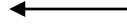


Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

(UZMANLIK TEZİ)

GÜMÜŞ DİAMİN FLORÜR/POTASYUM İYODÜR
(GDF/Kİ) İÇERİKLİ MATERYALİN ANTİBAKTERİYEL
ETKİNLİĞİNİN İN VİTRO OLARAK
KARŞILAŞTIRILMASI VE RESTORASYON
MATERYALLERİ ÜZERİNDE RENKLENMEYE OLAN
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

BÜŞRA KARADURAN

DANIŞMAN
DOÇ. DR. MİNE KORUYUCU

PEDODONTİ ANABİLİM DALI
ÇOCUK DİŞ HEKİMLİĞİ UZMANLIĞI PROGRAMI

İSTANBUL-2023

TEZ ONAYI

(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Araş. Gör. Dt. Büşra KARADURAN

İTHAF

Bu tez çalışmasını ***aileme*** ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince büyük bir sabırla ve titizlikle bana yardımcı olan ve yol gösteren, mesleki gelişimimde çok büyük emeği olan, daima desteğini hissettiğim çok değerli danışman hocam **Sayın Doç. Dr. Mine Koruyucu**'ya,

Uzmanlık eğitimim süresince kendilerinden çok şey öğrendiğim, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocalarım **Sayın Prof. Dr. Oya Aktören, Sayın Prof. Dr. Koray Gençay, Sayın Prof. Dr. Elif Bahar Tuna İnce, Sayın Prof. Dr. Arzu Pınar Erdem, Sayın Doç. Dr. Yeliz Güven** ve **Sayın Doç. Dr. Yelda Kasımoğlu**'na

Tez çalışmasındaki mikrobiyoloji deneylerinin gerçekleştirilmesinde bana yardımcı olan, bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Temel Bilimler Anabilim Dalı'ndan **Sayın Prof. Dr. Emine Nursen Topçuoğlu** ve **Sayın Uzm. Dt. Merve Yıldırım Üçüncü**'ye,

Tez çalışmasındaki Nanogümüş Florür solüsyonunun üretilmesi aşamasında bana yardımcı olan, bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen İstanbul-Cerrahpaşa Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü Kimyasal Teknolojiler Anabilim Dalı'ndan **Sayın Doç. Dr. Mehmet Koray Gök** ve doktora öğrencisi **Sibel Çelik**'e,

Tez çalışmasındaki Nanogümüş Florür solüsyonunun TEM görüntülemesinde bana yardımcı olan, bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan **Sayın Prof. Dr. Seyhun Solakoğlu**'na ve laboratuvar çalışanlarına,

Uzmanlık eğitimim süresince yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Pedodonti Anabilim Dalı'ndaki **değerli asistan arkadaşlarıma**,

Üzerimde sonsuz emekleri olan, beni bugünlere getiren, her zaman destekleyen ve yanımda olan **sevgili aileme**,

En İçten ve Sonsuz Teşekkürlerimle

Büşra Karaduran/İstanbul-2023

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: **38769**

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİİ
ÖZET	XVİİ
ABSTRACT.....	XVİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Çürük Oluşumunda ve İlerlemesinde Etkili Olan Başlıca Bakteriler	9
2.1.1. <i>Streptococcus mutans</i>	10
2.1.2. <i>Lactobacillus</i> 'lar	12
2.2. Çürük Aktivitesi.....	13
2.3. Çürük Riski	16
2.4. Çürük Tedavi Yönetimi	20
2.5. Florür İçerikli Ajanlar	23
2.6. Gümüş	24
2.6.1. Gümüş Diamin Florür	25
2.6.1.1. Gümüş Diamin Florürün İçeriği.....	25
2.6.1.2. Gümüş Diamin Florürün Etki Mekanizması	27
2.6.1.3. Gümüş Diamin Florürün Endikasyonları ve Kontraendikasyonları.....	30
2.6.1.4. Gümüş Diamin Florürün Uygulama Protokolü.....	31
2.6.1.5. Gümüş Diamin Florürün Avantajları ve Dezavantajları	34
2.6.1.6. Gümüş Diamin Florürün Güvenilirliği ve Toksisitesi	36
2.6.1.7. Glutasyon ve Potasyum İyodür.....	37
2.6.2. Nanogümüş Florür	38
2.6.2.1. Nanogümüş Florürün Etki Mekanizması	39

2.6.2.2. Nanogümüş Florürün Uygulama Protokolü ve Avantajları	41
2.6.2.3. Nanogümüş Florürün Güvenilirliği ve Toksisitesi.....	42
2.7. <i>İn Vitro</i> Çalışmalarda Görüntüleme için Kullanılabilen Cihazlar	43
2.7.1. Taramalı Elektron Mikroskobu	43
2.7.2. Transmisyon Elektron Mikroskobu	44
2.7.3. Lazer Taramalı Konfokal Mikroskop	44
2.7.4. Spektrofotometre.....	45
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	47
3.1. Nanogümüş Florür Solüsyonunun Hazırlanması	47
3.2. Antibakteriyel Etkinliğin Değerlendirilmesi.....	50
3.2.1. Solüsyonların Antibakteriyel Etkinliklerinin Disk Difüzyon Testi İle Belirlenmesi	51
3.2.2. Biyofilm Deneyi.....	52
3.2.2.1. Örnek Sayısının Belirlenmesi	52
3.2.2.2. Dişlerin Toplanması ve Mine Örneklerinin Hazırlanması	53
3.2.2.3. Deney Gruplarının Oluşturulması	55
3.2.2.4. Tükürük Örneğinin Alınması ve Sterilizasyonu	56
3.2.2.5. Bakteri Süspansiyonlarının Hazırlanması	57
3.2.2.6. Biyofilm Oluşturulması.....	57
3.2.2.7. Solüsyonların Biyofilm Oluşturulan Mine Yüzeylerine Uygulanması.....	60
3.2.2.8. Solüsyonların Biyofilm Üzerine Etkinliklerinin Değerlendirilmesi	61
3.2.2.8.1. Lazer Taramalı Konfokal Mikroskop ile Değerlendirilmesi	61
3.2.2.8.2. Taramalı Elektron Mikroskop ile Değerlendirilmesi.....	61
3.2.3. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	62
3.3. Restorasyon Materyali Üzerinde Renklenmeye olan Etkilerinin Değerlendirilmesi	62
3.3.1. Örnek Sayısının Belirlenmesi	63
3.3.2. Dişlerin Toplanması ve Hazırlanması.....	63
3.3.3. BRIX3000 Uygulanması ve Çürük Dokusunun Temizlenmesi	64
3.3.4. Deney Gruplarının Oluşturulması	65
3.3.5. Gruplardaki Solüsyonların Uygulanması.....	66
3.3.6. Restorasyon Materyalinin Uygulanması	68
3.3.7. Spektrofotometre ile Renk Değerlendirmelerinin Yapılması	69

3.3.8. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	70
4. BULGULAR.....	71
4.1. Materyallerin Antibakteriyel Etkinliklerinin Değerlendirilmesi	72
4.1.1. Disk Difüzyon Deneyine Ait Bulgular.....	72
4.1.2. CLSM İncelemesine Ait Bulgular.....	73
4.1.3. SEM İncelemesine Ait Bulgular	79
4.2. Materyallerin Restorasyon Materyali Kompomer Üzerindeki Renklenme Yapıcı Etkilerinin Değerlendirilmesi.....	81
4.2.1. Grupların Tüm Zamanlardaki L* Değerleri ve Karşılaştırması.....	82
4.2.2. Grupların Tüm Zamanlardaki a* Değerleri ve Karşılaştırması	83
4.2.3. Grupların Tüm Zamanlardaki b* Değerleri ve Karşılaştırması	83
4.2.4. ΔL Değerleri ve Karşılaştırılması	84
4.2.5. Δa Değerleri ve Karşılaştırılması.....	85
4.2.6. Δb Değerleri ve Karşılaştırılması.....	85
4.2.7. ΔE Değerleri ve Karşılaştırılması	86
5. TARTIŞMA	88
5.1. Antibakteriyel Etkinlik Değerlendirmesinin Tartışması.....	98
5.2. Renk Değerlendirmesinin Tartışması	107
6. SONUÇ.....	119
KAYNAKLAR	121
FORMLAR	135
ETİK KURUL KARARI	140
ÖZGEÇMİŞ	142

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: ICDAS kriterlerine göre çürük sınıflandırması.....	15
Tablo 2-2: ICDAS kriterlerine göre mine ve dentindeki çürük lezyonlarının aktivitelerinin değerlendirilmesi	16
Tablo 2-3: AAPD'ye göre 0-5 yaş arası çürük riski değerlendirme formu	17
Tablo 2-4: AAPD'ye göre 6 yaş ve üzeri çürük riski değerlendirme formu	18
Tablo 2-5: Piyasada bulunan bazı GDF içerikli ticari ürünler.....	26
Tablo 3-1: Antibakteriyel etkinliğin değerlendirilmesi için belirlenen gruplar.....	55
Tablo 3-2: Restorasyon materyalinin renklenmesi üzerindeki etkinliklerinin değerlendirilmesi için belirlenen gruplar.	66
Tablo 4-1: Gruplara göre <i>L. casei</i> ATCC 4646 ve <i>S. mutans</i> ATCC 25175 bakterilerinin inhibisyon zonlarının karşılaştırılması.....	72
Tablo 4-2: Gruplara göre CLSM analiz sonuçlarının karşılaştırma sonuçları.....	73
Tablo 4-3: Renk ölçümü değerlerine ait açıklama.....	81
Tablo 4-4: Grup ve zamana göre L_0 , L_1 ve L_2 değerlerinin tanımlayıcı istatistikleri ve çoklu karşılaştırma sonuçları.	82
Tablo 4-5: Grup ve zamana göre a_0 , a_1 ve a_2 değerlerinin tanımlayıcı istatistikleri ve çoklu karşılaştırma sonuçları.	83
Tablo 4-6: Grup ve zamana göre b_0 , b_1 ve b_2 değerlerinin tanımlayıcı istatistikleri ve çoklu karşılaştırma sonuçları.	84
Tablo 4-7: Grup ve zamana göre ΔL_1 ve ΔL_2 değerlerinin tanımlayıcı istatistikleri ve çoklu karşılaştırma sonuçları.	84
Tablo 4-8: Grup ve zamana göre Δa_1 ve Δa_2 değerlerinin tanımlayıcı istatistikleri ve çoklu karşılaştırma sonuçları.	85
Tablo 4-9: Grup ve zamana göre Δb_1 ve Δb_2 değerlerinin tanımlayıcı istatistikleri ve çoklu karşılaştırma sonuçları.	86
Tablo 4-10: Grup ve zamana göre ΔE_1 ve ΔE_2 değerlerinin tanımlayıcı istatistikleri....	86

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Diş çürüğünün oluşumunda etkili olan faktörler.....	6
Şekil 2-2: Demineralizasyon/remineralizasyon döngüsü	7
Şekil 2-3: Biyofilm, diş çürüğü ve <i>S. mutans</i> arasındaki ilişki. Biyofilm içerisindeki bakterilerin ürettiği asitler diş sert dokusunda yıkıma neden olmaktadır	11
Şekil 2-4: <i>S. mutans</i> ve <i>Lactobacillus</i> bakteri türlerinin diş çürüğüyle ilişkisi	12
Şekil 2-5: a: Gingival marjine yakın bulunan başlangıç aşamasındaki aktif çürükler, b: Sağ alt çenede yer alan birinci büyük azının bukkal yüzeyindeki pitte yer alan başlangıç aşamasındaki inaktif çürük	13
Şekil 2-6: GDF'nin biyofilmdeki bakterilere, diş dokusunun mineral içeriğine, açıkta kalan dentin tübüllerine ve dentin kollojen yıkımına olan etkisini özetleyen şematik resim.....	30
Şekil 2-7: a-c: GDF uygulaması öncesi b-d: GDF uygulaması sonrası.....	35
Şekil 2-8: Mikrofirça ile KI'nın uygulanması ve beyaz çökeltinin oluşması	38
Şekil 2-9: NGF ile tedavi edilen dişlerin 12 ay sonraki görüntüsü.....	41
Şekil 2-10: CIE L*a*b* sistemindeki renk koordinatları	46
Şekil 2-11: ΔE değerini hesaplamak için kullanılan formül	46
Şekil 3-1: Zetasizerda (HORIBA nanoPartica SZ-100V2 nanopartikül analiz cihazı, Japonya) nanogümüş partiküllerinin boyutunun ölçme işlemi.	48
Şekil 3-2: Reaksiyonun son görüntüsü.	49
Şekil 3-3: Boyut ölçümünün cihaz görüntüsü.....	49
Şekil 3-4: Gümüş nanopartiküllerinin TEM görüntüsü	50
Şekil 3-5: Transmisyon Elektron Mikroskobu (JEOL JEM-1011, Japonya).....	50
Şekil 3-6: Disk difüzyon deneyine ait bir görsel.	52
Şekil 3-7: CLSM'de incelenecek örnek sayısının belirlenmesi için yapılan örneklem analiz grafiği.	52
Şekil 3-8: Dişlerin kök kısımlarının akrilik içerisinde kalacak şekilde gömülmesi.	53
Şekil 3-9: Dişin Isomet kesit alma cihazı ile mesiodistal yönde ikiye ayrılması.	54
Şekil 3-10: İkiye ayrılan kuronlardan köklerinin elmas separe ve piyasemen ile uzaklaştırılması.	54
Şekil 3-11: Akrilik içerisine gömülmüş kuron parçası.	54

Şekil 3-12: Dişlerin deney zamanına kadar distile su içerisinde saklandığı Etüv (Termal Laboratuvar Aletleri, Türkiye) cihazı.	55
Şekil 3-13: Hazırlanmış steril örnekler.	55
Şekil 3-14: Tükürük örneğinin hazırlanması. a: Santrifüj (Nüve, Ankara, Türkiye), b: Filtrasyon, c: Sterilize edilmiş tükürük.	56
Şekil 3-15: Örneklerin kuyucuklara yerleştirilmesi.	57
Şekil 3-16: Tükürükle kaplanmış örneklerin inkübasyonu.	58
Şekil 3-17: Bakteri süspansiyonlarının inokülasyonu.	58
Şekil 3-18: Bakteri süspansiyonlarının inoküle edildiği örnekler.	58
Şekil 3-19: Anaerop ortamda inkübasyon.	59
Şekil 3-20: İnkübatör (Heraeus, Almanya).	59
Şekil 3-21: Örnekler üzerindeki biyofilm oluşumu.	59
Şekil 3-22: Çalışma materyallerinin uygulanması.	60
Şekil 3-23: Uygulama sonrası yıkama.	60
Şekil 3-24: Lazer Taramalı Konfokal Mikroskop (Leica, Heidelberg, Almanya).	61
Şekil 3-25: Taramalı Elektron Mikroskobu (FEI Versa 3D, ABD).	62
Şekil 3-26: Renk değerlendirmesi için yapılan örneklem analiz grafiği.	63
Şekil 3-27: Akrilik içerisine gömülmüş çürüklü süt azı dişi.	64
Şekil 3-28: a: Çürüğün ilk hali, b: BRİX3000 ajanının uygulanması ve ekskavatörle çürüğün temizlenmesi, c: Çürük temizlendikten sonraki dişin hali.	65
Şekil 3-29: a: LM ekskavatör, b: BRİX3000 papain jel.	65
Şekil 3-30: SDI Riva Star ürününün içeriği.	66
Şekil 3-31: GDF solüsyonunun uygulanması.	67
Şekil 3-32: KI uygulanması ile gözlenen beyaz çökelti.	67
Şekil 3-33: a: Plastik gode içerisinde yer alan NGF solüsyonu, b: NGF solüsyonunun uygulanma aşaması.	68
Şekil 3-34: a: Kontrol grubundaki, b: GDF uygulanan gruptaki, c: GDF/KI uygulanan gruptaki, d: NGF uygulanan gruptaki ışın cihazı ile bondun polimerize edildikten sonraki görüntüleri.	69
Şekil 3-35: a: Kontrol grubunda restorasyon işleminden hemen sonraki görüntü, b: GDF uygulanan grupta restorasyon işleminden hemen sonraki görüntü, c: GDF/KI uygulanan grupta restorasyon işleminden hemen sonraki görüntü, d: NGF uygulanan grupta restorasyon işleminden hemen sonraki görüntü.	69

Şekil 3-36: a: Spektrofotometre cihazı (Vita Easysahe Compact, Vita Zahnfabrik, Bad Sackingen, Almanya), b: Örnek üzerinde spektrofotometre ile yapılan renk ölçme işlemi.....	70
Şekil 4-1: Grup 1'e (Negatif kontrol grubu=Steril salin) ait CLSM görüntüleri.....	75
Şekil 4-2: Grup 2'ye (Pozitif kontrol grubu 1= %5'lik NaOCl) ait CLSM görüntüleri.	75
Şekil 4-3: Grup 3'e (Pozitif kontrol grubu 2= %2'lik CHX) ait CLSM görüntüleri.	75
Şekil 4-4: Grup 4'e (GDF) ait CLSM görüntüleri.	76
Şekil 4-5: Grup 5'e (GDF/KI) ait CLSM görüntüleri.....	76
Şekil 4-6: Grup 6'ya (NGF) ait CLSM görüntüleri.	76
Şekil 4-7: Grup 1'e (Negatif kontrol grubu=Steril salin) ait üç boyutlu görüntüler.....	77
Şekil 4-8: Grup 2'ye (Pozitif kontrol grubu 1= %5'lik NaOCl) ait üç boyutlu görüntüler.	77
Şekil 4-9: Grup 3'e (Pozitif kontrol grubu 2= %2'lik CHX) ait üç boyutlu görüntüler.	77
Şekil 4-10: Grup 4'e (GDF) ait üç boyutlu görüntüler.	78
Şekil 4-11: Grup 5'e (GDF/KI) ait üç boyutlu görüntüler.....	78
Şekil 4-12: Grup 6'ya (NGF) ait üç boyutlu görüntüler.	78
Şekil 4-13: Grup 1'e (Negatif kontrol grubu=Steril salin) ait SEM görüntüsü.	79
Şekil 4-14: Grup 2'ye (Pozitif kontrol grubu 1= %5'lik NaOCl) ait SEM görüntüsü....	79
Şekil 4-15: Grup 3'e (Pozitif kontrol grubu 2= %2'lik CHX) ait SEM görüntüsü.	80
Şekil 4-16: Grup 4'e (GDF) ait SEM görüntüsü.....	80
Şekil 4-17: Grup 5'e (GDF/KI) ait SEM görüntüsü.	80
Şekil 4-18: Grup 6'ya (NGF) ait SEM görüntüsü.....	81

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

β -TCP: Beta-TCP

μm : mikrometre

μl : mikrolitre

μg : mikrogram

ΔL : Renklerin parlaklık seviyeleri arasındaki fark

Δa : Renklerin kırmızı-yeşil bileşenleri arasındaki fark

Δb : Renklerin mavi-sarı bileşenleri arasındaki fark

ΔE : Renkler arasındaki fark

AAPD: Amerikan Çocuk Diş Hekimliği Birliği

ADA: Amerikan Diş Hekimleri Birliği

$\text{Ag}(\text{NH}_3)_2$: Gümüş diamin kompleksi

$\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$: Gümüş diamin florürün formülü

Ag: Gümüş

Ag^{+1} : Gümüşün iyonize formu

AgF: Gümüş Florür

AgI: Gümüş İyodür

AgNO_3 : Gümüş Nitrat

AgNPs: Gümüş Nanopartikülleri

Ag_3PO_4 : Gümüş Fosfat

AHF: Amonyum Hekzaflorasililat

APF: Asidüle Fosfat Florür

ART: Atravmatik Restoratif Tedaviler

BAKH: Büyükazı-Keser Hipomineralizasyonu

BHI: Brain Heart Infusion (Beyin Kalp İnfüzyonu)

Ca: Kalsiyum

CaF_2 : Kalsiyum Florür

$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$: Kalsiyum Fosfat

CAMBRA: Caries Manegement By Risk Assessment (Risk Değerlendirmesine Göre Çürük Yöntetimi)

CCD: Yüksek Bağlımlı Cihaz (Charge Coupled Device)

CFU/ml: Coloni Forming Unit/Militre (koloni/mililitre)

CHX: Klorheksidin

CIE: Uluslararası Aydınlatma Komisyonu

CLSM: Lazer Taramalı Konfokal Mikroskop

CPC: Setilpiridinyum Klorür

CPP-ACP: Kazein Fosfopeptit ve Amorf Kalsiyum Fosfat

CRA: Caries-Risk Assesment (Çürük Risk Değerlendirmesi)

DCPD: Dikalsiyum Fosfat Dihidrat

DIFOTI: Dijital Fiberoptik Transilimünasyon

DLS: Dinamik Işık Saçılımı

DMF: Sürekli dişlerde D; Decayed=çürük, M; Missing=kaybedilmiş, F; Filling=restorasyon

DMF-S: Sürekli dişlerde D; Decayed=çürük, M; Missing=kaybedilmiş, F; Filling=restorasyon, S; Surface=yüzey

DMF-T: Sürekli dişlerde D; Decayed=çürük, M; Missing=kaybedilmiş, F; Filling=restorasyon, Tooth=diş

dmf: Süt dişlerde d; Decayed=çürük, m; Missing=kaybedilmiş, f; Filling=restorasyon

dmf-s: Süt dişlerde d; Decayed=çürük, m; Missing=kaybedilmiş, f; Filling=restorasyon, s; Surface=yüzey

dmf-t: Süt dişlerde d; Decayed=çürük, m; Missing=kaybedilmiş, f; Filling=restorasyon, tooth=diş

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

EÇÇ: Erken Çocukluk Çağı Çürükleri

EDTA: Etilendiamin Tetraasetik Asit

F: Florür

FDA: Amerika Birlik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi

FDI: Dünya Diş Hekimleri Birliği

FOTI: Fiberoptik Transilimünasyon

g: gram

GDF: Gümüş Diamin Florür

GK-101E: Caridex

SMART: Gümüş Modifiye Atravmatik Restoratif Teknik

H₂O₂: Hidrojen Peroksit

IgA: İmmünoglobulin A

IgG: İmmünoglobulin G

ICCMS: Uluslararası Çürük Sınıflaması ve Yönetim Sistemi

ICDAS: International Caries Detection and Assesment System (Uluslararası Çürük Tespit ve Değerlendirme Sistemi)

in situ: Hücre koşullarında

in vivo: Canlı koşullarda

in vitro: Laboratuvar koşullarında

KCl: Potasyum Klorür

KF: Potasyum Florür

kg: kilogram

KI: Potasyum İyodür

KRR: Koruyucu Rezin Restorasyonlar

kV: kilovolt

MF Bulanıklık Tüpü: McFarland Bulanıklık Tüpü

mg: miligram

MID: Minimal İnvaziv Diş hekimliği

mm: milimetre

mm³: milimetreküp

ml: mililitre

mol/L: mol/Litre

NaBH₄: Sodyum Borohidrit

NaF: Sodyum Florür

NaHCO₃: Sodyum Bikarbonat

NaOCl: Sodyum hipoklorit

NGF: Nanogümüş Florür

nm: nanometre

P: Fosfor

PA: Proantosiyanidin

PBS: Fosfat Tamponlu Salin

PEG: Polietilen Glikol

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

pH: Power of Hydrogen (asit-baz birimi)

PDI: Polidispersite İndeksi

ppm: Milyonda bir birim (parts per million)

PTR-LUM: Fototermal Radyometri ve Modüle Lüminesens

PVP: Polivinil Piridolin

RMCIS: Rezin Modifiye Cam İyonomer

rpm: Dakikadaki devir sayısı

SEM: Taramalı Elektron Mikroskobu

SeNPs: Selenyum Nanopartiküller

SnF₂: Kalay Florür

TCP: Alfa Trikalsiyum Fosfat

TEM: Transmisyon Elektron Mikroskobu

TiF₄: Titanyum Tetraflorür

QLF: Kantitaif Işık Kaynaklı Floresans

ÖZET

Karaduran B. Gümüş Diamin Florür/Potasyum İyodür (GDF/KI) İçerikli Materyalin Antibakteriyel Etkinliğinin İn Vitro Olarak Karşılaştırılması ve Restorasyon Materyalleri Üzerinde Renklenmeye Olan Etkisinin Değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Pedodonti ABD. Uzmanlık Tezi. İstanbul. 2023.

Amaç: Bu tez çalışması çocuk diş hekimliğinde kullanımı gittikçe yaygınlaşan Gümüş Diamin Florür/Potasyum İyodür(GDF/KI) içerikli materyalin antibakteriyel ve renklenme üzerine olan etkisinin GDF ve Nanogümüş Florür (NGF) içerikli materyallerle karşılaştırmalı olarak değerlendirmesini amaçlamıştır. **Gereç ve Yöntem:** Disk difüzyon testi ile steril salin, %5'lik Sodyum Hipoklorit (NaOCl), %2'lik Klorheksidin (CHX), GDF, GDF/KI, NGF, KI solüsyonlarının *S. mutans* ve *L. casei* üzerindeki antimikrobiyal etkinlikleri incelenmiştir. Hazırlanan 48 adet mine örneği üzerinde *S.mutans-L.casei* içeren ikili biyofilm tabakası oluşturulduktan sonra örnekler altı gruba (n=8) ayrılmıştır. Grup 1'de steril salin, Grup 2'de %5'lik NaOCl, Grup 3'te %2'lik CHX, Grup 4'te GDF, Grup 5'te GDF/KI ve Grup 6'da NGF solüsyonları uygulanmıştır. Her gruptan 7 örnek lazer taramalı konfokal mikroskop, 1 örnek taramalı elektron mikroskobu için kullanılmıştır. Renk değerlendirmesi için 44 adet çürüklü süt azı dişi toplanılmıştır ve dört gruba (n=11) ayrılmıştır. Kontrol grubunda hiçbir solüsyon uygulanmazken, diğer gruplarda GDF, GDF/KI ve NGF solüsyonlarının uygulandıktan sonra tüm gruplardaki dişler kompomer ile restore edildikten hemen sonra (T₀), bir hafta (T₁) ve bir ay (T₂) sonraki L*, a* ve b* renk değerleri spektrofotometre ile ölçülerek zaman içerisindeki renk değişimleri karşılaştırılmıştır. **Bulgular:** GDF ve GDF/KI solüsyonları istatistiksel olarak anlamlı düzeyde NGF ve steril salin solüsyonlarından daha güçlü antibakteriyel etkinliğe sahiptir (p<0,001). GDF solüsyonu kompomer materyali üzerinde zaman içerisinde diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazla renk değişimine (p=0,013) ve parlaklığın azalmasına (p<0,001) neden olmuştur. **Sonuç:** GDF ve GDF/KI materyalleri *S. mutans* ile *L. casei* bakterileri ve ikili biyofilm modeli üzerinde antibakteriyel etkinliğe sahip olmakla birlikte KI, GDF'nin antibakteriyel özelliğini olumsuz yönde etkilememektedir. GDF/KI ve NGF solüsyonları kompomer materyalinde GDF'den daha az oranda renklenmeye neden olmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Gümüş Diamin Florür, Potasyum İyodür, Nanogümüş Florür, Antibakteriyel etki, Renklenme.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 38769

ABSTRACT

Karaduran B. *In Vitro* Comparison of the Antibacterial Efficacy of Silver Diamine Fluoride/Potassium Iodide (SDF/KI) Containing Material and Evaluation of Its Discoloration Effect on Restorative Materials. Istanbul University, Faculty of Dentistry, Department of Pedodontics. Thesis. Istanbul. 2023.

Aim: This thesis aims to assess the antibacterial and discoloration effects of materials containing Silver Diamine Fluoride/Potassium Iodide (SDF/KI), which are increasingly utilized in pediatric dentistry, in comparison to materials containing only SDF and Nanosilver Fluoride(NSF). **Materials and methods:** The antimicrobial activities of sterile saline, 5% Sodium Hypochlorite(NaOCl), 2% Chlorhexidine (CHX), SDF, SDF/KI, NSF, and KI solutions against *S.mutans* and *L.casei* were investigated using disc diffusion tests. A dual-species biofilm consisting of *S.mutans* and *L.casei* was formed on 48 enamel samples, which were then divided into six groups (n=8). Group 1 received sterile saline, Group 2 received 5% NaOCl, Group 3 received 2% CHX, Group 4 received SDF, Group 5 received SDF/KI, and Group 6 received NSF. Seven samples from each group were subjected to confocal laser scanning microscopy, and 1 sample was used for scanning electron microscopy. For color evaluation, 44 carious primary molars were collected and divided into four groups (n=11). After applying SDF, SDF/KI, and NSF solutions to the respective groups, while the control group received no treatment, all groups' teeth were immediately restored with compomer. The L*, a*, and b* color values were measured using a spectrophotometer at three different time points: immediately (T₀), one week later (T₁), and one month later (T₂), and color differences were compared over time. **Results:** Both SDF and SDF/KI solutions exhibited significantly stronger antibacterial activity compared to NSF and sterile saline solutions (p<0.001). The SDF solution caused more significant color changes (p=0.013) and a decrease in the L* value (p<0.001) on the compomer material over time, compared to the other groups. **Conclusion:** SDF and SDF/KI materials exhibit antibacterial efficacy against *S.mutans* and *L.casei* bacteria, as well as the dual-species biofilm model. Importantly, KI does not adversely affect the antibacterial property of SDF. Additionally, SDF/KI and NSF solutions induce a lower degree of discoloration in the compomer material compared to SDF.

Key Words: Silver Diamine Fluoride, Potassium Iodide, Nanosilver Fluoride, Antibacterial effect, Discoloration.

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No: 38769

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diş çürüğü toplumda oldukça yaygın görülen biyofilm aracılı, kronik, multifaktöriyel etiyolojili, diş sert dokularında yıkıma neden olabilen dinamik bir hastalık sürecidir (1, 2). Tedavi edilmediği durumlarda çiğneme fonksiyonunda bozulmalara, odontojenik veya sistemik enfeksiyonlara neden olabilmektedir (3). Gelişiminde zamanla birlikte üç temel faktör etkili olmaktadır: Duyarlı bir konak, karyojenik mikrobiyota ve yeterli miktardaki besin. Mikrobiyolojik dengesizliğin yanı sıra; sosyokültürel faktörler, eğitim, beslenme, çevresel ve bireysel davranışlar da çürük gelişiminde rol oynamaktadır. Etken olarak gösterilen ana karyojenik mikroorganizma *Streptococcus mutans* (*S. mutans*)'tır. *Lactobacillus*'lar, *Actinomyces*'ler ve *Streptococcus sobrinus* (*S. sobrinus*) gibi diğer çok çeşitli mikroorganizma türlerinin çürüğün gelişiminde ve ilerlemesinde etkili olduğu bildirilmektedir (2).

Çürüğün teşhisi, risk değerlendirmesi ve önlenmesi hem bireysel hem de toplumsal düzeyde çürüğün başarılı bir şekilde anlaşılması, tedavi edilmesi ve kontrol altına alınması için önemli olmaktadır. Hem toplumsal bazda hem de bireysel olarak yapılabilecek müdahaleler ve alınabilecek önlemler optimize edilerek bireye göre uyumlu hale getirilmelidir. Toplumsal bazda suların florlanması, florürlü süt ve tuzların kullanımı teşvik edilebilmektedir. Bireysel çürük risk değerlendirilmesinin sonuçları doğrultusunda, hastanın bulunduğu risk grubuna uygun miktarda ve sıklıkta florür içerikli materyaller çürüğün önlenmesinde ve durdurulmasında hem bireysel hem de diş hekimleri tarafından profesyonel olarak uygulanabilmektedir. Günümüzde diş üzerinde topikal kullanımı önerilen Gümüş Diamin Florür (GDF), çürüğün durdurulmasında uygulanabilen önemli bir alternatif ajan olarak üretilmiştir ve piyasaya çıkarılmıştır. Yakın gelecekte ise nanoteknolojiyle üretilen ve geliştirilen materyallerin yeni tedavi seçenekleri sunması beklenmektedir (4).

GDF; erken çocukluk çağı çürükleri (EÇÇ)'ni kontrol etmek, çürük ilerlemesini durdurmak, dental erozyonu önlemek için, remineralizasyon ajanı, hassasiyet giderici ve çürüğü tespit eden boyama ajanı olarak kullanılabilir. Antimikrobiyal etkinliğe sahip bir ajandır ve karyojenik biyofilmi inhibe edebildiği bildirilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2021 yılında GDF'yi hastalar için etkili ve güvenli temel bir ilaç olarak ilan etmiştir. Kullanımı basit, noninvaziv, ağrısız ve fazla ekipman

gerektirmeyen bir uygulamadır. İşlem esnasında aerosol üretimine neden olmamaktadır ve düşük çapraz enfeksiyon riski taşımaktadır. Çürük lezyonlarını siyaha boyaması ve diş dokularında renklenmeye neden olması önemli bir dezavantaj olarak bildirilmektedir. Bunu engellemek için Potasyum İyodür (KI)'le birlikte kullanılması, bu sorunun çözümüne alternatif oluşturabileceği düşünülmüş ve geliştirilmiştir ve renklenmeye neden olmadığı veya bu etkisini azalttığı belirtilmiştir (5).

Nanogümüş Florür (NGF); nanoteknolojiyle geliştirilen, içeriğinde gümüş nanopartikülleri, gümüş nitrat, kitosan ve sodyum florür gibi çeşitli bileşenleri barındıran yeni, antimikrobiyal ve çürük durdurucu etkinliğine sahip bir ajan olarak bildirilmektedir. Üç yıl süresince stabil kalabilen sarı renkli bir solüsyon olarak üretilmektedir ve renklenmeye neden olmadığı belirtilmektedir. Çok sayıdaki mikroorganizmaya karşı üst düzeyde antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu ve remineralizasyonu desteklediği vurgulanmaktadır. Ekonomik, çevre dostu ve uygulamasının kolay olduğu belirtilmektedir (6).

Bu tez çalışmasının amacı Gümüş Diamin Florür/Potasyum İyodür (GDF/KI) içerikli materyalin, antibakteriyel özelliğinin ve kompomer restorasyon materyalinin renklenmesi üzerinde olan etkinliğinin *in vitro* koşullarda ayrı olarak belirlenen gruplar ve gruplarda yer alan solüsyonlarla karşılaştırılması, değerlendirilmesi ve incelenmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

Diş çürüğü dünyada en yaygın görülen ve tüm yaş gruplarını etkileyebilen, kronik hastalıklardan biridir (4, 7). Hem süt hem sürekli dişlerde, dişlerin hem krun hem kök kısımlarında, hem düz yüzeylerde hem de pit ve fissür gibi çukurlu yüzeylerde ortaya çıkabilmektedir (8). Diş ağrısının ve kaybının en yaygın sebebi olarak gösterilmektedir (3). Apikal periodontitis, periapikal apse, periapikal granülom, periapikal kist, selülit, periostitis, osteomyelit gibi çeşitli komplikasyonların gelişmesine neden olabilmektedir (9). Dişin krununda aşırı madde kaybına neden olabilmekte ve yaşamın ilerleyen döneminde açığa çıkabilen kök yüzeylerine zarar verebilmektedir (4). İnsan yaşam kalitesi üzerinde olumsuz yan etkilere sebep olabilmesi, sistemik hastalıkları şiddetlendirebilmesi ve tedavi masrafları ile aileler üzerinde ciddi bir ekonomik yük oluşturabilmesi nedeniyle önleminde, durdurulmasında ve tedavi edilmesinde bireye özgü kişiselleştirilmiş değerlendirmeler ile çürüğün riskine, özelliğine ve aktivitesine göre özel tedavi planlaması oluşturulup bireye özgü tedaviler yapılması bu dezavantajlarını azaltmak veya ortadan kaldırmak için oldukça önemli olmaktadır (10).

Çürük; beslenme biçiminin etkili olduğu, biyofilm ile ilişkili, multifaktöriyel, diş sert dokularının mineral kaybı ile sonuçlanan dinamik ilerleyen bir hastalık süreci olarak tanımlanmaktadır (1). Hastalığın oluşum süreci diş sert dokularının üzerini kaplayan mikrobiyal biyofilmin içinde başlamaktadır. Biyofilm ile diş sert dokuları arasında var olan fizyolojik dengenin bozulması diş çürüğünün gelişimine neden olmaktadır (8). Biyofilm diş yüzeyine yapışmış halde bulunmaktadır; hücre dışı polisakkaritler ile çevirili matriks içerisine gömülü halde bulunan, birbirine tutunabilen oral mikroorganizmaların birlikte koordineli şekilde çalışarak oluşturduğu kolonize bir topluluğu ifade etmektedir ve üzerini kaplamış olduğu diş dokusunda çürük lezyonunun gelişmesine neden olmaktadır (1, 3, 11). Biyofilmin organize olmasıyla dental plağın oluşumu ortaya çıkmaktadır (12). Klinik olarak da biyofilm yerine dental plak ifadesi kullanılabilmektedir (1). Dental plakta ilk kolonize olan ve %80 oranında var olan bakteri grubu *Streptococcus*'lardır (12). *Streptococcus sanguis* (*S. sanguis*), *Streptococcus oralis* (*S. oralis*) ve *Streptococcus mitis* (*S. mitis*) plakta bulunan tüm *Streptococcus*'ların %95'ini ve ilk kolonizörlerin %56'sını oluşturmaktadırlar. Plak

gelişiminin başlangıcında *S. mutans* diğer *Streptococcus*'ların %2'sini oluşturmaktadır. Subgingival ve supragingival olarak iki farklı şekilde ve içerikte dental plak oluşumu gözlenebilmektedir. Çürük oluşumunda etkili olan supragingival plakta baskın olan bakteriler *S. mutans*, *Streptococcus salivarius* (*S. salivarius*), *S. mitis* ve *Lactobacillus*'lar gibi gram pozitif bakterilerdir (3).

Çürük lezyonu, çürüğün klinik bulgusunu ifade etmektedir. Diş üzerindeki anatomik konumuna (kuron veya kök), şiddetine (kaviteyonlu veya kaviteyonsuz), diş dokusuna olan penetrasyonuna (mine, dentin veya pulpa) veya aktivitesine (aktif veya inaktif) göre farklı şekillerde adlandırılabilir (1). Okul öncesi çocukların süt dişlerinde yaygın olarak görülen çürük lezyonları EÇÇ olarak tanımlanmaktadır ve 6 yaş veya daha küçük çocukların süt dişlerinde meydana gelmektedir (4, 8). Çoğunlukla üst çene süt dişlerini etkilemekle birlikte, süt azı dişlerde de görülebilen agresif seyirli bir hastalıktır. Çocukların yaşam kalitesi üzerinde olumsuz etkiler gösterebilmektedir (8). *S. mutans* ve *S. sobrinus*, EÇÇ ile en yakın ilişkili mikroorganizmalar olarak bildirilmiştir. *Lactobacillus*'ların da çürük başlangıcında olmasa da ilerlemesinde etkili olduğu bulunmuştur (13). Üç yaşından küçük çocuklarda herhangi bir düz yüzey çürüğü belirtisinin varlığı, üç yaşında dörtten fazla, dört yaşında beşten fazla, beş yaşında altıdan fazla çürük nedeniyle çekilmiş diş, çürüklü veya restorasyonlu diş yüzeyinin varlığı şiddetli EÇÇ'nin göstergesidir (14). Anaerobik kültür koşulları altında 2011 yılında yapılan bir çalışmada *Scardovia wiggsiae* (*S. wiggsiae*) isimli, tanımlanamayan *Bifidobacterium* grubunda sınıflandırılan, biyofilm oluşturabilen ve çocuklarda şiddetli EÇÇ oluşumu ile yakından ilişkili bulunan yeni bir bakteri türü varlığı tespit edilmiştir (15). Aynı zamanda *S. mutans*'ın olmadığı EÇÇ örneklerinde bile varlığının tespit edildiği çalışmalar bulunmaktadır (16).

Çürük dokusu histolojik olarak dört farklı bölgeden oluşmaktadır ancak klinik olarak sadece üç tabaka olarak görülebilmektedir (9). Başlangıç çürüğünde histolojik olarak var olan tabakalar dıştan içe doğru yüzeyel tabaka, karanlık tabaka, lezyon gövdesi ve translüsent (saydam) tabakadır. Yüzeyel ve karanlık tabakada remineralizasyon, lezyon gövdesi ve translüsent tabakada ise demineralizasyon baskındır. Çürük, minede ilerleyerek mine dentin sınırına ulaşır dentine nüfuz edebilmektedir ve dentinde çürük uyarısına tepki olarak sklerotik dentin üretimi gerçekleşebilmektedir (17). Dentinde klinik olarak varlığı görülebilen dış tabaka

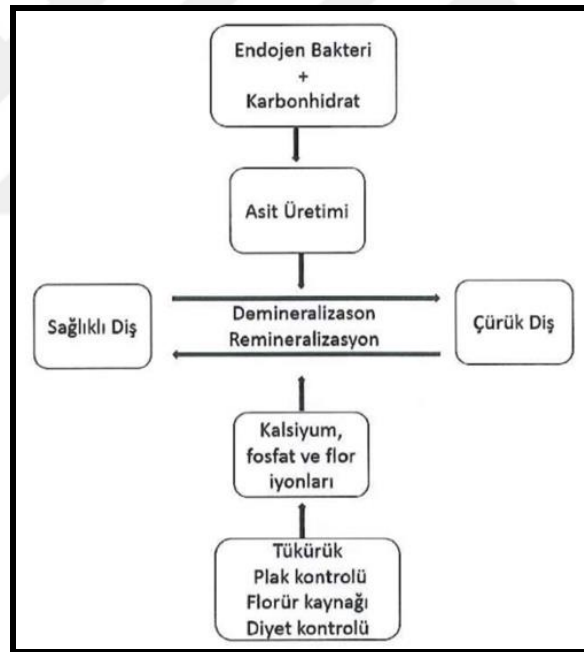
nekrotik ve kontamine bölgedir, burada bulunan diş dokusu yumuşaktır ve yüksek düzeyde mikrobiyal içeriğe sahiptir. Bir sonraki tabaka olan demineralizasyon tabakası; çok az sayıda mikroorganizma içermektedir, kayış kıvamındaki (leathery) dentinle ve sıkı (firm) dentinle ilişkili bulunmaktadır. En içte pulpaya yakın olan bölge ise translüsent tabakadır ve mikroorganizma içermemektedir. Normal dentinden daha yumuşak özellikteki sert dentini içermektedir (9, 18). Histolojik olarak çürük dentin dokusunda görülen dört bölge ise; pulpaya komşu olan translüsent veya sklerotik tabaka, demineralizasyon tabakası, bakteriyel invazyon tabakası ve destrüksiyon tabakası olarak belirtilmektedir (19).

Çürük prevelansı belirli bir süre boyunca belirli bir popülasyondaki belirli bir düzeyde çürüğe sahip olan bireylerin sayısını ve oranını ifade etmektedir. Çürük insidansı ise belirli bir süre boyunca belirli bir popülasyondaki belirli bir düzeyde yeni veya ilerlemekte olan çürük lezyonuna sahip bireylerin sayısını ve oranını ifade etmektedir (1). Epidemiyolojik çalışmalar çeşitli ülkelerin çürük insidansları arasında farklılıklar gözlemlendiğini göstermektedir. Gelişmiş ülkelerde diş çürüğünün görülme prevelansında azalma tespit edildiği bildirilmekteyken gelişmekte olan ülkelerde ise diş çürüğünün insidansının hala yüksek seviyelerde bulunduğu belirtilmektedir (3).

Çürük teşhisi hastalığın varlığını göstermek için çürük belirtilerinin değerlendirilmesini ve saptanmasını içeren klinik ve radyografik incelemelerin bütünü tanımlamaktadır (1). Teşhisinde görsel muayene, sondolama ve radyografik inceleme gibi geleneksel yöntemlere ek olarak Fiberoptik Transilimünasyon (FOTI), Dijital Fiberoptik Transilimünasyon (DIFOTI), lazer floresans, ışık kaynaklı floresans, Kantitaif Işık Kaynaklı Floresans (QLF), elektiriksel çürük ölçümü, Fototermal Radyometri ve Modüle Lüminesens (PTR-LUM) gibi yeni geliştirilen yöntemler kullanılabilmekte ve yardım sağlayabilmektedir (9, 20, 21). Bununla birlikte çürük tespit boyaları da çürüğün doğru şekilde tespit edilip uzaklaştırılmasını sağlamak amacıyla geliştirilmiştir ve mineral düzeyinde azalma olan dentindeki kollajeni boyamaktadırlar ancak kısıtlamalarını tam anlamadan kullanmak sağlam dentinin uzaklaştırılmasına ve pulpanın perfore olmasına neden olabilmektedir (21).

Çürük gelişiminde etkili olan faktörler başlangıçta konak, besin ve karyojenik mikrobiyota olarak görülmekteydi. Sonrasında zamanın da oluşum süreci için gerekli olduğu tespit edilmiştir (22). Günümüzde yapılan çalışmalar ışığında ise kişinin sahip

karyojenik bir ekolojik değişime neden olmaktadır (25, 24). Asidojenik (asit üretebilen) ve asidofilik (asidik ortamda yaşayabilen) mikroorganizmalar, fermente olabilen karbonhidrat içerikli besinler ve konağa ait faktörler çürüğün oluşumundaki temel etkenler olarak görülmektedir. Karyojenik mikroorganizmaların karbonhidratları metabolize etmesiyle oluşan laktik, formik, asetik ve propiyonik asitler çürük oluşumu için kritik değer olan pH'ın 5.5'in altına düşmesine sebep olarak minenin hidroksiapatit yapısının demineralize olmasına, kalsiyum fosfatın ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) çözülmesine neden olarak çürük oluşum sürecinin başlamasına yol açabilmektedir (3, 26). Diş çürüğünün gelişiminin durması veya ilerlemesi, demineralizasyon ve remineralizasyon arasındaki bireyin oral hijyen alışkanlıkları, beslenme şekli ve tükürük içeriğine bağlı olarak değişebilen dengeye bağlı olmaktadır. Demineralizasyon baskın olduğunda diş çürüğü gelişmektedir. Şekil 2-2'de demineralizasyon/remineralizasyon döngüsü ve etkili olan faktörler yer almaktadır (8).



Şekil 2-2: Demineralizasyon/remineralizasyon döngüsü (8).

Çürüğün oluşum süreci ile ilgili geçmişten günümüze çeşitli teoriler geliştirilmiştir. İlk olarak dental plakta bulunan mikroorganizmaların net metabolik aktivitesinin ve toplam miktarının çürük oluşumunda etkili olduğuna inanılan non-spesifik plak teorisi geliştirilmiştir ve dental plak bütün bir halde patojen olarak kabul edilmiştir. Sonrasında geliştirilen spesifik plak teorisinde yalnızca *S. mutans* gibi

spesifik bazı bakterilerin çürük oluşumuna neden olduğu ve toplam dental plak miktarının değil içerik özelliklerinin önemli olduğu belirtilmiştir ancak *S. mutans* gibi bazı bakterilerin bulunmadığı yerlerde de çürük gelişebildiği çalışmalarla tespit edilmiştir. Yakın zamanda geliştirilen ekolojik plak teorisinde ise çürüğün tek başına belirli bir mikroorganizma türüne bağlı olarak oluşmadığı, hem bakteri türünün hem de miktarının etkili olduğu, çevresel etkenlerle birlikte var olan mikroorganizmaların dengesinin asit üretebilen ve asidik ortamda yaşayabilen daha karyojenik türlere doğru kayması sonucunda geliştiği belirtilmektedir. Düzenli şeker tüketimi sonucunda oluşan asidik ortama uyum sağlayabilen bakterilerin çoğalması ve baskın hale gelmesi bu durumun nedeni olarak kabul edilmektedir (9). Ekolojik plak teorisine göre diş çürüğünün pH'a bağlı bir hastalık olduğu gösterilmiştir. Günümüzde yapılan daha yakın tarihli biyofilm çalışmalarında ise yararlı bakterilerin bile zamanla asidik ortamda yaşamaya uyum sağlamakla kalmayıp kendilerinin de asit üretme özelliği geliştirebildiklerini ifade eden genişletilmiş ekolojik plak teorisi ortaya koyulmuştur (27). Önemli olan nokta dışarıdan alınan spesifik ekzojen mikroorganizmanın değil yerleşik oral mikrobiyotadaki endojen bakterilerin çürük oluşumuna neden olduğu düşüncesi ile ekolojik plak teorisinin genişletilmiş devamı olarak görülmektedir (16). *S. mutans*'ın çürüğün başlangıcındaki rolünün daha önceden varsayıldığı kadar baskın olmayabileceğini savunmaktadır ve sadece *S. mutans*'ın değil tüm asidojenik ve asidürik (kendi ürettikleri asidik ortamda yaşayabilen ve çoğalabilen) bakterilerin sürece katkıda bulunduğu belirtilmektedir. Sağlam mine yüzeyindeki mikrobiyota esas olarak *Non-mutans Streptococcus*'lar ve *Actinomyces*'leri içermektedir ve bu koşullarda dental plağın asitlenmesi hafif ve nadir olarak belirtilmektedir. Sık şeker tüketimi ile oluşan düşük pH koşullarına uyum sağlayabilmek için bu bakteriler asit üretimini ve aside dayanıklılıklarını arttırabilmektedir. Şiddetli ve uzun süren asidik koşullar altında dental plakta zamanla baskın hale gelen *Non-mutans Streptococcus*'ların asidürik suşları, *Actinomyces*'ler ve *Bifidobacterium*'lar ile birlikte artan demineralizasyonla *S. mutans* ve *Lactobacillus*'ların sayısını da arttırmaktadır. Çürük oluşumu sırasında mikrobiyotada meydana gelen fenotipik ve genotipik değişikliklerin ana sebebi olarak çevresel asitlenme gösterilmektedir (3, 28).

Ağız boşluğunda 700'den fazla mikroorganizma izole edilmiştir ve bunların çoğu dental plakla ilişkili olarak bildirilmektedir (3). Çürük gelişimindeki uygun ön koşulların oluşturulmasında normal oral mikrobiyotada görülebilen çeşitli ve fazla

sayıdaki bakterilerin varlığı ve bir arada bulunması etken olabilmektedir (26). Mikroorganizmalar biyofilm halinde organize olduklarında antimikrobiyallere ve konağın immün savunma sistemine karşı daha direçli olabilmektedir (3). Çürük oluşumunda ve ilerlemesinde etkili olan ana karyojenik bakteri grupları *Streptococcus*'lar, *Lactobacillus*'lar, *Actinomyces*'ler ve *Prevotella*'lar olarak bildirilmektedir (29). Aynı zamanda *Bifidobacterium* bakteri türlerinin derin çürük lezyonlarında var olabildiği tespit edilmiştir ve yapılan epidemiyolojik çalışmalar *Candida Albicans* (*C. albicans*)'ın da diş çürüğü patogeneğinde etkili olabileceğini göstermiştir (13).

2.1. Çürük Oluşumunda ve İlerlemesinde Etkili Olan Başlıca Bakteriler

Diş çürüğü polimikrobiyal bir hastalıktır, etiyolojisinde çok çeşitli mikroorganizmaların etkili olabileceği görülmüştür (25). Ağız boşluğunun özelliklerinin yaşla birlikte sürekli olarak değişebilmesi görülen mikroorganizmaların türü, miktarı ve çeşitliliğinin de yaşla birlikte sürekli olarak değişebileceğini göstermektedir. Fetüsün dişsiz ağız boşluğu sterilidir ve ilk kez doğum kanalından geçerken o bölgedeki mikrobiyota tarafından kolonize edilmektedir. Sonrasında beslenme sırasında anneden veya yakın çevreden geçen mikroorganizmalar ile mukozal yüzeylerde kolonizasyon devam etmektedir. Bebeklerde başlangıçta bakteriler sadece mukozal yüzeylerde kolonize olabilmektedir. Sonra süt dişlerinin sürmesiyle beraber mikroorganizmaların kolonize olabileceği sert yüzeyler de ortaya çıkmaktadır. Çocuklardaki çürük gelişimine neden olan bakterilerin genellikle çevresinde bulunan en yakın olan kişilerden doğrudan veya dolaylı olarak tükürük yoluyla bulaştığı görülmektedir ve çoğunlukla anne ilk verici olarak bilinmektedir (3). Anneden veya bakıcısından bebeğe mikroorganizmaların geçişi dikey geçiş olarak tanımlanmaktayken, diğer aile üyelerinden veya sınıf arkadaşlarından gerçekleşen mikroorganizma geçişine yatay geçiş denmektedir (30). Karyojenik bakterilerin, annenin tükürüğündeki mikroorganizma seviyesinin, 10^5 CFU/ml veya daha fazla olduğunda bebeklerin yaklaşık %60'ına, 10^3 CFU/ml olduğunda ise bebeklerin %6'sına geçişinin meydana gelme ihtimalinin olduğu belirtilmektedir (3).

Bebeklerin tükürüklerinde *Streptococcus* baskın bakteri cinsi olarak bulunmuştur (3). Bebeklerin tükürüklerindeki bakteri klonlarının %60'ı *Streptococcus*

türlerinden oluşmakta iken annelerde bu oran %20'yi temsil etmektedir (31). Bebeklerde ağız boşluğunda aynı zamanda *Veillonella*, *Neisseria*, *Rothia*, *Haemophilus*, *Gemella*, *Granulicatella*, *Leptotrichia* ve *Fuseobacterium*'un da yaygın olarak görüldüğü belirtilmiştir. Yetişkinlerde ise *Haemophilus*, *Neisseria*, *Veillonella*, *Fuseobacterium*, *Oribacterium*, *Rothia*, *Treponema* ve *Actinomyces* bakteri türleri baskın olarak görülmüştür (3).

Ağız boşluğundaki mikroorganizmaların karyojeniteleri diş yüzeyinde yaşayabilme ve üreyebilme özelliklerine, biyofilm oluşturabilme yeteneklerine, dental plaktaki kolonizasyon seviyelerine, sükröz tüketimine bağlı olarak artabilmelerine, asit üretebilme hızlarına, düşük pH koşullarında yaşayabilme seviyelerine ve asite karşı sahip oldukları tolerans düzeylerine, diş yüzeyine adezyonu kolaylaştıran hücre içi ve hücre dışı (intraseküller ve ekstrasellüler) polisakkaritleri üretebilme durumlarına bağlı olmaktadır (3, 11). Mikroorganizmaların özellikle karbonhidrat içerikli yiyeceklerden sükröz grubunda yer alan besinleri tüketebilmesi karyojenite seviyeleri ile doğrudan ilişkili bulunmaktadır (3).

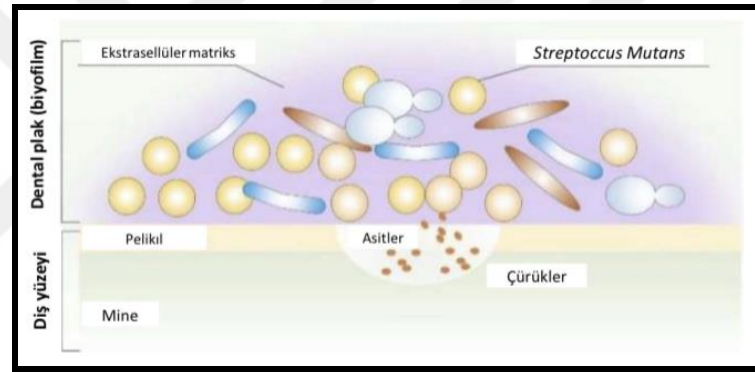
S. mutans, *Streptococcus sanguinis* (*S. sanguinis*) ve *Actinomyces viscosus* (*A. viscosus*) bakterileri konak savunma sistemine karşı koruyuculuk sağlayan, plak kitlesinin oluşturulmasında ve bakterinin diş yüzeyine adezyonunda etkili olan ekstrasellüler polisakkaritlerin üretimini gerçekleştirebilmektedir (3).

Streptococcus'lar ve *Lactobacillus*'lar ağızdaki ana asit üretici bakteriler olarak bilinmektedir. Aside dayanıklı bakteri popülasyonunda artışına neden olmaktadır (29). Diş çürüğünün oluşumunun başlangıç aşamasından genel olarak sorumlu bulunan mikroorganizmalar *S. mutans* ve *S. sobrinus*'lar olarak bildirilmektedir (32). Çürüğün daha ilerlediği evrelerde baskın olan bakteriler ise *Lactobacillus* türleridir (31).

2.1.1. *Streptococcus mutans*

Viridans grubu *Streptococcus* ailesinde yer almaktadırlar (32). Gram pozitif, alfa hemolitik, katalaz negatif, hareketsiz, spor oluşturmayan ve zincirler üreterek çoğalan koklardır ve fakültatif anaerob olarak bilinmektedirler (33). *S. mutans* düşük pH ortamında yaşayabilme, asit ve ekstrasellüler polisakkarit sentezi yapabilme özellikleri sebebiyle diş çürüğü oluşumuna neden olabilmektedir. Çürüğün başlangıç ve oluşum aşamasında oldukça etkili olmakta ve karyojenik ortama oldukça iyi adapte olmaktadır (25). Hem asidojenik hem asidürik özelliğe sahiptirler (34). En başarılı

koloni oluşturucu bakteriler olarak bilinmektedirler (11). Mukozal yüzeylere tutunarak oğalabilmektedirler (30). Biyofilm içerisinde en yaygın görülen mikroorganizmalardır. Biyofilm oluşumu ve varlığı diş yüzeyine sıkıca yapışmalarını sağlamaktadır. şekil 2-3'te biyofilm, diş rğ ve *S. mutans* ilişkisi özetlenmiştir (11). Tükürük pelikilinde bulunan albumin, prolinden zengin proteinler, glikoproteinler, müsinler ve sialik asit gibi substratlar vasıtasıyla diş yüzeyine yüksek bağlanma gösterebilen adezinlere sahip olmaktadır (32). Karbonhidratları metabolize ederek pH'ta düşüşe neden olmakta ve böylece diğer mikrobiyal rakiplerinin üremesini engelleyerek baskın tür haline gelebilmektedirler (11). Sonuçta pH'ın 5,5'in altına tekrar tekrar düşmesi mine demineralizasyonuna ve ilerlemesiyle de diş yüzeyinde kavitasyon oluşmasına yol açmaktadır (32). Tükürükteki *S. mutans* sayısının $>10^6$ olması rk riskinin yüksek olduğunu göstermektedir (35).



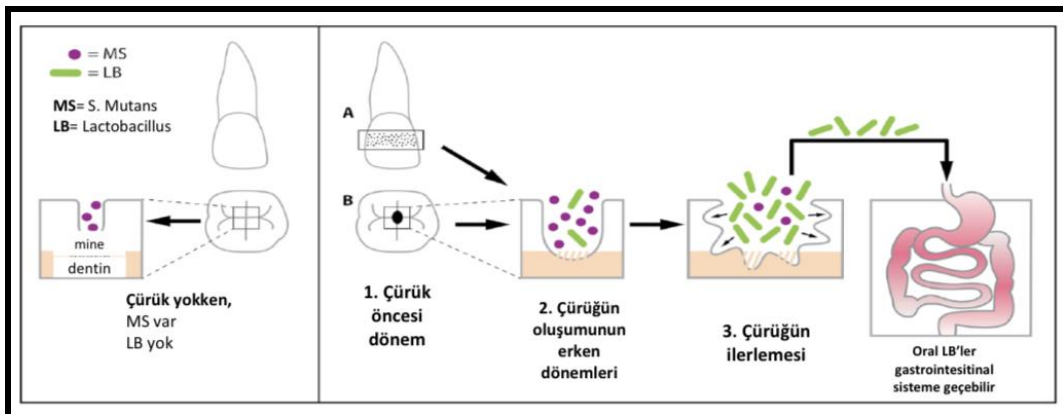
şekil 2-3: Biyofilm, diş rğ ve *S. mutans* arasındaki ilişki. Biyofilm içerisindeki bakterilerin ürettiği asitler diş sert dokusunda yıkıma neden olmaktadır (11).

S. mutans, başlangıç beyaz nokta lezyonlarında yoğun olarak bulunmektedir. rğn başlamasında etkili olduğu ancak ilerlemesi ile ilişkili olmadığı tespit edilmiştir (31). Farklı alışmalarda *S. mutans* sayısı ile diş rğnn prevelansı ve insidansı arasında güçlü bir ilişki gösterdiği belirtilmiştir. Çocuklarda genel olarak 6-30. aylar arasında görülen, 18-30. aylar arasında daha yüksek risk taşıdığı ifade edilen ve enfektivite penceresi olarak tanımlanan dönemin *S. mutans* ile ilişkili olduğu belirtilmektedir. Ek olarak dental tedaviler sırasında bakteriyemiye, sistemik enfeksiyonlara ve subakut endokardite neden olabilmektedir (2).

2.1.2. *Lactobacillus*'lar

Gram-pozitif, fakültatif anaerop ve katalaz negatif özellikte spor oluşturmeyan basillerdir. Genellikle kanlı agarda alfa hemolizi sergilemektedirler. Probiyotik özelliklere sahiptirler ve birçok süt ürününde de ticari olarak kullanılmaktadırlar (36). Ağız boşluğundaki *Lactobacillus*'lar gastrointestinal sisteme geçiş yaparak kaynak olarak görev yapabilmektedirler (37). Hem asidojenik hem asidürik özelliktedirler. *S. mutans*'tan sonra plak, dentin ve tükürük örneklerinde en çok saptanan önemli bir karyojenik bakteri grubu olduğu bildirilmektedir (38). Özellikle karbonhidrat varlığında asidojenitelerini arttırabilmekte ve pH'ın 3 seviyesinde olduğu durumları bile tolere edebilmektedirler (29). *Lactobacillus* türlerinin diş yüzeyine tutunma kabiliyetleri düşük olduğu için genelde çürüksüz ağızlarda bulunmadığı belirtilmektedir. Ancak çürük oluşup retantif yüzeyler meydana geldikten sonra dişe tutunma gösterebilmektedirler (37). Tükürükteki *Lactobacillus* sayısının $\geq 10^5$ seviyesine ulaşması diş çürüğünün gelişimi için kritiktir ve çürük riskinin yüksek olduğunu göstermektedir (29, 35). Şiddetli EÇÇ de dahil olmak üzere yetişkin ve çocukluk döneminde görülen çürük lezyonlarında en baskın görülen *Lactobacillus* türleri *Lactobacillus casei/paracasei* (*L. casei/paracasei*), *Lactobacillus fermentum* (*L. fermentum*), *Lactobacillus rhamnosus* (*L. rhamnosus*), *Lactobacillus gasseri* (*L. gasseri*), *Lactobacillus salivarius* (*L. salivarius*) ve *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*)'dur (39).

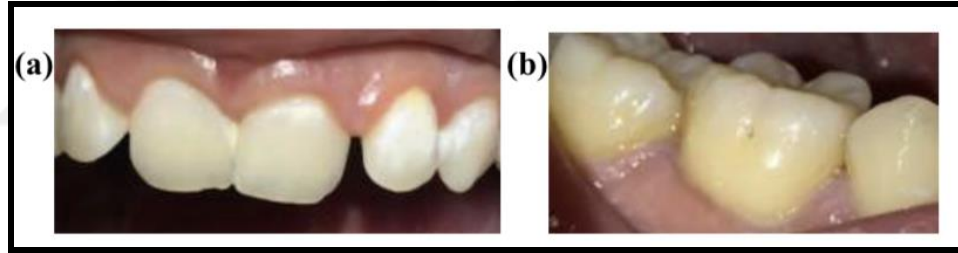
Orta Hindistan'da yapılan bir çalışmada da *Lactobacillus* türlerinin varlığının yaşla birlikte arttığı ve *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*) türünün 3-12 yaş grubunda fazla miktarda bulunabildiği ve çocuklarda çürük gelişimi ile ilişkisinin olabileceği sonucuna varıldığı bildirilmiştir (29). *S. mutans* ve *Lactobacillus* türlerinin dişe tutunabilme ve çürük aşamalarıyla olan ilişkisi Şekil 2-4'te özetlenmiştir (37).



Şekil 2-4: *S. mutans* ve *Lactobacillus* bakteri türlerinin diş çürüğüyle ilişkisi (37).

2.2. Çürük Aktivitesi

Çürük aktivitesi belli bir zaman içerisinde oluşan veya ilerlemekte olan çürük lezyonlarının toplamını ifade etmektedir (40). Aktif çürük, çürük oluşumunun başladığını ve ilerlediğini; inaktif çürük ise çürüğün ilerlemesinin durduğu anlamına gelmektedir (1). Çürük lezyonunun aktif mi inaktif mi olduğu konumuna (plak bulanık bölge veya gingival marjine yakın bölge), görünüşüne (beyaz veya kahverengi, mat veya parlak), yüzey özelliğine (pürüzlü veya pürüzsüz), bütünlüğüne (kavitasyonlu veya kavitasyonsuz) ve sondalamada kanama olup olmamasına bakılarak karar verilebilmektedir. Beyazımsı, mat, pürüzlü yüzeye sahip, kavitasyon bulunan, plak varlığı gösteren ve gingival marjine yakın bulunan çürük lezyonları aktif çürük olarak kabul edilmektedir. Kahverengi, parlak, pürüzsüz yüzeye sahip, kavitasyonsuz, plakla ilişkisi olmayan ve gingival marjinden uzakta bulunan çürük lezyonları inaktif olarak kabul edilmektedir. Aktif ve inaktif çürüğe ait örnekler Şekil 2-5'te yer almaktadır (9).

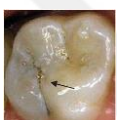


Şekil 2-5: a: Gingival marjine yakın bulunan başlangıç aşamasındaki aktif çürükler, b: Sağ alt çenede yer alan birinci büyük azının bukkal yüzeyindeki pitte yer alan başlangıç aşamasındaki inaktif çürük (9).

Çürüğün özelliklerini ve aktivitesini değerlendirmek için çok çeşitli sınıflamalar geliştirilmiştir ve kullanılabilmektedir. Uluslararası Çürük Tespit ve Değerlendirme Sistemi (ICDAS)'nin klinik uygulamalarda, epidemiyolojik çalışmalarda ve diş hekimliği eğitiminde kullanılması için geliştirdiği sınıflama bunlardan biridir (20). İlk olarak 2002 yılında geliştirilmiştir ve 2005 yılında ICDAS II olarak modifiye edilmiştir. Çürüğün derinliğine göre 0-6 arası skorlar verilmektedir ve bu skorların çürüğün histolojik derinliği ile doğru orantılı olduğu belirtilmektedir. ICDAS II; ICDAS I'e göre lezyonun görünümünü, yüzey özelliklerini, rengini ve yapısını daha spesifik ve ayrıntılı

şekilde değerlendirilmesini sağlayan ek kriterler ve ölçütler içermektedir. Değerlendirme künt uçlu bir sond kullanılarak temiz ve kuru bir diş yüzeyinde yapılmalıdır. Koronal çürükler, kök çürükleri ve fissür örtücü/restorasyonla ilişkili çürükler üzerinde inceleme gerçekleştirilmektedir (41). Çürük lezyonunun şiddetini değerlendirmek ve derecelendirmek için belirlenen genel kriterler ve skorlar Tablo 2-1'de yer almaktadır (20, 42). ICDAS kriterlerine göre mine ve dentindeki çürük lezyonlarının aktivitelerinin değerlendirilme kriterleri ve özellikleri de Tablo 2-2'de görülmektedir (43). ICDAS, yüzey özelliklerine dayanarak çürük lezyonlarının yüzeylerindeki değişiklikleri belirlemekte ve çürüğün potansiyel histolojik derinliğini ölçmektedir. Bu kriterlerle çürüğün ilerleme hızı tahmin edilebilmektedir. Böylece tedavi ve prognozunu etkileyebilecek düzeyde kaliteli bilgiler elde edilmesi sağlanarak çürük yönetimi için planlamalar oluşturulabilmektedir (44). ICDAS'ın 1 ve 2 skorları başlangıç aşamasındaki çürük lezyonlarını ifade etmektedir ve tedavisinde uygun müdahalelerle lezyonun remineralizasyonu sağlanabilmektedir veya lezyon inaktif hale getirilebilmektedir. ICDAS 3 skoru minede kavitasyonun oluşmaya başladığını belirtmektedir. Dişin tedavi edilmediği durumlarda skor ICDAS kriterlerine göre 5 ve 6'ya doğru ilerleyerek operatif işlemlerin yapılmasının gerekli olmasına neden olabilmekte, çürüğün pulpayı da etkilemesi ve daha da ilerlemesiyle dişin kanal tedavisini veya çekimini gerektirebilmektedir (4).

Tablo 2-1: ICDAS kriterlerine göre çürük sınıflandırması (20, 42).

Skorlar	Resimler	Tanımlar
0		Sağlam diş yüzeyi
1		Minede ilk görsel değişim
2		Minede belirgin görsel değişim
3		Dentinde görünür semptom olmayan bölgesel mine kırığı
4		Dentinin altından yansıyan koyu gölgeler (mine kırığı ile veya mine kırığı olmadan)
5		Dentinin gözle görüldüğü belirgin kaviteler
6		Dentinin gözle görüldüğü belirgin geniş kaviteler

Tablo 2-2: ICDAS kriterlerine göre mine ve dentindeki çürük lezyonlarının aktivitelerinin değerlendirilmesi (43).

	Mine		Dentin	
	Aktif çürük	İnaktif/durmuş çürük	Aktif çürük	İnaktif/durmuş çürük
Yuvarlak uçlu sond ile dokunsal muayene	Pürüzlü	Pürüzsüz	Yumuşak	Sert
Görsel muayene	Donuk ve mat, muhtemelen biyofilmle kaplıdır	Parlak	Genellikle daha açık renkte görünür ama kesin değildir ve biyofilmle kaplı olması muhtemeldir	Genellikle daha koyu renkte görünür ama bu durum kesin değildir, üzerinin biyofilm ile kaplı olmaması muhtemeldir

Epidemiyolojik çalışmalarda herhangi bir toplumun çürük durumunu ve sonuçlarını değerlendirmek amacıyla DSÖ tarafından DMF indeksi (D: Decayed=çürük, M: Missing=kaybedilmiş, F: Filling=restorasyon) geliştirilmiştir ancak bu indeksin dezavantajı sadece kavite bulunan çürük lezyonlarının tespitini sağlayabilmesidir (41). DMF-S (S: Surface=yüzey) veya DMF-T (T: Tooth=diş) indeksleri olmak üzere iki farklı şekilde kullanılabilmektedir. DMF-S’de çalışmaya katılan kişilerdeki hesaplanan toplam diş yüzeyine göre değerlendirme yapılırken DMF-T’de toplam diş sayısına göre çürük durumunun ve riskinin değerlendirmesi yapılmaktadır (4). DMF yetişkinlerde sürekli dişleri değerlendirmek için kullanılırken çocuklarda süt dişlerini değerlendirmek için ise dmf indeksi adıyla kullanılmaktadır. 6-12 yaş arası çocuklar hem süt hem sürekli dişleri içeren karışık dişlenme döneminde olduğu ve karışıklıklara yol açabileceği için bu dönemde kullanımından kaçınılması önerilmektedir (45).

2.3. Çürük Riski

Çürük riski aynı koşullar altında belli bir süre içerisinde çürük lezyonunun gelişme veya ilerleme olasılığını ifade etmektedir (1). Bir kişinin çürük riski zaman içerisinde değişebilmektedir çünkü birçok risk faktörü değişkendir (8). Hem bireysel bazda hem de diş bazında risk değerlendirmesi yapılmalıdır çünkü risk değerlendirmesi çürüğün önlenmesi ve tedavi yönetimi açısından önemli bir araç olmaktadır (46, 47).

Amerikan Çocuk Diş Hekimliği Birliği (AAPD) 2022 yılında yayınladığı son revize rehberle yaş gruplarına göre çürük riskini belirlenmesine yardımcı olmayı, mevcut riske göre tedavi seçeneklerinin ve sıklığının bireyselleştirilmesini kolaylaştırmayı hedeflemiştir. Bu amaçla Caries-Risk Assesment (CRA) formlarını geliştirmiştir ve çürük riskinin değerlendirilmesinin çocuğun ilk diş ziyaretinden itibaren kapsamlı tedavi planı oluşturulmasının bir parçası olması gerektiğini belirtmişlerdir. AAPD'nin hazırladığı 0-5 yaş arası çürük riski değerlendirme formu Tablo 2-3'te, 6 yaş ve üzeri olan çocuklar için hazırladığı değerlendirme formu ise Tablo 2-4'te yer almaktadır. Ayrıca Kariogram programı ve Caries Manegement By Risk Assessment (CAMBRA) formu çürük riskinin değerlendirilmesinde kullanılan klinik doğruluğu çalışmalarla kanıtlanmış diğer araçlardandır (46).

Tablo 2-3: AAPD'ye göre 0-5 yaş arası çürük riski değerlendirme formu (46).

Faktörler	Yüksek Risk	Orta Risk	Düşük risk
Sosyal, davranışsal ve medikal risk faktörleri			
- Anne/primer bakıcının aktif çürüğü olması	Evet		
- Ebeveyn/bakıcının sosyoekonomik seviyesinin düşük olması	Evet		
- Çocuğun öğün arası günde 3'ten fazla şeker içerikli atıştırmalıkları yemesi veya içmesi	Evet		
- Çocuğun yatağa doğal ya da şeker ilaveli biberonla yatırılması	Evet		
- Çocuğun göçmen olması		Evet	
- Çocuğun özel sağlık bakımına ihtiyaç duması		Evet	
Klinik risk faktörleri			
- Çocuğun dişleri üzerinde görünür plak varlığı	Evet		
- Çocukta mine defekti bulunması	Evet		
Koruyucu faktörler			
- Çocuk en yüksek floridli içme suyu veya florid katkısı alıyorsa			Evet
- Çocuk dişini günlük olarak florürlü diş macunu ile fırçalıyorsa			Evet
- Çocuk sağlık uzmanlarından florür alıyorsa			Evet
- Çocuk düzenli dental diş bakımına sahipse			Evet

Hastalık indikatörleri

- Çocukta kaviteasyon oluşmamış başlangıç/beyaz nokta lezyonu varsa **Evet**
- Çocukta görünür çürük lezyonları varsa **Evet**
- Çocukta çürüğe bağlı dolgu veya çekilmiş diş varsa **Evet**

Tablo 2-4: AAPD'ye göre 6 yaş ve üzeri çürük riski değerlendirme formu (46).

Faktörler	Yüksek Risk	Orta Risk	Düşük risk
Sosyal, davranışsal ve medikal risk faktörleri			
- Ebeveynin/bakıcının sosyoekonomik seviyesinin düşük olması	Evet		
- Hastanın yemekler arası günde 3'ten fazla şekerli içerikli atıştırmalıkları yemesi veya içmesi	Evet		
- Çocuğun göçmen olması		Evet	
- Hastanın tükürük salgısını azaltıcı ilaç kullanması		Evet	
- Hastanın özel sağlık bakımına ihtiyaç duması		Evet	
Klinik risk faktörleri			
- Hastanın düşük tükürük akışına sahip olması	Evet		
- Çocuğun dişleri üzerinde görünür plak varlığı	Evet		
- Çocukta mine defekti bulunması	Evet		
- Hastada ağız içi apareyler varsa	Evet		
- Hastanın restorasyonlarında defekt varsa	Evet		
Koruyucu faktörler			
- Hasta en yüksek florürlü içme suyu veya florid katkısı alıyorsa			Evet
- Hasta dişini günlük olarak florürülü diş macunu ile fırçalıyorsa			Evet
- Hasta sağlık uzmanlarında florür alıyorsa			Evet
- Hasta düzenli dental diş bakımına sahipse			Evet
Hastalık indikatörleri			
- Hastada arayüz çürükleri mevcutsa	Evet		
- Hastada yeni kaviteasyonsuz beyaz nokta lezyonları varsa	Evet		
- Hastada kaviteasyon oluşmuş yeni çürük	Evet		

lezyonu varsa veya lezyon radyografik olarak dentinde ise	
- Son üç yılda (yeni hastada) veya son bir yılda (kayıtlı hastada) yapılmış yeni restorasyonlar	Evet

CAMBRA, şiddetli EÇÇ'ye sahip çocuklardaki çürük riskinin, riske göre kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerinin ve takip randevularının sıklığının belirlenmesi amacıyla geliştirilmiş kanıta dayalı bir sistemdir (4). 0-6 yaş ve 6 yaş ve üzeri olmak üzere iki ayrı formdan oluşmaktadır. Değerlendirme kriterleri arasında koruyucu faktörler (florür içerikli ürünlerin kullanımı veya %0,12'lik klorheksidin (CHX) gargara kullanımı gibi), biyolojik ve çevresel risk faktörleri (öğün aralarında sık atıştırma, hiposalivasyona neden olan ilaç kullanımı, düşük tükürük akışı, uyuşturucu kullanımı, diş yüzeyinde aşırı plak varlığı, derin pit ve fissürler, ortodontik apareyler gibi) ve hastalık göstergeleri (yeni oluşan kavitasyonlar, başlangıç lezyonları ve son yıllarda yapılmış restorasyonlar gibi) yer almaktadır. Genel sonucu değerlendirmek için sahip olunan her koruyucu faktör için -1, biyolojik ve çevresel risk faktörleri için +2, hastalık göstergeleri için +3 değer verilerek toplama işlemi yapılmaktadır ve hastanın çıkan toplam sonucu -4 ile -1 arasında ise düşük risk, 0 ile +3 arasında ise orta risk, +4 ile +13 arasında ise yüksek risk, +14 ve üzerinde ise çok yüksek risk grubunda yer aldığını göstermektedir (48).

Kariogram, her yaştan hastanın çürük riskinin belirlenmesine yardımcı olan çevrimiçi bir bilgisayar uygulamasıdır. Programa klinik gözlemler, önleyici faktörler ve risk faktörleri girilebilmektedir. Risk yüzdesini hesaplamak için bir algoritma kullanılmaktadır ve hastayı düşük, orta veya yüksek risk grubu olarak sınıflandırmaktadır. Hasta ile ilgili klinik görüşün eklenmesini sağlayan bir bölüm içermektedir (48).

Uluslararası Çürük Sınıflaması ve Yönetim Sistemi (ICCMS), diş dokusunun korunmasını amaçlayan, çürük lezyonunun en doğru ve uygun şekilde kişiye özgü hazırlanan tedavi planlaması ile gerçekleştirilmesini hedefleyen ve ICDAS kriterlerine göre çürüğü değerlendiren bir sistemdir. 4-D (Determine: belirlemek, Detect: saptamak, Decide: karar vermek, Do: yapmak) ile ifade edilen unsurları bulunmaktadır. Öncesinde çürüğün evresi tespit edilip hastanın çürük riski belirlenerek lezyonun aktivitesi ve

şiddetinin saptanması gerekmektedir. Sonrasında kişiselleştirilmiş çürük tedavi planına karar verilerek çürüğü kontrol altına almak için hastaya uygun işlemler ve koruyucu uygulamalar yapılması aşamalarını içermektedir (4).

2.4. Çürük Tedavi Yönetimi

Diş çürüğünün tedavi yönteminde; başlangıç çürük lezyonlarının saptanması, çürük aktivitesinin belirlenmesi, çürük riskinin değerlendirilmesi, yeni çürük lezyonlarının gelişiminin engellenmesi, diş dokusunun korunması ve dişin mümkün olan en uzun süre ağızda tutulmasının sağlanması amaçlanmalıdır (9). Çocuğun yaşına, çürük riskine ve koruyucu işlemlere olan uyumluluğuna göre kişiselleştirilmiş tedavi protokolleri geliştirilmelidir. Bu şekilde oluşturulan tedavi protokollerinin standardize uygulamalardan daha yüksek başarı oranlarına sahip olduğu belirtilmektedir (46).

Çürüğün bakımı, yönetimi ve kontrolünde operatif olmayan ve operatif olan uygulamalar olmak üzere farklı tedavi prosedürleri bulunmaktadır (1). Geleneksel tedavi yaklaşımlarında çürüğün tedavisinin dolgu veya çekimle yapılabilineceği görüşü hakimken artık operatif olmayan uygulamalarla kavitasyonsuz çürüğün aktivitesini azaltmak, ilerlemesini durdurmak ve operatif uygulamaları önlemek hedeflenmektedir (25). Başlangıçta mevcut çürüklerde diş dokusunun uzaklaştırılmasındansa remineralizasyon, biyofilmin uzaklaştırılması ve üzerinin örtülmesi gibi invaziv olmayan yöntemlerle tedavi edilmeye çalışılması önerilmektedir. Kavitasyonlu çürük lezyonları minimal invaziv yaklaşımlarla durudurulmalı, kontrol altına alınmalı ve konservatif bir yaklaşım benimsenmelidir. Tedavi şeklinin belirlenmesinde ve restorasyon yapılıp yapılmayacağına karar verilmesinde çürük lezyonunun ulaşılabilirliği ve temizlenebilirliği önemli olmaktadır. Temizleme araçlarıyla ulaşılabilen kavitasyonlu veya kavitasyonsuz kök çürüklerinde, başlangıç oklüzal çürükleri de dahil olmak üzere beyaz nokta lezyonlarında, arayüzde mine ile sınırlı veya dentine yeni ulaşmış çürük lezyonlarında (genelde kavitasyon göstermemektedirler) restorasyon işlemine gerek olmayabilmektedir. Temizlenemeyen özellikteki kavitasyolu dentin çürükleri ise tek başına remineralizasyon, biyofilmin uzaklaştırılması ve üzerinin örtülmesi gibi yöntemlerle tedavi edilememekte ancak süt dişlenme döneminde temizlenebilir hale dönüşebilecekleri için restorasyona gerek duyulmadan takip edilebilmektedir. Ayrıca bazı araştırmacılar; bitewing (Isırtma) filminde belirgin olarak

görülebilen, ICDAS 3 veya üzeri skora sahip oklüzal çürüklü dişlerin ve kavitasyonlu arayüz çürük lezyonlarının daha invaziv olarak tedavi edilmesini önermektedir (9).

Operatif uygulamalarda çürüğü tedavi etmek için tipik olarak çürük dokusu girişimsel olarak uzaklaştırılarak restoratif uygulamalar ve müdahaleler yapılmaktadır. Operatif olmayan uygulamalar ise yeni çürük lezyonunun oluşmasına ve çürüğün ilerleme hızına müdahale eden girişimsel olmayan tedaviler olarak belirtilmektedir. Temel olarak diyet modifikasyonlarının yapılması, ağız hijyeninin sağlanması, koruyucu fissür örtücülerin uygulanması, florür içerikli ürünlerin kullanımının sağlanması ve profesyonel florür tedavilerinin uygulanması gibi önlemleri içermektedir (1). Bu kapsamda çürüğe sebep olan ana etkenleri ortadan kaldırmak, olası kavite preperasyonunu ve riskini minimize etmek için Minimal İnvaziv Diş hekimliği (MID) uygulamaları geliştirilmiştir (49). MID, çürük lezyonunun kontrolü ile minimal operatif müdahaleyi birleştiren bütünsel bir çürük yönetim felsefesi olarak sunulmaktadır. Ana amaç çürüğün erken teşhisi ve diş dokusunun olabildiğince korunmasıdır. Çürük lezyonunun gelişmesini önlemek için diş yüzeyindeki pit ve fissürler, rezin içerikli materyallerle veya cam iyonomer siman ile örtülebilmektedir. Bazen de çürüğün ilerlemesini engellemek amacıyla çürük lezyonunun üzeri örtülebilmektedir (1). Sodyum Florürün (NaF) %5'lik konsantrasyonlardaki verniği veya %1,23'lik Asidüle Fosfat Florür (APF) jel uygulamaları ve rezin infiltrasyon tedavisi kavitasyon oluşmamış çürük lezyonlarının tedavisinde uygulanabilen invaziv olmayan işlemlerdir (10). CHX ve ksilitol içerikli antimikrobiyal ürünler de tedavide koruyucu olması ve çürük riskinin azaltması amacıyla kullanılabilmektedir (24).

Atravmatik Restoratif Tedaviler (ART); Koruyucu Rezin Restorasyonlar (KRR); sandviç tekniği ile restorasyon; çürüğün selektif olarak uzaklaştırılması; lazer, air abrazyon, sono abrazyon, polimer SmartPrep frezleri gibi aletler ile çürüğün uzaklaştırılması ve restorasyonu aşamalarında MID kapsamında yer alan ve ortaya çıkan uygulamalar olarak bildirilmektedir (49). ART protokolü çürük dokusunun el aletleri ile uzaklaştırıldığı ve yüksek viskoziteli cam iyonomer siman ile restorasyonun gerçekleştirildiği bir uygulamadır. Elektrikle çalışan ekipmanları ve suya erişimi gerektirmemesi avantajları olarak sunulmaktadır (1). ART tekniğinde diş dokusunun mümkün olduğu kadar korunarak ve aynı zamanda çürüğün kolayca uzaklaştırılmasını sağlamak amacıyla sadece çürük dokusunu etkileyen, çürüğün bozularak çözülmesini ve

ekskavatör yardımıyla uzaklaştırılmasını sağlayan kemomekanik çürük temizleme ajanları geliştirilmiştir ve kullanılabilmektedir (49).

Kemomekanik çürük temizleme yöntemi, çürüğe sahip hasarlı diş dokusunun kimyasal bir ajan kullanılarak yumuşatıldıktan sonra çürük dokusunun el aletleri yardımıyla uzaklaştırıldığı invaziv olmayan bir tekniktir. Diş dokusunu korunması, invaziv olmaması, pulpal hassasiyete sebep olmaması, ağrıya neden olmaması ile hastaya konfor sağlaması gibi avantajlara sahip olmaktadır (50). Çocuklar arasında kabul edilebilirliği yüksek bir tedavi seçeneğidir (51). Bu yöntemde kullanılan ajanlar sodyum hipoklorit esaslı ve enzim esaslı olmak üzere iki farklı grupta sınıflandırılmaktadır. Sodyum hipoklorit (NaOCl) esaslı olanlar %5'lik konsantrasyonlarda piyasada bulunmaktadır. GK-101, GK-101E (Caridex) ve Carisolv bu gruptaki ajanlara örnektir (52). Enzim esaslı olanlara ise Papacaire, Biosolv ve Brix3000 örnek olarak verilebilmektedir (51, 52). Çürükten etkilenen dentindeki kollojeninin proteolizini indükleyen enzimatik jel içerebilmektedirler (51).

Çürük oluşumunun erkenden teşhis edilebilmesi, önlenmesi, durdurulması ve demineralizasyon riskinin azaltılması oldukça önemli olan tedavi stratejilerindendir ve bu amaçla çok sayıda çalışma yapılmaktadır ve yöntem geliştirilmektedir (49). Dişte erken dönemlerde meydana gelen demineralizasyon kalsiyum, fosfat ve florür gibi minerallerin alımıyla geri çevrilebilmektedir (8). Remineralizasyon minerallerin demineralize olmuş diş yüzeyine diffuze olmasını ifade eden doğal bir onarım sürecidir (3). Remineralizasyonu arttırmak ve demineralizasyonu engelleyebilmek için çok çeşitli ajanlar geliştirilmiştir ve piyasada bulunmaktadır. Remineralizasyon ajanları florür içerikli ve florür içerikli olmayanlar olmak üzere iki grupta sınıflandırılabilirler. Florür içerikli olmayan remineralizasyon ajanlarına; Alfa Trikalsiyum Fosfat (TCP) ve Beta-TCP (β -TCP), kazein fosfopeptit ve amorf kalsiyum fosfat (CPP-ACP), sodyum kalsiyum fosfosilikat (biyoaktif cam), ksilitol, dikalsiyum fosfat dihidrat (DCPD), nanopartiküller (kalsiyum florür nanoparçacıkları, kalsiyum fosfat bazlı nanomateriyaller, NanoHap partikülleri, ACP nanopartikülleri, nanobiyoaktif materyaller), polidopamin, proantosiyanidin (PA), oligopeptitler, kendiliğinden birleşen peptitler, elektrik alanı ile uyarılmış remineralizasyon, teobramin ve arginin içerikli ürünler örnek olarak verilebilmektedir (53).

2.5. Florür İçerikli Ajanlar

Florür, çürük lezyonlarının remineralize olmasını sağlayabilmekte veya demineralizasyonunu durdurabilmektedir (54). Çürük lezyonundaki kristal yapıları remineralize eden kalsiyum ve fosfatın dişe difüzyonunu sağlayan katalizör gibi çalışmaktadır. Aynı zamanda florür uygulanmış hidroksiapatit veya florapatit kristalleri asit saldırısına karşı çok daha dirençli olmaktadır (8). Florür, karyojenik bakterilerin şekerleri metabolize ederek asit üretilmesini sağlayan glikoliz reaksiyonunu engellemektedir. Daha yüksek konsantrasyonlarda ise bakteriler üzerinde bakterisidal etki göstermektedir (54).

Florürün üç temel uygulanma yöntemi bulunmaktadır: Birincisi toplum bazu olarak suların, sütün ve tuzun florürlenmesidir. İkincisi profesyonel olarak diş hekimleri tarafından florür içerikli jel, köpük ve verniklerin uygulanmasıdır. Üçüncüsü ise bireysel olarak kişinin kendi kendine florürlü diş macunu veya gargara gibi ticari ürünleri kullanması şeklindedir (54). Elli yıl önce florürün sistemik olarak uygulanması çürük önleme programlarının temelini oluşturmaktaydı ancak günümüzde topikal olarak diş üzerine uygulanmasının diş üzerinde daha etkili olduğu bilimsel olarak kanıtlanmıştır. Topikal olarak uygulanan florürün etkinliği konsantrasyonuna, uygulanma süresine ve kullanım sıklığına bağlı olarak değişebilmektedir. Ne kadar yüksek konsantrasyonda ve sık aralıkta uygulanırsa bireyin çürük riski o kadar düşük seviyede olmaktadır. Diş macunlarındaki florürün etkili olabilmesi için içerisindeki konsantrasyonun 1000 ppm'den düşük olmaması gerektiği vurgulanmaktadır (25).

AAPD; tüm yaş ve risk gruplarında yer alan çocukların dişlerini florürlü macunla fırçalamasını ve optimal düzeyde florürlü su içmelerini önermektedir. Orta ve yüksek risk grubunda yer alan 0-5 yaş aralığındaki çocuklara her üç ayda bir profesyonel topikal uygulamalar yapılmasını tavsiye etmektedir. 6 yaş ve üzerinde ise orta risk grubunda yer alanlara 6 ayda bir, yüksek risk grubunda yer alanlara 3 ayda bir yapılmasını önermişlerdir. Florür iyonunu içeren %38'lik GDF solüsyonun her iki yaş aralığında da yüksek risk grubunda yer alan çocukların dişlerine topikal olarak uygulanmasının yararlı olabileceğini belirtmişlerdir (46).

2.6. Gümüş

Gümüş doğada kendiliğinden var olan; binlerce yıldır mücevherlerde ve para biriminde kullanılmakta olan bir elementtir. Daha yakın zamanlarda elektrik ve endüstriyel uygulamalarda kullanılmaya başlanmıştır. Gümüşün iyonize formu (Ag^{+1}) antibakteriyel etkinliğe sahiptir. İnsan üzerinde kanserojen veya mutajen bir etkisi bulunmamaktadır (55). Sağlık sektöründeki uygulanma alanları oldukça geniştir. İlk olarak su dezenfeksiyonu ve depolaması amacıyla kullanılmaya başlandığı tahmin edilmektedir. Eski çağlardaki insanlar suyu taze tutmak amacıyla gümüş kaplarda saklamışlardır. Sonraki dönemlerde gümüş nitratin seyreltilerek kullanıldığı solüsyonların yenidoğan göz enfeksiyonlarının tedavisinde etkili olduğu ve gümüş nitratin yanıkların tedavisinde de kullanılmaya başlamasıyla popülerliğinin gittikçe arttığı rapor edilmiştir (56). Son zamanlarda gümüş iyonu ve bileşiklerini içeren çok sayıda yara pansuman malzemeleri üretilmiştir ve pazarlanmaya devam etmektedir. HIV, kanser, tüberküloz, lupus, frengi, sıtma, apandisit, prostat, akne, sinüzit ve veba gibi birçok hastalığın tedavisinde gümüş içerikli ürünlerin kullanımından yararlanılabilmektedir (55).

Diş hekimliğinde gümüş iyonunun ilk olarak 1840'lerde kullanılmaya başlandığı ve gümüş nitrat bileşiğinin çürük durdurucu ajan olarak dişlere uygulandığı belirtilmektedir. Howe'nin 1917 yılında Howe solüsyonu olarak da bilinen ve antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu belirtilen amonyaklı gümüş nitrat solüsyonunu doğrudan çürükten etkilenmiş dentine uyguladığı bildirilmiştir (56). Çürük kavitelesinin restorasyonunda gümüş içerikli amalgamlar kullanılmıştır ve diş ile amalgam arayüzeyinde koyu renklenmelere sebep olduğu görülmüştür (57). 1960'lı yıllarda gümüş ve florürün ayrı ayrı kullanılmasına göre birlikte uygulanmasının diş üzerindeki yararlı etkilerini arttırabileceği fikri ortaya sürülmüştür (58). Florürün gümüş ile birlikte kullanılmasının remineralize edici etkisini ve karyojenik bakterilere karşı antibakteriyel etkinliğini arttırdığı ve sinerjistik etki sağladığı belirtilmiştir (59). Yirminci yüzyılın sonu ve yirmi birinci yüzyılın başında gümüş florür içerikli solüsyonların çürük lezyonları üzerinde kullanımı ile ilgili çok sayıda *in vivo* ve *in vitro* çalışma yapılmıştır. Bu sayede Japonya, Arjantin ve Meksika'da Gümüş Florür (AgF) içerikli ürünler ticari olarak üretilmeye başlanmıştır (56). Gümüş ve florürün birlikte kullanıldıkları mevcut iki farklı kimyasal formun var olduğu belirtilmektedir: Bunlar AgF ve GDF 'dir. AgF 'nin %40'lık konsantrasyonlardaki solüsyonları ilk olarak Batı Avustralya'da diş çürüklerinin

durdurulması amacıyla çocuklarda kullanılmaya başlanmıştır (58). Creighton CSDS ticari ürünü Avustralya’da geliştirilen ve %40’lık AgF içeren bir solüsyondur (60).

Gümüş florür içerikli solüsyonlara amonyağın eklenmesiyle GDF elde edilmiştir (56). GDF’nin klinik kullanımı 2014 yılında Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından resmen onaylanmıştır (7). Süt dişlerindeki çürüğün durdurulması amacıyla AAPD tarafından da GDF’nin kullanımı kapsamlı çürük tedavisinin bir parçası olarak önerilmektedir. Aynı zamanda DSÖ 2017 yılında EÇÇ’nin durdurulması için GDF solüsyonunun kullanımını tavsiye etmiştir (61). Amerikan Diş Hekimleri Birliği (ADA), 2020 yılında GDF’nin kullanımını desteklediğini belirtmiştir (5). 2021 yılında da DSÖ GDF’yi, hem çocuklar hem yetişkinler için temel ilaçlar listesine almıştır (59).

2.6.1. Gümüş Diamin Florür

GDF ilk olarak 1969’da Japonya’da kullanılmaya başlanılan çürük durdurucu bir solüsyondur (43). $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ ile formülize edilmektedir (62). Gümüş, florür ve amonyum iyonlarının bir arada bulunduğu su gibi renksiz ve kokusuz alkali bir çözeltilidir (43). pH’ı 9-10 arasında değişebilmektedir ve metalik bir tada sahip olduğu belirtilmektedir (59). Solüsyon içerisindeki amonyum iyonları, çözelti içinde stabilize edici bir görev görmektedir (43). GDF’deki Ag^{+1} iyonu, gümüş diamin kompleksi ($\text{Ag}(\text{NH}_3)_2$) oluşturularak stabilize edildiği için GDF’nin saklama süresinin AgF’den daha uzun olduğu belirtilmektedir (62). İçeriğindeki diğer bileşenlerden gümüş iyonu antimikrobiyal etkinliği sağlarken florür iyonu remineralizasyonu desteklemektedir (61). Ayrıca GDF, tükürükte var olan kalsiyum ve fosfat iyonlarıyla reaksiyona girerek dişte florohidroksiapatit üretilmesini sağlayarak kristalleşmeye katkı sağlamaktadır (63).

2.6.1.1. Gümüş Diamin Florürün İçeriği

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış %10, %12, %30 ve %38 oranlarında GDF içeren solüsyonlar piyasada bulunmaktadır (59). Bu konsantrasyonlardan örneğin %38’lik GDF, her 1 ml’de 380 mg GDF varlığını ifade etmektedir (60). GDF’nin %38’lik konsantrasyondaki solüsyonun içinde genel olarak %25 gümüş (253,900 ppm), %8 amonyak, %5 florür (44,800 ppm) ve %62 su bulunduğu belirtilmektedir (59). GDF’nin %30’luk konsantrasyonunda ise 35,400 ppm, %12’lik GDF’nin ise 14,150 ppm florür içerdiği belirtilmektedir (64). GDF solüsyonlarındaki florür ve gümüş

miktarı markadan markaya göre değişkenlik gösterebilmektedir. Bu konu ile ilgili Tenuta ve arkadaşlarının iyon spesifik elektrot ile ölçüm yaptıkları 2017 yılındaki çalışmalarında florür içeriğinin 4,753-53,728 ppm arasında değişebileceğini göstermişlerdir ve en yüksek florür içeriğine sahip GDF içerikli solüsyona sahip ticari ürünün Advantage Arrest (Elevate Oral Care, ABD) olduğunu belirtmişlerdir (57). Yan ve arkadaşlarının farklı dört markaya ait %38'lik GDF solüsyonunun içeriğindeki iyon konsantrasyonlarını değerlendirdikleri çalışmalarında Saforide'nin (Toyo Seiyaku Kasei Co. Ltd., Japonya) 43,233 ppm, Advantage Arrest'in 44,333 ppm, e-SDF'nin (Kids-e-Dental, Hindistan) 51,370 ppm ve Topamine'nin (Dentalife Australia Pty. Ltd., Tayland) 54,400 ppm florür içeriğine sahip olduğunu bulmuşlardır. Yine aynı sırayla gümüş içeriklerinin ise 258,841 ppm, 260,016 ppm, 336,149 ppm ve 319,966 ppm olduğu saptanmıştır (59). Patel ve arkadaşlarının 2021 yılında %38'lik GDF içeren Advantage Arrest, Topamine, Riva Star (SDI Dental Ltd., Avustralya) ve Fagamin (Tedequim SRL, Arjantin) markalı ticari ürünlerini inceledikleri çalışmalarında gümüş içeriklerinin 258,000-415,433 ppm arasında, florür içeriklerinin 44,260-48,107 ppm arasında değiştiğini göstermişlerdir (65). Crystal ve arkadaşları ise 2019 yılında yaptıkları çalışmada aynı Advantage Arrest markasına ait beş farklı şişedeki %38'lik GDF solüsyonunun iyon konsantrasyonlarını inceledikleri çalışmalarında gümüş ve florür içeriğinin şişeden şişeye göre bile aynı markada farklı olabileceğini göstermişlerdir (59). Farklı çalışmalarda ortaya çıkan bu farklılıkların sebebinin ise %38'lik GDF çözeltisinin toplamda %38 olacak şekilde çeşitli değerlerde gümüş, florür ve amonyak kombinasyonlarını içermesi ve bu iyonların ortalama aralıklarda olması nedeniyle her zaman GDF'nin tam olarak %38 konsantrasyonlarda olamayabileceğinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir (5). Literatürlerde belirtilen bu değişken konsantrasyonlar nedeniyle GDF içerikli ürünlerin gümüş ve florür konsantrasyonlarının incelendiği daha çok sayıda çalışmaya ihtiyaç duyulduğu belirtilmektedir (59). Piyasada bulunan GDF içerikli ticari ürünlerin listesi Tablo 2-5'te yer almaktadır (5, 58).

Tablo 2-5: Piyasada bulunan bazı GDF içerikli ticari ürünler (5, 58).

Ürün	% GDF	Üretici Firma	Ülke	Ana içeriği
Advantage Arrest	%38	Elevate Oral Care	ABD	GDF
Bioride	%38	Densply Industria & Comercio Ltd	Brezilya	GDF
Fagamin	%38	Tedequim SRL	Arjantin	GDF

Fluoroplat	%38	NAF Laboratory	Arjantin	GDF
Saforide	%38	Toyo Seiyaku Kasei Co. Ltd.	Japonya	GDF
e-SDF	%38	Kids-e-Dental	Hindistan	GDF
Dengen Caries Arrest	%38	Dengen Dental	Hindistan	GDF
Topamine	%38	Dentalife Australia Pty. Ltd.	Tayland	GDF
Riva Star	%38	SDI Dental Ltd.	Avustralya	GDF ve KI
Cariestop	%30	Biodinamica	Brezilya	GDF
Ancarie	%30	Maquira, Maringa	Brezilya	GDF
Cariestop	%12	Biodinamica	Brezilya	GDF
Ancarie	%12	Maquira, Maringa	Brezilya	GDF
Cariostatic	%10	Inodon Laboratorio	Brezilya	GDF
Saforide RC	%3,8	Toyo Seiyaku Kasei Co. Ltd.	Japonya	GDF

2.6.1.2. Gümüş Diamin Florürün Etki Mekanizması

GDF'nin içerisinde bulunan gümüş ve florür iyonları, karyojenik biyofilm oluşumunu engellemektedir. İçeriğindeki yüksek florür, bakterilerin karbonhidrat metabolizmasında ve şeker alımında görevli enzimleri inhibe etmektedir. Gümüş iyonu bakterilerin hücre duvarına nüfuz edip onları yok ederek, enzimatik aktivitelerini engelleyerek ve DNA replikasyonunu inhibe ederek (bakterisidal etki) GDF'nin antibakteriyel etkinliğine katkı sağlamaktadır (56, 66).

GDF'nin konsantrasyonu ile antibakteriyel etkinliği arasında ilişki olduğu ve konsantrasyon arttıkça antibakteriyel etkinliğin de arttığı belirtilmektedir (67). Yapılan son çalışmalarda %38'lik GDF solüsyonunun yılda 2 kez kullanılmasının %12'lik GDF kullanımından daha etkili olduğunu desteklemektedir (65). Fung ve arkadaşları da 2016 yılında yayınlanan klinik çalışmalarında çürük durdurucu olarak %38'lik GDF'nin %12'lik GDF'den, yılda 2 kez uygulamanın da yılda 1 kez uygulamadan daha etkili olduğunu belirtmişlerdir (68). Yine Fung ve arkadaşları 2018 yılında yayınlanan klinik çalışmalarında %12'lik GDF'nin çürük oluşumunu durdurma etkinliğinin %38'lik GDF solüsyonundan daha az olduğunu bulmuşlardır (69). Tolba ve arkadaşları 2019 yılında yayınladıkları sistematik derleme ile bu sonuçları desteklemiştir (70). Yılda 1 kez uygulanan GDF'nin yılda 2-4 kez uygulanan diğer florür içerikli alternatiflerine göre de daha etkili ve uygun maliyetli olduğu belirtilmektedir (71). Çürük durdurucu etkinliğinin florür içerikli verniklere göre neredeyse iki kat daha fazla olduğunun

saptandığı bildirilmektedir (72). Mabangkhu ve arkadaşlarının altı ayda bir %38'lik GDF solüsyonunun ve %5'lik NaF vernik uygulamasının çürük durdurucu etkinliklerini karşılaştırdıkları klinik çalışmalarında da bu sonuçlar destelenmektedir (73).

GDF'nin dentinin organik matriksindeki kollojenlerin yıkımında ve çürük ilerlemesinde etkili olan kollojenaz enzimlerinden matriks metalloproteinazlar üzerinde inhibe edici etkisi olduğu çoğu çalışma ile desteklenmektedir (67). Ekstrasellüler matriks bileşenlerinin yıkımında görevli olduğu belirtilen proteolitik enzimlerden bir diğeri katepsinlerin de aktivitelerinin matriks metalloproteinazlar ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Çürük oluşumundaki kollajen yıkımı ile ilişkili bulunmuşlardır ve asidik ortamda aktive olmaktadır. GDF'nin yüksek alkalen özelliği katepsinlerin etkisini inhibe edebilmektedir (74). Ayrıca gümüş iyonu biyofilm adezyonunda önemli olan glukoziltransferaz enzimini engelleyerek glukan sentezini inhibe etmekte ve bakterilerin adezyonunu engelleyebilmektedir (75).

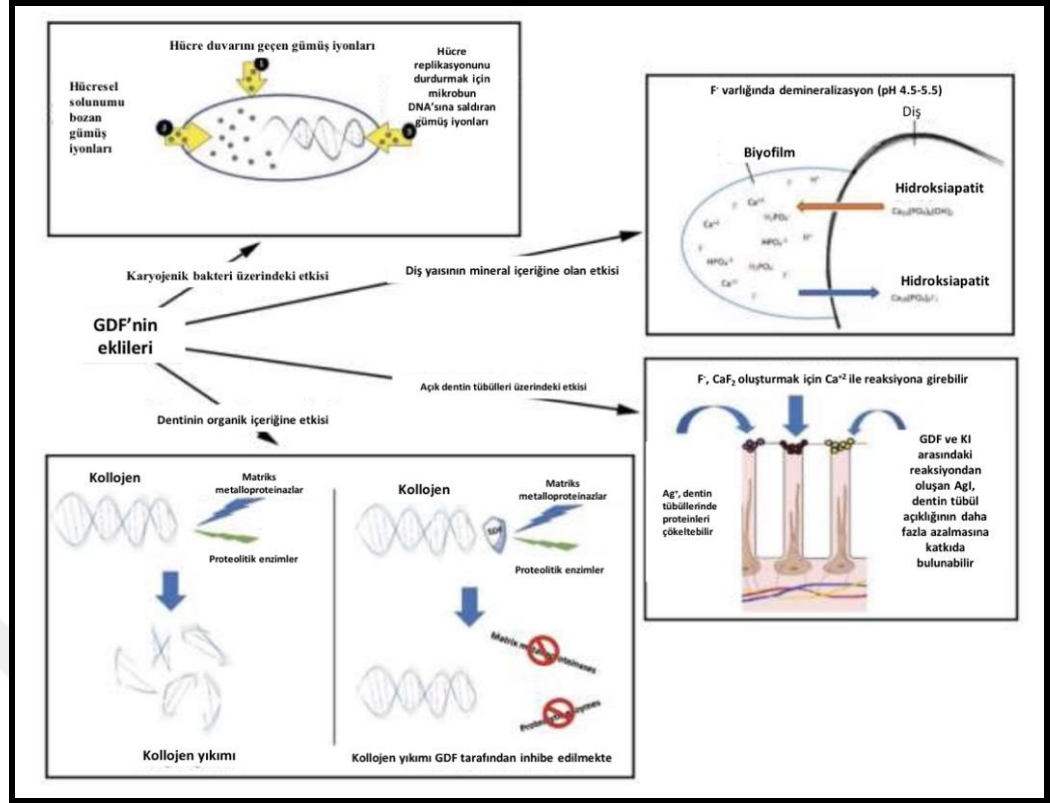
Gümüş iyonu minedeki hidroksiapatit yapısına katılabilmektedir (76). GDF uygulaması sonrasında gümüş klorür ve metalik gümüşün oluşabildiği belirtilmektedir. Aynı zamanda GDF hidroksiapatitle reaksiyona girdiğinde de metalik gümüşün ve kalsiyum florürün (CaF_2) ortaya çıktığı görülmüştür. Mine ve dentin tozunun GDF ile karıştırıldığı çalışmalarda da CaF_2 ve gümüş fosfat (Ag_3PO_4) bileşiklerinin oluştuğu saptanmıştır (66). CaF_2 asidik bir ortamda hidroksiapatitten daha az çözünür olan florapatit oluşturmak için yeterli florürü sağlamaktadır (77). GDF uygulaması sonrasında demineralize lezyon derinliğinde azalma olmaktadır ve kalsiyum ile fosforun emilimini arttırmaktadır (66). GDF solüsyonu ayrıca hidroksiapatitten kalsiyumun çözünmesini engellemektedir. GDF uygulaması sonrasında diş yüzeyindeki plak tarafından absorbe edilen ve plak sıvısında yer alan florür, bakteriler asit ürettiğinde mineye tekrar penetre olabilmektedir (5). Knight ve arkadaşları 2009 yılında yaptıkları çalışmada GDF kullanılan grupta kontrol grubuna göre önemli ölçüde daha yüksek florür alımı olduğunu belirtmişlerdir (78). Yapılan *in vitro* çalışmalar GDF'nin çürük lezyonlarının mikrosertliğini ve mineral yoğunluğunu arttırdığını göstermiştir. Yu ve arkadaşlarının GDF'nin remineralize edici etkisi ile ilgili yaptıkları çalışmanın sonucuna göre GDF ve NaF'ın birlikte uygulamasının GDF'nin tek başına uygulanmasına benzer bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (76).

GDF dentin tübüllerine derin bir şekilde penetre olarak tersiyer dentin oluşumunu indükleyebilmektedir (5). Gümüş ve florür iyonlarının mineye 25 µm, dentine 50-200 µm civarında penetre olabildiği belirtilmektedir (79). Dentin tübüllerine penetre olabilmesine karşı Korwar ve arkadaşları 2015 yılında yaptıkları çalışmada GDF uygulaması sonucunda pulpal inflamasyon görülmediğini belirterek diş pulpasındaki hücresel aktivite de artış olduğunu ve tersiyer dentin oluşumunu arttırdığını doğrulamışlardır (80). Zaeneldin ve arkadaşlarının 2022 yılında yayınlanan sistematik derleme çalışmasında GDF'nin direk pulpa dokusu üzerine uygulanmasının nekroza sebep olduğu belirtilmiştir. İndirekt olarak GDF uygulamasının ise genellikle hafif infalamatuar yanıtı, artan odontoblastik aktiviteye ve tersiyer dentin oluşumuna sebep olmasıyla biyouyumlu özellikte olduğu vurgulanmıştır. Gümüş iyonlarının penetrasyonunun dentin tübülleri boyunca etkili olduğu ancak pulpa içerisinde tespit edilmediği belirtilmiştir (81). Shafi ve arkadaşları da GDF'nin 1:10 seyreltilerek (bir damla GDF, dokuz damla distile su) indirekt pulpa kaplamasında kullanılabileceğini belirtmişlerdir (82).

GDF'nin içeriğindeki gümüş partikülleri ve oluşan kalsiyum florür bileşiği dentin tübül çapını daraltarak ve tübüler sıvı hareketini önemli ölçüde azaltarak dentin hassasiyetini giderebilmesi nedeniyle dentin hassasiyetinin tedavisinde kullanılabilecek güvenilir bir ajan olduğu belirtilmektedir (43, 83). GDF'nin renklenme etkisini azaltmak amacıyla birlikte kullanılabilen KI'nın da dentin geçirgenliğinin azaltılmasındaki yararını arttırabileceği belirtilmektedir (58).

Kısacası GDF diş yüzeyine uygulandığında;

- Dentin tübüllerini bloke ederek diş hassasiyetini gidermesi,
- Dentin tübüllerini bloke etmesiyle ve bakterilerin ölümüne sebep olmasıyla çürüğü durdurması,
- Dentin kollajen yıkımını engellemesi ve demineralize dişin remineralize olmasını sağlaması gibi çok sayıda kimyasal reaksiyon meydana gelmektedir. Şekil 2-6'da bu etkileri özetlenmiştir (43).



Şekil 2-6: GDF'nin biyofilmdeki bakterilere, diş dokusunun mineral içeriğine, açıkta kalan dentin tübüllerine ve dentin kollojen yıkımına olan etkisini özetleyen şematik resim (43).

2.6.1.3. Gümüş Diamin Florürün Endikasyonları ve Kontraendikasyonları

Yüksek çürük riski olan, davranış problemleri gözlenen, tek seansta tedavi edilemeyecek sayıda ön bölgede veya arka bölgede kaviteyonlu çürük lezyonları bulunan hastalarda, dental tedaviye erişimde güçlük çeken veya hizmet alamayan hastalarda ve pulpal etkilenmenin klinik ve radyografik belirtilerinin görülmediği hastalarda GDF kullanımı önerilmektedir (84). Aynı zamanda kuron marjindeki tekrarlayan çürüklerde, furkasyonda yer alan kök çürüklerinde ve tam sürmemiş dişlerde izolasyon, kaviteye erişim ve temizlenebilirlik açısından tedavinin zor olması nedeniyle kullanımı tavsiye edilmektedir (79).

GDF çürük lezyonlarının durdurulmasında, dentin hassasiyetinin giderilmesinde, hipomineralize azı dişlerinin remineralizasyonunda, dental erozyonun tedavisinde, yaygın gingivitisin tedavisinde ve endodontik tedavilerde kök kanal irrigasyon ajanı olarak kullanılabilir (5). Mine ve dentindeki çürük dokusunu kalıcı olarak siyaha boyaması çürük tespit ajanı olarak kullanılabilir (43). Yumuşak

dentinin geride kaldığı veya tamamen uzaklaştırılamadığı durumlarda indirekt pulpa kaplama materyali olarak kullanılabilir (85). Lazerle birlikte kullanımı çürüğün önlenmesinde dentini güçlendirmek için uygulanabilir. Çalışmalarda Er:YAG (2,980 nm) ve CO₂ (10,600 nm) lazer ışınlamasının GDF'deki florürün dentin tarafından alımını arttırabileceği gösterilmiştir (65).

Kök kanal dezenfeksiyonunda %3,8'lik GDF kullanılması önerilmektedir. %38'lik GDF solüsyonunun 1:10 seyreltilmesi anlamına gelmektedir. Saforide markasının %3,8'lik hazır halde kök kanal dezenfeksiyonunda kullanılması için ürettiği ticari solüsyonu piyasada bulunmaktadır. Üretici firma ürünün 24 saat aralıklarla 3 kez tekrarlanarak uygulanmasını önermektedir. Yapılan bir laboratuvar çalışması 60 dakika maruziyetten sonra dirençli endodontik enfeksiyonların sebebi olan *Enterococcus Faecalis* (*E. Faecalis*) üzerinde %100 performans göstererek azalma sağladığını belirtmiştir (58).

Geri dönüşümsüz pulpitis, apse ve fistül belirtileri olan; periradiküler patolojiye ait radyolüseninin görüldüğü dişlerde; oral mukozada ülserasyon, mukozit veya stomatit görülen; gümüş, florüre veya amonyağa alerjisi olan hastalarda uygulanması kontraendikedir. Ayrıca GDF ile birlikte kullanılabilen KI'nında hamile, emziren, tiroid ilacı kullanan, tiroid bezi tedavisi gören, potasyuma veya iyoda karşı alerjisi olan hastalarda kullanılmaması tavsiye edilmektedir (43). Renklenme etkisinden dolayı hasta veya aile tarafından istenmediği durumlarda da uygulanmamalıdır (86).

2.6.1.4. Gümüş Diamin Florürün Uygulama Protokolü

GDF solüsyonu diş yüzeyine topikal olarak uygulanmaktadır (85). Tüm randevu boyunca her hasta için birden fazla damla GDF solüsyonu kullanılması önerilmemektedir (86). Tedavi edilecek dişler kuru olmalı ve pamuk rulolarla izole edilmelidir. Dişetinde tahrişe neden olmaması için vazelin, gingival bariyer veya rubber dam kullanılması önerilmektedir (58). Solüsyonun dentin yüzeyi ile temasını arttırmak için çürük kavitesindeki büyük debrisler uzaklaştırılmalıdır. AAPD tarafından GDF'nin diş yüzeyine 1 dakika süre ile uygulanması ve ardından hafif hava ile kurutulması önerilmektedir. Uygulama sürelerinin klinik çalışmalarda 10 saniye ve 3 dakika arasında değişebildiği belirtilmektedir (84). Klinik çalışmalarda uygulama süresi ve GDF'nin etkinliği arasında bir ilişki bulunmamıştır ancak yine de özellikle ilk kez uygulandığında süreye dikkat edilmesi önerilmektedir ve daha uzun uygulama süresinin

tedavi sonrasında yıkama yapılması durumunda GDF'nin uzaklaştırılma riskini de azaltılabileceği belirtilmektedir (79). Sistemik absorpsiyonu en aza indirmek için uygulama sonrasında fazla GDF'yi pamuk rulo veya gazlı bezle uzaklaştırıp en az 3 dakika daha izolasyona devam edilmesi önerilmektedir (84). Üretici firma önerilerine göre sonrasında hava ile kurutma yapılabilmektedir (72). Uygulama sonrası yıkama yapılması gerekli değildir (60). En son GDF ince bir tabaka halinde %5'lik NaF vernikle kaplanabilmektedir (86). İşlem sonrasında hastanın 30 dakika-1 saat herhangi birşey yiyip içmemesi önerilmektedir (87). Uygulamadan 2-4 hafta sonra çürük lezyonunun ilerlemesinin durup durmadığının kontrol edilmesi ve eğer çürüğün durmamış olduğu tespit edilirse GDF'in tekrar uygulanması önerilmektedir. Etkinliğinin devam etmesi için de altı ay arayla tekrar uygulanması tavsiye edilmektedir (86).

Üretici firmanın önerileri doğrultusunda, GDF'nin ışık geçirmeyen bir şişede saklanması ve çıkarıldıktan sonra en kısa süre içerisinde kullanılması tavsiye edilmektedir. Çünkü GDF ışık aydınlatması altında kararsız hale geçip gümüş iyonlarına ayrılabilir (5). Metal ve camı aşındırabildiği için uygulama sırasında plastik bir godeye konulması önerilmektedir (84).

GDF solüsyonunu uygulamadan önce çürük dokusunun uzaklaştırılmasının zorunlu olmadığı belirtilmektedir (60). Çürüğün uzaklaştırılarak veya uzaklaştırılmadan uygulandığı farklı çalışmalarda etkinlik olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (69). Ancak çürüğün uzaklaştırılması renklenme miktarının azalmasını sağlayabildiği için tercih edilebilmektedir (84). Uygulama sıklığı konusunda görüş birliği bulunmamaktadır (58). Yee ve arkadaşları %12'lik GDF'nin yılda 1 kez uygulanmasının çürükleri önlemede etkisiz olduğunu bulmuşlardır. Yaygın çürüklerin önlenmesi için üç hafta boyunca haftalık olarak %38'lik GDF uygulanmasını tavsiye etmişlerdir. Klinik çalışmalarda ise %38'lik GDF solüsyonu genelde yıllık veya altı aylık periyotlarla uygulanmıştır (58). Uzun dönemli çalışmalarda (otuz ay) GDF'nin yıllık uygulanmasının başlangıçta üç haftalık uygulamalarından daha etkili olduğu bulunmuştur. Ön dişlerde arka dişlere göre daha etkili olduğu bildirilmektedir. Görünür miktarda plak bulunduran büyük çürük lezyonlarını durdurmada ise daha başarısızdır (60).

GDF uygulaması sonrasında dişin restore edilmesi konusunda çok sayıda çalışma yapılmıştır. Son dönemde Gümüş Modifiye Atravmatik Restoratif Teknik

olarak da bilinen SMART protokolü tekrar popüler olmuştur. SMART protokolü, ART tekniği ile çürüğün uzaklaştırılıp GDF solüsyonu uygulandıktan sonra cam iyonomer restorasyon materyali ile restore edilmesi prensibine dayanmaktadır ancak GDF solüsyonu cam iyonomer restorasyon materyalinde renklenmeye sebep olabilmektedir (86). Bu nedenle GDF uygulamasından 2-4 hafta sonra restorasyon işlemine geçilmesini öneren araştırmacılar bulunmaktadır. Çünkü restorasyon işleminin hemen sonra yapılması durumunda, materyal kendi kendine sertleşen bir özellikte olsa bile serbest gümüş iyonları ile reaksiyona girerek zamanla griye dönüşmesine yol açabilmektedir. Aynı zamanda GDF'den hemen sonra ışıkla sertleşen bir materyal tercih edilmesi veya ışık cihazının kullanılması tüm restorasyonun siyaha dönmesine yol açabileceği için klinisyenlerin dikkatli olması önerilmektedir (88). Restorasyonun marjinal adaptasyonunun kötü olması ve adezivın bozulması da restorasyon kenarlarında renk değişikliğine neden olabilmektedir. Bazı cam iyonomer restorasyon materyallerinin uygulaması sonrasında ışıkla polimerize olan rezin örtüleme gerektirmesi de GDF'nin renklenme etkisini artırabilmektedir. Ballıkaya ve arkadaşlarının 2022 yılında yayınlanan ve Büyükazı-Keser Hipomineralizasyonuna (BAKH) sahip azı dişlerinde SMART tekniğini kullanarak cam iyonomer materyali ile restorasyon yaptıkları bir yıllık takipli çalışmalarında; SMART tekniğini, dişin hassasiyetini gidermesi ve çürüğe karşı koruması açısından başarılı bulduklarını belirtmişlerdir (89).

GDF solüsyonunun uygulamasının ardından adeziv ajan ve rezin içerikli restorasyon materyallerinin kullanılmasını tercih eden klinisyenler mevcuttur. Bu konu ile ilgili önerilen farklı uygulama prosedürleri bulunmaktadır. GDF solüsyonunun 1-2 damlası, 10 saniye boyunca diş yüzeyine sürülerek 5 saniye hava ile kurutulup adeziv ajan uygulanabilmektedir. Bir diğer önerilen yöntemde 1-2 damla GDF solüsyonu 10 saniye diş yüzeyine sürülmesinden sonra 1 dakika absorbe olması beklenilip GDF'nin fazla miktarının pamukla alınarak 15 saniye su ile yıkanıp 5 saniye hava ile kurutulduktan sonra adeziv ajanın uygulanarak restorasyon işlemine geçilmesi şeklindedir (90).

GDF uygulamasının dentinin bağlanma gücünü etkilemediği belirtilmektedir (86). Yapılan çalışmalar arasında adeziv ve dolgu materyaline geçilmeden önce GDF solüsyonunun uygulama protokollerinde farklılıklar olduğu görülmektedir. GDF uygulamasının hemen ardından su ile durulanarak veya kendiliğinden hava ile

kurumaya bırakılarak sonrasında restorasyon işlemine geçildiği çalışmalar bulunmaktadır. Klinik pratikte ise genelde GDF dentin yüzeyine uygulandıktan hemen sonra su ile yıkama yapılmamaktadır veya hava ile kurutulması tükürük ve nem varlığı nedeniyle çok anlamlı olmamaktadır (87). Knight ve arkadaşları 2006 yılında yaptıkları çalışmada GDF'nin hava ile kurutulduktan sonra cam iyonomer restorasyon materyalinin uygulandığı grupta dentine bağlantıda önemli ölçüde azalma görüldüğünü ve GDF'nin su ile durulandığı grupta ise bağlanmaya bir etkisinin olmadığını bulduklarını açıklamışlardır (91). Zahao ve arkadaşları 2019 yılında yaptıkları çalışmada ise GDF uygulamasının, cam iyonomer materyalinin bağlantısını olumsuz etkilemediğini belirtmişlerdir (92). Puwanawiroj ve arkadaşları da benzer şekilde 2018 yılında yaptıkları çalışmada GDF uygulamasının cam iyonomer restorasyon materyali ve çürük süt dişi dentini arasındaki bağlantıyı olumsuz etkilemediğini bildirmişlerdir (93). Lutgen ve arkadaşları 2018 yılında yaptıkları çalışmada GDF'nin, adeziv ajanın dentinle bağlantısını olumsuz etkilediğini ve su ile yıkamanın bağlantıyı olumlu yönde etkilediğini belirtmişlerdir (90). Konu ile ilgili 2020 yılında yayınlanan sistematik derleme sonucuna göre ise dahil edilen çalışmaların koşullarının değişkenliği nedeniyle GDF'nin adeziv ajanların dentine bağlantısı üzerine etkisi konusunda kesin sonuç çıkarılamayacağı belirtilmiştir (87).

2.6.1.5. Gümüş Diamin Florürün Avantajları ve Dezavantajları

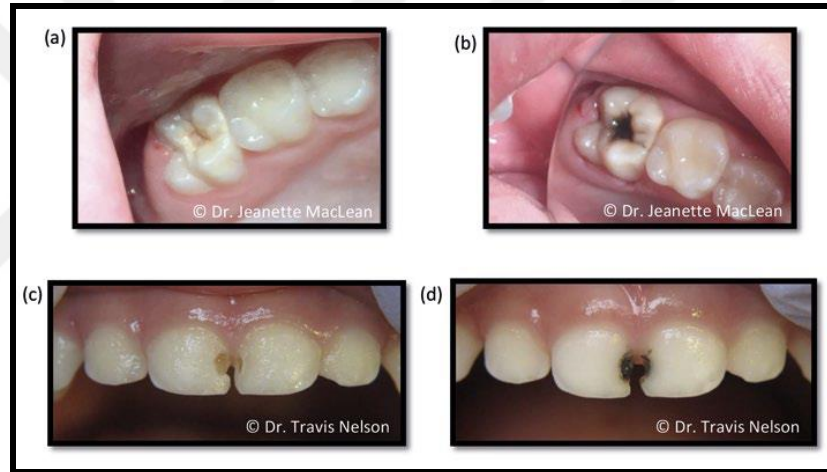
GDF'nin avantajları;

- Etkili, hızlı, güvenilir ve uygulaması basit bir solüsyondur.
- Yeni çürük lezyonlarının oluşmasını engellemekte ve mevcut çürük lezyonlarının ilerlemesinin durdurulmasını sağlamaktadır (58).
- Lokal anestezi uygulaması gerektirmemektedir.
- Minimum hasta kooperasyonu gerektirmektedir (86).
- Çürüğün non-operatif tedavisinde kullanılmaktadır (75).
- Minimal invazivdir ve ağrıya sebep olmamaktadır.
- Restorasyonlarda sekonder çürük oluşumunu engellemektedir (60).

- Aerosol üretimine neden olmamakta, düşük çapraz enfeksiyon riski göstermekte, komplike materyal kullanımı gerektirmemekte ve maliyetinin ucuz olduğu belirtilmektedir (59).

GDF'nin dezavantajları;

- Aktif çürük lezyonlarına uygulandıktan sonra kalıcı siyah lekelenmelere sebep olması en önemli dezavantajı olarak bildirilmektedir. Bu lekeler özellikle ön bölge dişlerde daha da net bir şekilde göze çarpmaktadır (94). Lekelenmelerin uygulamadan sonra 2 dakika içerisinde ortaya çıktığı ve 6 saat içerisinde şiddetini arttırdığı belirtilmektedir (75). İstenmeyen bu etkiyi ortadan kaldırmak için GDF uyguladıktan hemen sonra KI uygulanması düşünülmüştür (94). Şekil 2-7'de GDF'nin siyah renklenmeye sebep olan etkisi görülmektedir (43).



Şekil 2-7: a-c: GDF uygulaması öncesi b-d: GDF uygulaması sonrası (43).

- Yayınlanan raporların çoğunda mine ve dentindeki çürük dokusunu boyadığını desteklese de sağlıklı minenin GDF ile geçici veya kalıcı olarak boyandığını bildiren çalışmalar da bulunmaktadır. Bu durum önceden çürüğü bulunmayan ama yüksek çürük riskine sahip olan çocukların belirlenmesinde yararlı olabilmektedir (95).
- İnflame dokuya veya dile temas etmesi yanma hissine neden olabilmektedir (88). Yumuşak dokunun yeterince korunmadığı durumlarda ülseratif gingivitisin görüldüğü ancak 48 saat içerisinde düzeldiği belirtilmiştir (96).

- Oral mukoza ile teması sonrasında geçici kına görünümünde lekeler oluşmasına neden olabilmektedir (94). Ciltte leke oluşursa hemen su ile yıkanması veya tuzlu bir bulamaçla silinmesi önerilmektedir. Eğer geçmezse kına gibi davrandığı belirtilmektedir (43). Dermis gümüşü absorbe edemediği için 14 gün içinde keratokistler döküldüğünde lekelerin de kaybolması beklenmektedir.
- Giysilerde veya eşyalarda kalıcı lekelerle sebep olabilmektedir (94).

2.6.1.6. Gümüş Diamin Florürün Güvenilirliği ve Toksisitesi

GDF, 3800'den fazla kişide uygulandığı ve hiçbir ciddi yan etki ile karşılaşmadığı bildirilmiştir (60). 11,3 mg florür içeren %5'lik NaF vernik ile karşılaştırıldığında bir damlası 2,24 mg florür içermektedir ve yılda 2 kez yapılan uygulamalarda florozis riski taşımadığı bildirilmiştir (43). Ancak Gotjamanos ve Ma'nın 2000 yılında %4'lük AgF solüsyonu ile sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmanın sonucunda dental florozis oluşumuna neden olabileceği belirtilmiştir (97).

Serumdaki florür ve gümüş konsantrasyonları incelendiğinde GDF'nin belli aralıklarla topikal olarak uygulanmasının toksisite açısından riskinin çok düşük olduğu görülmüştür (98). Küçük bir çocukta bile GDF solüsyonunun uygulanmasının güvenilir olduğu çalışmalarla desteklenmiştir. Sıçanlarda yapılan çalışmalarda gümüşün oral yolla ve subkütan olarak alındığındaki letal dozlarının sırasıyla 520 ve 380 mg/kg olarak belirtilmiştir (99). Subkütan uygulamadaki 380 mg/kg doz, en kötü senaryo olduğu için maksimum doz hesaplamasında esas alınmaktadır. GDF'nin bir damlası (25 µl) 5 diş tedavi edebilecek miktardadır ve 9,5 mg GDF içermektedir. Çürüğe sahip en küçük çocuğun 10 kg ağırlığa sahip olduğu düşünülürse GDF'nin maksimum dozu 0,95 mg/kg'dan hesaplanabilmektedir ve 380 mg/kg'a göre 400 kat daha güvenilir olduğu bildirilmektedir. Uygulanan gerçek dozların ise çok daha az olması muhtemeldir. Örneğin 6 hastada 3 dişte uygulanan GDF için ölçülen en yüksek doz 2,37 mg ($2,37/3=0,79$)'dır. Horst ve arkadaşları her randevuda 10 kg başına bir damla GDF solüsyonunun azami haftalık aralıklarla uygulamasının güvenilir olduğunu açıklamışlardır (79). Farklı bir çalışmada ise %38'lik GDF solüsyonu ile diş başına uygulanan gümüş miktarının 0,5 mg olabileceği belirtilmiştir. Bu durumda 10 kg olan bir çocuğun 20 dişine de uygulanırsa alacağı gümüş miktarı 10 mg'dır ve hastanın da en az 10 kg ağırlığında olacağı düşünülürse GDF'nin %38'lik konsantrasyonunda gümüş için maksimum doz 1 mg/kg'dan hesaplanması önerilebilmektedir. Subkütanöz letal doz

baz alındığında, 10 kg ağırlığındaki bir çocuğun 20 dişinde çürük olması durumunda bile GDF'nin güvenle kullanılabileceğini göstermektedir (99).

Herbir diş için %38'lik GDF solüsyonun uygulamasındaki ortalama florür miktarı 0,33 mg'dır. Florürün muhtemel toksik dozu 5 mg/kg'dan hesaplanmaktadır. Örneğin 10 kg ağırlığındaki bir çocuğun 20 dişinde de çürük varsa, %38'lik GDF uygulaması ile alacağı florür miktarı $20 \times 0,33 = 6,6$ mg'dır. Yine hastanın en az 10 kg olacağı düşünülürse %38'lik GDF'deki florür için maksimum doz 0,66 mg/kg'dan hesaplanabilmektedir (99). Bir damla GDF'ye oral yoldan maruz kalmak, 0,25 ml florür vernikten daha düşük bir miktarda florür iyon konsantrasyonuna neden olduğu belirtilmektedir (84).

2.6.1.7. Glutasyon ve Potasyum İyodür

GDF'nin renklenme etkisini önlemek veya azaltmak için Glutasyon (GSH) veya KI gibi bileşiklerle birlikte kullanımı geliştirilmiştir. GSH insan hücrelerinde yaygın olarak bulunan indirgeciyi bir ajandır ve antioksidan özelliğe sahiptir. Gümüş iyonlarının etrafında bir tabaka oluşturup muhafaza ederek salınımını azaltmaktadır. GDF ile karıştırılarak diş yüzeyine uygulanmaktadır (100). KI; beyaz veya şeffaf, altı yüzlü kristaller oluşturan, %76 iyot ve %23 potasyumdan oluşan bir tuzdur. Işığa oldukça duyarlıdır, kısmen higroskopiktir ve suda çözünmektedir. İdeal KI konsantrasyonun hangi oranlarda olması gerektiği net olarak bilinmemektedir (75). KI çözeltilisinin %10'luk konsantrasyonunun GDF ile kullanımının renklenmeyi etkili bir şekilde azaltabileceği *in vitro* olarak gösterilmiştir (101). Aynı zamanda bazı çalışmalar her milimetrede 1 g KI içeren doymuş bir çözelti hazırlamanın siyah renklenmeyi azaltmada etkili olduğunu bildirmektedir. KI'nın GDF'deki gümüş iyonları ile etkileşime girmesiyle oluşan sarımsı beyaz renkteki AgI sayesinde GDF'nin renklenme etkisini azalttığı belirtilmektedir. Oluşan AgI çökeltisi suda çözünmemekte ve dişte siyah renklenmeye sebep olmamaktadır (75).

KI'nın GDF'den sonra uygulanması sırasında başlangıçta beyaz bir çökelti oluştuğu görülmektedir. Bu çökelti renksiz hale gelene kadar uygulamaya devam edilmesi önerilmektedir. Sonrasında ise çökelti su ile yıkanarak uzaklaştırılmaktadır. Şekil 2-8'de mikro fırça ile yapılan KI uygulaması ve oluşan beyaz renkteki çökelti görülmektedir (56).



Şekil 2-8: Mikrofirça ile KI'nın uygulanması ve beyaz çökeltinin oluşması (56).

KI, GDF'nin içeriğindeki gümüş iyonlarına etki ettiği için antibakteriyel ve çürük durdurucu etkinliğini engelleyebileceğini veya azaltabileceğini belirten görüşler vardır (102). Aynı zamanda KI'nın kullanımı metalik tada, salgı bezlerinde şişmeye, mide bulantısına, ishala, kusmaya, baş ağrısına, alerjik reaksiyonlara, yumuşak doku ile temasında deskuamasyona neden olabilmektedir (75).

SDI markasına ait Riva Star, GDF/KI içermekte ve hazır halde piyasada bulunmaktadır. Riva Star ürünü biri gri diğeri yeşil renkteki iki adet kapsülden oluşmaktadır. Gri olan %38'lik GDF, yeşil olan KI içermektedir. Berrak olduğu için ciltte sebep olabileceği renklenme etkisinin hemen görülmesi zordur ve ortaya çıkması 30-60 dakikayı alabileceğinden dikkatli olunması tavsiye edilmektedir (43).

Son dönemde GDF'nin renklenme etkisinin önüne geçebilmek için alternatif olarak nanogümüş partiküllerinin kullanımı düşünülmüştür ve bu amaçla NGF içerikli solüsyonlar üretilmeye çalışılmaktadır. Partiküllerinin boyutu sayesinde bakteriyel matriksin içine kolayca girebilmesiyle yüksek antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu bilinmektedir ancak rutin olarak klinikte kullanılabilmesi için çok sayıda çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (57, 61).

2.6.2. Nanogümüş Florür

Nanoteknoloji, nanometre ölçeğinde (1 nm ile 100 nm) şekil ve boyutun kontrol edilerek yapıların, cihazların ve sistemlerin dizayn edilmesini, karakterizasyonunu ve uygulamasını ifade etmektedir. Bilim ve teknolojiye çeşitli uygulama alanları bulunduran ve gelişmekte olan bir alandır. Bu teknoloji ile biyomedikal alanda kullanılabilecek özgün özelliklere sahip nanopartiküllü parçacıklar

geliştirilebilmektedir. 20 ile 15,000 arasında gümüş atomu barındırabilen Gümüş Nanopartikülleri (AgNPs) de bunların en popüler olanlarından ve çapları genellikle 100 nm'den küçük olmaktadır. Sahip oldukları büyük yüzey-hacim oranı nedeniyle düşük konsantrasyonlarda bile olağanüstü antibakteriyel etkinliğe sahip olabilecekleri belirtilmektedir. İlaç dağıtımı, tıbbi görüntüleme, moleküler teşhis, cerrahi yama, yapay eklem replansmanlarının imalatı, yara sargısı ve yara iyileşmesini destekleyen ilaçlarda kullanılmaktadır (103). Diş hekimliğinde ise antibakteriyel ajan olarak, hareketli protezlerin akriliklerinde, dolgu materyali olan kompozit rezinlerin içerisinde, kanal tedavisinde yıkama solüsyonu olarak veya dolum materyallerinin içerisinde, periodontal tedavide, ortodontide simanlarda ve adezivlerde, dental implantlarda ve oral kanserlerin tedavisinde kullanılabilmektedir (104). Nanogümüş partikülleri içeren endodontik yıkama solüsyonlarından etkili ve iyi sonuçlar alındığı belirtilmektedir (64).

GDF'nin dişlerde renklenmeye, mukozada ülserasyonlara ve ciltte lekelerle neden olması gibi dezavantajlarına karşılık gelişen nanoteknolojik uygulamalar deneysel bir solüsyon olan NGF'nin ortaya çıkmasını sağlamıştır (6). AgNPs, kitosan ve florür içeren, toksisiteye neden olmayan çürük durdurucu bir ajan olarak belirtilmektedir (105). İçeriğindeki gümüş partiküllerinin boyutu ve oksidasyona uğramaması sayesinde renklenmeye neden olmamaktadır (106). Sarı renklidir ve üretildikten sonra üç yıl boyunca stabil olarak kalabilmektedir (107). Bakterisidal ve bakteriostatik etkinliğe sahip bir bileşiktir (108). Sodyum borohidrit hazırlamasında indirgeyici madde olarak eklenebilmektedir. Bazı araştırmacılar ise toksisite riskini azaltmak için sodyum borohidrit yerine indirgeyici olarak Polietilen Glikol (PEG) kullanımını önermiştir. PEG'in AgNPs'nin yüksek konsantrasyonlarda bile stabilitesini arttırdığı, daha çok güvenilir olduğu ve oksitlenme olasılığını daha da azalttığı belirtilmektedir (6).

2.6.2.1. Nanogümüş Florürün Etki Mekanizması

NGF'nin çürük durdurucu etkinliği içeriğinde yer alan kitosan, gümüş nanopartikülleri ve florürün bir aradaki sinerjik etkisinden kaynaklanmaktadır. Çalışmalarda *S. mutans* ve *Lactobacillus*'lara karşı yüksek antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir. Çürük durdurucu etkinliğinin GDF ile benzer olduğu belirtilmektedir. Nanopartiküllerin $3,2 \pm 1,2$ nm boyutlarda ve küresel şekilde olması bakterilerle olan temas yüzeyini arttırmaktadır (107). Yani gümüş nanopartiküllerinin

boyutu küçüldükçe antibakteriyel etkinliğinin arttığı ifade edilmektedir (108). Nanopartiküllerin boyutlarının 50 nm'den büyük olması durumunda biyofilme nüfuz edemedikleri ve bunun nanopartikül çapının karesi ile katlanarak azaldığı belirtilmektedir. Yüklü nanopartiküllerin de bakteri hücre yüzeyine elektronegatiflik veren fosforil ve karboksil gruplarının varlığından dolayı biyofilm boyunca kolayca dağılamayacağı ifade edilmektedir (109).

AgNPs'nin antibakteriyel etkinliğinin CHX'den 25 kat daha fazla olduğu, antifungal ve antiviral etkinliğe de sahip olduğu belirtilmektedir. Nanogümüş partiküllerinin dahil edildikleri florür verniklerinin kontrol gruplarına göre çürük durdurucu etkinliklerinin daha iyi olduğu da gösterilmiştir (64). Gümüş nanopartiküllerini demineralize alana sızarak bölgede çökmesiyle minenin sertliğinde ve asit ataklarına karşı direncinde artışa neden olması avantajlarıdır (6).

Nanogümüş, biyofilmi oluşturan bakterilerin büyümesini baskılayarak plak ve biyofilm oluşumunu engelleme yeteneğine sahiptir. Nanometre ölçeğindeki boyutları sayesinde bakterilerle geniş bir temas alanı elde edebilmektedir ve bakterilerin hücre zarına bağlanarak içine nüfuz etmektedir. Bakterilerin mitokondrisindeki solunum zincirine saldırarak hücre ölümüne yol açmaktadır. Hücre içinde serbest radikaller oluşturarak DNA replikasyonunu engellemektedirler (64). DNA'da yer alan kükürt ve fosfor gruplarına bağlanarak DNA'nın hasara uğramasına neden olmaktadır (6).

NGF'nin içeriğinde bulunan ve karides kabuklarından elde edilen bir polisakkarit olan kitinin deasetilasyonu ile elde edilen biyoyouymlu, biyolojik olarak parçalanabilen ve toksik olmayan bir polimer olan kitosan, *S. mutans* ve *S. sanguis* dahil olmak üzere geniş bir bakteri spektrumuna karşı antibakteriyel aktiviteye sahiptir (108). Diş minesindeki minerallerin salınmasını engelleyerek demineralizasyonu önleme potansiyeline sahip olmaktadır (6).

NGF'nin içeriğinde bulunan ana bileşenler aşağıda sıralanmıştır;

- Kitosan: Kolloidin stabilizatör maddesi,
- Gümüş nanopartiküller,
- Sodyum florür (110).

2.6.2.2. Nanogümüş Florürün Uygulama Protokolü ve Avantajları

Farklı klinik çalışmalarda farklı uygulamalar yapılabildiği görülmektedir. Enfekte çürük dokusunun uzaklaştırılmasına gerek duyulmamaktadır. Dişetine vazelin sürülebilir veya pamuk rulolarla izolasyon sağlanabilmektedir (111). Bir damla NGF solüsyonu plastik gode içerisine alınmalı ve uygulanacak diş yüzeyi hafifçe hava ile kurulanmaktadır. NGF solüsyonunun en az bir dakika diş yüzeyi ile temas etmesi sağlanmalıdır. Fazlası, sistemik absorpsiyonu önlemek için pamuk peletlerle uzaklaştırılmalıdır. Uygulama sonrasında 1 saat bir şey yiyilip içilmesi önerilmemektedir (112) Spontan ağrısı olan ve pulpal inflamasyona ait bulgular taşıyan hastalara uygulanmamaktadır (113).

NGF uygulaması sonrasında çürüğün sertleştiği ve kolayca ufalanan bir kıvam aldığı görülmektedir. Şekil 2-9'da NGF uygulanan dişin 12 ay sonraki görüntüsü yer almaktadır (107).



Şekil 2-9: NGF ile tedavi edilen dişlerin 12 ay sonraki görüntüsü (107).

NGF ve %38'lik GDF solüsyonlarının uygulamasının, fissür örtücülerin bağlantısına olan etkilerinin incelendiği El-Tekeya ve arkadaşlarının 2020 yılında yaptıkları *in vitro* çalışmada; %38'lik GDF uygulanan grupta solüsyon diş yüzeyine uygulandıktan sonra nemli pamukla silinip hava ile kurutulmuştur. NGF ise su ile yıkandıktan sonra hava ile kurutulmuştur ve sonrasında asit ve bond işlemlerine geçilerek fissür örtücü uygulaması tamamlanmıştır. Çalışmanın sonucunda NGF ve GDF'nin bağlantıyı olumsuz etkilemediği bildirilmiştir (114).

- Uygulaması basit, non-invaziv ve ucuzdur (105). Tirupathi ve arkadaşları 2019 yılında yaptıkları çalışmalarında %5'lik NGF verniğinin, %38'lik GDF solüsyonuna göre sekiz kat daha ekonomik olduğunu belirtmişlerdir (110).

- Komplike ekipman kullanımı gerektirmemektedir.
- Çapraz enfeksiyon riskini azaltmaktadır (107).
- Canlı hücreler üzerinde toksik olmadığı bildirilmektedir.
- Yumuşak doku irritasyonuna neden olmamaktadır.
- Antibakteriyel özellikte çürük durdurucu ajandır.
- Remineralizasyonu desteklemektedir (6).
- Çevre dostudur.
- GDF'den farklı olarak metalik tada sahip değildir.
- GDF'den farklı olarak bulunduğu ortamdaki oksijen ile reaksiyona girmemekte, oksit oluşturmamakta ve renklenmeye sebep olmamaktadır (107).

Uygulama sonrasında dişlerin hafifçe sarı görünmesine neden olabilmektedirler (108). Espíndola ve arkadaşları da 2020 yılında yaptıkları *in vitro* çalışmalarında NGF uygulamasından 2 hafta sonra sarımsı lekeler fark edildiğini ancak bu lekelerin gazlı bez veya fırça ile kolayca çıkabildiğini belirtmişlerdir (106).

- Gümüş alerjisi bulunan kişilerde uygulanmamalıdır (112).
- Gelecekte içeriğinin ve konsantrasyonun standardize edilerek daha ulaşılabilir hazır bir ürün oluşturulabilmesi için çalışmaların devam etmesi gerekmektedir (6).

2.6.2.3. Nanogümüş Florürün Güvenilirliği ve Toksisitesi

Dental materyallerde kullanılan konsantrasyonlara göre şimdiye kadar NGF ile ilgili herhangi bir toksisite ve yan etki bildirilmemiştir. Hatta nanogümüşün toksisitesinin farklı materyallerle karşılaştırıldığı bazı çalışmalarda daha düşük sitotoksositeye sahip olduğu belirtilmiştir (64). Targino ve arkadaşları da ürettikleri 12,880 µg/ml NGF içerikli deneysel solüsyonun toksik olmadığını ve %38'lik GDF solüsyonundan daha biyouyumlu olduğunu açıklamışlardır (108). Freire ve arkadaşları 2015 yılında yaptıkları *in vitro* çalışma ile NGF'nin toksisite riskinin düşük olduğunu ifade etmişlerdir (115). Ancak GDF'nin topikal kullanımının serumdaki florür ve gümüş iyonlarının konsantrasyonlarındaki neden olabileceği artışla ilgili yapılan çalışmalardaki göstergelerin, NGF için nasıl olduğu henüz kesin olarak açıklığa kavuşturulmamış

olduğu da belirtilmektedir (107). Nanogümüş partiküllerinin toksisitesi, ortamda salınan serbest Ag^+ iyonlarının aktivitesi ile ilişkilidir ve kan-beyin bariyerini geçme ihtimalleri ayrı bir endişe oluşturabilmektedir (109).

Gümüş iyonu dışkı ile atılmaktadır ancak böbrek ve karaciğer gibi bazı organlarda birikebilmektedir. Sıçanlarda yapılan bir *in vivo* çalışmada uygulanmasından sonra tüm organlarda saptandığı, en çok karaciğer ve dalakta bulunduğu, sekiz hafta sonra beyin ve testisler hariç çoğu organdan temizlendiği görülmüştür. Sıçanlarda AgNPs'lerin oral yoldan uygulanmasıyla yapılan başka bir çalışmada da hiçbir olumsuz etkinin görülmediği dozun 30 mg/kg'dan, en düşük yan etkinin görüldüğü dozun ise 125 mg/kg'dan hesaplanabileceği belirtilmiştir. Başka bir çalışmanın sonucuna göre ise 5-10 nm boyutundaki gümüş nanopartiküllerin 20 µg/kg/gün olacak şekilde veya 25-45 nm boyutundaki gümüş nanopartiküllerin 96 µg/kg/gün olacak şekilde kullanılmasının klinik olarak gözlemlenebilir toksik bir etki oluşturmadığı ifade edilmiştir (109).

2.7. *İn Vitro* Çalışmalarda Görüntüleme için Kullanılabilen Cihazlar

2.7.1. Taramalı Elektron Mikroskobu

Elektron mikroskopları biyolojik örneklerin incelenmesi ve değerlendirilmesi için önemli bir görüntüleme aracı olarak bildirilmektedir. Çok sayıda elektron mikroskopi çeşitleri var olmakla birlikte diş hekimliğinde günümüzde sıklıkla taramalı elektron mikroskoplarının (SEM) kullanımı tercih edilmektedir (116).

SEM, çeşitli biyolojik yapıların topografik olarak görselleştirilmesini ve bu sayede yüksek kalitede görüntüler elde edilmesine olanak tanıyan bir elektron mikroskobu çeşididir. Numune yüzeyinden çeşitli oranlarda büyütme sağlayarak üç boyutlu gerçekçi görüntülerin elde edilmesini sağlamaktadır. Sert yüzeylerden yüksek çözünürlükte görüntüler elde edebilme özelliğiyle diş minesinin yüzeyinin veya iç yapısının incelenmesinde de oldukça uygun bir yöntem olduğu belirtilmektedir (117, 118). İlk kez 1965 yılında mine yüzeyindeki değişimlerin ayrıntılı olarak incelenmesi amacıyla kullanılmıştır ve günümüzde de bir çok *in vitro* çalışmada altın standart olarak kabul edilmektedir (119).

Görüntüleri birleştirebilme özelliği, ayırım gücünün ve odak derinliğinin yüksek olması diğer mikroskoplara göre avantaj sağlamaktadır. Son teknolojik gelişmelerle

ayırım gücü 0,05 nm'ye kadar azaltılmıştır ve büyütme olanaklarının x5000-300000 arasında değişebileceği belirtilmektedir. Çalışma prensibinde görüntüleme sistemi, numune hücresi ve optik kolon kısımları yer almaktadır. Yüksek voltaj ile elektronların örnek üzerine odaklanması sonrasında bu elektron demetlerinin örnek üzerinde taranması ve oluşan etkilerin kaydedilmesi prosedürleri ile çalışmaktadır (120).

2.7.2. Transmisyon Elektron Mikroskopu

İlk olarak 1931 yılında Max Knoll ve Ernst Ruska tarafından geliştirilmiştir (121). TEM elektronların belirli bir numenin içinden geçmesi prensibiyle çalışmaktadır, yüksek çözünürlükte görüntüler elde edilebilmektedir ve transmisyon modunda çalışmaktadır. Atomik düzeyde çözünürlük sağlanmaktadır (116). Numunenin içinden geçen elektronların geçirdikleri etkileşimler floresans gibi ekranlara, fotoğrafik film katmanına veya CCD kamerası gibi bir sensör üzerine odaklanmaktadır. Siyah-beyaz bir görüntü elde edilmektedir (121).

Numunenin içinin detaylı olarak incelenmesine katkı sağlamaktadır. Geniş bir uygulama alanına sahiptir. Nanomedikal araştırmalarda ve incelemelerde yaygın olarak kullanılmaktadır ve nanopartiküller yapılar hakkında detaylı bilgiler vermektedir. Elektron ışınının sahip olduğu çok kısa dalga boyu sayesinde 0,2 nm'ye sahip çözünürlükte bile görüntülemeler yapılabilmektedir (122).

2.7.3. Lazer Taramalı Konfokal Mikroskop

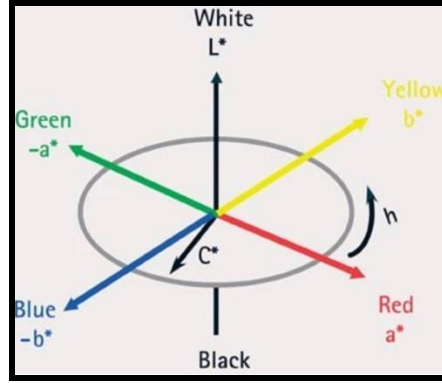
İlk olarak Marvin Minsky tarafından 1957 yılında geliştirilmiştir. Tipik olarak canlı hücrelerin ve biyolojik yapıların üç boyutlu görüntülenmesini sağlayan floresans mikroskoplardır (123). Daha az foto hasar ve flor ışıltama bozulması ile hücrelerin içine derinlemesine bakma, üç boyutlu görüntüleri yeniden yapılandırılması ve canlı hücrelerde hücre içi dinamik olayları çizelgeleme yeteneği dahil olmak üzere geleneksel mikroskoplara göre birçok avantaja sahiptirler (124). Hem lateral hem de aksiyal (derinlemesine) açıdan görüntü çözünürlüğünün elde edilmesini sağlamaktadırlar. Çalışma prensibinde sırasıyla; lazer ışınının numuneye odaklanması, floresan ışık dedektöre ulaşmadan önce küçük bir açıklıktan geçmesi ve tekrar aynı yolu kullanarak numuneye geri dönmesi yer almaktadır. Diğer düzlemlerden gelen ışık küçük açıklıktan geçemeyeceği için sadece odak düzleminde gelen ışık algılanmaktadır. Böylece numunenin optik kesitlerini elde etmek ve üç boyutlu yapısını oluşturmak mümkün olmaktadır (125). Bakterilerin ve mikrobiyal biyofilmin incelenmesi ve

değerlendirilmesi amacıyla kullanılabilmektedir. Lazer ışık kaynağına sahiptirler. En yaygın kullanılan lazer taramalı konfokal mikroskop (CLSM) sistemleri helyum-neon (543-633 nm) ve kripton-argon lazerleri (488 nm mavi, 568 nm sarı ve 647 nm kırmızı çizgiler) ile donatılmıştır (126).

2.7.4. Spektrofotometre

Diş renginin belirlenmesini etkileyen çok çeşitli faktörler bulunmaktadır. Dişin incelendiği ışık koşulu, mine yüzeyinden yansıyan ışık, mine ve dentinde dağılan ışık, minenin arkaya yansıtma özelliği ve etrafındaki ortam etkili faktörlerden bazıları olarak bildirilmektedir. Diş rengini belirlemenin iki temel yolu bulunmaktadır. Biri görsel muayeneyle yapılırken, diğesinde spektrofotometre ve kolimetre gibi çeşitli cihazlar kullanılmaktadır. Spektrofotometreler ışığın tüm görünür spektrum içerisindeki yansımalarını ölçmektedir. *İn vitro* çalışmalarda küçük renk farklılıklarını tespit etmek ve değerlendirmek için kullanılabilmektedirler (127). Nesneden yansıyan veya iletilen ışığı ölçmek için tasarlanmış, renk ölçümünü görünür bir frekans aralığıyla (genellikle görünür ışık 350-800 nm dalga boyu arasındadır) sınırlayan ve sonuç olarak tüm spektral eğriyi veren gelişmiş araçlar olarak belirtilmektedir (128).

1976 ve 1978 yılları arasında Uluslararası Aydınlatma Komisyonu (CIE) tarafından renkleri sayısal olarak sınıflandırmak için CIE $L^*a^*b^*$ adlı sistem geliştirilmiştir (128). CIE $L^*a^*b^*$ 'daki L^* parlaklığı ifade etmektedir ve 0 (siyah) ile 100 (beyaz) arası bir değerde olabilmektedir. Rengin kırmızı/yeşil eksenindeki yerini a^* gösterirken, b^* ise sarı/mavi eksenindeki yerini tanımlamaktadır (127). Pozitif değerlerdeki a^* kırmızılığı, b^* sarılığı göstermekteyken negatif değerlerdeki a^* yeşilliği, b^* maviliği ifade etmektedir (129). L^* , a^* ve b^* değerleri renklerin X, Y ve Z eksenlerindeki yerlerini ifade etmektedir ve CIE $L^*a^*b^*$ sistemindeki renk koordinatları Şekil 2-10'da yer almaktadır (130). Spektrofotometreler de objeden yayılan enerjinin dalga boyuna göre bu L^* , a^* ve b^* değerlerini ayrı ayrı ölçerek kaydetmektedir (127). Renk sisteminde yer alan ΔE değeri ise belli bir zaman içerisindeki renk değişimini ifade etmektedir ve L^* , a^* ve b^* değerleri kullanılarak hesaplanmaktadır. ΔE değerini hesaplamak için kullanılan formül Şekil 2-11'de yer almaktadır (129).



Şekil 2-10: CIE L*a*b* sistemindeki renk koordinatları (130).

$$\Delta E = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2}$$

Şekil 2-11: ΔE değerini hesaplamak için kullanılan formül (129).

Bu tez çalışmasının amacı gümüş içerikli Gümüş Diamin Florür/Potasyum İyodür içerikli materyalinin antibakteriyel özelliğinin ve kompomer restorasyon materyalinin renklenmesi üzerinde olan etkinliğinin incelenmesidir.

Bu çalışmanın H_0 hipotezleri;

- 1- Steril salinin antibakteriyel etkinliği GDF ve GDF/KI solüsyonlarından daha yüksektir.
- 2- KI'nın GDF'nin antibakteriyel etkinliği üzerinde olumsuz bir etkisi vardır.
- 3- GDF'nin tek başına kullanılması KI ile birlikte kullanılmasına göre daha az renklenmeye neden olmaktadır.
- 4- GDF ve GDF/KI solüsyonları kontrol grubuna göre daha az renklenmeye neden olmaktadır.
- 5- NGF solüsyonu GDF solüsyonundan daha fazla renklenmeye neden olmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışması *in vitro* koşullarda İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'nda, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'nda, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda ve İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü Kimyasal Teknolojiler Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Bu tez çalışması için İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (**Dosya No: 2022/21**). Çalışmada kullanılacak çekilmiş dişlere sahip gönüllüler ve aileleri için çalışmanın amacını, kapsamını, yararlarını ve olası risklerini belirten 'Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu' hazırlanıp gönüllülere ve ailelerine okutularak imzalı onayları alınmıştır (Ek 1. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu ve Gönüllü Onay Formu).

Bu tez çalışması İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimi tarafından desteklenmiştir. **Proje No: 38769**

Araştırma üç aşamada ve *in vitro* koşullarda gerçekleştirilmiştir;

- 1- NGF solüsyonunun hazırlanması,
- 2- Materyallerin antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi,
- 3- Kompomer restorasyon materyali uygulanması işleminden önce uygulanan solüsyonların renklenmeye olan etkilerinin değerlendirilmesi.

3.1. Nanogümüş Florür Solüsyonunun Hazırlanması

NGF deneysel solüsyonunun üretimi İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü Kimyasal Teknolojiler Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan kimyasal solüsyonun içeriği ve üretim kısmı aşağıda belirtilmektedir;

- %2'lik Asetik asit (Sigma-Aldrich, ABD),
- 1 g Kitosan (Sigma-Aldrich, ABD),

- 0,012 mol/L Gümüş Nitrat (AgNO_3) (Sigma-Aldrich, ABD),
- 0,8 mol/L Sodyum Borohidrit (NaBH_4) (Sigma-Aldrich, ABD),
- 0,0015 mol/L Sodyum Florür (NaF) (Sigma-Aldrich, ABD).

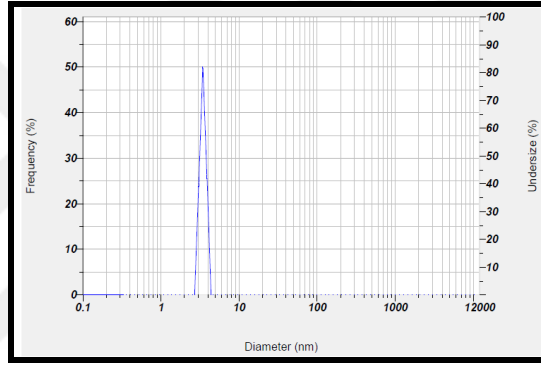
Bir g kitosan %2'lik asetik asit içeren 200 ml deiyonize su içerisinde bir gece boyunca çözünmeye bırakılmıştır. Çözünmenin ardından kitosan çözeltisi santrifüjlenerek çözünmeyen kısmı uzaklaştırılmıştır. Çözelti içerisinde alınan 60 ml, reaktör şişesine konularak karıştırıcı üzerine hazırlanmış buz banyosu içerisine yerleştirilmiştir. 500-600 rpm'de karışan bu çözeltinin içerisine 0,012 mol/L'lik AgNO_3 çözeltisinden 4 ml damla damla olacak şekilde ilave edilmiştir ve 30 dakika boyunca buz banyosunda karışmaya bırakılmıştır. 30 dakikanın sonunda çözeltiye 0,8 mol/L'lik NaBH_4 çözeltisinin 1,5 ml'si damla damla ilave edilerek 1 saat daha buz banyosu içerisinde soğukta karışmaya bırakılmıştır. Bir saatin sonunda Dinamik Işık Saçılımı (DLS) yöntemiyle Zeta-sizerda (HORIBA nanoPartica SZ-100V2 Serisi Nanopartikül Analiz Cihazı, Japonya) nanogümüş partiküllerin boyutu ölçülmüştür ve $3,2 \pm 0,3$ nm olarak kaydedilmiştir. Polidispersite İndeksi (PDI) ise $0,273 \pm 0,015$ olarak ölçülmüştür. Zetasizer cihazındaki boyut ölçme işlemi Şekil 3-1'de, reaksiyonun son görüntüsü Şekil 3-2'de, boyut ölçümünün cihaz görüntüsü Şekil 3-3'te yer almaktadır. Oda sıcaklığına gelen çözelti içerisine 0,0015 mol/L'lik NaF katılmıştır ve 1 gece boyunca oda sıcaklığında karanlıkta stabilite sağlamak için karışmaya bırakılmıştır (107, 131).



Şekil 3-1: Zetasizerda (HORIBA nanoPartica SZ-100V2 nanopartikül analiz cihazı, Japonya) nanogümüş partiküllerinin boyutunun ölçme işlemi.



Şekil 3-2: Reaksiyonun son görüntüsü.



Şekil 3-3: Boyut ölçümünün cihaz görüntüsü.

Solüsyonun içerisindeki gümüş nanopartiküllerin boyutlarının tekrar değerlendirilmesi için Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) (JEOL JEM-1011, Japonya) ile inceleme yapılmıştır ve partiküllerin 50 nm'den küçük olduğu doğrulanmıştır. TEM'deki görüntüleme işlemi için; parafilm tabaka üzerinde oluşturulan 200 µl NGF çözeltisinin damlaları üzerine piyeloform ile kaplanmış bakır gridlerle (EMS G100-Cu, 100 lines/inch Square mesh, Copper) kaplı yüzey damlaların üzerine temas edecek şekilde konmuştur ve hemen ardından damlanın üzerinden penset ile alınarak kurutma kağıdı üzerine yerleştirilerek açık ortamda kuruması için beklenilmiştir. Kurutma işleminden sonra gridler TEM mikroskobu ile 80 kV akım altında incelenerek EMSIS Phurona sayısal kamera ve RADIUS yazılımı ile görüntülenerek ölçümler gerçekleştirilmiştir. Partikül boyutunun değerlendirildiği TEM görüntüsü Şekil 3-4'te, kullanılan TEM cihazı ise Şekil 3-5'te yer almaktadır.



Şekil 3-4: Gümüş nanopartiküllerinin TEM görüntüsü (1 μm =1000 nm).



Şekil 3-5: Transmisyon Elektron Mikroskobu (JEOL JEM-1011, Japonya).

Bu tez çalışmasının TEM görüntülemesi için kullanılan görüntüleme sistemi ve cihazı İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı bünyesinde yer almaktadır ve İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Koordinasyon Merkezi Araştırma Laboratuvarları ve Araştırma Merkezleri Altyapılarının Sürekliliği ve Güncelliği kapsamında **30048** ve **37896** ID'li GAP projeleri ile sağlanan destekle temin edilmiştir.

3.2. Antibakteriyel Etkinliğin Değerlendirilmesi

Antibakteriyel etkinliğin değerlendirilmesi için gereken deneyler iki aşamada yapılmıştır. Solüsyonların *S. mutans* ve *L. casei*'ye karşı olan antimikrobik etkinlikleri

disk difüzyon deneyi ile belirlenmiştir. Biyofilm üzerindeki etkinlikleri ise çekilmiş süt azı dişlerinin mine yüzeyi üzerinde oluşturulan *S. mutans*-*L. casei* ikili biyofilm modeli üzerinde uygulanarak belirlenmiştir.

Fizyolojik kök rezorpsiyonu nedeniyle veya ortodontik ve periodontal sebeplerle çekim endikasyonu konulmuş 24 adet çürüksüz süt azı dişi toplanılmıştır. Çalışmada kullanılan deney materyallerinin ve örneklerin toplanması, hazırlanması, sterilize edilmesi ve gruplandırılması işlemleri İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Biyofilm oluşturma ve antibakteriyel etkinlik değerlendirme kısımları İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Antibakteriyel etkinliğin karşılaştırılması için GDF solüsyonu (SDI Riva Star, Avustralya), GDF/KI solüsyonları (SDI Riva Star, Avustralya), deneysel bir solüsyon olan NGF solüsyonu, %5'lik Sodyum Hipoklorit (NaOCl) solüsyonu (Microvem, Türkiye), %2'lik Klorheksidin (CHX) solüsyonu (Microvem, Türkiye) ve kontrol grubunda ise steril salin solüsyonunun çürüksüz insan süt azı dişlerinden elde edilen mine örneklerinin üzerinde kullanılmasıyla değerlendirmeler yapılmıştır.

Çalışma sonucunda mine yüzeyi üzerindeki biyofilm canlılığı değerlendirmeleri için CLSM kullanılmıştır. Bu görüntülemeler İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü'nde gerçekleştirilmiştir. Antibakteriyel durumun morfolojik olarak incelenmesi için İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Nano Optoelektronik Araştırma Laboratuvarı'nda bulunan SEM kullanılmıştır.

3.2.1. Solüsyonların Antibakteriyel Etkinliklerinin Disk Difüzyon Testi İle Belirlenmesi

Solüsyonların *S. mutans* ve *L. casei*'ye karşı antibakteriyel etkinlikleri disk difüzyon testi ile belirlenmiştir. Hazırlanmış olan bakteri süspansiyonlarından 0,1 ml'ler alınarak BHI Agarına yerleştirilerek yayılmıştır. Kuruması için 5 dakika beklenilmiştir. Üzerine 5 mm'lik boş ve hazır olarak temin edilen antibiyotik diskleri yerleştirilmiştir. Diskler üzerine 10'ar µl steril salin, %5'lik NaOCl, %2'lik CHX, GDF, GDF/KI, NGF ve KI solüsyonları ayrı ayrı eklenilmiştir. Bu deney 5 kere tekrarlanmış ve solüsyonların etrafında oluşan mikrobiyal inhibisyon zon çapları kumpas ile milimetrik olarak ölçülüp kaydedilmiştir (Şekil 3-6).

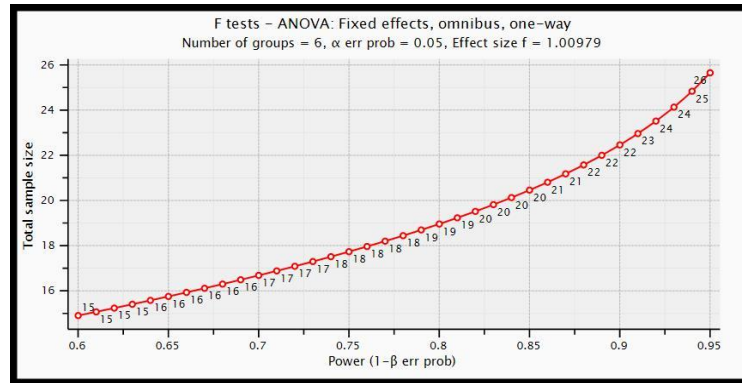


Şekil 3-6: Disk difüzyon deneyine ait bir görsel.

3.2.2. Biyofilm Deneyi

3.2.2.1. Örnek Sayısının Belirlenmesi

CLSM’de incelenecek örnek sayısının belirlenmesi için çalışmaya başlamadan önce güç analizi G*Power yazılımı ile belirlenmiştir (V3.1.9.6.). %95 güven ($1-\alpha$), %95 test gücü ($1-\beta$), $f=1,009$ etki büyüklüğü ile her bir grupta 5 olmak üzere toplamda 30 örneğin çalışmaya dahil edilmesine karar verilmiştir (132). Olası örnek kayıplarının yaşanabileceği dikkate alınarak örnek genişliğinin %20 artırılmasıyla toplamda 6 grupta **42 örnek** üzerinden çalışma yürütülmüştür. Yapılan örneklem analiz grafiği Şekil 3-7’de yer almaktadır.



Şekil 3-7: CLSM’de incelenecek örnek sayısının belirlenmesi için yapılan örneklem analiz grafiği.

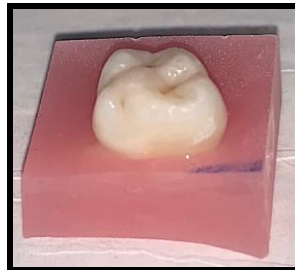
SEM incelemesi için de her gruba birer örnek daha eklenmiştir ve örnek sayısı 6 grup için toplamda **48 adet** olarak belirlenmiştir.

3.2.2.2. Dişlerin Toplanması ve Mine Örneklerinin Hazırlanması

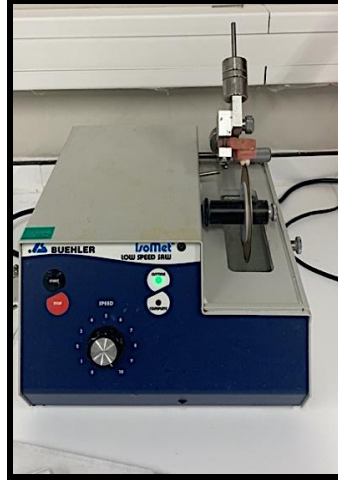
48 adet mine örneği elde edilmesi amacıyla 24 adet çürüksüz süt azı dişi toplanılmıştır ve deney zamanına kadar %0,1'lik timol içeren distile su içerisinde inkübatörde (etüv) (Termal Laboratuvar Aletleri, Türkiye) bekletilmiştir ve deneylere 3 ay içerisinde başlanılmıştır. Deney zamanı geldiğinde mine örneklerinin elde edilmesi ve hazırlanması için kullanılan aletler ve materyaller aşağıda yer almaktadır;

- Etüv (Termal Laboratuvar Aletleri, Türkiye),
- Piyasemen (W&H, Avusturya),
- Mikromotor (W&H, Avusturya),
- Elmas separe (Sunshine, Almanya),
- Isomet kesit alma cihazı (Isomet Saw, Buechler Ltd, Evanston IL, ABD),
- Soğuk akrilik (IMICRYL, Türkiye)

Dişler silikon modelde akrilik içerisine kökleri kalıbın içinde kalacak şekilde gömülmüştür. Şekil 3-8'de dişlerin akrilik içerisine gömülme şekli görülmektedir. Akrilik kalıp içerisinde yer alan dişler, düşük hızlı hassas kesit alma cihazı Isomet ile mesiodistal yönden ikiye ayrılmıştır. Şekil 3-9'da Isomet kesit alma cihazı ile dişin mesiodistal yönde ikiye ayrılma işlemi yer almaktadır. İkiye ayrılan dişlerin kökleri mikromotor, piyasemen ve elmas separe yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Şekil 3-10'da elmas separe ve piyasemen ile köklerin, ikiye ayrılmış kuron parçalarından uzaklaştırılma işlemi görülmektedir. Mesiodistal olarak ikiye ayrılmış kuron parçaları akrilik içerisine bukkal veya lingual mine yüzeyleri dışarıda kalacak şekilde mesiodistal hat boyunca tekrar gömülmüştür. Şekil 3-11'de hazırlanan bir örnek yer almaktadır.



Şekil 3-8: Dişlerin kök kısımlarının akrilik içerisine kalacak şekilde gömülmesi.



Şekil 3-9: Dişin Isomet kesit alma cihazı ile mesiodistal yönde ikiye ayrılması.



Şekil 3-10: İkiye ayrılan kuronlardan köklerinin elmas separe ve piyasemen ile uzaklaştırılması.



Şekil 3-11: Akrilik içerisine gömülmüş kuron parçası.

Deney zamanına kadar dişler %0,1'lik timol içeren distile su içerisinde etüvde saklanmıştır. Şekil 3-12'de kullanılan etüv cihazı yer almaktadır. Akrilik kalıp içerisinde yer alan mine örnekleri hazırlandıktan sonra deneye başlamadan hemen önce soğuk strelizasyon yöntemlerinden etilen oksit ile 55 derecede 2 saat 45 dakika boyunca

sterilize edilmiştir ve ardından 10-12 saat süre boyunca havalandırılmıştır. Hazırlanmış steril örnekler Şekil 3-13'te yer almaktadır.



Şekil 3-12: Dişlerin deney zamanına kadar distile su içerisinde saklandığı Etüv (Termal Laboratuvar Aletleri, Türkiye) cihazı.



Şekil 3-13: Hazırlanmış steril örnekler.

3.2.2.3. Deney Gruplarının Oluşturulması

Antibakteriyel etkinlikleri karşılaştırılan materyaller aşağıda yer almaktadır. Deney grupları Tablo 3-1'de özetlenmiştir.

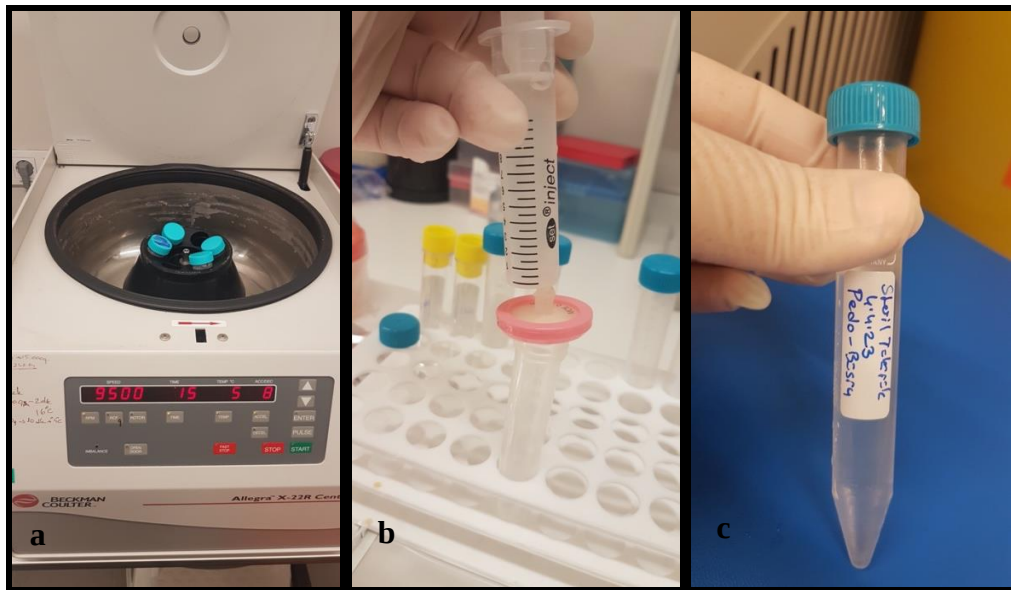
- Steril salin,
- %5'lik NaOCl solüsyonu (Microvem, Türkiye),
- %2'lik CHX solüsyonu (Microvem, Türkiye),
- GDF solüsyonu (SDI Riva Star, Avustralya),
- GDF/KI solüsyonu (SDI Riva Star, Avustralya),
- NGF solüsyonu (Deneyisel bir solüsyon).

Tablo 3-1: Antibakteriyel etkinliğin değerlendirilmesi için belirlenen gruplar.

GRUP 1	Negatif kontrol grubu; mine blokları üzerinde biyofilm oluşturulup steril salin uygulanması.
GRUP 2	Pozitif kontrol grubu 1; mine blokları üzerinde biyofilm oluşturulup %5'lik NaOCl solüsyonu uygulanması.
GRUP 3	Pozitif kontrol grubu 2; mine blokları üzerinde biyofilm oluşturulup %2'lik CHX solüsyonu uygulanması.
GRUP 4	Mine blokları üzerinde biyofilm oluşturulup GDF solüsyonun uygulanması.
GRUP 5	Mine blokları üzerinde biyofilm oluşturulup GDF/KI solüsyonun uygulanması.
GRUP 6	Mine blokları üzerinde biyofilm oluşturulup NGF solüsyonu uygulanması.

3.2.2.4. Tükürük Örneğinin Alınması ve Sterilizasyonu

Biyofilm model oluşturabilmek amacıyla 18 yaşından büyük, herhangi bir sistemik rahatsızlığı bulunmayan, sigara tüketmeyen ve son üç aydır ilaç kullanmayan sağlıklı gönüllüden yemek yeme, içme ve dişlerin fırçalanması gibi prosedürlerden en az 1,5 saat sonra en az 50 ml uyarımsız tükürük toplanmıştır. Tükürük örnekleri 15 dakika boyunca 4°C'de santrifüj edilip 0,22 µm filtre kullanılarak sterilize edilmiştir. Örnekler değerlendirilinceye kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir. Tüm bu aşamalar Şekil 3-14'te özetlenmiştir.



Şekil 3-14: Tükürük örneğinin hazırlanması. a: Santrifüj (Nüve, Ankara, Türkiye), b: Filtrasyon, c: Sterilize edilmiş tükürük.

3.2.2.5. Bakteri Süspansiyonlarının Hazırlanması

24 saatlik *S. mutans* ATCC25175 ve *L. casei* ATCC4646 kültüründen 10 ml %5 sakrozlu BHI buyyonda (besiyerinde) 0,5 MF bulanıklık tüpüne göre 10^8 CFU/ml hazırlanarak 100 katlı olarak sulandırılmıştır. Son konsantrasyon 10^6 CFU/ml'dir. Karışım için 12 ml *S. mutans*, 8 ml *L. casei* kullanılmıştır. Biyofilm deneyi için kullanılan bakteri süspansiyonundaki *S. mutans*/*L. casei* oranı= 3/2'dir.

3.2.2.6. Biyofilm Oluşturulması

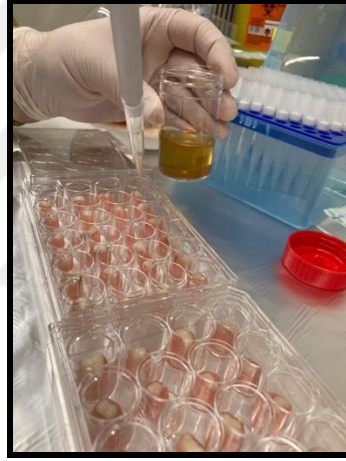
Her örneğin değerlendirilmesi ve materyallerin örnekler üzerinde kullanılabilmesi için 24 kuyucuklu steril petri kabı kullanılmıştır. Her kuyucuğa süt azı dişlerinden elde edilen birer mine örneği yerleştirilmiştir ve tükürük pelikül kaplaması için örnekler üzerine hazırlanan 1000 µl tükürük (akrilikler yüksek olduğu için 1 ml tükürük kullanılmıştır) eklenerek çalkalayıcıda 37°C'de 1 saat boyunca inkübe edilmiştir. Tükürük aspire edilerek örnekler fosfat tamponlu salin (PBS) solüsyonu ile yıkanmıştır. Tekrar kuyucuğa yerleştirilen örnekler üzerine 1,6 ml sakkarozlu BHI ve 200 µl bakteri süspansiyonu eklenmiştir. Petri kapları 37°C'de çalkalayıcıda, anaerob ortamda 24 saat süreyle inkübe edilmiştir (Şekil 3-15, 3-21).



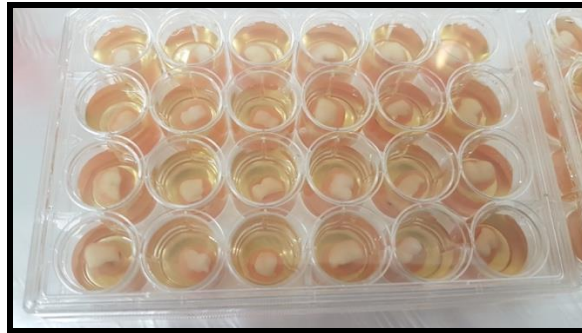
Şekil 3-15: Örneklerin kuyucuklara yerleştirilmesi.



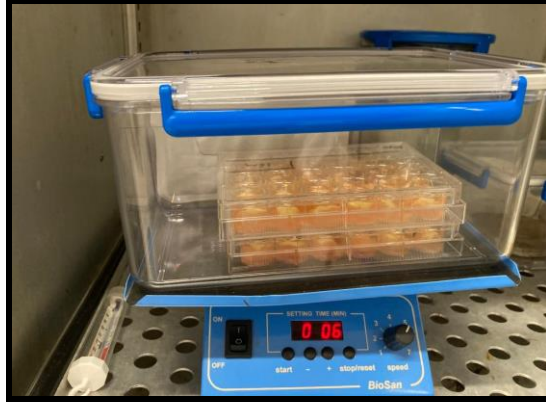
Şekil 3-16: Tükürükle kaplanmış örneklerin inkübasyonu.



Şekil 3-17: Bakteri süspansiyonlarının inokülasyonu.



Şekil 3-18: Bakteri süspansiyonlarının inoküle edildiği örnekler.



Şekil 3-19: Anaerop ortamda inkübasyon.



Şekil 3-20: İnkübatör (Heraeus, Almanya).



Şekil 3-21: Örnekler üzerindeki biyofilm oluşumu.

3.2.2.7. Solüsyonların Biyofilm Oluşturulan Mine Yüzeylerine Uygulanması

Örneklerin üzerine yapışmamış bakterileri uzaklaştırmak için örnekler 5 ml steril steril salin ile yıkanmıştır. Yeni kuyucuklara yerleştirilen örnekler üzerine her grupta yer alan materyallerden 25 µl solüsyon mikropipet ile uygulanıp 1 dakika beklenilmiştir. Beşinci grupta farklı olarak GDF uygulanıp 1 dakika beklenildikten sonra 25 µl KI solüsyonu da mikropipet ile uygulanıp tekrar 1 dakika beklenilmiştir. Şekil 3-22’de solüsyonların uygulanma aşaması görülmektedir. Sonrasında tüm gruplardaki örnekler 1 ml steril salin ile yıkanmıştır. Şekil 3-23’te steril salin ile yıkama aşaması yer almaktadır.



Şekil 3-22: Çalışma materyallerinin uygulanması.

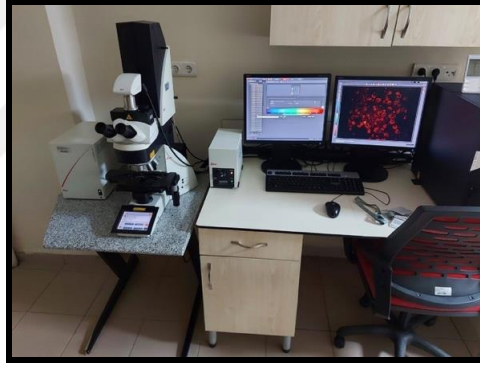


Şekil 3-23: Uygulama sonrası yıkama.

3.2.2.8. Solüsyonların Biyofilm Üzerine Etkinliklerinin Değerlendirilmesi

3.2.2.8.1. Lazer Taramalı Konfokal Mikroskop ile Değerlendirilmesi

Her gruptan 7'şer örnek olmak üzere toplamda 42 adet örnek CLSM'de incelenmek üzere ayrılmıştır. Steril petri kabı içerisinde bulunan örneklerin üzerine 20 μ l Live/Dead Bacterial Viability Stain (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, ABD) (DMSO'daki Compound A ve B'den 0,4'er μ l/ml olacak şekilde hazırlanmıştır) (DMSO: Sigma-Aldrich D8418, St Louis, MO, ABD) boya solüsyonu bırakılarak 15 dakika karanlıkta inkübe edilmiştir. Adet olarak 42 örnek için 1 ml solüsyon kullanılmıştır. Boya solüsyonunun hazırlanışında 1 ml DMSO, 0,4 μ l Compound A ve 0,4 μ l Compound B iyice karıştırılmıştır. CLSM'de 488 ve 532 nm dalga boyunda 10'luk büyütmede üç farklı noktadan görüntüler elde edilmiştir. Her bir noktaya ait bakteri durumunu yeşil ve kırmızı olarak göstermektedir. Kullanılan CLSM cihazı Şekil 3-24'te yer almaktadır.



Şekil 3-24: Lazer Taramalı Konfokal Mikroskop (Leica, Heidelberg, Almanya).

3.2.2.8.2. Taramalı Elektron Mikroskop ile Değerlendirilmesi

Her gruptan birer adet örnek SEM analizi yapabilmesi için fiksasyon ve dehidratasyon işlemlerine tabi tutulmuştur. Fiksasyon amacıyla her gruptan birer örnek %4'lik paraformaldehit bulunan 24 kuyucuklu petri kabına yerleştirilmiştir. Fiksasyon süreci 36 saat sürmüştür. Dehidratasyonu sağlamak amacıyla %25'lik, %50'lik, %75'lik etanol solüsyonlarında sırayla 15'er dakika bekletildikten sonra yine sırasıyla %96'lık ve %100'lük etanol solüsyonlarında 30'ar dakika bekletilmiştir. Dehidratasyon işleminden sonra örnekler 24 saat havada kurumaya bırakılmıştır.

Kurutulan örnekler üzerinde SEM görüntülemesi yapılmıştır. İncelenecek örneklerden x15000 büyütmede görüntüler elde edilerek değerlendirme yapılmıştır. Kullanılan SEM cihazı (FEI Versa 3D, ABD) Şekil 3-25’te yer almaktadır.



Şekil 3-25: Taramalı Elektron Mikroskobu (FEI Versa 3D, ABD).

3.2.3. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Veriler IBM SPSS V23 ile analiz edilmiştir. Normal dağılım uygunluk Shapiro-Wilks testi ile incelenmiştir. Gruplara göre normal dağılım göstermeyen verilerin karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi kullanılmıştır ve çoklu karşılaştırmalar Dunn testi ile incelenmiştir. Analiz sonuçları ortalama±standart sapma ve ortanca (minimum – maksimum) şeklinde sunulmuştur. Önem düzeyi $p < 0,05$ olarak alınmıştır.

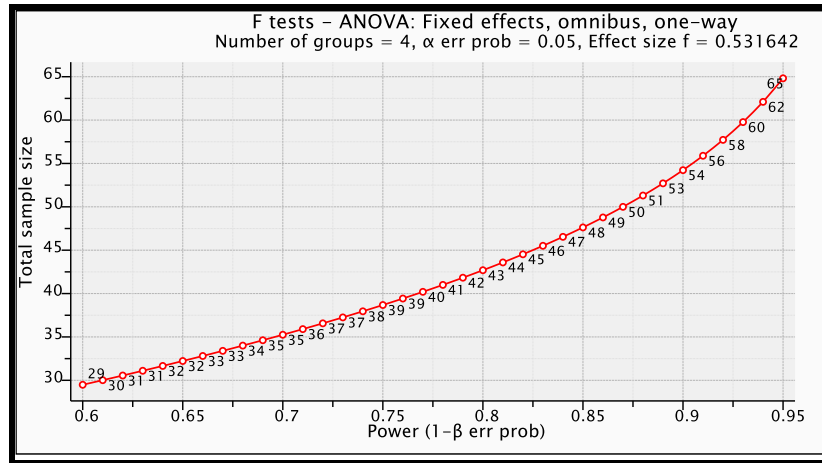
3.3. Restorasyon Materyali Üzerinde Renklenmeye olan Etkilerinin Değerlendirilmesi

Bu tez çalışmasının renk değerlendirme kısmı için 44 adet ICDAS kriterlerine göre 5 veya 6 sınıfında yer alan, çürük, ortodontik veya periodontal sebeplerle çekim endikasyonu konulmuş, daha önce restorasyon yapılmamış ve restore edilebilir durumda olan çürüklü süt azı dişleri kullanılmıştır. Çalışmada kullanılacak deney materyallerinin ve örneklerin toplanması, hazırlanması, gruplandırılması ve sterilize edilmesi işlemleri İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı’nda gerçekleştirilmiştir. Dişlerdeki çürük dokusunun temizlenmesi işlemi kemomekanik

çürük temizleme ajanı BRIX3000 papain jel (Brix Medical Science, Arjantin) kullanılarak LM ekskavatör (Planmace Group, Finlandiya) yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Sonrasında tek başına GDF solüsyonu (SDI Riva Star, Avustralya), GDF/KI solüsyonları (SDI Riva Star, Avustralya) ve deneysel olarak üretilen NGF solüsyonu çürüklü insan süt azı dişlerinde hazırlanan kavitelere uygulanıp kontrol grubunda da hiçbir solüsyon uygulaması yapılmadan Dyract Xp A2 renkli kompomer restorasyon materyali (Denstply Sirona, Almanya) ile tüm dişler restore edilerek tedavileri tamamlanmıştır. Renk değerlendirilmesi işlemleri İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'nda bulunan Vita Easyshade Compact spektrofotometre cihazı (Vita Easysahe Compact, Vita Zahnfabrik, Bad Sackingen, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.3.1. Örnek Sayısının Belirlenmesi

Güç analizi için G*Power yazılımı kullanılmıştır (V3.1.9.6). Renk değişimi için ΔE değerleri dikkate alındığında; testin gücü minimum değer olan %80 alınmasıyla çalışmaya dahil edilen örnek sayısının her bir grupta 11 olacak şekilde dört grup için toplamda **44 adet** olmasına karar verilmiştir (100). Yapılan örneklem analiz grafiği Şekil 3-26'da yer almaktadır.



Şekil 3-26: Renk değerlendirmesi için yapılan örneklem analiz grafiği.

3.3.2. Dişlerin Toplanması ve Hazırlanması

ICDAS kriterlerine göre 5. (dentinin gözle görüldüğü belirgin kavitelere) veya 6. sınıfta (dentinin gözle görüldüğü belirgin geniş kavitelere) yer alan çekim endikasyonu

konulmuş, daha önce herhangi bir restorasyon materyali uygulanmamış ve restore edilebilir durumda olan 44 adet kaviteye sahip çürük bulunduran süt azı dişi toplanılmıştır. Deney süresine kadar ve sonrasında dişler distile su içerisinde etüvde (Termal Laboratuvar Aletleri, Türkiye) bekletilmiştir. Deney zamanı dişler silikondan hazırlanan kalıplar içerisinde yerleştirilen akrilik materyaline dik bir şekilde kökleri içeride kuronları dışarıda kalacak şekilde gömülmüştür. Şekil 3-27’de akrilik içerisine gömülmüş örnek bir çürük süt azı dişi yer almaktadır.

Örneklerin hazırlanması ve deney zamanına kadar saklanması için kullanılan materyaller ve cihazlar;

- Soğuk akrilik (Imicryl, Türkiye),
- Silikon kalıp (Bonasil, İngiltere),
- Etüv (Termal Laboratuvar Aletleri, Türkiye).



Şekil 3-27: Akrilik içerisine gömülmüş çürüklü süt azı dişi.

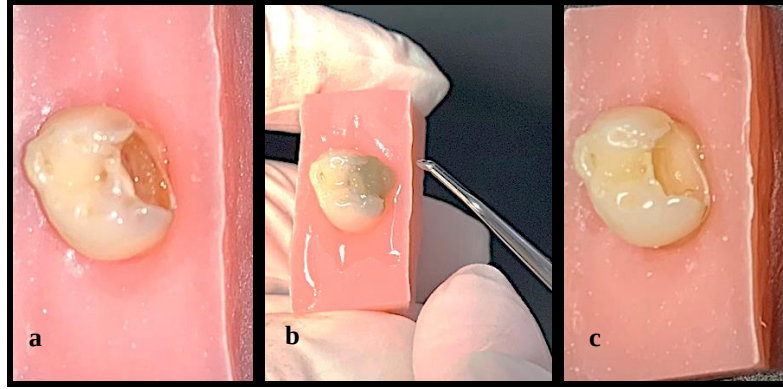
3.3.3. BRIX3000 Uygulanması ve Çürük Dokusunun Temizlenmesi

Akrilik içerisine gömülen çürüklü süt azı dişlerindeki çürük dokusu kemomekanik çürük temizleme ajanlarından BRIX3000 papain jel (Brix Medical Science, Arjantin) ile firma önerileri doğrultusunda çürük kavitesine uygulanmış ve 2 dakika boyunca beklenilmiştir. Çürük doku LM ekskavator (Planmace Group, Finlandiya) aracılığıyla temizlenmiştir. Şekil 3-28’de çürük temizleme aşamaları, Şekil 3-29’da ise kullanılan malzemeler görülmektedir.

Çürük dokusunun uzaklaştırılması için kullanılan malzemeler;

- BRIX3000 papain jel (Brix Medical Science, Arjantin),

- LM ekskavatör (Planmace Group, Finlandiya).



Şekil 3-28: a: Çürüğün ilk hali, b: BRİX3000 ajanının uygulanması ve ekskavatörle çürüğün temizlenmesi, c: Çürük temizlendikten sonraki dişin hali.



Şekil 3-29: a: LM ekskavatör, b: BRIX3000 papain jel.

3.3.4. Deney Gruplarının Oluşturulması

Çürük dokusu uzaklaştırıldıktan sonra lezyon boyutu ve yerleşim yeri benzer olan dişler dört gruba ayrılmıştır. Oluşan kavitelere sırasıyla Grup 1’de hiçbir solüsyon uygulanmaması, Grup 2’de GDF (SDI Riva Star, Avustralya) uygulanması, Grup 3’te GDF/KI (SDI Riva Star, Avustralya) uygulanması ve Grup 4’te NGF deneysel solüsyonunun uygulanması işlemleri gerçekleştirilmiştir. Deney grupları Tablo 3-2’de özetlenmiştir. Kaviterlerin restore edilmesi için *Dentsply Sirona Dyract Xp Kompomer A2* (Dentsply Sirona, Almanya) renkli restorasyon materyali kullanılmıştır. Şekil 3-30’da Riva Star paketinin içeriği görülmektedir.

- Kontrol grubu: hiçbir solüsyon uygulaması yapılmaması,
- GDF (SDI Riva Star, Avustralya),
- GDF/KI (SDI Riva Star, Avustralya),
- NGF Solüsyonu (Deneysel bir solüsyon).



Şekil 3-30: SDI Riva Star ürününün içeriği.

Tablo 3-2: Restorasyon materyalinin renklenmesi üzerindeki etkinliklerinin değerlendirilmesi için belirlenen gruplar.

GRUP 1	BRIX3000 papain jel ile çürük dokusunun temizlenmesi	Kontrol grubu; hiçbir solüsyon uygulanmamıştır	Kompomer restorasyon
GRUP 2	BRIX3000 papain jel ile çürük dokusunun temizlenmesi	GDF uygulaması	Kompomer restorasyon
GRUP 3	BRIX3000 papain jel ile çürük dokusunun temizlenmesi	GDF/KI uygulaması	Kompomer restorasyon
GRUP 4	BRIX3000 papain jel ile çürük dokusunun temizlenmesi	NGF uygulaması	Kompomer restorasyon

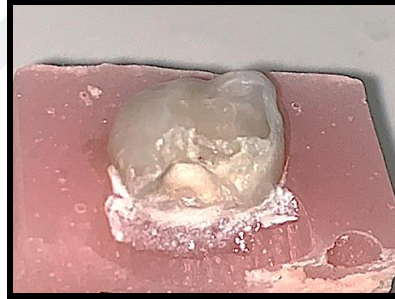
3.3.5. Gruplardaki Solüsyonların Uygulanması

Kontrol grubu olan ilk grupta hiçbir solüsyon uygulaması yapılmamıştır. İkinci grupta bir damla GDF solüsyonu, hazırlanan çürük kavitesine SDI markalı Riva Star paketi içerisinde bulunan gri renkli mikrofırça yardımıyla uygulanıp 1 dakika boyunca bekletilmiştir. Ardından solüsyonun fazlası pamuk pelet yardımıyla alınıp 5 saniye hava ile kurutulmuştur. Şekil 3-31’de GDF solüsyonun kaviteye uygulanma aşaması görülmektedir.



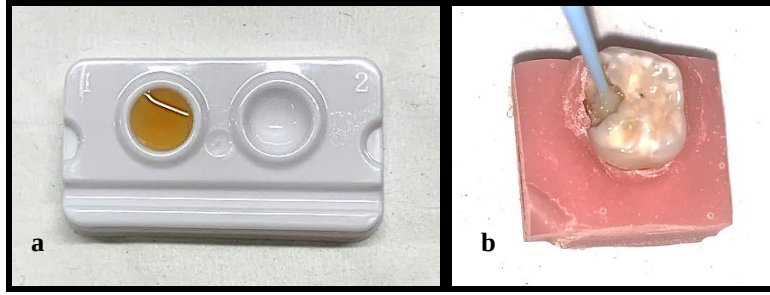
Şekil 3-31: GDF solüsyonunun uygulanması.

Üçüncü grupta, bir damla GDF solüsyonu ikinci gruptaki gibi 1 dakika boyunca uygulandıktan hemen sonra yine SDI markalı Riva Star paketi içerisinde yer alan yeşil renkli mikropirça yardımıyla KI uygulamasına geçilmiştir. Yeni beyaz çökelti oluşumu gözlenmeyene kadar uygulamaya devam edilmiştir ve sonrasında kavite 30 saniye boyunca bol su ile yıkanmıştır. Ardından 5 saniye hava ile kurutulmuştur. KI uygulaması ile oluşan beyaz çökelti oluşumu Şekil 3-32’de yer almaktadır.



Şekil 3-32: KI uygulanması ile gözlenen beyaz çökelti.

Dördüncü grupta bir damla NGF solüsyonu mikropirça yardımıyla çürük kavitesine diğer gruplarda olduğu gibi 1 dakika boyunca uygulanmıştır ve fazlası pamuk pelet aracılığıyla uzaklaştırılıp 5 saniye boyunca hava ile kurutulmuştur. Plastik gode içerisinde yer alan NGF solüsyonu ve uygulama işlemi Şekil 3-33’te görülmektedir.



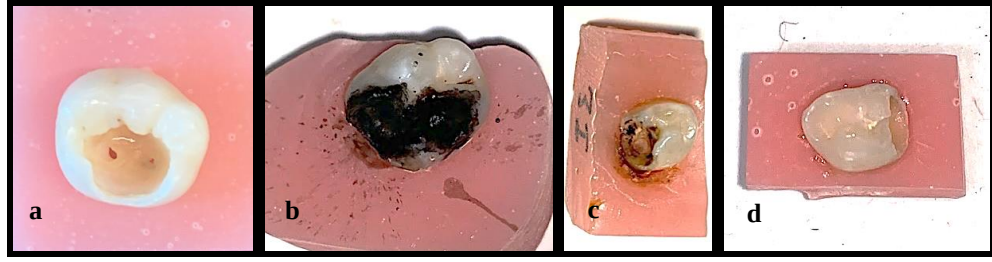
Şekil 3-33: a: Plastik gode içerisinde yer alan NGF solüsyonu, b: NGF solüsyonunun uygulanma aşaması.

3.3.6. Restorasyon Materyalinin Uygulanması

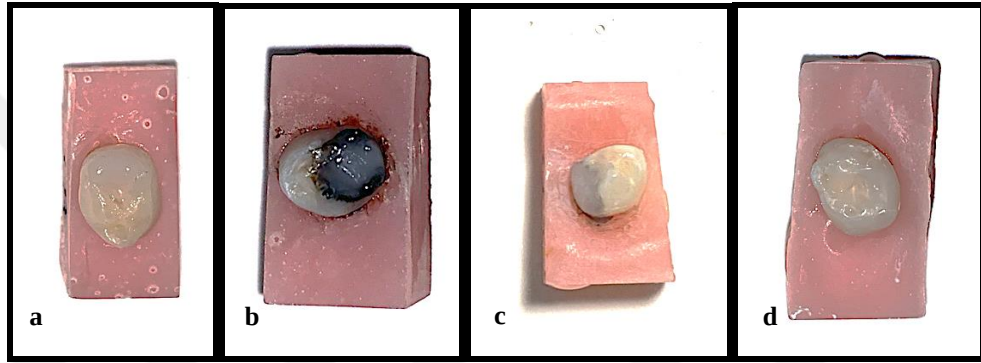
Belirtilen solüsyonların uygulanmasını takiben restorasyon işlemine geçilmiştir. Adeziv ajan olarak GC Premio Bond (GC Corporation, Japonya) bond fırçası yardımıyla firma önerilerine göre uygulanıp ışın cihazı ile polimerize edilmiştir. Işın cihazının uygulanması sonrasında gruplarda gözlenen renk değişimleri Şekil 3-33'te özetlenmiştir. Ardından A2 rengindeki kompomer restorasyon materyali firma önerilerine göre tüm dişlere tabakalanarak uygulanmış ve her bir tabaka yirmi saniye boyunca ışın cihazı ile polimerize edilmiştir. Restorasyon işleminden hemen sonra dört grupta da yer alan dişlerin görüntüsü Şekil 3-35'te özetlenmiştir.

Restorasyon işleminin yapılması için kullanılan malzemeler;

- GC Premio Bond (GC Corporation, Japonya),
- Bond fırçası (TPC Dental, Amerika),
- 3M Elipar Deepcure-S Led ışıklı polimerizasyon cihazı (3M Unitek, Amerika),
- Dyract Xp kompomer restorasyon materyali (Denstply Sirona, Almanya).



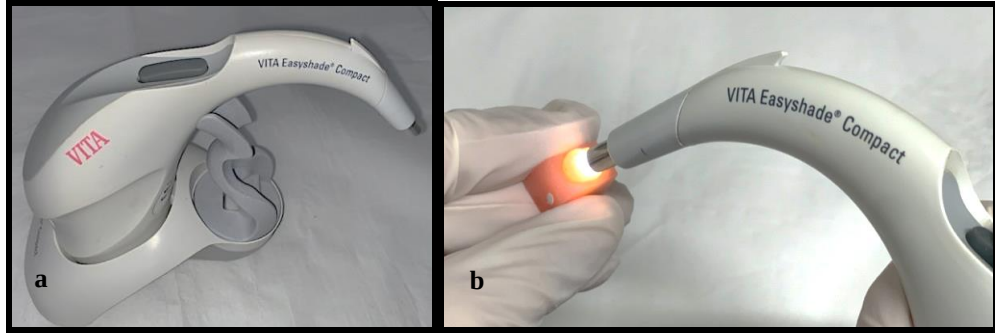
Şekil 3-34: a: Kontrol grubundaki, b: GDF uygulanan gruptaki, c: GDF/KI uygulanan gruptaki, d: NGF uygulanan gruptaki ışın cihazı ile bondun polimerize edildikten sonraki görüntüleri.



Şekil 3-35: a: Kontrol grubunda restorasyon işleminden hemen sonraki görüntü, b: GDF uygulanan grupta restorasyon işleminden hemen sonraki görüntü, c: GDF/KI uygulanan grupta restorasyon işleminden hemen sonraki görüntü, d: NGF uygulanan grupta restorasyon işleminden hemen sonraki görüntü.

3.3.7. Spektrofotometre ile Renk Değerlendirmelerinin Yapılması

Kompomer dolgu materyalinde gözlenen renk değişimlerinin değerlendirilmesinde spektrofotometre cihazı (Vita Easysahe Compact, Vita Zahnfabrik, Bad Sackingen, Almanya) kullanılmıştır. Kullanılan cihaz ve yapılan ölçme işlemi Şekil 3-36'da görülmektedir. Standardizasyonu sağlamak için tüm renk ölçümleri tek bir operatör tarafından aynı ortamda ve sabit laboratuvar aydınlatması altında yapılmıştır. Her ölçüm 3 kez tekrarlanmıştır. Renk değerlendirme aşamalarında örnekler üzerindeki ilk ölçüm restorasyon işleminden hemen sonra yapılmıştır. Sonrasında 1. haftada ve 1. ayda tekrar ölçümler yapılarak kaydedilmiştir.



Şekil 3-36: a: Spektrofotometre cihazı (Vita Easysahe Compact, Vita Zahnfabrik, Bad Sackingen, Almanya), b: Örnek üzerinde spektrofotometre ile yapılan renk ölçme işlemi.

3.3.8. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Veriler IBM SPSS V23 ve R programında WRS2 paketi ile analiz edilmiştir. Normal dağılıma uygunluk çarpıklık – basıklık (± 3) katsayıları ile incelenmiştir. Grup ve zamana göre normal dağılıma uyan parametreler Genelleştirilmiş Lineer Modeller ile analiz edilmiştir ve çoklu karşılaştırmalar Bonferroni Düzeltmesi ile yapılmıştır. Grup ve zamana göre normal dağılıma uymayan parametreler Robust ANOVA Testi ile analiz edilmiştir ve çoklu karşılaştırmalar Bonferroni Düzeltmesi ile yapılmıştır. Analiz sonuçları ortalama $\pm$ standart sapma ve ortanca (minimum – maksimum) şeklinde sunulmuştur. Önem düzeyi $p < 0,05$ olarak alınmıştır.

4. BULGULAR

Bu tez çalışmasında; GDF, GDF/KI ve NGF içerikli solüsyonların antimikrobiyal etkinlikleri ve kompomer restorasyon materyali üzerinde renklenmeye neden olma özellikleri değerlendirilmiş ve karşılaştırılmıştır.

Çalışmada elde edilen bulgular;

1- Farklı ajanların antibakteriyel etkinliklerinin karşılaştırılması:

- Disk difüzyon deneyine ait bulgular:

Steril salin, %5'lik NaOCl, %2'lik CHX, GDF, GDF/KI, NGF ve KI solüsyonlarının *L. casei* ve *S. mutans*'a karşı antibakteriyel etkileri disk difüzyon deneyi yapılarak belirlenmiştir ve inhibisyon zonları kumpasla milimetrik olarak ölçülerek karşılaştırılmıştır.

- CLSM incelemesine ait bulgular

S. mutans-L. casei ikili biyofilm oluşturulan mine örnekleri üzerinde CLSM ile görüntülemeler yapılmıştır.

- SEM incelemesine ait bulgular:

S. mutans-L. casei ikili biyofilm oluşturulan mine örnekleri üzerinde SEM aracılığıyla x15000 büyütme altında görüntüler elde edilmiştir.

2- Farklı ajanların kompomer restorasyon materyalinin renklenme düzeylerinin spektrofotometre ile ölçülen değerlerle karşılaştırılması;

- Grupların tüm zamanlardaki L^* değerleri ve karşılaştırılması,
- Grupların tüm zamanlardaki a^* değerleri ve karşılaştırılması,
- Grupların tüm zamanlardaki b^* değerleri ve karşılaştırılması,
- Grupların ΔL değerleri ve karşılaştırması,
- Grupların Δa değerleri ve karşılaştırması,
- Grupların Δb değerleri ve karşılaştırması,
- Grupların ΔE değerleri ve karşılaştırması başlıkları ile incelenmiştir.

4.1. Materyallerin Antibakteriyel Etkinliklerinin Değerlendirilmesi

4.1.1. Disk Difüzyon Deneyine Ait Bulgular

Steril salin, %5'lik NaOCl, %2'lik CHX, GDF, GDF/KI, NGF ve KI solüsyonlarının *L. casei* ve *S. mutans* üzerindeki antibakteriyel etkilerinin incelemesi Tablo 4-1'de yer almaktadır. Kullanılan suşlar: *Lactobacillus casei* ATCC 4646 ve *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Tablo 4-1: Gruplara göre *L. casei* ATCC 4646 ve *S. mutans* ATCC 25175 bakterilerinin inhibisyon zonlarının karşılaştırılması.

	<i>L. casei</i> ATCC 4646		<i>S. mutans</i> ATCC 25175	
	Ortalama±s. sapma	Ortanca (min. - maks)	Ortalama±s. sapma	Ortanca (min. - maks)
Steril salin solüsyonu	0,00±0,00	0,00 (0,00 – 0,00) ^b	0,00±0,00	0,00 (0,00 – 0,00) ^b
%5'lik NaOCl solüsyonu	15,20±0,45	15,00 (15,00 – 16,00) ^{ab}	14,20±0,45	14,00 (14,00 – 15,00) ^{ab}
%2'lik CHX solüsyonu	21,40±0,89	22,00 (20,00 – 22,00) ^a	18,80±1,79	20,00 (16,00 – 20,00) ^{ab}
GDF solüsyonu	19,60±1,67	20,00 (18,00 – 22,00) ^{ab}	29,00±2,45	30,00 (26,00 – 32,00) ^a
GDF/KI solüsyonları	19,80±3,70	20,00 (15,00 – 25,00) ^{ab}	29,60±3,21	30,00 (26,00 – 34,00) ^a
NGF solüsyonu	0,00±0,00	0,00 (0,00 – 0,00) ^b	0,00±0,00	0,00 (0,00 – 0,00) ^b
KI solüsyonu	0,00±0,00	0,00 (0,00 – 0,00) ^b	0,00±0,00	0,00 (0,00 – 0,00) ^b
p	<0,001		<0,001	

*Kruskal Wallis testi, a-b: Aynı harfe sahip gruplar arasında bir fark yoktur.

Solüsyonlara göre *L. casei* ATCC 4646 bakterisine karşı oluşan inhibisyon zonlarının ortancaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p<0,001$). Negatif kontrol amaçlı dahil edilen steril salin solüsyonunun ortancası 0,00, pozitif kontrol amaçlı dahil edilen %5'lik NaOCl solüsyonunun ortancası 15,00, yine pozitif kontrol amaçlı dahil edilen %2'lik CHX solüsyonunun ortancası 22,00, GDF solüsyonunun ortancası 20,00, GDF/KI solüsyonunun ortancası 20,00, NGF solüsyonunun ortancası 0,00 ve KI solüsyonunun ortancası 0,00 olarak elde edilmiştir. Yapılan çoklu karşılaştırma sonucunda *L. casei* bakterisine karşı en etkili solüsyonun %2'lik CHX olduğu bulunmuştur. Sonrasında %5'lik NaOCl, GDF ve GDF/KI solüsyonlarının etkili olduğu ve kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilirken; steril salin, NGF ve KI solüsyonlarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık göstererek çok daha etkili olduğu görülmüştür.

Solüsyonlara göre *S. mutans* ATCC 25175 bakterisine karşı oluşan inhibisyon zonlarının ortancaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p<0,001$). Steril salin solüsyonunun ortancası 0,00, %5'lik NaOCl solüsyonunun ortancası 14,00, %2'lik CHX solüsyonunun ortancası 20,00, GDF solüsyonunun ortancası 30,00, GDF/KI solüsyonunun ortancası 30,00, NGF solüsyonunun ortancası 0,00 ve KI solüsyonunun ortancası 0,00 olarak elde edilmiştir. GDF ve GDF/KI solüsyonları *S. mutans* bakterisine karşı en geniş inhibisyon zonu oluşturan solüsyonlar olduğu tespit edilmiştir ve ikisi arasında istatistiksel olarak bir farklılık bulunmamıştır. Yüzde beşlik NaOCl ve %2'lik CHX solüsyonlarının ise GDF ve GDF/KI solüsyonlarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha dar inhibisyon zonu oluşturduğu; steril salin, NGF ve KI solüsyonlarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha etkili oldukları tespit edilmiştir.

4.1.2. CLSM İncelemesine Ait Bulgular

Biyofilm üzerine uygulanan deney materyallerinin *L. casei* ve *S. mutans* karyojenik bakterilerine karşı antibakteriyel etkilerinin ölçülmesi amacıyla mine örnekleri üzerinde ikili biyofilm tabakası oluşturulduktan sonra belirtilen materyaller her grupta uygulanmıştır. Sonrasında biyofilmdeki canlı ve cansız hücreler Canlı/Cansız Viability/Cytotoxicity Kit (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, ABD) ile boyanmıştır. Örnekler CLSM ile görüntülenmiştir ve COMSTAT2.1 programı ile canlı ve cansız hücreler mm^3/mm^2 cinsinden (biomass) ölçülmüştür. Canlı/Cansız hücre oranı küçüldükçe antibakteriyel etkinliğin arttığı bilinmektedir. Örnekler üzerinde kalan canlı ve cansız hücrelerin sayısı ile Canlı/Cansız oranları Tablo 4-2'de yer almaktadır.

Tablo 4-2: Gruplara göre CLSM analiz sonuçlarının karşılaştırma sonuçları.

	Canlı		Cansız		Canlı/Cansız	
	Ortalama $\pm$ s. sapma	Ortanca (min. - maks)	Ortalama $\pm$ s. sapma	Ortanca (min. - maks)	Ortalama $\pm$ s. sapma	Ortanca (min. - maks)
Grup 1 (Steril salin)	32,76 $\pm$ 9,58	32,69 (22,34 - 48,37)	18,51 $\pm$ 4,33	19,06 (13,09 - 25,99)	1,83 $\pm$ 0,37	1,68 (1,60 - 2,64) ^a
Grup 2 (%5'lik NaOCl)	26,02 $\pm$ 11,96	26,16 (7,76 - 41,66)	27,49 $\pm$ 12,14	28,26 (8,64 - 42,69)	0,95 $\pm$ 0,15	0,89 (0,77 - 1,20) ^b
Grup 3 (%2'lik CHX)	23,98 $\pm$ 14,04	25,57 (5,35 - 41,85)	20,40 $\pm$ 12,77	23,88 (4,15 - 39,53)	1,27 $\pm$ 0,16	1,29 (1,03 - 1,55) ^{ab}
Grup 4 (GDF)	32,44 $\pm$ 20,92	32,45 (5,96 - 55,90)	37,19 $\pm$ 24,73	43,13 (5,67 - 66,47)	0,95 $\pm$ 0,22	0,90 (0,63 - 1,35) ^b
Grup 5 (GDF/KI)	27,99 $\pm$ 12,12	32,55 (9,75 - 39,40)	29,06 $\pm$ 11,94	35,56 (10,26 - 42,18)	1,01 $\pm$ 0,26	1,00 (0,60 - 1,39) ^b
Grup 6 (NGF)	23,88 $\pm$ 18,94	15,19 (6,61 - 53,75)	11,55 $\pm$ 5,61	10,30 (6,27 - 23,29)	1,90 $\pm$ 1,11	1,49 (0,87 - 4,15) ^{ab}
p		0,806		0,057		<0,001

*Kruskal Wallis testi, a-b: Aynı harfe sahip gruplar arasında bir fark yoktur.

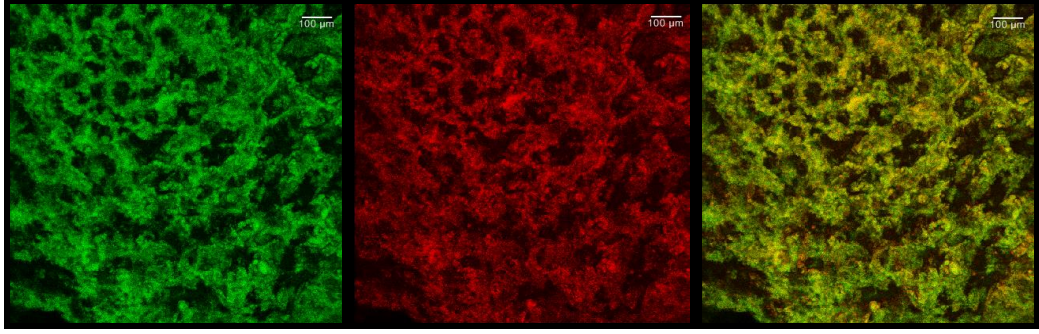
Gruplara göre canlı bakteri ortancaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,806$). Grup 1'in ortancası 32,69, Grup 2'nin ortancası 26,16, Grup 3'ün ortancası 25,57, Grup 4'ün ortancası 32,45, Grup 5'in ortancası 32,55, Grup 6'nın ortancası 15,19 olarak elde edilmiştir.

Gruplara göre cansız bakteri ortancaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,057$). Grup 1'in ortancası 19,06, Grup 2'nin ortancası 28,26, Grup 3'ün ortancası 23,88, Grup 4'ün ortancası 43,13, Grup 5'in ortancası 35,56, Grup 6'nın ortancası 10,30 olarak elde edilmiştir.

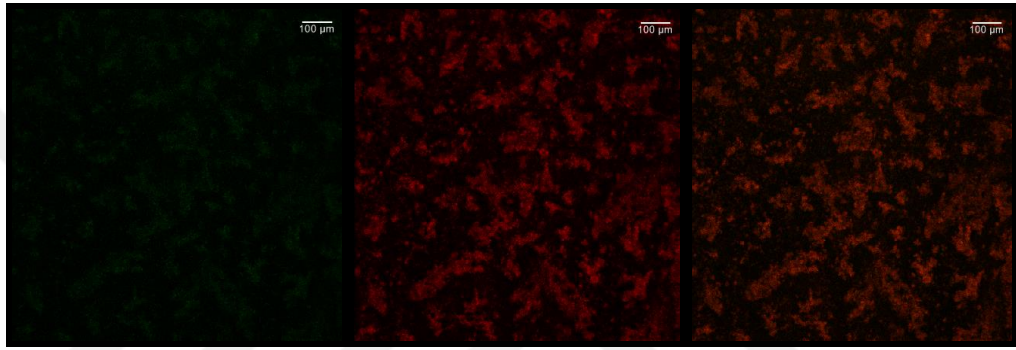
Gruplara göre canlı/cansız bakteri ortancaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,001$). Grup 1'in ortancası 1,68, Grup 2'nin ortancası 0,89, Grup 3'ün ortancası 1,29, Grup 4'ün ortancası 0,90, Grup 5'in ortancası 1,00, Grup 6'nın ortancası 1,49 olarak elde edilmiştir. Grup 1 ile Grup 2-4-5, Grup 4 ile Grup 3-6 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık elde edilmiştir. İkili biyofilm tabakası üzerinde en güçlü antibakteriyel etkiye sahip solüsyonların sırasıyla %5'lik NaOCl, GDF ve GDF/KI solüsyonları olduğu ve üçü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı bulunmuştur. NGF ve %2'lik CHX solüsyonlarının ikili biyofilm model üzerinde steril salinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha güçlü etkinliğe sahip olduğu ancak %5'lik NaOCl, GDF ve GDF/KI solüsyonlarından da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha az etkinliğe sahip oldukları tespit edilmiştir.

Elde Edilen CLSM Görüntüleri

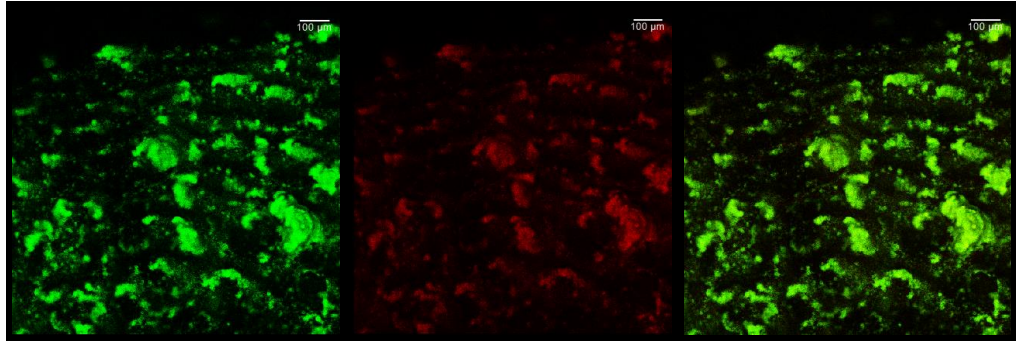
Oluşturulan ikili biyofilm tabakasının biyokütle (biomass) ölçümleri için kullanılan CLSM'ye ait görüntüler aşağıda yer almaktadır. Solüsyonların mine örneklerinin üzerinde oluşturulan ikili biyofilm tabakasına uygulanmasını takiben yapılan incelemede; kırmızı renkler cansız hücreleri göstermekteyken, yeşil renk canlı hücre varlığını ve sarı renkler canlı ile cansız hücre görüntülerinin üst üste getirildiği gerçek alan görüntülerini ifade etmektedir (Şekil 4-1, 4-2, 4-3, 4-4, 4-5, 4-6).



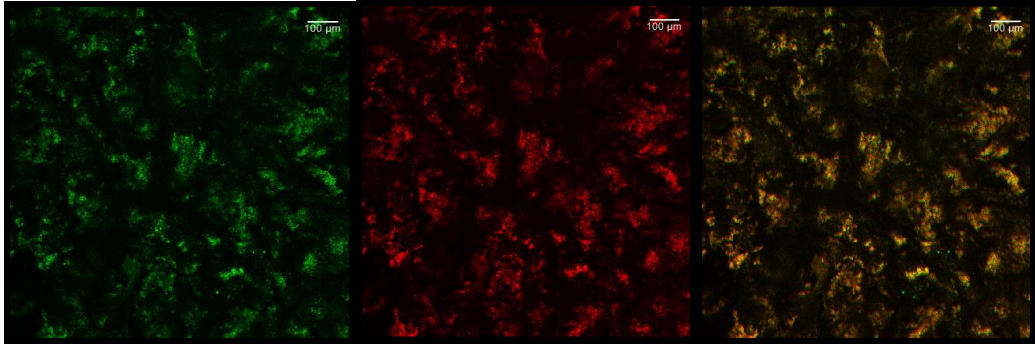
Şekil 4-1: Grup 1'e (Negatif kontrol grubu=Steril salin) ait CLSM görüntüleri.



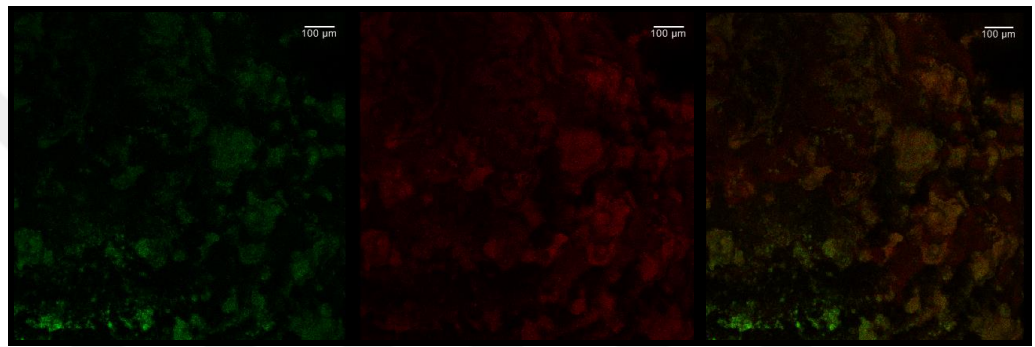
Şekil 4-2: Grup 2'ye (Pozitif kontrol grubu 1= %5'lik NaOCl) ait CLSM görüntüleri.



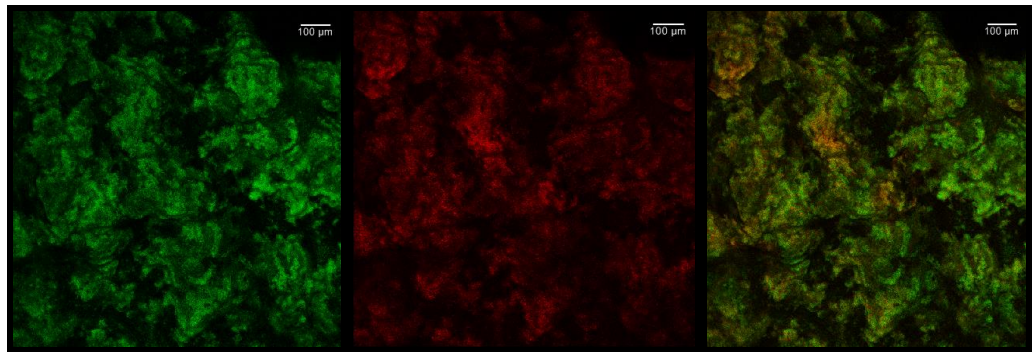
Şekil 4-3: Grup 3'e (Pozitif kontrol grubu 2= %2'lik CHX) ait CLSM görüntüleri.



Şekil 4-4: Grup 4'e (GDF) ait CLSM görüntüleri.

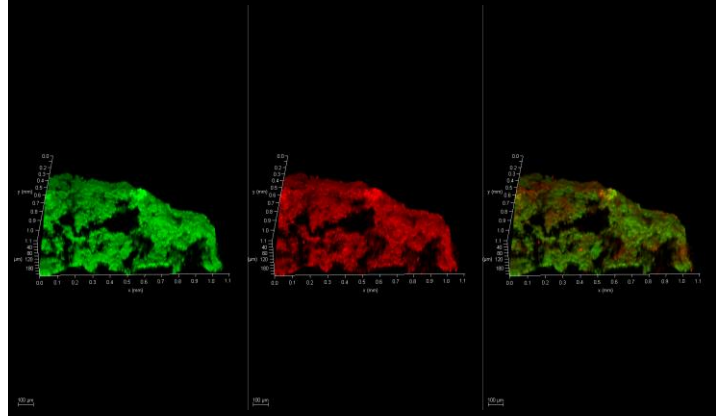


Şekil 4-5: Grup 5'e (GDF/KI) ait CLSM görüntüleri.

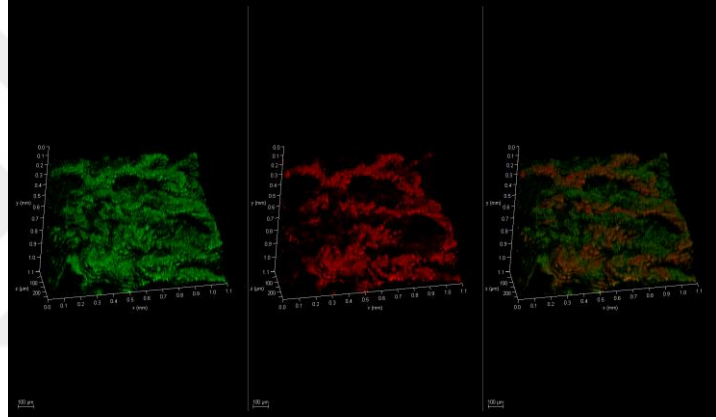


Şekil 4-6: Grup 6'ya (NGF) ait CLSM görüntüleri.

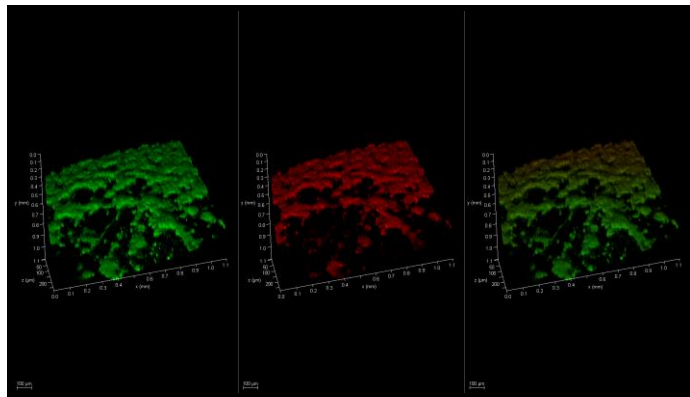
Gruplara ait CLSM incelemesi ile elde edilen üç boyutlu görüntüler aşağıda yer almaktadır (Şekil 4-7, 4-8, 4-9, 4-10, 4-11, 4-12).



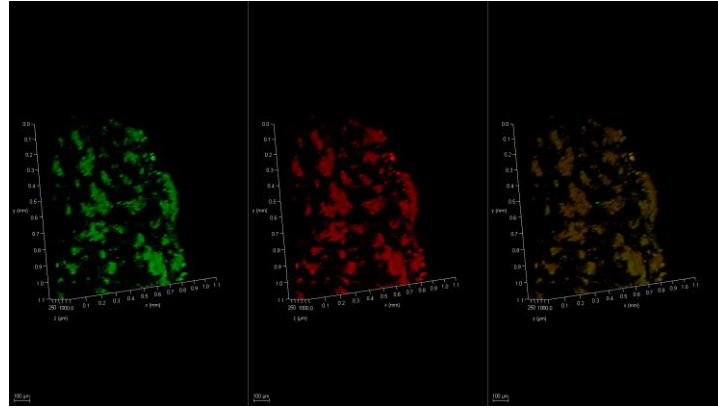
Şekil 4-7: Grup 1'e (Negatif kontrol grubu=Steril salin) ait üç boyutlu görüntüler.



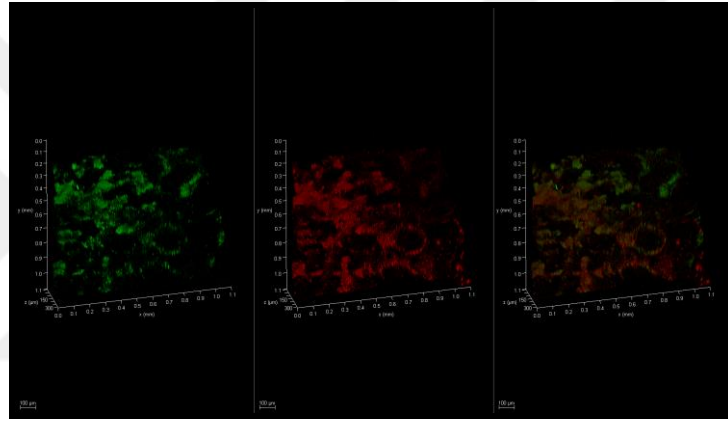
Şekil 4-8: Grup 2'ye (Pozitif kontrol grubu 1= %5'lik NaOCl) ait üç boyutlu görüntüler.



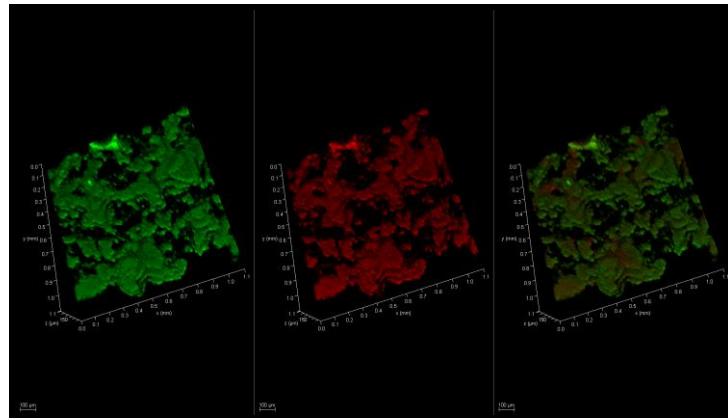
Şekil 4-9: Grup 3'e (Pozitif kontrol grubu 2= %2'lik CHX) ait üç boyutlu görüntüler.



Şekil 4-10: Grup 4'e (GDF) ait üç boyutlu görüntüler.



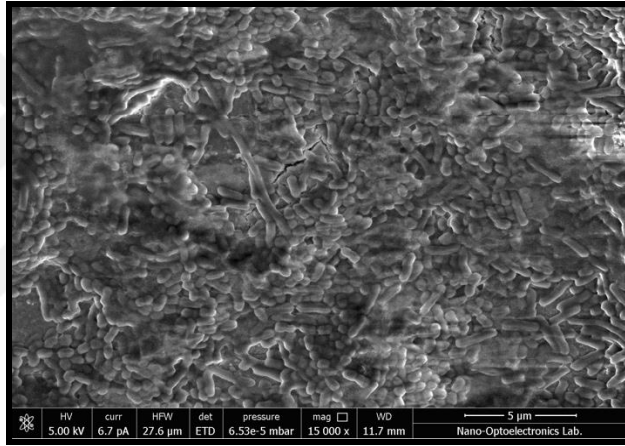
Şekil 4-11: Grup 5'e (GDF/KI) ait üç boyutlu görüntüler.



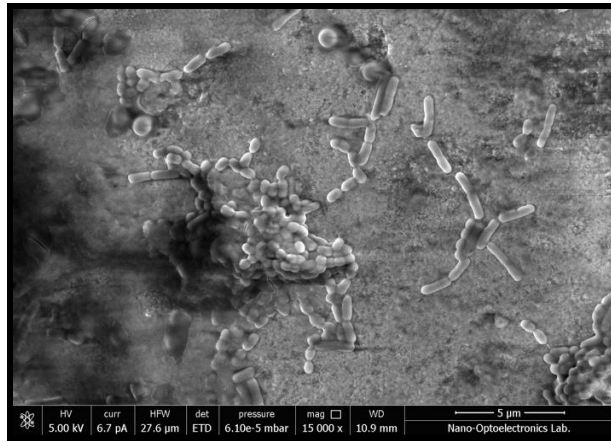
Şekil 4-12: Grup 6'ya (NGF) ait üç boyutlu görüntüler.

4.1.3. SEM İncelemesine Ait Bulgular

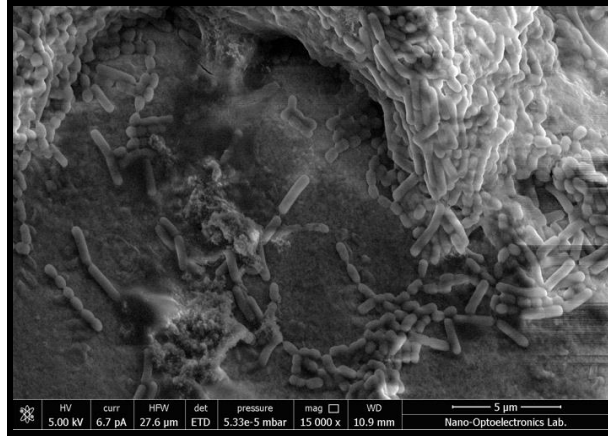
Her gruptan birer örnek SEM ile incelenmiştir. SEM görüntüleri incelendiğinde biyofilm oluşumunun steril salin uygulanan kontrol grubunda en yoğun olduğu görülmüştür. Grup 2’de %5’lik NaOCl uygulaması sonrasında bakteri yoğunluğunun oldukça az olduğu tespit edilmiştir. Grup 3’teki bakteri yoğunluğunun Grup 1’e göre daha az ancak Grup 2’ye göre daha fazla olduğu yorumu yapılmıştır. NGF uygulanan grupta da diğer kalan gruplara göre bakteri invazyonunun yoğun olduğu belirlenmiştir. GDF ve GDF/KI uygulanan gruplarda gümüş ve metal kristallerinin varlığı görüntülerde saptanmıştır ve bu durum değerlendirme yapmayı zorlaştırmış olsa da kontrol grubuna göre daha az bakterinin var olduğu yorumu yapılmıştır (Şekil 4-13, 4-14, 4-15, 4-16, 4-17, 4-18).



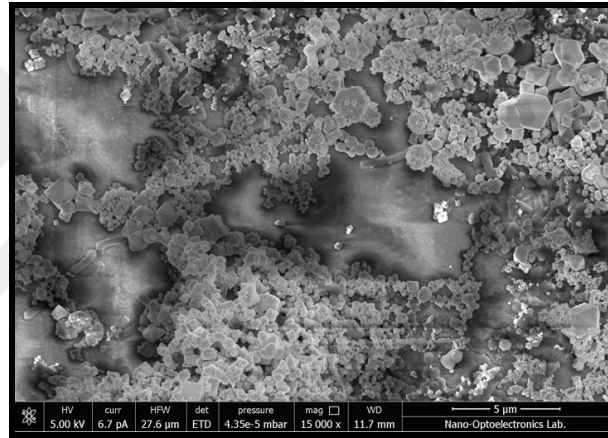
Şekil 4-13: Grup 1’e (Negatif kontrol grubu=Steril salin) ait SEM görüntüsü.



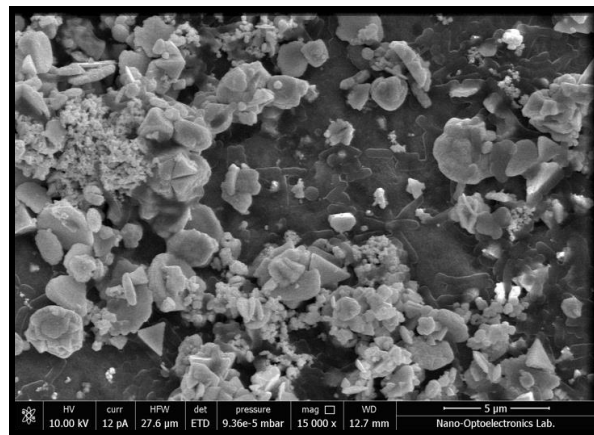
Şekil 4-14: Grup 2’ye (Pozitif kontrol grubu 1= %5’lik NaOCl) ait SEM görüntüsü.



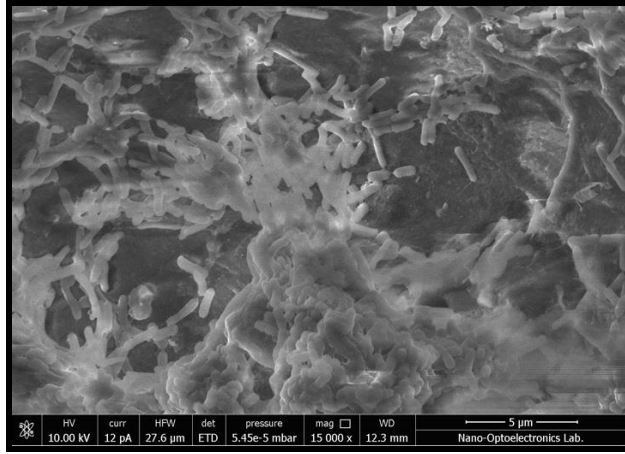
Şekil 4-15: Grup 3'e (Pozitif kontrol grubu 2= %2'lik CHX) ait SEM görüntüsü.



Şekil 4-16: Grup 4'e (GDF) ait SEM görüntüsü.



Şekil 4-17: Grup 5'e (GDF/KI) ait SEM görüntüsü.



Şekil 4-18: Grup 6'ya (NGF) ait SEM görüntüsü.

4.2. Materyallerin Restorasyon Materyali Kompomer Üzerindeki Renklenme Yapıcı Etkilerinin Değerlendirilmesi

Farklı zamanlarda (T) yapılan renk ölçümlerine ait açıklamalar Tablo 4-3'te yer almaktadır. T_0 işlemden hemen sonrayı, T_1 işlemden bir hafta sonrayı, T_2 işlemden 1 ay sonrayı ifade etmektedir. L_0 , a_0 , b_0 dört grupta da yer alan örneklerin işlemden hemen sonraki ortalama değerlerini ifade etmekteyken; L_1 , a_1 , b_1 işlemden bir hafta sonraki ortalamaları göstermektedir. L_2 , a_2 , b_2 ise işlemden bir ay sonraki ortalama değerleri belirtmektedir. ΔE_{1-2} , ΔL_{1-2} , Δa_{1-2} ve Δb_{1-2} ise T_1-T_0 ve T_2-T_0 zaman aralıklarındaki değişimleri ifade etmektedir.

Tablo 4-3: Renk ölçümü değerlerine ait açıklama.

T_0 : İşlemden hemen sonra	L_0, a_0, b_0
T_1 : İşlemden bir hafta sonra	L_1, a_1, b_1
T_2 : İşlemden bir ay sonra	L_2, a_2, b_2
T_1-T_0 : İlk ölçüm-1. hafta	$\Delta E_1, \Delta L_1, \Delta a_1, \Delta b_1$
T_2-T_0 : İlk ölçüm-1. ay	$\Delta E_2, \Delta L_2, \Delta a_2, \Delta b_2$

4.2.1. Grupların Tüm Zamanlardaki L* Değerleri ve Karşılaştırması

Grup ana etkisi L* değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Grup 1’de L* ortalama değeri 76,49, Grup 2’de 58,42, Grup 3’te 69,27 ve Grup 4’te bu değer 73,63 olarak elde edilmiştir. Burada tüm gruplarda elde edilen değerler birbirinden farklılık göstermektedir. Grup faktörü dışarda tutulduğunda zamanın ana etkisinin yine L* değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu tespit edilmiştir ($p<0,001$). T₀’daki L* ortalama değeri 71,27, T₁’deki L* ortalama değeri 69,24 ve T₂’de bu değer 67,84 olarak elde edilmiştir. Burada T₀’da elde edilen L* değeri diğer zamanlardan farklılık göstermiştir. Zaman geçtikte tüm gruplarda parlaklığın azaldığı görülmektedir. Grup ve zaman etkileşimi incelendiğinde, yine L değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,044$). En yüksek L* değeri 77,43 ile Grup 1’de T₀’da elde edilmiştir. En düşük L* değeri ise 55,14 ile GDF solüsyonunun uygulandığı Grup 2’de T₂ zamanında elde edilmiştir. GDF/KI uygulanan grupta ise GDF uygulanan gruptan daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna ve NGF uygulanan gruba göre T₂ zamanında daha düşük L* değeri saptanmıştır. KEK değeri ise etkisinin en fazla olduğu bileşeni göstermektedir. Grup ve dolayısıyla uygulanan solüsyonun incelenen değer üzerinde zamana göre etkisinin daha fazla olduğu görülmektedir. Tüm bu değerler aşağıdaki Tablo 4-4’te yer almaktadır.

Tablo 4-4: Grup ve zamana göre L₀, L₁ ve L₂ değerlerinin tanımlayıcı istatistikleri ve çoklu karşılaştırma sonuçları.

Zaman	Grup				Toplam	Grup			Zaman			Grup*Zaman		
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4		F	p	KEK	F	p	KEK	F	p	KEK
Hemen sonra	77,43 ± 2,47 ^A	61,99 ± 4,62 ^E	71,63 ± 3,18 ^{BCD}	74,05 ± 2,94 ^{AB}	71,27 ± 6,67 ^a									
1.hafta	77,26 ± 2,5 ^A	58,14 ± 5,38 ^{EF}	67,68 ± 2,39 ^D	73,88 ± 2,12 ^{AB}	69,24 ± 8,04 ^b	186,77	<0,001	0,824	11,79	<0,001	0,164	2,23	0,044	0,101
1.ay	74,78 ± 2,33 ^{AB}	55,14 ± 4,92 ^F	68,5 ± 2,94 ^{CD}	72,95 ± 1,85 ^{ABC}	67,84 ± 8,37 ^b									
Toplam	76,49 ± 2,66 ^c	58,42 ± 5,6 ^c	69,27 ± 3,26 ^c	73,63 ± 2,33 ^c	69,45 ± 7,8									

Ortalama ± standart sapma; a-d: Aynı harfe sahip ana etkiler arasında bir fark yoktur; A-F: Aynı harfe sahip etkileşimler arasında bir fark yoktur.

4.2.2. Grupların Tüm Zamanlardaki a* Değerleri ve Karşılaştırması

Grup ana etkisi a* değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$). Grup 1’de a* ortanca değeri 3,5, Grup 2’de 0,57, Grup 3’te 1,87 ve Grup 4’te bu değer 3,77 olarak elde edilmiştir. Burada tüm gruplarda elde edilen değerler birbirinden farklılık göstermektedir. Zaman ana etkisi a* değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,378$). T₀’da elde edilen a* ortanca değeri 3, T₁’de 2,42 ve T₂’de bu değer 1,85 olarak elde edilmiştir. Grup ve zaman etkileşimi a* değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Burada en yüksek a* ortanca değeri 4,03 ile Grup 4’te T₁’de elde edilmişken en düşük ortanca değer -0,03 ile Grup 2’de ve T₀’da elde edilmiştir. Tüm bu değerler aşağıdaki Tablo 4-5’te yer almaktadır.

Tablo 4-5: Grup ve zamana göre a₀, a₁ ve a₂ değerlerinin tanımlayıcı istatistikleri ve çoklu karşılaştırma sonuçları.

Zaman	Grup				Toplam	Grup		Zaman		Grup*Zaman	
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4		Q	p	Q	p	Q	p
Hemen sonra	3,67 (3,13 – 5) ^A	-0,03 (-0,2 – 1,2) ^D	1,87 (0,9 – 4,77) ^B	3,67 (2,97 – 4,43) ^{AC}	3 (-0,2 – 5)						
1.hafta	3,67 (1,4 – 5) ^{ABC}	0,57 (-1,27 – 2,83) ^{DE}	1,93 (0,73 – 5,4) ^{BE}	4,03 (3,7 – 4,6) ^A	2,42 (-1,27 – 5,4)	56,329	<0,001	0,973	0,378	139,171	<0,001
1.ay	1,8 (0,7 – 4,7) ^{BCDE}	1,23 (-0,33 – 3,87) ^{BDE}	1,7 (1 – 5,13) ^{BE}	3,67 (2,57 – 5) ^{AC}	1,85 (-0,33 – 5,13)						
Toplam	3,5 (0,7 – 5) ^d	0,57 (-1,27 – 3,87) ^c	1,87 (0,73 – 5,4) ^b	3,77 (2,57 – 5) ^a	2,38 (-1,27 – 5,4)						

Ortanca (minimum-maksimum); a-d: Aynı harfe sahip ana etkiler arasında bir fark yoktur; A-E: Aynı harfe sahip etkileşimler arasında bir fark yoktur.

4.2.3. Grupların Tüm Zamanlardaki b* Değerleri ve Karşılaştırması

Grup ana etkisi b* değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Grup 1’de b* ortanca değeri 17,33, Grup 2’de 11,67, Grup 3’de 11,37 ve Grup 4’te bu değer 17,13 olarak elde edilmiştir. Zaman ana etkisi b* değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,626$). T₀’da elde edilen b* ortanca değeri 13,52, T₁’de 13,13 ve T₂’de bu değer 14,05 olarak elde edilmiştir. Grup ve zaman etkileşimi b* değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,186$). Tüm bu değerler aşağıdaki Tablo 4-6’da yer almaktadır.

1,82^{bc} 4,8^a 1,91^{ab} 3,58^c 3,71

Ortalama $\pm$ standart sapma; a-c: Aynı harfe sahip ana etkiler arasında bir fark yoktur.

4.2.5. Δa Değerleri ve Karşılaştırılması

Grup ana etkisi Δa değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). Grup 1’de Δa ortalama değeri -1,18, Grup 2’de 0,7, Grup 3’te 0,05 ve Grup 4’te bu değer 0,15 olarak elde edilmiştir. Burada Grup1’de elde edilen Δa ortalama değeri diğer gruplarda elde edilen değerlerden farklılık göstermekte ve daha fazla azalma olmuştur. Zaman ana etkisi Δa değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p = 0,228$). T_1-T_0 ’da Δa ortalama değeri 0,04 iken T_2-T_0 ’da bu değer -0,18 olarak elde edilmiştir. Grup ve zaman etkileşimi Δa değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p = 0,014$). Burada en fazla azalma Δa değeri -1,77 ile Grup 1 de T_2-T_0 ’da elde edilmiştir ve diğer tüm etkileşimlerden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık göstermektedir. En yüksek değer ise 0,96 ile Grup 2’de T_2-T_0 ’da elde edilmiştir. Tüm bu değerler aşağıdaki Tablo 4-8’de yer almaktadır.

Tablo 4-8: Grup ve zamana göre Δa_1 ve Δa_2 değerlerinin tanımlayıcı istatistikleri ve çoklu karşılaştırma sonuçları.

Zaman	Grup				Toplam	Grup			Zaman			Grup*Zaman		
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4		F	p	KEK	F	p	KEK	F	p	KEK
T_1-T_0	-0,6 $\pm$ 1,03 ^B	0,44 $\pm$ 1,14 ^{BC}	0,02 $\pm$ 0,57 ^{BC}	0,32 $\pm$ 0,51 ^{BC}	0,04 $\pm$ 0,92									
T_2-T_0	-1,77 $\pm$ 0,85 ^A	0,96 $\pm$ 1,27 ^C	0,08 $\pm$ 0,48 ^{BC}	-0,01 $\pm$ 0,77 ^{BC}	-0,18 $\pm$ 1,32	18,3	<0,001	0,407	1,48	0,228	0,018	3,75	0,014	0,123
Toplam	-1,18 $\pm$ 1,1 ^a	0,7 $\pm$ 1,2 ^b	0,05 $\pm$ 0,52 ^b	0,15 $\pm$ 0,66 ^b	-0,07 $\pm$ 1,14									

Ortalama $\pm$ standart sapma; a-b: Aynı harfe sahip ana etkiler arasında bir fark yoktur; A-C: Aynı harfe sahip etkileşimler arasında bir fark yoktur.

4.2.6. Δb Değerleri ve Karşılaştırılması

Grup ana etkisi Δb değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). Grup 1’de Δb ortalama değeri -0,65, Grup 2’de 1,93, Grup 3’te -0,85 ve Grup 4’te bu değer -1,83 olarak elde edilmiştir. Grup 1’den elde edilen değerler ile Grup 2 ve Grup 3’teki değerler birbirinden farklıdır. Grup 2 ile Grup 4’ten elde edilen değerler de birbirinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık göstermiştir. Zaman ana etkisi

Δb değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,709$). T_1-T_0 'da elde edilen Δb ortalanca değeri $-0,72$ iken T_2-T_0 'da bu değer $-0,73$ olarak elde edilmiştir. Grup ve zaman etkileşimi Δb değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Burada en düşük Δb ortalanca değeri $-3,4$ ile Grup 4'te T_2-T_0 'da elde edilmişken en yüksek ortalanca değer $4,63$ ile Grup 2'de ve T_2-T_0 de elde edilmiştir. Tüm bu değerler aşağıdaki Tablo 4-9'da yer almaktadır.

Tablo 4-9: Grup ve zamana göre Δb_1 ve Δb_2 değerlerinin tanımlayıcı istatistikleri ve çoklu karşılaştırma sonuçları.

Zaman	Grup				Toplam	Grup		Zaman		Grup*Zaman	
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4		Q	p	Q	p	Q	p
T_1-T_0	-0,5 (-7,73 – 3,9) ^{AB}	0,63 (-2,93 – 1,97) ^A	0,4 (-10,73 – 3,77) ^A	-1,4 (-3,17 – -0,7) ^A	-0,72 (-10,73 – 3,9)						
T_2-T_0	-2 (-5,83 – 2,33) ^A	4,63 (1,3 – 8,27) ^B	-1,03 (-7,93 – 2,17) ^A	-3,4 (-5,83 – -1,47) ^A	-0,73 (-7,93 – 8,27)	13,887	<0,001	0,139	0,709	17,75	<0,001
Toplam	-0,65 (-7,73 – 3,9) ^c	1,93 (-2,93 – 8,27) ^b	-0,85 (-10,73 – 3,77) ^{ab}	-1,83 (-5,83 – -1,47) ^{ac}	-0,72 (-10,73 – 8,27)						

Ortanca (minimum-maksimum); a-b: Aynı harfe sahip ana etkiler arasında bir fark yoktur; A-B: Aynı harfe sahip etkileşimler arasında bir fark yoktur.

4.2.7. ΔE Değerleri ve Karşılaştırılması

Grup ana etkisi ΔE değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,013$). Grup 1'de ΔE ortalanca değeri $3,54$, Grup 2'de $6,99$, Grup 3'te $4,76$ ve Grup 4'te bu değer $3,91$ olarak elde edilmiştir. Grup 1'den elde edilen değerler ile Grup 2'deki değerlerden istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklıdır. En fazla renk değişiminin GDF uygulanan grupta gözlemlendiği, uzun dönemde GDF/KI ve NGF'nin benzer oranda renk değişimine neden olduğu saptanmıştır. Zaman ana etkisi ΔE değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,019$). T_1-T_0 'da elde edilen ΔE ortalanca değeri $4,01$ iken T_2-T_0 'da bu değer $5,05$ olarak elde edilmiştir. Grup ve zaman etkileşimi ΔE değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,332$). Tüm bu değerler aşağıdaki Tablo 4-10'da yer almaktadır.

Tablo 4-10: Grup ve zamana göre ΔE_1 ve ΔE_2 değerlerinin tanımlayıcı istatistikleri.

Zaman	Grup				Toplam	Grup		Zaman		Grup*Zaman	
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4		Q	p	Q	p	Q	p
T_1-T_0	2,74 (1,15 – 5,1)	5,1 (1,91 – 8,27)	4,78 (1,43 – 8,13)	3,68 (1,56 – 5,80)	4,01 (1,15 – 6,87)	3,567	0,013	5,497	0,019	3,412	0,332

	- 8,07)	11,18)	11,4)	5,84)	11,4)
T ₂ -T ₀	4,15 (1,58 - 7,13)	9,52 (3,33 - 14,9)	4,74 (1,72 - 8,59)	4,95 (1,21 - 7,79)	5,05 (1,21 - 14,9)
Toplam	3,54 (1,15 - 8,07) ^b	6,99 (1,91 - 14,9) ^a	4,76 (1,43 - 11,4) ^{ab}	3,91 (1,21 - 7,79) ^{ab}	4,63 (1,15 - 14,9)

Ortanca (minimum-maksimum); a-b: Aynı harfe sahip ana etkiler arasında bir fark yoktur.

5. TARTIŞMA

Diş çürükleri dünya genelinde çocukluk çağında en sık görülen kronik hastalıklardan biridir. Okul öncesi dönemdeki çocukların süt dişlerinde görülen bir veya daha fazla sayıdaki çürüğe sahip, çürük nedeniyle çekilmiş veya dolgu yapılmış diş yüzeyinin varlığı (dmfs) olarak tanımlanan ve çocukluk döneminde görülen çürük tiplerinden biri olan EÇÇ'nin, ADA tarafından önemli bir halk sağlığı sorunu olarak tanımlanmaktadır. Son yıllarda çürük yönetiminde meydana gelen ilerlemelerle genel çürük göstergelerinde bir azalma tespit edildiği bildirilse de EÇÇ'de hala artış görülmesinin dikkat çekici olduğu vurgulanmaktadır. EÇÇ'nin tedavi edilmediği durumlarda ağız sağlığıyla ilişkili olarak çocuğun yaşam kalitesi, beslenmesi, büyüme ve gelişimi, okul hayatı ve başarısı olumsuz yönde etkilenebilmektedir. Aynı zamanda yetişkin dönemdeki çürük oluşumu ile de ilişkili olması nedeniyle EÇÇ'nin önlenmesi ve kontrol altına alınması için özel tedavi stratejilerinin geliştirilmesi gerekmektedir (133). Yapılan epidemiyolojik çalışmalar tükürükteki koruyucu bileşenlerinin yetersiz olduğu veya bakteri tehdidinin yüksek olduğu durumlarda çürük oluşumunu önlemek için doğal veya bazı florür içerikli ürünler ile desteklenen remineralizasyon sürecinin yetersiz veya güvenilir olamayabileceğini göstermektedir. Bu nedenle farklı koşullarda da etkili, uygulaması kolay, ucuz, erişilebilir ve güvenilir olan güncel tedavi seçeneklerine ihtiyaç duyulmaktadır (60).

EÇÇ oluşumu genellikle üst çene süt kesici dişlerde başlamaktadır ve ardından sırasıyla süt birinci azıları, köpek dişlerini ve ikinci azıları etkilemektedir. Nedenleri multifaktöriyel ve karmaşıktır. Patogenezi diğer diş çürüğü tiplerine benzerdir ancak süt dişlerinin tam olgunlaşmamış yapıda olması ve yüksek asiditeye sahip ortam koşullarında daha yaygın ve rampant olarak görülmesinin nedeni olabilmektedir. Genel kanı olarak bakteri varlığı, şeker içerikli besinlerin sık tüketimi, konağa ait faktörler, ağız hijyeni, çevresel ve sosyokültürel etkenler belirleyici unsurlar olabilmektedir. *S. mutans*, *S. sobrinus* ve *Lactobacillus*'lar gibi bakteriler dental plakta bulunan karyojenik bakterilerdir ve diyetle alınan şeker içerikli besinleri fermente ederek asit üretimine neden olmaları çürük gelişimine yol açmaktadır. Son yapılan moleküler çalışmalarda çocukların dental plağındaki baskın türün *S. mutans* olduğu gösterilmiştir. Erken dönemde *S. mutans* kolonizasyonu görülen çocuklarda daha geç dönemde meydana

gelenlere göre EÇÇ riskinin daha yüksek olduğu belirtilmektedir. *S. mutans*'ın aside karşı gösterdiği direnç ve asit üretebilme yeteneği pH'ın düşmesine, demineralizasyonun başlamasına ve ortamda *Lactobacillus*'lar gibi asidojenik ve asidürik bakterilerin çoğalmasına neden olmaktadır (134). Svec ve arkadaşları 2009 yılında EÇÇ'ye sahip çocuklardaki *Lactobacillus* türleri ile ilgili yaptıkları çalışmalarının sonucunda çürük lezyonlarında ve kök kanallarında; *L. fermentum*, *L. rhamnosus*, *L. casei/paracasei*, *L. gasseri*, *L. salivarius* ve *L. plantarum* türlerinin sık görüldüğünü tespit ettiklerini bildirmişlerdir (135). Reis ve arkadaşları ise 2021 yılında yayınlanan çalışmalarında *L. casei*'nin EÇÇ'ye sahip çocuklarda yüksek miktarda bulunabildiğini ve çürük aktivitesi ile doğru orantılı bir ilişkisinin bulunduğunu belirtmişlerdir (136). Bu nedenle bu tez çalışmasındaki materyallerin *S. mutans* ve *L. casei* üzerinde sahip oldukları antibakteriyel etkinliklerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Geleneksel diş çürüğü yönetiminde, invaziv müdahaleler ve restorasyon işlemleri yer almaktadır. İlerlemiş diş çürüğünde ise kanal tedavisi ve çekim gerekebilmektedir. Bütün bu dental tedaviler pahalı olabilmekte, aileler ve devletler üzerinde ciddi bir ekonomik yük oluşturabilmektedir. Diş çürüğünün ilerlemesinin önlenabilir ve durdurulabilir olduğu düşünülürse girişimsel müdahalelerin yapılması yerine önlenmesi ve durdurulması üzerine planlamalar geliştirilmesi hem daha koruyucu hem de daha ekonomik olması gibi çeşitli avantajlara sahiptir. Bu amaçla diş hekimleri sıklıkla basit, ucuz ve uygulaması invaziv olmayan florür içerikli ajanların kullanımına başvurmaktadır. Farklı içeriklerde ve konsantrasyonlarda diş hekimleri tarafından profesyonel olarak veya hastalar tarafından bireysel olarak uygulanabilen çok sayıda florür içerikli materyal piyasada bulunmaktadır. Diş macunları hastalar tarafından en kolayca ve yaygın olarak bulunabilen ve kullanılabilen ürünlerdendir. Dünya Diş Hekimleri Birliği (FDI) tarafından 1000-1500 ppm florür içerikli diş macunlarının günde iki kez kullanılması önerilmektedir. Yüksek çürük riskine sahip olan kişilerde ise ADA, 5000 ppm florür içerikli olanların kullanılmasını tavsiye etmektedir. Profesyonel olarak diş hekimleri tarafından uygulanan florür içerikli ajanlar ise daha da yüksek oranlarda florür içeriğine sahip olmaktadır. En yaygın olarak kullanılan diğer ürünlere örnek olarak %1,23'lik APF jel, %5'lik NaF vernik (22,600 ppm) ve %38'lik GDF solüsyonu (44,800 ppm) verilebilmektedir (137). Florür içerikli ajanların çürük durdurma etkinliği üzerinde yapılan klinik ve *in vitro* çalışmalar GDF'nin diğer florür

içerikli ajanlardan daha başarılı sonuçlar verdiğini, karyojenik biyofilm tabakası üzerinde antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğunu ve bu nedenle popülerliğinin giderek arttığını göstermektedir (138). Ancak gelecekte yapılacak çalışmalarla olası yan etkilerinin ve zararlarının net bir şekilde açıklanmasına, güvenilirliğinin ve etkinliğinin doğrulanmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

GDF'nin içeriğindeki florürün, kalsiyum fosfat ve hidroksiapatit yapısı ile reaksiyona girerek florapatit ve kalsiyum florür oluşturduğu; bunun da asit direncini, mineral yoğunluğunu ve dentin remineralizasyonunu yükselterek çürük dokusunun sertliğini arttırdığı vurgulanmaktadır (139). Yapılan bazı *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda çürük durdurucu ve remineralizasyon etkinliğinin diğer florür içerikli verniklere ve jellere göre daha yüksek olduğunun tespit edildiği bildirilmiştir (133). Yu ve arkadaşlarının 2001 yılında yayınlanan çalışmalarının sonucunda GDF uygulaması sonrasında diş yüzeyinde kalsiyum florür, gümüş fosfat ve gümüş proteinlerinin oluşabileceğinin görüldüğü belirtilmiştir (140). Yine Yu ve arkadaşlarının 2006 yılında yayınlanan %38'lik GDF solüsyonu ve %5'lik NaF verniğinin ayrı ayrı ve birlikte kullanılarak mine örnekleri üzerindeki remineralizasyon etkilerini inceledikleri başka bir çalışmada; GDF ve NaF'nin benzer etkilere sahip olduğu ve birlikte kullanımının önemli bir avantaj oluşturmadığı sonucunu paylaşmışlardır (76). Alhothali ve arkadaşları farklı ppm'lerde florür içeren GDF solüsyonu (35,400 ppm F), NaF verniği (22,600 ppm F), TiF_4 solüsyonu (9,200 ppm F) ve SnF_2 jelin (1000 ppm F) remineralizasyon etkilerini *in vitro* çalışmalarında karşılaştırmıştır; bütün ürünlerin farklı derecelerde koruyuculuk sağladığı, GDF'nin demineralizasyona karşı korumada daha etkili olduğu ve remineralizasyonu daha çok arttırdığı sonucuna vardıklarını açıklamışlardır (141). Akyıldız ve arkadaşlarının NaF vernik, GDF ve yeni deneysel NGF solüsyonlarının mine çürüğü üzerindeki remineralizasyon etkinliklerini karşılaştırdıkları *in vitro* çalışmalarında NGF'nin NaF vernik ve GDF solüsyonu kadar etkili olmadığını bulmuşlardır. Silva ve arkadaşları ise yaptıkları *in vitro* çalışmada süt dişlerindeki minenin remineralizasyonunda NGF'yi NaF kadar etkili bulduklarını açıklamışlardır (142). Ortaya çıkan farklı sonuçlar remineralizasyon etkinliklerinin daha iyi anlaşılabilmesi için daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir.

Çoğu klinik çalışma sonucunda %38'lik GDF solüsyonunun 6 ayda 1 kullanımı başarılı bulunmuştur ve gelişmekte olan ülkelerde yaşayan yüksek çürük riskine sahip

çocuklarda kullanımı tavsiye edilmiştir. GDF ile ilgili ortaya çıktığı bildirilen temel yan etkiler diş dokularında siyah renklenmeye, pulpal irritasyona ve oral yumuşak dokularda tahrişe neden olabilmesidir. GDF'nin konsantrasyonu azaldıkça sebep olduğu yan etkilerinin ortaya çıkma riskinin de düştüğü ancak bu durumun çürük durdurucu etkinliğini de azaltabileceği bildirilmektedir. Yapılan bazı *in vitro* çalışmalarda GDF'nin KI ile birlikte kullanılmasıyla siyah renklenme etkisinin azaltılabildiği veya engellenebildiği gösterilmiştir (133). Nedeni KI'nın iyonize gümüşe bağlanarak ortamdan uzaklaştırılmasını sağlayıp dişte renklenmeye neden olmasını önlemesi olarak gösterilmektedir (143). Bu etkileşimden kremi kıvamda beyaz renkli AgI çökeltisi oluşmaktadır (139). Bu çökeltinin renklenme etkisini azaltabildiği bildirilirken GDF'nin çürük durdurucu etkinliğini de olumsuz yönde etkileyebileceğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır (143). Bununla birlikte renklenmeyi önleme üzerinde de yeterince etkili olmadığını bildiren ve daha çok sayıda araştırmaya ihtiyaç olduğunu vurgulayan çalışmalar mevcuttur (139). Bu amaçla bu tez çalışmasında GDF ve GDF/KI solüsyonlarının *S. mutans* ve *L. casei* üzerindeki antibakteriyel etkinliklerinin ve KI'nın GDF'nin neden olduğu siyah renklenmeyi önleme üzerindeki katkısının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Metalik içerikteki nanopartiküller ve metalik oksit, bakteri metabolizmasını ve biyofilm oluşumunu engellediği için diş hekimliğinde antimikrobiyal ajanların içinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (144). GDF'nin renklenme etkisinden kurtulmak ve güçlü antibakteriyel etkinliğe sahip yeni materyaller keşfetmek amacıyla nanogümüş partiküllerini barındıran ürünlerin geliştirilmesi düşünülmüştür (143). Gümüş nanopartiküllerinin antimikrobiyal etkinliğinin iyonize haldeki Ag'den daha yüksek olduğu ve kolloidal bir çözelti şeklinde stabilize edilebileceği belirtilmektedir. İçeriğine florür iyonunun eklenmesi minenin remineralizasyonunu sağlarken karyojenik mikroorganizmalara karşı bakterisidal etkinliği destekleyen sinerjik bir etki oluşturmaktadır (145). Nano ölçekli boyutları ve geniş yüzey alanı sayesinde gümüş nanopartikülleri, doğrudan bakteri ile etkileşime girebilerek bakterisidal etki gösterebilmektedir. Partikül boyutunun antibakteriyel gücü etkilediği ve boyutun küçülmesinin bakterilere temas etmek için daha geniş bir yüzey alanı sağlayarak antibakteriyel etkinliği arttırdığı belirtilmektedir. İçeriğindeki gümüş nanopartiküllerin 1-10 nm arasında olanlarının *S. mutans* üzerinde önemli bir düzeyde antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu belirtilmektedir. Virulansının CHX gibi ajanlardan 25 kat daha

fazla olabileceği vurgulanmaktadır (144). Gümüş nitrat, kitosan ve florür içeren kolloidal çözelti ile sodyum florür içeren vernik formülasyonları ilk üretilen ve üzerinde en çok çalışılan NGF tipleridir (6). Vernik olarak Haghgoo ve arkadaşları nanogümüş partikülleri ile sodyum florür verniği karıştırarak farklı konsantrasyonlarda NGF içeren vernikler üretmişlerdir (146). NGF'nin kolloidal çözeltisi içeriğinde bulunan kitosan, sodyum florür ve gümüş nanopartiküllerinin kümülatif etkileri antibakteriyel ve çürük durdurucu özellik sağlarken diş dokularında GDF gibi siyah renklenmeye neden olmadığı belirtilmektedir (6). Bu nedenle bu tez çalışmasında deneysel NGF solüsyonunun, GDF ve GDF/KI ile birlikte antibakteriyel özelliklerini ve renklenmeye sebep olma düzeylerini karşılaştırabilmek ve değerlendirebilmek için çalışmaya dahil edilmesi planlanmıştır.

İn vivo koşullarda yapılan çalışmalarda zorluklar nedeniyle ağız içinde meydana gelen değişiklikleri doğru ve anlamlı bir şekilde yansıtabilmek amacıyla *in vitro* ve *in situ* çalışma modelleri geliştirilmiştir. Bu tür modellerin ana avantajları; standardize edilmiş kontrollerin uygulanabilmesini, her test aşamasında belli bir değişkenin incelenebilmesini, yeni değişkenlerin kademeli olarak tanıtılabilmesini ve diş dokusundaki değişiklikleri ölçebilmek için belli zaman dilimleri boyunca doğru ölçüm yapabilen teknolojik cihazların kullanılabilmesini sağlamasıdır. *İn vitro* modeller kısa sürede uygulanabilmeleri, *in situ* çalışmalardan daha az personel gerektirmeleri, katılımcı uyum sorunlarına sahip olmaması ve nispeten daha ucuz olması nedeniyle çokça tercih edilen bir çalışma metodu olmaktadır (147). Bu sebepler değerlendirildiğinde bu tez çalışmasının *in vitro* koşullarda gerçekleştirilmesine karar verilmiştir.

Çekilen dişlerin deney zamanına kadar saklandığı koşullar ve geçen süre *in vitro* koşullarda yapılan çalışmaların sonuçlarını etkileyen önemli bir faktördür. Nötral pH'ta olmaları nedeniyle dişlerin saklanması için en çok tercih edilen solüsyonlar serum fizyolojik ve distile su olarak bildirilmektedir. Bu solüsyonların içerisinde herhangi bir mikroorganizmanın çoğalmasını engellemek amacıyla sodyum hipoklorit, timol, gluteraldehit, formalin ve kloramin T gibi antibakteriyel özellikteki içerikler ilave edilebilmektedir (148, 149). Serum fizyolojik veya distile suya %0,1'lik timolün eklenmesinin örnekler üzerinde herhangi bir histolojik değişikliğe neden olmadan antimikrobiyal etki gösterdiği bildirilmektedir (150). Bu sebeplerle bu tez çalışmasının

antibakteriyel etkinlik ve renk değerlendirmesi kısımları için toplanan bütün dişler deney zamanına kadar %0,1'lik timol içeren distile su içerisinde bekletilmiştir ve dişler toplanılmaya başladıktan sonra üç ay içerisinde deneylere başlanılmıştır. Dişler üzerinde var olan çeşitli doku artıkları el aletleri yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Antibakteriyel etkinlik kısmında deney zamanı geldiğinde akrilik içerisinde dişler gömölüp örnekler hazır hale getirildikten sonra sterilizasyonu için akrilik ve dişe ait mine örneklerinin sıcaklık farkından dolayı olası ayrılma riskini önleyebilmek için soğuk sterilazasyon yöntemlerinden etilen oksit ile sterilizasyonu sağlanmışır.

Literatürde GDF'nin çürük durdurucu etkinliğinin incelendiği ve çeşitli materyallerle karşılaştırıldığı çok sayıda çalışma mevcuttur. GDF ile tedavi edilen diş yüzeyinin sondalamadaki sertliği lezyonun inaktif hale geçtiğinin göstergesi olarak kabul edilmektedir ancak meydana gelebilecek siyah renklenmeden dolayı koyu renk değişiminin çürüğün durmasının göstergesi olarak değerlendirilemeyeceği belirtilmektedir (151). Llodra ve arkadaşlarının 373 çocuk hastayı 36 ay boyunca takip ederek tamamladıkları randomize kontrollü klinik çalışmalarında 6 ayda 1 olacak şekilde %38'lik GDF solüsyonu ile hiç bir uygulama yapmadıkları kontrol grubunun, çürük durdurucu etkinliklerini karşılaştırmışlardır ve sonucunda %38'lik GDF solüsyonunun süt ve sürekli birinci azı dişlerindeki çürük oluşumunu durdurmada ve azaltmada etkili ve yararlı bir materyal olduğu sonucuna varmışlardır (152). Mabangkhu ve arkadaşlarının 2020 yılında yayınlanan randomize kontrollü klinik çalışmalarında; en az bir aktif çürüğü olan 1-3 yaş aralığındaki çocuklarda iki grup halinde 6 ayda 1 olacak şekilde, ilk gruba %38'lik GDF solüsyonu ve ikinci gruba %5'lik NaF vernik uygulaması yapılp 12 ay sonundaki çürük durdurma etkinliklerini karşılaştırmışlardır ve sonuç olarak %38'lik GDF solüsyonunun %5'lik NaF verniğe göre daha başarılı olduğunu bulmuşlardır (73). Phonghanyudh ve arkadaşlarının 2022 yılında yayınlanan randomize kontrollü klinik çalışmalarında 1-3 yaş arası en az bir aktif çürük lezyonuna sahip olan çocuklarda ilk gruba %38'lik GDF solüsyonu, ikinci gruba %5'lik NaF verniği 6 ayda 1 olacak şekilde uygulanıp hastalar 18 aylık süre boyunca takip edilmiştir ve çürük durdurucu etkinlikleri karşılaştırılmışır. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı belirtilmiştir (153). Sirivichayakul ve arkadaşlarının 2023 yılında yayınlanan 18 aylık takipli randomize kontrollü klinik çalışmalarında; kontrol grubunda plasebo amaçlı su uygulayarak %5'lik NaF vernik ve %38'lik GDF solüsyonu uygulamasının çürük durdurucu etkinlikleri

karşılaştırılmıştır ve tüm ajanlar 6 ayda 1 olacak şekilde uygulanmıştır. İstatistiksel olarak gruplar arasında çürük gelişimini önleme açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (154). Gao ve arkadaşları 2020 yılında yayınlanan randomize kontrollü klinik çalışmalarında 6 ayda 1 uyguladıkları ve 30 ay süre ile takip ettikleri aktif kaviteasyonlu çürüğe sahip 3 yaşındaki çocuklarda %38'lik GDF solüsyonu ardından yapılan plasebo vernik (vazelin) uygulamasının çürük durdurucu etkinliğini %25'lik AgNO_3 solüsyonu ardından yapılan %5'lik NaF verniği uygulaması ile karşılaştırmışlardır ve gruplar arasındaki sonuçların benzer olduğunu belirtmişlerdir (155).

ADA, süt ve sürekli dişlerin koronal kısmında yer alan kaviteasyonlu çürük lezyonlarının durdurulması için yılda 2 kez %38'lik GDF solüsyonu ile birlikte 3 haftada bir %5'lik NaF verniğinin uygulanmasını önermektedir (156). Yapılan bazı çalışmalarda GDF'nin yılda 1 defa uygulanmasının NaF verniğin yılda dört kez uygulanmasından daha etkili olduğu sonuçları paylaşılmıştır (157). Zhi ve arkadaşları GDF'nin uygulama sıklığı arttıkça çürük durdurma etkinliğinin arttığını bildirmişlerdir ancak çürük oluşumunu önlemek, en uygun tedavi stratejisini belirlemek ve hangi uygulama sıklığının daha iyi olduğuna karar vermek için daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (158). Bu amaçla Janakiram ve arkadaşları GDF'nin yılda 1 kez; 6 ay aralıklarla yılda 2 kez; ilk uygulamadan 2 hafta sonra, 4 hafta sonra ve 8 hafta sonra tekrar uygulanmak üzere yılda toplamda 4 kez uygulanmasının etkinliğinin karşılaştırılabileceği randomize kontrollü klinik çalışma için bir çalışma protokolü geliştirmişlerdir (151).

Chibinski ve arkadaşları tarafından yapılan bir meta analiz çalışmasında GDF'nin çürük durdurucu etkinliğinin NaF vernikten ve ART prosedüründen %66 oranında daha fazla olduğu değerlendirilmesi yapılmıştır (138). Brada ve arkadaşlarının çapraz diş fırçalama tekniği, GDF ve cam iyonomer örtücünün sürmekte olan sürekli birinci azılar üzerindeki çürük durdurucu etkinliklerini karşılaştırdıkları pilot çalışmalarının 3 ve 6 aylık takiplerinde GDF'nin diğer gruplardan daha etkili olduğu ancak 18 ve 30 aylık takipleri sonucunda 3 grubun da benzer etkinliğe sahip olduğu sonucuna varmışlardır (159). Yapılan bazı çalışmalarda ise GDF solüsyonunun çürük durdurucu etkinliğinin hem florürlü vernik hem de cam iyonomer örtücü uygulamasından daha yüksek olduğu belirtilmiştir (160). Monse ve arkadaşlarının 18

aylık süre boyunca florürlü diş macunu ile dişlerini fırçalayan ve fırçalamayan 6-8 yaş aralığındaki 704 çocuk üzerinde yürüttükleri randomize kontrollü klinik çalışmalarında kontrol gruplarında ek bir uygulama yapmadan diğer gruplarda ise sırasıyla yılda 1 kez %38'lik GDF solüsyonu uygulamasının ve ART tekniği ile yapılan cam iyonomer örtücünün sürekli birinci azılar üzerindeki çürük durdurucu etkinliğini karşılaştırmışlardır. Florürlü macun kullanan çocuklarda kontrol grubu ve GDF'nin sonuçları benzer bulunurken, ART tekniği ile örtücü yapılan grubun istatistiksel olarak anlamlı şekilde çürük oluşumunu azaltmada daha etkili olduğu bulunmuştur. Florürlü macun ile fırçalama yapmayan çocuklarda ise GDF solüsyonu ve ART tekniği ile örtücü yapılan grupların kontrol grubuna göre çürük oluşumunu azalttığı ancak ART grubunun istatistiksel olarak yine daha yüksek oranda çürük durdurucu etkinliğe sahip olduğu vurgulanmıştır. GDF'nin 18 aylık sürede bir kez uygulanmasının çürük durdurmada çok da etkili olamayabileceği belirtilmiştir (161).

GDF solüsyonunun ART tekniği ile karşılaştırıldığı çalışmalara ek olarak birlikte kullanılabileceğini, GDF solüsyonu uygulaması sonrasında cam iyonomer ile dişin restore edilebileceğini bildiren çalışmalar ve yöntemler mevcuttur. Bu tekniğe SMART denmektedir (162). Jiang ve arkadaşları 2020 yılında yayınladıkları 24 ay takipli randomize kontrollü klinik çalışmalarında ART tekniği öncesinde GDF uygulanmasının restorasyonun başarısı üzerindeki etkinliğini değerlendirmişlerdir. Dişlere kontrol grubunda su, diğer grupta ise %38'lik GDF solüsyonu uygulandıktan 10 hafta sonra ART tekniği ile restorasyon yapılmıştır. Restorasyon işleminin geciktirilmemesi olarak GDF'nin uygulandıktan sonraki 6 aylık süre içerisinde aktif çürüğün durabileceğini belirten yayınların varlığı kaynak gösterilmiştir. Bu amaçla restorasyonun 10 hafta beklenildikten sonra yapılmasının nedeninin çürük lezyonun inaktif hale geçmesi için zaman tanımak olduğu belirtilmiştir. Bu çalışma sonucunda da kontrol grubuna göre dişlere öncesinde GDF solüsyonunun uygulanmasının ART tekniğinin başarısını önemli ölçüde etkilemediği ve başarıda daha çok restorasyonun veya kavitenin sınıfının önemli olduğu bildirilmiştir (163). Mohammed ve arkadaşlarının 3-6 yaş aralığındaki çocukların süt dişlerinde SMART ve ART tekniğini kullanarak yaptıkları restorasyonların klinik başarılarını karşılaştırdıkları randomize kontrollü klinik çalışmalarında SMART tekniğinin ART tekniğinden daha başarılı sonuçlar verdiğini açıklamışlardır ve ART tekniğinin etkinliği arttırabilmek GDF ile

birlikte kullanılabileceğini belirtmişlerdir. SMART grubundaki dişlere cam iyonmer restorasyonlar GDF uygulandıktan 1 hafta sonra yapılmıştır (164).

Mei ve arkadaşları 2016 yılında yayınlanan *in vitro* çalışmalarında 6 adet küçükazı dişini toplayıp bütün dişlerde dörder adet 4x2x2 mm³ büyüklüğünde kaviteler hazırlamışlardır. İlk grupta yer alan kavitelere %38'lik GDF solüsyonu uygulamasını takiben cam iyonmer restorasyon, ikinci gruba sadece cam iyonmer restorasyon, üçüncü gruba %38'lik GDF solüsyonu uygulamasını takiben kompozit restorasyon materyali, dördüncü gruba sadece kompozit materyali uygulaması yapılmıştır. Sonrasında termal sıklusa sokulan dişler 28 gün boyunca *S. mutans* ve *L. acidophilus* içeren %5'lik sükröz çözeltisinde bekletilerek sekonder çürük gelişim riski açısından değerlendirilmiştir. Sonuç olarak GDF uygulamasının kompozit ve cam iyonmer restorasyon materyallerinin sekonder çürük oluşumuna karşı direncini arttırdığını tespit etmişlerdir (165).

Zhao ve arkadaşları 2017 yılında yaptıkları çalışmanın sonucuna göre GDF/KI'nın sekonder çürük oluşumunu engellediğini ama GDF kadar etkili olmadığını bulduklarını açıklamışlardır (102). Knight ve arkadaşları 2006 yılında KI'nın doymuş çözeltisini kullanarak yaptıkları çalışmada KI'nın GDF ile birlikte uygulanmasının GDF'nin çürük durdurucu özelliğini etkilemediğini belirtmişlerdir (166). Baraka ve arkadaşlarının 2022 yılında yayınlanan randomize kontrollü klinik çalışmalarında derin çürüklü sürekli birinci büyükazı dişlerini üç gruba ayırarak ilk grupta GDF uygulaması, ikinci grupta GDF/KI uygulaması, üçüncü grupta liner olarak rezin modifiye cam iyonmer (RMCIS) materyali uygulaması işlemlerini takiben dişleri kompozit ile restore etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda sekonder çürük oluşumu, ağrıyı önleme veya pulpal sağlığın korunması açısından gruplar arasında anlamlı herhangi bir farklılık görülmediği belirtilmiştir (167). Turton ve arkadaşları 2021 yılında yayınlanan klinik çalışmalarında GDF ve AgF solüsyonlarının KI ile birlikte kullanımının çürük durdurucu özelliklerine olan etkilerini incelemişler ve KI'nın bu solüsyonların çürük durdurucu etkinliğini önemli ölçüde azalttığı sonucunu paylaşmışlardır (143).

Tirupathi ve arkadaşlarının 2019 yılında yayınlanan randomize kontrollü klinik çalışmalarının sonucunda 22,600 ppm NaF ekleyerek elde ettikleri %5 AgNPs bulunduran NaF içerikli verniğin %38'lik GDF solüsyonuna göre çürük durdurma etkinliğinin daha yüksek oranlarda olduğu ve renklenmeye neden olmadığı

belirtilmiştir. Vernikteki nanopartiküllerin boyutunun 100 nm'den küçük olduğu ve seyreltici ajan olarak suda çözünebilen polivinil piridolin (PVP) içerdiği vurgulanmıştır (64). Al-Nerabieah ve arkadaşlarının 2020 yılında yayınlanan randomize kontrollü klinik çalışmalarında 4 nm büyüklüğünde ve küresel şekilde AgNPs içerdiği belirtilen NGF solüsyonu ile %38'lik GDF'nin çürük durdurucu etkinliklerini karşılaştırmışlardır. Sonuç olarak GDF'nin NGF'ye göre daha etkili olduğu ancak NGF'nin de kabul edilebilir düzeyde bir çürük durdurucu etkinliğe sahip olduğu belirtilmiştir (111). Nagireddy ve arkadaşlarının 2019 yılında yayınladıkları ve 4-9 yaş aralığındaki çocuklarda yaptıkları randomize kontrollü klinik çalışmalarında; yılda 1 kez uyguladıkları NGF solüsyonunun çürük durdurucu etkinliğini kontrol grubunda yer alan salin uygulaması ile karşılaştırmışlardır. NGF solüsyonunun içeriğinde Ag^+ , NaF ve kitosan olduğu; nanopartiküllerin küresel şekilde olduğu ve boyutlarının ortalama $3,2 \pm 1,2$ nm arasında olduğu belirtilmiştir. Sonuç olarak NGF solüsyonunun süt azı dişlerinde kariyostatik etkinliğe sahip olduğunu bulduklarını açıklamışlardır (168). Arnaud ve arkadaşları 2021 yılında yayınlanan randomize kontrollü klinik çalışmalarında 400 ve 600 ppm AgNPs içeren NGF solüsyonlarının süt dişlerindeki çürük durdurucu etkinliklerini 6 ay sonunda değerlendirmişlerdir. NGF 600 solüsyonunun daha yüksek oranda çürük durdurucu etkinliğe sahip olduğu ve uygulanan diş yüzeyinin de (oklüzal veya arayüz olması gibi) sonucu etkilediği bildirilmiştir (105). Ammar ve arkadaşları %38'lik GDF ve PEG ile kaplı AgNPs içeren NGF solüsyonlarının çürük durdurucu etkinliklerini karşılaştırdıkları randomize kontrollü klinik çalışmalarında iki solüsyonun da benzer kariyostatik etkinliklere sahip olduklarını paylaşmışlardır (113).

GDF solüsyonunun uygulanması öncesinde dişlere yakın yumuşak dokunun ve dudakların renklenmesini önlemek için vazelin sürülmesi önerilmektedir. Öncesinde dişlerin fırçalanmış olması ve uygulama esnasında diş yüzeyinin pamuk peletlerle veya gazlı bezle kuru tutulması tavsiye edilmektedir (157). Uygulama öncesinde çürük dokusunun uzaklaştırılması şart değildir ancak bunun çürüğün inaktif hale geçme süresini kısaltabileceği belirtilmektedir (169). Solüsyonun diş yüzeyine uygulanması esnasında mikrofırçayla ovalama hareketi yapılması şart değildir fakat GDF'nin lezyon ile 1-3 dakika boyunca (en az 1 dakika olması gerektiğini belirten yayınlar mevcuttur) temas etmesi sağlanmalıdır. Sonrasında dişlerin su ile yıkanmasının bir sakıncası olmadığı belirtilmektedir ancak yapılması gerekli değildir ve yumuşak dokularda

renklenmeye ve hasta tarafından metalik tat hissedilmesine neden olabilmektedir. Bu nedenle fazlasının gazlı bezle veya pamuk peletle uzaklaştırılması önerilebilmektedir. Sonrasında kuru kalmasını sağlamak için dişlerin üzerinin NaF vernikle kaplanması tavsiye edilebilmektedir (157, 170).

GDF, GDF/KI ve NGF solüsyonlarının uygulanma protokolleri ile ilgili yapılan *in vitro* ve klinik çalışmalarda farklılıklar bulunmaktadır. On saniye ile 3 dakika arasında diş yüzeyine uygulanabildiği, sonrasında su ile durulamanın veya hava ile kurulamanın yapılıp yapılmadığı ve fazlasının gazlı bez veya pamuk peletlerle uzaklaştırılabildiği farklı prosedürler içeren çalışmalar literatürde bulunmaktadır. Üretici firma önerileri dikkate alınarak bu tez çalışmasının antibakteriyel etkinlik kısmındaki tüm solüsyonlar; biyofilm model oluşturulan mine örnekleri üzerine bakterilere mekanik olarak olabildiğince az zarar vermek için mikropipetler yardımıyla uygulanmıştır ve 1 dakika beklenildikten sonra yine mikropipetler aracılığıyla 1 ml steril salin ile örnekler yıkanmıştır. GDF/KI uygulanan grupta farklı olarak GDF uygulanıp 1 dakika beklenildikten hemen sonra KI uygulanmış ve ardından tekrar 1 dakika beklenilip 1 ml steril salin ile örnekler yıkanmıştır. Renk değerlendirmesi kısmında ise mikrofırça yardımıyla GDF ve NGF solüsyonları diş yüzeyine uygulanıp 1 dakika boyunca beklenildikten sonra fazlası pamuk peletle alınmış ve 5 saniye hafifçe hava ile kurutulmuştur. GDF/KI uygulanan grupta ise ek olarak GDF uygulamasından sonra KI solüsyonu beyazlık gidene kadar uygulanmış olup ardından 30 saniye su ile yıkanmıştır ve 5 saniye hava ile diş kurulanmıştır.

5.1. Antibakteriyel Etkinlik Değerlendirmesinin Tartışması

Bu tez çalışmasında antibakteriyel etkinliğin incelenmesi için GDF, GDF/KI ve NGF solüsyonlarının değerlendirilmesi ve karşılaştırılması amaçlanmıştır. Antibakteriyel etkinliğe sahip olmadığı bilinen steril salin negatif kontrol olarak, *S. mutans* ve *L. casei* bakterileri üzerinde antimikrobiyal etkinliğe sahip oldukları belirtilen %5'lik NaOCl ve %2'lik CHX solüsyonları ise pozitif kontrol amaçlı çalışmaya dahil edilmişlerdir.

CHX, cilt ve mukoza için en yaygın kullanılan katyonik özellikteki antiseptik ajanlardan biridir. Ağız gargaralarında, diş iplerinde, diş macunlarında, verniklerde, jellerde, çeşitli solüsyonlarda ve zamanla salınabildiği bazı diş hekimliği materyallerinin içinde çeşitli konsantrasyonlarda bulunabilmektedir (171). Oral

antiseptik ajanlar arasında altın standart olarak kabul edilmektedir (172). Gram pozitif, gram negatif, bazı mayalar ve virüslere karşı antimikrobiyal etkinliğe sahiptir (171). Ancak gram pozitif bakteriler üzerinde gram negatif bakterilere göre daha yüksek oranda antibakteriyel etkinliğe sahiptir ve *S. mutans*'ın gelişimini inhibe edebilmektedir (172). Bu nedenle diş çürüğünün önlenmesinde ve plak oluşumunun engellenmesinde kullanılabilir (171). CHX'nin %2'lik konsantrasyonlarının biyolojik olarak uyumlu ve toksik olmadığı, kavite dezenfeksiyonunda kullanılabildiği belirtilmektedir. NaOCl de yine günümüzde kavite dezenfeksiyonunda kullanılabilen ancak esas olarak uzun yıllardır endodontide kanal irrigasyon ajanı olarak kullanılmış ve kullanılmaya devam edilmekte olan yüksek antibakteriyel etkinliğe sahip bir diğer solüsyondur (172). Gram pozitif bakteriler, gram negatif bakteriler, mantarlar, sporlar, virüsler ve biyofilm yapısı üzerinde etkinliğe sahip olduğu belirtilmektedir. Vital ve nekrotik yumuşak dokular üzerinde proteolitik etkisi bulunmaktadır. Çeşitli konsantrasyon aralıklarında (%0,5-6) piyasada bulunabilmektedir ve konsantrasyonu arttıkça antimikrobiyal etkinliğinin ve toksisitesinin de arttığı belirtilmektedir (173). Bu sebeplerle bu tez çalışmasının antibakteriyel etkinliğin değerlendirilmesi bölümünde yer alan gruplara %2'lik CHX ve %5'lik NaOCl solüsyonları pozitif kontrol amacıyla dahil edilmiştir.

Belirli bir bakteri türüne karşı bir materyalin antimikrobiyal etkinliğini saptayabilmek için duyarlılık testleri kullanılabilir. Dilüsyon ve difüzyon olmak üzere iki çeşit duyarlılık test türü bulunmaktadır. Tüp dilüsyon ve agar dilüsyon olmak üzere iki tipi mevcut olan dilüsyon testleri, bir bakterinin üremesini engellemek veya öldürmek için ihtiyacı olan minimum konsantrasyonun belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadır. Difüzyon testlerinin ise disk difüzyon testi ve e-test olmak üzere iki türü bulunmaktadır. E-test yönteminde şeritler yardımıyla katı besiyerde difüzyon yoluyla minimum inhibe edici konsantrasyon belirlenmeye çalışılmaktadır. Sıklıkla kullanılan disk difüzyon yönteminde ise incelenecek materyaller kağıt disklerle emdirilerek bakterilerin yer aldığı katı besiyerlere yerleştirilerek diskler etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çaplarının milimetrik olarak ölçülüp karşılaştırılması yapılmaktadır (174). Bu tez çalışmasında belirlenen solüsyonların antimikrobiyal etkinlikleri her bakteri için ayrı olarak hazırlanan besiyerlerinde herhangi bir kuyu açmadan disk difüzyon testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen inhibisyon zonları kumpasla ölçülüp karşılaştırılmıştır ve antimikrobiyal etkinlikleri yorumlanmıştır. *S. mutans*'a karşı antimikrobiyal etkinliğin en yüksek olduğu

solüsyonların sırasıyla %2'lik CHX, GDF/KI ve GDF olduğu; *L. casei*'ye karşı antimikrobiyal etkinliğin en yüksek olduğu solüsyonların GDF/KI ile GDF olduğu ve KI'nın GDF'nin antimikrobiyal özelliğini etkilemediği bulunmuştur. NGF, KI ve steril salinin her iki bakteri için de antimikrobiyal etkinliğe sahip olmadığı tespit edilmiş olup NGF için bu durumun içerisindeki gümüş partiküllerinin topaklanmış olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Savaş ve arkadaşları 2015 yılında yayınlanan *in vitro* çalışmalarında %38'lik GDF solüsyonunun mine örnekleri üzerinde oluşturulan *S. mutans* içerikli biyofilm model üzerindeki antibakteriyel etkinliğini %1,23'lük APF jel, Amonyum Hekzaflorasililat (AHF), AHF+Setilpiridinyum Klorür (CPC), %0,2'lik CHX solüsyonu ve kontrol grubunda da distile suyu örnekler üzerine uygulamaları sonrasında canlı kalan bakteri sayılarını hesaplayarak karşılaştırmışlardır. Test edilen materyaller arasında GDF en yüksek antibakteriyel etkinliğe sahip olan solüsyon olurken en az azalmanın CHX solüsyonunda görüldüğü belirtilmiştir (175).

Ruiz-Linares ve arkadaşları da çeşitli konsantrasyonlardaki aleksidin, setrimid ve CHX solüsyonlarının *S. mutans* içerikli biyofilm üzerindeki etkinliklerini inceledikleri *in vitro* çalışmalarında CHX'nin bakteri sayısında azalmaya neden olduğu ancak biyofilm üzerinde etkili olmadığı sonucunu paylaşmışlardır (176). Tawokoli ve arkadaşlarının %2'lik CHX, %5'lik NaOCl, %17'lik EDTA, %3'lik H₂O₂ ve %0,9'luk steril salinin *S. mutans*, *S. oralis* ve *Actinomyces oris* (*A. oris*) içerikli üçlü biyofilm model üzerindeki etkilerini CLSM ile değerlendirdikleri *in vitro* çalışmalarında %5'lik NaOCl'nin biyofilm model üzerindeki en etkili solüsyon olduğunu ve %2'lik CHX'nin biyofilm üzerinde herhangi bir etkinliğe sahip olmadan sadece bakteri sayısında azalmaya neden olduğunu paylaşmışlardır (177). Bu tez çalışmasında da hazırlanan ikili biyofilm model üzerinde %2'lik CHX'nin %5'lik NaOCl'den istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha az etkili olduğu saptanmıştır.

Chakraborty ve arkadaşlarının, 2021 yılında yayınlanan klinik çalışmalarında; %38'lik GDF solüsyonunun tükürükte varolan *S. mutans* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini değerlendirmişlerdir. Çalışmaya 3-10 yaş arasında yer alan, sınıf I veya sınıf II kaviteyonlu ART tekniğinin uygulanabileceği en az iki diş çürüğüne sahip süt veya sürekli dişleri olan ve herhangi bir sistemik hastalığı olmayan 20 adet çocuk hasta dahil edilmiştir. Hastalardan tedavi öncesinde tükürük örneği alınmış sonra %38'lik GDF

solüsyonu uygulamasını takiben ART tekniği ile dişler restore edildikten hemen sonra, 1., 3. ve 6. ayda tekrar tükürük örnekleri toplanılmıştır. Yapılan değerlendirmenin sonucunda GDF'nin tükürükteki *S. mutans* koloni sayısını azalttığı ve hem bakterisidal hem de bakteriostatik etkilere sahip olduğu sonucuna varılmıştır (178). Mei ve arkadaşlarının 2013 yılında yayınlanan ve dentin örnekleri üzerinde *S. mutans* ve *L. acidophilus* içerikli ikili biyofilm model oluşturarak yaptıkları *in vitro* çalışmada GDF'nin antibakteriyel özelliğini CLSM ve SEM ile değerlendirmişlerdir ve CFU/ml ile canlı kalan bakteri sayısını incelemişlerdir. Sonuç olarak GDF'nin kontrol grubundaki su uygulamasına göre baskın bir şekilde antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu belirtilmiştir (179). Mei ve arkadaşları 2013 yılında yayınladıkları başka bir çalışmada da %38'lik GDF solüsyonunun antibakteriyel etkinliğini dentin örnekleri üzerinde oluşturdıkları *S. mutans*, *S. sobrinus*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* ve *A. naeslundii* bakterilerini içeren biyofilm modelde; kontrol grubunda su uygulayarak yine CLSM ve SEM ile değerlendirmişler ve CFU/ml ile canlı kalan bakteri sayılarını incelemişlerdir. GDF'nin demineralizasyon sürecini ve karyojenik biyofilmin gelişimini engellediğini ve çürük oluşumunu durdurduğunu belirtmişlerdir (180). Chu ve arkadaşları 2011 yılında yayınlanan çalışmalarında dentin bloklarda oluşturdıkları *S. mutans* ve *A. naeslundii* bakterilerini içeren ikili biyofilm model üzerinde %38'lik GDF ve kontrol grubunda yer alan suyun antibakteriyel etkinliğini SEM, CLSM ve CFU/ml yöntemleri ile değerlendirmişlerdir. GDF'nin yüksek antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu sonucunu paylaşmışlardır (181).

Wilson ve arkadaşları 2022 yılında yayınlanan *in vitro* çalışmalarında GDF'nin mikro fırça ile uygulanmasına ek olarak gümüş iyonlarının dentin üzerindeki çökmesini hızlandıran ve dentinin sertliğini arttırabilen ışıkla polimerizasyon uygulamasının yapılmasıyla elde edilebilecek ek antimikrobiyal etkinliği değerlendirmek istemişlerdir. Bu amaçla sadece *Streptococcus gordonii*'yi (*S. gordonii*) içeren ve ayrıca polimikrobiyal özellikte çeşitli bakterileri içeren iki farklı bakteri kolonileri oluşturulmuştur ve hidroksiapatit disklere uyguladıkları GDF ile değerlendirme yapmışlardır. Her iki grupta da 100 µl GDF solüsyonu hidroksiapatit diske mikrofırça ile uygulandıktan sonra 20 saniye ışıkla polimerize edilerek veya edilmeyerek bakteri pleytine yerleştirilmiş olup inhibisyon zonlarının çapları değerlendirilmiştir ve her iki koloni grubu için de gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmediği bildirilmiştir (182).

Piovesan ve arkadaşları 2021 yılına yayınlanan *in vivo* çalışmalarında %38'lik GDF/KI, %30'luk GDF ve %2'lik CHX solüsyonlarının *Streptococcus* türleri üzerindeki antimikrobiyal etkinliklerini incelemişlerdir. Çürük dokusu sıkı (firm) dentine kadar temizlendikten sonra pulpaya komşu dentinden örnek alınmıştır. Sonrasında gruplarda yer alan solüsyonlar uygulanmış ve tekrar dentinden örnek alınıp dişler yüksek viskoziteli cam iyonomerle restore edilmiştir. Mikroorganizma sayıları incelenmiş ve sonuç olarak %38'lik GDF/KI ve %30'luk GDF uygulamasının %2'lik CHX solüsyonuna göre daha etkili olduğu bulunmuştur. Test edilen *Streptococcus* türlerinden *S. mutans*'ın GDF'ye ve CHX'e karşı en az duyarlı tür olduğu bilgisi paylaşılmıştır (183). Vinson ve arkadaşları *S. mutans* biyofilm model üzerinde GDF, GDF/KI ve KI solüsyonlarının antibakteriyel etkinliklerini karşılaştırmak için *in vitro* çalışma yapmışlardır. Dört gruptan (n=6) ilkinde 25 µl GDF'yi tek başına, Grup 3'te 25 µl KI tek başına uygulayıp 1 dakika bekledikten sonra ve kontrol için Grup 4'te hiçbir solüsyon uygulaması yapılmadan 1 ml steril salin ile örnekler yıkanmıştır. Grup 2'de ise 25 µl GDF örnekler üzerine eklenip 1 dakika beklenildikten hemen sonra 25 µl KI uygulanıp tekrar 1 dakika beklenerek 1 ml steril salin ile yıkama yapılmıştır. Sonrasında biyofilm modeldeki canlı kalan bakterilerin sayılarını (CFU/ml) karşılaştırmışlardır. Sonuç olarak GDF ve GDF/KI'nın kontrol grubuna göre önemli ölçüde *S. mutans* sayısını azalttığı ancak GDF'nin tek başına kullanılmasının antibakteriyel gücünün KI ile birlikte kullanımına göre daha yüksek olduğunu bulduklarını açıklamışlardır (184). Knight ve arkadaşları 2005 yılında yayınlanan *in vitro* çalışmalarında birlikte ve ayrı ayrı olarak demineralize dentin örneklerine uyguladıkları AgF ve KI solüsyonlarının çürük oluşumunda başlıca etken kabul edilen *S. mutans* üzerindeki etkinliğini değerlendirmişlerdir. AgF ve AgF/KI solüsyonlarının kontrol grubuna göre *S. mutans* üzerinde antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğunu ve KI solüsyonun AgF'yi olumsuz yönde etkilemediğini belirtmişlerdir (185). Abdullah ve arkadaşlarının 2020 yılında yayınlanan *in situ* olarak ağız içi apareyi üzerinde biyofilm model oluşturarak yaptıkları çalışmada; apareyde yer alan silindirik şeklindeki kuyulara mikropipetlerle uyguladıkları GDF, GDF/KI, KI, pozitif kontrol amaçlı dahil ettikleri CHX ve negatif kontrol amaçlı kullandıkları steril distile suyun antibakteriyel etkinliklerini PCR yöntemi ile değerlendirmişlerdir. GDF'nin GDF/KI ile CHX'den daha etkili olduğu ve KI'nın herhangi bir antibakteriyel etkinliğe sahip olmadığı sonucu paylaşılmıştır (186).

Hamama ve arkadaşları, 2015 yılında yayınlanan *in vitro* çalışmalarında, GDF/KI uygulamasının dentin tübüllerindeki rezidüel bakteriler üstündeki etkinliğini değerlendirmişlerdir. Çürüksüz 45 adet küçükazı dişi toplayarak dentin örnekleri elde edildikten sonra *S. mutans* ile enfekte edilmiştir. Çalışmada GDF/KI'nın etkinliğini CHX, CHX+GDF/KI, Carisolv, Carisolv+GDF/KI, Papacaire ve Papacaire+GDF/KI uygulamaları ile CLSM'yi kullanarak karşılaştırmışlardır. GDF/KI'nın %2'lik CHX, Carisolv ve Papacaire'ye göre antibakteriyel etkinliğinin daha yüksek olduğu ve kemomekanik çürük temizleme ajanlarının GDF/KI ile birlikte kullanımının intratübüler dentindeki canlı mikroorganizma miktarını azaltmadaki etkisini arttırabileceği sonucu paylaşılmıştır. Ayrıca NaOCl bazlı kemomekanik çürük temizleme ajanlarının ardından uygulanan GDF/KI solüsyonlarından sonra kremi kıvamdaki AgI oluşumunun gecikebildiği belirtilmektedir. Nedenin ise gümüş iyonlarının NaOCl'deki iyonlar ile etkileşime girerek gümüş klorür ve gümüş oksit oluşturması olarak açıklanmaktadır (187).

Nanogümüş partikülleri truva atı gibi davranıp bakterinin hücre bariyerini aştıktan sonra içeride hücreye zarar verecek olan gümüş iyonlarını salabilmektedir (188). Çeşitli çalışmalarda *S. mutans* gibi karyojenik bakterilere karşı CHX'den 25 kat daha yüksek antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu sonucu paylaşılmıştır (64). Targino ve arkadaşları 2014 yılında yaptıkları çalışmada %0,12'lik CHX, %38'lik GDF'nin ve içeriğinde 399,33 µg/ml gümüş nanopartikülleri, 2,334 µg/ml kitosan ve 10,147 µg/ml florür içeren NGF solüsyonunun *S. mutans* için minumum inhibe edici ve minumum bakterisidal konsantrasyonlarının sırasıyla 3,3±0,5 µg/ml ile 6 lg/ml, 33,33±14,43 µg/ml ile 50,0 lg/ml, 33,54±14,52 µg/ml ile 50,32 lg/ml olduğunu açıklamışlardır. NGF'nin *S. mutans*'a karşı GDF'ye göre daha düşük dozlarda daha az toksisiteye sahip olup daha az renklenmeye neden olabilecek yeni bir solüsyon olduğu belirtilmiştir (108).

Haghgoo ve arkadaşlarının hazırladığı %0,1, %0,5, %1, %2 ve %5'lik farklı konsantrasyonlarda nanogümüş içeriğine sahip verniklerin *S. mutans* ve *S. salivarius* mikroorganizmalarını içeren kanlı agarda hazırladıkları saf kültürler üzerindeki antimikrobiyal etkinliklerini, kontrol grubunda herhangi bir vernik uygulaması yapmadan karşılaştırmışlardır. NGF içerikli verniklerin iki bakteri için de antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğu ancak *S. salivarius*'un nanogümüş partiküllerine *S. mutans*'tan daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Üretilen verniğin *S. mutans*

gelişimini engelleyebilmesi için en az %0,8'lik nanogümüş içermesi gerektiği belirtilmiştir. *S. salivarius* için ise %0,1'lik konsantrasyonlarda nanogümüş içermesinin bakteri gelişimini azaltmada etkili olduğu gözlenmiştir (146).

Sayed ve arkadaşlarının 2020 yılında sığır dişlerinden elde edilen dentin örneklerinde yaptıkları *in vitro* çalışmada gümüş nanopartiküllerinin antibakteriyel ve renklenme üzerine olan etkinliğini değerlendirmişlerdir. Kontrol grubu (hiç bir işlem yapmadıkları) ile %38'lik GDF, AgNPs, AgNPs/Potasyum Florür (KF) ve KF solüsyonlarının uygulamalarını karşılaştırmışlardır. *S. mutans*'a karşı GDF'yi en yüksek antibakteriyel etkinliğe sahip solüsyon olarak bulmuşlardır. Sonrasında AgNPs/KF'nin onu takip ettiğini ve AgNPs grubundan daha yüksek etkinliğe sahip olduklarını belirtmişlerdir. Çalışmalarında kullandıkları AgNPs çözeltisinin konsantrasyonunun (0,02 mg/ml) düşük olmasının buna neden olmuş olabileceği belirtilmektedir (188).

Gümüş ve florür nanopartiküllerinin uzun vadeli stabilizasyonun sağlanabilmesi için ayrı şişelerde saklanması ve kullanım anında 1:1 oranında karıştırılması gerektiğini belirten pilot bir çalışma mevcuttur ve Favaro ve arkadaşları tarafından 2022 yılında yapılmıştır. Bu çalışmada 7-30 nm çapında küresel şekilde gümüş nanopartiküllerini bulunduran NGF solüsyonunun antimikrobiyal etkinliği incelenmiştir. NGF solüsyonunu %0,04'lük gümüş nanopartikülleri ve %2'lik NaF içeren iki ayrı şişe olarak üretmişlerdir. Kolloidal gümüş nanopartiküllerini içeren çözeltide etilen glikol çözücü olarak, su ise taşıyıcı olarak kullanılmıştır ve gümüş nanopartiküllere indirgeciyi madde olarak en-boy oranını ve stabilizasyonunu etkileyen, nanopartiküllerin birbirinden uzakta kümelenmeden durmasını sağlayan (yüzey aktif madde) polivinil pirolidon uygulanmıştır. %2'lik NaF içeren çözeltide de taşıyıcı sudur. Agar difüzyon testinde *S. mutans* için NGF'nin antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğu ancak %30'luk GDF'nin ve pozitif kontrol olarak belirlenen %0,12'lik CHX'nin NGF'den daha büyük inhibisyon zonu oluşturduğu belirtilmiştir (145). Kullanım anında karıştırılarak elde edilmesi ve nanopartiküllerin polivinil pirolidon ile kaplanmış olmasının NGF için bu tez çalışmasından farklı sonuçlar elde edilmesine neden olmuş olabileceği düşünülmektedir.

Waikhom ve arkadaşları 2022 yılında yayınlanan *in vivo* çalışmalarında içeriğinde 399,33 µg/ml gümüş nanopartikülleri, 10,147 µg/ml NaF ve 2,334 µg/ml kitosan bulunduran NGF'nin; %5'lik NaF ve %1'lik CHX içeren verniklerle tükürükte

ve dental plakta yer alan *S. mutans* üzerindeki antimikrobiyal etkinliklerini karşılaştırmışlardır. İlk örnekler solüsyonlar uygulanmadan önce alınmıştır, sonrasında 1. ve 3. ayda tekrardan örnekler toplanılmıştır. Plak örneği almak için steril tahta kürdan kullanılırken tükürük örneği steril bir kapta toplanılmıştır. Üç materyalin uygulanması sonrasında *S. mutans* sayılarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendiği bildirilmiştir. Üç ayın sonunda yapılan değerlendirmeye göre antibakteriyel etkinlik olarak kontrol grubuna göre 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmediği belirtilmiştir (189).

AgNPs'lerin kaplanmadığı veya elektrostatik olarak sitrat gibi malzemelerle stabilize edildiği durumlarda topaklanma gösterebileceği bildirilmektedir. Bu nedenle florür iyonu ile birlikte kullanılabilmesi için bir kovalent bağlanma grubuna ve uzun polimerik zincirlere sahip uygun kaplama materyali ile stabilize edilmesi gerekmektedir. Bu amaçla PEG kullanımı önerilebilmektedir. PEG'in kullanımı FDA tarafından onaylanmıştır ve suda çözünabilir biyouyumlu özellikte olduğu belirtilmektedir. Ayrıca PEG ile kaplanmış AgNPs'lerin daha az oksitlenme ve renklenmeye neden olma riski taşıdığı da söylenmektedir. Yin ve arkadaşlarının %2,5'lik NaF'yi farklı konsantrasyonlardaki PEG-AgNPs ile karıştırarak elde ettikleri deneysel solüsyonların antibakteriyel etkinliklerinin %38'lik GDF'den daha yüksek olduğu ve renk değişimine neden olmadıkları bildirilmiştir (190). Ammar ve arkadaşlarının 2022 yılında yayınlanan 4-6 yaş aralığındaki 5 hasta üzerinden yürüttükleri randomize kontrollü klinik çalışmalarında GDF ve sitrat indirgeme yöntemi izlenerek hazırlanan PEG-AgNPs ve %5'lik NaF içeren NGF solüsyonlarının uygulandığı dişler üzerinden solüsyonlar uygulanmadan önce ve tedaviden 1 ay sonra çürük lezyonunun steril mikrofırçayla ovulmasıyla aldıkları örnekleri karşılaştırdıklarında NGF solüsyonun GDF'ye göre *S. mutans* sayısında daha fazla azalmaya neden olduğu, *Lactobacillus*'lar üzerinde ise eşit oranda azalmaya neden olduklarını bulmuşlardır (113).

Metalik nanopartiküllerin antimikrobiyal potansiyelleri parçacık boyutu, şekli, zeta potansiyeli (tanecikler arası itme çekme değeri) gibi çeşitli fiziksel ve kimyasal faktörlere bağlıdır. Aggloremasyon (yığılma) da bunu etkileyen önemli bir parametredir; nanopartiküllerin çekim kuvvetleri nedeniyle bir araya gelip büyük kümeler oluşturmalarına ve antimikrobiyal etkinliğinin azalmasına neden olmaktadır.

Nanopartiküllerden daha küçük yüzey alanına sahiptirler ve onlar kadar biyoaktif özellikte değildirler. Çeşitli polimer yapıdaki kaplama materyalleri kullanılarak veya sentez metodu değiştirilerek bu sürecin yönetilebileceği belirtilmektedir (191). Bu tez çalışmasında üretilen NGF solüsyonunda meydana gelmiş olabilecek aggloremasyonlar solüsyonun antimikrobiyal etkinlik göstermemesine neden olmuş olabileceği düşünülmektedir. Gelecekteki çalışmalarda PEG gibi çeşitli kaplama materyalleri kullanılarak bu durumun giderilebileceği düşünülmektedir.

AgNPs içerikli solüsyonların üretimi için indirgeyici madde ve stabilizasyonu sağlayan kaplama materyaline ihtiyaç duyulmaktadır. İndirgeyici olarak sitrat veya borohidritin kullanılabileceği belirtilmektedir. Sitrat indirgeme metodu hızlı ve uygun maliyetliken borohidrit daha iyi şekil ve boyut kontrolü sağlamaktadır (192). Bu nedenle bu tez çalışmasında indirgeyici olarak sodyum borohidrit kullanılmıştır. Kitosanın ise canlı mikroorganizmalar için toksik olmadığı, doğal kaynaklardan bol miktarlarda elde edilebildiği, biyoyumlu özellikteki biyopolimer yapıda bir materyal olduğu belirtilmektedir (193). Bu nedenlerle yine bu tez çalışmasında kitosan tercih edilmiştir. Ancak kitosanın stabilizasyonu sağlamadaki etkinliği konsantrasyona, ortamın pH'ına, sıcaklığına bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. AgNPs'lerin üretiminde gümüş konsantrasyonu fazla olduğunda stabilizatör olarak kullanılması durumunda veya oda sıcaklığında şelatlanmalar gösterebilmekte, çökelebilmekte, viskoz çözeltiler ve jeller oluşmasına neden olabilmektedir (192). Bu nedenle mevcut tez çalışmasındaki üretilen NGF solüsyon formülasyonunda antibakteriyel etkinlik sağlanamamış olabileceği düşünülmüştür.

Bu çalışmada *S. mutans* ve *L. casei* kolonilerinden mine örnekleri üzerinde oluşturulan ikili biyofilm tabakası CLSM ve SEM incelemesi ile değerlendirilmiştir. CLSM ile elde edilen görüntüler COMSTAT2.1 programı ile incelenip sayısal veriler elde edilerek canlı ve cansız bakterilerin biyokütlesi ile canlı/cansız hücre oranları incelenerek karşılaştırma yapılmıştır. Her mine örneği üzerinde standart kalınlıkta biyofilm tabakasının oluşturulamamış olabileceği düşünüldüğünde canlı/cansız hücre oranlarının incelenmesi ayrıca önemli olabilmektedir. Bulgular incelendiğinde GDF ve GDF/KI'nın ikili biyofilm tabakası üzerinde antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu, KI'nın GDF'nin etkinliğini olumsuz yönde etkilemediği ve NGF'nin istatistiksel olarak

anlamlı düzeyde ikili biyofilm tabakası üzerinde daha az antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

SEM ile de örnekler üzerindeki biyofilmde geride kalan bakteri yoğunlukları karşılaştırılarak yorumlama yapılmaya çalışılmıştır. SEM incelemesinde GDF ve NGF uygulaması sonrasında yüzeyde Ag, Ca ve P gibi iyonların, yığılmış çökeltilerin veya bileşiklerinin, küresel benzeri oluşumların dış yüzeyinde görülebileceği belirtilmektedir (145, 188). Nanogümüş partiküllerinin ise net bir şekilde SEM incelemesinde yüzeyde görülmesi çözünürlük ve büyütme miktarından dolayı mümkün değildir (188). Bu tez çalışmasındaki AgNPs'ler kitosan ile kaplanmıştır. Kitosan ile kaplanmış nanogümüş partiküllerin SEM'de birbiriyle bağlantılı homojen yığılmalar şeklinde görüldüğü belirtilmektedir (193). SEM ile yapılan inceleme sonucunda da CLSM'den elde edilen sonuçlara benzer çıkarımlar yapılmıştır. Ancak GDF, GDF/KI ve NGF gruplarındaki solüsyonların içeriklerinden dolayı bakteri yoğunluğunu yorumlamak güç olmuştur.

İncelenen örnekler yalıtkan oluştuğu için SEM ile görüntüleme esnasında gelen elektron yüklerinin yüzeyde tutulmasına ve sonraki gelen elektronlarda aynı yükte olacağı için elektronun itilerek başka bir noktaya inmesine neden olarak görüntüde kaymalar oluşmasına sebep olabilmektedir. Aynı zamanda aşırı yükleme sonucu görüntülerde karartılar oluşabilmektedir. Tüm bunlara çözüm olarak örnek yüzeylerinin ince bir altınla kaplanması önerilebilmektedir. Bu sayede örneğe iletkenlik sağlanarak bu tarz yüklemelerden kaynaklanan görüntü bozukluklarının ortadan kalkacağı düşünülmektedir.

5.2. Renk Değerlendirmesinin Tartışması

Bu tez çalışmasının renk değerlendirmesi kısmında restorasyon materyali uygulanması için ICDAS kriterlerine göre 5. veya 6. sınıfta (kaviteyonlu) yer alan çürüklü, daha önce restorasyon yapılmamış ve restore edilebilir durum olan süt azı dişleri kullanılmıştır. Lezyon boyutunun ICDAS sınıflaması ile belirlenmesi lezyonun ilerleme süreci ve klinik tedavi işleyişinin yönetimi ile ilgili yardımcı olmaktadır çünkü lezyonun boyutu vaka ve tedavi prosedürünün seçiminde önemli bir unsur olmaktadır ve lezyonun temizlenebilirliği ile biyomekaniğini etkileyen bir faktördür. Örneğin ICDAS 4. sınıfta yer alan bir çürük lezyonuna uygulanan GDF solüsyonu, demineralize mine yüzeyi için yararlı bir etki gösterse de ICDAS 5 ve 6'dan farklı olarak mikro fırça lezyon gövdesine ulaşamayabileceğinden daha az etkili olabilmektedir (143). GDF'nin

çürük durdurucu etkinliği ilgili yapılan bazı klinik çalışmalarda da kaviteye çürük lezyonlarını ifade eden ICDAS 5 veya 6. sınıfta yer alan çürük lezyonlarını durdurabildiğini göstermiş olsa da dentinin görünmediği orta derecede çürük lezyonuna sahip dişlerdeki (ICDAS 3 veya 4) çürük durdurucu etkinliği hakkındaki bilgilerin yetersiz olduğu ve farklılıklar görülebildiği belirtilmektedir (151, 194). Aly ve arkadaşları yaptıkları klinik çalışmada ICDAS 4 veya 5. sınıfta yer alan süt dişlerinde GDF ve GDF/KI uygulayıp diş dokusundaki renk değişimlerini incelerken Vennela ve arkadaşları *in vitro* çalışmalarında GDF ve GDF/KI uygulayıp kompozit ve cam iyonomer ile restore ettikleri çürüklü süt dişlerini ICDAS kriterlerine göre 5 veya 6. sınıfta yer alanlardan seçmiştir (139, 195). Renk değerlendirmesi işlemi kompozit restorasyon materyali uygulanarak yapılacağı ve materyalin geniş bir alana uygulanabilmesini ve değerlendirmenin kolay olmasını sağlayabilmek için bu çalışmada da ICDAS 5 ve 6. sınıfta yer alan çürüklü dişler tercih edilmiştir.

Renk değerlendirmesi için geçen zaman boyunca dişlerin saklandığı ortam ve koşullar önemlidir. Termal siklusa sokma, UV ışık kullanımı, etüvde distile suda bekletme, PBS veya yapay tükürük içerisinde bekletme gibi çeşitli yöntemlerin çalışmalarda kullanılabildiği görülmektedir. NaHCO₃ ve KCl içeren distile suyun kimyasal içeriği insan tükürüğüne benzediği için çalışmalarda yapay tükürük yerine kullanılabildiği bildirilmektedir (196). Yapay tükürüğün içerisinde sarımsı renkteki müsin gibi bazı enzimleri içermesinin ve distile suyun renklendirici özellikteki madde içermemesine rağmen rezin matrikse doğru absorbe olmasının ekstra renk değişimine neden olabileceği ve bu yüzden renk ölçümlerini etkileyebilecekleri belirtilmektedir (197). Bazı araştırmacılar bu yüzden GDF ve saklama ortamı arasındaki etkileşimden kaynaklanabilecek istenmeyen reaksiyonları engelleyebilmek ve GDF'nin renk değişimine olan mutlak etkisini görebilmek için kuru ortamda örnekleri bekletmiştir (198). Patel ve arkadaşları da GDF'nin yapay tükürük içerisinde yer alan sodyum klorit ile reaksiyona girerek çözünmeyen beyaz renkteki gümüş klorit oluşumuna neden olduğunu ve bu durumun renk ölçümünü olumsuz etkileyebileceğini belirtmişlerdir (199). PBS içerisinde bulunan sodyum klorit veya potasyum klorit de aynı etkiye neden olabilmektedir (195). Kılınç ve arkadaşları renk değerlendirmesi için hazırladıkları örnekleri; insan tükürüğünün değişik varyasyonlara sahip olması ve adaptasyonundaki zorluklar nedeniyle yapay tükürük yerine su içerisinde bekletmişlerdir (200). Ardu ve arkadaşları kompozit restorasyon materyalinin renk değişimini inceledikleri

çalışmalarında örnekleri 37°C distile suda bekleterek ölçümlemlerini yapmışlardır (201). Bu tez çalışmasında renk değerlendirmesi için hazırlanan örnekler deney süresi boyunca çalışmalarda sıklıkla kullanılmış, elde edilmesi kolay ve uygun maliyetli olan 37°C'deki distile su içerisinde etüve konarak bekletilmiştir. Kompomer materyali üzerinde GDF ve distile su içerisinde yer alan potasyum klorit gibi bileşiklerle reaksiyona girebilmesi ihtimali nedeniyle oluşabilecek ve renk değerlendirmesini olumsuz yönde etkileyebilecek bileşikler uzaklaştırmak amacıyla her distile sudan çıkarma aşamasından sonra, spektrofotometre ile ölçüm yapmadan önce örneklerle tekrar polisaj ve fırçalama işlemi uygulanmıştır. Ağız ortamı koşullarına içerdiği enzimlerle daha yakın özelliklerde olduğu belirtilen yapay tükürüğün kullanılmasının gerçeğe daha yakın sonuçlar verebileceği düşünülmektedir ancak materyalin renklenme etkisini azaltılabileceğini ve net renk değişimine neden olma etkisinin kuru ortamda daha iyi gözlemlenebileceğini belirten araştırmacılar da mevcuttur. Bu nedenle gelecekteki çalışmalarda farklı ortamlardaki renk değişimlerinin de bir arada değerlendirilmesinin faydalı olabileceği düşünülmektedir.

Renk insan gözüyle görülebilen belirli dalga boyuna sahip ışığın cisim üzerindeki yansıma, soğrulma, saçılma ve iletilme gibi değişikliklere uğrayarak retinadaki fotoreseptörler tarafından algılanıp beyin tarafından yorumlanan bir algılanmasıdır (202). Rengin üç temel özelliği hue, chrome ve value'dir. Hue kırmızı, sarı, turuncu gibi rengin kendisini ifade etmektedir. Chroma ise rengin gücünü, yoğunluğunu ve doygunluğunu ifade etmekteyken, value parlaklığını tanımlamaktadır (203). Munsell renk sistemi üç boyutlu düzlemde rengi tanımlama amacıyla geliştirilen ve rengin hue, chroma ve value değerlerine ayrıldığı ilk sistemdir (204). Value değeri 0 (siyah)-10 (beyaz) arasında notlandırılmaktadır (129). Çoğu zaman rengin en önemli ölçümü value'dir ve chroma ile ters orantılı olmaktadır. 1931 yılında CIE tarafından CIE XYZ renk sistemi geliştirilmiştir. Daha sonra bu sistemi esas alarak rengin daha iyi yorumlanması amacıyla geliştirilen CIE L*a*b* adlı yeni sistemde yer alan eksenler ise L*, a* ve b* olarak belirtilmiştir (202). L* değeri Munsell sistemindeki value'nun karşılığıyken a* ve b* değerleri chromayı ifade etmektedir (205). Esas avantajı renk değişimlerinin görsel algı ve klinik önemle ilişkilendirilebilecek birimlerde ifade edilebilmesinin sağlanmasıdır (203). Daha sonraki yıllarda ise renk farklılıklarını hesaplamak için CIE tarafından CIE2000 adlı çok daha karmaşık ama sonuçlarının doğruluğunun daha iyi olduğu belirtilen yeni bir formül geliştirilmiştir (205). Pecheo ve

arkadaşları iki renk formülünü karşılaştırdıkları çalışmalarında hiçbir formülün %100 oranda verimli olmadığını ancak CIE2000'nin daha doğruya yakın sonuçlar verdiği bilgisini paylaşmışlardır (206). Bu tez çalışmasında ise farklı zaman dilimleri arasında hesaplanan renk değişimleri; uygulaması ve anlaşılması daha kolay ve pratik bir formül olduğu ve çalışmalarda yaygın olarak kullanıldığı için CIE L*a*b* sistemindeki ΔE_{ab} formülü baz alınarak hesaplanmıştır. Gelecekteki çalışmalarda doğruluğunun ve güvenilirliğinin daha yüksek olduğu belirtilen CIE2000'de yer alan yeni ΔE_{00} formülünün kullanılması ve yaygınlaşması renk analizlerinin güvenilirliğini arttırabileceği düşünülmektedir.

Dişlerin ve restoratif materyallerin renginin doğru ölçülmesi ve belirlenmesi klinik uygulamalarda ve diş hekimliği araştırmalarında önemli bir aşamadır. Diş ve restoratif materyalin rengini belirlemek için geçmişten günümüze çok çeşitli metodlar bulunmuştur ve kullanılmaktadır. Görsel muayene, kolimetreler, spektrofotometreler, spektrofotometreler ve dijital görüntü analiz teknikleri bunlar arasında yer almaktadır (207). Görsel olarak Vita Lumina, Vita Klasik, Vita 3D Master, Dentsply Sirona Potrait IPN ve Shofu Vintage gibi renk skalaları kullanılarak tamamen insan gözünün yardımıyla renk belirlenmeye çalışılmaktadır ancak öznel ve fiziksel sınırlayıcı bazı faktörlere sahip olduğu belirtilmektedir. Öznel faktörler deneyim, yaş, göz yorgunluğu, ruh hali, duygusal değişimler, göz aldanması ve renk körlüğü gibi etkenlerken fiziksel faktörler aşırı ışık koşulları, ışık kaynağının türü ve yoğunluğu, ışığın geliş açısı, dişin yapısı ve konturu, ortamdaki duvarların rengi, hasta ve personelin kıyafetlerinin rengi gibi hususlardan oluşmaktadır. Vita Klasik skalası rengin hue'sunu baz alırken Vita 3D Master rengin value'sini esas almaktadır (208). En sık Vita 3D Master renk skalası kullanılmaktadır ve diğer renk skalalarına göre tekrarlanabilirliği iyileştirilmiş olmakla birlikte daha geniş ve düzgün renk aralığı ve dağılımı özelliklerine sahiptir (208, 209). Spektrofotometreler diş renginin sayısal olarak ölçülmesini sağlayarak rengin uzayda üç boyutlu olarak tanımlanmasını sağlamaktadır (139). Farklı tasarımlara, yazılımlara ve veri çıktılarına sahip SpectroShade ve Vita Easyshade gibi çok çeşitli ticari olarak geliştirilen spektrofotometreler bulunmaktadır. Spektrofotometrelerin görsel muayeneye göre çok yüksek oranlarda güvenilir ve tekrarlanabilir sonuçlar verdiği çalışmalarla doğrulanmıştır (207). Borse ve arkadaşları da 2020 yılında yayınladıkları sistematik derleme sonucunda Vita Easyshade spektrofotometrelerin renk seçiminde yüksek doğruluğa, güvenilirliğe ve tekrarlanabilirliğe sahip olduklarını bildirmişlerdir (208). Bu

tez çalışmasında da renk ölçümü ve değerlendirmesi amacıyla Vita Easyshade spektrofotometre kullanılmıştır. Bu cihazda rengin ölçülmesiyle CIE L*, a*, b*, C* ve h* koordinatlarının sayısal değerleri elde edilmektedir (206).

İki nesnenin renginin kontrollü koşullar altında yan yana incelendiğinde algılanıp fark edilebilecek en küçük renk farkının $1\Delta E$ birimi olduğu belirtilmektedir. Bununla birlikte klinik koşullar altında bu değer 3,3 olduğu, karmaşık bir oral ortamda ise 3,7'den büyük değerlerde olduğunda renk farkının algılanabileceği bildirilmektedir. Yapılan bir araştırmada ise ΔE 'nin algılanabilirlik için değerinin 1,9, kabul edilebilirlik eşik değerinin ise 4,2 değerinde olduğu söylenmiştir (129). Seghi ve arkadaşları $\Delta E=2$ olduğu durumlardaki renk farkının %100 algılanabildiğini belirtmişlerdir. Douglass ve arkadaşları yaptıkları *in vivo* çalışmada ΔE değerinin algılanabilirlik için 2,6, kabul edilebilir eşik değer için 5,5 olduğunu belirtirken Johnston ve arkadaşları da yaptıkları *in vivo* çalışmada sırasıyla bu değerlerin için 3,7 ve 6,8 olarak bulduklarını açıklamışlardır (209). ΔE 'nin 5 olması genellikle renk değişimi olduğunun bilgisini vermektedir (203). Bu tez çalışmasında kontrol grubu ve NGF grubundaki her iki zaman aralığına göre hesaplanan ΔE_{1-2} değerlerine bakıldığında renk değişimi sonuçlarının kabul edilebilir olduğu ve görsel olarak sorun oluşturmadığı yorumu yapılmıştır. GDF/KI uygulanan gruptaki ΔE_1 'in kabul edilebilir eşik çok az üzerinde olduğu ancak GDF uygulanan gruptan daha düşük değerde olması nedeniyle renk değişimin ona göre daha kabul edilebilir seviyede olduğu, GDF uygulanan gruptaki örneklerin ΔE_1 ve özellikle ΔE_2 değerinin kabul edilebilir sınırın üzerinde olduğu ve kompomer restorasyon materyali üzerinde zamanla daha belirgin renk değişimine neden oldukları sonucuna varılmıştır. KI'nın GDF'nin renklenme etkisini azalttığı ancak tamamen engellemediği yorumu yapılmıştır.

GDF uygulandıktan hemen sonra ışık ile polimerizasyon yapılması gümüş iyonlarının ışığa duyarlı olması nedeniyle dişte ve restorasyon materyalinin kenarlarında hızlı bir siyah renklenmeye neden olmaktadır (101). Bu tez çalışmasında da kompomer restorasyon materyali kullanıldığı için ışık ile polimerizasyon işleminin hemen gerçekleştirilmesi gerekmiştir. Bu durumun, zaman içerisindeki renk değişimi miktarını azaltmış olabileceğini düşündürmektedir.

Süt dişlerinin restorasyonunda cam iyonomer, RMCIS, kompomer ve kompozit gibi restoratif materyaller kullanılabilmektedir. Düşük çürük riskine sahip hastalarda

kompozit, orta çürük riskine sahip hastalarda kompomer ve yüksek çürük riskine sahip hastalarda florür içeriği yüksek olan cam iyonomer restorasyon materyalleri önerilebilmektedir (210). Geleneksel cam iyonomer restorasyon materyalleri opak bir renge, kolay kırılabilme ve zayıf aşınma direnci özelliklerine sahip olmaktadır. Bu özelliklerini elimine etmek için RMCIS'ler geliştirilmiştir ancak kompozitlerle karşılaştırıldıklarında renk stabilitesinin ve fiziksel özelliklerinin daha düşük olduğu görülmektedir (211). Kompomerin fiziksel özelliklerinin kompozite benzediği, tek şişe adezivlerle kullanılabildiği, hızlı ve kolay uygulanabildiği ve süt dişlerindeki başarı oranlarının yüksek olduğu bildirilmektedir (212). Bu tez çalışmasında da çocuk diş hekimliğinde süt dişlerinin restorasyonunda sıklıkla kullanılan ve başarı oranları yüksek olan kompomer restoratif materyali tercih edilmiştir. Gelecekteki çalışmalarda ışıkla polimerize olmayan bir restoratif materyalin tercih edilmesinin, GDF'nin restoratif materyal üzerinde zaman içerisindeki renklenme etkisini gözlemleyebilmek için daha farklı sonuçlar verebileceği düşünülmüştür.

GDF ile KI uygulandıktan sonra aralarındaki kimyasal etkileşimden dolayı gümüş iyodür (AgI) oluşmaktadır. Bu sarı renkli, suda çözünmeyen bir bileşiktir ancak su ile kolayca uzaklaştırılabilmektedir ve GDF'nin renklenme etkisini önlemek amacıyla kullanılmaktadır (101). Roberts ve arkadaşlarının 2020 yılında yayınladıkları sistematik derlemenin sonucuna göre KI'nın GDF'den sonra uygulanmasının renklenmeyi azaltmada yararlı olduğu ancak uzun dönemli takip çalışmalarının yapılmasına ihtiyaç olduğu bildirilmiştir (213). Aly ve arkadaşları 2022 yılında yayınladıkları randomize kontrollü klinik çalışmalarında ICDAS kriterlerine göre 4. veya 5. sınıfta yer alan 30 adet çürüklü süt köpek dişinin (n=15) tedavisinde GDF ve GDF/KI solüsyonlarını kullanmışlardır. Diş dokusunun renk ölçümlerini spektrofotometre aracılığıyla işlemiden hemen sonra, 1., 3., 6. ve 12. ayda yapmışlardır. Elde ettikleri ΔE ve ΔL değerlerinin sonuçlarını karşılaştırmışlar, işlemiden hemen sonraki değerlerde istatistiksel olarak anlamlı şekilde GDF/KI'da daha az renk değişimine neden olduğu bildirilirken uzun dönemde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığını ve KI'nın GDF'nin neden olduğu renklenmeyi önlemediği sonucunu paylaşmışlardır (139). Li ve arkadaşları 83 yetişkin hasta ile yaptıkları randomize kontrollü klinik çalışmalarında KI'nın, GDF'nin kök çürüğü üzerinde çürük durdurucu özelliğine olan etkisini ve neden olduğu siyah renklenmeyi önleme özelliğini 30 aylık süre boyunca incelemişlerdir. Uzun dönemde KI'nın GDF'nin çürük durdurma ve siyah

renklenmeye neden olma etkisini azaltmadığı ve yine benzer oranlarda renklenmelerin görüldüğü sonucu paylaşmıştır (214).

Zhao ve arkadaşları 2019 yılında yayınlanan *in vitro* çalışmalarında KI'nın renklenme üzerine olan etkisini değerlendirmek amacıyla 60 adet çürüksüz üçüncü büyükazı dişini toplamışlardır. Topladıkları dişlerden 2 mm kalınlığında dentin örnekleri elde etmişlerdir ve pH siklusuna sokarak demineralize etmişlerdir. Sonrasında örnekleri üç gruba ayırmışlardır (n=20); ilk gruba GDF/KI, ikinci gruba GDF ve üçüncü gruba su uygulayarak 24 saatliğine yapay tükürüğe yerleştirmişlerdir. Renk değerlendirmesi için kolimetre cihazı kullanılmıştır. Bir gün sonra ilk renk ölçümü yapılmış; L*, a* ve b* değerleri ile negatif kontrol grubuyla aralarındaki ΔE değerleri incelenmiştir. GDF/KI'nın L* değerinin ($69,8 \pm 7,1$) GDF grubundan ($32,1 \pm 4,5$) fazla olduğu, kontrol grubu ile aralarındaki renk değişimleri karşılaştırıldığında ise GDF'nin ($\Delta E=24,6$) GDF/KI'ya göre ($\Delta E=14,4$) daha fazla fark oluştuğu görülmüştür. Sonuç olarak GDF/KI uygulamasının GDF'den görsel olarak daha az farkedilebilir bir renk değişimine neden olduğu yorumu yapılmıştır (92). Patel ve arkadaşları 2018 yılında yayınlanan *in vitro* çalışmalarında GDF'nin konsantrasyonun ve KI'nın çürük dokusu, kök ve kuron üzerindeki renklenmeyi önleme etkisini değerlendirmek amacıyla 30 adet çürüklü süt azı ve 5 adet sağlam küçükazı dişi toplamışlardır. İlk grupta sadece %38'lik GDF solüsyonu (n=10), ikinci grupta %38'lik GDF/KI solüsyonları (n=10), üçüncü gruptaki dişlere %38'lik (n=5) ve %12'lik (n=5) GDF solüsyonları uygulanmıştır. Grup 4'te (n=5) sağlam küçükazı dişlerinin hem kök hem kuron kısımlarında bukkal ve oklüzal kısımda yer alan mine ve sement yüzeylerine %38'lik GDF uygulaması yapılmıştır. Renk değerlendirmesini ImageJ yazılımı ile fotoğraflar üzerinden yapmışlardır. KI uygulamasından sonra belirgin bir renk değişimi gözlenmezken sadece GDF uygulanan grupta renklenmenin belirgin olduğu tespit edilmiştir. GDF'nin %38'lik ve %12'lik konsantrasyonlarının renklenme oluşturma etkileri arasında bir farklılık tespit edilmediği bildirilmiştir. Sementin mineden daha hızlı ve daha çok siyaha boyandığı; pit, fissür ve oluk gibi yüzeylerde daha çok renklenme görüldüğü paylaşmıştır (199).

Nguyen ve arkadaşları 2017 yılında yayınlanan ve 45 adet azı dişi kullandıkları *in vitro* çalışmalarında; her 1 mm su için 1 g KI eklenmesiyle elde ettikleri %10'luk KI'nın renklenmeyi önleyici etkisini çürüksüz diş, çürüklü diş, sınıf 1 kavitelere

kompozit, cam iyonomer ve RMCIS restorasyon materyalleri ile restore ederek aldıkları fotoğraflar ve Nix™ Pro Renk Sensörü ile işlemiden hemen sonra, 1. günde, 2. haftada ve 4. haftada ölçümler yaparak ortalama değerlerini hesaplayıp gruplar arası değerlendirmeler yapmışlardır. Negatif kontrol olarak değerlendirilen diş sayısı 5, GDF uygulanan 20, GDF/KI uygulanan 20 adet diş bulunmaktadır. Sadece GDF uygulanıp kompozit ve RMCIS materyali ile restore ettikleri dişler, ışıkla polimerize olduktan hemen sonra renklenme gösterip grimsi renk aldıkları için bu gruplarda zaman içerisinde çok fazla renk değişimi ve parlaklıkta azalma tespit etmediklerini açıklamışlardır. KI uygulanmayan çürüklü dişlerin olduğu grupta ve cam iyonomer ile restore edilen grupta bir kaç saat sonra siyah renklemenin ortaya çıktığı gözlenmiştir. KI uygulanan tüm gruplarda ise kontrol gruplarına göre minimal renk değişimleri olduğu ve GDF'nin renklenme etkisini azaltmada yararlı olduğu belirtilmiştir (101).

Miller ve arkadaşları, 2016 yılında yayınlanan *in vitro* çalışmalarında kaviteye 20 adet çürüklü süt azı diş kullanarak KI'nın cam iyonomer restorasyon materyali üzerindeki renklenmeyi önleme etkisini 0-5 arası puan verilen subjektif bir skala ile incelemişlerdir. Yumuşak çürük dokusunu ekskavator aracılığıyla uzaklaştırmışlardır. GDF (n=10) ve GDF/KI (n=10) uygulanan gruplar arasında renklenme açısından anlamlı bir farklılık olmadığını bulmuşlardır (215). Zhao ve arkadaşları 2017 yılında yayınladıkları *in vitro* çalışmalarında 30 adet küçükazı dişini 3 gruba (n=10) ayırarak KI'nın cam iyonomer restorasyonu marjinlerindeki renklenmeyi önleme etkisini spektrofotometre ile değerlendirmişlerdir. Ölçümler restorasyona bitişik diş yüzeyinden yapılmıştır. İlk olarak mine-sement birleşiminde 4x2x2 mm³ büyüklüğünde kaviteler hazırlanıp dişler rastgele gruplara ayrılmıştır ve ilk renk ölçümleri yapılmıştır (T₀). Grup 1'de GDF/KI, pozitif kontrol grubu olan Grup 2'de GDF solüsyonları uygulanırken, negatif kontrol grubunda hiç bir solüsyon uygulamadan restorasyonlar yapılmış ve tamamen sertleşmesi için 1 gün beklenildikten sonra tekrar renk ölçümleri yapılmıştır (T₁). Ardından termosiklusa sokulan ve biyofilm oluşturulan dişlerden sırasıyla 7 (T₂) ve 14 (T₃) gün sonra tekrar renk ölçümleri yapılmıştır. İkili karşılaştırmalar restorasyon kenarlarında KI'nın GDF'nin renklenme etkisini 14. günün sonunda yapılan analize göre tamamen önlemediği ancak GDF/KI'nın ($\Delta E=22,5\pm1,9$) GDF'den ($\Delta E=70,2\pm8,3$) daha az renk değişimine neden olduğu sonucu paylaşılmıştır (102).

Vennela ve arkadaşları 2021 yılında yayınlanan *in vitro* çalışmaları için 40 adet çürüklü süt azı dişini toplamışlardır (n=10). Renk değerlendirmelerini bir kamera sensörü ve ImageJ yazılımı ile Grup 1’de GDF+cam iyonmer restorasyon, Grup 2’de GDF+kompozit restorasyon, Grup 3’te GDF/KI+cam iyonmer restorasyon ve Grup 4’te GDF/KI+kompozit restorasyon yaparak değerlendirmişlerdir. ImageJ yazılımında çıkan gri değerlerde 0=siyah, 127=gri ve 255=beyazlığı ifade etmektedir. Renk ölçümleri solüsyonlar uygulandıktan hemen sonra, restorasyon materyalleri uygulandıktan sonra ve 14 gün sonra gerçekleştirilmiştir, dişler kuru ortamda bekletilmiştir. Solüsyonlar uygulandıktan sonra çıkan gri değerlerin birbirine yakın olduğu ve aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamsız olduğu belirtilmiştir. Restorasyon işlemi yapıldıktan sonra yapılan ölçümde ise gri değerlerin en yüksek Grup 4’te, sonra Grup 3’te, sonra Grup 2’de ve en az Grup 1’de olduğu kaydedilmiştir. On dört gün sonundaki ölçülen gri değerlerin de en yüksek Grup 4’te, sonra Grup 3’te, sonra Grup 2’de ve en az Grup 1’de olduğu bulunmuştur. GDF/KI uygulanan gruplarda GDF uygulanan gruplara göre daha az düzeyde kompozit ve cam iyonmer restorasyon materyalinde siyah renklenme görüldüğü, en az siyah renklenmenin GDF/KI+kompozit yapılan grupta olduğu paylaşılmıştır (195).

Fröhlic ve arkadaşları 2021 yılında yayınlanan *in vitro* çalışmalarında sığır dişinden elde ettikleri 30 adet dentin örneğinde demineralizasyon gerçekleştirdikten sonra üç gruba (n=10) ayırarak GDF/KI’nın renklenme üzerine etkisini incelemişlerdir. Grup 1’de işlem yapılmamış, Grup 2’de GDF, Grup 3’te GDF/KI solüsyonları uygulanmıştır. Her grubun yarısının üzeri (n=5) işlemde hemen sonra kompozit ile restore edilerek ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Dişler deney süresince 37°C’de deiyonize su içerisinde bekletilmiştir. Renk değerlendirme işlemleri hemen sonra, 7, 14, 30 ve 60 gün sonra spektrofotometre cihazı kullanılarak yapılmıştır. KI uygulamasının renklenmeyi azalttığı ve kompozitle birlikte kullanılan grupta ölçülen renk değişiminin diğer gruplardan daha az ve renklenme düzeyinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamsız düzeyde olduğu sonucu paylaşılmıştır (216). Kamble ve arkadaşlarının 2021 yılında yayınlanan *in vitro* çalışmalarında 30 adet çürüklü süt azı dişini toplamıştır ve çürük dokusunu tamamen uzaklaştırdıktan sonra Grup 1’de GDF, Grup 2’de GDF/KI, Grup 3’te GDF+GSH uygulamaları yapıp dişler cam iyonmer ile restore edilmiştir. Renk değerlendirmesi için spektrofotometre cihazı ile ölçümler yapıp 1. gün, 1. hafta ve 4. hafta arasında oluşan renk değişimleri değerlendirilmiştir. Üçüncü

grupta 3 damla olan ve toplam ağırlığı 25 mg olan GSH, GDF solüsyonuna katılıp hızlıca herhangi bir çökelti bulunmayana kadar karıştırıldıktan sonra dış yüzeyine uygulanmıştır. Birinci gün, 1. hafta ve 4. hafta sonundaki yapılan ölçümlerle ΔE değerlerinin ve renk farkının en yüksek Grup 1’de olduğu bulunmuştur. KI ile GSH’ın renklenmeyi azaltmada yararlı olduğu, restorasyon kenarlarında renklenmelerin görülebildiği ancak bu konuda daha çok çalışmaya ihtiyaç olduğu sonucu bildirilmiştir (100).

Hamdy ve arkadaşları 2021 yayınlanan *in vitro* çalışmalarında 52 adet çürüklü süt azı dişini (n=13) kullanarak spektrofotometre ile renk değerlendirmesi yapmışlardır. Sadece mineyi çevreleyen çürük dokusu uzaklaştırıldıktan sonra çürük dentinde 5x5 mm büyüklüklerinde kavite açılmıştır. İlk ölçümler deney materyalleri uygulanmadan önce kaydedilmiştir. İlk grupta GDF, Grup 2’de GDF+kompozit, Grup 3’te GDF/KI, Grup 4’te GDF+cam iyonomer restorasyon yapmışlardır. Materyaller uygulandıktan hemen sonra ikinci renk ölçümleri, 24 saat süren Suntest yaşlandırma protokolünden sonra ise üçüncü renk ölçümleri yapılmıştır. GDF grubunda L^* , a^* ve b^* değerlerinde zamanla belirgin bir azalma gözlenmiştir. Diğer üç grubun L^* değerlerinde T_1 ’de artma T_2 ’de azalma kaydedilmiştir. a^* değerlerinde Grup 2 ve 4’te azalma görülürken Grup 3’te önce azalma sonra bir miktar artış kaydedilmiştir. b^* değerlerinde Grup 2 ve 4’te önce artma sonra azalma görülürken Grup 3’te önce azalma sonra artma görülmüştür. GDF’nin çürük dentinde belirgin bir siyah renklenmeye sebep olduğu, restoratif materyalin ve KI’nın GDF’nin renklenme etkisini maskeleyebildiği veya azaltabildiği sonucu paylaşılmıştır. Kompozitin maskeleme etkisinin yaşlandırma prosedürü ile tamamen geri çevrilmeyen en başarılı malzeme olduğu belirtilmiştir (198).

GDF’nin restoratif materyalden yansıyan siyah ve koyu renklenmesini maskeleyebilmek için 2 mm kalınlığında pembe renkli opakerın kavite tabanında kullanımını öneren araştırmacılar bulunmaktadır (210). Gelecekteki araştırmalarda kavite tabanında liner, opak renkli, translüsentliği düşük bir restoratif materyal veya pembe opaker gibi restoratif materyallerin GDF ile birlikte kullanılması ve değerlendirilmesi renklenmeyi maskeleme düzeylerinin karşılaştırılması için daha detaylı bilgiler sunabilecektir.

Literatürde NGF’nin diş dokusu ve restorasyon materyalleri üzerindeki renklenme yapıcı etkisinin incelendiği yeterli sayıda araştırma mevcut değildir.

Nanogümüş partiküllerinin diş dokusu ile temasında oksit oluşumu gözlenmemektedir. Bu nedenle diş dokularında renklenmeye neden olmadığı ancak yaklaşık 100 nm civarında nanopartikül boyutuna sahip olanlarda hafif düzeyde renklenmenin meydana gelebileceği belirtilmektedir (188). Espíndola-Castro ve arkadaşları, dentin örnekleri üzerinde 600 ve 1500 ppm içerikli NGF'nin; farklı konsantrasyonlardaki GDF ve GDF/KI solüsyonlarının uygulanmasını takiben oluşan renk değişimlerini Vita Easyshade spektrofotometre cihazı ile işlemiden hemen sonra, ikinci haftada ve birinci ayda incelemiştir. Her solüsyondan birer damla 1 dakika boyunca dentin örneklerinin üzerine uygulanmıştır. Sonrasında örnekler deney süresinin sonuna kadar yapay tükürükte saklanmıştır. Dört haftanın sonunda renk ölçümü işlemi yapılmadan önce fırçalama makinası ile herhangi bir aşındırıcı materyal kullanmadan örnekler fırçalanmıştır. Elde edilen sonuçlarda NGF formülasyonlarının diğer gruplardan daha az renk değişimine neden olduğu tespit edilmiştir. NGF'nin sebep olduğu sarımtırak lekeler ikinci haftanın sonundaki ölçümde parlaklığın azalmasına neden olmuştur ancak dördüncü hafta ölçümleri gerçekleştirilmeden önce yapılan fırçalama işlemiyle lekelerin çıkartılabildiği görülmüştür. Yine NGF içeriğinde yer alan ve kitinin deasetilasyonu ile elde edilen katyonik bir polimer olan kitosanın; sulu ortamda topaklanma ve yüzeye yapışma eğilimi gösterebileceği ancak bu tabakanın gazlı bezle bile kolayca uzaklaştırılabileceği belirtilmektedir (106).

Sayed ve arkadaşlarının sığır dişlerinden elde edilen dentin örnekleriyle yaptıkları *in vitro* çalışmada; kontrol grubu (hiç bir işlem yapmadıkları), %38'lik GDF, AgNPs, AgNPs/KF ve KF uygulamalarını tedaviden önce, hemen sonra 1., 2. ve 7. günlerde renk ölçümlerini yapıp ΔE değerlerini incelemiştir. GDF'nin diğer tüm gruplardan çok daha yüksek renk değişimi gösterdiği ve diğer gruplarda yer alan materyallerin anlamlı bir renk değişikliğine sebep olmadığını bildirmişlerdir (188). Santos ve arkadaşları yaptıkları randomize kontrollü klinik çalışmada NGF'nin diş dokusunda herhangi bir renklenme yapmadan çürük durdurucu etkinlik gösterdiği sonucunu paylaşmışlardır (107). Zhao ve arkadaşları 11,600 ppm florür ve 400 ppm gümüş içeren ve gümüş nanopartikül boyutunun $2,56 \pm 0,43$ olduğu PEG-AgNPs solüsyonunu üreterek Vita Easyshade spektrofotometre cihazı ile renk değerlendirmesi yaptıkları çalışmada kontrol grubu (deiyonize su) ile florürlenmiş PEG-AgNPs solüsyonunun arasında renk değişimi açısından herhangi bir farklılık görülmediği; %12'lik GDF solüsyonun uygulandığı gruptaki L^* , C^* ve h^* değerlerinin diğer iki

gruptan oldukça düşük olduğu, kontrol grubu ile arasında hesaplanan ΔE değerinin 85,0 olup PEG-AgNPs ile kontrol grubu arasında olan farka göre çok daha yüksek seviyede olduğu ve bariz renk farklılığı görüldüğü sonucu paylaşılmıştır. Bu nedenle PEG-AgNPs solüsyonunun GDF'nin siyah renklenmeye neden olma dezavantajına karşı iyi bir alternatif oluşturabileceği sonucuna varılmıştır (217).

GDF'nin siyah renklenme etkisini gidermek ve çürük durdurucu, remineralize edici, antibakteriyel etkinliğini olumsuz yönde etkilemeyecek veya alternatif oluşturabilecek materyaller üzerinde daha çok çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır. KI, GSH, GDF'nin çeşitli restoratif materyallerle birlikte kullanımı, NGF'nin hangi içeriğinin daha iyi sonuç vereceği ile ilgili çalışmalar devam etmektedir. Son dönemde yapılan biyomedikal çalışmalarda ise antimikrobiyal, antioksidan ve antiviral gücü olduğu bildirilen selenyum nanopartikülleri (SeNPs) üzerinde durulmaktadır ve çalışılmaktadır (191). Güçlü antibakteriyel etkinliğe ve çürük durdurucu özelliğe sahip, diş dokularında ve restorasyon materyallerinde renklenmeye neden olmayan ideal özellikteki materyali üretmek ve belirlemek için daha çok çalışmaya ihtiyaç olduğu görülmektedir.

6. SONUÇ

Bu tez çalışmasında GDF/KI içerikli materyalin *S. mutans* ve *L. casei* üzerindeki antibakteriyel etkinliğinin ve restorasyon materyali kompomer üzerinde renklenmeyi önleyici etkisinin GDF ve NGF solüsyonları ile karşılaştırılması ve değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Antibakteriyel etkinliğin değerlendirilmesi için kullanılan disk difüzyon testi, oluşturulan ikili biyofilm model üzerinde yapılan CLSM ve SEM incelemesine ait bulgular; renk değerlendirmesi için kullanılan spektrofotometre ile elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir:

- Disk difüzyon testi ile antimikrobiyal etkinliklerin karşılaştırılması için inhibisyon zonlarının ölçülerek değerlendirmenin yapıldığı ilk aşamada *S. mutans*'a karşı GDF ve GDF/KI solüsyonlarının en etkili olduğu, KI'nın GDF'nin *S. mutans*'a karşı olan antimikrobiyal özelliğini etkilemediği görülmüştür. *L. casei*'ye karşı ise %2'lik CHX'nin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde en etkili solüsyon olduğu, sonrasında en geniş inhibisyon zonlarının GDF ve GDF/KI solüsyonlarına karşı olduğu, %5'lik NaOCl solüsyonun ikisini takip ettiği ve üçü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. İki bakteri türü için de steril salin, NGF ve KI solüsyonlarına karşı inhibisyon zonu oluşmadığı saptanmıştır.
- CLSM ile incelenen görüntülerde canlı ve cansız hücre yoğunluğunun ayrı ayrı değerlendirildiği kısımlarda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Canlı/cansız hücre oranlarının değerlendirildiği kısımda %5'lik NaOCl, GDF ve GDF/KI solüsyonlarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde diğer solüsyonlardan daha yüksek antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu ve üçü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. CHX ve NGF solüsyonlarının bu üç solüsyonu takip ettiği, ikisi arasında anlamlı bir istatistiksel farklılık olmadığı ve biyofilm model üzerinde steril salinden daha güçlü antibakteriyel etlinliğe sahip oldukları görülmüştür.
- SEM analizinde en fazla bakteri yoğunluğunun steril salinin uygulandığı negatif kontrol grubunda olduğu görülmüştür. GDF, GDF/KI ve NGF uygulanan gruplarda solüsyonların sahip olduğu metalik iyon ve kitosan gibi içeriklerden dolayı net bir değerlendirme yapılamamış olsa da GDF ve GDF/KI grubunda, NGF ve %2'lik CHX gruplarına göre bakteri yoğunluğunun daha az olduğu ve %5'lik NaOCl'ye benzer

bakteri yoğunluğuna sahip olduğu yorumu yapılmıştır. NaOCl'nin %5'lik konsantrasyondaki solüsyonunun ikili biyofilm model üzerindeki antibakteriyel etkinliğinin %2'lik CHX'den yüksek olduğu görülmüştür.

- Renk değerlendirmesi için spektrofotometre ile yapılan değerlendirmelerde tüm zamanlarda en düşük L* değerlerine sahip olan grubun GDF solüsyonu uygulanan grup olduğu görülmüştür. Tüm grupların hepsinde zamanla parlaklığın azaldığı ancak istatistiksel olarak en fazla azalma görülen grubun yine GDF solüsyonu uygulanan grup olduğu gözlenmiştir.

- Kaydedilen a* ve b* değerleri incelendiğinde en düşük a* değerine sahip olan grubun yine GDF uygulanan grup olduğu ancak zaman içindeki en fazla azalmanın kontrol grubunda görüldüğü bulunmuştur. En düşük b* değerinin ise GDF ve GDF/KI uygulanan gruplarda görüldüğü saptanmıştır ve en fazla azalma NGF uygulanan grupta olmuştur.

- ΔE_{1-2} değerleri incelendiğinde kompomer restorasyon materyali üzerinde GDF'nin renklenmeye neden olma etkisinin tüm gruplar içinde en fazla ve kabul edilebilir eşiğin üzerinde olduğu görülmüştür. KI'nın GDF'nin neden olduğu siyah renklenme etkisini azaltmakla birlikte tamamen engelleyemediği ve NGF gibi solüsyonların bu dezavantajına karşı alternatif oluşturabileceği tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

- 1- Machiulskiene V, Campus G, Carvalho JC, Dige I, Ekstrand KR, Jablonski-Momeni A et al. Terminology of Dental Caries and Dental Caries Management: Consensus Report of a Workshop Organized by ORCA and Cariology Research Group of IADR. *Caries Res.* 2020;54(1):7-14.
- 2- Gamboa F, Plazas L, García DA, Aristizabal F, Sarralde AL, Lamby CP et al. Presence and count of *S. mutans* in children with dental caries: before, during and after a process of oral health education. *Acta Odontol Latinoam.* 2018;31(3):156-63.
- 3- Struzyczka I. The oral microbiome in dental caries. *Pol J Microbiol.* 2014;63(2):127-35.
- 4- Pitts NB, Zero DT, Marsh PD, Ekstrand K, Weintraub JA, Ramos-Gomez F et al. Dental caries. *Nat Rev Dis Primers.* 2017;3:1-16.
- 5- Zheng FM, Yan IG, Duangthip D, Gao SS, Lo ECM, Chu CH. Silver diamine fluoride therapy for dental care. *Jpn Dent Sci Rev.* 2022;58:249-57.
- 6- Pushpalatha C, Bharkhavy KV, Shakir A, Augustine D, Sowmya SV, Bahammam HA et al. The Anticariogenic Efficacy of Nano Silver Fluoride. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022;10:1-9.
- 7- Seifo N, Cassie H, Radford JR, Innes NPT. Silver diamine fluoride for managing carious lesions: an umbrella review. *BMC Oral Health.* 2019;19(1):2-10.
- 8- Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *The Lancet.* 2007;369(9555):51-9.
- 9- Rathee M, Sapra A. Dental Caries. 2023 Mar 6. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. PMID: 31869163.
- 10- Cheng L, Zhang L, Yue L, Ling J, Fan M, Yang D et al. Expert consensus on dental caries management. *Int J Oral Sci.* 2022;14(1):1-8.
- 11- Cui T, Luo W, Xu L, Yang B, Zhao W, Cang H. Progress of Antimicrobial Discovery Against the Major Cariogenic Pathogen *Streptococcus mutans*. *Curr Issues Mol Biol.* 2019;32:601-44.
- 12- Dufour D, Lévesque CM. Bacterial behaviors associated with the quorum-sensing peptide pheromone ('alarmone') in streptococci. *Future Microbiol.* 2013;8(5):593-605.
- 13- Anil S, Anand PS. Early Childhood Caries: Prevalence, Risk Factors, and Prevention. *Front Pediatr.* 2017;5:1-7.
- 14- Colak H, Dülgergil CT, Dalli M, Hamidi MM. Early childhood caries update: A review of causes, diagnoses, and treatments. *J Nat Sci Biol Med.* 2013;4(1):29-38.
- 15- Bossù M, Selan L, Artini M, Relucenti M, Familiari G, Papa R et al. Characterization of *Scardovia wiggsiae* Biofilm by Original Scanning Electron Microscopy Protocol. *Microorganisms.* 2020;8(6):1-16.
- 16- Prabhu Matondkar S, Yavagal C, Kugaji M, Bhat KG. Quantitative assessment of *Scardovia wiggsiae* from dental plaque samples of children suffering from severe early childhood caries and caries free children. *Anaerobe.* 2020;62:102110.
- 17- Goldberg M. Enamel and Dentin Carious Lesions. *JSM Dent.* 2020;8(1):1-8.

- 18-Conrads G, About I. Pathophysiology of Dental Caries. *Monogr Oral Sci.* 2018;27:1-10.
- 19-Freitas Fachin E, Oliveira Filho E, Pinto Carvalho T. Caries removal based on pulp biology. 2007;1(6):1-14
- 20-Ormond C, Douglas G, Pitts N. The use of the International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) in a National Health Service general dental practice as part of an oral health assessment. *Prim Dent Care.* 2010;17(4):153-9.
- 21-Ghodashra R, Brizuela M. Dental Caries Diagnostic Testing. 2023 Mar 19. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. PMID: 34662024.
- 22-Harris NO, Segura A. The Developing Carious Lesion. *Primary Preventive Dentistry-6th Ed.*;2004. Chapter 3, pp. 60-88.
- 23-Reich E, Lussi A, Newbrun E. Caries-risk assessment. *Int Dent J.* 1999;49(1):15-26.
- 24-Gannam CV, Chin KL, Gandhi RP. Caries risk assessment. *Gen Dent.* 2018;66(6):12-7.
- 25-Grigalauskiene R, Slabšinskienė E, Vasiliauskienė I. Biological approach of dental caries management. *Stomatologija.* 2015;17(4):107-12.
- 26-Faustova MO, Ananieva MM, Basarab YO, Dobrobolska OV, Vovk IM, Loban' GA. Bacterial factors of cariogenicity (literature review). *Wiad Lek.* 2018;71(2 pt 2):378-82.
- 27-Kutsch VK, Young DA. New directions in the etiology of dental caries disease. *J Calif Dent Assoc.* 2011;39(10):716-21.
- 28-Tahir L, Nazir R. Dental Caries, Etiology, and Remedy through Natural Resources. *Dental Caries- Diagnosis, Prevention and Management.* 2018. Chapter 3, pp. 19-33.
- 29-Ahirwar SS, Snehi SK, Gupta MK. Distribution and molecular characterisation of Lactobacilli in the oral cavity of children. *Indian J Dent Res.* 2021;32(1):8-14.
- 30-Berkowitz RJ. Mutans streptococci: acquisition and transmission. *Pediatr Dent.* 2006;28(2):106-9.
- 31-Costalunga M, Herzberg MC. The oral microbiome and the immunobiology of periodontal disease and caries. *Immunol Lett.* 2014;162(2):22-38.
- 32-Abranches J, Zeng L, Kajfasz JK, Palmer SR, Chakraborty B, Wen ZT et al. Biology of Oral Streptococci. *Microbiol Spectr.* 2018;6(5):1-18.
- 33-Patterson MJ. Streptococcus. In: Baron S, editor. *Medical Microbiology.* 4th ed. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996. Chapter 13. PMID: 21413248.
- 34-Rogers AH. Why be down in the mouth? Three decades of research in oral microbiology. *Aust Dent J.* 2005;50(1):2-5.
- 35-Jeong SJ, Apostolska S, Jankulovska M, Angelova D, Nares S, Yoon MS et al. Dental caries risk can be predicted by simply measuring the pH and buffering capacity of saliva. *Journal of dental hygiene science.* 2006;6(3):159-62.
- 36-Goldstein EJ, Tyrrell KL, Citron DM. Lactobacillus species: taxonomic complexity and controversial susceptibilities. *Clin Infect Dis.* 2015;60(2):98-107.
- 37-Caufield PW, Schön CN, Saraithong P, Li Y, Argimón S. Oral Lactobacilli and Dental Caries: A Model for Niche Adaptation in Humans. *J Dent Res.* 2015;94(9):110-8.

- 38- Leme LAFP, Rizzardi KF, Santos IB, Parisotto TM. Exploring the Relationship between Salivary Levels of TNF- α , Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus gasseri, Obesity, and Caries in Early Childhood. *Pathogens*. 2022;11(5):1-11.
- 39- Wen ZT, Huang X, Ellepola K, Liao S, Li Y. Lactobacilli and human dental caries: more than mechanical retention. *Microbiology (Reading)*. 2022;168(6):1-11.
- 40- Wyne AH, Guile EE. Caries activity indicators. A review. *Indian J Dent Res*. 1993;4(2):39-46.
- 41- Gugnani N, Pandit IK, Srivastava N, Gupta M, Sharma M. International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): A New Concept. *Int J Clin Pediatr Dent* 2011;4:93-100.
- 42- Julihn A, Grindefjord M, Espelid I. Diagnosis and Management of Dental Caries. [web page on the Internet]. Erişim Tarihi: 26.04.2017. Erişim site adı: Pocket Dentistry. <https://pocketdentistry.com/12-diagnosis-and-management-of-dental-caries/>
- 43- Seifo N, Robertson M, MacLean J, Blain K, Grosse S, Milne R et al. The use of silver diamine fluoride (SDF) in dental practice. *Br Dent J*. 2020;228(2):75-81.
- 44- Kaya D, Demirezen ř, Beksaç MS. Actinomyces Türlerinin Biyolojik Özellikleri. *BİBAD*. 2009;2(2):25-8.
- 45- Robinson PG. Dental Epidemiology. *International Encyclopedia of Public Health*. 2017;258-63.
- 46- American Academy of Pediatric Dentistry. Caries-risk assessment and management for infants, children, and adolescents. *The Reference Manual of Pediatric Dentistry*. Chicago, Ill.: American Academy of Pediatric Dentistry; 2022:266-72.
- 47- Caries Risk Assessment and Management [web page on the Internet]. Erişim Tarihi: 09.06.2021. Erişim site adı: Ada.org. <https://www.ada.org/resources/research/science-and-research-institute/oral-health-topics/caries-risk-assessment-and-management>
- 48- Featherstone JDB, Crystal YO, Alston P, Chaffee BW, Doméjean S, Rechmann P et al. A Comparison of Four Caries Risk Assessment Methods. *Front Oral Health*. 2021;2:1-13.
- 49- Mendiratta M, Manjunath BC, Kumar A, Yadav V, Wig M, Kumar A. Minimal Invasive Dentistry-a Narrative Review. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*, 2021;8(3):3167-79.
- 50- Choudhary K, Gouraha A, Sharma M, Sharma P, Tiwari M, Chouksey A. Clinical and Microbiological Evaluation of the Chemomechanical Caries Removal Agents in Primary Molars. *Cureus*. 2022;14(11):1-8.
- 51- Bratu DC, Nikolajevic-Stoican N, Popa G, Pop SI, Dragoş B, Luca MM. A Bibliometric Analysis (2010-2020) of the Dental Scientific Literature on Chemo-Mechanical Methods of Caries Removal Using Carisolv and BRIX3000. *Medicina (Kaunas)*. 2022;58(6):1-15.
- 52- Hamama H, Yiu C, Burrow M. Current update of chemomechanical caries removal methods. *Aust Dent J*. 2014;59(4):446-56.
- 53- Arifa MK, Ephraim R, Rajamani T. Recent Advances in Dental Hard Tissue Remineralization: A Review of Literature. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2019;12(2):139-44.
- 54- O'Mullane DM, Baez RJ, Jones S, Lennon MA, Petersen PE, Rugg-Gunn AJ et al. Fluoride and Oral Health. *Community Dent Health*. 2016;33(2):69-99.

- 55- Barillo DJ, Marx DE. Silver in medicine: a brief history BC 335 to present. *Burns*. 2014;40(1):3-8.
- 56- Greenwall-Cohen J, Greenwall L, Barry S. Silver diamine fluoride - an overview of the literature and current clinical techniques. *Br Dent J*. 2020;228(11):831-38.
- 57- Burgess JO, Vaghela PM. Silver Diamine Fluoride: A Successful Anticarious Solution with Limits. *Adv Dent Res*. 2018;29(1):131-4.
- 58- Mei ML, Lo EC, Chu CH. Clinical Use of Silver Diamine Fluoride in Dental Treatment. *Compend Contin Educ Dent*. 2016;37(2):93-8.
- 59- Yan IG, Zheng FM, Gao SS, Duangthip D, Lo ECM, Chu CH. Ion Concentration of Silver Diamine Fluoride Solutions. *Int Dent J*. 2022;72(6):779-84.
- 60- Crystal YO, Niederman R. Evidence-Based Dentistry Update on Silver Diamine Fluoride. *Dent Clin North Am*. 2019;63(1):45-68.
- 61- Timms L, Sumner O, Deery C, Rogers HJ. Everyone else is using it, so why isn't the UK? Silver diamine fluoride for children and young people. *Community Dent Health*. 2020;37(2):143-9.
- 62- Huang WT, Shahid S, Anderson P. Applications of silver diamine fluoride in management of dental caries. *Advanced Dental Biomaterials*. 2019;675-99.
- 63- Mei ML, Nudelman F, Marzec B, Walker JM, Lo ECM, Walls AW et al. Formation of Fluorohydroxyapatite with Silver Diamine Fluoride. *J Dent Res*. 2017;96(10):1122-8.
- 64- Tirupathi S, Svsg N, Rajasekhar S, Nuvvula S. Comparative cariostatic efficacy of a novel Nano-silver fluoride varnish with 38% silver diamine fluoride varnish a double-blind randomized clinical trial. *J Clin Exp Dent*. 2019;11(2):105-12.
- 65- Patel J, Foster D, Smirk M, Turton B, Anthonappa R. Acidity, fluoride and silver ion concentrations in silver diamine fluoride solutions: a pilot study. *Aust Dent J*. 2021;66(2):188-93.
- 66- Zhao IS, Gao SS, Hiraishi N, Burrow MF, Duangthip D, Mei ML et al. Mechanisms of silver diamine fluoride on arresting caries: a literature review. *Int Dent J*. 2018;68(2):67-76.
- 67- Mei ML, Li QL, Chu CH, Yiu CK, Lo EC. The inhibitory effects of silver diamine fluoride at different concentrations on matrix metalloproteinases. *Dent Mater*. 2012;28(8):903-8.
- 68- Fung MHT, Duangthip D, Wong MCM, Lo ECM, Chu CH. Arresting Dentine Caries with Different Concentration and Periodicity of Silver Diamine Fluoride. *JDR Clin Trans Res*. 2016;1(2):143-52.
- 69- Fung MHT, Duangthip D, Wong MCM, Lo ECM, Chu CH. Randomized clinical trial of 12% and 38% silver diamine fluoride treatment. *J Dent Res*. 2018;97:171-8.
- 70- Tolba ZO, Hamza HS, Moheb DM, Hassanein HE. Effectiveness of two concentrations 12% versus 38% of silver diamine fluoride in arresting cavitated dentin caries among children: a systematic review. *Egypt Pediatric Association Gaz*. 2019;67(1):2-7.
- 71- Horst JA, Heima M. Prevention of Dental Caries by Silver Diamine Fluoride. *Compend Contin Educ Dent*. 2019;40(3):158-63.
- 72- Crystal YO, Niederman R. Silver Diamine Fluoride Treatment Considerations in Children's Caries Management. *Pediatr Dent*. 2016;38(7):466-71.

- 73- Mabangkhu S, Duangthip D, Chu CH, Phonghanyudh A, Jirarattanasopha V. A randomized clinical trial to arrest dentin caries in young children using silver diamine fluoride. *J Dent*. 2020;99:1-6.
- 74- Mei ML, Ito L, Cao Y, Li QL, Chu CH, Lo EC. The inhibitory effects of silver diamine fluorides on cysteine cathepsins. *J Dent*. 2014;42(3):329-35.
- 75- Detsomboonrat P, Thongmak P, Lertpayab P, Aiemsri W, Sooampon S. Optimal concentration of potassium iodide to reduce the black staining of silver diamine fluoride. *J Dent Sci*. 2022;17(1):300-7.
- 76- Yu OY, Mei ML, Zhao IS, Li QL, Lo EC, Chu CH. Remineralisation of enamel with silver diamine fluoride and sodium fluoride. *Dent Mater*. 2018;34(12):344-52.
- 77- American Academy of Pediatric Dentistry. Policy on the use of silver diamine fluoride for pediatric dental patients. *The Reference Manual of Pediatric Dentistry*. Chicago, Ill.: American Academy of Pediatric Dentistry; 2022:72-5.
- 78- Knight GM, McIntyre JM, Craig GG, Mulyani, Zilm PS, Gully NJ. Inability to form a biofilm of *Streptococcus mutans* on silver fluoride-and potassium iodide-treated demineralized dentin. *Quintessence Int*. 2009;40:155-61.
- 79- Horst JA, Ellenikiotis H, Milgrom PL. UCSF Protocol for Caries Arrest Using Silver Diamine Fluoride: Rationale, Indications and Consent. *J Calif Dent Assoc*. 2016;44(1):16-28.
- 80- Korwar A, Sharma S, Logani A, Shah N. Pulp response to high fluoride releasing glass ionomer, silver diamine fluoride, and calcium hydroxide used for indirect pulp treatment: An in-vivo comparative study. *Contemp Clin Dent*. 2015;6(3):288-92.
- 81- Zaeneldin A, Yu OY, Chu CH. Effect of silver diamine fluoride on vital dental pulp: A systematic review. *J Dent*. 2022;119:1-8.
- 82- Shafi N, Kaur H, Choudhary R, Yeluri R. Dilute Silver Diamine Fluoride (1:10) Versus Light Cure Calcium Hydroxide as Indirect Pulp Capping Agents in Primary Molars - A Randomized Clinical Trial. *J Clin Pediatr Dent*. 2022;46(4):273-9.
- 83- Kiesow A, Menzel M, Lippert F, Tanzer JM, Milgrom P. Dentin tubule occlusion by a 38% silver diamine fluoride gel: an in vitro investigation. *BDJ Open*. 2022;8(1):1-5.
- 84- Crystal YO, Marghalani AA, Ureles SD, Wright JT, Sulyanto R, Divaris K et al. Use of Silver Diamine Fluoride for Dental Caries Management in Children and Adolescents, Including Those with Special Health Care Needs. *Pediatr Dent*. 2017;39(5):135-45.
- 85- Shah S, Bhaskar V, Venkatraghavan K, Choudhary P, Ganesh M, Trivedi K. Silver Diamine Fluoride: A Review and Current Applications. *Journal of Advanced Oral Research*. 2014;5(1):25-35.
- 86- Hu S, Meyer B, Duggal M. A silver renaissance in dentistry. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2018;19(4):221-7.
- 87- Jiang M, Mei ML, Wong MCM, Chu CH, Lo ECM. Effect of silver diamine fluoride solution application on the bond strength of dentine to adhesives and to glass ionomer cements: a systematic review. *BMC Oral Health*. 2020;20(1):1-10.
- 88- MacLean J. Minimally Invasive Treatment for Molar Incisor Hypomineralization. *The journal of multidisciplinary care decisions in dentistry* abbreviation [web page on the Internet]. Erişim Tarihi: 06.11.2018. Erişim site

- ad: <https://decisionsindentistry.com/article/minimally-invasive-treatment-for-molar-incisor-hypomineralization/> Decisionsindentistry.com.
- 89- Ballikaya E, Ünverdi GE, Cehreli ZC. Management of initial carious lesions of hypomineralized molars (MIH) with silver diamine fluoride or silver-modified atraumatic restorative treatment (SMART): 1-year results of a prospective, randomized clinical trial. *Clin Oral Investig*. 2022;26(2):2197-205.
 - 90- Lutgen P, Chan D, Sadr A. Effects of silver diammine fluoride on bond strength of adhesives to sound dentin. *Dent Mater J*. 2018;37(6):1003-9.
 - 91- Knight GM, McIntyre JM, Mulyani. The effect of silver fluoride and potassium iodide on the bond strength of auto cure glass ionomer cement to dentine. *Aust Dent J*. 2006;51(1):42-5.
 - 92- Zhao IS, Chu S, Yu OY, Mei ML, Chu CH, Lo ECM. Effect of silver diamine fluoride and potassium iodide on shear bond strength of glass ionomer cements to caries-affected dentine. *Int Dent J*. 2019;69(5):341-7.
 - 93- Puwanawiroj A, Trairatvorakul C, Dasanayake AP, Auychai P. Microtensile Bond Strength Between Glass Ionomer Cement and Silver Diamine Fluoride-Treated Carious Primary Dentin. *Pediatr Dent*. 2018;40(4):291-5.
 - 94- Khurshid Z, Shabbir J, Al-Otaibi AK, Alsalem AM, Alhamdan AA, Jouhar R et al. Role of Silver Diamine Fluoride in Dentistry. *European Dental Research and Biomaterials Journal*. 2020;(1):27-31.
 - 95- Tsai AT, Chan HC, Chang YH, Kupietzky A. Staining Outcomes of Silver Diamine Fluoride as an Adjunct in Caries Risk Assessment: A Case Series Evaluation. *J Clin Pediatr Dent*. 2022;46(1):6-11.
 - 96- Garg S, Sadr A, Chan D. Potassium iodide reversal of silver diamine fluoride staining: a case report. *Operat Dent* 2019;44:221e6.
 - 97- Gotjamanos T, Ma P. Potential of 4 per cent silver fluoride to induce fluorosis in rats: clinical implications. *Aust Dent J*. 2000;45(3):187-92.
 - 98- Ellenikiotis H, Chen KF, Soleimani-Meigooni DN, Rothen ML, Thompson B, Lin YS et al. Pharmacokinetics of 38 Percent Silver Diamine Fluoride in Children. *Pediatr Dent*. 2022;44(2):114-21.
 - 99- Duangthip D, Fung MHT, Wong MCM, Chu CH, Lo ECM. Adverse Effects of Silver Diamine Fluoride Treatment among Preschool Children. *J Dent Res*. 2018;97(4):395-401.
 - 100- Kamble AN, Chimata VK, Katge FA, Nanavati KK, Shetty SK. Comparative Evaluation of Effect of Potassium Iodide and Glutathione on Tooth Discoloration after Application of 38% Silver Diamine Fluoride in Primary Molars: An In Vitro Study. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2021;14(6):752-6.
 - 101- Nguyen V, Neill C, Felsenfeld J, Primus C. Potassium iodide. The solution to silver diamine fluoride discoloration? *Adv Dent Oral Health* 2017;5(1):1-6.
 - 102- Zhao IS, Mei ML, Burrow MF, Lo EC, Chu CH. Effect of Silver Diamine Fluoride and Potassium Iodide Treatment on Secondary Caries Prevention and Tooth Discolouration in Cervical Glass Ionomer Cement Restoration. *Int J Mol Sci*. 2017;18(2):1-12.
 - 103- Yin IX, Zhang J, Zhao IS, Mei ML, Li Q, Chu CH. The Antibacterial Mechanism of Silver Nanoparticles and Its Application in Dentistry. *Int J Nanomedicine*. 2020;15:2555-62.

- 104- Bapat RA, Chaubal TV, Joshi CP, Bapat PR, Choudhury H, Pandey M et al. An overview of application of silver nanoparticles for biomaterials in dentistry. *Mater Sci Eng C*. 2018;91:881-98.
- 105- Arnaud M, Junior PC, Lima MG, E Silva AV, Araujo JT, Gallembeck A et al. Nano-silver Fluoride at Higher Concentration for Caries Arrest in Primary Molars: A Randomized Controlled Trial. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2021;14(2):207-11.
- 106- Espíndola-Castro LF, Rosenblatt A, Galembeck A, Monteiro G. Dentin Staining Caused by Nano-silver Fluoride: A Comparative Study. *Oper Dent*. 2020;45(4):435-41.
- 107- Santos VE Jr, Vasconcelos Filho A, Targino AG, Flores MA, Galembeck A, Caldas AF Jr et al. A new "silver-bullet" to treat caries in children--nano silver fluoride: a randomised clinical trial. *J Dent*. 2014;42(8):945-51.
- 108- Targino AG, Flores MA, dos Santos Junior VE, de Godoy Bené Bezerra F, de Luna Freire H et al. An innovative approach to treating dental decay in children. A new anti-caries agent. *J Mater Sci Mater Med*. 2014;25(8):2041-7.
- 109- Noronha VT, Paula AJ, Durán G, Galembeck A, Cogo-Müller K, Franz-Montan M, Durán N. Silver nanoparticles in dentistry. *Dent Mater*. 2017;33(10):1110-26.
- 110- Vijayakumar M, Sabari Lavanya SJ, Ponnudurai Arangannal JJ, Aarthi AS. Nano Silver Fluoride-Overview. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*. 2020;7(2):6573-80.
- 111- Al-Nerabieah Z, Arrag EA, Rajab A. Cariostatic efficacy and children acceptance of nano-silver fluoride versus silver diamine fluoride: a randomized controlled clinical trial. *Journal of Stomatology*. 2020;73(3):100-6.
- 112- Ammar N, El-Tekeya MM, Essa S, Essawy MM, El Achy SN, Talaat DM. The antibacterial effect of nanosilver fluoride in relation to caries activity in primary teeth: a protocol for a randomized controlled clinical trial. *Trials*. 2022;23(1):1-11.
- 113- Ammar N, El-Tekeya MM, Essa S, Essawy MM, Talaat DM. Antibacterial effect and impact on caries activity of nanosilver fluoride and silver diamine fluoride in dentin caries of primary teeth: a randomized controlled clinical trial. *BMC Oral Health*. 2022;23(1):1-11.
- 114- El Habashy L, El Tekeya M. The Effect of Enamel Pre-treatment with Silver Diamine Fluoride versus Nano Silver Fluoride on the Microleakage of Fissure Sealant: in vitro study. *Egyptian Dental Journal*. 2020;66(4):1931-8.
- 115- Freire PL, Stamford TC, Albuquerque AJ, Sampaio FC, Cavalcante HM, Macedo RO et al. Action of silver nanoparticles towards biological systems: cytotoxicity evaluation using hen's egg test and inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm formation. *Int J Antimicrob Agents*. 2015;45(2):183-7.
- 116- Arana-Chavez VE, Castro-Filice LS. Transmission Electron Microscopy (TEM) and Scanning Electron Microscopy (SEM) for the Examination of Dental Hard Tissues. *Methods Mol Biol*. 2019;1922:325-32.
- 117- Fischer ER, Hansen BT, Nair V, Hoyt FH, Dorward DW. Scanning electron microscopy. *Curr Protoc Microbiol*. 2012 May; Chapter 2:Unit 2B.2. pp. 1-76.
- 118- Risnes S, Saeed M, Sehic A. Scanning Electron Microscopy (SEM) Methods for Dental Enamel. *Methods Mol Biol*. 2019;1922:293-308.
- 119- Mc Mullan D. Scanning electron microscopy 1928-1965. Wiley Online Library. 1995.

- 120- Taramalı Elektron Mikroskoobu (SEM) [web page on the Internet]. Erişim Tarihi: 14.05.2018. Erişim site adı: metalurjik.com. <https://www.metalurjik.com/taramali-elektron-mikroskobu-sem>
- 121- Geçirimli Elektron Mikroskoobu (TEM) [web page on the Internet]. Erişim Tarihi: 22.07.2018. Erişim site adı: arum.ogu.edu.tr. <https://arum.ogu.edu.tr/Sayfa/Index/66/gecirimli-elektron-mikroskobu-tem>
- 122- Malatesta M. Transmission Electron Microscopy as a Powerful Tool to Investigate the Interaction of Nanoparticles with Subcellular Structures. *Int J Mol Sci.* 2021;22(23):1-17.
- 123- Bayguinov PO, Oakley DM, Shih CC, Geanon DJ, Joens MS, Fitzpatrick JAJ. Modern Laser Scanning Confocal Microscopy. *Curr Protoc Cytom.* 2018;85(1):1-17.
- 124- Chen JT, Chen RM, Lin YL, Chang HC, Lin YH, Chen TL et al. Confocal laser scanning microscopy: I. An overview of principle and practice in biomedical research. *Acta Anaesthesiol Taiwan.* 2004;42(1):33-40.
- 125- Földes-Papp Z, Demel U, Tilz GP. Laser scanning confocal fluorescence microscopy: an overview. *Int Immunopharmacol.* 2003;3(13-14):1715-29.
- 126- Lawrence JR, Neu TR. Confocal laser scanning microscopy for analysis of microbial biofilms. *Methods Enzymol.* 1999;310:131-44.
- 127- Karamouzos A, Papadopoulos MA, Kolokithas G, Athanasiou AE. Precision of in vivo spectrophotometric colour evaluation of natural teeth. *J Oral Rehabil.* 2007;34(8):613-21.
- 128- Corciolani G, Vichi A. Repeatability of colour reading with a clinical and laboratory spectrophotometer. *Scientific.* 2006;8(5):62-9.
- 129- Chang JY, Chen WC, Huang, TK, Wang JC, Fu PS, Chen JH. Evaluation of the accuracy and limitations of three tooth-color measuring machines. *The Journal of Dentistry Science.* 2015;10(1):16-20.
- 130- Burkinshaw SM. Colour in relation to dentistry. *Fundamentals of colour science.* *Br Dent J.* 2004;196(1):33-41.
- 131- Teixeira JA, Silva AVCE, Dos Santos Júnior VE, de Melo Júnior PC, Arnaud M, Lima MG et al. Effects of a New Nano-Silver Fluoride-Containing Dentifrice on Demineralization of Enamel and Streptococcus mutans Adhesion and Acidogenicity. *Int J Dent.* 2018;2018:1351925.
- 132- Kurt A, Cilingir A, Bilmenoglu C, Topcuoglu N, Kulekci G. Effect of different polishing techniques for composite resin materials on surface properties and bacterial biofilm formation. *Journal of dentistry.* 2019;90:103199.
- 133- Contreras V, Toro MJ, Elías-Boneta AR, Encarnación-Burgos A. Effectiveness of silver diamine fluoride in caries prevention and arrest: a systematic literature review. *Gen Dent.* 2017;65(3):22-9.
- 134- Seow WK. Early Childhood Caries. *Pediatr Clin North Am.* 2018;65(5):941-54.
- 135- Svec P, Sedláček I, Zácková L, Nováková D, Kukletová M. Lactobacillus spp. associated with early childhood caries. *Folia Microbiol (Praha).* 2009;54(1):53-8.
- 136- Reis ACM, Bezerra DDS, Hart-Chú ENS, Stipp RN, Guedes SFF, Neves BG et al. Quantification and gene expression of Lactobacillus casei group species associated with dentinal lesions in early childhood caries. *Saudi Dent J.* 2021;33(2):69-77.

- 137- Chan AKY, Tamrakar M, Jiang CM, Tsang YC, Leung KCM, Chu CH. Clinical evidence for professionally applied fluoride therapy to prevent and arrest dental caries in older adults: A systematic review. *J Dent.* 2022;125:104273.
- 138- Desai H, Stewart CA, Finer Y. Minimally Invasive Therapies for the Management of Dental Caries-A Literature Review. *Dent J (Basel).* 2021;9(12):147.
- 139- Aly MM, Yousry YM. Potential discolouration of silver diamine fluoride versus silver diamine fluoride/potassium iodide in primary teeth: a randomised clinical study. *Br Dent J.* 2022;1-6.
- 140- Yu DG, Kimura Y, Fujita A, Hossain M, Kinoshita JI, Suzuki N, Matsumoto K. Study on acid resistance of human dental enamel and dentin irradiated by semiconductor laser with Ag(NH₃)₂F solution. *J Clin Laser Med Surg.* 2001;19(3):141-6.
- 141- Alhothali MM, Exterkate RAM, Lagerweij MD, van Strijp AJP, Buijs MJ, van Loveren C. The Effect of Various Fluoride Products on Dentine Lesions during pH-Cycling. *Caries Res.* 2022;56(1):64-72.
- 142- Zameer M, Birajdar SB, Peeran SW, Basheer SN, Peeran SA, Reddy A. Nanosilver fluoride as a caries arresting agent: A narrative review. *Contemp Pediatr Dent* 2021;2(1):1-13.
- 143- Turton B, Horn R, Durward C. Caries arrest and lesion appearance using two different silver fluoride therapies on primary teeth with and without potassium iodide: 12-month results. *Clin Exp Dent Res.* 2021;7(4):609-19.
- 144- Khubchandani M, Thosar NR, Dangore-Khasbage S, Srivastava R. Applications of Silver Nanoparticles in Pediatric Dentistry: An Overview. *Cureus.* 2022;14(7):e26956.
- 145- Favaro JC, Detomini TR, Maia LP, Poli RC, Guiraldo RD, Lopes MB et al. Anticaries Agent Based on Silver Nanoparticles and Fluoride: Characterization and Biological and Remineralizing Effects-An In Vitro Study. *Int J Dent.* 2022;2022:9483589.
- 146- Haghgoo R, Sadari H, Eskandari M, Haghshenas H, Rezvani M. Evaluation of the antimicrobial effect of conventional and nanosilver-containing varnishes on oral streptococci. *J Dent (Shiraz).* 2014;15(2):57-62.
- 147- West NX, Davies M, Amaechi BT. In vitro and in situ erosion models for evaluating tooth substance loss. *Caries Res.* 2011;45(1):43-52.
- 148- Aydın B, Pamir T, Baltacı A, Orman MN, Turk T. Effect of storage solutions on microhardness of crown enamel and dentin. *Eur J Dent* 2015;9:262-6.
- 149- Tosun G, Y Şener, A Şengün. The Effect of Various Storage Solutions on The Bond Strength of Resin Composite to Enamel. *Hacettepe Dişhekimliği Fakültesi Dergisi.* 2005;29(3):2-6.
- 150- Ellwood R, Fejerskov O. Clinical use of fluoride. In Fejerskov O, Kidd EAM, editors, *Dental Caries: The Disease and its Clinical Management*. Oxford: Blackwell Publishing. 2003. pp. 189-222.
- 151- Janakiram C, Ramanarayanan V, Devan I. Effectiveness of Silver Diammine Fluoride Applications for Dental Caries Cessation in Tribal Preschool Children in India: Study Protocol for a Randomized Controlled Trial. *Methods Protoc.* 2021;4(2):30-40.
- 152- Llodra JC, Rodriguez A, Ferrer B, Menardia V, Ramos T, Morato M. Efficacy of silver diamine fluoride for caries reduction in primary teeth and first

- permanent molars of schoolchildren: 36-month clinical trial. *J Dent Res*. 2005;84(8):721-4.
- 153- Phonghanyudh A, Duangthip D, Mabangkhu S, Jirarattanasopha V. Is Silver Diamine Fluoride Effective in Arresting Enamel Caries? A Randomized Clinical Trial. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19(15):8992.
 - 154- Sirivichayakul P, Jirarattanasopha V, Phonghanyudh A, Tunlayadechanont P, Khumsub P, Duangthip D. The effectiveness of topical fluoride agents on preventing development of approximal caries in primary teeth: a randomized clinical trial. *BMC Oral Health*. 2023;23(1):349.
 - 155- Gao SS, Chen KJ, Duangthip D, Wong MCM, Lo ECM, Chu CH. Arresting early childhood caries using silver and fluoride products - A randomised trial. *J Dent*. 2020;103:103522.
 - 156- Slayton RL, Urquhart O, Araujo MWB, Fontana M, Guzmán-Armstrong S, Nascimento MM et al. Evidence-based clinical practice guideline on nonrestorative treatments for carious lesions: A report from the American Dental Association. *J Am Dent Assoc*. 2018;149(10):837-849.e19.
 - 157- Silver Diamine Fluoride (SDF) Facts. Iowa Department of Public Health Silver Fluoride Protocol [web page on the Internet]. Erişim Tarihi: March 2018. Erişim site adı: Dentalboard.iowa.gov. <https://dentalboard.iowa.gov/sites/default/files/documents/2019/01/sdf-protocols.pdf>.
 - 158- Zhi QH, Lo EC, Lin HC. Randomized clinical trial on effectiveness of silver diamine fluoride and glass ionomer in arresting dentine caries in preschool children. *J Dent*. 2012;40(11):962-7.
 - 159- Braga MM, Mendes FM, De Benedetto MS, Imparato JC. Effect of silver diamine fluoride on incipient caries lesions in erupting permanent first molars: a pilot study. *J Dent Child (Chic)*. 2009;76(1):28-33.
 - 160- Gao SS, Zhao IS, Hiraishi N, Duangthip D, Mei ML, Lo ECM et al. Clinical Trials of Silver Diamine Fluoride in Arresting Caries among Children: A Systematic Review. *JDR Clin Trans Res*. 2016;1(3):201-10.
 - 161- Monse B, Heinrich-Weltzien R, Mulder J, Holmgren C, van Palenstein Helderman WH. Caries preventive efficacy of silver diamine fluoride (SDF) and ART sealants in a school-based daily fluoride toothbrushing program in the Philippines. *BMC Oral Health*. 2012;12:52-60.
 - 162- Brunet-Llobet L, Auría-Martín B, González-Chópita Y, Cahuana-Bartra P, Mashala EI, Miranda-Rius J. The use of silver diamine fluoride in a children's hospital: Critical analysis and action protocol. *Clin Exp Dent Res*. 2022;8(5):1175-84.
 - 163- Jiang M, Wong MCM, Chu CH, Dai L, Lo ECM. A 24-month randomized controlled trial on the success rates of restoring untreated and SDF-treated dentine caries lesions in primary teeth with the ART approach. *J Dent*. 2020;100:103435.
 - 164- Mohammed SME, Awad SM, Wahba AH. Comparison of Clinical Outcomes of Silver-modified Atraumatic Restorative Technique vs Atraumatic Restorative Technique in Primary Teeth: A Randomized Controlled Trial. *J Contemp Dent Pract*. 2022;23(11):1140-5.
 - 165- Mei ML, Zhao IS, Ito L, Lo EC, Chu CH. Prevention of secondary caries by silver diamine fluoride. *Int Dent J*. 2016;66(2):71-7.

- 166- Knight GM, McIntyre JM, Craig GG, Mulyani. Ion uptake into demineralized dentine from glass ionomer cement following pretreatment with silver fluoride and potassium iodide. *Aust Dent J* 2006;51:237e41.
- 167- Baraka M, Tekeya M, Bakry NS, Fontana M. Twelve-month randomized controlled trial of 38% silver diamine fluoride with or without potassium iodide in indirect pulp capping of young permanent molars. *J Am Dent Assoc*. 2022;153(12):1121-1133.e1.
- 168- Nagireddy VR, Reddy D, Kondamadugu S, Puppala N, Mareddy A, Chris A. Nanosilver Fluoride-A Paradigm Shift for Arrest in Dental Caries in Primary Teeth of Schoolchildren: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2019;12(6):484-90.
- 169- Yan IG, Zheng FM, Gao SS, Duangthip D, Lo ECM, Chu CH. A Review of the Protocol of SDF Therapy for Arresting Caries. *Int Dent J*. 2022;72(5):579-88.
- 170- Burgette JM, Weintraub JA, Birken SA, Lewis TA, White BA. Development of a Silver Diamine Fluoride Protocol in Safety Net Dental Settings. *J Dent Child (Chic)*. 2019;86(1):32-9.
- 171- Karpiński TM, Szkaradkiewicz AK. Chlorhexidine--pharmaco-biological activity and application. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2015;19(7):1321-6.
- 172- Giri Nishad S, Arora C, Malik S. Cavity Disinfectant Effects and Effectiveness in Operative Dentistry: A Literature Review. *IJFANS*. 2012;7(11):1885-95.
- 173- Mohammadi Z. Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. *Int Dent J*. 2008;58(6):329-41.
- 174- Demirpek U. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri. [web page on the Internet]. Erişim Tarihi: Aralık 2012. Erişim site adı: Klimik.org.tr. <https://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2012/02/128201112107-49.pdf>
- 175- Savas S, Kucukyılmaz E, Celik EU, Ates M. Effects of different antibacterial agents on enamel in a biofilm caries model. *J Oral Sci*. 2015;57(4):367-72.
- 176- Ruiz-Linares M, Ferrer-Luque CM, Arias-Moliz T, de Castro P, Aguado B, Baca P. Antimicrobial activity of alexidine, chlorhexidine and cetrimide against *Streptococcus mutans* biofilm. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2014;13:41-6.
- 177- Tawakoli PN, Ragnarsson KT, Rechenberg DK, Mohn D, Zehnder M. Effect of endodontic irrigants on biofilm matrix polysaccharides. *Int Endod J*. 2017;50(2):153-60.
- 178- Chakraborty S, Gupta N, Gambhir N, Singh R. Efficacy of Silver Diamine Fluoride on *Streptococcus mutans* Count Present in Saliva. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2021;14(5):700-4.
- 179- Mei ML, Chu CH, Low KH, Che CM, Lo EC. Caries arresting effect of silver diamine fluoride on dentine carious lesion with *S. mutans* and *L. acidophilus* dual-species cariogenic biofilm. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2013;18(6):824-31.
- 180- Mei ML, Li QL, Chu CH, Lo EC, Samaranayake LP. Antibacterial effects of silver diamine fluoride on multi-species cariogenic biofilm on caries. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2013;12:4-10.
- 181- Chu CH, Mei L, Seneviratne CJ, Lo EC. Effects of silver diamine fluoride on dentine carious lesions induced by *Streptococcus mutans* and *Actinomyces naeslundii* biofilms. *Int J Paediatr Dent*. 2012;22(1):2-10.

- 182- Wilson J, Swanbeck S, Banning G, Alhwayek T, Sullivan V, Howard KM et al. Assessment of Sodium Diamine Fluoride (SDF) with Light Curing Technique: A Pilot Study of Antimicrobial Effects. *Methods Protoc.* 2022;5(2):31-8.
- 183- Piovesan ÉT, Silva MV, de Campos TA, Martins VD, Bezzerra ACB. Antimicrobial effects of silver diamine fluoride: An in vivo study. *Am J Dent.* 2021;34(1):49-53.
- 184- Vinson LA, Gilbert PR, Sanders BJ, Moser E, Gregory RL. Silver Diamine Fluoride and Potassium Iodide Disruption of In Vitro Streptococcus mutans Biofilm. *J Dent Child (Chic).* 2018;85(3):120-4.
- 185- Knight GM, McIntyre JM, Craig GG, Mulyani, Zilm PS, Gully NJ. An in vitro model to measure the effect of a silver fluoride and potassium iodide treatment on the permeability of demineralized dentine to Streptococcus mutans. *Aust Dent J.* 2005;50(4):242-5.
- 186- Abdullah N, Al Marzooq F, Mohamad S, Abd Rahman N, Rani KGA, Chi Ngo H et al. The antibacterial efficacy of silver diamine fluoride (SDF) is not modulated by potassium iodide (KI) supplements: A study on in-situ plaque biofilms using viability real-time PCR with propidium monoazide. *PLoS One.* 2020;15(11):1-14.
- 187- Hamama HH, Yiu CK, Burrow MF. Effect of silver diamine fluoride and potassium iodide on residual bacteria in dentinal tubules. *Aust Dent J.* 2015;60(1):80-7.
- 188- Sayed M, Hiraishi N, Matin K, Abdou A, Burrow MF, Tagami J. Effect of silver-containing agents on the ultra-structural morphology of dentinal collagen. *Dent Mater.* 2020;36(7):936-44.
- 189- Waikhom N, Agarwal N, Jabin Z, Anand A. Antimicrobial effectiveness of Nano Silver Fluoride Varnish in reducing Streptococcus mutans in saliva and plaque biofilm when compared with Chlorhexidine and Sodium Fluoride Varnishes. *J Clin Exp Dent.* 2022;14(4):321-8.
- 190- Yin IX, Zhao IS, Mei ML, Lo ECM, Tang J, Li Q et al. Synthesis and Characterization of Fluoridated Silver Nanoparticles and Their Potential as a Non-Staining Anti-Caries Agent. *Int J Nanomedicine.* 2020;15:3207-15.
- 191- Almuqrin A, Kaur IP, Walsh LJ, Seneviratne CJ, Zafar S. Amelioration Strategies for Silver Diamine Fluoride: Moving from Black to White. *Antibiotics (Basel).* 2023;12(2):298-316.
- 192- Aranaz I, Navarro-García F, Morri M, Acosta N, Casettari L, Heras A. Evaluation of chitosan salt properties in the production of AgNPs materials with antibacterial activity. *Int J Biol Macromol.* 2023;235:1-11.
- 193- Ateş M, Yılmaz E, Kar B, Durukan-Kars İ. Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles and Coating with Chitosan. *Politeknik Dergisi.* 2021;24(4):1401-8.
- 194- Duangthip D, Wong MCM, Chu CH, Lo ECM. Caries arrest by topical fluorides in preschool children: 30-month results. *J Dent.* 2018;70:74-9.
- 195- Vennela E, Sharada J, Hasanuddin S, Suhasini K, Hemachandrika I, Singh PT. Comparison of staining potential of silver diamine fluoride versus silver diamine fluoride and potassium iodide under tooth-colored restorations: An in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2021;39(1):47-52.
- 196- Baines S, Hensels IS, Talmi D. The use of 'artificial saliva' as a neutral control condition in gustatory research: Artificial saliva is not a neutral gustatory stimulus. *Physiol Behav.* 2021;229:2-10.

- 197- Elwardani G, Sharaf AA, Mahmoud A. Evaluation of colour change and surface roughness of two resin-based composites when exposed to beverages commonly used by children: an in-vitro study. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2019;20(3):267-76.
- 198- Hamdy D, Giraki M, Abd Elaziz A, Badran A, Allam G, Ruettermann S. Laboratory evaluation of the potential masking of color changes produced by silver diamine fluoride in primary molars. *BMC Oral Health*. 2021;21(1):337-45.
- 199- Patel J, Anthonappa RP, King NM. Evaluation of the staining potential of silver diamine fluoride: in vitro. *Int J Paediatr Dent*. 2018;28(5):511-22.
- 200- Kilinc E, Antonson SA, Hardigan PC, Kesercioglu A. Resin cement color stability and its influence on the final shade of all-ceramics. *J Dent*. 2011;39(1):30-6.
- 201- Ardu S, Gutemberg D, Krejci I, Feilzer AJ, Di Bella E, Dietschi D. Influence of water sorption on resin composite color and color variation amongst various composite brands with identical shade code: an in vitro evaluation. *J Dent*. 2011;39(1):37-44.
- 202- Tooth colour and whiteness: A review. [web page on the Internet]. Erişim Tarihi: 17.06.2018. Erişim site adı: Pocket Dentistry. <https://pocketdentistry.com/tooth-colour-and-whiteness-a-review/>
- 203- Makhloota M, Köroğlu A, Turhan Bal B. A Review of Color Matching in Dentistry. *Med Records*. 2021;3(1):44-9.
- 204- Johnston WM. Color measurement in dentistry. *J Dent*. 2009;37(1):2-6.
- 205- Gómez-Polo C, Portillo Muñoz M, Lorenzo Luengo MC, Vicente P, Galindo P, Martín Casado AM. Comparison of the CIELab and CIEDE2000 color difference formulas. *J Prosthet Dent*. 2016;115(1):65-70.
- 206- Pecho OE, Ghinea R, Alessandretti R, Pérez MM, Della Bona A. Visual and instrumental shade matching using CIELAB and CIEDE2000 color difference formulas. *Dent Mater*. 2016;32(1):82-92.
- 207- Joiner A, Luo W. Tooth colour and whiteness: A review. *J Dent*. 2017;67:3-10.
- 208- Borse S, Chaware SH. Tooth shade analysis and selection in prosthodontics: A systematic review and meta-analysis. *J Indian Prosthodont Soc*. 2020;20(2):131-40.
- 209- Douglas RD, Steinhauer TJ, Wee AG. Intraoral determination of the tolerance of dentists for perceptibility and acceptability of shade mismatch. *J Prosthet Dent*. 2007;97(4):200-8.
- 210- Sengul F, Gurbuz T. Clinical Evaluation of Restorative Materials in Primary Teeth Class II Lesions. *J Clin Pediatr Dent*. 2015;39(4):315-21.
- 211- Lim Lj, Chen JW, Su JM, Goodacre B. Comparison of the masking ability and translucency of different tooth-colored restorative materials. *Pediatr Dent*. 2022;44(2):130-5.
- 212- Krämer N, Frankenberger R. Compomers in restorative therapy of children: a literature review. *Int J Paediatr Dent*. 2007;17(1):2-9.
- 213- Roberts A, Bradley J, Merkley S, Pachal T, Gopal JV, Sharma D. Does potassium iodide application following silver diamine fluoride reduce staining of tooth? A systematic review. *Aust Dent J*. 2020;65(2):109-17.
- 214- Li R, Lo EC, Liu BY, Wong MC, Chu CH. Randomized clinical trial on arresting dental root caries through silver diammine fluoride applications in community-dwelling elders. *J Dent*. 2016;51:15-20.

- 215- Miller MB, López LA, Quock RL. Silver diamine fluoride, potassium iodide, and esthetic perception: An in vitro pilot study. *Am J Dent*. 2016;29(5):248-50.
- 216- Fröhlich TT, Gindri LD, Pedrotti D, Cavaleiro CP, Soares FZM, Rocha RO. Evaluation of the Use of Potassium Iodide Application on Stained Demineralized Dentin Under Resin Composite Following Silver Diamine Fluoride Application. *Pediatr Dent*. 2021;43(1):57-61.
- 217- Zhao IS, Yin IX, Mei ML, Lo ECM, Tang J, Li Q, et al. Remineralising Dentine Caries Using Sodium Fluoride with Silver Nanoparticles: An In Vitro Study. *Int J Nanomedicine*. 2020;15:2829-39.



FORMLAR

EK 1. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu ve Gönüllü Onay Formu

GÖNÜLLÜ OLUR FORMU METNİNDE BULUNMASI GEREKENLER

“Bu gereklilikleri yerine getirirken, araştırmanın amacı ve yöntemine göre gönüllü olur formunun gerektiğinde hastaların yanı sıra çocuklar, kısıtlılar ve bilinci kapalı bireyler gibi onam yeteneği olmayan ya da kısıtlı olanlar, hasta yakınları ve sağlıklı kişiler için ayrı ayrı ve dili tbbi kelimelerden anndınlarak, katılımcıların anlayabileceği şekilde hazırlanmasına özen gösterilmelidir”

I-Araştırmayla İlgili Bilgi Verilmesi;

- **Araştırmanın Adı:** Gümüş Diamin Florür/Potasyum İyodür (GDF/KI) içerikli materyalin antibakteriyel etkinliğinin invitro olarak karşılaştırılması ve restorasyon materyalleri üzerinde renklenmeye olan etkisinin değerlendirilmesi.
- **Araştırma Yürütücüsü:** Doç. Dr. Mine KORUYUCU

Sizin İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı tarafından yürütülen bu çalışmaya katılmanızı arzu ediyoruz. Aşağıda bu çalışma ile ilgili bazı bilgiler bulacaksınız. Bu bilgiler sizin çalışmaya katılmanızın kolaylaştırılması ve öneminin anlaşılabilmesi için hazırlanmıştır.

- **Ne tür bir araştırma olduğu:** Tükürük örneği alınması yardımıyla insan süt azı dişlerinden elde edilen mince blokları üzerinde oluşturulan biofilm model üzerinden antibakteriyel etkinliğin değerlendirilmesi amaçlanmaktadır. Yine toplanan insan süt azı dişlerine yapılan işlemler ve restorasyon uygulamaları sonucunda ise renk değerlendirmesi ile ilgili incelemeler yapılacaktır.
- **Amaç:** Araştırmamızda GDF+KI'nın antibakteriyel etkinliğinin, antibakteriyel özelliğe sahip olduğu bilinen diğer sodyum hipoklorit, klorheksidin, nano gümüş florür gibi ürünlerle karşılaştırılması ve KI uygulamasının GDF'nin neden olduğu renklenme üzerindeki etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.
- **Neler uygulanacağı:** Herhangi bir olumsuz şikayete sebebiyet vermesi nedeniyle uzman diş hekimi tarafından çekim kararı verilmiş insan süt azı dişlerinin çekimi İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş-Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilecektir. Bu işlem Ağız, Diş-Çene Cerrahisi kliniklerinde uygulanan rutin bir işlemdir ve sıklıkla uygulanmaktadır. Biofilm oluşturabilmek için ise sağlıklı gönüllü bir bireyden tükürük örneği alınacaktır. Araştırmadaki biofilm değerlendirmeleri için gereken tükürük örneği 18 yaş üstü sağlıklı gönüllüden İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'nda alınacaktır. Sağlık açısından herhangi bir risk taşımamaktadır. Sistemik olarak herhangi bir rahatsızlığı bulunmayan, rastgele seçilmiş, 3 ay öncesine kadar herhangi bir ilaç almamış, aktif çürüğü ve periodontal hastalığı bulunmayan tek bir donörden tükürük örneği toplanacaktır. Tükürük toplanmadan önce 1,5 saat bir şey yiyip içilmemelidir. Fırçalamadan iki saat sonra, koltukta oturur şekilde parafinle uyarılmış ilk salgı atımı sağlandıktan sonra steril petri kabında tükürük örneği toplanacaktır.
- **Nasıl uygulanacağı:** Sizden alınacak tükürük örneği veya sizden çekilecek olan diş bir solüsyon içinde laboratuvara götürülecek ve çalışmalar burada devam edecektir. Hiçbir hastadan özellikle çalışmada kullanılmak amacıyla diş çekimi yapılması durumu söz konusu değildir. Bu çalışmaya katılıp katılmamanız tamamen sizin kendi iradeniz ile vereceğiniz karara bağlıdır.
- **Hangi yöntem/lerle gerçekleştirileceği:** Sizden alınan tükürük örneği veya sizden çekilecek olan süt azı dişleri bir solüsyon içinde laboratuvara götürülecek ve çalışmalar burada devam edecektir. Uygulanacak deneyler sizden çekilecek dişler üzerinde uygulanacaktır veya sizden alınacak tükürük örneği kullanılarak gerçekleştirilecektir.

Tarih / Versiyon: 20.05.2021

Klinik Araştırmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Form 4	13.06.2013/İÜDHFKA EK04	1/5

- **Çıkabilecek istenmeyen etkilerini ve risklerini:** Araştırmada uzman diş hekimi tarafından çekim kararı verilmiş, çekim endikasyonu bulunan süt azı dişleri çekim sonrasında hastanın izni alınarak kullanılacaktır. Bu nedenle çalışmada herhangi bir risk söz konusu değildir. Tükürük örneği de 18 yaş üstü sağlıklı gönüllü kişiden izin sonrasında alınacak olup herhangi bir risk taşımamaktadır.
- **Ortaya çıkan istenmeyen etki ve risklerin tedavi edilebilirliğini:** Herhangi bir risk söz konusu değildir.
- **Bilime ve tıbbi katkıları:** Hastaların rutin işlemleri planlandığı gibi, çalışmamızdan bağımsız olarak devam edecektir. Hastalardan alınan örneklerle yapılacak deneylerle belirtilen ürünlerin antibakteriyel etkinliği ve renklenme üzerine olan etkinlikleri değerlendirilecektir.
- **Süresi:** Uzman dişhekim tarafından çekim kararı verilmiş süt azı dişleri çekim sonrasında hastanın iznini takiben toplanılacaktır. 18 yaş üstü sağlıklı gönüllüden hastanın iznine bağlı olarak tükürük örneği alınacaktır. Herhangi bir katılım süresi söz konusu değildir.
- **Yaklaşık katılımcı sayısı (Çok merkezli ise kurum ve toplam katılımcı sayısını):**

Tükürük örneği için: **1 kişi**

İnsan süt azı dişleri için ortalama: **30 adet çürüksüz, 40 adet çürüklü insan süt azı dişi** gerekmektedir.

II-Gönüllünün Haklarıyla İlgili Bilgi Verilmesi

- Araştırma yöntemi dışında hangi alternatif tedavilerin bulunduğunu; bu tedavilerin neler olduğunu
- Gönüllüye araştırmaya katılmayı red etme hakkına sahip olduğunun bildirilmesi
- Gönüllünün istediği anda araştırmacıya haber vererek çalışmadan çekilebileceği ya da araştırmacı tarafından gerek görüldüğünde araştırma dışı bırakılabileceğinin bildirilmesi
- Gönüllünün araştırmayı kabul etmemesi durumunda veya herhangi bir nedenle çalışma programından çıkarılması veya çıkması halinde, hastalığı ile ilgili tedavisinde bir aksama olmayacağı güvencesi verilmesi
- Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmeyeceğinin ayrıca kendisine de bir ödeme yapılmayacağının belirtilmesi gerekmektedir. Ulaşım masrafı ve sigorta gibi ödenekler mevcutsa mutlaka gönüllü olurda bilgi verilmelidir.
- Gönüllüden alınacak numunelerin (serum vs.) yalnızca adı geçen çalışmada kullanılacağını belirtilmesi,
[Araştırmanın Açık Adı] araştırması kapsamında alınan biyolojik örneklerimin (kan, idrar vb.); “Sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum” veya “İleride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum” veya “hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum” şeklinde uygun ifadenin işaretlendiği bilgi yer almalıdır.
- Kimlik bilgilerinin gizli tutulacağına dair güvence

1. Red etme hakkı

Bu araştırmaya katılmayı red etme hakkına sahipsiniz. Katılmak mecburiyetinde değilsiniz. Araştırmayı kabul etmemeniz durumunda veya herhangi bir nedenle çalışma programından

Tarih/ Versiyon: 20.05.2021

Klinik Araştırmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu Form 4	Rev. Tarihi / No.su: 13.06.2013/ÜDHFKA EK04	Sayfa 2/5
--	----------------------	---	--------------

çıkarılmanız veya çıkmanız halinde, hastalığı ile ilgili tedavisinde bir aksama olmayacaktır.

2. Çalışmadan çıkmak

İstediğiniz takdirde başlangıçta çalışmaya katılmayı red edebilirsiniz. İstediğiniz takdirde önceden araştırmacıya haber vererek çalışma kapsamı dışında kalabileceğiniz gibi araştırmacı tarafından gerek görüldüğünde araştırma dışı bırakılabileceğiniz. Çalışma kapsamı dışında kalmanız Diş hekimliği Fakültesinin tedavi hizmetlerinden yararlanmanızı etkilemeyecektir.

3. Çalışmadan çekilmek

Gönüllünün istediği anda araştırmacıya haber vererek çalışmadan çekilebileceği ya da araştırmacı tarafından gerek görüldüğünde araştırma dışı bırakılabileceğinin bildirilmesi

4. Araştırmayı kabul etmemeniz durumunda

Araştırmayı kabul etmemeniz durumunda veya herhangi bir nedenle çalışma programından çıkarılmanız veya çıkmanız halinde, hastalığı ile ilgili tedavisinde bir aksama olmayacaktır.

5. Mali sorumluluk

Katılımcı, araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmeyecektir. Ayrıca katılımcıya da bir ödeme yapılmayacaktır

6. Gönüllüden alınacak numunelerin (serum vs.) yalnızca adı geçen çalışmada kullanılacağına belirtilmesi

Sizden alınacak tükürük örneği veya dişler yalnızca adı geçen bu çalışmada kullanılacaktır.

[Gümüş Diamin Florür/Potasyum İyodür (GDF/KI) içerikli materyalin antibakteriyel etkinliğinin invitro olarak karşılaştırılması ve restorasyon materyalleri üzerinde renklenmeye olan etkisinin değerlendirilmesi] araştırması kapsamında alınan biyolojik örneklerimin (alınan tükürük örneği veya çekilen dişlerin);

- Sadece yukarıda bahsi geçen çalışmada kullanılmasına izin veriyorum.
- İleride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum.
- Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.

7. Gizlilik

Bu konudaki tüm kayıtlar gizli tutulacaktır. Herhangi bir yayında isminiz geçmeyecektir.

Katılımcının/Hastanın Beyanı

Sayın Araştırma Görevlisi Diş hekimi Büşra Karaduran tarafından İstanbul Üniversitesi Diş

Tarih/ Versiyon: 20.05.2021

Klinik Araştırmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Form 4	13.06.2013/İÜDHFKAEK04	3/5

Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" (denek) olarak davet edildim. Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim) Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Araş. Gör. Dt. Büşra KARADURAN'ı herhangi bir saatte 05373075525 numaralı telefon adresinden veya İstanbul Üniversitesi Pedodonti AD.'daki iş adresinden ulaşabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Tarih/ Versiyon: 20.05.2021

Klinik Araştırmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Form 4	13.06.2013/İÜDHFKAEK04	4/5

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-soyadı:

İmzası:

Tarih:

Adresi (varsa telefon no., faks no,...):

Araştırma ekibinde yer alan ve yetkin bir araştırmacının Adı-soyadı:

İmzası:

Tarih:

Gerekliyse yasal temsilcisinin Adı-soyadı:

İmzası:

Tarih:

Adresi (varsa telefon no., faks no,...):

Tarih/ Versiyon: 20.05.2021

Klinik Araştırmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Form 4	13.06.2013/İÜDHFKAEK04	5/5