solunum yollarında baskın türlerdir. Doğumdan hemen sonra edinilebilirler, bu nedenle ağız mikrobiyotasının birleşiminde önemli bir rol oynarlar [61]. Tüm kommensal mikroorganizmaların üçte ikisini oral streptokoklar oluşturmasına rağmen, sadece *S. mutans* olarak bilinen alt türü diş çürüğü oluşumuyla ilişkili bulunmuştur [32,57].

S. mutans 1924'te Clarke tarafından tanımlanmıştır [62]. *S. mutans'*ın doğal yaşam alanı; insan ağız boşluğudur, daha spesifik olarak dişin sert yüzeylerinde oluşan bir biyofilm olan diş plağıdır [63]. *S. mutans* suşları, hücre yüzeyi ramnoz-glukoz polisakarit bileşimine

bağlı olarak dört serolojik gruba sınıflandırılabilir: c,e,f,k. Suşların yaklaşık %75'i serotip c'ye ait dental plaktan izole edilir, yaklaşık %20'si serotip e ve kalan %5 f veya k serotipleri olarak sınıflandırılır [64].

S. mutans 1986'da çürük lezyonlarından izole edildiğinde, diş çürüğünün etiyolojik ajanı olarak kabul edilmiştir [65]. Modern moleküler analizler ve mikrobiyal kültür teknikleri; sadece *S. mutans'*ın değil, tüm bakteri çeşitlerinin farklı aşamalarda çürük sürecine katkıda bulunabileceğini [44] ve farklı bakterileri içeren patojenik bir mikrofloranın varlığını ortaya koymuştur [58]. *S. mutans*'a ek olarak *Bifidobacterium, Scardovia ve Lactobacillus* türleri çürükle ilişkili kolonizatörler olarak kabul edilir [57,58].

S. mutans diş çürüklerinin gelişiminde tek başına hareket etmese de [63], oral biyofilmler arasında asidojenitesi ve asidikliği nedeniyle başlıca karyojenik tür olarak kabul edilmektedir [59]. *S. mutans'ın* karyojenik potansiyelini oluşturan üç temel faktör bulunur:

- asit üretimi
- asit toleransı
- biyofilm oluşumu [58,66].

S. mutans tarafından üretilen asit, dişin demineralizasyonuna ve çevredeki ortamın pH'ının düşmesine neden olarak diğer türlerin büyümesini engeller [66]. Dental plakta yaşayan bakteri türlerinin önemli bir kısmı asidik pH aralıklarında büyüyemez veya şekerleri metabolize edemez. Bu da *S. mutans'*a asidik koşullarda bu türlere karşı önemli bir rekabet avantajı sağlar [67] ve *S. mutans'*ı ağız boşluğunda baskın tür haline getirir [66]. Oluşturulan asidik ortam, dental biyofilmdeki mikrobiyal türlerin asidojenik ve asidürik gruplara doğru kaymasını teşvik eder [40]. Asit üretimi, yerel ortamda bir pH düşüşüne neden olur. Bu nedenle *S. mutans* hayatta kalabilmek için bu asit ortamına tepki verebilmeli ve uyum sağlayabilmelidir. Biyofilm oluşumu *S. mutans'*ın diş yüzeyine sıkıca yapışmasını sağlar, biyofilmde üretilen asitlerin su veya tükürük tarafından seyreltilmesini ve nötralizasyonunu engeller [66].

S. mutans; hücreler ile diş yüzeyi arasındaki adezyona aracılık eden, oral biyofilm oluşumunu teşvik eden [59,68] ve biyofilmin patojenitesini büyük ölçüde artıran [40] çözünmeyen EPS'ler sentezler [59,68]. EPS'ler, uzun zincirli ve yüksek moleküler kütleli polimerlerdir [52]. Karyojenik biyofilmlerdeki matrisin ana bileşenleridir ve diş çürükleri ile ilişkili temel virülans faktörlerinden biri olarak kabul edilmektedir [69]. Diğer asit üreten mikroorganizmalar için yeni bağlanma bölgeleri sağlayarak onların virülansını arttırırlar. Böylece, karyojenik mikroorganizmalar için patolojik bir yaşam alanı sağlarlar. EPS matrise koruma ve mekanik stabilite sağlayarak biyofilmi antimikrobiyallere karşı dayanıklı hale getirir ve çıkarılmasını zorlaştırır. Mikroorganizmalar, EPS substratına gömülür ve tükürüğün hızlı tamponlanmasından fiziksel olarak korunan asitler üretir [58]. Çevresel asidik stres arttıkça, mikrobiyal çeşitlilik asit toleransı yüksek ve asidojenik bir mikroflora lehine artar. Sonuç olarak lokal asitlik, sürekli biyofilm birikimini sağlayarak diş çürüğünün oluşmasına yol açar [69].

Sükroz insan diyetindeki en karyojenik karbonhidrat olarak kabul edilir [46]. Glikoz ve fruktoz parçaları arasındaki enerji açısından zengin glikozidik bağ, EPS sentezi için ihtiyaç duyulan serbest enerjiyi sağlar. Glikoz homopolisakkaritlerine glukanlar, fruktoz homopolisakkaritlerine fruktanlar denir. Glukanlar glukosiltransferazlar (GTF) tarafından üretilirken, fruktanlar fruktoziltransferazlar (FTF) tarafından üretilir [52]. Çözünmeyen EPS açısından zengin glukan matrisin sentezi, *S. mutans*'ın diğer asidojenik ve asidik türlerden ayrılmasına yardımcı olan benzersiz bir virülans özelliğidir [67,69].

S. mutans mekanik olarak erişilebilen diş yüzeyinde yaşar, bu nedenle *S. mutans*'ın uzaklaştırılması için mekanik yaklaşımlar düşünülebilir. Ancak diş yüzeyine sıkıca yapışması ve biyofilm oluşturması nedeniyle mekanik yöntemle etkin bir şekilde çıkarılması zordur [66]. *S. mutans* çürük gelişimi ile en sık ilişkilendirilen organizmadır ve ağız boşluğundaki popülasyonunun azaltılması, hastalığı azaltmayı veya ortadan kaldırmayı amaçlayan araştırmalarda birincil hedef olmaya devam etmektedir [67].

2.4. Çürük Uzaklaştırma Yöntemleri

Diş çürükleri tipik olarak mine yüzeyinde veya yüzey altında başlar [2,45] ve kavitasyona doğru ilerler [2]. Süt ve daimi dişlerin hem kron hem de kök kısımlarında, pit ve fissürlerde, düz yüzeylerde görülebilir [43].

Süt dişleri; daimi dişlerin sürmesi için alanı koruduğu, estetiği sağladığı, zararlı alışkanlıkları önlediği ve çiğneme işlevini sürdürdüğü için çürük lezyonlarının mümkün olduğunca erken bir şekilde ve diş yapısını maksimum düzeyde koruyarak tedavi edilmeleri önemlidir [6]. Süt dişlerindeki çürükler, ağrı yüküne önemli ölçüde katkıda bulunur [32], uyku ve yemek yemede zorluklara neden olur [39,41] ve yaşam kalitesinde ve genel sağlıkta belirgin bir azalmaya neden olur [32]. Çürük süt dişlerinin tedavisi çocuk diş hekimliğinde önemli bir sorun teşkil etmektedir [6,7]. Pulpa söz konusu olduğunda bu durum daha karmaşık hale gelmektedir [7]. Ancak tedavi edilmeyen dişler pulpa tutulumu, şişlik, apse, sistemik belirti ve semptomlara neden olabilir [2].

Diş hekimliği kuralları 1800'lerin sonlarında modern diş hekimliğinin babası G.V. Black tarafından icat edilmiştir. Kuralların başında “önleme için genişletme” kavramı gelmektedir. Buradaki ana fikir, çürükten etkilenmiş diş yüzeyinin daha fazla çürüme olasılığını ortadan kaldırmak amacıyla bu dokunun uzaklaştırılmasıdır. Çürük sürecinin daha iyi anlaşılması [12] ve dental materyallerdeki gelişmeler diş hekimliğine yeni yaklaşımlar getirmiştir [7]. Artık “önleme için genişletme’’ kavramı etkisini yitirmiştir [12]. Böylece sağlıklı diş yapısının maksimum korunmasını vurgulayan, restorasyonun ölüm sarmalı olarak adlandırılan bir döngüye dişi daldıran geleneksel restorasyonlara olan ihtiyacı ortadan kaldıran non-invaziv ve minimal invaziv tedavi yaklaşımlarının yolunu açmıştır [10].

Dentin çürüklerinin tedavisinin amacı; çürük dentinin sadece enfekte tabakasını çıkarmak değildir, aynı zamanda remineralizasyon yeteneğine sahip olan etkilenmiş dentin tabakasını korumaktır [6,7,9]. Geleneksel çürük uzaklaştırma yöntemleri, hem enfekte hem de etkilenen dentini agresif bir şekilde çıkarırlar [49]. Minimal invaziv yaklaşıma dayalı çürük uzaklaştırma yöntemlerinin ortak özellikleri; konservatif olmaları [54] ve etkilenmiş

dentini remineralizasyon için sağlam bırakırken enfekte olmuş dentini seçici olarak çıkarmalarıdır [9,50]. Çizelge 2.1'de görüldüğü gibi çeşitli çürük uzaklaştırma yöntemleri bulunmaktadır [70].

Çizelge 2.1. Çürük uzaklaştırma yöntemleri [70]

Kategori	**Teknik**
Mekanik, döner aletler	Angldruva + frezler
Mekanik, dönmeyen aletler	El ekskavatörleri, Air abrazyon, Air polishing, Ultrasonikler, Sono abrasion
Kemomekanik yöntemler	Caridex, Carisolv, Enzimler
Foto-ablasyon	Lazerler

İdeal çürük uzaklaştırma yöntemi hem diş hekimi hem hastanın konforu için şunları içermelidir:

- Klinik ortamda kullanımı kolay olmalı
- Yalnızca çürük dokuyu ayırt etme ve uzaklaştırma yeteceği olmalı
- Ağrısız ve sessiz olmalı, işlem sırasında minimum basınç gerektirmeli
- İşlem süresince titreşim veya ısı oluşturmamalı
- Ucuz ve bakımı kolay olmalıdır [70].

2.4.1. Mekanik, dönen aletler

Angldruva ve frezler

Döner aletler çürükleri uzaklaştırmak için geliştirilen ilk mekanik tekniklerdir, dental motorlar ve frezlerden oluşurlar. 1946 yılına kadar mine dokusunun uzaklaştırılmasında etkinlik sağlanamamıştır. Yüksek ve düşük hızlarda su soğutmalı veya soğutmasız aeratör ve mikromotor başlıkları ile frezler kombine edilmiştir [71]. İlk üretilen frezler çeliktir, sonra tungsten karbid frezler ortaya çıkmış ve 1900'lerin sonlarında elmas frezler geliştirilmiştir [72]. Çelik frezler, tungsten karbid frezlerle aynı çürük uzaklaştırma

özelliklerine sahiptir, daha ucuzdur, ancak korozyona ve matlaşmaya çok daha yatkındırlar ve minede hızla körelirler. Tungsten karbid frezler, mikroskobik boyutlardaki tungsten karbid partiküllerinin, kobalt veya nikel matrisin içerisinde bir arada tutulduğu baş kısmı ve çelik saptan oluşur. Bu frezler, çelik frezlerden daha serttir fakat ani bir darbe aldıklarında çabucak kırılabilmektedir [73].

Geleneksel çürük uzaklaştırma yöntemi, mekanik dönen aletleri kullanır [2]. Bu yöntemde, çürük lezyona erişim sağlamak için yüksek hızlı el aletleri ve çürük dokuyu uzaklaştırmak için düşük hızlı el aletleri kullanılır [9,35]. Çürüklerin uzaklaştırılması için, çapları çürük lezyonunun boyutuna karşılık gelen yuvarlak bir frez önerilir. Kazara pulpa ekspozu durumunda enfeksiyon riskini en aza indirmek için çürük uzaklaştırma işleminin, periferden lezyonun merkezine doğru başlatılması tavsiye edilir [73]. Çürüklerin uzaklaştırılması için harcanan zaman açısından çok verimli olmasına rağmen, frezleri kullanarak çürük uzaklaştırma kararı çok özneldir ve temel olarak operatörün geçmişine ve klinik deneyimine bağlıdır [74]. Sağlıklı diş dokularının ve remineralizasyon yeteneği gösteren etkilenmiş dentinin gereksiz olarak çıkarılmasına neden olabilir [35]. Buna bağlı olarak diş yapısının gereksiz bir şekilde zayıflamasına [8] ve iatrojenik pulpa ekspozu riskinin artmasına neden olur [7].

Çürük uzaklaştırma sırasında karşılaşılan en ciddi sorun kaygı, korku ve ağrıdır [2,8]. Dönen bir el aletinin gürültüsü ve titreşimi çocuklar için ürkütücü olabilir ve dental kaygının artmasına neden olabilir. Bu durum kaygı nedeniyle istenmeyen baş ve vücut hareketlerine yol açabilir [22]. Kavite preperasyonu ile ilişkili ağrı ve rahatsızlıktan potansiyel olarak sorumlu olan faktörler;

- duyarlılık
- dişte basınç hissi
- kemik tarafından iletilen titreşim
- el aletinin yüksek perdeli gürültüsü
- yüksek sıcaklık oluşumudur [75,76].

Ağrıyı kontrol etmek için sıklıkla lokal anesteziye ihtiyaç duyulur [9,35]. Ağrı lokal anestezi ile kontrol altına alınabilir; ancak bu durumda iğne korkusu, gürültü ve el aletinin titreşimi hasta için bir rahatsızlık nedeni olmaya devam etmektedir [2]. Ayrıca frezlerin termal stimülasyon ve basınç nedeniyle pulpa dokusu üzerinde zararlı etkileri bulunmaktadır [2,7]. Zach ve Cohen, pulpa sıcaklığının 5,5 ˚C'nin üzerine yükselmesinin pulpa dokularında önemli histolojik değişikliklere ve dental pulpa nekrozuna neden olduğunu bildirmişlerdir [77].

Son yıllarda diş hekimliği, temel amacı diş dokusunun daha fazla korunması olan bir konsepte doğru evrilmiştir [78]. Remineralize olabilen etkilenmiş dentini korumak için, kavite preperasyonu sırasında enfekte dentini çürük lezyonlardan seçici olarak uzaklaştırmak amaçlanmaktadır [10].

Polimer frez

2003 yılında Boston tarafından, geleneksel frezlere alternatif olarak geliştirilmiştir [79]. Polimer frezler, 50 Knoop Sertlik Sayısı (Knoop hardness number, KHN)'lik özel bir knoop sertliğine sahip tıbbi sınıf bir polimer olan polieter keton ketondan (PEKK) yapılmıştır. Bu, çürük dentine atfedilen sertlikten (0-30 KHN) daha yüksek, ancak sağlıklı dentinden (70-90 KHN) daha yumuşaktır [49,73]. Polimer kesici kenarlar, çürük dokunun uzaklaştırılması sırasında sağlıklı dentin gibi daha sert malzemelerle temas ettiğinde aşınır ve körelirler [49,80,81]. Böylece, enfekte ve etkilenmiş dentini ayırt edebilirler [35], etkilenmiş dentini kesmeden enfekte dentini seçici olarak uzaklaştırırlar [7,49]. Aşındıklarında, diş hekimine çürük dokunun uzaklaştırılmasının durdurulması gerektiğini gösterirler. Böylece çürük dokuların uzaklaştırılması için kullanılan ve güvenilirliği artıran geleneksel sertlik kriterini standardize ederler [81].

Polimer frezler tek kullanımlık ürünlerdir [9,81], kendi kendini sınırlarlar [49] ve düşük hızlı el aleti ile birlikte kullanılabilirler [9]. Daha az dentin tübülünün kesilmesi avantajına sahiptirler ve böylece daha az ağrı hissine neden olurlar [35]. Geleneksel çelik veya tungsten karbid frezlerden daha pahalıdır [81] ve çürük lezyonun uzaklaştırılması için daha uzun süre gereklidir [49].

Seramik frez

Çürük uzaklaştırma prosedürlerini basitleştirmek ve standartlaştırmak amacıyla üretilen ve minimal invaziv felsefeyi benimseyen frez sistemidir [18]. Geleneksel frezlere benzerler ve düşük hızlı el aletleriyle birlikte kullanılırlar [82]. Seramik frezler, alümina ile stabilize edilmiş zirkonyadan yapılan tamamen seramik yuvarlak frezlerdir [73,74]. Farklı çap ve boyutları bulunur [73]. Enfekte olmuş dentini verimli bir şekilde keserken sert, sağlam dokuya etki etmeyen frezlerdir. Bu sayede kendi kendilerini sınırlarlar [74].

Seramik frezlerin avantajları, optimum kesme verimliliği, korozyon olmaması [82], dokunsal geri bildirim sağlaması ve tedavi süresinin kısa olmasıdır [73]. Seramik frezler, minimal invaziv yöntemle çürüklerin uzaklaştırılması için uygundur. Bu frenlerle çürük uzaklaştırıldığında daha az dentin tübülü kesilir ve geleneksel frezlerin kullanımına kıyasla ağrı duyusunun daha az tetiklenmesi sağlanır [82].

2.4.2. Mekanik, dönmeyen aletler

El ekskavatörleri

Frezler; çoğunlukla gürültü, ağrı, aşırı ısınma, titreşim ve rahatsızlık ile ilişkilidir. Bu nedenle, diş hekimleri tarafından uyumsuz olan çocuklar üzerinde veya aşamalı çürük tedavisi için genellikle el ekskavatörleri tercih edilmektedir [83]. El ekskavatörü yumuşatılmış dokuyu frezden daha hassas dokunsal geri bildirimle çıkaracağından, bu yöntem frezlere kıyasla kendi kendini sınırlayan yöntemdir [70]. Ayrıca bu aletler, yüksek sıcaklıklar ve titreşim oluşturmazlar, böylece daha az rahatsızlık sağlarlar. El ekskavatörleri ile çürük uzaklaştırma işlemi sırasında lokal anesteziye ihtiyaç duyulmaz, ancak tedavi için gereken süre uzundur ve fiziksel olarak kuvvet uygulanması gerekmektedir [83].

Atravmatik restoratif tedavi (ART); çürüklerin el ekskavatörleri kullanılarak uzaklaştırılmasını, ardından yüksek viskoziteli cam iyonomer siman ile restorasyonunu içerir [39,54]. Bitişik pit ve fissürler, parmak basıncı altında yerleştirilen cam iyonomer siman ile aynı anda kapatılabilir. Lokal anestezi veya döner alet kullanımı gerektirmeyen

ağrısız bir prosedürdür [39]. Başlangıçta, lokal anestezi veya elektrik gerektirmediği için gelişmekte olan ülkelerde kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Ancak stres ve ağrı ile ilgili atravmatik yaklaşımı ve diş yapısını koruması nedeniyle gelişmiş ülkelerde giderek daha fazla kabul görmeye başlamıştır [54]. ART süt dişlerindeki tek yüzeyli kavitelerde yüksek başarı oranları gösterirken [39], birden fazla yüzeyi içeren ART restorasyonları daha az başarılı görünmektedir [54].

İnterim Terapötik Restorasyonlar (ITR), ART ile benzer teknikleri kullanır [84,85]. Ancak terapötik amaçları farklıdır. ITR; genç hastalarda, koopeere olmayan hastalarda ve özel sağlık bakımı ihtiyacı olan hastalarda çürük lezyonlarının ilerlemesini önlemek, çürükleri durdurmak veya restore etmek için kullanılır. Koşullar geleneksel kavite preperasyonu veya restorasyonlarının yerleştirilmesine elverişli olmadığında veya daimi restorasyonların yerleştirilmesinden önce çürük kontrolü gerekli olduğunda ITR faydalı olabilir [84]. ITR prosedürü, pulpayı ekspoze etmemeye dikkat ederek el ekskavatörleri veya döner aletler kullanılarak çürüklerin uzaklaştırılmasını içerir. Preparasyonun ardından diş, cam iyonomer veya rezin modifiye cam iyonomer siman gibi adeziv bir restoratif materyal ile restore edilir. ITR, tek yüzeyli veya küçük iki yüzeyli restorasyonlara uygulandığında en büyük başarıya sahiptir [85].

Air abrazyon

1945'te Robert Black tarafından geliştirilmiştir [12]. Hava akımında taşınan yüksek hızlı parçacıkların diş yüzeyine püskürtülmesi ve bu sayede dokuların kaviteden uzaklaştırılmasına dayanan bir tekniktir [2]. Air abrazyon, yüzeydeki sert dokuları uzaklaştırmak için aşındırıcı parçacıkların kinetik enerjisini kullanır [86] ve 7-11 atm hava basıncında çalışır [12].

Air abrazyonun sadece uç kısmı kesme özelliğine sahiptir [76,87] ve belirsiz duvarları ve kenarları olan kaviteler oluşturur [76]. Diş dokusunu kesmek için ortalama parçacık boyutu 27-50 μm olan [12] ve 2100 KHN sertliğine sahip alümina tozu (Al_2O_3) kullanılır [88]. Yüksek kesme etkinliği, kimyasal stabilitesi, düşük maliyeti, suya düşük afinitesi ve nötr rengi sayesinde en sık tercih edilen aşındırıcı ajandır [73]. Ancak, işlem sırasında sağlam

diş yapısının da uzaklaştırılmasına neden olmaktadır. Alternatif olarak; biyouyumlu bir malzeme olan [76], parçacık çapı 25 ile 32 μm arasında olan [73] ve 420 KHN sertliğe sahip biyoaktif cam tozu kullanılmaktadır [88]. Biyoaktif cam sağlam ve çürük dentin arasındaki kesme hızı farkı nedeniyle alüminadan daha yüksek seçicilik göstermektedir [73], ancak işlem süresi uzundur [76].

Air abrazyon titreşim kuvvetlerine neden olmaz. Bu sayede diş yapısında daha az stres oluşturur [76]. Ancak dokunma duyusunun tamamen kaybı, tekniği diş hekimine duyarlı hale getirir ve aşırı kavite preperasyonu riskine neden olur. Bu nedenle diş hekimlerinin dikkatli eğitimi gerekmektedir [88]. Dezavantajları; potansiyel inhalasyon riski [12] ve tedavi sırasında oluşan tehlikeli toz bulutu oluşumudur. Su soğutması ve yeterli emiş gücü kullanılarak toz su bulutu büyük ölçüde kontrol edilmektedir [87].

Air polishing

Air polishing, diş hekimliğinde ilk defa 1970'lerde tanıtılmıştır [89]. Air abrazyonun bir varyasyonudur [70]. Air polishing, suda çözünen sodyum bikarbonat parçacıklarının eş merkezli bir su jeti ile karışması prensibine dayanır ve parçacıkların hava basıncı kullanılarak diş yüzeyine uygulanması işlemidir [75]. Akış özelliklerini iyileştirmek için parçacıkların içerisine ağırlıkça %0,08 trikalsiyum fosfat eklenmiştir [70].

Sert diş yüzeylerinin bu parçacıklar tarafından bombardımanı, sürekli bir mekanik aşındırıcı etki ile sonuçlanır [70]. Aşındırıcının suda çözünür olması, çalışma alanından kaçmamasını sağlar. Ancak seçici olmadığı için, aşırı kullanımı özellikle servikal marjinlerde önemli miktarda diş yapısının uzaklaştırılmasına neden olur [75]. Yüzey mine lekelerini, dental plak ve diş taşlarını çıkarmak için geliştirilmiştir. Dikkatli kullanıldığında sağlam dentini bırakarak çürük dentini ortadan kaldırdığı için bir çürük uzaklaştırma yöntemi olarak gelişme potansiyeli olduğu öne sürülmüştür [70]. Minede kullanımın güvenli olduğu, ancak sağlam dentine zarar verebileceği anlaşılmıştır [89].

Ultrasonikler

Daha konservatif kavite preperasyonu için ultrasonik bir alet kullanma fikri, 1950'lerde Nielsen tarafından ortaya atılmıştır [90]. Bu amaç için alüminyum oksit ve suyu birlikte kullanan, 25 kHz salınım frekansına sahip manyetostriktif bir alet geliştirilmiştir. Su moleküllerinin kinetik enerjisi, kesici ucun yüksek hızlı salınımları yoluyla aşındırıcıya aktarılarak diş yüzeyine taşınmıştır [75]. Ultrasonikler, sert diş dokularını parçalamak için kesici ucun salınımı ve mikro kavitasyon prensibini kullanır [91]. Ultrasonik başlıklar, yaklaşık 20-40 kHz gibi yüksek bir frekansta çalışır [78].

Ultrasonik prosedür; gürültü, titreşim, ısı ve basıncı en aza indirir veya ortadan kaldırır. Ultrasonik tekniğin kullanılması, dental frez kullanımının neden olduğu iatrojenik hasara karşı komşu dişleri korumaya yardımcı olur [12]. Ancak; kesici uçların sınırlı mevcudiyeti, düşük görüş alanı ve çürüklerin etkin bir şekilde uzaklaştırılamaması nedeniyle kabul görmemiştir [92].

Sono abrazyon

Sono abrazyon; su soğutması altında yüksek frekanslı, sonik air scaler ile birleştirilmiş modifiye aşındırıcı uçların kullanımına dayanmaktadır [73]. Bu yöntem dentini fiziksel olarak kesmez, ancak yaklaşık 6,5 kHz frekansta salınan elmas kaplı bir uç kullanarak aşındırır [12]. Başlık sonik bölgede salınım yaparken [73], uçlar enine ve boyuna hareket aralıkları ile eliptik bir hareket meydana getirirler. Bu uçlar kesme tarafında elmas ile kaplıdır [12] ve uçların tek taraflı tasarımı bitişik dişlerin korunmasına yardımcı olur [78].

Farklı şekilli uçların kullanılması, amaçlanan kavite ana hatlarını hazırlanmasına ve çürük dentinin uzaklaştırılmasına yardımcı olur [2]. Posterior proksimal lezyonlarda, özel tasarlanmış uçlar lezyona doğrudan yaklaşmayı veya tünel preperasyonu yapmayı sağladığından sağlam marjinal kretler korunur. Anterior proksimal lezyonlarda ise, çürük dokunun konservatif olarak çıkarılmasına katkıda bulunur ve böylece sağlam mine dokularını ve dolayısıyla doğal diş estetiğini korur. Erişilemeyen servikal sınırların eğimini sağlar ve marjinal adaptasyonu artırır [92].

Gürültü, titreşim, ısı ve basıncı en aza indirme veya ortadan kaldırma avantajına sahiptir [12], daha az rahatsızlık ve ağrıya neden olduğu için hasta kabulü daha iyidir. Periodonsiyum ve yumuşak dokular üzerinde çok az olumsuz iatrojenik etkisi vardır [78]. Maliyet ve zaman, ana dezavantajlarıdır. Kesme etkisini hızlandırmak ve süreyi azaltmak için çalışma gücünün arttırılması; kavite boyutunun, titreşim hızının ve gürültünün artmasına neden olarak hastanın rahatsızlığına neden olur [92]. Yumuşak maddeler üzerinde daha az etkilidir, bu nedenle yumuşak çürük dentinin uzaklaştırılması için çok uygun değildir [78].

2.4.3. Foto-ablasyon (lazer)

Lazer kelimesi, ‘’uyarılmış radyasyon emisyonuyla ışık amplifikasyonu’’ nun kısaltmasıdır. Lazer cihazları tek frekansta tutarlı ve yüksek yoğunluklu ışık demetleri üretirler [93]. Işınlama sırasında, su molekülleri gelen radyasyonu emerek ani ısınmaya ve suyun buharlaşmasına neden olur. Sonuç olarak, yüksek enerjiyi su yoluyla dişe aktararak diş sert dokularının fotoablasyonuna neden olurlar [74]. Lazer ile çürük uzaklaştırma işlemi sırasında, çürümüş dokulardaki mineral ve su içeriği veya her ikisi ile de büyük bir etkileşim sağlayan lazer dalga boyları kullanılır. Etki mekanizması; suyun genleşmesine neden olan yüzeyde ve yüzey altında suyun ısınmasıdır, bu sayede doku yüzeyden dışarı atılır [2]. Çürük dokunun, sağlıklı diş sert dokularına kıyasla daha yüksek su içeriği nedeniyle ablasyon etkinliği sağlıklı dokulara göre daha fazladır [12].

Çürük uzaklaştırma için en yaygın kullanılan lazer sistemleri Erbiyum katkılı: İtriyum Alüminyum Garnet (Erbium: Yttrium Aluminium Garnet, Er:YAG) lazer ve Erbium, Krom katkılı: İtriyum, Skandiyum, Galyum Garnet (Erbium, Chromium: Yttrium Scandium Gallium Garnet, Er,Cr:YSGG) lazerdir [2].

<u>Er:YAG lazer</u>

Er:YAG lazer 2940 nm dalga boyuna sahiptir [73]. Kavite preperasyonunda kesme etkinliği yüksektir, sekonder dentini uyarabilir ve antibakteriyel etkiye sahiptir [12]. Mineralize dokuda bulunan suyun buharlaşması sonucu mikro patlamalar yoluyla çürük

dokunun etkili bir şekilde ablasyonuna neden olur [94]. Er:YAG lazer; titreşim olmaması, güvenli olması ve daha az lokal anestezi ihtiyacı nedeniyle çocuk diş hekimliğinde ideal bir seçenek haline gelmiştir [6].

Er,Cr:YSGG lazer

Er,Cr:YSGG lazer 2780 nm dalga boyuna sahiptir [22]. Lazerle çalışan hidrokinetik sistem olarak bilinen bu sistem, fotonları doğrudan hedef dokuya yönlendirilen bir hava-su spreyine iletir [73]. Bu enerji su tarafından emildiğinde hızlı buharlaşmaya neden olmak ve sert dokuda mikro patlamalar oluşturmak için kullanılır [22]. Lokal anestezi ihtiyacı gerektirmemesi [73], sığ doku penetrasyon derinliği, su ile yüksek afinitesi ve termal hasar eksikliği bu lazeri; çocuk diş hekimliği için ideal bir lazer haline getirmektedir [22]. Ancak en büyük dezavantajı uzun sürmesidir [73].

Her iki lazer çok benzer dalga boyları sunar. Ancak Er,Cr:YSGG lazer, hidroksiapatit tarafından Er:YAG'ten belirgin şekilde daha fazla emilir. Bu farklılığa rağmen, diş sert dokuları ile etkileşimleri çok benzerdir [73].

2.4.4. Kemomekanik yöntemler

Kemomekanik yöntem, çürük dentinin kimyasal olarak yumuşatılmasını ve ardından bir el aleti ile uzaklaştırılmasını içeren [12] minimal invaziv bir yöntemdir [9]. Bu yöntemin temel ilkesi, çürük diş dokuyu kimyasal olarak değiştiren ve böylece uzaklaştırılmasını kolaylaştıran bir çözeltinin kullanılmasıdır [50]. Çözeltinin uygulanmasından sonra jel genellikle renk değiştirir, bulanıklaşır veya kabarcıklar oluşturur. Bu sayede, meydana gelen reaksiyonun tamamlandığını veya çürük dokunun kalmadığını belirlemek kolaylaşır [2]. Daha sonra yumuşamış olan doku atravmatik kuvvet uygulanarak kesici olmayan bir el aleti ile mekanik olarak uzaklaştırılır [50].

Kemomekanik yöntem; pulpa iritasyonunu ve hasta rahatsızlığını önler, enfekte dokuları uzaklaştırır ve sağlıklı diş yapılarını korur [7]. Antibakteriyel, antiinflamatuar etkileri vardır [9]. Çürük dentinin kemomekanik yöntemle uzaklaştırılması, özellikle çocuk diş

hekimliğinde endişeli ve kooperasyon kurulamayan çocuk hastaların tedavisinde kullanılabilir. Derin çürüğü olan hastalarda potansiyel pulpa ekspozu riskini azaltabilir [12].

Yip ve diğerleri yaptıkları çalışmada, kemomekanik yöntemin süt dişleri ve daimi dişler üzerindeki çürük uzaklaştırma etkinliğini karşılaştırmışlardır. Süt dişlerinde genellikle kavitasyon olmasından dolayı kaviteye erişimin daha kolay olduğunu, uygulama sırasında daha az hacimde solüsyona ihtiyaç duyulduğunu ve kemomekanik yöntem ile çürüğün daha etkili şekilde uzaklaştırıldığını bildirmişlerdir [95].

Garcia-Contreras ve diğerleri yaptıkları çalışmada, kemomekanik yöntem ve geleneksel yöntem ile çürük uzaklaştırıldıktan sonra bakterilerin azalma miktarların ve kalan dentinin mikrosertliğini değerlendirmişlerdir. Kemomekanik yöntem ile çürük uzaklaştırıldıktan sonra kalan dentinin mikrosertliği daha yüksek bulunmuştur. Kemomekanik yöntemde bakteri miktarındaki azalma daha yüksek ve bu nedenle çürük uzaklaştırma etkinliği, geleneksel yönteme göre üstün bulunmuştur [34].

Dogra ve diğerleri yaptıkları randomize kontrollü çalışmada; kemomekanik yöntemi çürük uzaklaştırma etkinliği, tedavi süresi ve ağrı açısından geleneksel yöntemle karşılaştırmışlardır. Çürük uzaklaştırma etkinliği, bakteri miktarındaki azalmayla belirlenmiştir. Kemomekanik yöntem daha az ağrıya neden olmuş, tedavi süresi daha uzun bulunmuş ve çürük uzaklaştırma etkinliğinin geleneksel yöntemle benzer olduğu bildirilmiştir [96].

Cardoso ve diğerleri yaptıkları metaanalizde; süt dişlerinde geleneksel yönteme kıyasla alternatif çürük uzaklaştırma yöntemlerinin (kemomekanik ajanlar Brix 3000, Carie-care, Carisolv ve Papacarie'yi, lazeri, Vector sistemi) etkinliğini, tedavi süresini ve hasta kabulünü değerlendirmişlerdir. Alternatif çürük uzaklaştırma yöntemlerinin tedavi sürelerinin geleneksel yönteme göre daha uzun olduğu, ancak daha az ağrıya neden oldukları ve hasta kabulünün daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Kemomekanik yöntemin işlem sırasında iyi kontrolü ve hastalar için iyi tedavi deneyimleri ile minimal invaziv tedaviler arasında en iyi seçenek olduğunu belirtmişlerdir [2].

Schwendicke yaptığı metaanalizde; süt azı dişlerinde enzim bazlı ajanlar uygulanarak gerçekleştirilen çürük uzaklaştırma işlemini tedavi süresi, hissedilen ağrı ve çürük doku uzaklaştırıldıktan sonra kalan bakteri miktarı açısından değerlendirmiş ve geleneksel yöntemle karşılaştırmıştır. Enzim bazlı ajanların, işlem sırasında daha az ağrıya neden olduğu, tedavi süresinin daha uzun olduğu ve tedavi sonucunda bakteri miktarındaki azalmanın daha fazla olduğu bulunmuştur [97].

Kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanları, NaOCl bazlı ve enzim bazlı ajanlar olarak sınıflandırılır [2,50].

NaOCl bazlı ajanlar

NaOCl bazlı ajanlar, çürük dentinde kısmen bozulmuş kollajenin hidrojen bağlarını klorlayan ve bozan, böylece çıkarılmasını kolaylaştıran NaOCl türevleri içermektedir [50]. Çürük doku, uygulama sonrasında bir ekskavatör yardımı ile uzaklaştırılır [73].

%5'lik NaOCl

Kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanı olarak ilk %5'lik NaOCl solüsyonu kullanılmıştır [50]. Sodyum hipoklorit spesifik olmayan proteolitik bir ajandır [73], hem enfekte dentini hem etkinlenmiş dentini, hem de sağlam dentini çıkarmaktadır. Bu sorunun üstesinden gelmek, NaOCl'in sağlam dentin üzerindeki agresifliğini azaltmak ve dejenere kollajen üzerindeki bozucu etkisini arttırmak amacıyla sonraki versiyonlara amino asitler eklenmiştir [50]. NaOCl'nin çürük dentini seçici olarak uzaklaştırma yeteneği, amino asit karışımının tamponlama etkisine atfedilmiştir [73].

GK-101

NaOCl solüsyonunun toksik olması ve sağlıklı doku üzerindeki aşındırıcı etkisi nedeniyle [98], Goldman ve Kronman NaOCl'yi glisin, sodyum klorür ve sodyum hidroksit içeren Sorensen tamponuna dahil etmişlerdir. GK-101, 1976 yılında Goldman ve Kronman tarafından tanıtılan [99], Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration, FDA) tarafından onaylı ilk kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanıdır [50].

GK-101, iki çözeltiden oluşmaktadır. Birincisi glisin, sodyum klorür ve sodyum hidroksit, ikincisi NaOCl içermektedir ve iki çözelti karıştırılarak hazırlanır [50]. Oluşan reaksiyon ürünü, glisinin klorinlenmiş formu olan N-monokloroglisin (NMG)'dir [99]. Çürük dentindeki kısmen degrade olan kollajen, NMG solüsyonları ile klorlanır ve klorlama, hidrojen bağını bozarak kollajenin sekonder ve kuarterner yapısını etkiler [100]. Kollajenin stabilitesi için temel faktör olan hidroksiprolinin, pirol-2-karboksilik asite dönüştürülmesiyle dentinin organik yapısı bozulur [50]. Bu sayede çürük dentinin uzaklaştırılması kolaylaşır [100].

Kurosaki ve diğerleri, GK-101'in köpeklerin pulpa dokusu üzerinde olumsuz bir etkisi olmadığını, ancak çürük lezyonun tamamını çıkarmada etkili olmadığını bildirmişlerdir [101]. GK-101, özel bir iletim sistemi gerektirir ve ortalama tedavi süresi uzundur [50]. Bu bulgular, GK-101E (Caridex)'nin gelişmesine yol açmıştır [8].

GK-101E (Caridex)

Glisine amino bütirik asit eklenmesi durumunda sistemin daha etkili olduğu bulunmuştur [102]. GK-101E, GK-101'in etil türevidir. Bu formül, enfekte dentinin denatüre proteinine karşı solüsyonun özgüllüğünü arttırmaktadır [50]. GK-101E, Caridex olarak pazarlanmış ve 1984'te FDA onayını almıştır [8,50].

Caridex, iki şişeli sistem şeklindedir. Birincisi NaOCl ve ikincisi glisin, aminobütirik asit, sodyum klorür ve sodyum hidroksit içermektedir. Bu iki çözelti, kullanımdan hemen önce karıştırılarak pH'sı yaklaşık 11'e eşit olan ve bir saat boyunca stabil olan bir solüsyon elde edilir [12]. Oluşan reaksiyon ürünü N-monokloroaminobütirik asit (NMAB)'tir [50]. NMAB'nin denatüre kollajen fibriller üzerindeki etki mekanizması, NMG'ninkine benzerdir. Çürük dentindeki kısmen degrade olmuş kollajenin klorlanmasını ve hidroksiprolinin pirol-2-karboksilik aside dönüştürülmesini içerir. Klorlama reaksiyonuna ek olarak denatüre kollajen fibrillerinin ayrılması, glisin kalıntılarının oksidasyonunun bir sonucu olarak meydana gelmektedir [50]. Bu reaksiyonlar, kolajen fibrillerinin daha çok bozulmasına neden olarak uzaklaştırılmasını kolaylaştırır [98].

Caridex solüsyonu güvenlidir, pulpa üzerinde olumsuz etkisi bulunmamaktadır [98]. Solüsyonu kaviteye ulaştırmak için özel bir aparata ihtiyaç duyulması [73], karmaşık dağıtım ekipmanı [98], büyük hacimlerde solüsyon gerektirmesi, solüsyonun tadının hastalar tarafından kötü algılanması [12], tedavi süresinin uzun olması, yüksek tedavi maliyeti [73], kısa raf ömrü ve el aletlerinin optimal olmaması gibi dezavantajlar nedeniyle klinik kullanımı sınırlanmıştır [8]. Bu eksikliklerin üstesinden gelmek için jel bazlı Carisolv adı verilen bir sistem geliştirilmiştir [75].

Carisolv

Carisolv, 1988'de NaOCl bazlı kemomekanik ajanların en son varyasyonu olarak tanıtılmıştır [12]. Carisolv'un kimyasal yapısı ve etki mekanizması, monoaminobütirik asidin üç farklı amino asitle değiştirilmesi dışında Caridex'e benzerdir [12]. Ancak jel formu nedeniyle herhangi bir ısıtma ve özel bir dağıtım sistemi gerektirmez [8], daha az hacimde solüsyon kullanılır ve çürük lezyonla daha iyi temas sağlanır. Jel kıvamı nedeniyle aktif moleküllerin, Caridex sistemindeki eşdeğer irrigasyon solüsyonundan daha uzun süre dentine erişimi vardır [98]. Ayrıca jel, el aleti için çürük dokunun çıkarılmasına yardımcı olacak mekanik lubrikasyon etkisine sahiptir [75].

Carisolv iki şırıngadan oluşmaktadır [12]. Biri NaOCl solüsyonu; diğeri sodyum klorür, sodyum hidroksit [75], amino asitler (glutamik, lösin ve lisin) ve eritrosin içeren karboksimetilselüloz bazlı kırmızı bir jel içerir [7,12]. Eritrosin, jeli kullanım sırasında görünür hale getirmek için ilave edilmiştir [75]. Karboksimetilselüloz ilavesi ise jeli viskoz hale getirmektedir [7]. Bu sayede, Caridex solüsyonuna kıyasla kullanım özellikleri geliştirilmiştir [50].

İki şırınga kullanımdan önce oda sıcaklığında eşit parçalar halinde iyice karıştırılır. Oluşan çözeltinin pH'ı yaklaşık 11'dir. Karıştırıldıktan 20 dk sonra etkinliği bozulmaya başlar [98]. Her iki şırınganın bileşenlerini içeren ve tam olarak gerekli malzeme miktarını dağıtan çok karışımlı bir şırınga da bulunmaktadır [8]. Çürük doku üzerindeki etki mekanızması, birlikte hareket eden birkaç reaksiyonun sonucu olarak ortaya çıkar. Jel karıştırıldığında, amino asitler kloru bağlayarak kloraminleri oluşturur [103]. Reaksiyon

sonucunda, üç amino asit farklı şekilde yüklenir ve çürük dentindeki proteinlerin farklı bölgelerine elektrostatik bir çekim sağlayarak çürük lezyonlarının farklı kısımları ile reaksiyona girerler [50]. Bu klorlama, hidrojen bağını bozarak kollajenin sekonder ve kuarterner yapısını etkiler [103] ve çürük dentin matrisindeki kollajen çapraz bağlarını daha da bozar [98]. NaOCl'nin klor atomu, her amino asidin amino grubuna aktarılır ve bu şekilde NaOCl'nin daha az reaktif ve daha az agresif hale gelmesi sağlanır [103], NaOCl'den kaynaklanan istenmeyen yan reaksiyonlar en aza indirilir [50]. Bu süreçlerin sonucunda enfekte çürük dentinin seçici olarak uzaklaştırılır. Sağlıklı dentin etkilenmez, çünkü amino asitler aktif klor için hedef olarak işlev görmektedir [103].

Carisolv jeli, çürük lezyona 30 sn boyunca uygulanmalı ve Carisolv tarafından üretilen özel el aletleri kullanılarak atravmatik olarak çürük doku ile birlikte uzaklaştırılmalıdır [75]. Bu aletler, çürük uzaklaştırma verimliliğini artırmak ve çürükten etkilenen diş dokusunun maksimum düzeyde korunmasını sağlamak için tasarlanmıştır [50]. Bu işlem, çürük dentin kalmayıncaya kadar tekrarlanmalıdır ve bunun belirteci jelin berrak olarak uzaklaştırılmasıdır [98].

Carisolv jelin diş pulpası üzerinde olumsuz etkisi bulunmamaktadır [50]. Dezavantajları; hoş olmayan koku ve tat, sınırlı raf ömrü, pahalı olması, yeniden uygulama sırasında oluşan malzeme israfı, zaman alıcı olması, uzun süre nedeniyle hasta uyumunun kaybedilmesidir [8].

Enzim bazlı ajanlar

Kemomekanik ajanlarda bulunan proteolitik enzimler, bakteriyel etkiye maruz kalmış enfekte dentinin kısmen demineralize olan matrisini daha da bozmak için kullanılır. Bu sayede uzaklaştırılmasını kolaylaştırırlar [75], denatüre kollajenin seçici olarak çıkarılmasına izin verirler [10] ve remineralize olabilen etkilenmiş dentine zarar gelmesini önlerler [75]. Enzim bazlı ajanlar, daha iyi tedavi deneyimlerine ve daha az ağrıya yol açabilen antiinflamatuar özelliklerle de ilişkilendirilmektedir [2].

Papacarie

Papacarie, 2003 yılında Bussadori ve diğerleri tarafında kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanı olarak tanıtılmıştır [104]. Papain enzimi, kloramin, toluidin mavisi, koyulaştırıcı [12,50], tuzlar, koruyucular, stabilizatörler ve deiyonize sudan oluşmaktadır. Papacarie jelinin ana etkisi, papain enziminin varlığına bağlıdır [50].

Papain; bakterisit, bakteriyostatik ve antienflamatuar özelliklere sahip olan proteolitik bir enzimdir [9,50]. Gram-pozitif ve gram-negatif organizmaların büyümesini engelleyen antibakteriyel aktivite içerir [104]. Brezilya, Hindistan, Güney Afrika ve Hawaii gibi tropik bölgelerde yetiştirilen [50] yetişkin yeşil Carica papaya ağacının yaprak ve meyvelerinin lateksinden elde edilmektedir [9,50]. Papain enzimi, kısmen denatüre kollajen moleküllerini parçalar [12] ve bozulmamış kollajen fibrillerine zarar vermeden çürük süreci sonucu oluşan fibrillerin bozulmasına ve ortadan kaldırılmasına katkıda bulunur. Papain enziminin çürük dentin ile olan bu seçici etkileşimi, alfa-1-antitripsin antiproteazına bağlı bulunmuştur [75]. Normal dokularda proteolitik papainin etkisini önleyen bir plazma antiproteazı olan, alfa-1-antitripsin bulunmaktadır [12]. Ancak enfekte dokuda bu antiproteaz bulunmadığından [9], papain denatüre kollajen moleküllerini parçalamak için hareket eder [12,104].

Kloraminler, doğrudan nitrojen atomlarına bağlı en az bir klor atomu içeren aminlerdir. Kloraminlerin bakterisit ve dezenfektan özellikleri vardır [104]. Kloraminler; iyileşme sürecine yardımcı olur, doku onarım süresini kısaltır [105] ve denatüre kollajenin uzaklaştırılmasını kolaylaştırırlar [50]. Toluidin mavisi antimikrobiyal bir ajandır. Papain enzimi ve kloramin ile sinerjistik etki oluşturmakta ve çürüğün uzaklaştırılmasını kolaylaştırmaktadır [50].

Papacarie diş yüzeyine 40-60 sn uygulanır. Bu sürenin bitiminde yumuşamış enfekte dentin ekskavatör ile nazikçe uzaklaştırılır [50]. Tüm çürük doku uzaklaştırılana kadar kadar jel tekrar uygulanır ve uygulamalar arasında kaviteyi durulamaya gerek yoktur [12].

Carie-Care

Carie-Care, içeriği Papacarie'ye benzeyen [105], ana etken madde olarak bir endoprotein olan papaya özütünden oluşan enzim bazlı bir jeldir [106]. İçeriğinde; papain, kloramin, boya, karanfil yağı ve sodyum metil paraben bulunmaktadır [105]. Ayrıca, antiinflamatuar ve hafif anestezik etkiye sahip olan ve bitkisel kaynaklardan elde edilen belirli yüzdelerde uçucu yağlar içerir. Uygulandığında dökülme meydana gelmemesi için jele tam kıvam vermek amacıyla jelleştirici madde eklenmiştir [75,105].

Karanfil yağı analjezik ve antiseptik etkiye sahiptir. Sodyum metilparaben koruyucu olarak kullanılır [105]. Doğal antienflamatuar olan papain jeli ve karanfil yağı içermesi bu ajana çeşitli avantajlar sağlamaktadır [6]. Carie-Care; sağlıklı dokulara zarar vermez, doku iyileşmesini destekler, sadece enfekte olmuş dentine etki eder, aynı zamanda antienflamatuar aktivite ve aroma avantajı da sağlar [105]. NaOCl veya başka herhangi bir güçlü klorlama maddesi içermez, bunun yerine bileşenlerin çoğu doğal kaynaklardan oluşur. Carie-Care, -4°C'de saklanabilen tekli preparat şeklindedir [75].

Carie-Care, tek kullanımlık bir aplikatör ucu aracılığıyla doğrudan çürük dişe 60 sn uygulanır. Uygulama sonucu jel etkilenen bölgedeki rengi değiştirir ve çözünmüş olan çürük doku ekskavatör yardımıyla uzaklaştırılır [75,105].

Apacaries

Apacaries jeli, Juntavee tarafından süt dişlerinde atravmatik kuvvet ile çürüklerin uzaklaştırılması amacıyla geliştirilmiştir [107]. Mangosten özütlerinden elde edilen polifenol ve papain jeli karışımından oluşur. Mangostenin antienflamatuar, antihistaminik, antioksidan ve antibakteriyel özellikleri bulunur. [96]. Papain ve mangosten özütü, çürüklerin daha fazla ilerlemesini engellemenin yanı sıra uzaklaştırılması üzerinde de sinerjik bir etkiye sahiptir. Papain jeli, enfekte olmuş dentini ortadan kaldırır. Mangosten özütünün çürük ilerlemesini engelleyici etkisinden dolayı *S. mutans*'ta azalma meydana gelir [96]. Apacaries jeli, *S. mutans* inhibisyonunu hem mangosten özütünden hem de papain jelinden daha iyi yapabilir [107].

Polifenollerin *S. mutans* üzerindeki etki mekanizması, iki şekilde gerçekleşmektedir:

- İlki, polifenollerin anti-GTF aktivitesine bağlı olarak glukan sentezinin inhibisyonudur [107]. *S. mutans,* GTF enzimini kullanarak sükrozdan hücre dışı glukanları sentezler. Polifenoller, anti-GTF aktiviteleriyle *S. mutans'*ın glukan bağlanma bölgelerini inhibe ederek glukan sentezini engellerler [108].

- İkincisi, polifenollerin F tipi adenozin trifosfataz (adenosine triphosphatase, ATPaz) enzim aktivitesine bağlı olarak *S. mutans* tarafından asit üretiminin inhibisyonudur. F-ATPaz, protonları hücrelerin dışına taşır ve bu sayede hücre dışı ortamın pH'ını düşürerek asidifikasyonun metabolik süreçler üzerindeki olumsuz etkisini hafifletir [107].

Biosolv

Biosolv, deneysel enzim bazlı ajandır [109]. Fosforik asit ve sodyum bifosfat ile tamponlanmış pepsin enziminden oluşur [50,73]. Biosolv hakkındaki bilgiler çok sınırlıdır ve esas olarak üreticinin iddialarına dayanmaktadır [73].

Fosforik asit çürük dentinin inorganik bileşenini çözerken, pepsin çürük biyokütlenin organik kısmına erişim sağlamaktadır. Böylece üçlü sarmal yapısını kaybeden denatüre kollajeni seçici olarak yıkıma uğratmaktadır [18]. Biosolv'ün çürük lezyondaki denatüre olmuş kollajeni spesifik olarak hedefleyebilme yeteneği sayesinde solüsyon kendi kendini sınırlamaktadır [74]. Bu solüsyonun ana avantajı, NaOCl bazlı ajanlara göre daha spesifik olabilmesidir [73].

Kimyasal olarak yumuşatılmış olan doku metal veya plastik bir el aleti kullanılarak uzaklaştırılabilir [18]. Sağlam dokuyu korumak amacıyla plastik aletle birlikte kullanılması önerilmiştir. Bu aletlerin sertliğinin, sağlam ve enfekte dentin sertliği arasında olduğu ileri sürülmektedir [109]. Ancak, bu sistemin tek kullanımlık plastik ekskavatör ile kullanılması durumunda çürük uzaklaştırma etkinliği şüphelidir [74]. Biosolv sistemi ile birlikte metalik aletler kullanılarak en iyi sonuçların elde edildiği bildirilmiştir [109].

Brix 3000

Brix 3000, 2012 yılında Arjantin'de tanıtılan papain bazlı bir jel formülasyonudur [14]. Sodyum hipoklorit içermeyen bir ajan olan Brix 3000 [110]; bakterisidal, bakteriyostatik ve antienflamatuar aktiviteye sahiptir [16]. Etken maddesi olan papain, Carica Papaya'dan elde edilen, insan pepsinine benzer bir endoproteindir [110].

Brix 3000'in benzersiz özellikleri arasında yüksek konsantrasyonda papain içermesi (%10'luk konsantrasyonda 3000 U/mg) ve EBE teknolojisi bulunur [14]. Bu teknolojide papain enzimi, nötr bir pH tamponu ile biyolojik olarak kapsüllenmiştir [110]. Böylece, Brix 3000'e enzimleri hareketsiz hale getirmek için gereken ideal pH'ı verir [13] ve kollajende proteoliz uyguladığı sırada serbest bırakarak enzimlerin aktivitesini arttırır [14]. Bu da çürük dokudaki kollajen fibrillerin proteolizinin artmasına [16] ve aktif maddenin oral sıvılar tarafından daha az çözünmesine yol açar. Soğuk zincir koruması gerektirmez [111], elverişsiz depolama ortamına karşı daha iyi direnç sağlar [13] ve doku üzerindeki antiseptik etkisini artırarak daha fazla antibakteriyel ve antifungal etki sağlar [111].

Brix 3000 jel ekskavatör yardımıyla dişe uygulanır ve iki dk boyunca kavitede bekletilmesi tavsiye edilir [15]. Uygulanan jel bulanıklaştıktan sonra bir ekskavatör kullanılarak uzaklaştırılır. Bu işlem sağlıklı dentin elde edilene kadar tekrarlanır. Jelde herhangi bir renk değişikliği gözlenmemesi enfekte olmuş dokunun olmadığını gösterir [14]. Çürük dentin, ekskavatör ile basınç uygulanmadan uzaklaştırılır [15].

Brix 3000'in avantajları; diğer kemomekanik ajanlara göre daha kısa uygulama süresi, daha düşük uygulama miktarı, aynı anda farklı bölgelerde kullanılabilmesi ve enfekte dentini uzaklaştırırken basınç uygulamaya gerek olmamasıdır [16]. EBE teknolojisi ile kapsülleme ve daha yüksek konsantrasyonlar nedeniyle, hasar görmüş dokuyu daha kolay bir şekilde, hasara veya pulpa sitotoksisitesine neden olmadan uzaklaştırabilir [15]. Brix 3000; ürünün ağız, cilt veya gözler için toksik olmadığını ve sağlıklı doku ile temas ettiğinde herhangi bir reaksiyona neden olmadığını gösteren dermatolojik sertifikalara sahiptir [111]. Toksik etkileri bulunan bir madde olan kloramin içermez ve güvenli kullanım sağlar [13].

Inamdar ve diğerlerinin yaptığı in vivo çalışmada; Brix 3000, Carie-care ve polimer frezlerin (Smart burs) çürük uzaklaştırma etkinlikleri ve tedavi süreleri karşılaştırılmıştır. Çürük uzaklaştırma etkinliği bakteri sayısındaki azalma miktarı ile değerlendirilmiştir. Tüm yöntemler bakteri sayısını azaltmıştır. Bakteri sayısındaki azalma en yüksekten en düşüğe sırasıyla; Brix 3000, Smart burs ve Carie Care şeklindedir. Tedavi süresi ise en düşükten en yükseğe sırasıyla; Brix 3000, Carie Care ve Smart burs olarak bulunmuştur. Sonuç olarak Brix 3000'in çürük uzaklaştırma etkinliği en yüksek, tedavi süresi ise en düşük bulunmuştur [14].

Alkhouli ve diğerlerinin yaptığı randomize kontrollü çalışmada; Brix 3000, %2,25 NaOCl jel ve geleneksel yöntemin süt azı dişlerindeki tedavi süreleri, tedavi sırasında hastaların ağrı düzeyi ve hasta kabulü açısından değerlendirilmiştir. Tedavi süresi geleneksel yöntemde en düşük bulunmuş, Brix 3000 ve NaOCl jel arasında önemli bir fark gözlenmemiştir. Ağrı düzeyleri geleneksel yöntemde daha yüksek bulunmuş, Brix 3000 ve NaOCl jel arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Hasta kabul düzeyinin ise Brix 3000 ve NaOCl jelde eşit ve geleneksel yönteme kıyasla daha yüksek olduğu bildirilmiştir [13].

Gupta ve diğerleri yaptıkları in vivo çalışmada, süt azı dişlerinde enfekte çürük dentinin uzaklaştırılmasında ART ve Brix 3000'in etkinliğini ve ağrı düzeyini değerlendirmişler ve karşılaştırmışlardır. Çürük uzaklaştırma etkinliği çürük tespit boyası kullanılarak değerlendirilmiş ve hastanın rahatsızlık düzeyi için Wong-Baker yüzleri ağrı derecelendirme ölçeği kullanılmıştır. Sonuçlar, Brix 3000'in çürük uzaklaştırma etkinliğinin ART'den daha fazla olduğunu, ancak her iki yöntemde ağrı algısında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını göstermiştir [112].

Ismail ve diğerleri yaptıkları randomize kontrollü çalışmada, Brix 3000 ile seramik frezin çürük uzaklaştırma etkinliği; bakteri miktarındaki azalma, ağrı reaksiyonu ve tedavi süresi açısından değerlendirilmiştir. Her iki yöntemde toplam bakteri sayısındaki azalma gözlenmiştir ve çürük uzaklaştırma etkinlikleri benzer bulunmuştur. Ağrı reaksiyonu açısından Brix 3000'de anlamlı bir şekilde daha az ağrı hissedilirken, Brix 3000 için gereken tedavi süresi seramik frez için gereken süreden önemli ölçüde fazla bulunmuştur [111].

İsmail ve diğerleri yaptıkları çalışmada, Brix 3000 ile çürük uzaklaştırma sırasında ve sonrasında anksiyete düzeyini belirlemeyi ve seramik frezler ile karşılaştırmayı amaçlamışlardır. Tedavi sırasında anksiyete düzeyi Brix 3000'de seramik frezlerden daha düşük düzeyde bulunmuş, tedavi sonrasında ise anksiyete düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır [113].

Guedes ve diğerlerinin yaptıkları çalışmada, iki kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanının (Brix 3000 ve Papacarie Duo) süt dişlerinden alınan pulpa hücreleri üzerine doğrudan teması halinde sitotoksisitelerini ve çürük uzaklaştırıldıktan sonra dentin yüzeyinin morfolojisi ile kimyasal bileşimlerini değerlendirmişlerdir. Brix 3000'in Papacarie Duo'dan daha az sitotoksisite sergilediği, her iki materyalin de dentin yüzey morfolojisini değiştirmediği, kalsiyum ve fosfor seviyelerinde anlamlı fark olmadığı bildirilmiştir [114].

Santos ve diğerlerinin yaptıkları çalışmada, Brix 3000 ile Papacarie Duo'nun sitotoksisitesi pulpa fibroblastları kullanılarak değerlendirilmiş, çürük uzaklaştırıldıktan sonra mikrosertlik değerleri ve tedavi süreleri geleneksel yöntemle karşılaştırılmıştır. Mikrosertlik değerleri üç grubun da benzer bulunmuş ve tedavi süresi artan sırayla geleneksel yöntem, Brix 3000 ve Papacarie Duo olarak belirlenmiştir. Brix 3000'in, Papacarie Duo'ya kıyasla daha kısa tedavi süresi ve daha düşük sitotoksisitesi nedeniyle kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanı olarak daha iyi olabileceği belirtilmiştir [15].

Srinath ve diğerler yaptıkları çalışmada, süt azı dişlerinde Carie-Care ve Brix 3000 ajanları ile kemomekanik çürük uzaklaştırma işlemi sonrasında kalan dentin yüzeyini değerlendirmişlerdir. Değerlendirmesi sonucu, süt dişlerinde enfekte dentin ve smear tabakasının uzaklaştırılmasında iki ajanın eşit derecede etkili olduğu bulunmuştur. Brix 3000'in klinik pratikte süt dişlerinde etkin bir şekilde kullanılabileceği belirtilmiştir [115].

2.5. Rezidüel Çürük Tespit Yöntemleri

Dentinin sertliği ve rengi, diş hekimleri tarafından çürük uzaklaştırma işlemi sırasında enfekte ve etkilenmiş dentini ayırt etmek için kullanılan ana parametrelerdir [19]. Dentin yüzeyi sondlamada sert hissedildiğinde ve lekesiz görünüme sahip olduğunda işlem

tamamlanmış sayılır [35]. Hem doku rengini hem de sertliğini belirlemek oldukça özneldir [19], tekrarlanabilirliği düşüktür [17] ve uygulayıcının deneyimine bağlı olarak büyük farklılıklar gösterir [7]. Bu nedenle, enfekte ve etkilenmiş dentin tabakları arasında ayrım yapma ve yalnızca enfekte dentini çıkarma yeteneği bir sorun olmaktadır [7] ve çürük uzaklaştırmanın kesin son noktası klinik olarak kolayca tanımlanamamaktadır [18]. Bunun sonucunda, sağlıklı dentin dokusu aşırı miktarda uzaklaştırılabilir veya çürük bölgeler kolaylıkla gözden kaçabilir ve kavitede rezidüel çürük bırakılabilir [19].

Rezidüel çürük, dişlerin tedavisi tamamlandıktan sonra kavitede kalan çürüklerdir [20]. Restoratif tedavinin başarısı büyük ölçüde sağlıksız diş dokularının çıkarılmasına bağlı olduğundan, rezidüel çürükler tedavinin başarısı için büyük bir endişe kaynağıdır. Yetersiz miktarda çürük dokunun uzaklaştırılması, restorasyonun altındaki diş yapısının daha fazla kaybına neden olarak pulpa iltihabına ve hatta diş canlılığının kaybına neden olabilir [21]. Bu nedenle kavite preparasyonu sonrasında rezidüel çürüklerin objektif olarak değerlendirilmesi için destekleyici tanı yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır [19,21]. Kavite tabanında ne kadar enfekte dentinin kalabileceğini belirlemek için hala yaygın olarak kabul edilen bir kılavuz bulunmamaktadır [116].

2.5.1. Görsel ve dokunsal yöntemler

Görsel ve dokunsal muayene iyi bir aydınlatma ile birlikte temiz ve kuru bir diş yüzeyi gerektirir [20]. Çürük lezyonunun görsel tespiti, lezyon varlığının görsel olarak belirlenmesidir [1]. Dokunsal değerlendirme, çürük lezyonunun dokusunun ve yüzey bütünlüğünün bir el aleti kullanılarak atravmatik olarak değerlendirilmesidir [1]. Kriter, el aletinin dentine yapışmaması ve dentinden uzaklaşırken sıkışma hissi (tug back) vermemesidir [116].

Keskin uçlu diş probları veya eksplorer hala sıklıkla kullanılmasına rağmen, çok az ek fayda sağlarlar ve dişe bir miktar zarar verebilirler [45]. Ayrıca, karyojenik mikroorganizmaların bir bölgeden diğerine taşınması olasılığı nedeniyle önerilmemektedirler [20]. Görsel inceleme ile günlük klinik koşullar altında rezidüel çürük lezyonları değerlendirmek zordur. Proksimal bölgelerdeki çürük lezyonları ile diş eti, plak

veya leke yakınında bulunan düz yüzeylerdeki çürük lezyonları zor erişilebilirlik nedeniyle kolayca gözden kaçabilir [24].

2.5.2. Elektriksel iletkenlik ölçümleri

Elektriksel direnci kullanan tespit sistemleri, malzemelerin elektriği farklı derecelerde iletme yetenekleri ilkesine dayanmaktadır [117]. Demineralizasyon diş dokularında gözenekler yaratmakta; bu gözenekler su ve tükürükten gelen iyonlarla dolmakta ve elektriksel iletkenlik değişikliklerine neden olmaktadır [118]

Elektronik çürük monitörü (ECM)

ECM; diş çürüklerini izlemek için kullanılan pratik, nesnel ve hassas bir cihazdır [117]. Dişe bir prob yerleştirilerek dişin elektriksel iletkenliği ölçülmektedir [119]. ECM, diş dokusunun toplu direncini ölçmek için sabit frekanslı alternatif akım kullanır [117,118]. Cihaz, bölgenin elektrik direncini sayıya çevirir ve daha yüksek sayılar daha derin çürük lezyonlarını gösterir [20]. Dişin demineralizasyonu elektrik iletkenliğini etkilemektedir [119].

Mine genellikle çok yüksek bir elektriksel dirence sahiptir [117]. Ancak çürük meydana geldiğinde dişler demineralize olduğundan, mineral kaybı diş yapısında gözeneklerin artmasına neden olur [120,121]. Çürüklerin varlığı sonucu diş daha gözenekli hale geldiğinde daha fazla su içerir ve bu nedenle elektrik direncinde azalma meydana gelir. Dentin genellikle mineden çok daha düşük bir elektriksel dirence sahiptir. Diş çürükleri nedeniyle dentinin gözenekliliği daha da artar ve bu durum elektrik direncinde azalmaya neden olur [117].

ECM'nin lekelerin varlığında ve diş yüzeyi ile tutarsız prob teması nedeniyle tekrarlanabilirliği şüphelidir [118]. Ayrıca rezidüel çürüklerin tespiti için kullanımı şüphelidir, bunun için daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır [120].

2.5.3. Çürük tespit boyaları

Çürük tespit boyaları ilk olarak 1972'de Fusayama tarafından tanıtılmıştır [122]. Görsel değerlendirmeye kıyasla daha objektif olduğu için kullanılmaya başlanmıştır [7]. Çürük tespit boyaları, kavite preperasyonu sırasında enfekte dentinin doğru şekilde uzaklaştırılmasına yardımcı olmak için demineralizasyon alanlarını belirtmek [23], çürük uzaklaştırmanın klinik etkinliğini değerlendirmek ve rezidüel çürüğün varlığını belirlemek amaçlarıyla kullanılabilir [7].

Çürük tespit boyaları, bir boya ve çoğunlukla propilen glikolden yapılmış bir çözücü olmak üzere iki bileşenden oluşur [21,22]. Çürük tespit boyası; enfekte dentinde bulunan denatüre kollajene bağlanır ve böylece sadece enfekte dentinin boyanması sağlanır. Bu sayede iki tabaka arasında ayrım yapar, sadece enfekte dentinin uzaklaştırılmasını ve etkilenmiş dentin ile sağlam dentinin korunmasını sağlar [22].

Düşük moleküler ağırlıklı çözücülerin, yüksek moleküler ağırlıklı çözücülere kıyasla geçirgen dokularda daha derine nüfuz edebildiği düşünülmektedir. Çürük tespit boyasının çözücüsü olan propilen glikol, daha yüksek moleküler ağırlığa sahip olan [17], benzer kimyasal özelliklere sahip ancak daha düşük geçirgenliğe sahip olan polipropilen glikol ile değiştirilmiştir. Bu boya, diş dokusunu sklerotik dentinin ötesinde lekelemediğinden, boyanan alanı basitçe uzaklaştırarak çürük dentini tamamen çıkarmak ve iç tabakayı korumak mümkündür [123]. Yüksek moleküler ağırlığı sayesinde, boya gözenekli dentin dokularına aşırı nüfuz edememekte ve dentinin gereksiz şekilde uzaklaştırılmasını engellemektedir [17].

Üreticinin talimatlarında belirtildiği şekilde, boya çürük kaviteye uygulandıktan ve durulandıktan sonra hava-su spreyi ile kurutulur ve lekeli dentin bölgelerini tespit etmek için kavite bir diş aynası ile incelenir [123]. Demineralize doku lekeli alanlar olarak görünmektedir [23]. Ancak doku açık renkte boyandığında diş dokusu çıkarılmamalıdır [123], çünkü bu doku enfekte olmayan ve potansiyel olarak remineralizasyon kabiliyetine sahip olan etkilenmiş dentini içermektedir [18].

Çürük tespit boyaları bakterileri değil, bakteriyel metabolitler tarafından demineralize edilen dentinin organik matriksini boyamaktadır [7,17]. Bu tekniğin çürük dentini iyi ortaya çıkardığı gösterilmiştir, ancak pulpa çevresindeki alanlarda ve mine dentin birleşiminde enfekte dentini sağlam dentinden yeterince ayırt edemez [21] ve sağlam dentini boyayabilir [7]. Bu nedenle çürük tespit boyalarının kullanılması, sağlam dentinin gereksiz yere uzaklaştırılması [17] ve bunun sonucunda pulpa ekspozu ile ilişkilendirilebilir [21]. Boyama yoğunluğunun değerlendirilmesi ise subjektif bir süreç olduğundan, çürük tespit boyasının kullanım amacına aykırıdır [123].

Iwami ve diğerleri, yaptıkları çalışmada çürük tespit boyası ile çürük uzaklaştırılmasının nesnelliğini renk değişimi ve mikrobiyolojik olarak değerlendirmişlerdir. Mikrobiyoloji değerlendirme, işlem sonrası dentin dokusundaki kalan bakteri DNA'ları PCR yöntemi ile tespit edilerek gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, çürük tespit boyası kullanılarak çürük uzaklaştırılmasının nesnelliğinin düşük olduğunu göstermiştir [124].

Javaheri ve diğerleri yaptıkları çalışmada, çürük uzaklaştırıldıktan sonra uygulanan iki adet çürük tespit boyasının (Caries detector ve Caries check) rezidüel çürükleri belirleme etkinliğini değerlendirmişlerdir. Histolojik analizler için ışık mikroskobu kullanılarak çürük dentinin varlığı ve yokluğu belirlenmiştir. Değerlendirilen çürük tespit boyalarının duyarlılığı, tek tanı tekniği olarak kullanıldıklarında güvenilir olmayabilecekleri belirtilmiştir[17].

Akbari ve diğerleri yaptıkları in vivo çalışmada, dokunsal muayene ile çürük olmadığı doğrulanan kavitelerde, rezidüel çürüklerin varlığını çürük tespit boyası ve DIAGNOdent Pen ile karşılaştırmayı amaçlamışlardır. Hem DIAGNOdent Pen hem de çürük tespit boyasının, rezidüel çürüklerin tespiti için yardımcı olarak düşünülebileceğini bildirmişlerdir. DIAGNOdent Pen, dokunsal muayene ile daha tutarlı sonuçlar göstermiştir, ancak çürük tespit boyasının diş dokusunun aşırı miktarda uzaklaştırılmasına neden olabileceği ve bu nedenle pulpa ekspoz riskini artırabileceği bildirilmiştir [21].

2.5.4. Floresan yöntemleri

Floresan, bir nesnenin belirli bir dalga boyu tarafından uyarılması ve sonrasında daha yüksek dalga boyunda ışık yayması olayıdır [117]. Tipik olarak lazer floresan (DIAGNOdent tipi cihazlar) ve ışık floresan (kantitatif ışık etkili floresan tipi cihazlar) olarak ikiye ayrılır [119,125].

Lazer Floresan (DIAGNOdent)

Lazer floresan (LF), diş çürüklerinin teşhisi için nicel ve invaziv olmayan bir yöntem sağlar [25]. 655 nm'lik bir lazer diyotu içeren LF, diş yüzeylerinin floresan yoğunluğunu ölçer ve nicel olarak görüntüler [24].

Çürük tespiti, diş yüzeyi ışınlandığında ışığın ağız içi bakteri metabolitleri tarafından emilmesi ve bu metabolitlerin floresan yayması prensibine dayanır [25]. Oral mikroorganizmaların kendi kendine floresan yaydığı bilinmemekle birlikte, oral mikroorganizmalar metabolizmalarının yan ürünleri olarak turuncu-kırmızı floroforlar üretmektedir. Bu nedenle diş sert dokularındaki turuncu-kırmızı floresan, dentinde bakterilerin invazyon bölgesi için iyi bir belirteçtir [19]. Temiz, sağlıklı diş yapısı çok az floresan gösterir veya hiç göstermez. Çürük diş yapısı ise çürük derecesiyle orantılı olarak floresan gösterir [117]. Böylece, çürük diş dokusu sağlam dokudan daha yoğun bir şekilde floresan verir ve kavitenin diş hekimi tarafından incelenmesine izin verir [19].

1990'ların sonlarında diş çürüklerinin tespiti için bir LF teknolojisi tanıtılmıştır. DIAGNOdent adı verilen bu cihaz, hedef doku ile etkileşimi olmayan [21], demineralizasyon bölgelerini tespit etmeye yönelik invaziv olmayan bir araçtır [23]. DIAGNOdent cihazı, bir sensörden yayılan 655 nm monokromatik ışıktan oluşur ve dişten geri saçılan floresanı algılayabilir [118].

İki DIAGNOdent cihazı vardır: DIAGNOdent'in en eski versiyonu DIAGNOdent ve DIAGNOdent Pen [126]. Bu iki cihaz, aynı çalışma prensibine sahiptir [127]. DIAGNOdent cihazı, okluzal ve düz yüzeylerdeki lezyonların tespiti için geliştirilmiştir

[128]. DIAGNOdent Pen'de farklı olarak, dişe uygulanan başlığın çapı küçültülmüş ve dönme hareketi yapmasına olanak veren yapısı sayesinde fissürlere ve ara yüzlere başlığın daha kolay erişim sağlanması amaçlanmıştır [127].

DIAGNOdent Pen iki tane safir uç içerir:

- Konik uç: Fissürler ve arayüzler için
- Silindirik uç: Düz yüzeyler için [129].

DIAGNOdent Pen'den yayılan kırmızı ışık, sağlıklı ve çürük diş yapıları tarafından emilir. Bakteriyel yan ürünler, özellikle de çürük diş dokularındaki protoporfirin, bu dalga boyunu iyi absorbe eder ve kızılötesi ışığı floresan verir. Diş yüzeyinden yansıyan bu floresan cihaz tarafından algılanır ve çürük sürecinin aşamasına göre 0 ile 99 arasında bir değer olarak ifade edilir [21,25].

DIAGNOdent Pen için değer aralıkları ve bunlara karşılık gelen tanılar:

- 0-13 Sağlıklı diş
- 14-20 Mine çürüğü
- 21-29 Derin mine çürüğü
- ≥30 Dentin çürüğü [130].

DIAGNOdent cihazları, çürüklerin erken tespitinde kullanılan bir araç olarak geliştirilmiş olmakla birlikte, bu aletin rezidüel çürük teşhisinde de kullanılabileceği bildirilmiştir [19]. Aletin seramik disk veya sağlam komşu mine üzerinde kalibrasyonu yapıldıktan sonra, algılama başlığı diş yüzeylerine yerleştirilir ve cihaz kaydedilebilecek bir değer sağlar [131]. Cihaz, lezyonun boyutunu yorumlamak için kullanılan uygulama noktasında bir tepe değeri üretir [117]. Daha yüksek okuma değeri, bozulmanın daha fazla olduğunu gösterir [25].

DIAGNOdent cihazları, geleneksel çürük tespit yöntemlerinden daha hassastır. Bununla birlikte, görsel yöntemlerle karşılaştırıldığında yanlış pozitif tanı olasılığının artması kullanışlılığını sınırlamaktadır. Tek nokta veya alan ölçümü olduğu için ölçümlerin

karşılaştırılabilirliği sorunludur. Ayrıca leke varlığı ve renklenmedeki artışlar, cihaz tarafından çürük lezyon olarak algılanabilmektedir [117].

Yazıcı ve diğerleri yaptıkları çalışmada, rezidüel çürükleri tespit etmek için DIAGNOdent ile çürük tespit boyasının performansını karşılaştırmışlar ve polarize ışık mikroskobu kullanarak doğrulamışlardır. Çalışmanın sonuçlarına dayanarak, DIAGNOdent ve çürük tespit boyasının rezidüel çürükleri tespit etme yeteneklerinin düşük olduğu ve ek bir tespit yöntemi olarak kullanılabilecekleri belirtilmiştir [132].

Gurbuz ve diğerleri yaptıkları çalışmada, geleneksel yöntem, el ekskavatörleri ve kemomekanik yöntem (Carisolv) ile çürük dentin uzaklaştırıldıktan sonra kavitedeki rezidüel çürükleri tespit etmek için görsel dokunsal muayene ile LF cihazının (DIAGNOdent) performansını değerlendirmişlerdir. Rezidüel çürüklerin varlığı veya yokluğu, altın standart olan polarize ışık mikroskobu kullanılarak histoloji olarak doğrulanmıştır. Histolojik analizlere dayanarak, DIAGNOdent ve görsel dokunsal muayenenin rezidüel dentini tespit edebileceği sonucuna varılmıştır. DIAGNOdent'in çürük uzaklaştırma yöntemleriyle birlikte kullanıldığında çürüğün uzaklaştırılmasını kontrol edebildiği ve sağlam dentinin uzaklaştırılmasını önleyebildiği belirtilmiştir [133].

Unlu ve diğerleri yaptıkları çalışmada; kavitelerdeki rezidüel çürüklerin tespitinde LF cihazı, elektronik çürük monitörü ve çürük tespit boyasının etkinliğini değerlendirmişlerdir. Histolojik analizler için ışık mikroskobu kullanılarak çürük dentinin varlığı ve yokluğu belirlenmiştir. Rezidüel çürüklerin tespitinde en güvenilir yöntemin LF cihazı olduğu bulunmuştur [120].

Sadasiva ve diğerleri yaptıkları çalışmada, çürük uzaklaştırıldıktan sonra kavitedeki rezidüel çürükleri görsel dokunsal muayene, çürük tespit boyası ve LF cihazı (DIAGNOdent)ile değerlendirmişler ve aralarındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Mikrobiyal kültür ve PCR teknikleri ile *S. mutans* varlığını belirleyerek yöntemlerin etkinliklerini araştırmışlardır.Görsel dokunsal muayene, DIAGNOdent ve çürük dedektörü boyasının birlikte kullanılmasının en etkili yöntem olduğunu bildirmişlerdir [23].

Kantitatif ışık etkili floresan (Quantitative light-induced fluorescence, QLF)

QLF, çürük lezyonlarda floresan kaybına dayanan ve demineralizasyonun nicel ölçümünü sağlayan bir yöntemdir. 405 nm dalga boyunda dişleri ışınlayarak dişlerin otomatik floresanını tespit eder [24]. Floresandaki azalma, çürük minenin saçılma özellikleri ile ilgilidir. Bu nedenle çürüğün derinliği ve lezyonun boyutu hakkında nicel bir ölçüm sağlayabilir [121]. Floresanda %5'in üzerinde azalma olan herhangi bir alan çürük lezyon olarak kabul edilir [118]. Biyofilm, tükürük ve dehidrasyondan etkilenir [24]. Dişlerin otofloresanına dayanan bu teknoloji, rezidüel çürükleri tespit etmek için uygun bir yöntem olarak bildirilmiştir [134].

Kamera ve floresan sistemlerinin kombinasyonu

Floresan destekli çürük kazısı (Fluorescence aided caries excavation, FACE)

Enfekte ve etkilenmiş çürük dentini klinik olarak ayırt etmek amacıyla geliştirilen [73] ve rezidüel çürükleri görsel olarak tespit eden bir cihazdır [116]. FACE, yaklaşık 405 nm'lik bir uyarma dalga boyuna sahiptir [131]. Bakteri metabolitlerinin (porfirinler) turuncu-kırmızı floroforlar üretmesine dayanarak geliştirilmiştir. Fiber optik mor ışık kaynağı (370-420 nm) ile düşük hızlı bir el aleti aydınlatıldığında, turuncu-kırmızı floresan sergileyen alanlar seçici olarak belirlenebilir ve bu alanlar frez ile uzaklaştırılabilir [73]. Sağlam dokular yeşil floresan verirken, çürük doku turuncu-kırmızı floresan verir. Böylece cihaz, enfekte dentinin seçici olarak çıkarılmasına ve etkilenmiş dentinin korunmasına izin verir [116]. FACE, çürükleri uzaklaştırmak için daha az zamana ihtiyaç duyduğu ve aletleri değiştirmeye, kimyasal ajanları uygulamaya, kaviteyi bir diş probu ile kontrol etmeye gerek kalmadan çürükleri uzaklaştırabildiği bildirilmiştir [73].

2.6. Mikrobiyolojik Tanı Yöntemleri

2.6.1. Geleneksel yöntemler

Oral kavitede izole edilen mikroorganizmaların tanımlanması için kültür yöntemi, biyokimyasal, ve immünolojik yöntemler gibi geleneksel yöntemler kullanılmaktadır [30].

Mikrobiyal kültür yöntemi

Kültüre dayalı yöntemler, diş çürükleri ile ilişkili mikroorganizmalar hakkında önemli bilgiler sağlamaktadır [28]. Seçici besiyerlerinde mikroorganizmaları karakterize etmenin yaygın bir yoludur [27]. Besin seçimi, atmosfer, sıcaklık ve kuluçka süresi bakterilerin büyümesini belirleyen 4 ana unsurdur [135]. Mikrobiyal kültüre dayalı çalışmalar sonucu, diş çürüklerinin ana etken mikroorganizmaları *S. mutans* ve *Lactobacillus* olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte, diğer mikrobiyal türler de çürük lezyonlarından izole edilmiş [136] ve bunlara ek olarak *Bifidobacterium* ile *Scardovia* türleri de çürükle ilişkili kolonizatörler olarak kabul edilmiştir [57]. Diş çürüklerinin varlığında, farklı bakterileri içeren patojenik bir mikrofloranın varlığını ortaya koymuştur [136].

Kültür yöntemi, laboratuvar ortamında üretilebilen mikroorganizmalara odaklanır [26]. Bu yöntem ile yalnızca canlı bakteriler yetiştirilebilir, bu durum numune alma ve taşıma zorlukları ile birlikte kontaminasyon riski ve zaman kısıtlamasını da beraberinde getirir. Ayrıca oral florada yaşayan bakterilerin çoğunluğu kültür yöntemiyle karakterize edilememektedir. Bu da, bakteri türlerinin karakterizasyonunu sınırlamaktadır [28].

Mikrobiyal toplulukların tanımlanması ve ağız ekolojisine daha eksiksiz bir bakış sağlamak için moleküler mikrobiyal analizler geliştirilmiştir [26,28]. Mikrobiyal kültürden bağımsız olan bu tekniklerin avantajı, mikroorganizmaların laboratuvar ortamında kültüre edilip büyütülmediğinden bağımsız olarak çalışılabilmesidir [137].

Hassan ve diğerleri yaptıkları çalışmada, *S. mutans*'ın sayısını azaltmada üç farklı çürük uzaklaştırma yönteminin etkinliğini mikrobiyolojik olarak karşılaştırmışlardır. Karbid frez, polimer frez ve ultrasonik uç kullanılarak çürük uzaklaştırma öncesi ve sonrası alınan örneklerde mikrobiyal kültür ile *S. mutans*'ın sayısındaki azalma değerlendirilmiştir. Tüm gruplarda, *S. mutans*'ın çürük uzaklaştırma öncesi ve sonrası bakteri sayısında azalma bulunmuştur. Karbid frez en etkili azalmayı gösterirken, ultrasonik uç benzer sonuçlar göstermiş, polimer frezin ise en az azalmayı gösterdiği bildirilmiştir [35].

Moimaz ve diğerleri yaptıkları çalışmada; mekanik ve kemomekanik yöntemin etkinliklerini, çürük uzaklaştırma öncesi ve sonrası alınan örneklerden *S. mutans* ve *Lactobacillus* miktarlarındaki değişim elde edilerek karşılaştırmışlardır. Mikrobiyal kültür yöntemi kullanılarak, kültüre edilebilir canlı bakteri sayısındaki azalmayı değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Tüm gruplarda kültüre edilebilir canlı *S. mutans* ve *Lactobacillus* sayılarında azalma olduğu ve etkinliklerinin benzer olduğu bulunmuştur [36].

Gupta ve diğerlerinin yaptıkları çalışmada, Papacarie'nin hem daimi hem de süt dişlerinde çürük uzaklaştırma etkinliğini klinik ve mikrobiyolojik olarak değerlendirilmiştir. Papacarie uygulamasından önce ve sonra toplanan dentin örneklerinden elde edilen toplam canlı koloni oluşturan mikroorganizmaların değişim miktarını değerlendirmek amacıyla mikrobiyal kültür yöntemi kullanılmıştır. Papacarie uygulaması sonrasında toplam canlı koloni oluşturan mikroorganizmaların anlamlı derecede azalma gösterdiği, Papacarie'nin hem daimi hem de süt dişlerinde klinik olarak etkili bir çürük uzaklaştırma yöntemi olduğu bildirilmiştir. Ancak, Papacarie kullanılarak çürük uzaklaştırıldıktan sonra canlı mikroorganizmaların sayısının hala yüksek olduğu ve bu nedenle güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip bir restoratif materyalin kullanılması önerilmiştir [33].

Kulkarni ve diğerleri yaptıkları çalışmada; kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanı (Papacarie) ile geleneksel çürük uzaklaştırma yönteminin etkinliğini, kanlı agarda mikrobiyal kültür ile elde edilen toplam canlı bakteri sayısındaki azalma değerlendirilerek karşılaştırmışlardır. Toplam canlı bakteri sayısının iki yöntemde de azalma gösterdiği ve kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanının (Papacarie) etkinliğinin geleneksel yöntemle karşılaştırılabilir olduğu bulunmuştur [138].

2.6.2. Moleküler yöntemler

Moleküler yöntemler, mikrobiyoloji ve diş hekimliği dahil olmak üzere çok çeşitli tıbbi alanlarda mikroorganizmaların saptanması ve karakterizasyonunda kullanılmaktadır [30]. Diş hekimliğinde ilk moleküler mikrobiyolojik çalışma, 16S ribozomal RNA (rRNA) genlerinin dizi analizine dayalı olarak ortaya çıkmıştır [139].

Karyojenik bakterilerin saptanmasına yönelik moleküler yöntemler; 16S rRNA gen mikrodizileri, denatüre edici gradyan jel elektroforezi, checkboard hibridizasyonu, PCR ve yeni nesil dizileme yöntemleri gibi farklı yöntemler kullanılarak spesifik DNA dizilerinin saptanmasına dayanır [28].

PCR bazlı yöntemler

PCR yöntemi, 1980'lerde Kary Mullis tarafından geliştirilen ve çeşitli dokulardan elde edilen DNA ve RNA incelemek için kullanılan bir yöntemdir [29]. PCR yöntemi, kültürü zor olan bakterileri tespit etme ve sonuçları doğru ve hızlı bir şekilde üretme kapasitesi nedeniyle klinik tanıda giderek artan bir role sahiptir [140]. PCR yöntemi diş çürükleri ile ilişkili türlerin ve bu türlerin ekolojik nişlerdeki konumlarının tanımlanmasında yararlı olabilir. Böylece çürük sürecinin ilerlemesini netleştirmeye yardımcı olur [30].

PCR yöntemi, az miktarda bakteriyi bile tespit eder [23] ve nükleik asitlerin çoğaltılmasında yer alan DNA polimeraz enzimini kullanarak spesifik DNA fragmanlarının in vitro olarak sentezini sağlar [30].

PCR testlerinin çoğu kalitatif veya yarı kalitatiftir. Bunun bir istisnası, reaksiyon boyunca ürünlerin sürekli olarak ölçülmesiyle karakterize edilen real-time PCR yöntemidir [23].

Real-time PCR (Kantitatif PCR, Quantitative PCR, qPCR)

Real-time PCR, amplifikasyonu izlemek için PCR ve floresan yöntemlerini birleştirir [31]. Bu yöntem, elde edilen örneklerden doğrudan *S. mutans'*ı saptamak için kullanılabilir. Tek tek hedef türleri belirlemenin yanı sıra toplam bakteri miktarının da belirlenmesine olanak tanır [23]. Bu yöntem nicel doğruluk için altın standart olarak kabul edimektedir [32].

Real-time PCR, floresan yakalamak için optik sistemli bir termocycler cihazı ve verileri yakalayıp reaksiyonun son analizini gerçekleştirebilen yazılıma sahip bir bilgisayar gerektirir. Floresan sinyalleri, çift sarmallı DNA'ya (double stranded DNA, dsDNA) özgü floresan boyalar tarafından veya diziye özgü oligonükleotit probları tarafından üretilen PCR ürününün miktarı ile doğru orantılıdır [30]. Floresan değerleri, her döngü sırasında

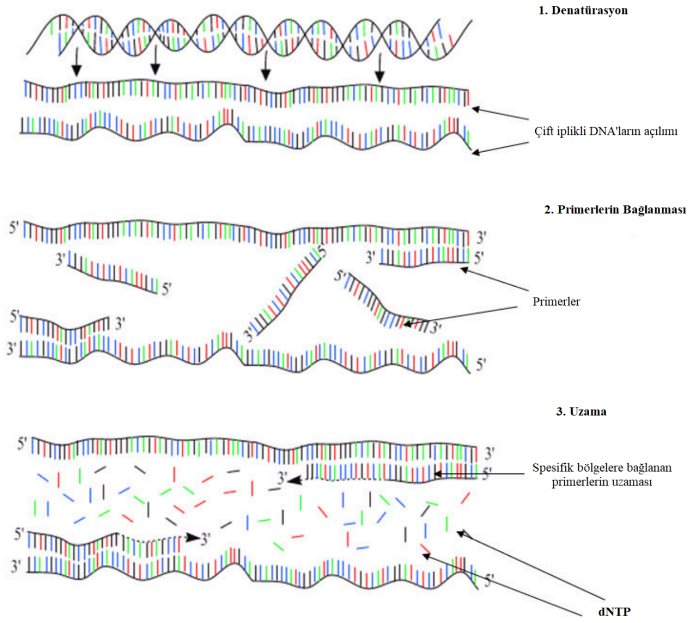
kaydedilir ve bu sayede örneklerin DNA miktarı ölçülebilir [23]. SybrGreen I, real-time PCR'da en çok kullanılan dsDNA bağlayıcıya özgü boyadır. Bu boyanın floresanı, dsDNA'ya bağlı olmadığında saptanamaz [30].

Real-Time PCR'ın avantajları arasında kantitatif sonuçlar üretme, yüksek hassasiyet, özgüllük [31], düşük kontaminasyon riski, hızlı analiz yeteneği [140] ve tekrarlanabilirlik yer alır [30].

Reaksiyonun temel bileşenleri:

- Kalıp DNA
- DNA polimeraz enzimleri
- Sentezde kullanılan primerler
- Deoksinükleotid trifosfatlar (Deoxynucleotide triphosphates, dNTP)
- Gerekli tamponlar ve magnezyum klorür ($MgCl_2$)'dür [141].

PCR yöntemi; Şekil 2.3.'deki gibi denatürasyon, primerlerin bağlanması ve uzama olmak üzere üç aşamada gerçekleştirilir [142].



Şekil 2.3. PCR oluşum aşamaları [142]

Araujo ve diğerleri yaptıkları çalışmada, çürük lezyonlarda fotodinamik tedavinin antimikrobiyal etkisini mikrobiyal kültür ve real-time PCR yöntemleri ile değerlendirmişlerdir. Mikrobiyal kültür yöntemi kullanılarak canlı *S. mutans* miktarları değerlendirilirken, real-time PCR yöntemi kullanılarak canlılık gözetilmeksizin *S. mutans* DNA'larının tespiti gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, fotodinamik tedavi sonrası canlı *S. mutans* miktarının önemli ölçüde azaldığını ve real-time PCR ile *S. mutans* DNA miktarları açısından fark bulunmadığını belirtmişlerdir [143].

Baraba ve diğerleri yaptıkları çalışmada, iki tip lazer kullanılarak çürük uzaklaştırılmasının etkinliğini değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada kullanılan real-time PCR yönteminin, bakteriyel nükleik asitlerin saptanmasında daha yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olması nedeniyle karyojenik bakterileri saptamak için daha doğru bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir [144].

Krunic ve diğerleri yaptıkları çalışmada, ozonun derin çürük lezyonlarında kontrol grubu olarak klorheksidin kullanarak bakteriler üzerindeki lokal etkisini değerlendirmişlerdir. Dentin örnekleri real-time PCR yöntemi ile total bakteri ve *Lactobacillus* varlığı açısından araştırılmıştır. Ozon uygulamasının total bakteri ve *Lactobacillus* sayısını klorheksidine benzer şekilde azalttığı bulunmuştur [145].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada kemomekanik çürük uzaklaştırma yöntemi ile geleneksel çürük uzaklaştırma yönteminin etkinlikleri; lazer floresan cihazı, çürük tespit boyası, mikrobiyal kültür ve real-time PCR yöntemleriyle değerlendirildi.

3.1. Etik Kurul Onayı

Bu çalışmanın etik kurul onayı Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 7 Ekim 2021 tarihinde E-21071282-050.99-186377 sayılı karar ile (EK-1) alındı.

3.2. Dişlerin Seçilmesi ve Örneklerin Hazırlanması

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Çalışmada, fizyolojik değişme zamanı gelmiş olan veya ortodontik nedenlerle çekim işlemi yapılan dentin çürük lezyonuna sahip 64 adet yeni çekilmiş süt azı dişi kullanıldı [146].

Dentin çürüğünün standardize edilmesinde Uluslararası Çürük Belirleme ve Değerlendirme Sistemi (International Caries Detection and Assessment System, ICDAS-II) kriterlerinden (Çizelge 3.1) ve lazer floresan cihazından (DIAGNOdent Pen, KaVo, Biberach, Germany) yararlanıldı (Çizelge 3.2) [147,148].

Çalışmada kullanılan süt azı dişlerinin dahil edilme kriterleri;

- ICDAS-II 6 skoruna sahip olması (dentini de içeren geniş ve belirgin kavitasyon)
- DIAGNOdent Pen değeri 30 ve üzeri olması

Çalışmaya dahil olmama kriterleri;

- Dişlerde gelişimsel anomali bulunması
- Çürük uzaklaştırma işlemi sonrası pulpa ekspozu oluşması
- Dişlerde restorasyon materyali bulunması

Çizelge 3.1. ICDAS-II skorları [149,150]

ICDAS-II Skorları ve Tanıları		
0		Sağlam, çürük yok
1		Minede gözle görülebilen ilk değişiklik
2		Minede gözle görülebilen belirgin değişiklik
3		Minede lokalize yıkım (klinik olarak dentine kadar ilerlememiş)
4		Dentinden yansıyan karanlık gölge görünümü
5		Dentini de içeren belirgin kavitasyon
6		**Dentini de içeren geniş ve belirgin kavitasyon**

Çizelge 3.2. DIAGNOdent Pen değerleri [103,130]

DIAGNOdent Pen Değerleri	**Tanı**
0-13	Sağlıklı diş
14-20	Mine çürüğü
21-29	Derin mine çürüğü
≥30	Dentin çürüğü

Dişlerin ICDAS-II muayenesi, reflektör ışığı altında diş yüzeyleri fizyolojik salin ile ıslatılarak nemli koşullar altında ve kurutulduktan sonra görsel olarak iki farklı araştırmacı tarafından (A.B.A. ve A.Ö.) değerlendirilerek yapıldı. Araştırmacılar arasında anlaşmazlık olduğunda, fikir birliğine ulaşmak için dişler araştırmacılar tarafından birlikte yeniden incelendi.

ICDAS-II 6 skoruna göre seçilen süt azı dişleri, DIAGNOdent Pen cihazı ile değerlendirildi. DIAGNOdent Pen değeri 30 ve üzeri olan dişler çalışmaya dahil edildi.

DIAGNOdent Pen, firma tarafından sağlanan seramik referans blok kullanılarak dişler incelenmeden önce kalibre edildi. Kalibre edilecek olan uç, seramik bloğun merkezine 90° açı ile yerleştirildi ve cihazın sesi sona erdiğinde kalibrasyon işlemi tamamlandı. Aynı zamanda, ikinci bir kalibrasyon işlemi dişin sağlam bir yüzeyinde tekrarlandı.

Dişler ölçüm ölçesi steril pamuk peletler kullanılarak kurutulduktan sonra, ölçümler için cihazın okluzal ve arayüzler için uygun olan konik ucu kullanıldı. DIAGNOdent Pen cihazının ucu lezyona dik olacak şekilde tutularak kavitenin tüm yüzeyleri tarandı ve cihaz ekranında görüntülenen en yüksek değer kaydedildi. DIAGNOdent Pen ile üç defa ölçüm yapılarak, bu ölçümlerin ortalama değeri hesaplandı. Her diş için cihaz yeniden kalibre edilerek ölçümler yapıldı.

3.3. Çalışma Dizaynı

Çürük uzaklaştırma yöntemleri öncesi ve sonrası meydana gelen DIAGNOdent Pen, çürük tespit boyası ve mikrobiyolojik değişim yönünden yapılan Student's t testi sonucu 0.80'lik bir etki büyüklüğü dikkate alındığında gruplar arasındaki farkların %85 güç ve %5 yanılma düzeyinde istatistiksel olarak önemliliğini test edebilmek için çalışmaya en az 60 (grupların her biri için 30 adet) örnek alınması öngörüldü. 0.80'lik etki büyüklüğüne klinik öngörüler doğrultusunda karar verildi. Örneklem genişliği hesaplamaları G*Power 3.0.10. (Franz Faul, Universität Kiel, Kiel, Germany) paket programında yapıldı.

Dişler rastgele iki gruba ayrıldı (n=64):

Grup 1 (n=32): Geleneksel çürük uzaklaştırma yöntemi
Grup 2 (n=32): Kemomekanik çürük uzaklaştırma yöntemi

Çalışmaya dahil edilen 64 adet süt azı dişinin 32 tanesinde geleneksel yöntemle çürüklerin uzaklaştırılması, 32 tanesinde Brix 3000 (Brix S.R.L., Santa Fe, Argentina) kemomekanik çürük uzaklaştıma ajanı kullanılarak çürüklerin uzaklaştırılması planlandı.

3.4. Çalışma Protokolü

Dişler çekildikten hemen sonra, kontaminasyonu önlemek için önceden steril edilmiş kapalı kutulara kökleri %70'lik etil alkolle (Sigma Aldrich, Missouri, ABD) temizlenerek alındı. Tüm dişler; numarasını taşıyan bir etiketle daha önce steril edilen lastik kalıplara, kökleri kalıpların içinde ve kronları tamamen dışında olacak şekilde soğuk akrilik rezin (Imicryl, Konya, Turkey) içerisine yerleştirildi.

3.4.1. Brix 3000 ile çürüklerin uzaklaştırılması

Çürük uzaklaştırmadan önce dentin talaşlarının toplanması

Lastik kalıplara yerleştirilen dişler, steril su ile yıkanarak yüzey kalıntıları uzaklaştırıldı. Steril keskin bir ekskavatör kullanılarak, çürüğün kan ve ağız sıvılarıyla kontamine olan en dış tabakası uzaklaştırıldı.

Çürük uzaklaştırma işlemi yapılmadan önce, bakteri miktarının mikrobiyolojik olarak belirlenmesi amacıyla dentin talaşları steril ekskavatör kullanılarak toplandı. Toplanan dentin talaş örnekleri, numarasını taşıyan bir etiketle 500 µl fosfat tamponlu salon (Phosphate Buffered Saline, PBS) içeren steril 1,5 ml'lik ependorf tüplerin (Resim 3.1) içerisine yerleştirildi.

Resim 3.1. Ependorf tüp

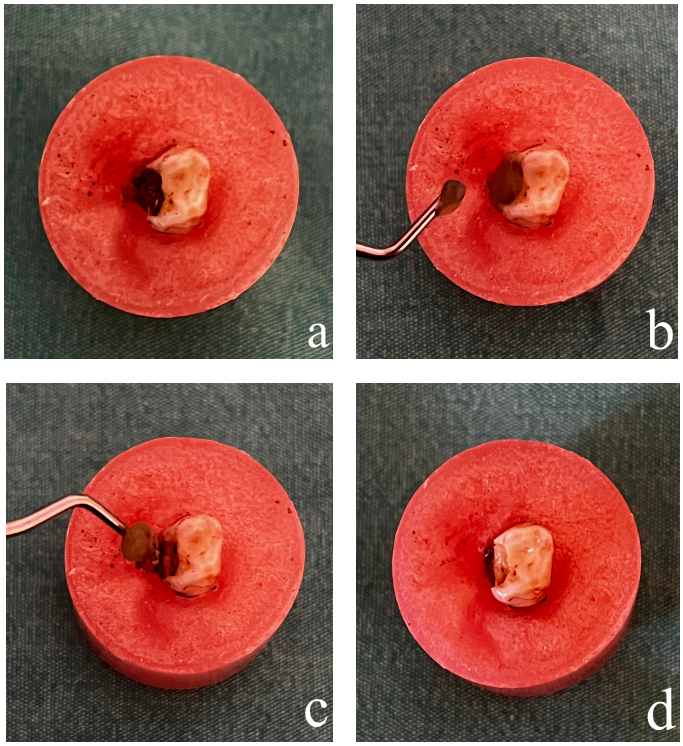
Dişlerden toplanan dentin talaşlarının miktarını standardize edebilmek için, tüm örneklerde aynı ebatta (19 numaralı) ekskavatör (ASA Dental, Bozzano, Italy) (Resim 3.2) kullanıldı. Dentin talaşları ekskavatör yardımıyla ependorf tüplere alındıktan sonra hassas terazide (Precisa 205A, Zurich, Swiss) ağırlıkları tespit edildi. Dentin talaşlarının ağırlığı, 500 µl PBS içeren ependorf tüpün önceden belirlenmiş ağırlığı ile dentin talaşları koyulduktan sonraki ağırlığı arasındaki fark hesaplanarak 40 mg olarak belirlendi.

Resim 3.2. Ekskavatör

Çürük uzaklaştırma işlemi

Brix 3000 (Resim 3.3), üretici firmanın talimatları doğrultusunda ekskavatör yardımıyla kaviteye uygulandı (Resim 3.4a ve 3.4b) ve etkisini göstermesi için üretici firmanın önerilerine göre iki dk boyunca kavitede bırakıldı. Uygulama öncesinde berrak olan jel, çürük lezyonun ayrışmasından dolayı daha bulanık bir hale geldi. Yumuşayan çürük doku nazikçe ekskavatör ile uzaklaştırıldı (Resim 3.4c ve 3.4d). Brix 3000, jel berraklaşana kadar ve sert dentin yüzeyine gelene kadar tekrar uygulandı. Uygulamalar arası herhangi bir yıkama ve durulama işlemi yapılmadı.

Resim 3.3. Brix 3000 jel



Resim 3.4. (a) Brix 3000 ile çürük uzaklaştırma işlemi öncesi, (b) Brix 3000'in kaviteye uygulanması, (c) Çürük uzaklaştırma işlemi, (d) Çürük uzaklaştırma işlemi sonrası

Çürük lezyonunun tamamen uzaklaştırılmasını değerlendirmek için görsel ve dokunsal kriterler kullanıldı. Görsel kriterler ajanın bulanık olmayan görünümüne ve değişmeyen açık rengine dayanır, dokunsal kriterler sert dentin yüzeyine gelinmesidir. Bunu belirlemek için künt uçlu bir sond kullanıldı ve el aletinin dentine yapışmaması ve tug back hissinin olmaması sonucu yüzey sert kabul edildi [3,4]. Tüm çürük lezyonun uzaklaştırıldığı ve sağlıklı dentine ulaşıldığı belirlendiğinde kavite steril su ile yıkandı ve steril pamuk peletler aracılığıyla kurulandı.

Çürük uzaklaştırıldıktan sonra dentin talaşlarının toplanması

Çürük uzaklaştırma işlemi yapıldıktan sonra, bakteri miktarının mikrobiyolojik olarak belirlenmesi amacıyla dentin talaşları, işlem öncesi uygulanan prosedür ile aynı şekilde 40 mg olarak toplandı.

3.4.2. Geleneksel yöntem ile çürüklerin uzaklaştırması

Çürük uzaklaştırmadan önce dentin talaşlarının toplanması

Lastik kalıplara yerleştirilen dişler steril su ile yıkanarak yüzey kalıntıları uzaklaştırıldı. Steril keskin bir ekskavatör kullanılarak çürüğün kan ve ağız sıvılarıyla kontamine olan en dış tabakası uzaklaştırıldı.

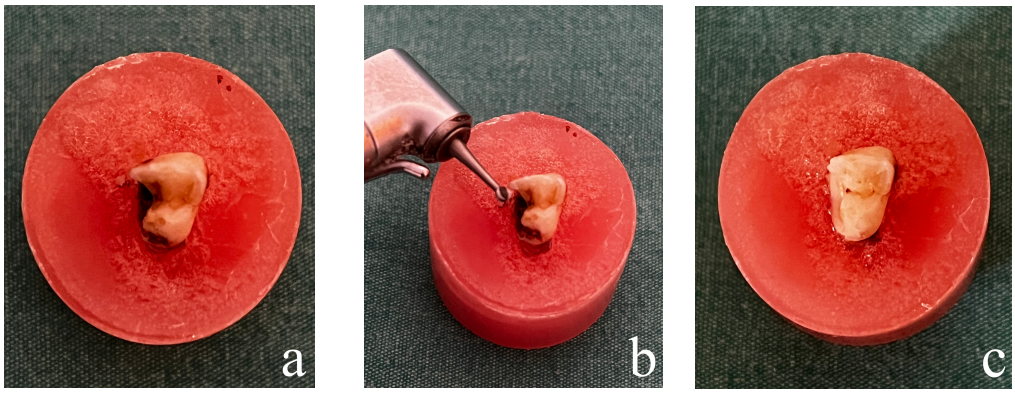
Çürük uzaklaştırma işlemi yapılmadan önce, bakteri miktarının mikrobiyolojik olarak belirlenmesi amacıyla dentin talaşları steril çelik rond frez (GZ Instrumente, Lustenau, Austria) (Resim 3.5) kullanılarak toplandı. Toplanan dentin talaş örnekleri, numarasını taşıyan bir etiketle çelik rond frez ve 500 µl PBS içeren steril 1,5 ml'lik ependorf tüplerin (Bkz. Resim 3.1) içerisine yerleştirildi.

Resim 3.5. Çelik rond frez

Dişlerden toplanan dentin talaşlarının miktarını standardize edebilmek için, tüm örneklerde aynı ebatta (16 numaralı) çelik rond frez kullanıldı. Dentin talaşları ependorf tüplere alındıktan sonra hassas terazide (Precisa 205A, Zurich, Swiss) ağırlıkları tespit edildi. Dentin talaşlarının ağırlığı; toplama işleminde kullanılan frez ile aynı boyuttaki steril çelik rond frez ve 500 µl PBS içeren ependorf tüpün başlangıç değeri ile dentin talaşları içeren çelik rond frez yerleştirildikten sonraki ağırlığı arasındaki fark hesaplanarak 40 mg olarak belirlendi.

Çürük uzaklaştırma işlemi

Yüksek hızlı döner el aletleri ile su soğutması altında steril elmas rond frezler (GZ Instrumente, Lustenau, Austria) kullanılarak çürük lezyona ulaşım sağlandı. Çürük lezyon, düşük hızlı döner el aletleri ile çürük lezyonun boyutuna uygun olarak kullanılan steril çelik rond frezler ile uzaklaştırıldı (Resim 3.6a, 3.6b ve 3.6c). İşlem sırasında; dentin talaşlarının freze yapışması kolaylaştırmak amacıyla çelik rond frez steril su ile ıslatıldı ve ısı artışının önüne geçebilmek amacıyla sık sık mola verilerek kavite steril su ile yıkandı.



Resim 3.6. (a) Geleneksel yöntemle çürük uzaklaştırma işlemi öncesi, (b) Çürük uzaklaştırma işlemi, (c) Çürük uzaklaştırma işlemi sonrası

Çürük lezyonunun tamamen uzaklaştırılmasını değerlendirmek için görsel ve dokunsal kriterler kullanıldı. Sert dentin yüzeyine gelinmesi ve yüzeyin lekesiz olması işlemin bittiğinin göstergesi olarak kabul edildi. Sert yüzeyi belirlemek için künt uçlu bir sond kullanıldı ve el aletinin dentine yapışmaması ve tug back hissinin olmaması sonucu yüzey sert kabul edildi [3,4]. Tüm çürük lezyonun uzaklaştırıldığı ve sağlıklı dentine ulaşıldığı belirlendiğinde kavite steril su ile yıkandı ve steril pamuk peletler aracılığıyla kurulandı.

Çürük uzaklaştırıldıktan sonra dentin talaşlarının toplanması

Çürük uzaklaştırma işlemi yapıldıktan sonra, bakteri miktarının mikrobiyolojik olarak belirlenmesi amacıyla dentin talaşları, işlem öncesi uygulanan prosedür ile aynı şekilde 40 mg olarak toplandı.

3.4.3. Geleneksel ve kemomekanik çürük uzaklaştırma yöntemleri sonrası rezidüel çürük varlığının değerlendirilmesi

DIAGNOdent Pen ile rezidüel çürük varlığının değerlendirilmesi

Grup 1 ve grup 2'de çürük uzaklaştırma işlemleri sonrası dentin talaşları toplandıktan sonra, rezidüel çürüklerin varlığını değerlendirmek amacıyla DIAGNOdent Pen cihazı (Resim 3.7) kullanıldı [21].

Resim 3.7. DIAGNOdent Pen cihazı

DIAGNOdent Pen, firma tarafından sağlanan seramik referans blok kullanılarak dişler incelenmeden önce kalibre edildi. Kalibre edilecek olan uç, seramik bloğun merkezine 90° açı ile yerleştirildi ve cihazın sesi sona erdiğinde kalibrasyon işlemi tamamlandı. Aynı zamanda, ikinci bir kalibrasyon işlemi dişin sağlam bir yüzeyinde tekrarlandı.

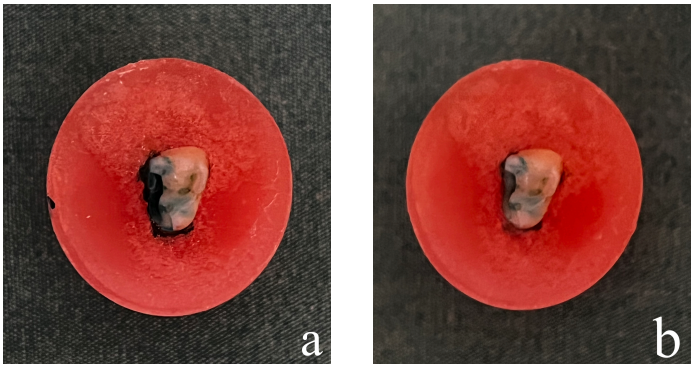
Ölçümler için, kavite içerisinde cihazın düz yüzeylerde daha uygun olan silindirik ucu kullanıldı. Cihazın ucu lezyona dik olacak şekilde tutularak kavitenin tüm yüzeylerini taradı ve cihaz ekranında görüntülenen en yüksek değer kaydedildi. DIAGNOdent Pen ile üç defa ölçüm yapılarak, bu ölçümlerin ortalama değeri hesaplandı. Her iki gruptaki dişler için cihaz yeniden kalibre edilerek ölçümler yapıldı. 0-13 arası değerler çürüksüz olarak kabul edildi (Bkz. Çizelge 3.2) [129,130].

Çürük tespit boyası ile rezidüel çürük varlığının değerlendirilmesi

DIAGNOdent Pen ile ölçümler yapıldıktan sonra, çürük tespit boyası (Reveal, Prevest Denpro, Jammu, İndia) kullanılarak (Resim 3.8) her iki grupta rezidüel çürüklerin varlığı değerlendirildi.

Resim 3.8. Çürük tespit boyası

Üretici firmanın talimatlarına göre, 1 damla çürük tespit boyası steril pamuk peletler kullanılarak kaviteye uygulandı (Resim 3.9a). Uygulanan çürük tespit boyası, üretici firmanın önerileri doğrultusunda 10 sn kavitede bekletildikten sonra, steril su ile yıkanarak uzaklaştırıldı (Resim 3.9b).



Resim 3.9. (a) Çürük tespit boyasının kaviteye uygulanması, (b) yıkandıktan sonraki görüntüsü

Dişler kurutulduktan sonra reflektör ışığı altında iki farklı araştırmacı (A.B.A. ve A.Ö.) tarafından incelendi. Dentinin koyu renkli boyanmalarında rezidüel çürüklerin varlığı kaydedilirken, açık renkli boyanmalarda kavite çürüksüz kabul edildi [18,123].

3.4.4. Mikrobiyolojik değerlendirme

Daha önce belirtildiği şekilde alınan örnekler 2 saat içerisinde Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na getirildi. Mikrobiyal kültür ve real-time PCR yöntemi kullanılarak kantitatif olarak bakteri varlığına bakmak için yeterli miktarda dentin talaşı elde edilmesine özen gösterildi. Alınan örnekler, hassas terazide tartılarak standardizasyon sağlandı (ortalama 40 mg).

Mikrobiyal kültür yöntemi

Besiyerlerinin hazırlanması

S. mutans için seçici bir besiyeri olan Triptikaz Maya özütü Sistein Sükroz Basitrasin (Trypticase Yeast extract Cysteine Sucrose Bacitracin, TYCSB) agar kullanıldı [151]. TYCSB agar, Çizelge 3.3'teki oranlarda Erlenmeyer şişesine hazırlandı ve üzerine karışımın tamamı 1lt olacak şekilde distile su eklendi [152,153].

Çizelge 3.3. TYCSB agar içeriği [152,153]

Formül	g/lt	Marka
Bacto-casitone	5	Merck
L-sistin	0.2	Merck
Maya özütü	5	Merck
Sodyum sülfit (Na_2SO_3)	0.1	Merck
Sodyum klorid (NaCl)	1	Merck
Sodyum bikarbonat (Na_2HCO_3) 12 H_2O	2	Merck
Sodyum asetat 3 H_2O ($C_2H_3NaO_2$)	20	Merck
Sükroz	50	Merck
Agar	15	Merck

Hazırlanan TYCSB agar, otoklavda 115°C'de 15 dk steril edildi. Sterilizasyon işlemini takiben hazırlanan besiyeri 55°C'ye kadar soğutulduktan sonra 0,2 unit/ml konsantrasyonda steril suda çözünmüş basitrasin ilave edilerek, steril petri kutularına (ISOLAB, Wertheim, Germany) boşaltıldı ve soğumaya bırakıldı.

Toplam canlı bakteri sayılarının belirlenmesi için kanlı agar (Merck, Darmstadt, Germany), üretici firmanın önerileri doğrultusunda hazırlandı. Hazırlanan kanlı agar, otoklavda 121°C'de 15 dk steril edildi. Sterilizasyon işlemini takiben hazırlanan besiyeri 45-50°C'ye kadar soğutulduktan sonra %5 oranında kan ilave edilerek, steril petri kutularına boşaltıldı ve soğumaya bırakıldı.

Dentin talaşlarının homojenizasyonu ve dilüsyonu

Dentin talaşlarını frezden uzaklaştırmak ve homojenizasyon sağlamak için ependorf tüpler 1 dk süreyle vortex (VELP, Scientifica, Usmate Velate, Italy) ile karıştırıldı. Ardından frez içeren ependorf tüplerden frezler, steril bir presel yardımıyla uzaklaştırıldı.

Mikroorganizmaların sayımını kolaylaştırmak amacıyla çürük uzaklaştırılmadan önce ve sonra alınan örnekler steril fizyolojik salin solüsyonu ile seri sulandırım yapılarak (10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}) dilüe edildi.

Ekim ve yayma yapılması

Homojenize süspansiyondan 50 µl kalibre edilmiş bir mikropipet (Mettler Toledo, Ohio, ABD) yardımıyla alınarak, daha önce hazırlanmış besiyerlerine damlatıldı. Yayma ekimleri Drigalski özesi (Orlab, Ankara, Turkey) (Resim 3.10) kullanılarak yapıldı. Ekim ve yayma işlemleri tamamlandıktan sonra, örnekler real-time PCR aşaması için uygun koşullarda ilgili laboratuvara götürüldü.

Resim 3.10. Drigalski özesi

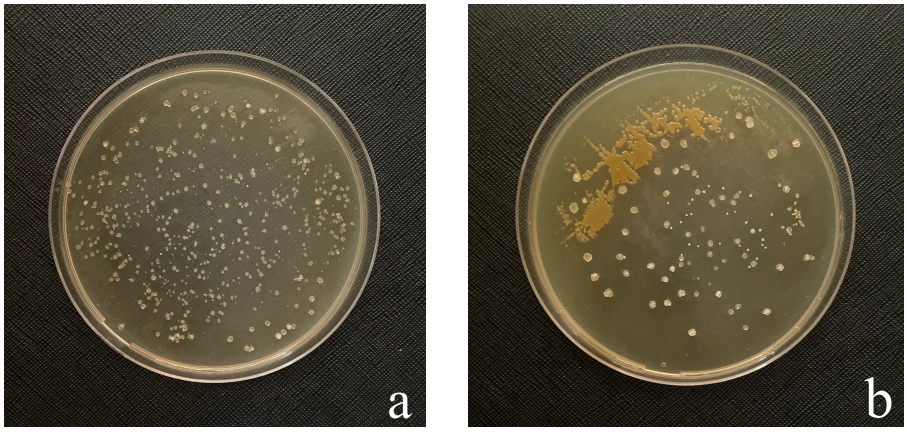
İnkübasyon yapılması

TYCSB agara ekim yapılan örnekler, 37°C'de %5 karbondioksit (CO_2) içeren ortamda 24-72 saat süreyle inkübe edildi.

Kanlı agara ekim yapılan örnekler 37°C'de 48 saat süreyle inkübe edildi.

Bakteri sayılarının belirlenmesi

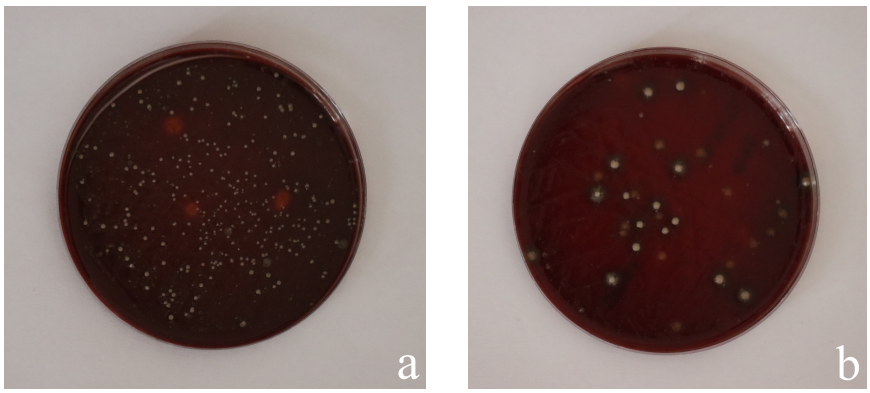
Bakteri sayılarının belirlenmesi, çürük uzaklaştırma yöntemine göre kör olarak iki araştırmacı (G.A.) tarafından yapıldı.



Resim 3.11. TYCSB agarda yapılan ekim sonucu (a) çürük uzaklaştırma işlemi öncesi, (b) çürük uzaklaştırma işlemi sonrası üreyen *S. mutans* kolonilerilerinin morfolojik görüntüsü

TYCSB agarda üreyen koloniler *S. mutans* varlığı açısından karakteristik koloni morfolojilerinin görünüşlerine bakılarak değerlendirildi. Çürük uzaklaştırma öncesi (Resim 3.11a) ve çürük uzaklaştırma sonrası (Resim 3.11b) üreyen koloniler bir büyüteç (10X) kullanılarak sayıldı. Örnekler koloni oluşturan birimler (colony forming unit, CFU) olarak ifade edildi ve aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı:

$$CFU = \frac{\text{Koloni Sayısı x Dilüsyon Faktörü}}{\text{Hacim}}$$



Resim 3.12. Kanlı agarda yapılan ekim sonucu (a) çürük uzaklaştırma öncesi, (b) çürük uzaklaştırma işlemi sonrası üreyen kolonilerilerin morfolojik görüntüsü

Kanlı agarda üreyen koloniler, bakteri varlığı açısından değerlendirildi. Çürük uzaklaştırma öncesi (Resim 3.12a) ve çürük uzaklaştırma sonrası (Resim 3.12b) üreyen bütün koloniler bir büyüteç (10X) kullanılarak sayıldı. Örnekler CFU olarak ifade edildi ve yukarda belirtildiği şekilde hesaplandı.

CFU'nun tüm değerleri, karşılaştırma kolaylığı için $\log_{10}$ tabanında logaritması alınarak hesaplandı [33,154,155].

Real-time PCR yöntemi

Laboratuvara getirilerek -80°C'de dondurulan örnekler, 37°C'de hızlı bir şekilde eritildi ve sıvı halde bulunan örneklerden 200μl 2ml'lik ependorf tüplere (Resim 3.1) aktarıldı. Tüm örnekler tek seferde çalışılarak örnekler arasında standardizasyon sağlandı.

DNA ekstraksiyonu

Oda sıcaklığına getirilen örnekler homojenizasyon için 60 sn süreyle vortekste karıştırıldı. Dentin talaşı örneklerinden, DiaRex® Bakteriden DNA Ekstraksiyon Kit (Diagen, Ankara, Turkey) kullanılarak (Resim 3.13) üretici firmanın önerileri doğrultusunda bakteri DNA'ları ekstrakte edildi.

Resim 3.13. DiaRex® Bakterilerden DNA Ekstraksiyon Kiti

İlk olarak 200 μl örnek üzerine 300μl lizis solüsyonu eklendi.

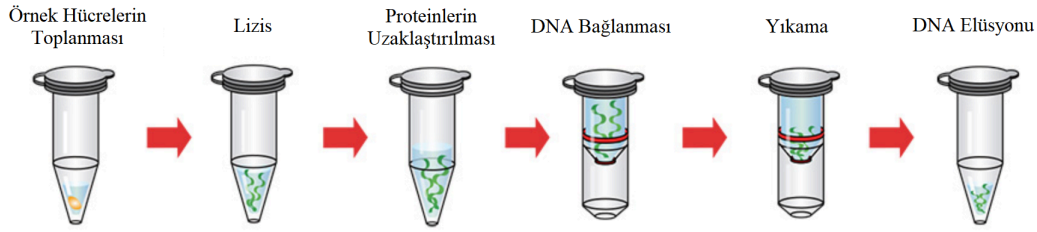
Bu içerik vortekste karıştırıldıktan sonra karışıma 25μl proteinaz K ilave edildi. Tekrar vorteks yapıldıktan sonra 56°C'de 60 dk süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından 5000g'de 1 dk süreyle santrifüj yapıldı ve yeni tüpe aktarıldı.

Üzerine 300μl bağlama solüsyonu eklendikten vorteks yapıldı ve tüm içerik spin kolonlara (DiaRex, Diagen, Ankara, Turkey) (Resim 3.14) aktarıldı. Spin kolon 8000g' de 1 dk süreyle santrifüj yapıldı. Spin kolonun altındaki toplama tüpüne atıklar geçerken, silikon kısmına DNA'nın bağlanması sağlandı.

Resim 3.14. Spin kolon

Spin kolon yeni tüpe aktarıldı ve üretici talimatlarına göre yıkamalar yapıldı. Yıkama işlemlerinin sonunda 8000g'de 1 dk süreyle santrifüj yapıldı ve her seferinde toplama tüpleri atılarak yeni toplama tüpleri kullanıldı.

Yıkamalar tamamlandıktan sonra kolon 70μl Elüsyon solüsyonu ile muamele edildi ve genomik DNA geri kazanıldı. Şekil 3.1'de DNA ekstraksiyonu özetlenmiştir:



Şekil 3.1. DNA ekstraksiyonu

Örneklerden elde edilen DNA'lar konsantrasyon ve kalite açısından spektroskopi ve elektroforez yöntemleri ile kontrol edildi. Sağlıklı ve yeterli DNA elde edilen örneklerin DNA'ları toplam bakteri ve *S. mutans* miktarını araştırmak amacıyla real-time PCR aşamasına alındı.

Primer tasarımı ve sentezi

S. mutans ve total bakteri için primer tasarımı ve sentezi yapılarak reaksiyon optimizasyonu gerçekleştirildi. Primer dizileri NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/) veri tabanından alındı. Bu primerler, real-time PCR çalışmalarında kullanılacak standart örneklerin hazırlanması için kullanıldı. Bu amaçla kontrol DNA örneğinin 1:10 seri sulandırımları yapıldı ve standart eğri elde edebilmek için real-time PCR aşamalarında 10^6, 10^5, 10^4, 10^3, 10^2, 10^1 ng/µl olacak şekilde standartları kullanıldı.

Gerekli karışımın hazırlanması

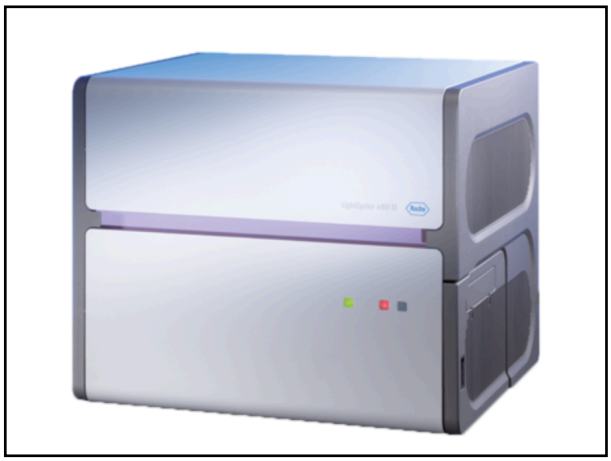
Real-time PCR için gerekli karışımlar; Sybrgreen master mix (Diagen, Ankara, Turkey), forward primer (primer F), reverse primer (primer R)'dir.

S. mutans analizlerinin yapılması için *S. mutans* dexA genine spesifik tasarlanarak sentezleri gerçekleştirilen F (GCCAAAAAGGGAAACGAT) ve R (CACCAGTCAAAGGATAAGTA) primerleri seçildi. Liyofilize haldeki primerler 100 mM olacak şekilde nükleaz içermeyen hidrojen di oksit (H_20) ile çözdürüldü. Sybrgreen master mix (2X konsantrasyonda), 0,5 mM forward ve reverse primerler (10 mM) ve 5 µl genomik DNA (gDNA) ile toplam hacim 20 µl'ye tamamlandı.

Total bakteri analizlerinin yapılması için 341F (CCTAYGGGRBGCASCAG) ve 806R (GGACTACNNGGGTATCTAAT) primerleri seçildi. Liyofilize haldeki primerler 100 mM olacak şekilde nükleaz içermeyen H_20 ile çözdürüldü. Sybrgreen master mix (2X) 0,5 mM, forward ve reverse primerler (10 mM) ve 1 µl gDNA ile toplam hacim 20 µl'ye tamamlandı.

Real-time PCR analizi

Amplifikasyon ve kalibrasyon, real-time PCR cihazında (LightCycler 480, Roche Diagnostics, Rotkreuz, Switzerland) 8'li strip tüpler kullanılarak yapıldı. (Resim 3.15)



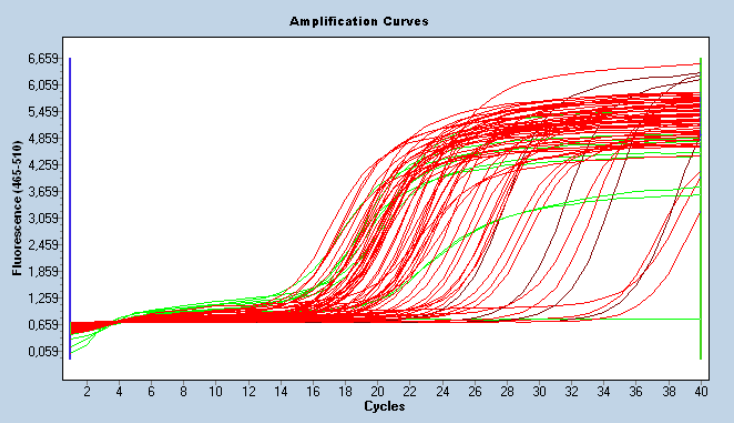
Resim 3.15. Real-time PCR cihazı

Reaksiyon öncesinde yapılan kalibrasyon denemelerine göre ısıl döngü değerleri belirlenerek real-time PCR reaksiyonu Çizelge 3.4'teki gibi gerçekleştirildi:

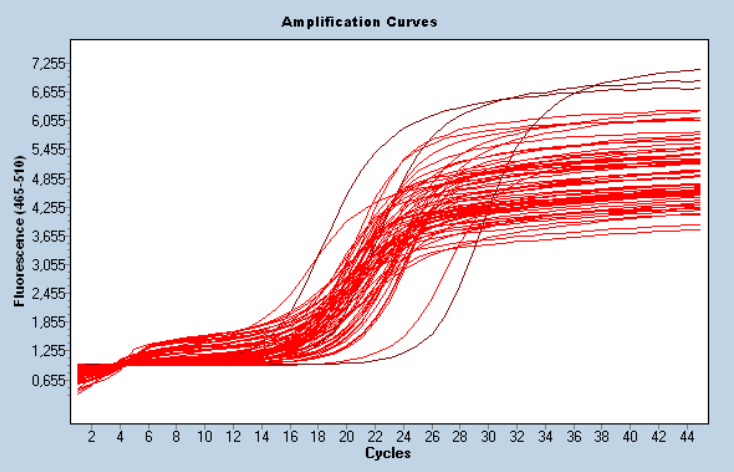
Çizelge 3.4. DNA çoğaltma işlemi sırasındaki ısıl döngü

	Sıcaklık	Süre	Döngü
Denatürasyon	95°C	60sn	1
Isıl döngü	95°C	10 sn	40
	60°C	30 sn	
	72°C	30sn	
Soğutma	40°C	30sn	1

Yüksek Çözünürlüklü Erime (high revolution melting, HRM) analiziyle DNA eldelerinin çoğaltma işlemleri yapıldı. Real-time PCR işlemi sonucunda elde edilen ısıl döngü eşiği (ct) değerleri ile standart suşa ait ct değerleri karşılaştırılarak numune içerisindeki total bakteri ve *S.mutans* kopya sayısı belirlendi. (Şekil 3.2 ve 3.3). Bu değerler cihaz tarafından yazılım programı kullanılarak örneklerin ct'ye karşılık gelen CFU miktarları hesaplandı.



Şekil 3.2. Real-time PCR'da çıkan *S. mutans* reaksiyonlarının grafiksel görünümü



Şekil 3.3. Real-time PCR'da çıkan total bakteri reaksiyonlarının grafiksel görünümü

3.5. İstatistiksel Analizlerin Yapılması

Bu çalışmada, araştırılan parametrelere ait sonuçlar farklı istatistiksel testler kullanılarak değerlendirildi. Analizler IBM SPSS 25 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) programında gerçekleştirildi.

Analizlerin ilk adımı olarak normallik varsayımı Shapiro Wilk testi ile kontrol edildi. Normal dağılıma sahip olan iki bağımsız grubun ortalamalarının karşılaştırılması için Bağımsız Örneklem T testi; normal dağılıma sahip olmayan iki bağımsız grubun ortalamalarının karşılaştırılması için ise Mann Whitney U testi uygulandı. Normal dağılıma sahip olmayan iki bağımlı grubun ortalamalarının karşılaştırılması için Wilcoxon İşaret Sıra testi kullanıldı. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkinin incelenmesi için, örneklem

boyutu varsayımı karşılandığı durumlarda (n>5), Pearson Ki Kare analizi, karşılanmadığı durumlarda ise Fisher's Exact testi yapıldı.

Anlamlılık seviyesi olarak 0,05 kullanılmış olup, p<0,05 olması durumunda sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, p>0,05 olması durumunda ise anlamlı bir farklılığın olmadığı kabul edildi. Sonuçların daha iyi anlaşılabilmesi için veriler grafiklerle görselleştirildi.

Geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile tedavi öncesi ve tedavi sonrası ölçülen DIAGNOdent Pen değerleri arasındaki farklılıkların incelenmesi için varsayımlar kontrol edildi ve Wilcoxon İşaret Sıra testi kullanıldı.

DIAGNOdent Pen ile ölçülen tedavi sonrası değerler ve tedavi öncesi-sonrası arasındaki değişim açısından geleneksel yöntem ve Brix 3000'in karşılaştırılmasında varsayımlar kontrol edildi ve Bağımsız Örneklem T testi (normal dağılıma sahip olan) ve Mann Whitney U testi (normal dağılıma sahip olmayan) kullanıldı.

DIAGNOdent Pen değerleri ölçüm değerlerinin rezidüel çürük varlığı açısından geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile ilişkisinin incelenmesi için Pearson Ki Kare analizi uygulandı.

Çürük tespit boyasının farklı araştırmacılar tarafından ölçülen değerlerinin benzer olup olmadığının araştırılması için test tekrar testi uygulandı ve Cohen's Kappa istatistiğinden yararlanıldı.

Rezidüel çürüğün tespiti için kullanılan çürük tespit boyasının geleneksel yöntem ve Brix-3000 ile tedavi sonrasında boyanma oranları arasındaki ilişkilerin incelenmesi için varsayım kontrol edildi ve Pearson Ki kare analizi uygulandı.

Tedavi sonrası ölçülen DIAGNOdent Pen değerlerinin çürük tespit boyasıyla boyanma oranları arasındaki ilişkilerin incelenmesi için varsayım kontrol edildi ve Pearson Ki kare analizi uygulandı.

Geleneksel yöntem ve Brix-3000 ile tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin *S. mutans* ölçümleri (log_{10}) arasındaki farkın incelenmesi için Wilcoxon İşaret Sıra testleri uygulandı.

Geleneksel yöntem ve Brix-3000 ile tedaviden sonra alınan örneklerin ve tedavi önce-sonra arasındaki değişim miktarının *S. mutans* mikrobiyal kültür ve real-time PCR değerlerinin (log_{10}) karşılaştırılması için varsayımlar kontrol edildi ve Mann Whitney U testi yapıldı.

Geleneksel yöntem ve Brix-3000 ile tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin total bakteri ölçümleri (log_{10}) arasındaki farkın incelenmesi için Wilcoxon İşaret Sıra testleri uygulandı.

Geleneksel yöntem ve Brix-3000 ile tedaviden sonra alınan örneklerin ve tedavi önce-sonra arasındaki değişim miktarının total bakteri mikrobiyal kültür değerlerinin (log_{10}) karşılaştırılması için varsayımlar kontrol edildi ve Mann Whitney U testi yapıldı.

4. BULGULAR

Bu çalışmada, iki farklı çürük uzaklaştırma yöntemiyle 64 dişe tedavi uygulanmıştır. Çalışmanın amacı kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanı Brix 3000'in çürük uzaklaştırma etkinliğini, geleneksel yöntemle karşılaştırmaktır. Bunun için kullanılan parametreler; DIAGNOdent Pen, çürük tespit boyası, mikrobiyal kültür ve real-time PCR yöntemidir.

4.1. DIAGNOdent Pen Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

4.1.1. DIAGNOdent Pen ölçümlerinin tedavi öncesi ve tedavi sonrası değerlerinin karşılaştırılması

Geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile tedaviden önce ve tedaviden sonra ölçülen DIAGNOdent Pen değerlerinin karşılaştırılması Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile tedaviden önce ve tedaviden sonra ölçülen DIAGNOdent Pen değerleri

Grup		n	Ortalama	Standart Sapma	p
Geleneksel yöntem	Tedaviden Önce	32	97,8750	2,82557	0,000*
	Tedaviden Sonra	32	14,6563	6,95891	
Brix 3000	Tedaviden Önce	32	97,8750	2,99192	0,000*
	Tedaviden Sonra	32	17,7188	5,52551	

*p<0,05

Wilcoxon İşaret Sıra testi analizleri sonucunda, geleneksel yöntemde tedavi öncesi ve tedavi sonrası ölçülen DIAGNOdent Pen değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (p<0,05). Tedaviden sonra ölçülen değerler, tedaviden önce ölçülen değerlerden daha düşüktür.

Brix 3000 grubunda tedavi öncesi ve tedavi sonrası ölçülen DIAGNOdent Pen değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (p<0,05). Tedaviden sonra ölçülen değerler, tedaviden önce ölçülen değerlerden daha düşüktür.

4.1.2. DIAGNOdent Pen ile ölçülen tedavi sonrası değerler ve tedavi öncesi-sonrası arasındaki değişim açısından geleneksel yöntem ve Brix 3000'in karşılaştırılması

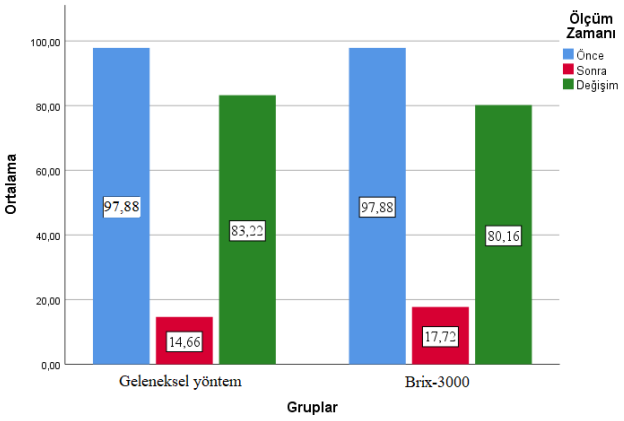
Geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile tedavi sonrası ölçülen DIAGNOdent Pen değerlerinin ve tedavi öncesi-sonrası arasındaki değişimin gruplara göre dağılımı Çizelge 4.2'de ve Şekil 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. DIAGNOdent Pen ölçüm değerlerinin geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile ilişkisi

	Grup	n	Ortalama	Standart Sapma	p
Tedaviden Önce	Geleneksel yöntem	32	97,8750	2,82557	0,975
	Brix 3000	32	97,8750	2,99192	
Tedaviden Sonra	Geleneksel yöntem	32	14,6563	6,95891	0,056
	Brix 3000	32	17,7188	5,52551	
Değişim	Geleneksel yöntem	32	83,2188	6,52901	0,059
	Brix 3000	32	80,1563	6,20151	

*p<0,05

Bağımsız Örneklem T testi ve Mann Whitney U testi analizleri sonucunda, DIAGNOdent Pen ile ölçülen tedavi sonrası değerler ve değişim değerleri açısından geleneksel yöntem ve Brix 3000 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar elde edilememiştir (p>0,05).



Şekil 4.1. DIAGNOdent Pen ile ölçülen değerlerin geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile ilişkisini gösteren çubuk grafikleri

4.1.3. DIAGNOdent Pen ölçüm değerlerinin rezidüel çürük varlığı açısından geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile ilişkisinin incelenmesi

Çalışmada 0-13 arası değerler çürüksüz, 14 ve üzeri değerler rezidüel çürük varlığı olarak kabul edilmiştir. Bu sonuçlara göre geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile tedavi sonrası DIAGNOdent Pen ölçüm değerleri arasındaki ilişki Çizelge 4.3.'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. DIAGNOdent Pen ölçüm değerlerinin rezidüel çürük varlığı açısından geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile ilişkisi

			Grup		
			Geleneksel yöntem	Brix 3000	p
DIAGNOdent Pen	0-13 (Çürüksüz)	n	15	7	0,035*
		%	68,2	31,8	
		%Grup	46,9	21,9	
	14 ve üzeri (Rezidüel çürük)	n	17	25	
		%	40,5	59,5	
		%Grup	53,1	78,1	

*p<0,05

Pearson Ki kare analizi analizi sonucunda, geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile tedavi sonrası elde edilen DIAGNOdent Pen ölçüm sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur (p<0,05). İlişkinin sebebi için gözlemler incelendiğinde 0-13 grubunun çoğunlukla geleneksel yöntemde olduğu ve 14 ve üzeri grubunun çoğunlukla Brix 3000 grubunda olduğu belirlenmiştir.

4.2. Çürük Tespit Boyası ile Rezidüel Çürük Varlığının Değerlendirilmesi

4.2.1. Araştırmacılar arası uyumun değerlendirilmesi

Çürük tespit boyası geleneksel yöntem ve Brix 3000 grubunda araştırmacılar arasında hesaplanan 1 Kappa istatistiği ile (%100 uyum) ölçümler arasındaki uyumun anlamlı olduğu belirlenmiştir (p<0,05).

4.2.2. Çürük tespit boyasının geleneksel yöntem ve Brix-3000 ile tedavi sonrasında boyanma oranları arasındaki ilişkilerin incelenmesi

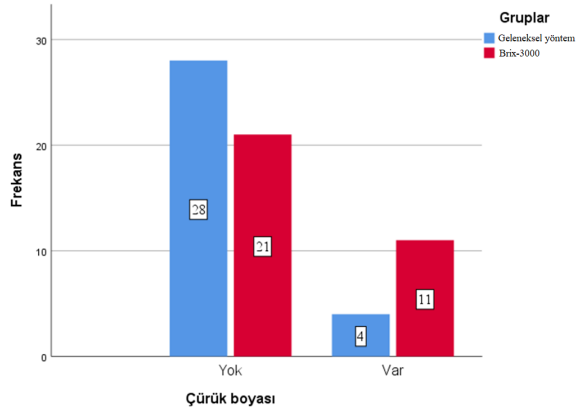
Çürük tespit boyası ile koyu renkli boyanan dişler, tedavi sonrası rezidüel çürük varlığını gösterir. Geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile tedavi sonrasında kavitelerin çürük tespit boyası ile boyanma durumu arasındaki ilişki Çizelge 4.4'de ve Şekil 4.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. Geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile tedavi sonrasında çürük tespit boyası boyanma durumu arasındaki ilişki

			Grup		
			Geleneksel yöntem	Brix 3000	p
Çürük Tespit Boyası	Boyanma yok (Çürüksüz)	n	28	21	0,036*
		%	57,1	42,9	
		%Grup	87,5	65,6	
	Boyanma var (Rezidüel çürük)	n	4	11	
		%	26,7	73,3	
		%Grup	12,5	34,4	

*p<0,05

Pearson Ki kare analizi sonucunda, geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile tedavi sonrası kavitelerin çürük tespit boyası ile boyanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur (p<0,05). Geleneksel yöntemle tedavi sonrası boyanma olan dişlerin oranı, Brix 3000'e göre azdır.



Şekil 4.2. Geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile çürük tespit boyası boyanma oranına ait çubuk grafiği

4.3. Tedavi Sonrası DIAGNOdent Pen Ölçümleri ile Çürük Tespit Boyası İlişkisi

Tedavi sonrası ölçülen DIAGNOdent Pen ölçüm değerlerinin çürük tespit boyasıyla boyanma durumları arasındaki ilişki Çizelge 4.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. Tedavi sonrası ölçülen DIAGNOdent Pen değerlerinin çürük tespit boyasıyla boyanma durumları arasındaki ilişki

			Çürük Tespit Boyası		
			BoyanmaYok (Çürüksüz)	Boyanma Var (Rezidüel çürük)	p
DIAGNOdent Pen Grupları	0-13 (Çürüksüz)	n	19	3	0,180
		%	86,4	13,6	
		%Boya	38,8	20,0	
	14 ve üzeri (Rezidüel çürük)	n	30	12	
		%	71,4	28,6	
		%Boya	61,2	80,0	

*p<0,05

Pearson Ki Kare analizi sonucunda, tedavi sonrası ölçülen DIAGNOdent Pen değerlerinin çürük tespit boyasıyla boyanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki elde edilememiştir (p>0,05).

4.4. Tedaviden Önce ve Tedaviden Sonra Alınan Örneklerin Mikrobiyolojik olarak Değerlendirilmesi

4.4.1. *S. mutans* miktarının değerlendirilmesi

Geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin *S. mutans* değerlerinin karşılaştırılması

Geleneksel yöntem ile tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin *S. mutans* değerlerinin (log_{10}) karşılaştırılması Çizelge 4.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. Geleneksel yöntemle tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin *S. mutans* değerleri (log_{10})

Grup			n	Ortalama	Standart Sapma	p
Geleneksel yöntem	Real-time PCR	Tedaviden önce	32	6,1902	1,09073	0,000*
		Tedaviden sonra	32	4,8256	1,18771	
	Mikrobiyal kültür	Tedaviden önce	32	3,1645	1,65120	0,000*
		Tedaviden sonra	32	1,2464	1,11502	

*p<0,05

Wilcoxon İşaret Sıra testi analizleri sonucunda, geleneksel yöntemde tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin real-time PCR değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (p<0,05). Tedaviden sonra ölçülen değerler, tedaviden önce ölçülen değerlerden daha düşüktür.

Geleneksel yöntemde tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin mikrobiyal kültür değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmiştir (p<0,05). Tedaviden sonra ölçülen değerler, tedaviden önce ölçülen değerlerden daha düşüktür.

Brix 3000 ile tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin *S. mutans* değerlerinin (log_{10}) karşılaştırılması Çizelge 4.7'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.7. Brix 3000 ile tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin *S. mutans* değerleri (log_{10})

Grup			n	Ortalama	Standart Sapma	p
Brix 3000	Real-time PCR	Tedaviden önce	32	7,4157	1,56321	0,000*
		Tedaviden sonra	32	6,1392	1,65492	
	Mikrobiyal kültür	Tedaviden önce	32	3,6519	1,68561	0,000*
		Tedaviden sonra	32	1,4497	1,23904	

*p<0,05

Wilcoxon İşaret Sıra testi analizleri sonucunda, Brix 3000 grubunda tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin real-time PCR değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (p<0,05). Tedaviden sonra ölçülen değerler, tedaviden önce ölçülen değerlerden daha düşüktür.

Brix 3000 grubunda, tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin mikrobiyal kültür değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (p<0,05). Tedaviden sonra ölçülen değerler, tedaviden önce ölçülen değerlerden daha düşüktür.

Tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerden elde edilen *S. mutans* ölçümlerinin arasındaki değişimin geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile ilişkisi

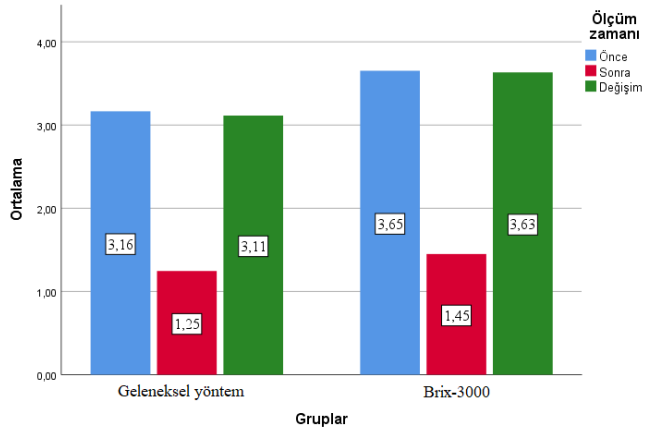
Geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin ölçümlerinin değişim miktarı açısından *S. mutans* mikrobiyal kültür değerlerinin (log_{10}) karşılaştırılması Çizelge 4.8'de ve Şekil 4.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.8. Geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin arasındaki değişimin *S. mutans* mikrobiyal kültür değerleri (log_{10})

		Grup	n	Ortalama	Standart Sapma	p
Mikrobiyal kültür	Tedaviden Önce	Geleneksel yöntem	32	3,1645	1,65120	0,145
		Brix 3000	32	3,6519	1,68561	
	Tedaviden Sonra	Geleneksel yöntem	32	1,2464	1,11502	0,605
		Brix 3000	32	1,4497	1,23904	
	Değişim	Geleneksel yöntem	32	3,1134	1,67002	0,134
		Brix 3000	32	3,6326	1,69797	

*p<0,05

Mann Whitney U analizi sonucunda, tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerden mikrobiyal kültür yapılarak elde edilen *S. mutans* değerlerinin değişim miktarı açısından geleneksel yöntem ile Brix 3000 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar elde edilememiştir (p>0,05).



Şekil 4.3. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası alınan örneklerin *S. mutans* mikrobiyal kültür değerlerinin çubuk grafikleri

Geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin ölçümlerinin değişim miktarı açısından *S. mutans* real-time PCR değerlerinin (log_{10}) karşılaştırılması Çizelge 4.9'da ve Şekil 4.4'te gösterilmiştir.

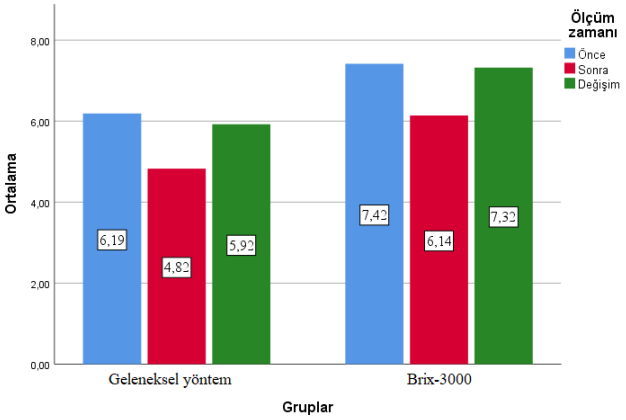
Çizelge 4.9. Geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin arasındaki değişimin *S. mutans* real-time PCR değerleri (log_{10})

		Grup	n	Ortalama	Standart Sapma	p
Real-time PCR	Tedaviden Önce	Geleneksel yöntem	32	6,1902	1,09073	0,000*
		Brix 3000	32	7,4157	1,56321	
	Tedaviden Sonra	Geleneksel yöntem	32	4,8256	1,18771	0,000*
		Brix 3000	32	6,1392	1,65492	
	Değişim	Geleneksel yöntem	32	5,9209	1,56985	0,000*
		Brix 3000	32	7,3204	1,55110	

*p<0,05

Mann Whitney U analizi sonucunda, tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerden real-time PCR yapılarak elde edilen *S. mutans* değerlerinin değişim miktarı açısından geleneksel yöntem ile Brix 3000 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (p<0,05).

Her iki grupta da *S. mutans* miktarında azalma gözlenmiştir. Brix 3000 ile tedaviden sonra kavitede kalan *S. mutans* miktarı yüksek olmasına rağmen, Brix 3000 grubunda bu azalma daha yüksek bulunmuştur.



Şekil 4.4. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası alınan örneklerin *S. mutans* real-time PCR değerlerinin çubuk grafikleri

4.4.2. Total bakteri miktarının değerlendirilmesi

Geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin total bakteri değerlerinin karşılaştırılması

Geleneksel yöntem ile tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin total bakteri değerlerinin (log_{10}) karşılaştırılması Çizelge 4.10'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.10. Geleneksel yöntemle tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin total bakteri değerleri (log_{10})

Grup			n	Ortalama	Standart Sapma	p
Geleneksel yöntem	Real-time PCR	Tedaviden Önce	32	6,2248	0,47649	0,000*
		Tedaviden sonra	32	5,2212	1,10063	
	Mikrobiyal kültür	Tedaviden Önce	32	7,1604	1,79551	0,000*
		Tedaviden sonra	32	4,7897	2,05317	

*p<0,05

Wilcoxon İşaret Sıra testi analizleri sonucunda, geleneksel yöntemde tedaviden önce ve sonra alınan örneklerin real-time PCR değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (p<0,05). Tedaviden sonra ölçülen değerler, tedaviden önce ölçülen değerlerden daha düşüktür.

Geleneksel yöntemde tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin mikrobiyal kültür değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmiştir (p<0,05). Tedaviden sonra ölçülen değerler, tedaviden önce ölçülen değerlerden daha düşüktür.

Brix 3000 ile tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin total bakteri değerlerinin (log_{10}) karşılaştırılması Çizelge 4.11'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.11. Brix 3000 ile tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin total bakteri değerleri (log_{10})

Grup			n	Ortalama	Standart Sapma	p
Brix-3000	Real-time PCR	Tedaviden Önce	32	6,5200	0,64887	0,970
		Tedaviden sonra	32	6,3897	0,63086	
	Mikrobiyal kültür	Tedaviden Önce	32	6,1240	2,14253	0,000*
		Tedaviden sonra	32	3,1621	1,37619	

*p<0,05

Wilcoxon İşaret Sıra testi analizleri sonucunda, Brix 3000 grubunda tedaviden önce ve sonra alınan örneklerin mikrobiyal kültür değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (p<0,05). Tedaviden sonra ölçülen değerler, tedaviden önce ölçülen değerlerden daha düşüktür.

Brix 3000 grubunda tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin real-time PCR değerleri arasında tedaviden sonra ölçülen değerler, tedaviden önce ölçülen değerlerden daha düşük olmasına rağmen, istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilememiştir (p>0,05).

Tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerden elde edilen total bakteri ölçümlerinin arasındaki değişimin geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile ilişkisi

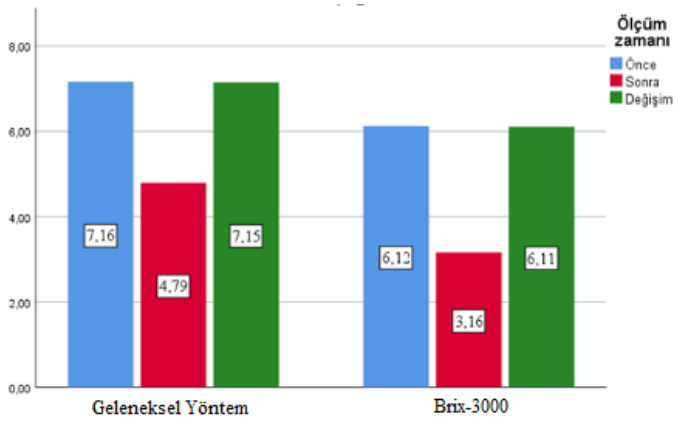
Geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin ölçümlerinin değişim miktarı açısından total bakteri mikrobiyal kültür değerlerinin (log_{10}) karşılaştırılması Çizelge 4.12'de ve Şekil 4.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.12. Geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerin total bakteri mikrobiyal kültür değerleri (log_{10}) ve değişim miktarları

		Grup	n	Ortalama	Standart Sapma	p
Mikrobiyal Kültür	Tedaviden önce	Geleneksel yöntem	32	7,1604	1,79551	0,087
		Brix 3000	32	6,1240	2,14253	
	Tedaviden sonra	Geleneksel yöntem	32	4,7897	2,05317	0,000*
		Brix 3000	32	3,1621	1,37619	
	Değişim	Geleneksel yöntem	32	7,1463	1,79659	0,088
		Brix 3000	32	6,1088	2,16165	

*p<0,05

Mann Whitney U analizi sonucunda, tedaviden önce ve tedaviden sonra alınan örneklerden mikrobiyal kültür yapılarak elde edilen total bakteri ölçümlerinin değişim miktarı açısından geleneksel yöntem ile Brix 3000 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilememiştir (p>0,05).



Şekil 4.5. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası alınan örneklerin total bakteri mikrobiyal kültür değerlerinin çubuk grafikleri

5. TARTIŞMA

Diş çürüğü, biyofilmdeki bakterilerin ekolojik değişiminden kaynaklanır [3]. Fermente olabilen karbonhidratların sık alınması nedeniyle, dengeli bir mikroorganizma popülasyonundan asidojenik ve asidürik mikrobiyolojik popülasyona doğru kayma meydana gelir [4]. Ortaya çıkan bu kayma, demineralizasyon ve remineralizasyonda dengesizliğe neden olarak diş sert dokularında mineral kaybına yol açar ve çürük lezyon oluşumuna neden olur [3]. Diş çürükleri, yüzeyde veya yüzey altı demineralizasyonu ile başlar ve kavitasyona doğru ilerler [2]. Diş çürüklerinin tedavisi, lezyonun pulpaya ulaşmasını ve daha fazla hasarı önlemek için gerekli görülmektedir [9].

El ekskavatörleri, tungsten karbid-çelik-seramik-polimer frezler, air abrazyon, sono abrazyon, air polishing kemomekanik ajanlar ve lazerler dahil olmak üzere çeşitli çürük uzaklaştırma yöntemleri bulunmaktadır [3]. Geleneksel yöntemin çürüklerin uzaklaştırılmasında en etkili ve hızlı yöntem olduğu birçok çalışmayla kanıtlanmıştır [18,35,156]. Bu yöntemin; basınç, termal değişim ve titreşim nedeniyle pulpa için travmatik olabildiği, etkilenmiş dentini de uzaklaştırabildiği ve sağlıklı diş yapısının aşırı kaybına neden olabileceği bildirilmiştir [157]. Geleneksel yöntemde kullanılan döner aletlerin korku ve kaygının en büyük tetikleyicilerinden biri olduğu [2], özellikle genç hastalarda tedavi sırasında kooperasyonu bozduğu ve genç yaşta gelişen dental anksiyetenin öz bakımdan kaçınmaya ve ağız sağlığının bozulmasına yol açabileceği belirtilmiştir [158]. Lazer, air abrazyon, air polishing, ultrasonikler ve sono abrazyon tedavi sırasında diş hekimine duyusal geri bildirim olmaması dezavantajını sunarlar ve çürük uzaklaştırmanın işlem sırasında değerlendirilmesini imkansız hale getirirler [2,91]. Yapılan çalışmalarda lazer uygulanırken koku ve tat almanın kaygıyı artıran faktörler olduğu [2], lazerlerin seçici olmayan şekilde sağlam dokuyu da uzaklaştırabildiği bildirilmiştir [18]. Air abrazyonun yumuşak maddelere etki etmediğinden büyük çürüklerin uzaklaştırılmasında etkili olmadığı [159,160] ve kavitenin aşırı preperasyonuna neden olabileceği gösterilmiştir [160,161]. Air polishing'in, minede kullanımın güvenli olduğu, ancak sağlam dentinde kullanıldığında zarar verebileceği bildirilmiştir [89]. Ultrasoniklerin yumuşak çürüğü uzaklaştıramamaları ve sağlıklı diş dokusunu fazla uzaklaştırmaları, kullanımlarının yaygınlaşamadığı belirtilmiştir [91]. Yapılan çalışmalarda sono abrazyonun

çürük uzaklaştırma etkinliğinin, tungsten karbid frezlere kıyasla daha düşük olduğu [18,156,159] ve kavite tabanındaki çürük lezyonu temizlediği, ancak kavite duvarlarındaki çürük lezyonu uzaklaştıramadığı bildirilmiştir [18]. Polimer frezlerin çürük uzaklaştırma etkinliğinin yetersiz olduğu [7,35,83,162], seramik frezlerin çürük uzaklaştırma etkinliğinin tungsten karbid frezle karşılaştırıldığında düşük olduğu ve kavite tabanında çürük bırakma eğiliminde olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [18,156].

Kemomekanik çürük uzaklaştırma yönteminin diğer çürük uzaklaştırma yöntemleriyle karşılaştırıldığı çalışmalarda, çürüklerin uzaklaştırılmasında en etkili ve en konservatif yöntem olduğu, özellikle çocuklarda diş çürüğünün tedavisinde ağrılı geleneksel prosedürlere kıyasla uygulanabilir alternatifler olarak kabul edilebileceği bildirilmiştir [2,18,106,157,159,163,164]. Çalışmamızda, diğer çürük uzaklaştırma yöntemlerine kıyasla üstünlükleri nedeniyle kemomekanik ajanların kullanımına karar verilmiştir.

Enzim bazlı kemomekanik ajanlar, özellikle hastanın algısı, deneyimi ve kabulü ile ilgili olarak daha iyi sonuçlar sunmaktadır [2]. Enzim bazlı kemomekanik ajanların çürük uzaklaştırma etkinliğinin NaOCl bazlı ajanlardan daha yüksek olduğu [165,166], hasta kabulü ile ilgili olarak daha iyi sonuçlar sunduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir ve bu durum enzim bazlı ajanların antiinflamatuar özellikleriyle ilişkilendirilmiştir [2,97,165].

Papain içerikli ajanların güvenle kullanılabileceği yapılan çalışmalarda belirtilmiştir [104,106,167]. Brix 3000 ile ilgili yapılan çalışmalarda, diğer papain içerikli ajanlardan daha düşük sitotoksisitesi nedeniyle kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanı olarak daha iyi bir seçenek olabileceği belirtilmiştir [15,114]. Brix 3000'in çürük uzaklaştırma etkinliğinin yüksek olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [14,112,115] ve çürük uzaklaştırma sırasında hastalar tarafından hissedilen ağrı alternatif çürük uzaklaştırma yöntemlerine göre daha düşük bulunmuştur [13,111,113,168]. Ayrıca Brix 3000'in klinik pratikte süt dişlerinde etkin bir şekilde kullanılabileceğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır [115,166]. Bu çalışmada, çeşitli avantajlarını göz önünde bulundurarak Brix 3000'in kullanılmasına karar verilmiştir. Brix 3000 yeni bir materyal olduğu için bu materyalle ilgili yapılan çalışmalar az sayıda bulunmaktadır ve çalışmamızın sonuçlarının literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

5.1. Gereç ve Yöntemin Tartışılması

Çalışmamızda, fizyolojik değişme zamanı gelmiş olan veya ortodontik nedenlerle çekim işlemi yapılan dentin çürük lezyonuna sahip yeni çekilmiş süt azı dişleri kullanılmıştır. Dişlerin toplanma şekilleri diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir [146,169].

Çalışmamız için power analizi ile yapılan örneklem hesabı sonucunda n değeri 30 olarak bulunmuştur. Araştırmanın planlanmasında belirlenen bu n değerinin daha üstünde bir örneklem hacmiyle çalışmak daha güvenilir sonuçlar vereceği için çalışmamızda n=32 olarak belirlenmiştir.

ICDAS-II kriterleri, çürük lezyonlarını klinik görsel görünümlerine göre tanımlamaktadır [170]. ICDAS-II skorları 0 (sağlam) ile 6 (dentini açığa çıkaran geniş ve belirgin kavitasyon) arasında değişir ve çürüklerin görsel belirtilerini diş yüzeyindeki derinlikleriyle ilişkilendirir [118]. Birçok çalışmada, ICDAS-II sisteminin süt ve daimi dişlerin muayenesinde başarılı olduğu bildirilmiştir [146,171,172]. ICDAS-II kriterleriyle uyumlu olarak skor 6'ya sahip olan, dentini de içeren geniş ve belirgin kavitasyon gösteren dişler çalışmamıza dahil edilmiştir [149,150].

DIAGNOdent Pen, çürük lezyonlarında karyojenik bakteriler tarafından salınan porfirinlerin yaydığı floresana dayanır ve çürük lezyonları nicel olarak ölçmek için geliştirilmiştir [148]. Hem in vitro hem de in vivo çalışmalar, lazer floresan cihazlarının iyi bir tekrarlanabilirliğe ve güvenilirliğe sahip olduğunu, bu cihazların klinik muayeneye değerli bir yardımcı olduğunu ve objektif okumalar nedeniyle çürük sürecinin izlenmesi için uygun olduğunu göstermiştir [173-176]. ICDAS-II skor 6'ya sahip olan dişler DIAGNOdent Pen cihazıyla ölçüm yapılarak üreticinin kılavuzuna göre DIAGNOdent değerleri 30 ve üzeri değer gösteren dentin çürük lezyonu olan dişler çalışmamıza dahil edilmiştir. Bu dahil etme sınırları, Lussi, Bohari ve Avunduk'un yaptığı çalışmalarla uyum göstermektedir [103,130,177].

Yapılan çalışmalarda; hem ICDAS-II kriterlerinin hem de DIAGNOdent Pen'in ayrı ayrı çürüklerin tespit edilmesinde etkili olduğu, ancak iki yöntemin kombinasyonunun tanıyı iyileştirdiği sonucuna varılmıştır. İki yöntemle de çürüklerin değerlendirilmesinin, daha

güvenilir sonuçlara ulaşmaya yardımcı olabileceği belirtilmiştir [147,148,178]. Çalışmamızda da dentin çürüğünün standardize edilmesinde ICDAS-II kriterlerinden ve lazer floresan cihazından (DIAGNOdent Pen) yararlanılmıştır.

Çalışmamızda dişlerin çürük uzaklaştırmadan önce DIAGNOdent Pen ölçümlerinin yapılması için cihazın okluzal ve arayüzlerde uygun olan konik ucu kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda, benzer olarak uca doğru daralan konik şeklindeki ucun kullanıldığı görülmektedir [179-181]. DIAGNOdent Pen cihazının çürük uzaklaştırmadan önce kullanılan ucunun küçük bir alandan derinlere ilerletilmesi gerektiğinden ve konik ucunun uca doğru daralan yapısı nedeniyle ilerlemesini kolaylaştırdığı düşünülmüştür.

DIAGNOdent Pen cihazı ile yanlılık riski diğer çürük tespit yöntemlerine göre daha düşüktür. Çünkü DIAGNOdent Pen bakteriyel ürünleri değerlendirerek sayısal bir değer vermektedir [146]. Yapılan bazı çalışmalarda, DIAGNOdent Pen ile iki araştırmacı tarafından ölçüm yapılmıştır [147,181,182]. Çalışmamızda amacımız DIAGNOdent Pen'in etkinliğini değerlendirmek olmadığı için ikinci bir araştırmacıya gerek duyulmamıştır [21,103]. Bazı in vitro çalışmalarda cihazın kullanılan ucu önce bukkalden linguale doğru, sonra lingualden bukkale doğru hareket ettirerek tepe değerler ölçülüp en yüksek değer kaydedilerek yapılmıştır [176,180,182]. Çalışmamızda tek bir nokta ölçümü değil, cihazın ucu tüm yüzeylerde gezdirilerek tepe değer kaydedildiği için bunun yapılmasına ihtiyaç duyulmamıştır. Değerlerin tekrarlanabilirliği için DIAGNOdent Pen ile üç kere ölçüm yapılarak ortalama değerler kaydedilmiştir. Tekrarlanabilirlik için yaptığımız bu işlem, yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir [120,146,183].

Kaviteyi restore etmeden önce dentin çürüklerine iyi erişime sahip olmak ve tüm yüzeyleri, özellikle mine dentin birleşimini rezidüel çürük açısından değerlendirmek önemlidir [70,83]. Kalan çürükleri saptamak için görsel dokunsal yöntemler, çürük tespit boyaları, ECM, LF ve QLF gibi çeşitli yöntemler ve cihazlar tanıtılmıştır [23,120,184]. ECM'nin rezidüel çürük tespiti için kullanımı şüpheli bulunmuştur [120]. Yapılan bir çalışmada, QLF'in rezidüel çürükleri tespit etmek için uygun bir yöntem olduğu bildirilmiştir ancak bununla ilgili kanıtlar yetersizdir [134]. FACE cihazı kullanımının, rezidüel çürükleri tespit

etme açısından üstün sonuçlara yol açtığını gösterilmiştir. Ancak FACE cihazı kullanılması için kavitenin tamamen açık ve erişilebilir olması gerekmektedir [116].

Kavitede kalan rezidüel çürüklerin tespitinde DIAGNOdent Pen cihazının en güvenilir yöntem olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır [120,132]. DIAGNOdent Pen kullanırken elde edilen değerler, minedekilere kıyasla dentindeki çürükleri saptamada daha düşük hassasiyet değerleri göstermiştir [147,148,185]. Dentindeki çürüklerin uzaklaştırılmasının etkinliğini değerlendirmek için yapılan çalışmalarda, DIAGNOdent Pen değerlerinin doğruluğunun süt dişlerinde kalıcı dişlere göre daha düşük olduğu görülmektedir. Bu nedenle, süt dişlerinde çürük uzaklaştırmanın etkinliğini değerlendirmek için hem çürük tespit boyasının hem de DIAGNOdent Pen cihazının kullanılması önerilmektedir [133,186]. Yapılan çalışmalarda, dentin çürüklerinde çürük uzaklaştırıldıktan sonra kalan rezidüel çürükleri test etmek için çürük tespit boyalarının dikkatli kullanılması gerektiği ve çürük lezyonunun aşırı miktarda veya eksik uzaklaştırılmasına neden olabileceği bildirilmiştir [120,132]. Javaheri ve diğerleri, çürük tespit boyalarının arka dişlerdeki çürük lezyonlarının tespiti için tek tespit yöntemi olarak kullanıldıklarında güvenilir olmayabileceklerini belirtmiştir [17]. Sadasiva ve diğerleri; görsel-dokunsal muayene, DIAGNOdent Pen ve çürük tespit boyasının birlikte kullanılmasının en etkili yöntem olduğunu bildirmişlerdir [23].

Çalışmamızda, görsel ve dokunsal kriterler kullanılarak çürük uzaklaştırma işleminin tamamlandığına karar verildikten sonra rezidüel çürüklerin varlığı DIAGNOdent Pen ve çürük tespit boyası ile değerlendirilmiştir. Görsel ve dokunsal kriterler subjektif olarak kabul edilseler de, benzer çalışmalarda en sık kullanılan yöntemlerdir [33,49,100,138]. Yapılan çalışmalarda, kullandığımız yöntemler ile rezidüel çürük varlığı çalışmamıza benzer şekilde değerlendirilmiştir [21,23,120,132]. Çürükler uzaklaştırıldıktan sonra ilk olarak DIAGNOdent Pen'in kullanılma nedeni, çürük boyasının renginin floresan değerlerini etkilenmesini elimine etmektir.

Çalışmamızda, çürük uzaklaştırıldıktan sonra dişlerin DIAGNOdent Pen ölçümlerinin yapılması için cihazın düz yüzeylerde daha uygun olan silindirik ucu kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda, benzer olarak cihazın silindirik ucunun kullanıldığı görülmektedir

[120,132]. Çalışmamızda da çürük uzaklaştırıldıktan sonra kavitenin yüzeyi düz olacağından silindirik uç kullanılmasına karar verilmiştir.

DIAGNOdent Pen'in klinik kullanımı, çürük lezyonlarının kapsamını belirten spesifik limit değerleri ile ilişkilidir [147]. Buna ilişkin bazı çalışmalar her zaman cihaz üretici tarafından önerilenlerle uyumlu değildir. Yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarda önerilen farklı eşiklerin varlığı nedeniyle varyasyonlar bulunmaktadır [19,129,187] ve kesin olarak önerilen bir limit bulunmamaktadır [175]. Çalışmamızda, DIAGNOdent Pen'in kılavuzunda yer alan değerler kullanılmıştır. Bu değerler, yapılan çalışmalarla uyum göstermektedir [103,120,130,147].

İn vitro çalışmalarda, DIAGNOdent'in yanlış pozitif sonuçlar verebilceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır [175,188]. Bunun nedeninin, dişlerin çekimden sonra DIAGNOdent ile muayenesi arasında geçen sürenin ve dişlerin bu süreçte tutuldukları ortamın, porfirin bozulmasına neden olarak floresan emisyonunu ve dolayısıyla DIAGNOdent değerlerini değiştirmesi olabileceği öne sürülmüştür [147,188]. Bununla birlikte, porfirinlerin çok kararlı moleküller olduğunu, saklama yöntemlerinin floresan değerlerini değiştirmediğini ve sadece yüksek sıcaklıkların onları denatüre edebileceğini belirten çalışmalar da bulunmaktadır [189,190]. Çalışmamızda dişler çekildikten hemen sonra işlemler yapıldığı ve çekilen dişler solüsyonda saklanmadığı için bu durum ekarte edilmiştir. Plak, lekeler, diş taşları, restoratif materyaller veya dişlerde hipomineralizasyon varlığı bir miktar floresan yayabilir ve dişlerden yüksek değerler elde edilerek yanlış pozitif sonuçlara neden olabilir [130,175,191]. Çalışmamızda bunları ekarte etmek için restorasyonu materyali bulunan ve gelişimsel anomalisi olan dişler çalışma dışı bırakılmış ve dişler incelenmeden önce yıkanarak kurutulmuştur.

Çürük tespit boyaları, enfekte olmuş dentinin içerisinde bulunan denatüre kollajene bağlanırlar [22,192]. Bununla birlikte, enfekte dentin tespiti için spesifik olmadıkları ve çoğunlukla mine dentin birleşimini veya sirkumpulpal dentini boyadıkları bildirilmiştir [192,193]. Çürük tespit boyaları, bir boya ve çoğunlukla propilen glikolden yapılmış bir çözücü olmak üzere iki bileşenden oluşur [22,192]. Düşük moleküler ağırlıklı çözücülerin, yüksek moleküler ağırlıklı çözücülere oranla daha derine nüfuz edebildiğine inanılır. Bu

nedenle çürük tespit boyasının çözücüsü olan propilen glikolün daha yüksek moleküler ağırlığa sahip ve geçirgenliği daha düşük olan polipropilen glikolle değiştirilmesiyle, gereksiz yere dentinin uzaklaştırılmasının önüne geçilebileceğini belirten çalışmalar bulunmaktadır [17,123]. Çalışmamızda bu boyalara ulaşmadaki kısıtlı imkanlar nedeniyle propilen glikol ve yeşil FD&C boyadan oluşan Reveal çürük tespit boyası kullanılmıştır. Çalışmamızla benzer olarak Reveal çürük tespit boyasını kullanan çalışmalar bulunmaktadır [194-196].

Çürük tespit boyasının nesnelliğinin düşük olduğu bilinmektedir [17,124]. Yapılan bazı çalışmalarda tek araştırmacı tarafından [17,21,22], bazı çalışmalarda iki araştırmacı tarafından [194,195], bazı çalışmalarda ise üç araştırmacı tarafından [120,132] çürük tespit boyası ile rezidüel çürük değerlendirilmiştir. Çalışmamızda çürük tespit boyası görsel bir yöntem olduğundan tekrarlanabilirliği sağlamak için iki araştırmacı tarafından kavitelerde rezidüel çürük varlığı araştırılmıştır.

Çürük tespit boyası ile rezidüel çürük varlığı değerlendirilirken dentinin rengi beyaz kaldığında çürük yok ve dentinin rengi yeşile boyandığında rezidüel çürük varlığı olarak kaydedilmektedir [21,120]. Boya tarafından açık renkli boyanan dokular korunmalıdır, çünkü bu doku enfekte olmayan ve potansiyel olarak remineralizasyon kabiliyetine sahip olan etkilemiş dentini içermektedir. Bu yüzden açık renkli boyanmalarda kavite çürüksüz kabul edilmektedir [18,123]. Çalışmamızda çürük tespit boyası kullanıldıktan sonra bu bilgilere dayanarak değerlendirme yapılmıştır ve hiç boyanmama durumunun olmadığı gözlenmiştir. Bunun nedeninin çürüğün daha kontrollü uzaklaştırılması olabileceği düşünülmüştür.

Yapılan bazı çalışmalarda Brix 3000'in, berraklaşana kadar ve sert dentin yüzeyine gelene kadar tekrar uygulanması gerektiği belirtilmiştir [111,168]. Bazı çalışmalarda ise, Brix 3000'in kaviteye ikinci veya üçüncü kez uygulandığında herhangi bir renk değişikliği gözlenmediği bildirilmiştir [14,112,115]. Çalışmamızda sert dentin yüzeyine gelene kadar ve jel berraklaşana kadar Brix 3000'i kaviteye uyguladığımızda, yapılan çalışmalarla uyumlu olarak en fazla üç kere uygulamamızı gerektirmiştir.

Yüksek sıcaklıklar bakterilerin hücre duvarında ve membranında değişikliklere, proteinlerin denatürasyonuna ve nükleik asitte hasara neden olarak bakterilerin ölümüyle sonuçlanmaktadır [144]. Çalışmamızda, geleneksel yöntemde oluşan ısının önüne geçmek amacıyla frez steril su ile ıslatılmış ve işlem sırasında mola verilerek kavite steril su ile yıkanmıştır.

Diş çürüklerinde ana etiyolojik faktörlerden biri mikroflora olduğundan, çürük lezyonlar uzaklaştırılırken mikrobiyal sayıların azaltılması önem taşımaktadır [14,138]. Çürükler uzaklaştırılırken, kavitenin ne zaman çürüksüz olduğunun belirlenmesini sağlayan ve çürük uzaklaştırma işleminin tamamlandığını belirten standart bir yöntem veya kriter bulunmamaktadır [23,197]. Yapılan çalışmalarda, enfekte dentinin tamamen uzaklaştırılmasının mümkün olmadığı ve çürükler uzaklaştırıldıktan sonra da mikroorganizmaların mevcut olduğu belirtilmiştir [70,154,198]. Bu kanıtlara rağmen, restorasyonun altında kalan mikroorganizmaların restorasyon başarısızlığının ana nedeni olduğu düşünüldüğünden, restorasyonların dayanıklılığı için çürük dentinin uzaklaştırılmasının gerekli olduğu düşünülmektedir [154].

S. mutans, diş çürüklerinde önemli etiyolojik rol oynayan ve ağız boşluğunda yaygın olarak görülen karyojenik bir bakteridir [17]. Modern moleküler analizler ve mikrobiyal kültür teknikleri; sadece *S. mutans'*ın değil, farklı bakterileri içeren patojenik bir mikrofloranın varlığını ortaya koymuştur [58]. Çürük uzaklaştırma yöntemlerinin etkinliğini tanımlamada, çürük lezyonunun bakteriyolojik içeriğine ilişkin çalışmalar önemli yer tutmaktadır [197]. Çürük uzaklaştırma etkinliğinin tanımlanmasında, total bakteri miktarındaki azalmayı değerlendiren çok sayıda çalışma bulunmaktadır [14,33,111,138]. Yapılan bazı çalışmalarda ise *S. mutans*'ın miktarındaki değişimle çürük uzaklaştırma etkinliği değerlendirilmiştir [35,36]. Çalışmamızda çürük uzaklaştırma etkinliği hem total bakteri miktarındaki değişim, hem de *S. mutans* miktarındaki değişim açısından değerlendirilmiştir. Çalışmamız literatürde her ikisini değerlendiren az sayıda çalışmadan biri olan Goyal ve El-tekeya'nın yaptığı çalışmalarla benzerlik göstermektedir ve literatüre katkısı olacağı düşünülmektedir [199,200].

Dentin çürüklerini değerlendiren mikrobiyolojik çalışmaların çoğunda mikrobiyal kültür yöntemi kullanılmıştır [33,35,36,138,201]. Mikrobiyal kültür, yalnızca canlı bakterileri gösterir ve numunelerin taşınması veya bakterilerin üremesi gibi etkenlere karşı çok daha duyarlı bir yöntemdir [23]. Dentin çürüklerindeki mikrobiyal toplulukların incelenmesi için moleküler yöntemler de bulunmaktadır [197]. Mikroorganizmaları izlemek için PCR'ın uygun bir yöntem olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmiştir [17,124]. Yapılan bir çalışmada, PCR yönteminin bakteriyel nükleik asitlerin saptanmasında daha yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olması nedeniyle spesifik karyojenik bakterileri saptamak için de oldukça uygun olduğu belirtilmiştir [144]. Bu yöntemin başka bir avantajı da, canlı ve ölü bakterilerin yanı sıra bakteri kalıntılarını da tespit etme yeteneğidir [23]. Çürük dentinden alınan örneklerde gerçekleştirilen real-time PCR yönteminin, mikrobiyal kültür yöntemine kıyasla daha fazla sayıda bakteri tespit edildiği çalışmalarda gösterilmiştir [202,203]. PCR yöntemiyle dentin çürüğünü değerlendiren çalışmalar az sayıda olsa da literatürde bulunmaktadır [143-145].

Dentin çürük lezyonlarını uzaklaştıran yöntemlerin etkinliklerinin bakteriyolojik olarak değerlendirilmesi çalışmamızda önemli bir yer tuttuğundan mikrobiyal kültür ve PCR yöntemlerinin birlikte kullanılması uygun bulunmuştur. Araujo ve diğerleri benzer şekilde her iki yöntemi birlikte kullanmışlardır [143]. Çalışmamızda mikrobiyal kültür ve PCR yöntemlerinin birlikte kullanılmasıyla elde edilen sonuçların literatüre önemli katkısı olacağı düşünülmektedir.

Çalışmamıza benzer çalışmaların bazılarında proksimal yüze uzanan çürüğü bulunan dişlerin seçildiği [13,132], bazılarında okluzal kaviteleri bulunan dişlerin seçildiği [36,105,106,111], bazılarında ise çalışmamıza benzer şekilde bununla ilgili bilgi verilmediği [165,204] gözlemlenmiştir. Çalışmamızda okluzal ve proksimal olarak çürükleri sınıflamadığımız için çürüğün ağız sıvılarıyla temasta olan dış tabakası tüm dişlerde standardize edilememiştir. Bu nedenle, dentin talaşları toplanmadan önce dişler, steril su ile yıkanarak steril pamuk peletlerle temizlenmiş ve en dıştaki çürük dentin tabakası steril keskin bir ekskavatör ile kontaminasyonu önlemek için çalışmalarla benzer şekilde uzaklaştırılmıştır [14,201].

Bazı çalışmalarda dentin talaşlarını toplamak için belirli bir boyuttaki steril frezler kullanılmış [154,197], bazı çalışmalarda ise belirli boyuttaki steril ekskavatör kullanılmıştır [36,198,201]. Gupta ve diğerleri; ekskavatörün atravmatik olduğunu ve çürük uzaklaştırıldıktan sonra dentin talaşlarını toplarken pulpa ekspozu riskini azalttığını bildirmişlerdir. Ayrıca, frezlerin rotasyon hareketleri sırasında dentin talaşlarını etrafa yayarak numune kaybına neden olabileceği ve dentin talaşlarının frez bıçaklarının arasından ziyade ekskavatörde daha kolay görüneceği belirtilmiştir [33]. Çalışmamızda çürük uzaklaştırma yönteminde kullandığımız alete göre; Brix-3000 grubunda dentin talaşlarının toplanmasında 19 numaralı ekskavatör kullanılmış, geleneksel yöntem grubunda ise 16 numaralı frez kullanılmıştır. Frezlerin dentin talaşlarını etrafa yaymasını önlemek için dentin talaşların toplanmasından önce frezler steril su ile ıslatılmıştır. Bu sayede, yapılan çalışmalarla benzer şekilde dentin talaşlarının freze yapışması kolaylaştırılmıştır ve frezlerin yaptığı rotasyon hareketi sırasında dentin talaşlarının etrafa saçılmasının önüne geçilmiştir [154,197,205]. Dentin talaş örneklerinin eşit miktarda alınması önemlidir, çünkü alınan örnek miktarı ile içerdiği bakteri sayısı doğru orantı göstermektedir. Çalışmamızda bu eşitlik ayni boyutta frez ve ekskavatör kullanılıp örnekler hassas tartıda tartılarak sağlanmıştır.

Toplanan dentin talaş örneklerinin bakterilerin canlılığını koruyabilmesi amacıyla çeşitli solüsyonlarda taşındığı bilinmektedir. Dentin talaş örneklerinin PBS solüsyonu [14,201], fizyolojik salin solüsyonu [138], tiyoglikolat [36,198,206] ve azaltılmış taşıma sıvısı (reduced transport fluid, RTF) [197,207] içerisinde taşındığını gösteren farklı çalışmalar bulunmaktadır. Çalışmamızda dentin talaş örnekleri, real-time PCR kitinde yer alan talimatlara uygun olarak mikroorganizmaların hücresel yapısını koruyabilen dengeli bir sıvı olan PBS solüsyonu içeren ependorf tüplere alınmıştır.

Mikroorganizmaların canlılılığının devam ettirilmesi; taşıma süresi, depolama süresi gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. İdeal olarak alınan toplanan örneklerin numune alındıktan hemen sonra ekilmesi gerekmektedir [135]. Çalışmamızda toplanan dentin talaşları mikroorganizmaların canlılığının devam ettirilmesi amacıyla, diğer çalışmalarla benzer şekilde 2 saat içinde mikrobiyoloji laboratuvarına götürülerek ekimi yapılmıştır [14,33,138,206].

Dentin talaşlarının mikroorganizmalara zarar vermeden frezden uzaklaşmaları ve ekim yapılmadan önce taşıma sıvısı ile homojenizasyonunun sağlanması gerekmektedir [208]. Bunları sağlayabilmek amacıyla kullanılan vorteks cihazında; yapılan bazı çalışmalarda vorteks süresi 15 sn [154,206], bazılarında 30 sn [33,138,197], bazılarında ise 60 sn olarak belirlenmiştir [80]. Çalışmamızda vorteks süresi arttıkça dentin talaşlarının homojenizasyonunun artacağı düşünüldüğünden, örnekler 60 sn süreyle vorteks yapılmıştır. Frez yardımıyla toplanan örneklerden, mikroorganizmaların üremesinin inhibe olmasını önlemek amacıyla yapılan çalışmalarla benzer şekilde frezler vorteks işleminden hemen sonra ependorf tüpten çıkarılmıştır [154,197]. Dentin talaş örneklerinin sayılmasını kolaylaştırmak amacıyla, homojenize olan örneklerin seri sulandırılmasının yapıldığı bilinmektedir (10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}) [14,33,138]. Çalışmamızda bu bilgiye dayanarak, steril fizyolojik salin içinde homojenize olan örneklerin seri sulandırılması çalışmalarla benzer şekilde yapılmıştır.

S. mutans'ın için seçici besiyeri olarak en çok kullanılanlar Mitis Salivarius Basitrasin (Mitis Salivarius Bacitracin, MSB) agar ve TYCSB agardır [209]. Çalışmaların bazılarında dentin talaş örneklerinin ekimi için besiyeri olarak MSB agar kullanılmış [94,210], bazılarında ise TYCSB agar kullanılmıştır [80,151,152]. Hamada ve diğerleri çalışmalarında MSB agar içerisinde bulunan tripan mavisinin *S. mutans'*ı inhibe ettiğini bildirmişlerdir [211]. TYCSB agarın MSB agara oranla *S. mutans'*ın üremesi için daha uygun olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmiştir [212-214]. Toplam bakteri sayısının değerlendirilmesi için yapılan çalışmalarla benzer olarak kanlı agar kullanılmıştır [14,111,154,200,206].

Yapılan çalışmalarla benzer olarak mikrobiyal kültür ve real-time PCR ile elde edilen CFU değerleri, karşılaştırma kolaylığı için $\log_{10}$ tabanında logaritması alınarak hesaplanmıştır [33,154,155,210].

5.2. Bulguların Tartışılması

Çalışmamızda iki farklı çürük uzaklaştırma yönteminin çürük uzaklaştırma etkinlikleri, lazer floresan cihazı (DIAGNOdent Pen), çürük tespit boyası, mikrobiyal kültür ve real-time PCR yöntemleriyle değerlendirilmiştir.

5.2.1. DIAGNOdent Pen ile değerlendirilen bulguların tartışılması

Çalışmamızda, çürük uzaklaştırma sonrasında DIAGNOdent Pen ile ölçülen değerler, çürük uzaklaştırma öncesi değerlerden istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur. DIAGNOdent Pen ile ölçülen tedavi öncesi ve sonrası arasındaki değişim değerleri açısından geleneksel yöntem ve Brix 3000 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Ancak çalışmamızda, çürüksüz kabul edilen 0-13 grubunun çoğunlukla geleneksel yöntemde olduğu ve rezidüel çürük olarak kabul edilen 14 ve üzeri grubunun çoğunlukla Brix 3000 grubunda olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle Brix 3000'in çürük uzaklaştırma etkinliği geleneksel yöntemden daha düşük bulunmuştur.

Kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanı Brix 3000'in etkinliğini değerlendirmek ve geleneksel yöntemle karşılaştırmak için DIAGNOdent Pen kullanan çalışma literatürde bulunmadığı için çalışmamızın sonuçları diğer kemomekanik ajanlarla yapılan benzer çalışmalarla karşılaştırılmıştır.

Carisolv, el ekskavatörü ve tungsten karbid frezin çürük uzaklaştırma etkinliklerini karşılaştıran çalışmada, çürük uzaklaştırma etkinliği çürük uzaklaştırma öncesi ve sonrası ölçülen DIAGNOdent değerlerindeki değişimle belirlenmiştir. Tüm gruplarda çürük uzaklaştırma öncesi ve sonrası DIAGNOdent değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı azalma bulunmuş ve tungsten karbid frez grubunun çürük uzaklaştırma etkinliği Carisolv'e göre yüksek bulunmuştur [133]. Bu sonuç, çalışmamızın sonuçlarıyla örtüşmektedir.

Geleneksel yöntem, Carisolv, Papacarie ve Er:YAG lazerin çürük uzaklaştırma etkinliklerinin değerlendirildiği çalışmada, etkinliğin değerlendirilmesi amacıyla DIAGNOdent Pen ile birlikte görsel ve dokunsal kriterler kullanılmıştır. Kemomekanik

çürük uzaklaştırma yöntemlerinin, çürük uzaklaştırma etkinliklerinin geleneksel yöntemden düşük olduğu bulunmuştur. Lazer floresan değerinin, bakterilerin metabolik yan ürünlerinin miktarına ve çürük dentinin rengine bağlı olduğu bilinmektedir. Rengi daha koyu olan etkilenmiş dentinin varlığının, sadece enfekte dentini uzaklaştıran kemomekanik yöntemler için daha yüksek DIAGNOdent Pen değerleri ile sonuçlanabileceği ve geleneksel yöntemin aşırı preperasyon ile birlikte etkilenmiş dentini de uzaklaştırması nedeniyle elde edilen renksiz, sert, parlak dentin yüzeyinin düşük DIAGNOdent Pen değerleri ile sonuçlanabileceği belirtilmiştir [103]. Bu bilgilere dayanarak çalışmamızda elde edilen benzer sonuçların nedeninin bu çalışmadaki gibi çürük dentinin rengine bağlı olduğunu düşünülmüştür.

Kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanı Papacarie'yi geleneksel yöntemle karşılaştıran çalışmada, çürük uzaklaştırma etkinliği tedavi öncesi ve sonrası DIAGNOdent Pen kullanılarak elde edilen değerler arasındaki fark ile belirlenmiştir. Geleneksel yöntemin çürük uzaklaştırma etkinliğinin Papacarie'den daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bunun nedeninin, dentinin renginden oldukça etkilenen floresan değerleri ile ilgili olabileceği belirtilmiştir [215]. Çalışmamızda elde edilen sonuçlara, bu çalışmayla benzer olarak etkilenmiş dentinin renginin neden olabileceği düşünülmektedir.

Kemomekanik ajanlar Papacarie ve Carisolv ile geleneksel yöntem kullanılarak çürük uzaklaştırıldıktan sonra kalan dentinin floresan değerlerini DIAGNOdent Pen ile karşılaştıran çalışmada, üç grubun floresans değerlerinin benzer olduğu bulunmuştur [216]. Bu sonuç çalışmamızın sonuçlarıyla örtüşmemektedir.

Rezidüel dentindeki rengin önemli ölçüde daha yüksek lazer floresan ölçümleri gösterdiği bildirmiştir [182,217,218]. Çalışmamızda bu bilgilere dayanarak Brix 3000'in sadece enfekte dentini uzaklaştırdığı ve etkilenmiş dentinin rengi nedeniyle daha yüksek floresan değerleri gösterdiği; geleneksel yöntemde ise etkilenmiş dentin uzaklaştırıldığı için daha düşük floresan değerleri gösterdiği düşünülmüştür. Rezidüel çürüklerin tespiti için DIAGNOdent Pen'in ek bir teşhis aracı ile birlikte kullanılması gerektiğini belirten çalışmalarla benzer şekilde düşünmekteyiz [23,120,133].

5.2.2. Çürük tespit boyası ile değerlendirilen bulguların tartışılması

Çalışmamızda geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile çürük uzaklaştırma sonrasında kavitelerin çürük tespit boyası ile boyanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuş ve geleneksel yöntemle çürük uzaklaştırma sonrası boyanma olan dişlerin oranı, Brix 3000'e göre daha az bulunmuştur.

Süt azı dişlerinde enfekte çürük dentinin uzaklaştırılmasında ART ve Brix 3000'in etkinliğini değerlendiren çalışmada, çürük uzaklaştırma etkinliği çürük tespit boyası kullanılarak değerlendirilmiştir. Brix 3000'in çürük uzaklaştırma etkinliğinin ART'den daha fazla olduğu bulunmuştur. Bunun nedeninin Brix 3000'in içerisindeki yüksek papain konsantrasyonu olduğu ve papain varlığının sağlıklı diş dokusuna zarar vermeden antiinflamatuar etki sağladığı bildirilmiştir. Bu çalışmada çalışmamıza ek olarak tedavi sırasındaki ağrı düzeyi de değerlendirilmiştir ve Brix 3000'de daha az ağrı hissedilmesinin sebebinin ART'de yapılan ekskavatör ile kazıma hareketinin aksine sarkaç hareketiyle basınçsız şekilde uygulanması olduğu düşünülmüştür [112].

Kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanı Brix 3000'in etkinliğini çürük tespit boyası kullanarak geleneksel yöntemle karşılaştıran çalışma literatürde bulunmadığı için çalışmamızın sonuçları diğer kemomekanik ajanlarla yapılan benzer çalışmalarla karşılaştırılmıştır.

Papacarie, Carisolv, el ekskavatörleri ve geleneksel yöntemin çürük uzaklaştırma etkinliğini karşılaştıran çalışmada, çürük uzaklaştırma etkinliği çürük tespit boyası ile değerlendirilmiştir. Geleneksel yöntemin çürük uzaklaştırma etkinliğinin en yüksek olduğu, ardından Papacarie ve Carisolv'un geldiği, en düşük etkinliğin el ekskavatörlerinde olduğu belirtilmiştir [165]. Bu sonuç, çalışmamızın sonuçlarıyla örtüşmektedir.

Carisolv, polimer frez ve geleneksel yöntemin çürük uzaklaştırma etkinliğinin karşılaştırıldığı çalışmada, etkinlik çürük tespit boyası kullanılarak değerlendirilmiştir. Carisolv'un çürük uzaklaştırma etkinliği geleneksel yönteme kıyasla düşük bulunmuştur. Bunun geleneksel yöntemde dokunsal geri bildirimin olmaması nedeniyle hızlı ve seçici

olmayan bir şekilde dokuların uzaklaştırılmasına bağlı olduğunu düşünmüşlerdir [157]. Çalışmamızda elde edilen benzer sonuçların nedeninin, bu çalışmadaki gibi geleneksel yöntemde fazla doku uzaklaştırılması olduğu düşünülmüştür.

Süt azı dişlerinde Carisolv, polimer frez ve geleneksel yöntemin çürük uzaklaştırma etkinliğini karşılaştıran çalışmada, çürük uzaklaştırmanın klinik etkinliği çürük tespit boyası kullanılarak değerlendirilmiştir. Geleneksel yöntemde, çürük tespit boyası ile boyanma oranının Carisolv'e göre anlamlı derecede düşük olduğunu, bunun geleneksel yöntemin çürük uzaklaştırmada klinik olarak Carisolv'den daha etkili olduğunu belirtmişlerdir [7]. Bu sonuç, çalışmamızın sonuçlarıyla örtüşmektedir.

Carisolv, polimer frez ve elmas frezlerin çürük uzaklaştırma etkinliğinin karşılaştırıldığı çalışmada, etkinlik çürük tespit boyası kullanılarak değerlendirilmiştir. Boyanmanın Carisolv grubunda geleneksel yönteme kıyasla daha fazla olduğu, çünkü Carisolv grubunda etkilenmiş dentin korunarak sadece enfekte dentinin uzaklaştırıldığı, ancak elmas frez grubunda hem enfekte hem de etkilenmiş dentin çıkarıldığı için boyanma olmadığı bildirilmiştir [195]. Çalışmamızda elde edilen benzer sonuçların nedeninin, bu çalışmaya benzer şekilde geleneksel yöntemde hem enfekte hem etkilenmiş dentinin uzaklaştırılması olduğu düşünülmektedir.

Carisolv, el ekskavatörleri ve geleneksel yöntemin çürük uzaklaştırma etkinliğinin karşılaştırıldığı çalışmada, etkinlik çürük tespit boyası kullanılarak değerlendirilmiştir. Çürük uzaklaştırma etkinliği Carisolv ile geleneksel yöntemde benzer bulunmuştur [204]. Bu sonuç, çalışmamızın sonuçlarıyla örtüşmemektedir.

Çürük tespit boyasının sirkumpulpal alanlarda ve mine-dentin birleşiminde enfekte dentini sağlam dentinden yeterince ayırt edemediği yapılan çalışmalarda gösterilmiş ve nesnelliğinin düşük olduğu belirtilmiştir [17,123,124,193]. Çalışmamızda bu bilgilere dayanarak geleneksel yöntemde çürük tespit boyası ile boyanmanın daha az olma nedeninin dokuları aşırı miktarda uzaklaştırmasına bağlı olarak etkilenmiş dentinin uzaklaştırılması olduğu düşünülmüştür.

5.2.3. DIAGNOdent Pen ve çürük tespit boyası ilişkisinin tartışılması

Çalışmamızda çürük uzaklaştırma sonrası ölçülen DIAGNOdent Pen değerleri ile çürük tespit boyasıyla boyanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

DIAGNOdent Pen ve çürük tespit boyası arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada, dokunsal muayene ile kavitede çürük olmadığının doğrulanmasından sonra rezidüel çürüklerin varlığı DIAGNOdent Pen ve ardından çürük tespit boyası ile değerlendirilmiştir. Sınır değeri 13 kabul edildiğinde 14 dişte rezidüel çürük varlığı tespit edilmiştir. Çürük tespit boyası ile 44 dişte rezidüel çürük bulunmuştur. DIAGNOdent Pen ile çürük tespit boyası arasında anlamlı bir fark bulunmuştur. Değerlendirme öncesi kavitede çürük olmadığı dokunsal muayene ile doğrulandığından bu çalışmadaki yüksek boyanma sıklığı, çürük tespit boyalarının sirkumpulpal alanlarda ve mine-dentin birleşiminde sağlam dentini çürüklerden ayırt etmedeki doğal dezavantajları ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir [21].

Rezidüel çürükleri saptamak için lazer floresan cihazı DIAGNOdent ve çürük tespit boyasının performansını karşılaştıran çalışmada, rezidüel çürüklerin varlığı histolojik olarak polarize ışık mikroskobu ile doğrulanmıştır. DIAGNOdent'in, rezidüel çürüklerin tespitinde çürük tespit boyasından daha iyi sonuçlar sunduğu bulunmuştur. Bu çalışmada DIAGNOdent cihazında çürük olmamasına rağmen elde edilen yüksek değerlerin nedeninin rezidüel çürükler değil, pulpanın floresansı olabileceği belirtilmiştir [132].

Lazer floresan cihazlarının çürük tespit boyası ile karşılaştırıldığında rezidüel çürükleri tespit etmede daha iyi teşhis sonuçları sunduğu çalışmalarda gösterilmiştir [19,21,132]. DIAGNOdent Pen değerleri, minedekilere kıyasla dentindeki çürükleri saptamada daha düşük hassasiyet değerleri göstermiştir [147,148,185]. Pulpaya yaklaştıkça lazer floresansının daha yüksek değerler gösterdiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [127,217]. Çürük lezyonların bakteri birikintileri nedeniyle daha fazla protein içerdikleri, bu nedenle artan floresan değerlerinin lezyondaki artan organik bileşeni yansıttığı bildirilmiştir [120]. Çalışmamızda bu bilgilere dayanarak DIAGNOdent Pen ölçümleri ile çürük tespit boyasıyla boyanma oranları arasında anlamlı fark olmadığı düşünülmüştür.

5.2.4. Mikrobiyolojik bulguların tartışılması

Mikrobiyal kültür

Çalışmamızda Brix 3000 ve geleneksel yöntem ile çürük uzaklaştırıldıktan sonra alınan örneklerin mikrobiyal kültür sonucunda elde edilen *S. mutans* ve total bakteri değerleri, çürük uzaklaştırılmadan önce alınan örneklerin değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur.

Çürük uzaklaştırılmadan önce ve sonra alınan örneklerin mikrobiyal kültür sonucu elde edilen *S. mutans* ve total bakteri değerlerinin azalma miktarları geleneksel yöntem ile Brix 3000 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermemiştir.

Brix 3000 ile seramik frezin çürük uzaklaştırma etkinliğini değerlendiren randomize kontrollü çalışmada, çürük uzaklaştırma etkinliği mikrobiyal kültür sonucu total bakteri miktarındaki değişim ile değerlendirilmiştir. Her iki yöntemde total bakteri sayısında azalma gözlenmiştir. Her iki grubun çürük uzaklaştırma etkinlikleri benzer bulunmuştur [111]. Bu sonuç, çalışmamızın sonuçlarıyla örtüşmektedir.

Brix 3000, Carie-care ve polimer frezlerin (Smart burs) çürük uzaklaştırma etkinliklerini karşılaştıran çalışmada, çürük uzaklaştırma etkinliği mikrobiyal kültür sonucu total bakteri sayısındaki değişim miktarı ile değerlendirilmiştir. Tüm yöntemler bakteri sayısını anlamlı olarak azaltmış, Brix 3000'in çürük uzaklaştırma etkinliği en yüksek bulunmuştur. Bakteri sayısındaki azalmanın en fazla Brix 3000'de görülmesinin, Brix 3000'in bakteriyostatik ve bakterisidal potansiyelini gösterdiği bildirilmiştir [14].

Kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanı Brix 3000'in çürük uzaklaştırma etkinliğini mikrobiyal kültür yöntemiyle geleneksel yöntemle karşılaştıran çalışma literatürde bulunmadığı için çalışmamızın sonuçları diğer kemomekanik ajanlarla yapılan benzer çalışmalarla karşılaştırılmıştır.

Kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanı Carisolv'un çürük uzaklaştıma etkinliğini geleneksel yöntem ile karşılaştıran çalışmada, total karyojenik flora sayısındaki azalma

mikrobiyal kültür ile değerlendirilmiştir. Her iki yöntemde total bakteri sayısında azalma bulunmuş, çürük dentinin Carisolv aracılığıyla kemomekanik olarak uzaklaştırılmasının etkinliği geleneksel yöntemle benzer olarak bildirilmiştir [205]. Bu sonuç, çalışmamızın sonuçlarıyla örtüşmektedir.

Kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanı olan Papacarie'nin çürük uzaklaştırma etkinliğini geleneksel yöntemle karşılaştıran çalışmada, etkinlik mikrobiyal kültür sonucu toplam bakteri ve *Laktobasillus* sayısındaki değişim miktarı ile değerlendirilmiştir. Her iki grupta da mikrobiyal kültür sonucu toplam bakteri sayısı ve *Laktobasillus* sayısında azalma gözlenmiş ancak iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır [219]. Bu sonuç, çalışmamızın sonuçlarıyla örtüşmektedir.

Kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanı Papacarie ile geleneksel yönteminin çürük uzaklaştırma etkinliklerini karşılaştıran çalışmada, toplam canlı bakteri sayısındaki azalma miktarları mikrobiyal kültür ile değerlendirilmiştir. Toplam canlı bakteri sayısının iki yöntemde de azalma gösterdiği ve kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanı Papacarie'nin etkinliğinin geleneksel yöntemle karşılaştırılabilir olduğu bulunmuştur [138]. Bu sonuç, çalışmamızın sonuçlarıyla örtüşmektedir.

Mekanik ve kemomekanik (Carisolv ve Papacarie) yöntemin etkinliklerini çürük uzaklaştırma öncesi ve sonrası alınan örneklerden *S. mutans* ve *Lactobacillus* miktarlarındaki değişim elde edilerek karşılaştıran çalışmada, çürük uzaklaştırma etkinliği mikrobiyal kültür yöntemi kullanılarak kültüre edilebilir canlı bakteri sayısındaki azalma değerlendirilerek araştırılmıştır. Tüm gruplarda kültüre edilebilir canlı *S. mutans* ve *Lactobacillus* sayılarında azalma olduğu ve etkinliklerinin benzer olduğu bulunmuştur [36]. Bu sonuç, çalışmamızın sonuçlarıyla örtüşmektedir.

Kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanı olan Apacaries jelin çürük uzaklaştırma etkinliğini geleneksel yöntemle karşılaştıran randomize kontrollü çalışmada, etkinlik mikrobiyal kültür sonucu total bakteri miktarındaki azalmayla belirlenmiştir. Tüm gruplarda bakteri miktarında azalma gözlenmiş ve kemomekanik yöntemin çürük uzaklaştırma etkinliğinin

geleneksel yöntemle benzer olduğu bildirilmiştir [96]. Bu sonuç, çalışmamızın sonuçlarıyla örtüşmektedir.

Süt azı dişlerinde Carisolv, polimer frez ve geleneksel yöntemin çürük uzaklaştırma etkinliğini karşılaştıran çalışmada, çürük uzaklaştırmanın mikrobiyolojik etkinliği toplam canlı bakteri sayısının mikrobiyal kültür değerlerindeki değişime bakılarak değerlendirilmiştir. Her iki grupta da toplam canlı bakteri sayısında azalma görülmüştür. Carisolv grubu ile geleneksel yöntem arasında çürük uzaklaştırıldıktan sonra anlamlı bir fark gözlenmediği belirtilmiştir [7]. Bu sonuç, çalışmamızın sonuçlarıyla örtüşmektedir.

Kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanı Carisolv ve geleneksel yöntem ile çürük uzaklaştırıldıktan sonra total bakterilerin azalma miktarlarını mikrobiyal kültür ile değerlendiren çalışmada, her iki grubun da total bakteri sayısını azalttığı bulunmuştur. Kemomekanik yöntemde bakteri miktarındaki azalma daha yüksek ve bu nedenle çürük uzaklaştırma etkinliği, geleneksel yönteme göre üstün bulunmuştur [34]. Bu sonuç, çalışmamızın sonuçlarıyla örtüşmemektedir.

Papain bazlı bir jel olan Papacarie'nin çürük uzaklaştırma etkinliğini geleneksel yöntemle karşılaştıran 2009-2016 yılları arasında yayınlanan altı randomize kontrollü ve dört klinik çalışmayı içeren metaanalizde, etkinlik mikrobiyal kültür yöntemi kullanılarak total bakteri sayısındaki azalma ile değerlendirilmiştir. Papacarie'nin çürük uzaklaştırma etkinliği geleneksel yönteme göre daha üstün bulunmuştur [97]. Bu sonuç, çalışmamızın sonuçlarıyla örtüşmemektedir.

Süt dişlerinde çürüklerin uzaklaştırılmasında Papacarie ve geleneksel yöntemin karşılaştırılmasını amaçlayan metaanalizde, altı randomize kontrollü çalışma ve dört klinik çalışma incelenmiştir. Çürük uzaklaştırma etkinliği mikrobiyal kültürle total bakteri sayısındaki azalma miktarı değerlendirilerek belirlenmiştir. Papacarie'nin daha uzun tedavi süresine rağmen, süt dişlerinde çürük uzaklaştıma etkinliğinin geleneksel yönteme göre üstünlük sağladığı belirtilmiştir [220]. Bu sonuç, çalışmamızın sonuçlarıyla örtüşmemektedir.

Kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanı Papacarie jelin total bakteri, *Lactobacillus*, total *Streptococcus*, *S. mutans* grubunun sayısını azaltmada geleneksel yöntemle etkinliğini mikrobiyal kültürle karşılaştıran çalışmada, her iki yöntemde de total bakteri, toplam *Streptococcus* ve *S. mutans* grubu sayısında anlamlı azalma bulunmuş, ancak *Lactobacillus* sayısında anlamlı azalma elde edilememiştir. Papacarie'nin etkinliğinin geleneksel yöntemden üstün olduğu belirtilmiştir. Papain bazlı jel kullanımı ile görülen bakterilerdeki azalmanın, jelin bakterisidal ve bakteriyostatik etkisi ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir [210]. Bu sonuç, çalışmamızın sonuçlarıyla örtüşmemektedir. Seçim kriterleri, örnekleme prosedürleri ve mikrobiyal kültür tekniklerindeki farklılıkların kemomekanik yöntemlerin etkinliğini değerlendiren çalışmalardaki farklı sonuçları açıklayabileceği düşünülmüştür.

Papacarie'nin hem daimi hem süt dişlerinde çürük uzaklaştırma etkinliğini klinik ve mikrobiyolojik olarak değerlendiren çalışmada, Papacarie uygulaması sonrasında mikrobiyal kültür sonucu toplam canlı mikroorganizmaların anlamlı derecede azalma gösterdiği, ancak canlı mikroorganizmaların sayısının hala yüksek olduğu ve bu nedenle güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip restoratif materyalin kullanılması önerilmiştir [33].

Çürük uzaklaştırıldıktan sonra bakteri sayısında anlamlı bir azalma olmasına rağmen, genellikle daha az sayıda mikroorganizmanın (10^1-10^4 CFU) kavitede kaldığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [28,35]. Kalan mikroorganizmaların sayısı hangi sınırlar içerisinde olduğunda çürüğün ilerlemeyeceği konusu hala kesinlik kazanmamış olup bununla ilgili farklı görüşler bulunmaktadır. Araştırmacılar, çürüksüz dentinin ne olduğunu veya kavitede çürüğün ilerlemesini desteklemeyecek mikroorganizma sayısını belirleme konusu ele almışlardır [221,222]. Çürüklerin uzaklaştırılması için kullanılan yöntemler canlı mikroorganizmaları tamamen ortadan kaldıramazlar, ancak kalan bakteri miktarının klinik olarak önemsiz olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmiştir [35,94,197,223,224]. Bazı çalışmalarda çürüğün ilerlememesi için karyojenik mikroorganizmaların sayılarında azalma olmasının daha önemli olduğunu ifade edilmiştir [197,205,223]. Bazı çalışmalarda ise kalan bakteri miktarının, çürüğün daha fazla ilerlemesine neden olduğu için klinik olarak önemli kabul edilebileceği bildirilmiştir [104,225]. Kavite restoratif materyal ile uygun şekilde kapatıldığında, kalan bakterilerin çürük lezyonun ilerlemesine veya pulpa reaksiyonlarına yol açmadığı gösterilmiştir [28,226]. Ayrıca sekonder çürükler başka

faktörlerle de gelişebileceğinden, diş çürüğü oluşumundan yalnızca dentindeki kalan bakteri sayılarının sorumlu tutulamayacağını bildiren çalışmalar da bulunmaktadır [219,225,227]. Çalışmamızda bu bilgilere dayanarak, Brix 3000 ile çürük uzaklaştırma sonrası kalan mikroorganizmaların klinik olarak önemli olmadığı ve sızdırmaz bir restorasyon yapılmasıyla birlikte çürük ilerlemesine neden olmayacağı düşünülmüştür. Bu nedenle çalışmada çürük uzaklaştırma etkinliği; bakteri sayısındaki azalma miktarına bakılarak değerlendirilmiş ve azalmanın Brix 3000'in bakteriyostatik ve bakterisidal potansiyelini gösterdiği düşünülmüştür.

Real-time PCR

Çalışmamızda geleneksel yöntem ile çürükler uzaklaştırıldıktan sonra alınan örneklerin real-time PCR sonucunda elde edilen total bakteri ve *S. mutans* değerleri, çürük uzaklaştırılmadan önce alınan örneklerin değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur. Brix 3000 ile çürük uzaklaştırıldıktan sonra alınan örneklerin real-time PCR sonucunda elde edilen *S. mutans* değerleri, çürük uzaklaştırılmadan önce alınan örneklerin değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük bulunurken; total bakteri değerleri, çürük uzaklaştırılmadan önce alınan örneklerin değerlerinden daha düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır.

Çürük uzaklaştırılmadan önce ve sonra alınan örneklerin real-time PCR yapılarak elde edilen *S. mutans* değerlerinin azalma miktarı geleneksel yöntem ile Brix 3000 arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve Brix 3000 ile tedaviden sonra kavitede kalan *S. mutans* miktarı yüksek olmasına rağmen, Brix 3000'in çürük uzaklaştırma etkinliği daha yüksek bulunmuştur. Çürük uzaklaştırılmadan önce ve sonra alınan örneklerin real-time PCR yapılarak elde edilen total bakteri değerleri Brix 3000'de azalma gözlenmediği için geleneksel yöntemle karşılaştırılmamıştır.

Kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanı olan Brix 3000'in çürük uzaklaştırma etkinliğini real-time PCR kullanılarak geleneksel yöntemle karşılaştıran çalışma literatürde bulunmadığı için diğer kemomekanik ajanlarla yapılan benzer çalışmalar araştırılmış ve literatürde bununla ilgili tek çalışma bulunmuştur.

Carisolv ve geleneksel yöntemin çürük uzaklaştırma etkinliğini real-time PCR sonucu elde edilen total bakteri değerleri belirleyerek karşılaştıran çalışmada, tüm gruplarında çürük uzaklaştırıldıktan sonra total bakteri sayısında önemli bir azalma bulunmuş ve iki yöntemin çürük uzaklaştırma etkinlikleri benzer bulunmuştur. Carisolv jel'in antimikrobiyal özellikleri ve yüksek pH'ı nedeniyle bakteri miktarını azaltabildiği belirtilmiştir [228].

Real-time PCR canlı ve ölü bakteriler arasında ayrım yapamadığı ve belirli bir kütle içinde mevcut olan toplam bakteri miktarını gösterdiği için hücre canlılığını hesaba katmadığı bildirilmiştir [143,145,228]. Bu bilgilerden yola çıkarak, Brix 3000 ile çürük uzaklaştırılması sonrasında mikrobiyal kültür sonucunda elde edilen total bakteri değerlerinde azalma olmasına rağmen real-time PCR sonucunda elde edilen total bakteri değerlerinde değişim olmamasının nedeninin real-time PCR sonuçlarının ölü bakterileri ve bakteri kalıntılarını da göstermesi olduğu düşünülmüştür.

Real-time PCR yöntemi yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olması nedeniyle spesifik karyojenik bakterileri saptamak için uygun bir yöntemdir [17,124,144]. Bu bilgiye dayanarak; Brix 3000 ile çürük uzaklaştırılması sonrası real-time PCR sonucunda elde edilen *S. mutans* değerlerinde azalma olmasına rağmen, total bakteri değerlerinde anlamlı bir fark bulunamamasının nedeninin, real-time PCR yönteminin *S. mutans* gibi spesifik bakterileri saptama yeteneğinin total bakteriyi saptamadan daha yüksek olması nedeniyle olabileceği düşünülmüştür.

Çürük uzaklaştırılmadan önce ve sonra alınan örneklerin real-time PCR yapılarak elde edilen *S. mutans* değerleri sonucu Brix 3000'in çürük uzaklaştırma etkinliğinin daha yüksek bulunmasına rağmen, Brix 3000 ile tedaviden sonra kavitede kalan *S. mutans* miktarı yüksek olmasının nedeninin real-time PCR yönteminin ölü bakterileri ve bakteri kalıntılarını göstermesi ile geleneksel yöntemde daha fazla ve kontrolsüz doku uzaklaştırılmasına bağlı olduğu düşünülmüştür. Diş tedavilerinde kavitede kalan bakteri sayısının azaltılması amacıyla kavite dezenfektanları kullanılmaktadır [206,229,230]. Bu bilgiden yola çıkarak Brix 3000 ile çürük uzaklaştırma sonrası kavite dezenfektanları kullanılarak kavitede kalan bakterilerin uzaklaştırılmasının sağlanabileceği düşünülmüştür.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanı Brix 3000 ile geleneksel yöntemin çürük uzaklaştırma etkinliklerinin DIAGNOdent Pen, çürük tespit boyası, mikrobiyal kültür ve real-time PCR ile karşılaştırıldığı çalışmamızda;

- Geleneksel yöntem ve Brix 3000'de çürük uzaklaştırma sonrasında DIAGNOdent Pen ile ölçülen değerler, çürük uzaklaştırma öncesi değerlerden istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

- DIAGNOdent Pen ile ölçülen tedavi öncesi ve sonrası arasındaki değişim değerleri açısından geleneksel yöntem ve Brix 3000 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0,05$). Ancak çalışmamızda, çürüksüz kabul edilen 0-13 arası değerlerin çoğunlukla geleneksel yöntemde olduğu, rezidüel çürük varlığı olarak kabul edilen 14 ve üzeri değerlerin çoğunlukla Brix 3000 grubunda olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle Brix 3000'in çürük uzaklaştırma etkinliği geleneksel yöntemden daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

- Geleneksel yöntem ve Brix 3000 ile çürük uzaklaştırma sonrasında kavitelerin çürük tespit boyası ile boyanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuş ve geleneksel yöntemle çürük uzaklaştırma sonrası boyanma olan dişlerin oranı, Brix 3000'e göre daha az bulunmuştur ($p<0,05$).

- Çürük uzaklaştırma sonrası ölçülen DIAGNOdent Pen değerleri ile çürük tespit boyasıyla boyanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0,05$).

- Brix 3000 ve geleneksel yöntem ile çürük uzaklaştırıldıktan sonra alınan örneklerin mikrobiyal kültür sonucunda elde edilen *S. mutans* ve total bakteri değerleri, çürük uzaklaştırılmadan önce alınan örneklerin değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

- Çürük uzaklaştırılmadan önce ve sonra alınan örneklerin mikrobiyal kültür sonucu elde edilen *S. mutans* ve total bakteri değerlerinin azalma miktarları geleneksel yöntem ile Brix 3000'de istatistiksel olarak anlamlı fark göstermemiştir ($p>0,05$).

- Geleneksel yöntem ile çürük uzaklaştırıldıktan sonra alınan örneklerin real-time PCR sonucunda elde edilen *S. mutans* ve total bakteri değerleri, çürük uzaklaştırılmadan önce alınan örneklerin değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

- Brix 3000 ile çürük uzaklaştırıldıktan sonra alınan örneklerin real-time PCR sonucunda elde edilen *S. mutans* değerleri, çürük uzaklaştırılmadan önce alınan örneklerin değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük bulunmuş ($p<0,05$), total bakteri değerlerinde çürük uzaklaştırıldıktan sonra ölçülen değerler çürük uzaklaştırılmadan önce ölçülen değerlerden daha düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

- Çürük uzaklaştırılmadan önce ve sonra alınan örneklerin real-time PCR yapılarak elde edilen *S. mutans* değerlerinin azalma miktarı geleneksel yöntem ile Brix 3000 arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve Brix 3000 ile çürük uzaklaştırıldıktan sonra kavitede kalan *S. mutans* miktarı yüksek olmasına rağmen, Brix 3000'in çürük uzaklaştırma etkinliği daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Total bakteri değerlerine bakıldığında Brix 3000'de anlamlı bir azalma gözlenmediği için etkinliği geleneksel yöntemden düşük bulunmuştur.

Sonuç olarak,

Çalışmamızda kemomekanik çürük uzaklaştırma ajanı Brix 3000'in DIAGNOdent Pen ve çürük tespit boyası ile değerlendirildiğinde çürük uzaklaştırma etkinliğinin geleneksel yöntemden daha düşük bulunmasına rağmen; mikrobiyal kültürle canlı bakteriler üzerine etkisine bakıldığında çürük uzaklaştırma etkinliğinin geleneksel yönteme eşdeğer olduğu bulunmuştur. Real-time PCR ile değerlendirme sonucunda *S. mutans*'ı azaltmada geleneksel yöntemden daha etkili olduğu ancak total bakterileri azaltmada etkinliğinin

düşük olduğu bulunmuştur. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara göre Brix 3000'in çürük uzaklaştırmada etkin bir materyal olduğu ve kavite dezenfektanları kullanıldıktan sonra sızdırmaz bir restorasyon yapılarak başarısının daha yüksek olacağı düşünülmektedir.

Geleneksel yöntemin dezavantajları da göz önüne alındığında; düşük ağrı düzeyi ile birlikte hastanın anksiyetesini artırabilecek durumları elimine eden bir tedavi şansı sunduğu, daha konservatif ve seçici olarak çürük dokuyu uzaklaştırdığı, aynı zamanda sağlıklı dokuları koruyan bir yaklaşım sunduğu için Brix 3000'in geleneksel çürük uzaklaştırma yöntemlerine alternatif olabileceği düşünülmektedir.

Tüm bu faydalar göz önüne alındığında Brix 3000'in, çocuk diş hekimlerinin iyi davranış yönlendirmesiyle birlikte çocuk hastalar üzerinde etkili bir yöntem olabileceği göz ardı edilmemelidir. Çocuk diş hekimliğinde rutin klinik uygulamalardan biri haline gelmesi ve sonuçlarımızın desteklenmesi için daha çok çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Machiulskiene, V., Campus, G., Carvalho, J. C., Dige, I., Ekstrand, K. R., Jablonski-Momeni, A., Maltz, M., Manton, D. J., Martignon, S., and Martinez-Mier, E. A. (2020). Terminology of dental caries and dental caries management: Consensus report of a workshop organized by ORCA and Cariology Research Group of IADR. ***Caries Research Journal***, 54(1), 7-14.

2. Cardoso, M., Coelho, A., Lima, R., Amaro, I., Paula, A., Marto, C. M., Sousa, J., Spagnuolo, G., Marques Ferreira, M., and Carrilho, E. (2020). Efficacy and patient's acceptance of alternative methods for caries removal - a systematic review. ***Journal of Clinical Medicine***, 9(11), 1-28.

3. Banerjee, A., Frencken, J., Schwendicke, F., and Innes, N. (2017). Contemporary operative caries management: consensus recommendations on minimally invasive caries removal. ***British Dental Journal***, 223(3), 215-222.

4. Schwendicke, F., Frencken, J. E., Bjørndal, L., Maltz, M., Manton, D. J., Ricketts, D., Van Landuyt, K., Banerjee, A., Campus, G., and Doméjean, S. (2016). Managing carious lesions: consensus recommendations on carious tissue removal. ***Advances in Dental Research***, 28(2), 58-67.

5. World Health Organization. (2017). ***Sugars and Dental Caries***. WHO, 17.12. Geneva. 1-4.

6. Prabhakar, A., Lokeshwari, M., Naik, S. V., and Yavagal, C. (2018). Efficacy of caries removal by Carie-Care and Erbium-doped Yttrium Aluminum Garnet Laser in primary molars: A scanning electron microscope study. ***International Journal of Clinical Pediatric Dentistry***, 11(4), 323-329.

7. Asal, M. A., Abdellatif, A. M., and Hammouda, H. E. (2021). Clinical and microbiological assessment of Carisolv and Polymer Bur for selective caries removal in primary molars. ***International Journal of Clinical Pediatric Dentistry***, 14(3), 357-363.

8. Kathuria, V., Ankola, A. V., Hebbal, M., and Mocherla, M. (2013). Carisolv - an innovative method of caries removal. ***Journal of Clinical and Diagnostic Research***, 7(12), 3111-3115.

9. Senthilkumar, V., and Ramesh, S. (2020). Systematic review on alternative methods for caries removal in permanent teeth. ***Journal of Conservative Dentistry***, 23(1), 2-9.

10. Desai, H., Stewart, C. A., and Finer, Y. (2021). Minimally invasive therapies for the management of dental caries - a literature review. ***Dentistry Journal***, 9(12), 147-174.

11. Frencken, J. E., Peters, M. C., Manton, D. J., Leal, S. C., Gordan, V. V., and Eden, E. (2012). Minimal intervention dentistry for managing dental caries–a review: report of a FDI task group. ***International Dental Journal***, 62(5), 223-243.

12. Jingarwar, M., Bajwa, N., and Pathak, A. (2014). Minimal intervention dentistry–a new frontier in clinical dentistry. ***Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR***, 8(7), 4-8.

13. Alkhouli, M. M., Al Nesser, S. F., Bshara, N. G., Al Midani, A. N., and Comisi, J. C. (2020). Comparing the efficacies of two chemomechanical caries removal agents (%2.25 sodium hypochlorite gel and Brix 3000), in caries removal and patient cooperation: A randomized controlled clinical trial. ***Journal of Dentistry***, 93(3), 1-5.

14. Inamdar, M. S., Chole, D. G., Bakle, S. S., Gandhi, N. P., Hatte, N. R., and Rao, M. P. (2020). Comparative evaluation of Brix 3000, Carie Care, and Smart Burs in caries excavation: An in vivo study. ***Journal of Conservative Dentistry***, 23(2), 163-168.

15. Santos, T. M. L., Bresciani, E., Matos, F. d. S., Camargo, S. E. A., Hidalgo, A. P. T., Rivera, L. M. L., Bernardino, I. d. M., and Paranhos, L. R. (2020). Comparison between conventional and chemomechanical approaches for the removal of carious dentin: An in vitro study. ***Scientific Reports***, 10(1), 1-10.

16. Donmez, N., Kazak, M., Kaynar, Z. B., and Sesen Uslu, Y. (2022). Examination of caries-affected dentin and composite-resin interface after different caries removal methods: A scanning electron microscope study. ***Microscopy Research and Technique***, 85(6), 2212-2221.

17. Javaheri, M., Maleki-Kambakhsh, S., and Etemad-Moghadam, S. (2010). Efficacy of two caries detector dyes in the diagnosis of dental caries. ***Journal of Dentistry***, 7(2), 71-76.

18. Neves, A. d. A., Coutinho, E., De Munck, J., and Van Meerbeek, B. (2011). Caries-removal effectiveness and minimal-invasiveness potential of caries-excavation techniques: A micro-CT investigation. ***Journal of Dentistry***, 39(2), 154-162.

19. Lennon, A., Buchalla, W., Switalski, L., and Stookey, G. (2002). Residual caries detection using visible fluorescence. ***Caries Research Journal***, 36(5), 315-319.

20. Siddaiah, S. B., Thimmegowda, U., and Venkatesh, K. M. (2015). Residual caries detection in children: A systematic review. ***International Journal of Oral Care and Research,*** 3(4), 80-88.

21. Akbari, M., Ahrari, F., and Jafari, M. (2012). A comparative evaluation of DIAGNOdent and caries detector dye in detection of residual caries in prepared cavities. ***Journal of Contemporary Dental Practice***, 13(4), 515-520.

22. Johar, S., Goswami, M., Kumar, G., and Dhillon, J. K. (2019). Caries removal by Er,Cr: YSGG laser and air-rotor handpiece comparison in primary teeth treatment: An in vivo study. ***Laser Therapy***, 28(2), 116-122.

23. Sadasiva, K., Kumar, K. S., Sreeram Rayar, S. S., Unnikrishnan, M., and Kandaswamy, D. (2019). Evaluation of the efficacy of visual, tactile method, caries detector dye, and laser fluorescence in removal of dental caries and confirmation by culture and polymerase chain reaction: An in vivo study. ***Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences***, 11(2), 146-150.

24. Park, K.-J., Voigt, A., Schneider, H., Ziebolz, D., and Haak, R. (2021). Light-based diagnostic methods for the in vivo assessment of initial caries lesions: Laser fluorescence, QLF and OCT. ***Photodiagnosis and Photodynamic Therapy***, 34(102), 1-7.

25. de Paula, A. B., Campos, J. Á. D. B., Diniz, M. B., Hebling, J., and Rodrigues, J. A. (2011). In situ and in vitro comparison of laser fluorescence with visual inspection in detecting occlusal caries lesions. ***Lasers in Medical Science***, 26(1), 1-5.

26. Wade, W. G. (2013). The oral microbiome in health and disease. ***Pharmacological Research***, 69(1), 137-143.

27. Guo, L., and Shi, W. (2013). Salivary biomarkers for caries risk assessment. ***Journal of The California Dental Association***, 41(2), 107-118.

28. Nyvad, B., Crielaard, W., Mira, A., Takahashi, N., and Beighton, D. (2013). Dental caries from a molecular microbiological perspective. ***Caries Research Journal***, 47(2), 89-102.

29. Mullis, K. B., and Faloona, F. A. (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction, ***Methods in Enzymology*** (First edition). Netherlands: Elsevier, 335-350.

30. Valones, M. A. A., Guimarães, R. L., Brandão, L. A. C., Souza, P. R. E. d., Carvalho, A. d. A. T., and Crovela, S. (2009). Principles and applications of polymerase chain reaction in medical diagnostic fields: A review. ***Brazilian Journal of Microbiology***, 40(1), 1-11.

31. Harshitha, R., and Arunraj, D. R. (2021). Real-time quantitative PCR: A tool for absolute and relative quantification. ***Biochemistry and Molecular Biology Education***, 49(5), 800-812.

32. Peterson, S. N., Snesrud, E., Schork, N. J., and Bretz, W. A. (2011). Dental caries pathogenicity: A genomic and metagenomic perspective. ***International Dental Journal***, 61(1), 11-22.

33. Gupta, S., Singh, C., Ramakrishna, Y., Chaudhry, K., Munshi, A. K., Gupta, S., Singh, C., Yeluri, R., Chaudhry, K., and Munshi, A. K. (2013). Clinical and microbiological evaluation of the carious dentin before and after application of Papacarie gel. ***Journal of Clinical Pediatric Dentistry***, 38(2), 133-138.

34. Garcia-Contreras, R., Scougall-Vilchis, R. J., Contreras-Bulnes, R., Sakagami, H., Morales-Luckie, R. A., and Nakajima, H. (2014). A comparative in vitro efficacy of conventional rotatory and chemomechanical caries removal: Influence on cariogenic flora, microhardness, and residual composition. ***Journal of Conservative Dentistry***, 17(6), 536-540.

35. Hassan, A. F., Yadav, G., Tripathi, A. M., Mehrotra, M., Saha, S., and Garg, N. (2016). A comparative evaluation of the efficacy of different caries excavation techniques in reducing the cariogenic flora: An in vivo study. ***International Journal of Clinical Pediatric Dentistry***, 9(3), 214-217.

36. Moimaz, S. A. S., Okamura, A. Q. C., Lima, D. C., Saliba, T. A., and Saliba, N. A. (2019). Clinical and microbiological analysis of mechanical and chemomechanical methods of caries removal in deciduous teeth. ***Oral Health and Preventive Dentistry***, 17(3), 283-288.

37. Strużycka, I. (2014). The oral microbiome in dental caries. ***Polish Journal of Microbiology***, 63(2), 127-135.

38. Zhang, Y., Wang, X., Li, H., Ni, C., Du, Z., and Yan, F. (2018). Human oral microbiota and its modulation for oral health. ***Biomedicine and Pharmacotherapy***, 99(18), 883-893.

39. Duangthip, D., Chen, K. J., Gao, S. S., Lo, E. C. M., and Chu, C. H. (2017). Managing early childhood caries with atraumatic restorative treatment and topical silver and fluoride agents. ***International Journal of Environmental Research and Public Health***, 14(10), 1204-1217.

40. Seow, W. K. (2018). Early childhood caries. ***Pediatric Clinics of North America***, 65(5), 941-954.

41. Pitts, N. B., Baez, R. J., Diaz-Guillory, C., Donly, K. J., Feldens, C. A., McGrath, C., Phantumvanit, P., Seow, W. K., Sharkov, N., and Songpaisan, Y. (2019). Early childhood caries: IAPD Bangkok declaration. ***Journal of Dentistry for Children (Chicago, Ill.)***, 86(2), 72-73.

42. American Academy of Pediatric Dentistry. (2020). Policy on early childhood caries (ECC): Classifications, consequences, and preventive strategies. ***The Reference Manual of Pediatric Dentistry***. Chicago, III: 79-81.

43. Selwitz, R. H., Ismail, A. I., and Pitts, N. B. (2007). Dental caries. ***The Lancet***, 369(9), 51-59.

44. Philip, N., Suneja, B., and Walsh, L. J. (2018). Ecological approaches to dental caries prevention: paradigm shift or shibboleth? ***Caries Research Journal***, 52(1-2), 153-165.

45. Pitts, N. B., Zero, D. T., Marsh, P. D., Ekstrand, K., Weintraub, J. A., Ramos-Gomez, F., Tagami, J., Twetman, S., Tsakos, G., and Ismail, A. (2017). Dental caries. ***Nature Reviews Disease Primers***, 3(1), 1-16.

46. Pitts, N., and Zero, D. (2016). White paper on dental caries prevention and management. ***FDI World Dental Federation***, 3-9.

47. Featherstone, J. (2004). The continuum of dental caries - evidence for a dynamic disease process. ***Journal of Dental Research***, 83(1), 39-42.

48. Hicks, J., Garcia-Godoy, F., and Flaitz, C. (2004). Biological factors in dental caries: role of remineralization and fluoride in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 3). ***Journal of Clinical Pediatric Dentistry***, 28(3), 203-214.

49. Somani, R., Chaudhary, R., Jaidka, S., and Singh, D. J. (2019). Comparative microbiological evaluation after caries removal by various burs. ***International Journal of Clinical Pediatric Dentistry***, 12(6), 524-527.

50. Hamama, H., Yiu, C., and Burrow, M. (2014). Current update of chemomechanical caries removal methods. ***Australian Dental Journal***, 59(4), 446-456.

51. Banas, J. A., and Drake, D. R. (2018). Are the mutans streptococci still considered relevant to understanding the microbial etiology of dental caries? ***BMC Oral Health***, 18(1), 1-8.

52. Forssten, S. D., Björklund, M., and Ouwehand, A. C. (2010). Streptococcus mutans, caries and simulation models. ***Nutrients***, 2(3), 290-298.

53. Bowen, W. (2016). Dental caries–not just holes in teeth! A perspective. ***Molecular Oral Microbiology***, 31(3), 228-233.

54. Giacaman, R. A., Muñoz-Sandoval, C., Neuhaus, K., Fontana, M., and Chałas, R. (2018). Evidence-based strategies for the minimally invasive treatment of carious lesions: Review of the literature. ***Advances in Clinical and Experimental Medicine***, 27(7), 1009-1016.

55. Stephan, R. M. (1944). Intra-oral hydrogen-ion concentrations associated with dental caries activity. ***Journal of Dental Research***, 23(4), 257-266.

56. Lederberg, J., and McCray, A. T. (2001). Ome SweetOmics - A genealogical treasury of words. ***The Scientist***, 15(7), 8-8.

57. Mosaddad, S. A., Tahmasebi, E., Yazdanian, A., Rezvani, M. B., Seifalian, A., Yazdanian, M., and Tebyanian, H. (2019). Oral microbial biofilms: an update. ***European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases***, 38(11), 2005-2019.

58. Chen, X., Daliri, E. B.-M., Kim, N., Kim, J.-R., Yoo, D., and Oh, D.-H. (2020). Microbial etiology and prevention of dental caries: exploiting natural products to inhibit cariogenic biofilms. ***Pathogens***, 9(7), 569-585.

59. Yang, S., Zhang, J., Yang, R., and Xu, X. (2021). Small molecule compounds, a novel strategy against Streptococcus mutans. ***Pathogens***, 10(12), 1540-1556.

60. Ling, Z., Kong, J., Jia, P., Wei, C., Wang, Y., Pan, Z., Huang, W., Li, L., Chen, H., and Xiang, C. (2010). Analysis of oral microbiota in children with dental caries by PCR-DGGE and barcoded pyrosequencing. ***Microbial Ecology***, 60(3), 677-690.

61. Abranches, J., Zeng, L., Kajfasz, J. K., Palmer, S., Chakraborty, B., Wen, Z., Richards, V. P., Brady, L. J., and Lemos, J. A. (2018). Biology of oral streptococci. ***Microbiology Spectrum***, 6(5), 1-18.

62. Clarke, J. K. (1924). On the bacterial factor in the aetiology of dental caries. ***British Journal of Experimental Pathology***, 5(3), 141-147.

63. Lemos, J., Palmer, S., Zeng, L., Wen, Z., Kajfasz, J., Freires, I., Abranches, J., and Brady, L. (2019). The biology of Streptococcus mutans. ***Microbiology Spectrum***, 7(1), 1-26.

64. Nakano, K., and Ooshima, T. (2009). Serotype classification of Streptococcus mutans and its detection outside the oral cavity. ***Future Microbiology***, 4(7), 891-902.

65. Loesche, W. J. (1986). Role of Streptococcus mutans in human dental decay. ***Microbiological Reviews***, 50(4), 353-380.

66. Cui, T., Luo, W., Xu, L., Yang, B., Zhao, W., and Cang, H. (2019). Progress of antimicrobial discovery against the major cariogenic pathogen Streptococcus mutans. ***Current Issues in Molecular Biology***, 32(1), 601-644.

67. Baker, J., Faustoferri, R., and Quivey Jr, R. (2017). Acid-adaptive mechanisms of Streptococcus mutans–the more we know, the more we don't. ***Molecular Oral Microbiology***, 32(2), 107-117.

68. Karpiński, T. M., and Szkaradkiewicz, A. K. (2013). Microbiology of dental caries. ***Journal of Biology and Earth Sciences***, 3(1), 21-24.

69. Klein, M. I., Hwang, G., Santos, P. H., Campanella, O. H., and Koo, H. (2015). Streptococcus mutans-derived extracellular matrix in cariogenic oral biofilms. ***Frontiers in Cellular and Infection Microbiology***, 5(10), 1-8.

70. Banerjee, A., Watson, T., and Kidd, E. (2000). Dentine caries excavation: A review of current clinical techniques. ***British Dental Journal***, 188(9), 476-482.

71. Yip, H., and Samaranayake, L. (1998). Caries removal techniques and instrumentation: A review. ***Clinical Oral Investigations***, 2(4), 148-154.

72. Siegel, S. C., and Von Fraunhofer, J. A. (1998). Dental cutting: the historical development of diamond burs. ***The Journal of the American Dental Association***, 129(6), 740-745.

73. de Almeida Neves, A., Coutinho, E., Vivan Cardoso, M., Lambrechts, P., and Van Meerbeek, B. (2011). Current concepts and techniques for caries excavation and adhesion to residual dentin. ***Journal of Adhesive Dentistry***, 13(1), 7-22.

74. Neves, A. d. A., Coutinho, E., Cardoso, M. V., De Munck, J., and Van Meerbeek, B. (2011). Micro-tensile bond strength and interfacial characterization of an adhesive bonded to dentin prepared by contemporary caries-excavation techniques. ***Dental Materials***, 27(6), 552-562.

75. Venkataraghavan, K., Kush, A., Lakshminarayana, C., Diwakar, L., Ravikumar, P., Patil, S., and Karthik, S. (2013). Chemomechanical Caries Removal: A Review and Study of an Indigenously Developed Agent (Carie Care TM Gel) In Children. ***Journal of International Oral Health: JIOH***, 5(4), 84-90.

76. Tan, M. H., Hill, R. G., and Anderson, P. (2015). Comparing the air abrasion cutting efficacy of dentine using a fluoride-containing bioactive glass versus an alumina abrasive: An in vitro study. ***International Journal of Dentistry***, 2015(1), 1-8.

77. Zach, L. (1965). Pulp response to externally applied heat. ***Oral surgery, Oral medicine, Oral pathology and Oral Radiology***, 19(4), 515-530.

78. Decup, F., and Lasfargues, J. (2014). Minimal intervention dentistry II: part 4. Minimal intervention techniques of preparation and adhesive restorations. The contribution of the sono-abrasive techniques. ***British Dental Journal***, 216(7), 393-400.

79. Boston, D. W. (2003). New device for selective dentin caries removal. ***Quintessence International***, 34(9), 678-685.

80. Isik, E. E., Ölmez, A., Akca, G., and Sultan, N. (2010). A microbiological assessment of polymer and conventional carbide burs in caries removal. ***Pediatric Dentistry Journal***, 32(4), 316-323.

81. Schwendicke, F., Leal, S., Schlattmann, P., Paris, S., Ribeiro, A. P. D., Marques, M. G., and Hilgert, L. A. (2018). Selective carious tissue removal using subjective criteria or polymer bur: study protocol for a randomised controlled trial (SelecCT). ***British Medical Journal Open***, 8(12), 1-7.

82. Dammaschke, T., Vesnić, A., and Schäfer, E. (2008). In vitro comparison of ceramic burs and conventional tungsten carbide bud burs in dentin caries excavation. ***Quintessence International***, 39(6), 495-499.

83. Celiberti, P., Francescut, P., and Lussi, A. (2006). Performance of four dentine excavation methods in deciduous teeth. ***Caries Research Journal***, 40(2), 117-123.

84. American Academy of Pediatric Dentistry. (2018). Pediatric restorative dentistry. ***Pediatric Dentistry Journal***, 39(5), 146-159.

85. American Academy of Pediatric Dentistry. (2021). Policy on interim therapeutic restorations (ITR). ***The Reference Manual of Pediatric Dentistry.*** Chicago, III: 74-75.

86. Milly, H., Austin, R., Thompson, I., and Banerjee, A. (2014). In vitro effect of air-abrasion operating parameters on dynamic cutting characteristics of alumina and bioactive glass powders. ***Operative Dentistry***, 39(1), 81-89.

87. Neuhaus, K. W., Ciucchi, P., Donnet, M., and Lussi, A. (2010). Removal of enamel caries with an air abrasion powder. ***Operative Dentistry***, 35(5), 538-546.

88. Banerjee, A., Thompson, I., and Watson, T. (2011). Minimally invasive caries removal using bio-active glass air-abrasion. ***Journal of Dentistry***, 39(1), 2-7.

89. Graumann, S. J., Sensat, M. L., and Stoltenberg, J. L. (2013). Air polishing: A review of current literature. ***American Dental Hygienists' Association***, 87(4), 173-180.

90. Nielsen, A. G., Richards, J. R., and Wolcott, R. B. (1955). Ultrasonic dental cutting instrument: I. ***The Journal of the American Dental Association***, 50(4), 392-399.

91. Banerjee, A. (2013). Minimal intervention dentistry: part 7. Minimally invasive operative caries management: Rationale and techniques. ***British Dental Journal***, 214(3), 107-111.

92. Ntovas, P., Doukoudakis, S., Tzoutzas, J., and Lagouvardos, P. (2017). Evidence provided for the use of oscillating instruments in restorative dentistry: A systematic review. ***European Journal of Dentistry***, 11(2), 268-273.

93. Montedori, A., Abraha, I., Orso, M., D'Errico, P. G., Pagano, S., and Lombardo, G. (2016). Lasers for caries removal in deciduous and permanent teeth. ***Cochrane Database of Systematic Reviews***, 9(2016), 1-53.

94. Valério, R. A., Borsatto, M. C., Serra, M. C., Polizeli, S. A. F., Nemezio, M. A., Galo, R., Aires, C. P., Dos Santos, A. C., and Corona, S. A. M. (2016). Caries removal in deciduous teeth using an Er: YAG laser: A randomized split-mouth clinical trial. ***Clinical Oral Investigations***, 20(1), 65-73.

95. Yip, H., Stevenson, A., and Beeley, J. (1995). An improved reagent for chemomechanical caries removal in permanent and deciduous teeth: An in vitro study. ***Journal of Dentistry***, 23(4), 197-204.

96. Dogra, M., Gupta, M. P., Sheikh, T., Nirmala, H., Bhardwaj, A., and Juntavee, A. (2021). Stop drill, make a change: An in vivo study. ***International Journal of Clinical Pediatric Dentistry***, 14(2), 258-262.

97. Schwendicke, F. (2018). Caries removal in primary teeth using Papacarie. ***Evidence-Based Dentistry***, 19(3), 74-75.

98. Beeley, J., Yip, H., and Stevenson, A. (2000). Chemochemical caries removal: A review of the techniques and latest developments. ***British Dental Journal***, 188(8), 427-430.

99. Goldman, M., and Kronman, J. H. (1976). A preliminary report on a chemomechanical means of removing caries. ***The Journal of the American Dental Association***, 93(6), 1149-1153.

100. Maragakis, G. M., Hahn, P., and Hellwig, E. (2001). Chemomechanical caries removal: A comprehensive review of the literature. ***International Dental Journal***, 51(4), 291-299.

101. Kurosaki, N., Sato, Y., Iwaku, M., and Fusayama, T. (1977). Effect of a carious dentin softener on the dentin and pulp. ***The Journal of Prosthetic Dentistry***, 38(2), 169-173.

102. Schutzrank, S., Galaini, J., Kronman, J., Goldman, M., and Clark, R. (1978). A comparative in vitro study of GK-101 and GK-101E in caries removal. ***Journal of Dental Research***, 57(9-10), 861-864.

103. Bohari, M. R., Chunawalla, Y. K., and Ahmed, B. (2012). Clinical evaluation of caries removal in primary teeth using conventional, chemomechanical and laser technique: an in vivo study. ***Journal of Contemporary Dental Practice***, 13(1), 40-47.

104. Bussadori, S. K., Castro, L. C., and Galvão, A. C. (2005). Papain gel: A new chemo-mechanical caries removal agent. ***The Journal of Clinical Pediatric Dentistry***, 30(2), 115-119.

105. Sontakke, P., Jain, P., Patil, A. D., Biswas, G., Yadav, P., Makkar, D. K., Jeph, V., and Sakina, B. P. (2019). A comparative study of the clinical efficiency of chemomechanical caries removal using Carie-Care gel for permanent teeth of children of age group of 12–15 years with that of conventional drilling method: A randomized controlled trial. ***Dental Research Journal***, 16(1), 42-46.

106. Rajakumar, S., Mungara, J., Joseph, E., Philip, J., Guptha, V., and Mangalan Pally, S. (2013). Evaluation of three different caries removal techniques in children: a comparative clinical study. ***Journal of Clinical Pediatric Dentistry***, 38(1), 23-26.

107. Juntavee, A., Peerapattana, J., Ratanathongkam, A., Nualkaew, N., Chatchiwiwattana, S., and Treesuwan, P. (2014). The antibacterial effects of Apacaries gel on Streptococcus mutans: An in vitro study. ***International Journal of Clinical Pediatric Dentistry***, 7(2), 77-81.

108. Matsumoto, M., Hamada, S., and Ooshima, T. (2003). Molecular analysis of the inhibitory effects of oolong tea polyphenols on glucan-binding domain of recombinant glucosyltransferases from Streptococcus mutans MT8148. ***FEMS Microbiology Letters***, 228(1), 73-80.

109. Clementino-Luedemann, T. N., Ilie, A. D. N., Hickel, R., and Kunzelmann, K.-H. (2006). Micro-computed tomographic evaluation of a new enzyme solution for caries removal in deciduous teeth. ***Dental Materials Journal***, 25(4), 675-683.

110. Bratu, D. C., Nikolajevic-Stoican, N., Popa, G., Pop, S. I., Dragoș, B., and Luca, M.-M. (2022). A bibliometric analysis (2010–2020) of the dental scientific literature on chemomechanical methods of caries removal using Carisolv and Brix 3000. ***Medicina***, 58(6), 788-803.

111. Ismail, M. M. M., and Al Haidar, A. H. M. (2019). Evaluation of the efficacy of caries removal using papain gel (Brix 3000) and smart preparation bur (in vivo comparative study). ***Journal of Pharmaceutical Sciences and Research***, 11(2), 444-449.

112. Gupta, N., Chowdhary, N., Reddy, V. R., Kiran, N., Peddi, R., and Kumar, M. (2022). Evaluation of caries removal efficacy using Brix 3000 and atraumatic restorative treatment in primary molars: A clinical comparative study. ***The Journal of Contemporary Dental Practice***, 23(4), 419-424.

113. Ismail, M. M., and Haidar, A. H. (2019). Impact of Brix 3000 and conventional restorative treatment on pain reaction during caries removal among group of children in Baghdad city. ***Journal of Baghdad College of Dentistry***, 31(2), 7-13.

114. Guedes, F.-R., de Souza, G.-L., Paranhos, L.-R., and Turrioni, A.-P. (2021). Cytotoxicity and dentin composition alterations promoted by different chemomechanical caries removal agents: A preliminary in vitro study. ***Journal of Clinical and Experimental Dentistry***, 13(8), 826-834.

115. Srinath, A. T. M. C. H., Sarakanuru, K., and Kothari, P. S. N. R. (2021). Scanning electron microscopic evaluation of residual dentin surface in primary teeth after using two chemomechanical caries removal agents: An in vitro study. ***Journal of Pediatric Dentistry***, 7(2), 49-57.

116. Vural, U. K., Kütük, Z. B., Ergin, E., Çakır, F. Y., and Gürgan, S. (2017). Comparison of two different methods of detecting residual caries. ***Restorative Dentistry and Endodontics***, 42(1), 48-53.

117. Pretty, I., and Ellwood, R. (2013). The caries continuum: Opportunities to detect, treat and monitor the re-mineralization of early caries lesions. ***Journal of Dentistry***, 41(2013), 12-21.

118. Gomez, J. (2015). Detection and diagnosis of the early caries lesion. ***BMC Oral Health***, 15(1), 1-7.

119. Walsh, T., Macey, R., Riley, P., Glenny, A.-M., Schwendicke, F., Worthington, H. V., Clarkson, J. E., Ricketts, D., Su, T.-L., and Sengupta, A. (2021). Imaging modalities to inform the detection and diagnosis of early caries. ***Cochrane Database of Systematic Reviews***, 3(2021), 145-168.

120. Unlu, N., Ermis, R. B., Sener, S., Kucukyilmaz, E., and Cetin, A. R. (2010). An in vitro comparison of different diagnostic methods in detection of residual dentinal caries. ***International Journal of Dentistry***, 4(2010), 1-8.

121. Pretty, I., and Ekstrand, K. (2016). Detection and monitoring of early caries lesions: A review. ***European Archives of Paediatric Dentistry***, 17(1), 13-25.

122. Fusayama, T., and Terashima, S. (1972). Differentiation of two layers of carious dentin by staining. ***The Bulletin of Tokyo Medical and Dental University***, 19(1), 83-92.

123. Kobayashi, M., Inagaki, R., Ichikawa, K., Niizuma, Y., Morisaki, H., Kuwata, H., Manabe, A., and Miyazaki, T. (2019). Effect of kinematic viscosity on the staining performance of caries detector dyes. ***Dental Materials Journal***, 38(1), 120-126.

124. Iwami, Y., Hayashi, N., Yamamoto, H., Hayashi, M., Takeshige, F., and Ebisu, S. (2007). Evaluating the objectivity of caries removal with a caries detector dye using color evaluation and PCR. ***Journal of Dentistry***, 35(9), 749-754.

125. Macey, R., Walsh, T., Riley, P., Hogan, R., Glenny, A.-M., Worthington, H. V., Clarkson, J. E., and Ricketts, D. (2021). Transillumination and optical coherence tomography for the detection and diagnosis of enamel caries. ***Cochrane Database of Systematic Reviews***, 1(2021), 1-24.

126. Rosa, M. I., Schambeck, V. S., Dondossola, E. R., Alexandre, M. C., Tuon, L., Grande, A. J., and Hugo, F. (2016). Laser fluorescence of caries detection in permanent teeth in vitro: A systematic review and meta-analysis. ***Journal of Evidence-Based Medicine***, 9(4), 213-224.

127. Rodrigues, J., Hug, I., Diniz, M., and Lussi, A. (2008). Performance of fluorescence methods, radiographic examination and ICDAS II on occlusal surfaces in vitro. ***Caries Research Journal***, 42(4), 297-304.

128. De Benedetto, M. S., Morais, C. C., Novaes, T. F., de Almeida Rodrigues, J., Braga, M. M., and Mendes, F. M. (2011). Comparing the reliability of a new fluorescence camera with conventional laser fluorescence devices in detecting caries lesions in occlusal and smooth surfaces of primary teeth. ***Lasers in Medical Science***, 26(2), 157-162.

129. Lussi, A., and Hellwig, E. (2006). Performance of a new laser fluorescence device for the detection of occlusal caries in vitro. ***Journal of Dentistry***, 34(7), 467-471.

130. Lussi, A., Megert, B., Longbottom, C., Reich, E., and Francescut, P. (2001). Clinical performance of a laser fluorescence device for detection of occlusal caries lesions. ***European Journal of Oral Sciences***, 109(1), 14-19.

131. Tassery, H., Levallois, B., Terrer, E., Manton, D., Otsuki, M., Koubi, S., Gugnani, N., Panayotov, I., Jacquot, B., and Cuisinier, F. (2013). Use of new minimum intervention dentistry technologies in caries management. ***Australian Dental Journal***, 58(1), 40-59.

132. Yazici, A. R., Baseren, M., and Gokalp, S. (2005). The in vitro performance of laser fluorescence and caries-detector dye for detecting residual carious dentin during tooth preparation. ***Quintessence International***, 36(6), 417-422.

133. Gurbuz, T., Yilmaz, Y., and Sengul, F. (2008). Performance of laser fluorescence for residual caries detection in primary teeth. ***European Journal of Dentistry***, 2(3), 176-184.

134. Lee, J.-W., Lee, E.-S., and Kim, B.-I. (2019). Can red fluorescence be useful in diagnostic decision making of residual dentin caries? ***Photodiagnosis and Photodynamic Therapy***, 26(2019), 43-44.

135. Lagier, J.-C., Edouard, S., Pagnier, I., Mediannikov, O., Drancourt, M., and Raoult, D. (2015). Current and past strategies for bacterial culture in clinical microbiology. ***Clinical Microbiology Reviews***, 28(1), 208-236.

136. Simón-Soro, A., Guillen-Navarro, M., and Mira, A. (2014). Metatranscriptomics reveals overall active bacterial composition in caries lesions. ***Journal of Oral Microbiology***, 6(1), 1-6.

137. Austin, B. (2017). The value of cultures to modern microbiology. ***Antonie Van Leeuwenhoek***, 110(10), 1247-1256.

138. Kulkarni, G., Rane, D. C., and Mishra, V. K. (2016). Comparison of the Efficacy of Chemomechanical Caries Removal (Papacarie-A Papain Gel) and Conventional Excavation in Reducing Cariogenic Flora: An In Vivo Study. ***Journal of International Oral Health***, 8(5), 564-568.

139. Kroes, I., Lepp, P. W., and Relman, D. A. (1999). Bacterial diversity within the human subgingival crevice. ***Proceedings of the National Academy of Sciences***, 96(25), 147-152.

140. Lochman, J., Zapletalova, M., Poskerova, H., Izakovicova Holla, L., and Borilova Linhartova, P. (2019). Rapid multiplex real-time PCR method for the detection and quantification of selected cariogenic and periodontal bacteria. ***Diagnostics***, 10(1), 8-22.

141. Cseke, L. J., Kirakosyan, A., Kaufman, P. B., and Westfall, M. V. (Eds). (2011). Real-time PCR and qRT-PCR Methodologies. ***Handbook of molecular and cellular methods in biology and medicine.*** Florida: CRC press, 187-197.

142. Lorenz, T. C. (2012). Polymerase chain reaction: Basic protocol plus troubleshooting and optimization strategies. ***Journal of Visualized Experiments***, 63(2022), 1-15.

143. Araújo, P. V., de Fátima Correia-Silva, J., Gomez, R. S., de Andrade Massara, M. d. L., Cortes, M. E., and de Abreu Poletto, L. T. (2015). Antimicrobial effect of photodynamic therapy in carious lesions in vivo, using culture and real-time PCR methods. ***Photodiagnosis and Photodynamic Therapy***, 12(3), 401-407.

144. Baraba, A., Kqiku, L., Gabric, D., Verzak, Z., Hanscho, K., and Miletić, I. (2018). Efficacy of removal of cariogenic bacteria and carious dentin by ablation using different modes of Er: YAG lasers. ***Brazilian Journal of Medical and Biological Research***, 51(3), 1-6.

145. Krunic, J., Stojanovic, N., Dukic, L., Roganovic, J., Popovic, B., Simic, I., and Stojic, D. (2019). Clinical antibacterial effectiveness and biocompatibility of gaseous ozone after incomplete caries removal. ***Clinical Oral Investigations***, 23(2), 785-792.

146. Sürme, K., Kara, N. B., and Yilmaz, Y. (2020). In vitro evaluation of occlusal caries detection methods in primary and permanent teeth: A comparison of CarieScan PRO, DIAGNOdent Pen, and DIAGNOcam methods. ***Photobiomodulation, Photomedicine, and Laser Surgery***, 38(2), 105-111.

147. Luczaj-Cepowicz, E., Marczuk-Kolada, G., Obidzinska, M., and Sidun, J. (2019). Diagnostic validity of the use of ICDAS II and DIAGNOdent pen verified by micro-computed tomography for the detection of occlusal caries lesions—an in vitro evaluation. ***Lasers in Medical Science***, 34(8), 1655-1663.

148. Minuesa-Garcia, E., Iranzo-Cortes, J. E., Almerich-Torres, T., Bellot-Arcis, C., and Almerich-Silla, J. M. (2022). Diagnostic validity in occlusal caries detection of ICDAS II, DIAGNOdent, radiography and a combination of the three methods: An in vitro study. ***Journal of Clinical Medicine***, 11(10), 1-11.

149. Topping, G., and Pitts, N. (2009). Clinical visual caries detection. ***Monographs in Oral Science*** 21(4), 15-41.

150. Pitts, N. B., Ekstrand, K. R., and Foundation, I. (2013). International caries detection and assessment system (ICDAS) and its International caries classification and management system (ICCMS)–methods for staging of the caries process and enabling dentists to manage caries. ***Community Dentistry and Oral Epidemiology***, 41(1), 41-52.

151. Hildebrandt, G., and Bretz, W. (2006). Comparison of culture media and chairside assays for enumerating mutans streptococci. ***Journal of Applied Microbiology***, 100(6), 1339-1347.

152. Gold, O. G., Jordan, H., and Van Houte, J. (1973). A selective medium for Streptococcus mutans. ***Archives of Oral biology***, 18(11), 1357-1364.

153. Van Loveren, C., Buijs, J., Bokhout, B., Prahl-Andersen, B., and Cate, J. T. (1998). Incidence of mutans streptococci and lactobacilli in oral cleft children wearing acrylic plates from shortly after birth. ***Oral Microbiology and Immunology***, 13(5), 286-291.

154. Maltz, M., Henz, S., De Oliveira, E., and Jardim, J. (2012). Conventional caries removal and sealed caries in permanent teeth: a microbiological evaluation. ***Journal of Dentistry***, 40(9), 776-782.

155. Damé-Teixeira, N., Ev, L. D., Bitello-Firmino, L., Soares, V. K., Dalalba, R. S., Rup, A. G., Maltz, M., and Parolo, C. C. F. (2021). Characterization of Lactobacilli isolated from carious dentin after selective caries removal and cavity sealing. ***Archives of Oral Biology***, 121(2021), 1-9.

156. Vusurumarthi, V., Ballullaya, S. V., Pushpa, S., Veluvarti, V. R. K., Loka, P. R., and Galla, P. K. (2020). Evaluation and comparison of caries excavation efficacy of three different burs: A micro-computed tomographic-assisted study. ***Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry***, 10(2), 213-219.

157. Soni, H., Sharma, A., and Sood, P. (2015). A comparative clinical study of various methods of caries removal in children. ***European Archives of Pediatric Dentistry***, 16(1), 19-26.

158. Frencken, J. E. (2017). Atraumatic restorative treatment and minimal intervention dentistry. ***British Dental Journal***, 223(3), 183-189.

159. Banerjee, A., Kidd, E., and Watson, T. (2000). In vitro evaluation of five alternative methods of carious dentine excavation. ***Caries Research Journal***, 34(2), 144-150.

160. Hegde, V. S., and Khatavkar, R. A. (2010). A new dimension to conservative dentistry: Air abrasion. ***Journal of Conservative Dentistry***, 13(1), 4-8.

161. Hassan, U., Farooq, I., Moheet, I. A., and AlShwaimi, E. (2017). Cutting efficiency of different dental materials utilized in an air abrasion system. ***International Journal of Health Sciences***, 11(4), 23-27.

162. Divya, G., Prasad, M. G., Vasa, A. A. K., Vasanthi, D., Ramanarayana, B., and Mynampati, P. (2015). Evaluation of the efficacy of caries removal using polymer bur, stainless steel bur, Carisolv, Papacarie: An in vitro comparative study. ***Journal of Clinical and Diagnostic Research***, 9(7), 42-46.

163. Maru, V. P., Shakuntala, B., and Nagarathna, C. (2015). Caries removal by chemomechanical (Carisolv™) vs. rotary drill: A systematic review. ***The Open Dentistry Journal***, 9(2015), 462-472.

164. Hegde, R. J., and Chaudhari, S. (2016). Comparative evaluation of mechanical and chemomechanical methods of caries excavation: An in vivo study. ***Journal of International Oral Health***, 8(3), 357-361.

165. Kochhar, G. K., Srivastava, N., Pandit, I., Gugnani, N., and Gupta, M. (2011). An evaluation of different caries removal techniques in primary teeth: A comparative clinical study. ***Journal of Clinical Pediatric Dentistry***, 36(1), 5-10.

166. Hegde, S., Kakti, A., Bolar, D. R., and Bhaskar, S. A. (2016). Clinical efficiency of three caries removal systems: Rotary excavation, Carisolv, and Papacarie. ***Journal of Dentistry for Children***, 83(1), 22-28.

167. Felizardo, K. R., de Alvarenga Barradas, N. P., Guedes, G. F., Ferreira, F. d. C. A., and Lopes, M. B. (2018). Use of Brix-3000 enzymatic gel in mechanical chemical removal of caries: Clinical case report. ***Journal of Health Sciences***, 20(2), 87-93.

168. Balachandran, J., Raees, T., Rao, M., and Jayachandran, C. (2020). Evaluation of efficacy of chemo-mechanical method of caries removal using Brix-3000 compared to conventional excavation with burs: A randomized controlled trial. ***Journal of Indian Dental Association***, 14(6), 12-18.

169. Çınar, Ç., Atabek, D., Odabaş, M. E., and Ölmez, A. (2013). Comparison of laser fluorescence devices for detection of caries in primary teeth. ***International Dental Journal***, 63(2), 97-102.

170. Ismail, A. I., Sohn, W., Tellez, M., Amaya, A., Sen, A., Hasson, H., and Pitts, N. B. (2007). The International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): An integrated system for measuring dental caries. ***Community Dentistry and Oral Epidemiology***, 35(3), 170-178.

171. Neuhaus, K. W., Rodrigues, J. A., Hug, I., Stich, H., and Lussi, A. (2011). Performance of laser fluorescence devices, visual and radiographic examination for the detection of occlusal caries in primary molars. ***Clinical Oral Investigations***, 15(5), 635-641.

172. Teo, T. K.-Y., Ashley, P. F., and Louca, C. (2014). An in vivo and in vitro investigation of the use of ICDAS, DIAGNOdent pen and CarieScan PRO for the detection and assessment of occlusal caries in primary molar teeth. ***Clinical Oral Investigations***, 18(3), 737-744.

173. Lussi, A., Hibst, R., and Paulus, R. (2004). DIAGNOdent: An optical method for caries detection. ***Journal of Dental Research***, 83(1), 80-83.

174. Rodrigues, J. A., Diniz, M. B., Josgrilberg, É. B., and Cordeiro, R. C. (2009). In vitro comparison of laser fluorescence performance with visual examination for detection of occlusal caries in permanent and primary molars. ***Lasers in Medical Science***, 24(4), 501-506.

175. Jablonski-Momeni, A., Ricketts, D. N., Rolfsen, S., Stoll, R., Heinzel-Gutenbrunner, M., Stachniss, V., and Pieper, K. (2011). Performance of laser fluorescence at tooth surface and histological section. ***Lasers in Medical Science***, 26(2), 171-178.

176. Todorova, V., Filipov, I., and Petrova, R. (2020). In vitro comparison of several methods for initial proximal caries detection. ***Folia Medica***, 62(2), 358-364.

177. Ertürk Avunduk, A. T., and Bağlar, S. (2019). Evaluation of microleakage in class v cavities prepared by different caries removal methods. ***Microscopy Research and Technique***, 82(9), 1566-1574.

178. Iranzo-Cortes, J. E., Terzic, S., and Almerich-Silla, J. M. (2017). Diagnostic validity of ICDAS and DIAGNOdent combined: An in vitro study in pre-cavitated lesions. ***Lasers in Medical Science***, 32(3), 543-548.

179. Lussi, A., Hack, A., Hug, I., Heckenberger, H., Megert, B., and Stich, H. (2006). Detection of approximal caries with a new laser fluorescence device. ***Caries Research Journal***, 40(2), 97-103.

180. Rodrigues, J. A., Neuhaus, K. W., Hug, I., Stich, H., Seemann, R., and Lussi, A. (2010). In vitro detection of secondary caries associated with composite restorations on approximal surfaces using laser fluorescence. ***Operative Dentistry***, 35(5), 564-571.

181. Diniz, M., Cordeiro, R., and Ferreira-Zandona, A. (2016). Detection of caries around amalgam restorations on approximal surfaces. ***Operative Dentistry***, 41(1), 34-43.

182. Neuhaus, K., Rodrigues, J., Seemann, R., and Lussi, A. (2012). Detection of proximal secondary caries at cervical class II-amalgam restoration margins in vitro. ***Journal of Dentistry***, 40(6), 493-499.

183. Alsabek, L., Al-Nerabieah, Z., Bshara, N., and Comisi, J. C. (2019). Retention and remineralization effect of moisture tolerant resin-based sealant and glass ionomer sealant on non-cavitated pit and fissure caries: Randomized controlled clinical trial. ***Journal of Dentistry***, 86(2019), 69-74.

184. Meller, C., Heyduck, C., Tranaeus, S., and Splieth, C. (2006). A new in vivo method for measuring caries activity using quantitative light-induced fluorescence. ***Caries Research Journal***, 40(2), 90-96.

185. Achilleos, E.-E., Rahiotis, C., Kakaboura, A., and Vougiouklakis, G. (2013). Evaluation of a new fluorescence-based device in the detection of incipient occlusal caries lesions. ***Lasers in Medical Science***, 28(1), 193-201.

186. Hosoya, Y., Taguchi, T., and Tay, F. (2007). Evaluation of a new caries detecting dye for primary and permanent carious dentin. ***Journal of Dentistry***, 35(2), 137-143.

187. Diniz, M. B., Rodrigues, J. d. A., Paula, A. B. d., and Cordeiro, R. d. C. L. (2009). In vivo evaluation of laser fluorescence performance using different cut-off limits for occlusal caries detection. ***Lasers in Medical Science***, 24(3), 295-300.

188. Kaul, R., Kaul, V., Farooq, R., Wazir, N. D., Khateeb, S. U., Malik, A. H., and Masoodi, A. A. (2014). Cut off values of laser fluorescence for different storage methods at different time intervals in comparison to frozen condition: A 1 year in vitro study. ***Journal of Conservative Dentistry***, 17(2), 124-128.

189. Francescut, P., Zimmerli, B., and Lussi, A. (2006). Influence of different storage methods on laser fluorescence values: a two-year study. ***Caries Research Journal***, 40(3), 181-185.

190. Antina, E., Balantseva, E., and Berezin, M. (2011). Oxidative degradation of porphyrins and metalloporphyrins under polythermal conditions. ***Russian Journal of General Chemistry***, 81(6), 1222-1230.

191. Lussi, A., and Reich, E. (2005). The influence of toothpastes and prophylaxis pastes on fluorescence measurements for caries detection in vitro. ***European journal of Oral Sciences***, 113(2), 141-144.

192. Harorlı, O. T., Barutcigil, Ç., Akgül, N., and Bayındır, Y. Z. (2014). Caries detector dyes: Do they stain only the caries? ***Journal of Restorative Dentistry***, 2(1), 20-26.

193. Ganter, P., Al-Ahmad, A., Wrbas, K.-T., Hellwig, E., and Altenburger, M. J. (2014). The use of computer-assisted FACE for minimal-invasive caries excavation. ***Clinical Oral Investigations***, 18(3), 745-751.

194. Hui, L. E., Thomas, M. S., JaTHanna, V., LEWIS, A. J., and Srikant, N. (2019). Effect of caries detecting dye on microleakage of composite resin restorations bonded with total-etch and self-etch adhesive systems. ***Journal of Clinical and Diagnostic Research***, 13(5), 1-3.

195. Kittur, M., Ghivari, S., and Pujar, M. (2021). Comparative evaluation of efficacy of two minimally invasive caries removal techniques on fracture resistance of the teeth restored with composite: An SEM study. ***Journal of Conservative Dentistry***, 24(2), 204-208.

196. Oommen, S. R., George, L., Mathew, J., RV, V., and Paul, S. (2021). Assessement of pain response during caries removal using conventional tungsten carbide bur and a chemomechanical caries removal agent (Brix gel): An in vivo study. ***Journal of Indian Dental Association***, 15(7), 21-27.

197. Lager, A., Thornqvist, E., and Ericson, D. (2003). Cultivatable bacteria in dentine after caries excavation using rose-bur or carisolv. ***Caries Research Journal***, 37(3), 206-211.

198. Ammari, M. M., Moliterno, L. F. M., Hirata Junior, R., Séllos, M. C., Soviero, V. M., and Coutinho Filho, W. P. (2014). Efficacy of chemomechanical caries removal in reducing cariogenic microbiota: a randomized clinical trial. ***Brazilian Oral Research***, 28(1), 1-6.

199. El-Tekeya, M., El-Habashy, L., Mokhles, N., and El-Kimary, E. (2012). Effectiveness of 2 chemomechanical caries removal methods on residual bacteria in dentin of primary teeth. ***Pediatric Dentistry Journal***, 34(4), 325-330.

200. Goyal, P. A., Kumari, R., Kannan, V., and Madhu, S. (2015). Efficacy and tolerance of papain gel with conventional drilling method: a clinico-microbiological study. ***Journal of Clinical Pediatric Dentistry***, 39(2), 109-112.

201. Modimi, K. V., Siddaiah, S. B., Chikkanarasaiah, N., Rucha, V., Abubakar, S. B., Dinraj, K., and Syed, S. S. (2016). Microbiological assessment of carious dentine using chemomechanical caries removal and conventional hand excavation in primary and permanent teeth: A clinical study. ***Journal of International Oral Health***, 8(7), 760-766.

202. Martin, F. E., Nadkarni, M. A., Jacques, N. A., and Hunter, N. (2002). Quantitative microbiological study of human carious dentine by culture and real-time PCR: Association of anaerobes with histopathological changes in chronic pulpitis. ***Journal of Clinical Microbiology***, 40(5), 1698-1704.

203. Nadkarni, M. A., Martin, F. E., Jacques, N. A., and Hunter, N. (2002). Determination of bacterial load by real-time PCR using a broad-range (universal) probe and primers set. ***Microbiology***, 148(1), 257-266.

204. Pandit, I., Srivastava, N., Gugnani, N., Gupta, M., and Verma, L. (2007). Various methods of caries removal in children: A comparative clinical study. ***Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry***, 25(2), 93-96.

205. Azrak, B., Callaway, A., Grundheber, A., Stender, E., and Willershausen, B. (2004). Comparison of the efficacy of chemomechanical caries removal (Carisolv) with that of conventional excavation in reducing the cariogenic flora. ***International Journal of Paediatric Dentistry***, 14(3), 182-191.

206. Durmus, N., Tok, Y. T., Kaya, S., and Akcay, M. (2019). Effectiveness of the ozone application in two-visit indirect pulp therapy of permanent molars with deep carious lesion: A randomized clinical trial. ***Clinical Oral Investigations***, 23(10), 3789-3799.

207. Orhan, A. I., Oz, F. T., Ozcelik, B., and Orhan, K. (2008). A clinical and microbiological comparative study of deep carious lesion treatment in deciduous and young permanent molars. ***Clinical Oral Investigations***, 12(4), 369-378.

208. Taji, S., and Rogers, A. (1998). The microbial contamination of toothbrushes. A pilot study. ***Australian Dental Journal***, 43(2), 128-130.

209. Svanberg, M., and Krasse, B. (1990). Comparative recovery of mutans streptococci on two selective media. ***Caries Research Journal***, 24(1), 36-38.

210. Motta, L. J., Bussadori, S. K., Campanelli, A. P., Silva, A. L. d., Alfaya, T. A., Godoy, C. H. L. d., and Navarro, M. F. d. L. (2014). Efficacy of Papacarie® in reduction of residual bacteria in deciduous teeth: A randomized, controlled clinical trial. ***Clinics***, 69(5), 319-322.

211. Hamada, S., and Slade, H. D. (1980). Biology, immunology, and cariogenicity of Streptococcus mutans. ***Microbiological Reviews***, 44(2), 331-384.

212. Schaeken, M., Van der Hoeven, J., and Franken, H. (1986). Comparative recovery of Streptococcus mutans on five isolation media, including a new simple selective medium. ***Journal of Dental Research***, 65(6), 906-908.

213. Wade, W., Aldred, M., and Walker, D. (1986). An improved medium for isolation of Streptococcus mutans. ***Journal of Medical Microbiology***, 22(4), 319-323.

214. Wan, A., Seow, W. K., Walsh, L., and Bird, P. (2002). Comparison of five selective media for the growth and enumeration of Streptococcus mutans. ***Australian Dental Journal***, 47(1), 21-26.

215. Almaz, M. E., Sönmez, I. Ş., and Oba, A. A. (2016). Comparison of chemomechanical caries removal using Papacárie versus conventional method in children. ***European Journal of General Dentistry***, 5(1), 1-5.

216. Correa, F., Rocha, R., Soares, F., Rodrigues-Filho, L. E., and Rodrigues, C. Fluorescence of primary dentine after chemomechanical and conventional rotary excavation. ***European Archives of Paediatric Dentistry***, 9(3), 126-129.

217. Krause, F., Braun, A., Eberhard, J., and Jepsen, S. (2007). Laser fluorescence measurements compared to electrical resistance of residual dentine in excavated cavities in vivo. ***Caries Research Journal***, 41(2), 135-140.

218. Neves, A. A., Coutinho, E., De Munck, J., Lambrechts, P., and Van Meerbeek, B. (2011). Does DIAGNOdent provide a reliable caries-removal endpoint? ***Journal of Dentistry***, 39(5), 351-360.

219. Anegundi, R. T., Patil, S. B., Tegginmani, V., and Shetty, S. D. (2012). A comparative microbiological study to assess caries excavation by conventional rotary method and a chemomechanical method. ***Contemporary Clinical Dentistry***, 3(4), 388-392.

220. Deng, Y., Feng, G., Hu, B., Kuang, Y., and Song, J. (2018). Effects of Papacarie on children with dental caries in primary teeth: a systematic review and meta-analysis. ***International Journal of Paediatric Dentistry***, 28(4), 361-372.

221. Banerjee, A., Watson, T., and Kidd, E. (2000). Dentine caries: Take it or leave it? ***Dental Update***, 27(6), 272-276.

222. Kidd, E. (2000). Caries removal and the pulpo-dentinal complex. ***Dental Update***, 27(10), 476-482.

223. Kidd, E., Joyston-Bechal, S., and Beighton, D. (1993). Microbiological validation of assessments of caries activity during cavity preparation. ***Caries Research Journal***, 27(5), 402-408.

224. Kidd, E., Ricketts, D., and Beighton, D. (1996). Criteria for caries removal at the enamel-dentine junction: a clinical and microbiological study. ***British Dental Journal***, 180(8), 287-291.

225. Bjørndal, L., Larsen, T., and Thylstrup, A. (1997). A clinical and microbiological study of deep carious lesions during stepwise excavation using long treatment intervals. ***Caries Research Journal***, 31(6), 411-417.
226. Kidd, E. (2004). How 'clean' must a cavity be before restoration? ***Caries Research Journal***, 38(3), 305-313.

227. Aswathi, K. K., Rani, S. P., Athimuthu, A., Prasanna, P., Patil, P., and Deepali, K. (2017). Comparison of efficacy of caries removal using polymer bur and chemomechanical caries removal agent: A clinical and microbiological assessment-an in vivo study. ***Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry***, 35(1), 6-13.

228. Ali, A., Koller, G., Foschi, F., Andiappan, M., Bruce, K., Banerjee, A., and Mannocci, F. (2018). Self-limiting versus conventional caries removal- a randomized clinical trial. ***Journal of Dental Research***, 97(11), 1207-1213.

229. Joshi, J. S., Roshan, N. M., Sakeenabi, B., Poornima, P., Nagaveni, N., and Subbareddy, V. (2017). Inhibition of residual cariogenic bacteria in atraumatic restorative treatment by chlorhexidine: Disinfection or incorporation. ***Pediatric Dentistry Journal***, 39(4), 308-312.

230. Daood, U., Burrow, M., and Yiu, C. (2020). Effect of a novel quaternary ammonium silane cavity disinfectant on cariogenic biofilm formation. ***Clinical Oral Investigations***, 24(2), 649-661.

EKLER

EK-1. Etik kurul onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 07.10.2021-E.186377

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Diş Hekimliği Fakültesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : E-21071282-050.99-186377
Konu : Etik Kurul

07.10.2021

Sayın Prof. Dr. Ayşegül ÖLMEZ
Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı Başkanlığına

Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna, etik açıdan değerlendirilmek üzere gönderilen "Enzimatik Teknoloji İle Kemomekanik Çürük Uzaklaştırma Yönteminin İn Vitro Olarak Değerlendirilmesi" konulu çalışma, Etik Kurulumuz tarafından incelenmiş ve araştırma etiği açısından uygun bulunmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Önemli Not: Sağlık Bakanlığına başvuruda bulunacak çalışmaların, Kurulumuz tarafından incelenmiş ve onaylanmış **"Değerlendirilen Belgeler"** kısmında belirtilmiş olan **Tarih ve Versiyon/Revizyon numaralarının ve "Karar Bilgileri"** kısmında belirtilmiş olan **karar numarasının** yazılması gerekmektedir. Aksi takdirde Sağlık Bakanlığına teslim edilen belgelerde Tarih ve Versiyon/Revizyon numaralarında uyuşmazlık yaşanmaktadır ve bu nedenle dosyalar reddedilmektedir. Bu konuya önem verilmesi bilgilerinize sunulur.

Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ
Kurul Başkanı

Ek: Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu (3 Sayfa)/Elden Teslim Edilecektir.

Belge Doğrulama Kodu :BSLC48UNFY
Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
Belge Takip Adresi : https://belgedogrulama.gazi.edu.tr/belgedogrulama.aspx

Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Bişkek Cad. No:4 kat 1 Emek/Ankara
Tel:0 (312) 203 40 00 Faks:0 (312) 223 92 26
e-Posta :dhfbilisim@gazi.edu.tr İnternet Adresi :http://dent.gazi.edu.tr
Bilgi için :N. Cihan Ünay
Birim Evrak Sorumlusu
Telefon No:(0312) 203 40 69

EK-1.(devam) Etik kurul onayı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Prof. Dr. Ayşegül ÖLMEZ tarafından gönderilen "Enzimatik Teknoloji İle Kemomekanik Çürük Uzaklaştırma Yönteminin İn Vitro Olarak Değerlendirilmesi" konulu çalışmanın kabulüne,
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Bişkek Caddesi 82.Sokak No:4 E Blok Zemin Kat Çankaya ANKARA
	TELEFON	0312 203 40 69
	FAKS	0312 203 41 39
	E-POSTA	disetikkurul@gazi.edu.tr

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

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı Soyadı: Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ
İmza:

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

EK-1.(devam) Etik kurul onayı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Prof. Dr. Ayşegül ÖLMEZ tarafından gönderilen "Enzimatik Teknoloji İle Kemomekanik Çürük Uzaklaştırma Yönteminin İn Vitro Olarak Değerlendirilmesi" konulu çalışmanın kabulüne,
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	29.09.2021	VERSİYON 1	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	29.09.2021	VERSİYON 1	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	29.09.2021	VERSİYON 1	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	-	-	Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐

	Belge Adı		Açıklama
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	SİGORTA	☐	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒	29.09.2021 – VERSİYON 1
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐	
	İLAN	☐	
	YILLIK BİLDİRİM	☐	
	SONUÇ RAPORU	☐	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐	
	DİĞER:	☐	

KARAR BİLGİLERİ	**Karar No: GÜDHKAEK. 2021.19/4**	**Tarih: 07.10.2021**
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.	

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

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr.Tayfun ALAÇAM	Endodonti	Serbest Üye	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ (Etik Kurul Başkanı)	Çocuk Diş Hekimliği	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Nur MOLLAOĞLU	Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Burcu BALOŞ TUNCER	Ortodonti	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Şebnem GÜLEN	Fizyoloji	Ufuk Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Orhan Mecit ULUDAĞ	Farmakoloji	Gazi Ü. Eczacılık Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Ferhan EĞİLMEZ (Bildirimlerden sorumlu olan üye)	Protetik Diş Tedavisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Mine Betül ÜÇTAŞLI	Restoratif Diş Tedavisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. İlkay PEKER	Ağız, Diş ve Çene Radyolojisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Doç. Dr. Burcu ÖZDEMİR (Etik kurul başkan yardımcısı)	Periodontoloji	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ
İmza:

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

EK-1.(devam) Etik kurul onayı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Prof. Dr. Ayşegül ÖLMEZ tarafından gönderilen "Enzimatik Teknoloji İle Kemomekanik Çürük Uzaklaştırma Yönteminin İn Vitro Olarak Değerlendirilmesi" konulu çalışmanın kabulüne,
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

Doç. Dr. Benay YILDIRIM	Oral Patoloji	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐
Dr. Öğr. Üyesi Hakan TÜZÜN	Halk Sağlığı	Gazi Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐
Av. Efe AYAZ	Avukat	Serbest Avukat	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐
İlker YAVUZ	Fotoğraf Eğitmeni	-	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ
İmza:

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

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : AYTAR, Ayfer Burcu

Uyruğu : T.C.

Eğitim

Derece	**Okul/Program**	**Mezuniyet Yılı**
Uzmanlık	Gazi Üniversitesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı	Devam ediyor
Lisans	Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2017
Lise	Adana Anadolu Lisesi	2012

İş Deneyimi

Yıl	**Yer**	**Görev**
2019-devam ediyor	Gazi Üniversitesi	Araştırma Gör.

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

1. Aytar, Ayfer Burcu., Ölmez, Ayşegül. (2021). *Çocuk diş hekimliğinde minimal invaziv çürük uzaklaştırma yöntemleri.* (1. Baskı). Ankara: Türkiye Klinikleri, 23-33.

2. Aytar, Ayfer Burcu., Ölmez, Ayşegül. (2022). *Kemomekanik çürük uzaklaştırma yöntemleri: Bir derleme.* Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi. DOI: 10.54614/CRDS.2022.6156

GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR...