

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PEDODONTİ ANABİLİM DALI

**SÜT DİŞİ KANAL TEDAVİSİNDE İRRİGASYON
AMACIYLA KULLANILAN KİTOSAN VE PAPAİN
İÇERİKLİ MADDELERİN ANTİBAKTERİYEL
ETKİNLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Hazırlayan

İSMAİL CİHANGİR

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi ESRA KIZILCI

Uzmanlık Tezi

TEMMUZ 2021

KAYSERİ

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PEDODONTİ ANABİLİM DALI

**SÜT DİŞİ KANAL TEDAVİSİNDE İRRİGASYON
AMACIYLA KULLANILAN KİTOSAN VE PAPAİN
İÇERİKLİ MADDELERİN ANTİBAKTERİYEL
ETKİNLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

(Uzmanlık Tezi)

Hazırlayan
İSMAİL CİHANGİR

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi ESRA KIZILCI

TEMMUZ 2021

KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: İsmail CİHANGİR

İmza:

YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI

“Süt Dişı Kanal Tedavisinde İrrigasyon Amacıyla Kullanılan Kitosan Ve Papain İçerikli Maddelerin Antibakteriyel Etkinliklerinin Değerlendirilmesi”adlı Yüksek Lisans/Doktoratezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ ne uygunolarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan Danışman

İsmail CİHANGİR

Dr. Öğr. Üyesi E sra KIZILCI

Pedodonti Anabilim Dalı Başkanı

Doç. Dr. Zeynep Aslı ÖZKAYA

Dr. Öğr. Üyesi Esra KIZILCI danışmanlığında, **İsmail CİHANGİR** tarafından hazırlanan ‘**Süt Dişi Kanal Tedavisinde İrrigasyon Amacıyla Kullanılan Kitosan Ve Papain İçerikli Maddelerin Antibakteriyel Etkinliklerinin Değerlendirilmesi**’ adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalında Uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

/07/2022

JÜRİ:

Danışman : Dr. Öğr Üyesi Esra KIZILCI

Üye : Prof. Dr. Firdevs Tulga Öz

Üye : Doç. Dr. Mustafa AYDINBELGE.....

ONAY:

Bu tezin kabulü Fakülte Yönetim Kurulunun/...../..... tarih ve Sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Doç. Dr. Zeynep Aslı ÖZKAYA

Pedodonti Anabilim Dalı Başkanı

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süreci boyunca akademik olarak desteğini benden esirgemeyen, mesleki tecrübelerini benle paylaşan, içten bir dost gibi yaklaşan sevgili danışman hocam Esra KIZILCI'ya

Laboratuvar aşamalarında büyük emek ve sabırla bana yardımcı olan Eczacılık Fakültesinde görevli sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Ahmet CEYLAN'a

Uzmanlık eğitimimde yanımda olan ve bilgilerini paylaşan Erciyes Üniversitesi Pedodonti Bölümü'nün değerli hocalarına

Diş hekimliği ve uzmanlık eğitimim boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen canım aileme

Klinikteki zor anlarımda yanımda olan ve manevi desteklerini hep hissettiğim, sevgili çalışma arkadaşlarım Özlem AŞKAROĞLU, Gizem DOĞAN, Gülşah KİNEY ve Eda Nur KARAÇOR'a

Klinikte beraber çalıştığımız emektar klinik personellerimiz Hasan GÖNEN, Sevgi AYDOĞDU, Feride KAHYA ve Serdar AYVAZ'a

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Araş. Gör. İsmail CİHANGİR

SÜT DİŞİ KANAL TEDAVİSİNDE İRRİGASYON AMACIYLA KULLANILAN KİTOSAN VE PAPAİN İÇERİKLİ MADDELERİN ANTİBAKTERİYEL ETKİNLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

İsmail CİHANGİR

Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Pedodonti Anabilim Dalı

Uzmanlık Tezi, Ağustos 2021

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Esra KIZILCI

ÖZET

Giriş ve Amaç: Süt dişlerinin daimi dişler sürünceye kadar ağızda kalması, çocuk diş hekimliğinde önemlidir. Çürüklerin tedavi edilmediği durumlarda, ilerleyen enfeksiyona bağlı gelişen, geri dönüşü olmayan pulpitiste kanal tedavisi veya çekim gerekmektedir. Süt dişlerinin estetik, konuşma, çiğneme ve yer koruma fonksiyonları nedeniyle kanal tedavisi önceliklidir. Kanal tedavisinde mekanik preperasyon tek başına yetersiz kalmakta, kimyasal irrigasyon ile desteklenmesi gerekmektedir. Irrigasyon ajanı olarak altın standart, sodyum hipoklorittir. Sodyum hipoklorit, sahip olduğu kötü tad ve koku nedeniyle çocuk hastaların tedaviye uyum düzeyini etkiler. Ayrıca periapikal dokularda oluşturduğu toksik etki, süt dişlerinin altında yer alan daimi diş germelerinde olumsuz etkilere neden olabilir. Bu nedenle çocuk diş hekimliğinde alternatif irrigasyon ajanı arayışı devam etmektedir. Çalışmalarda başarılı bulunan kitosan ve içerdiği yüksek papain içeriğiyle yüksek antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu iddia edilen papain içerikli Brix 3000, mevcut çalışmada tercih edilmiştir. Bu çalışmanın amacı iki ajanın irrigasyon solüsyonu olarak E.faecalis'e karşı antibakteriyel etkinliğini, sodyum hipoklorit ile karşılaştırarak değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada çekim endikasyonu konulan; köklerinde kırık, çatlak, rezorpsiyon ve kalsifikasyon bulunmayan 32 adet anterior süt dişi kullanılmıştır. Boyları $12\pm0,5$ mm olacak şekilde standardize edilen diş kökleri, E. Faecalis kültürüne aktarılmıştır. 4 adet diş bakteri kültürüne aktarılmayarak, negatif kontrol grubu olarak belirlenmiştir. İnkübe edilen örneklerle, minumum konsantrasyon değerleri belirlenen

kitosan ve papain solüsyonları ile %2,5'lik sodyum hipoklorit uygulanmıştır. 4 adet diş irrigasyon protokolü uygulanmamış, pozitif kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Çoğalan bakteriler, koloni oluşturan birim (CFU) cinsinden hesaplanmıştır. İstatiksel analiz için SPSS 23.0 for Windows programı kullanılmıştır. Gruplar arasındaki farkların analizinde Ki-Kare ve Fisher testleri kullanılmıştır. Tüm testlerde istatistiksel anlamlılık düzeyi 0,05 ve 0,001 olarak belirlenmiştir.

Bulgular: Tüm irrigasyon solüsyonları, örneklerde pozitif kontrol grubuna kıyasla bakteriyel azalma sağlamıştır. Gruplar arasında *E. faecalis* miktarı (CFU/ml) açısından anlamlı bir farklılık görülmüştür. ($p=0,002$). Kullanılan irrigasyon solüsyonları arasında sodyum hipoklorit en yüksek antibakteriyel etkiye sahiptir ancak kitosan ile arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Papain grubunda yer alan dişlerin *E. faecalis* miktarı (CFU/ml) kitosan ($p=0,006$) ve sodyum hipoklorit ($p=0,005$) grubunda yer alan örneklerle göre anlamlı derecede daha yüksektir.

Sonuç: Kitosan grubu, sodyum hipoklorit grubundan sayısal olarak daha düşük sonuçlara sahip olsa da, istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. Bu nedenle doğal içeriğe sahip olması, toksik olmaması, biyouyumlu yapıya sahip olması gibi avantajlara sahip olduğundan sodyum hipoklorit yerine tercih edilebilir. Kitosanın; gümüş, bakır, çinko gibi içerisine ilave edilecek çeşitli nanopartikül yapılar ile antibakteriyel etkinliği artırılabilir. Süt dişlerinde irrigasyon solüsyonu olarak kullanımı umut vaad etmektedir. İçerdiği yüksek papain konsantrasyonu ile antibakteriyel etkinliğinin artırıldığı iddia edilen Brix 3000'in antibakteriyel etkinliği yeterli bulunmamıştır. Yöntem farklılıklarına bağlı olarak sonuçların değişebileceği düşünülerek, daha ileri çalışmalar ile etkinliği değerlendirilebilir.

Anahtar Kelimeler: Kök kanal tedavisi, irrigasyon, fitoterapik ajanlar

EVALUATION OF THE ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF CHITOSAN AND PAPAİN CONTAINİNG SUBSTANCES USED FOR İRRİGATION İN PRİMARY TOOTH ROOT CANAL TREATMENT

İSMAİL CİHANGİR

Erciyes University, Faculty of Dentistry

Department of Pediatric Dentistry

September 2021

Supervisor: Assoc. Dr. Öğr. Üyesi Esra KIZILCI

ABSTRACT

Aim: Keeping the primary teeth in the mouth until the permanent teeth erupt is of great importance in pediatric dentistry. In cases where caries is not treated, root canal treatment is required in irreversible pulpitis due to progressive infection. However, mechanical preparation alone is insufficient in root canal treatment and must be supported by chemical irrigation. Although many irrigation agents are used during this process, sodium hypochlorite is accepted as the gold standard. However, due to its toxic effect on the periapical tissues, it may cause adverse effects on the permanent tooth germs located under the primary teeth. Therefore, the search for alternative irrigation agents continues in pediatric dentistry. The aim of this study is to examine the effects of natural chitosan and papain-containing irrigation solutions against *E. faecalis* in root canals and to compare the efficacy of these solutions with sodium hypochlorite.

Materials and Methods: In the study, 32 anterior primary teeth diagnosed with deep dentin caries, trauma or extraction for orthodontic purposes were used. The teeth were cut with a root length of 12 ± 0.5 mm in order to ensure standardization. Prepared tooth roots were placed in eppendorf tubes and *E. faecalis* culture was transferred to each tube with a micropipette as 10 μ L. The samples were kept in an incubator at 37°C for 24 hours. Irrigation protocols were applied to the samples. Colonies that proliferated were counted and their number in CFU was calculated and recorded. SPSS 23.0 for Windows program was used for statistical analysis.

Results: There was a significant difference between the groups in terms of the CFU value of the samples. ($p=0.002$). It was determined that the CFU values of the teeth in the papain group were significantly higher than the CFU values of the teeth in the Chitosan ($p=0.006$) and Sodium hypochlorite ($p=0.005$) groups. Samples in the positive control group were found to have higher values than the samples in the Papain ($p=0.0001$), sodium hypochlorite ($p=0.002$) and negative control ($p=0.002$) groups.

Conclusion: Root canal treatment in primary teeth; It is a treatment protocol widely applied in pediatric dentistry, which ensures that the teeth remain in the mouth until they fall out. Irrigation protocols are one of the indispensable steps of the treatment for the clinical success of root canal treatment. Among the irrigation solutions used, sodium hypochlorite was found to have the highest antibacterial effect. However, chitosan, which has natural content and is stated to be non-toxic, is also promising in terms of antibacterial properties. For this reason, more studies are needed on herbal irrigation solutions alternative to sodium hypochlorite.

Key Words: Root canal treatment, irrigation, phytotherapeutic agents

İÇİNDEKİLER

<i>BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK</i>	i
<i>YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI</i>	ii
<i>TEŞEKKÜR</i>	iv
<i>ÖZET</i>	v
<i>ABSTRACT</i>	vii
<i>İÇİNDEKİLER</i>	ix
<i>KISALTMALAR</i>	xii
<i>TABLOLAR LİSTESİ</i>	xiii
<i>ŞEKİLLER LİSTESİ</i>	xiv
<i>1. GİRİŞ ve AMAÇ</i>	1
<i>2. GENEL BİLGİLER</i>	3
<i>2.1 SÜT DİŞLERİNDE PULPA VE PERİAPİKAL DOKU PATOLOJİLERİ</i>	3
2.1.1. Geri Dönüşümlü Pulpa İltihabı(Reversibl Pulpitis).....	3
2.1.2. Geri Dönüşümsüz Pulpa İltihabı (İrreversible Pulpitis).....	3
2.1.3. Ülseratif ve Hiperplastik Pulpitis.....	4
2.1.4. Pulpa Nekrozu.....	4
2.1.5. Semptomatik/Asemptomatik Apikal Periodontitis	5
2.1.6. Apikal apse.....	5
<i>2.2. PULPA HASTALIKLARINDA TEŞHİS VE TEDAVİ</i>	6
2.2.1. KLİNİK PULPAL TEŞHİS	6
2.2.1.1. Ağrının Hikayesi ve Karakteristiği	6
2.2.1.2. Klinik Muayene.....	6
2.2.1.3. Radyografik Muayene.....	7
<i>2.3. SÜT DİŞİ PULPA TEDAVİLERİ</i>	7
2.3.1. Kök Kanal Tedavisinin Amacı ve Aşamaları.....	8
2.3.2. KÖK KANAL MİKROBİYOLOJİSİ	9
2.3.2.1 Kök Kanal Enfeksiyon Evreleri ve Değişen Flora	11
2.3.2.2. E. faecalis'in Özellikleri	13
<i>2.4. KÖK KANAL TEDAVİSİNDE KULLANILAN İRRİGASYON AJANLARI</i>	16
2.4.1. SODYUM HİPOKLORİT	17
2.4.2. EDTA.....	20

2.4.3. Klorheksidin (CHX).....	20
2.4.4. MTAD.....	21
2.4.5. Tetraclean	22
2.4.6. Hidrojen peroksit	22
2.4.7. Kalsiyum hidroksit	22
2.5. <i>FİTOTERAPİK İRRİGASYON AJANLARI</i>	23
2.5.1. Yeşil Çay.....	23
2.5.2. Morinda Citrifolia (Hint Dutu)	24
2.5.3. Propolis	24
2.5.4. Azadirachta indica (Neem) ve Triphala	25
2.5.5. Elma Sirkesi	25
2.5.6. Papain.....	26
2.5.7. KITOSAN	28
2.6. <i>ENTEROCOCCUS FAECALIS İÇİN KULLANILAN BESİYERLERİ</i>	29
2.6.1. Brain Heart Infusion (BHI) Besiyeri.....	30
2.6.2. Mueller-Hinton Agar (MHA) Besiyeri	31
2.6.3. Tryptic Soya Agar (TSA).....	31
2.6.4. Tiyoglikolat Besiyeri	31
2.7. <i>MİKROBİYOLOJİK SAYIM YÖNTEMLERİ</i>	31
2.7.1. DİREKT SAYIM YÖNTEMLERİ	32
2.7.1.1. Bakteri sayımı,	33
2.7.1.2. Froti sayımı (Breed metodu),	33
2.7.1.3. Elektronik Sayım,.....	33
2.7.1.4. Karşılaştırma Usulü.....	33
2.7.2. İNDİREKT SAYIM YÖNTEMLERİ	33
2.7.2.1. Total hacim yöntemi	33
2.7.2.2. Türbidimetrik yöntem	33
2.7.2.3. McFarland tüpleri.....	33
2.7.2.4. Kimyasal metod	34
2.7.2.5. Biyokimyasal metod	34
2.7.2.6. Kuru ağırlık tayini.....	34
2.7.3. KÜLTÜR METODLARI.....	34
2.7.3.1. Dilusyonla sayma	34

2.7.3.2. Lam (Frost) metodu	34
2.7.3.3. Selüloz filtreleri ile sayım	34
2.7.3.4. Roller tüp metodu.....	34
3. <i>GEREÇ VE YÖNTEM</i>	35
3.1. Örnek Sayısının Belirlenmesi	36
3.2. Örneklerin Seçilmesi.....	36
3.3. Örneklerin Hazırlanması.....	38
3.4. Kök Kanallarının Şekillendirilmesi	39
3.5. Kitosan ve Papain İçerikli İrrigasyon Solüsyonlarının MİK Değerlerinin Belirlenmesi ve Solüsyonların Hazırlanması	40
3.6. Örneklerin E. Faecalis ile enfekte edilmesi	44
3.7. İrrigasyon Solüsyonlarının Örneklere Uygulanması.....	46
3.8. İstatiksel Değerlendirme	48
4. <i>BULGULAR</i>	49
5. <i>TARTIŞMA</i>	56
6. <i>SONUÇ VE ÖNERİLER</i>	67
7. <i>KAYNAKLAR</i>	68

KISALTMALAR

E. faecalis : Enterococcus faecalis

A. viscocus : Actinomyces viscocus

S. mutans : Streptococcus mutans

CFU : Colony forming unit

Eh : Redüksiyon Potansiyeli

NaOCl : Sodyum Hipoklorit

EDTA : Etilendiamin tetraasetik asit

CHX : Klorheksidin

Ca(OH)₂ : Kalsiyum Hidroksit

BHI : Brain Heart Infusion

MHA : Mueller Hinton Agar

TSA : Tryptic Soya Agar

µL : Mikrolitre

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 2.1 : Enfekte kök kanalında sıklıkla bulunan mikroorganizma türleri.....	11
Tablo 4.1: Sodyum hipoklorit grubundaki örneklerde <i>E. faecalis</i> miktarı (CFU/ml)	49
Tablo 4.2: Kitosan grubundaki örneklerde <i>E. faecalis</i> miktarı (CFU/ml)	50
Tablo 4.3: Papain grubundaki örneklerde <i>E. faecalis</i> miktarı (CFU/ml)	51
Tablo 4.4: Pozitif kontrol grubundaki örneklerde <i>E. faecalis</i> miktarı (CFU/ml).....	52
Tablo 4.5: Negatif kontrol grubundaki örneklerde <i>E. faecalis</i> miktarı (CFU/ml).....	53
Tablo 4.6: Grupların ortalama <i>E. faecalis</i> miktarını (CFU/ml) gösteren grafik.....	54
Tablo 4.7: <i>E. faecalis</i> miktarında (CFU/ml) istatistiksel olarak anlamlı bulunan veriler ..	55

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Kök Kanalı Enfeksiyonunda Evrelere Göre Bakteri Profili.....	11
Şekil 2.2: Kök kanal tedavisi görmüş dişlerde ikincil enfeksiyonlarda saptanan mikroorganizma prevalansı.....	12
Şekil 2.3: Sodyum hipokloritin dokuyla gerçekleştirdiği saponifikasyon reaksiyonu.....	17
Şekil 2.4: Sodyum hipokloritin aminoasit nötralizasyon reaksiyonu.....	17
Şekil 2.5: Sodyum hipokloritin kloramin reaksiyonu.....	18
Şekil 2.6: Kitinin Deasetiasyonu ile Kitosanın Meydana Gelmesi.....	27
Şekil 2.7: Grafik : Bakteri Büyüme Eğrisi.....	31
Şekil 3.1: Çalışmada kullanılacak olan süt anterior dişler.....	36
Şekil 3.2: Örnek Dişleri Gösteren Radyografiler.....	37
Şekil 3.3: Örnek dişlerin kök uçlarını kapatmak için kullanılan kompozit materyal.....	38
Şekil 3.4: Kök kanallarının şekillendirilmesinde kullanılan kanal aletleri.....	39
Şekil 3.5: Papain İçerikli Kemomekanik Ajan BRIX 300.....	40
Şekil 3.6: Seri dilüsyonların yapılması için solüsyonların aktarıldığı 96 kuyucuklu eliza plağı	40
Şekil 3.7: Sırasıyla kitosan, papain ve asetik asitin farklı konsantrasyonlardaki antibakteriyel etkisi.....	42
Şekil 3.8: Çalışmada kullanılan kitosan materyali.....	43
Şekil 3.9: Solüsyonların hazırlanmasında kullanılan manyetik karıştırıcı.....	43
Şekil 3.10: E. faecalis kültür bulanıklığının Mc Farland standardına göre belirlenmesi.....	44
Şekil 3.11: Prosedürlerin gerçekleştirildiği steril kabin	45
Şekil 3.12: Çalışmada kullanılan vorteks cihazı.....	47
Şekil 3.13: Bakteriyel içeriğin drigalski spatülü ile yayılması.....	47
Şekil 4.1: Sodyum Hipoklorit Grubuna Ait Örnekler.....	49
Şekil 4.2: Kitosan grubuna ait örnekler.....	50
Şekil 4.3: Papain grubuna ait örnekler.....	51

Şekil 4.4: Pozitif kontrol grubuna ait örnekler.....52

Şekil 4.5: Negatif kontrol grubuna ait örnekler.....53



1. GİRİŞ ve AMAÇ

Erken çocukluk çağı çürükleri; önlenabilir bulaşıcı niteliğe ve yüksek prevalansa sahip bir hastalıktır. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerdeki önemli bir halk sağlığı problemidir. Hastalığa sebep olan mikrobiyolojik, beslenme ve ağız hijyeni ile ilgili çok sayıda etken yer almaktadır (1, 2, 3). Diş çürükleri şiddet ve yaygınlık bakımından çocukluk çağı hastalıkları arasında ilk sıralarda yer almaktadır (4).

Süt dişi dizisindeki mevcut çürükler, daimi diş çürük riski açısından da göstergedir. Çürüklerin tedavi edilmediği durumlarda, erken süt dişi kayıpları, maloklüzyon, büyüme gelişme geriliği, beslenme yetersizliği, konuşma problemleri, rampant çürükler, ağrı, iltihap ve apse gibi problemlerle karşılaşılabilir (5).

Süt dişlerinde geri dönüşü olmayan pulpitisin tedavisi için kanal tedavisi veya çekim gerekmektedir. Kanal tedavisi çekime alternatif bir tedavi protokolüdür. Süt dişi kök kanal tedavisinin başarı oranı, %68- %100 arasında bildirilmektedir (4, 5, 6).

Mikroorganizmalar ile ürettikleri metabolizma ürünleri, pulpa ve periapikal dokuda hastalıkların meydana gelmesinde en önemli etkidir. Endodontik tedavi ile kök kanal sisteminin temizlenmesi ve şekillendirilmesinin temel amacı pulpa kaynaklı patolojiyi ortadan kaldırmaktır (7).

Çocuklarda gerçekleştirilen endodontik tedaviler, yetişkinlere uygulanan tedaviden ayrı olarak ele alınmalıdır. Bu nedenle tedavi sırasında pulpaya en az kostik etkisi olan materyaller kullanılmalıdır (8).

Streptokok türü bakteriler, *Treponema*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Capnocytophaga*, *Eikenella*, *Neisseria* gibi birçok bakteri pulpal enfeksiyondan sorumludur. *Enterococcus faecalis* (E. faecalis) fakültatif gram-pozitif anaerobik

mikroorganizma olup, genellikle başarısız kök kanal tedavilerinden izole edilmektedir (9).

E. faecalis yeterli olmayan beslenme koşullarına oldukça dirençlidir ve tek bir mikroorganizma olarak yaşayabilir. Kök kanallarının doldurulmasından önce bakteriyel biyofilmin ortadan kaldırılması önemlidir. Kanal tedavisinde mekanik preperasyon tek başına yetersiz kalmakta, kimyasal irrigasyon ile desteklenmesi gerekmektedir (9, 10).

Kök kanal preperasyonu sırasında yapılan irrigasyon; mikroorganizmaların, metabolizma artıklarının ve smear tabakasının kök kanal sisteminden uzaklaştırılması için gereklidir. Bu işlem sırasında çeşitli irrigasyon ajanları kullanılabilse de, antiseptik ve doku çözücü etkisi nedeniyle altın standart sodyum hipoklorit olarak kabul edilmektedir. Ancak periapikal dokularda oluşturduğu toksik etki, süt dişlerinin altında yer alan daimi diş germelerinde olumsuz etkilere neden olabilmektedir. Bu nedenle çocuk diş hekimliğinde alternatif irrigasyon ajanı arayışı devam etmektedir (11).

Tıbbi uygulamalar ve diş hekimliğinde toksik olmayan ve güvenli içerikleri nedeniyle doğal içerikli materyallerin kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Kitosan ve papain yüksek biyoyumluluk ve düşük toksisite özelliklerine sahip olan doğal içerikli moleküllerdir. Geniş spektrumlu antibakteriyel özellik, bakteriyel kolonizasyonunun engellenmesi gibi etkileri sayesinde mevcut irrigasyon solüsyonlarına alternatif olabilecekleri düşünülmektedir (12).

Bu çalışmanın amacı doğal içeriğe sahip kitosan ve papain içerikli irrigasyon solüsyonlarının *E. faecalis*'e karşı etkilerini incelemek ve bu solüsyonların etkinliklerini endodontik tedavide en sık kullanılan solüsyon olan sodyum hipoklorit ile karşılaştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 SÜT DİŞLERİNDE PULPA VE PERİAPİKAL DOKU PATOLOJİLERİ

Sağlıklı diş dokusunda pulpa ve dentin kompleksi, mine dokusu ile korunmaktadır. Çürük, travma benzeri dış etkenler ile mine dokusunun devamlılığı bozulabilir. Uygun tedavi gerçekleştirilmediğinde, derin çürüklerdeki mevcut mikroorganizmalar dentin tübülleri yoluyla diş pulpasını etkilemektedir (13).

Pulpa patolojileri; geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz pulpitis, ülseratif, hiperplastik pulpitis ve nekroz şeklinde sınıflandırılmaktadır (14).

2.1.1. Geri Dönüşümlü Pulpa İltihabı(Reversibl Pulpitis)

Dentin hassasiyeti dahil olmak üzere, pulpanın erken dönem iltihap evresindeki değişiklikler reversible pulpitis olarak adlandırılmaktadır. Bu dönemde genellikle sıcak, soğuk gibi uyarılara kısa süreli tepkiler verilmekte ya da herhangi bir semptom görülmemektedir. Geri dönüşümlü pulpitisler dentin hipersensitivitesi ve pulpa hiperemisi şeklinde görülmektedir (15).

Geri dönüşümlü pulpitiste ağrı kendiliğinden oluşmaz, dışarıdan uyarana gereklidir. Meydana gelen ağrı kısa sürmekte ve uyarana kaldırıldığında ortadan kalkmaktadır. Dişin radyografisinde periodontal aralık ve lamina dura sağlıklı görünmektedir. Diş perküsyona negatif yanıt verir. Bu dişlerde kök kanal tedavi ihtiyacı görülmez (16).

2.1.2. Geri Dönüşümsüz Pulpa İltihabı (İrreversible Pulpitis)

Çürüğün dentinde ilerlediği, mikrobiyolojik faktörlerin daha baskın olduğu ve böylece şiddetli inflamasyon yanıtının görüldüğü patolojik durumdur. Pulpada soğuk, sıcak gibi bir dış uyarana bağlı gelişen ya da kendiliğinden oluşan spontan

ağrılar meydana gelmektedir. Geri dönüşümsüz pulpitis, semptomatik veya asemptomatik olarak sınıflandırılmaktadır. Asemptomatik irreversible pulpitis derin çürüklü ve ileri madde kaybı görülen ancak semptomu olmayan dişleri ifade ederken; semptomatik irreversible pulpitis ise acil tedavi gerektiren ağrı semptomu ile ilişkilendirilmektedir (17).

Dişin radyografisinde periodontal aralık sağlıklı görülebilir veya ilerleyen evrelerde bağ dokusunda meydana gelen iltihabi değişimlere bağlı olarak hafif bir genişleme gözlenebilmektedir. İltihabi değişimlere bağlı olarak artan basınca bağlı perküsyona hassasiyet meydana gelmektedir. Dişin termal uyaranlara bağlı cevabı reversible pulpitisli dişlere benzer ancak uyaran kalktığında ağrı devam etmektedir. Semptomatik irreversible pulpitisli dişler, kök kanal tedavisi ihtiyacı göstermektedir (18).

2.1.3. Ülseratif ve Hiperplastik Pulpitis

Pulpa odasının çürük etkisiyle açılması ile diş dokusunun ülser bölgesi ile kendini koruduğu patolojik duruma ülseratif pulpitis denilmektedir. Pulpa açılmasının, hacim olarak artan, pulpa polibi olarak adlandırılan granülasyon dokusu ile korunduğu durum ise hiperplastik pulpitistir (19).

Ülseratif ve hiperplastik pulpitis, bağ dokusunun hafif düzeyli iritanlara karşı gösterdiği iltihabi reaksiyonlardır. Proliferatif etkinliğin ön planda olduğu tabloda, eksüdatif cevap ve pulpa içi basınç azalmaktadır. Bu nedenle çoğunlukla ağrı görülmemektedir. Her iki durumda da pulpada kronik lezyon gözlenmekte, kök kanal tedavisi ihtiyacı bulunmaktadır (20).

2.1.4. Pulpa Nekrozu

Pulpada oluşan akut veya kronik bir lezyon ya da travmaya bağlı olarak meydana gelen dolaşımın aniden kesilmesi ile oluşan tablodur. Pulpa dokusunda etkilediği alana göre parsiyel veya total olabilir (15, 20).

Nekroz dişlerde ağrı ve perküsyona hassasiyet görülmemekte ancak apikal periodontitisin eşlik ettiği durumlarda semptomlar görülebilmektedir. Radyografik

incelemelerde diş normal görünmektedir. Vitalite testlerinde yanıt alınamaz ancak uzun süreli sıcak uygulanan nekrozlu dişlerde ağrı olduğu görülmektedir. Nekroz olan ölü dokunun uzaklaştırılması gerekir, bu nedenle bu dişlerde kök kanal tedavi ihtiyacı bulunmaktadır (20, 21).

2.1.5. Semptomatik/Asemptomatik Apikal Periodontitis

Semptomatik (akut) apikal periodontitis, pulpal enfeksiyonun apikal, lateral veya furkal kanallar aracılığıyla periradiküler bölgeye ulaşması ile oluşan inflamatuvar tablodur. Genellikle pulpa irreversible pulpitis veya nekrotik durumdadır. Periradiküler bölgedeki artan basınca bağlı olarak, baskıda şiddetli ağrı meydana gelmekte, bölgede dolgunluk hissi oluşmaktadır. Alınan radyografide periodontal aralık hafif genişlemiş şekilde izlenirken, ilerleyen evrelerde geniş radyolusent görünüme dönüşmektedir (14, 15).

Kök kanallarında mevcut olan inflamatuvar yanıtın elimine edilmediği durumlarda, konağın adaptasyonu ile karakterize klinik durum ise asemptomatik apikal periodontitis olarak adlandırılmaktadır. Dişte şiddetli periapikal doku kaybı yaygın olarak gözlenmektedir. Fistül ile ilişkili apse ve selülit görülebilmektedir. Her iki klinik durumda da kök kanal tedavi ihtiyacı bulunmaktadır (14, 19).

2.1.6. Apikal apse

Apikal apse, ilerleyen lezyonun periapikal dokularda harabiyet oluşturduğu şiddetli iltihabi tablodur. Çiğneme ve perküsyon sırasında ağrı ve diş köküne komşu diş etinde palpasyonda hassasiyet görülmektedir. Enfeksiyonun durumuna göre değişen şiddette rahatsızlık hissi ve şişlik olabilmektedir. Kronikleşmiş durumlarda belirtilen semptomlar görülmez. Ağız içi veya dışına açılan fistül mevcudiyetinde şişlik oluşmamaktadır. Kronikleşmiş dişlerde alınan radyografide kemik yıkımı izlenebilmektedir. Apikal apseli dişlerde kök kanal tedavi ihtiyacı bulunmaktadır (19, 21, 22).

2.2. PULPA HASTALIKLARINDA TEŞHİS VE TEDAVİ

2.2.1. KLİNİK PULPAL TEŞHİS

Endodontik tedavi prosedürlerinde doğru ve etkili tedavinin yapılabilmesi için pulpanın histopatolojik durumunu tam olarak belirlemek büyük önem taşımaktadır. Klinik ve radyolojik değerlendirmeler büyük önem taşımaktadır. Bunların yanında doğru olarak ağrının karakteristiğini sorgulamak, tıbbi hikaye alınması gibi yardımcı yöntemler de gerekir (23).

2.2.1.1. Ağrının Hikayesi ve Karakteristiği

Ağrının hikayesi pulpanın durumunu değerlendirmede büyük önem taşımaktadır ancak her zaman güvenilir bir kriterdeğildir. Özellikle küçük yaş çocuklarda, çocuğun semptomu tanımlayamaması problem teşkil etmektedir. Bazen diş apse durumuna kadar geldiği halde çocukta reaksiyon gözlenmediği bildirilmiştir (24).

Özellikle diş hekimi ağrının provoke ya da spontan olduğu hakkında ayırt edici sorular sormalıdır. Pulpa hiperemisinde ağrılar kısa süreli, sıcak ya da soğuk gıdalar alınmasıyla başlayan karakterdedir. Pulpanın tedavi edilmesinin gerektiği pulpitis ağrıları ise saatlerce süren, giderek artan şiddette ve kendiliğinden meydana gelmektedir. Çocuk hastada pulpa kaynaklı olmayan ancak ayırıcı tanı için bilinmesi gereken durumlar da mevcuttur. Gıda retansiyonuna bağlı oluşan ve septal ağrı olarak tanımlanan problem, taşkın dolgu ve dişlenme ağrısı bu durumlara örnek gösterilebilir (25).

Ana şikayet ve ağrının hikayesi doğru tanı konulması ve uygun tedavinin gerçekleştirilebilmesi için önemli faktörlerdendir. İlave olarak tam bir tıbbi anamnez alınması da oldukça önemlidir (24, 25).

2.2.1.2. Klinik Muayene

Dikkatli bir şekilde gerçekleştirilen ağız içi ve dışı muayene, pulpası etkilenmiş dişin tanısında büyük önem taşımaktadır. Vestibülde görülen şişlik, iltihabi drenaj veya ileri kron harabiyeti gösteren dişler pulpal harabiyetin belirtilerindendir. Yapılan mobilite değerlendirmelerinde, ileri mobilite gösteren dişlerde şiddetli destek kemik kaybı olduğu anlaşılabilmektedir. Yaygın pulpal harabiyet gösteren dişler, dikey

perküsiona hassasiyet göstermektedir. Çocukta perküsyon değerlendirmesinin hafif parmak baskısı ile yapılması daha uygundur (26).

Dişte meydana gelen gri-siyahrenklenmeler dişte nekroz olduğunun göstergesidir. Bu durumda travma veya pulpitis hikayesinin mevcudiyeti unutulmamalıdır. Çürükle perforasyonun oluştuğu klinik durumlarapulpa iltihabı eşlik etmektedir (27).

Sıcak veya soğuk testi gibi ısıya hassasiyetin belirlendiği ve elektrikli pulpa testleri gibi klasik vitalite testlerinin süt dişlerinde nadiren doğru sonuç gösterdiği bilinmektedir (27, 28).

2.2.1.3. Radyografik Muayene

Klinik muayene ardından bir bitewing, periapikal veya panoramik film ile radyografik muayenenin yapılması gerekmektedir. Süt dişlerinde pulpal patolojiye eşlik eden interradyiküler lezyonlar bitewing radyografiler ile teşhis edilebilmektedir. Ayrıca kök ucu bölgesinin de incelenmesi için ilave periapikal film alınabilir. Panoramik filmde etkilenen dişin lamina durası, karşıt arktaki simetrik diş ile karşılaştırılmalıdır (29).

Çocuk hastalarda geniş kemik iliği bölgeleri, gelişmekte olan diş jermelerinin süperpozisyonları, dişlerin doğal rezorpsiyon süreçleri gibi radyografi yorumlamada zorluk çıkarabilecek faktörler de göz önünde bulundurulmalıdır (30).

2.3. SÜT DİŞİ PULPA TEDAVİLERİ

İndirekt kuafaj, direkt kuafaj, amputasyon ve kök kanal tedavisi, süt dişlerindeki pulpa tedavi prosedürlerini oluşturmaktadır. Bu tedavilerle; çürük, travma, enfeksiyon gibi nedenlerle etkilenmiş pulpaya müdahale edilerek, kalan diş yapısı korunmaktadır. Süt dişlerinde pulpa tedavilerinin amaçlarını şu şekilde sıralayabiliriz:

- ✓ Süt dişlerinin kökleri rezorbe oluncaya kadar diş arkında işlevlerinin devamını sağlamak
- ✓ Çiğneme fonksiyonunu kazandırmak
- ✓ Dişin destek dokularının bütünlüğünü ve sağlığını korumak

- ✓ Alttaki daimi diş için yer tutmak
- ✓ Altında daimi diş olmayan süt dişlerini korumak
- ✓ Fokal enfeksiyon riskini ortadan kaldırmak
- ✓ Alttaki diş jerminin anormal sürmesini önlemektir (31).

2.3.1. Kök Kanal Tedavisinin Amacı ve Aşamaları

Kök kanal tedavisinin temel hedefi, enfeksiyon kaynağı olan bakteri ve ürünleri ile enfekte olmuş pulpa dokusunu uzaklaştırmaktır. Bunun için kök kanalının kemomekanik şekilde temizlenmesi, şekillendirilmesi, ardından kanalın biyolojik özelliğe sahip materyal ile eksiksiz bir şekilde doldurulması gerekmektedir. Tedavinin başarılı olarak kabul edilebilmesi için tüm tedavi aşamalarının dikkatli bir şekilde uygulanması gerekmektedir (32).

Lokal anestezi uygulamasından sonra, yüksek turlu el aleti ile giriş kaviteleri hazırlanmaktadır. Giriş kavitesi hazırlanırken tüm çürük ve defektif restorasyonlar uzaklaştırılmalıdır. Giriş kavitesi ile kanallara direkt giriş sağlanabilmeli ve tüm kanal girişleri lokalize edilebilmelidir (32, 33).

Giriş kavitesi açıldıktan sonra diş rubberdam ile izole edilir. Kanal ağzları bulunduğundan sonra, pulpa tirnerf ile ekstirpe edilir. Çalışma boyu belirlenmeden önce giriş kavitesi, pamuk peletlerle iyice kurutulmalıdır. Çalışma boyu tespit edildikten sonra belirlenen boyutta kemomekanik şekillendirme yapılır. Kök kanallarının preparasyonu ile köklere mekanik olarak şekil verilirken, kanal içerisindeki nekrotik sert ve yumuşak dokular uzaklaştırılarak mekanik temizleme işlemi yapılır (34).

Kökün temizlenip şekillendirilmesi sırasında sadece mekanik enstrümantasyon yeterli değildir. Kanal eğelerinin ulaşamadığı düzensiz alanların temizlenmesi amacıyla irrigasyon yapılmaktadır. Bu işlem kanaldaki vital ve nekrotik pulpa artıklarının uzaklaştırılması ve dezenfeksiyonun sağlanması gibi faydalar da sağlamaktadır. Kemomekanik aşama sonrasında kök kanal sisteminin anatomik sınırları içerisinde kök kanal dolgusu yapılmaktadır. Kronun daimi restorasyonu ile endodontik tedavi prosedürleri tamamlanmaktadır (33, 35).

2.3.2. KÖK KANAL MİKROBİYOLOJİSİ

Mine ve sement gibi diş sert dokuları ile çevrili pulpa dokusu, dış faktörlerden korunan bir yapıdır. Mine dentin kompleksinde oluşan çürük dokusu ile dentin tübülleri aracılığıyla gelen mikroorganizma ve ürünleri pulpa dokusunun iltihaplanmasına neden olabilir. Erken dönemde virülansın düşük olması nedeniyle; pulpa, savunma mekanizmaları sayesinde sağlıklı kalabilmektedir (36, 37, 38).

Kök kanalına ulaşarak hastalık yapabilen mikroorganizmaların büyük çoğunluğunu bakteriler oluşturmaktadır. Bakteriler pulpaya çeşitli yollardan ulaşarak enfeksiyona neden olabilmektedir. Bu yollardan en sık görüleni çürük kavitesinin tabanından pulpaya ulaşma şekli olan koronal yoldur. Çürük lezyonunun pulpaya mesafesi 0,8 mm'den daha fazla olduğunda herhangi bir patoloji görülme olasılığı azken, mesafe 0,3 mm'den daha az olduğundarısk artmaktadır (36, 38, 39). Pulpa patojenlerinin genişleyen periodontal aralık yoluyla, dişin apikal forameninden pulpaya ulaşması ise retrograd yol olarak adlandırılmaktadır. Vücudun herhangi bir bölgesinden, bakteriyemi sonrası dolaşıma geçen bakterinin kan yoluyla pulpaya ulaşması da hematogen yoldur (38, 40).

Ağız florasında 700'den fazla çeşit bakteri bulunmaktadır. Bu bakteri türleri arasında küçük bir kısım pulpal enfeksiyondan sorumludur. Kök kanal enfeksiyonu polimikrobiyal özelliğindedir. Enfekte kök kanallarından 3-12 arasında değişen bakteri türüne ait 103-107 bakteri izole edilmiştir. Enfekte kök kanalında 10^2 ile 10^8 (CFU/ml) arasında bakteri mevcuttur (41). Bakteriler oksijen ihtiyaçlarına göre aerob, fakültatif anaerob ve zorunlu anaerob olarak sınıflandırılmaktadır. Bir ortamda yaşayabilmek için oksijene gerek duyan bakteriler aerob, oksijen varlığında daha hızlı çoğalabilen ama oksijensiz ortamda da yaşayabilenler fakültatif anaerob ve oksijensiz ortamda yaşayabilenler ise zorunlu anaerob olarak isimlendirilmektedir (42).

Kök kanallarındaki enfeksiyon dinamik bir süreçtir, enfeksiyonun farklı evrelerinde farklı baskın türler mevcuttur. Enfeksiyonun başlangıç aşamasında fakültatif bakteriler etkin rol oynamaktadır. Pulpanın nekroz olması ve kök kanal sisteminde oksijen kaynaklarının azalmasına bağlı olarak enfeksiyonun ileri evrelerinde anaerob

bakteriler ortama hakim olur. Enfekte pulpadan alınan örneklerde zorunlu anaerobların baskın olduğu, fakültatif anaeroblarındaha az görüldüğü ve nadir olarak da aerobların izlendiği belirtilmektedir (13, 43).

Tablo 2.1 : Enfekte kök kanalında sıklıkla bulunan mikroorganizma türleri (36)

Gram (-) koklar	Gram (-) çubuklar	Gram(+) koklar	Gram (+) çubuklar
Anaerobik Bakteriler			
Veillonella	Prevotella	Peptostreptokoklar	Eubacterium
	Porphyromonas		Bifidobacterium
	Bacteroides		Clostridium
	Fusobacterium		Propionibacterium
	Campylobacter		Lactobacillus
	Selenomonas		Actinomyces
	Treponema		
Fakültatif ve aerobik bakteriler			
Neisseria	Actinobacillus	Streptococcus	Propionibacterium
	Haemophilus	Gemella	Lactobacillus
	Eikenella	Enterococcus	Actinomyces
	Capnocytophaga	Staphylococcus	Bacillus
	Enterobacter	Micrococcus	Corynebacterium
	Klebsiella		
	Escherichia		
	Citrobacter		
	Pseudomonas		
	Xantomonas		
	Proteus		

Derin çürüklü ve pulpanın klinik olarak reversible pulpitis evresinde olduğu dişlerde floraya; *Streptokoklar*, *Laktobasiller*, *Actinomycesler* ve bazen de *Peptostreptokoklar* hakimdir (44).

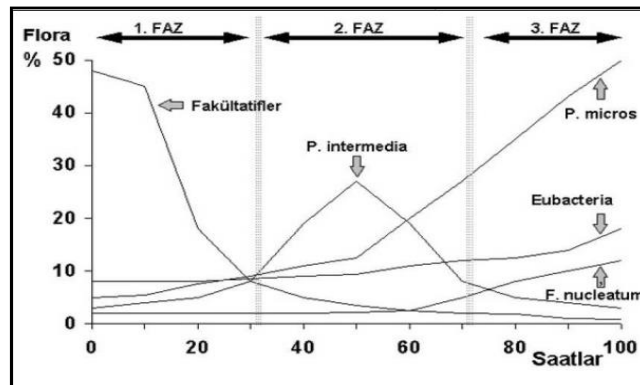
Lezyonun ilerlemesiyle pulpaya ilk ulaşan bakteriler karyojenik özelliktedir ve floraya streptokoklar hakimdir. Yapılan çalışmalarda steril pulpaya inoküle olan streptokokların, pulpitis gelişimi için yeterli olmadığı gösterilmiştir. Pulpaya bakteri invazyonundan sonra tamamen yayılım, birkaç günde gerçekleşmektedir. Pulpa odasına giren bakteriler merkezden gitmek yerine dentin duvarını izlemektedir (44, 45).

Reversible pulpitis evresinden sonra, özellikle ağrı gibi klinik şikayetlerin gerçekleştiği aşamada *Porphyromonas* ve *Prevotella* üyelerinin floraya katıldığı bilinmektedir. Buna bağlı olarak pulpitis ağrısından bu bakterilerin sorumlu olduğu düşünülse de Massey ve ark., çalışmalarında böyle bir ilişki belirleyememişlerdir (45).

2.3.2.1 Kök Kanal Enfeksiyon Evreleri ve Değişen Flora

Bakterilerin kök kanallarına henüz ulaşabildiği veya ulaşamadığı evre olan karbonhidrat fermentasyon fazında temel şikayet ağrıdır ve pulpa akut pulpitis evresindedir. Bu dönemde floraya hakim olan bakteriler; sakkarolitik ve fakültatif özelliktedir ve anaeroblar ortamda çok az sayıdadır veya yoktur. Pulpa dokusunda yıkım başlamıştır ve öncelikli besin kaynağı olarak karbonhidratlar kullanılmaktadır. Bu dönemdeki klinik bulgu olan ağrı pulsatif özelliktedir ve gece artış gösterir (43, 46).

Bakteriler kanal ağızlarına ulaştıkları zaman, kron pulpasında sayıları logaritmik olarak artmış ve en yüksek virülansa ulaşmıştır. Kron pulpasının merkezinde sınırlı ve dolaşımın etkilenmediği bir alan hala bulunmaktadır ancak kök pulpasında venöz staz başlamıştır. Kök kanalında yayılım gösteren bakteriler, bukkal/vestibül ve lingual duvar boyunca kümelenmiş bir şekildedir. Bu nedenle kök kanallarında mekanik preparasyon yapılırken bu yüzeylerde daha etkin genişletme yapılmasına dikkat edilmelidir (44, 47).



Şekil 2.1: Kök Kanal Enfeksiyonunda Evrelere Göre Bakteri Profili (47)

Birinci evrenin sonuna doğru karbonhidratlar pulpada azalmış ve enerji kaynağı olarak glikolipit ve proteinler tercih edilmeye başlamıştır. Sadece sakkarolitik bakterilerin sayısı azalırken; pulpada hem sakkarolitik hem proteolitik bakteriler egemen olmuşlardır. Bu dönemde *Bacteroides pneumosintes*, *Bacteroides ureolyticus*, *Prevotella denticola*, *Prevotella buccae* ve bazı *Eubacterium* türleri görülmektedir, floraya baskın olan *Prevotella* grubuna ait türlerdir (44, 47).

Enfeksiyonun ikinci evreye ulaştığı kök pulpasında kan dolaşımının durması veya yavaşlamasına bağlı olarak miktarı giderek artan toksin maddeler venöz ve lenf yoluyla periapikale taşınmaktadır. Pulpada giderek azalan redüksiyon potansiyeli nedeniyle, ekolojik çevre sadece anaerob türlerin yaşamasına uygun hale gelmektedir (47, 48).

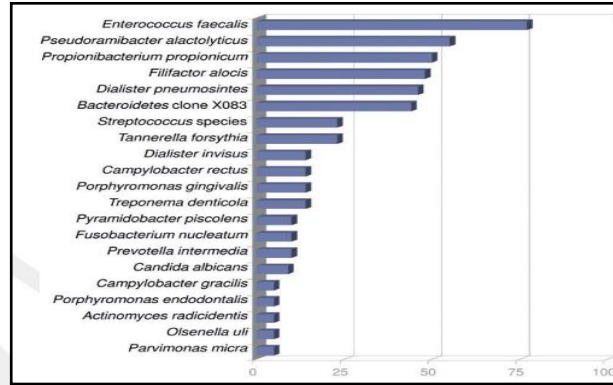
Akut pulpitisle ilişkilendirilen ikinci evreden saatler sonra (yaklaşık 100 saat) Protein Fermentasyon Evresi (3. Evre) gelmektedir. Bu evredeki dişte inflamasyon kalıcıdır ve klinik tablo olarak kronik periapikal lezyonun olduğu döneme denk gelir. Tüm pulpal hücreler ve sinir lifleri dejenere olduğundan ağrı semptomu ortadan kalkmaktadır (44, 47, 49).

Bu dönemde baskın olan bakteriler; *Actinomyces*, *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Porphyromonas*, *Selenomonas*, *Veillonella*, *Wolinella* ve spiroketlerdir (49).

Kök kanalının yukarıda anlatılan birincil enfeksiyonu sonrası, tekrarlayan inatçı enfeksiyonlar meydana gelebilmektedir. İkincil enfeksiyonlarda daha az sayıda bakteri türü mevcuttur ve fakültatif anaeroblar floraya hakimdir. Kök kanal tedavisi sırasında uygulanan kemomekanik preperasyon, birincil enfeksiyondan sorumlu bakterilere karşı etkili olmaktadır (11). Ancak standart prosedürlere karşı direnç gösteren, inatçı enfeksiyonlara *streptokoklar*, *Actinomyces* türleri, *Propionibacterium* türleri, *P. alactolyticus*, *laktobasiller*, *E. faecalis*'in neden olduğu belirtilmektedir (50).

Bu bakteriler arasında hakkında en çok tartışılan gram pozitif kok grubuna ait, oluşturduğu biyofilm yapısı ile inatçı enfeksiyonlar ve periradiküler lezyonların gelişiminde rol oynadığı bilinen *E. faecalis*'tir. Pulpanın primer enfeksiyonunda 1.

Evreden sonra sayısı hızla azalan *E. faecalis* daha çok sekonder enfeksiyonlarda floraya hakim olmaktadır. Yapılan çalışmalarda kök kanal tedavisi görmüş dişlerde %90 oranda izole edildiği bildirilmiştir. Ayrıca kanal tedavisi yapılmış diş köklerindeki *E. Faecalis* miktarı, birincil enfeksiyonlara göre dokuz kat daha fazladır (51,52).



Şekil 2.2: Kök kanal tedavisi görmüş dişlerde ikincil enfeksiyonlarda saptanan mikroorganizma prevalansı (47)

2.3.2.2. *E. faecalis*'in Özellikleri

- ✓ *E. faecalis*; gram pozitif, fakültatif anaerob özelliği ile oksijen varlığında ve yokluğunda yaşayabilen, insan ağız ve bağırsak florasında doğal olarak bulunan D grubu streptokok (enterokok) bakteridir.
- ✓ Karbonhidrat, gliserin, laktat, malt, sitrat, arginin, agmatin gibi birçok α keto asit şeklinde farklı enerji kaynaklarını metabolize etmektedir. Kullandıkları karbonhidratları aside dönüştürerek, ortamın asidite seviyesini 4,1-4,6'ya kadar düşürebilirler.
- ✓ 10° C ile 45° C, % 6,5 tuzluluk oranı ve yüksek ve düşük pH'a sahip ortamlar gibi zor koşullarda yaşayabilmektedir (53). Ayrıca safra asitleri, sodyum dodesil sülfat gibi deterjanlar, ağır metaller, alkol, hiperosmolarite, asidite ve alkalite gibi pH değişimleri karşısında dirençlidir. 60° C'ye sahip ortam sıcaklığında 30 dakika boyunca varlığını sürdürebilmektedir (54).
- ✓ Tek başına, çiftler halinde veya küçük zincirler halinde bulunurlar. İdrar yolu ve karın boşluğu enfeksiyonları ile endokardite sıklıkla sebep olduğu

bilinmektedir. Diş hekimliğinde ise periradiküler lezyonların gelişiminde büyük role sahiptir (55, 56).

E. faecalis'in kök kanallarında dirençli bir şekilde yaşamasına olanak sağlayan özel virülans faktörleri şu şekildedir:

- ✓ Kalsiyum hidroksit gibi medikamanlar ve irriganların varlığında kalıcılığını sürdürebilmektedir.
- ✓ Kök kanal yüzeyinde biyofilm oluşturma ve diğer bakteri türleri ile kümelenme yeteneğine sahiptir (57). Biyofilm yapısı polisakkaritler, protein, lipid ve kalıtsal materyalden meydana gelmiştir. Biyofilm oluşumu bakterinin değişen kök kanallarındaki şartlara adaptasyonunu kolaylaştırmakta ve yüksek doz mikrobiyal ajana direncini artırmaktadır. Biyofilmin, bakterinin antikor, fagositoz ve antimikrobiyallere karşı 1000 kat daha fazla direnç sağladığı bilinmektedir (55, 57).
- ✓ Yüzey yapısını meydana getiren salgı faktörleri, adezin ve polisakkarit kapsül gibi çoklu virülans faktörlerine sahiptir. Bu virülans faktörlerinin en önemlileri; agregasyon maddesi, sitozolin, jelatinaz, enterokok yüzey proteinleri, ekstraselüler süperoksit üretimi, hyalüronidaz ve AS-48' dir (58). Agregasyon maddesi hücre zarında yer alır ve protein yapısındadır. *E. faecalis* ile diğer bakteri türleri arasında materyal alışverişini sağlarken aynı zamanda konak hücreye bağlanmayı kolaylaştırmaktadır. Sitozolin, *E. faecalis* tarafından üretilen bir toksindir ve eritrositlerin, nötrofillerin ve makrofajların parçalanmasını sağlamaktadır. Bakterilerin yalnızca %16-60'sında görülmektedir ve değişen oksijen koşullarına karşı adaptasyonu sağlamaktadır (59).
- ✓ Jelatinaz çinko içerikli hücre dışı bir metalloproteinazdır ve kollajen ile fibrinojen gibi yapısal maddeleri parçalamaktadır. Temel görevi mikroorganizmaya peptit besinlerini sağlamak olsa da, biyofilm oluşumu ile dentine bağlanmayı kolaylaştırdığı bilinmektedir. Enterokok yüzey proteinleri yüksek molekül ağırlıklı, kök yüzeyine birincil adezyonu ve biyofilm oluşumunu sağlayan virülans faktörüdür (58, 59).

- ✓ *E. faecalis*'in ürettiği anyonik özellikli süperoksit radikali lipid, protein ve kalıtsal materyal gibi biyolojik yapılara zarar vermektedir. Hyalüronidaz enzimi, bağ dokusu komponentlerine hasar vererek bakteri istilasını sağlamaktadır. Periapikal bölgedeki doku yıkımının ve ilişkili enfeksiyonun hyalüronidaz ile ilişkisi belirtilmektedir. As-48, *E. faecalis*'in belirli suşları tarafından üretilen düşük molekül ağırlıklı bir peptittir. Bu molekülün çoğu gram pozitif ve birçok gram negatif bakteriye karşı inhibitör aktivitesi bulunmaktadır. Konak dokuların membran geçirgenliğini artırıp iyon geçişini sağlamakta ve depolarizasyona neden olmaktadır (59, 60).
- ✓ Yetersiz besin kaynaklarına sahip ortamlara uyum sağlayabilmektedir. Dentin kanalcıklarına yerleşen bakteriler kemik ve periodontal ligament gibi çevre dokularından gelen serumu besin kaynağı olarak kullanabilir. %50 serum varlığında 4 ay kadar kök kanallarında yaşayabilen bakteri; serum mevcudiyeti %1 olduğunda dahi kök kanallarında varlığını koruyabilir. Aynı zamanda tübüler sıvıları metabolize ederek kollajene adezyonunu sağladığı bildirilmiştir (57, 59).

E. faecalis'in belirtilen özellikleri dirençli enfeksiyonlardan en çok izole edilen tür olmasını açıklamaktadır. Aynı zamanda yapılan çalışmalarda, enfeksiyonun başlangıç aşamasında dentin tübüllerine penetrasyonunun 300-400 µm olduğu belirtilirken; bu miktar ilerleyen aşamalarda ise 800-1000 µm'ye ulaşmaktadır. Bu durum bakterinin, kemomekanik prosedürlerden kaçınmasına olanak sağlamaktadır (61).

Başarısız kök kanal tedavilerinden primer lezyonlara göre daha çok izole edilen *E. faecalis*, inatçı endodontik enfeksiyonlarla ilişkilendirilmiştir. Yapılan çalışmalarda, primer lezyonlarda %2 ila %82 ; başarısız kök kanal tedavilerinde ise %8 ila %77 oranında görüldüğü bildirilmiştir. Bu durumun nedeninin; tek bir organizma halinde iken kök kanalında varlığını sürdürebilmesi, açlığa karşı dirençli olması ve dentin kanallarına yüksek penetrasyon yeteneğine sahip olması ile ilişkilendirilebilir. Bu nedenle farklı kök kanalı yıkama solüsyonu, medikaman ve patların antimikrobiyal etkinliklerini değerlendirmek için sıklıkla tercih edilmektedir (53, 55, 56).

2.4. KÖK KANAL TEDAVİSİNDE KULLANILAN İRRİGASYON AJANLARI

Kök kanal tedavisinin başarılı olmasında, bakteri ve ürünlerinin kök kanallarından etkili bir şekilde uzaklaştırılması önemlidir. Kök kanallarının temizlenmesinde mekanik işlemler tek başına yetersiz kalmaktadır. Bakteriler ve yan ürünleri; isthmus, kök dallanmaları, ana kanalla ilişkili lateral ve aksesuar kanallar gibi temizlenmesi zor alanlardan yalnızca irrigasyon solüsyonları aracılığıyla uzaklaştırılabilmektedir (62). Yapılan bir çalışmada, preperasyon tekniği ne olursa olsun, kanal eğelerinin kanalın %35'lik bir kısmına temas ederek temizleme yapamadığı gösterilmiştir (63).

Ayrıca bakterilerin dentin tübüllerinde 300 µm derinliğe ulaşan penetrasyon kabiliyetleri de bildirilmiştir. *E. faecalis* dirençli enfeksiyonlardan sorumlu ilk akla gelen mikroorganizma olup, penetrasyon yeteneğinin daha fazla olduğu (500 µm) gösterilmiştir (61).

Kanal şekillendirilmesi sırasında ortaya çıkan pulpa ve dentin kaynaklı, organik ve inorganik içeriğe sahip, düzensiz ve amorf yapıda smear olarak adlandırılan bir tabaka oluşmaktadır (64). Smear tabakasının avantaj ve dezavantajları hala tartışılmaktadır. Bariyer görevi görerek, bakterilerin dentin tübüllerine adezyonunu engellediği bazı araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (61). Smear tabakasının dezavantajları ise bakteri ve nekrotik doku içermesi, dolgu materyali ve patlar ile dentin arasında penetrasyonu engelleyerek, mikrosızıntıyı arttırmasıdır. Kök kanal tedavisinin başarılı olması için, smear tabakasının kök kanallarından kaldırılmasının gerekliliği bildirilmiştir (64, 65).

İrrigasyon ajanları, kök kanalının dezenfeksiyonunu sağlama, mekanik işlemler için lubrikant etki gösterme, kanal sistemindeki organik ve inorganik içeriğin uzaklaştırılmasını sağlama gibi etkileri ile kanal tedavisinde gerekliliği kanıtlanmış materyallerdir (66).

İrrigasyon solüsyonların da olması istenilen özellikler şöyledir:

- ✓ Kök kanal biyofilmini oluşturan mikroorganizmalara etki edebilmeli ve etki gücü yüksek olmalı,

- ✓ Bakterilerin ürettikleri yan ürünler olan endotoksinleri inaktive edebilmeli,
- ✓ Mekanik kanal şekillendirilmesi sırasında oluşan smear tabakasını çözerek uzaklaştırabilmeli,
- ✓ Nekrotik pulpa dokusu gibi organik dokulara etki edebilmeli,
- ✓ Periodontal dokular için toksik etki göstermemeli,
- ✓ Kök kanal sisteminin tüm alanlarına etki edebilmesi için yüzey gerilimi düşük olmalı,
- ✓ Sistemik etki göstermemeli,
- ✓ Alerjik reaksiyonlara neden olmamalı,
- ✓ Kök kanal aletleri için lubrikant etki göstermeli,
- ✓ Kök kanal dolgu materyallerinin dentin ile adezyonuna etki etmemeli,
- ✓ Dişlerde renklenme oluşturmamalı,
- ✓ Ucuz olmalı ve hazırlanması, saklanması, kullanımı kolay olmalıdır (67, 68)

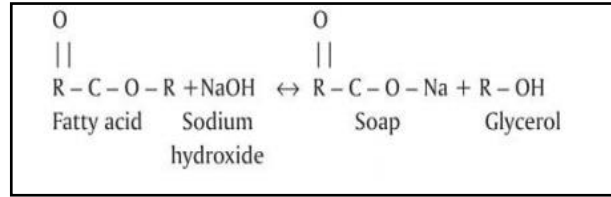
Kök kanal tedavisinde en sık kullanılan irrigasyon solüsyonları; sodyum hipoklorit, etilendiamintetraasetik asit, klorheksidin, MTAD, tetraclean, hidrojen peroksit, kalsiyum hidroksit'tir.

2.4.1. SODYUM HİPOKLORİT

Sodyum hipoklorit, organik dokuları çözme yeteneği ve güçlü antibakteriyel etkisi sayesinde 90 yıldan fazla süredir irrigasyon ajanı olarak kullanılmaktadır. Hipoklorit irrigasyonunun; spor ve virüslerde etkili olması, nekrotik dokuları çözme özelliği, lubrikasyon etkisi, düşük viskozitesi, dentin duvarlarına rahatça diffüze olabilmesi, maliyetinin düşük olması ve kolay bulunabilmesi gibi çeşitli avantajlara sahip olması, en sık tercih edilen ajan olmasının en büyük sebeplerindendir (68).

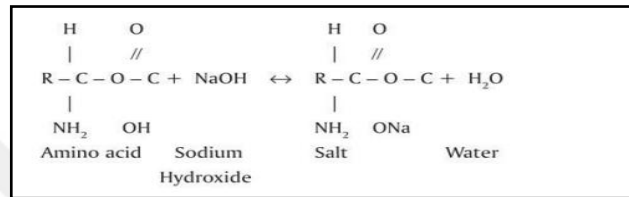
Hipokloritin organik doku üzerindeki etkisi, meydana getirdiği üç reaksiyon ile gerçekleşmektedir.

1- Saponifikasyon reaksiyonu olarak bilinen etkileşimde, dokulardaki doymuş yağ asitleri tuz ve gliserole dönüştürülmektedir. Bu reaksiyonda oluşan gliserol yüzey geriliminin azaltılmasında etkilidir (70).



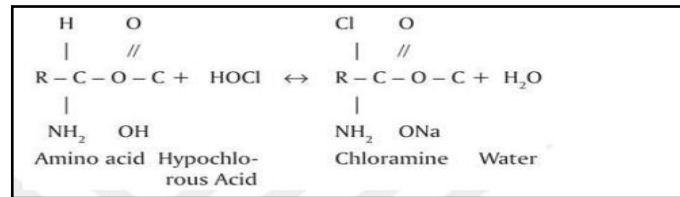
Şekil 2.3:Sodyum hipokloritin dokuyla gerçekleştirdiği saponifikasyon reaksiyonu

2- Aminoasit reaksiyonunda, aminoasitler su ve tuz oluşturacak şekilde nötralize edilmekte ve açığa çıkan hidroksil iyonu pH'ın azalmasını sağlamaktadır (70).



Şekil 2.4:Sodyum hipokloritin aminoasit nötralizasyon reaksiyonu

3- Kloramin reaksiyonu ile, hipokloröz asit organik dokuyla temas etmekte ve güçlü antimikrobiyal etkiye sahip kloramin oluşmaktadır. Bakteriyel enzimlerin etkisini ortadan kaldıran antimikrobiyal etki klor sayesinde oluşmaktadır (70).



Şekil 2.5:Sodyum hipokloritin kloramin reaksiyonu

NaOCl'in en güçlü özelliklerinden olan antibakteriyel etkinlik ve doku çözebilme kapasitesi konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir. Literatürde %0,5-6 arasında değişen konsantrasyonlarda , artan konsantrasyona bağlı etkinliğin arttığı bilinmektedir (71, 72, 73).

Sodyum hipokloritin toksik etkisi nedeniyle, periapikal bölgeye taşmasından kaçınmak önemlidir. İrrigasyon taşması sonrasında şiddetli ağrı, doku nekrozu, ödem, hemoraji, anestezi veya parestezi, boğazda tahriş ve sekonder enfeksiyon görülebilecek komplikasyonlardandır (73). Süt dişleri ve açık apeksli dişlerde irrigasyon taşma ihtimali daha fazladır (74). Sodyum hipoklorite bağlı periferik lenfositler üzerinde genetik toksik ve sitotoksik etkiler bildirilmektedir (74). İçerdiği kloro bağlı alerjik potansiyeli bilinse de, diş hekimliğinde sınırlı sayıda vaka gözlenmiştir (75).

Olumsuz etkilerin konsantrasyona bağımlı olması nedeniyle, yüksek konsantrasyonlu solüsyonlar hazırlamak yerine, farklı uygulama yöntemleri denenmektedir. Bu yöntemlerden biri ısıtılmış çözelti kullanmaktır. Isıtılmış solüsyonun, doku çözme yeteneğinin arttığı ve smear tabakasındaki organik dokuyu daha etkili uzaklaştırıldığı bildirilmektedir (76). Sodyum hipokloritin ultrasonik sistemlerle aktive edilmesinin de, gerçekleştirdiği reaksiyonların etkisini ve hızını artıracakı düşünülmektedir (77). Bu sayede tedavi süresi de kısalmaktadır.

Süt dişlerinde diğer dezavantajların yanında kanal anatomisinin karmaşık yapısı, doğal fizyolojik rezorpsiyon süreçleri, tadinın kötü olması, apikalden taşarak daimi diş jermiini etkileme olasılığı nedeniyle çocukta sodyum hipoklorit kullanımı daha da zordur. Literatürde sodyum hipokloritin çocuk diş hekimliğinde kullanım için %0,5-5,25 aralığında değişen farklı konsantrasyonlar önerilmektedir (80, 81, 82).

Sainudeen ve ark. çeşitli bitki özütleri (*Tylophora indica*, *Curcumin longa*, *Phyllanthus amarus*) ile sodyum hipokloritin *E. faecalis* biyofilmi üzerindeki etkisini değerlendirmiştir. Bakteri kolonizasyonunun elimine edilmesinde sodyum hipoklorit kısa temas süresinde daha başarılı sonuçlar göstermiştir (82).

Sodyum hipoklorit, günümüzde kök kanal tedavisinde irrigasyon solüsyonu olarak sıklıkla kullanılmakta ve altın standart olarak kabul edilmektedir (68, 69, 84).

2.4.2. EDTA (ETİLENDİAMİNTETRAASETİK ASİT)

İrrigasyon solüsyonu olarak ilk defa 1957 yılında kullanılmaya başlanan Etilendiamintetraasetik asit (EDTA), renksiz, suda çözünebilen katı formda bulunan bir poliaminokarboksilik asit bileşiğidir (85).

EDTA, diş dokusu üzerinde demineralize edici özellik göstermekte, smear tabakasının inorganik kısmını etkili bir şekilde kaldırabilmektedir (86). Dekalsifiye edici etkisini, kalsiyum iyonu ile reaksiyona girerek, şelat oluşturarak gerçekleştirmektedir. Literatürde kök kanallarında bekletilen EDTA'nın 5 dakika içerisinde 20-30 µm derinlikte etki gösterdiği bildirilmiştir (12).

EDTA'nın %10-17 oranlarında kullanımı bildirilmiş olsa da, en çok tercih edilen konsantrasyonu %17' dir (86). Sodyum hipoklorit inorganik doku çözme yeteneği göstermediğinden, EDTA ile kombine kullanımı önerilmektedir. Kombine kullanımda kanal içi antibakteriyel etkinliğin arttığı belirtilmiştir (87, 88, 89).

EDTA'nın kök kanallarında tek başına kullanımında organik yapıları uzaklaştırmadaki yetersizliği ve antibakteriyel aktivitesinin düşük olması gibi dezavantajları bulunmaktadır (90, 91). Bu nedenle kök kanal tedavisinde kullanılacak alternatif irrigasyon solüsyonları araştırılmaya devam edilmiştir (92).

2.4.3. KLORHEKSİDİN (CHX)

Diş hekimliğinde, periodontal tedavide ağız antiseptiği olarak sıklıkla kullanılsa da irrigasyon ajanı olarak ancak 1970'lerde kendisine yer bulmuştur (93, 94). En yaygın olarak kullanılan şekli klorheksidin glukonattır. Endodontide irrigasyon solüsyonu olarak %2 jel veya %0,2 sıvı konsantrasyonda kullanılmaktadır (95, 96).

CHX, hem gram+, hem gram- bakterilere karşı geniş bir antibakteriyel spektruma sahiptir (96). Özellikle açık apeks, kök rezorpsiyonu ve perforasyonu gibi klinik durumlarda biyoyumluluğu sayesinde sodyum hipoklorite alternatif olabilmektedir. Ancak biyofilme olan etkisi sodyum hipoklorit kadar etkili bulunmamıştır (97, 98, 99).

Sinha ve ark. %5 sodyum hipoklorit, %2 klorheksidin ve zerdaçal ve Neem gibi bitkisel içeriklerin *E. faecalis*'e karşı antibakteriyel etkinlikleri değerlendirmiştir. Ancak irrigasyon solüsyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (100).

Bütün bu olumlu özelliklerinin yanında klorheksidinin organik veya inorganik doku çözücü özelliği yoktur. Kök kanal sistemindeki vital veya nekrotik doku artıklarını uzaklaştırılmaz. Ayrıca smear tabakasının kaldırılmasında etkili değildir. Klinik olarak kök kanal tedavisinde rutin kullanımı bulunmamaktadır. Bu nedenle alternatif irrigasyon solüsyonu arayışına cevap verememiştir (98, 100).

2.4.4. MTAD (MIXTURE OF TETRACYCLINE, ACID AND DETERGANT)

Dentindeki kollajenin, sodyum hipokloritin aktivasyonunu etkilemesi nedeniyle oluşturulmuş, antibiyotik içerikli yeni ajanlardan biridir. %3 doksisiklin , %4,25 sitrik asit ve %0,5 Tween 80 içeriği ile oluşturulan MTAD, kök kanal irigasyonunda kullanılmaktadır. Bu içerikte doksisiklin antibakteriyel etki sağlarken, sitrik asit smear tabakasını kaldırmaktadır. Tween 80 deterjan etkisi ile yüzey gerilimini azaltmakta, solüsyonun kök kanallarına daha kolay ulaşmasını sağlamaktadır (101).

MTAD smear tabakasını kaldırırken, kök dezenfeksiyonunu aynı anda sağlayabilen ilk irrigasyon solüsyonudur (102). MTAD kök kanalının tüm bölgelerinde smear tabakasını uzaklaştırabilmekte ve bu etkiyi gerçekleştirirken kök dentininde fiziksel değişiklik oluşturmamaktadır. Ayrıca birçok irrigasyon ve kanal içi medikamana göre daha az toksik etki göstermektedir (103). Torabinejad ve ark. MTAD'nin *E.faecalis*'e karşı etkili olduğunu belirtmişlerdir (102, 104). Bolhari ve ark. MTAD'nin *E. faecalis* virülans faktörlerinin çoğunun ekspresyonuna karşı etkili olduğunu göstermiştir (105).

Sharaf ve ark. daimi nekrotik pulpalı dişlerde kullanılan MTAD ve %2'lik klor heksidinin, *E. faecalis* üzerindeki antibakteriyel etkinliğini karşılaştırmışlardır. İlk 10 saatte MTAD' nin antibakteriyel etki gösterdiğini ve %2 klorheksidin' den daha yüksek oranda antibakteriyel aktivitesini koruduğunu göstermiştir (106).

MTAD' nin dişte renklenme oluşturmaması, yüksek fiyatlı olması ve piyasada kolay bulunamaması, hazırlandıktan sonra 48 saat içerisinde etkisinin azalması irrigasyon solüsyonu olarak rutin kullanımının önüne geçmiştir (101,103,106).

2.4.5. TETRACLEAN

MTAD ile benzer şekilde sitrik asit, doksisiklin ve deterjan formülasyonu ile oluşturulan yeni bir irrigasyon ajanı da tetraclean'dir. Sadece içerdiği doksisiklin miktarı ve deterjan türü (polipropilen glikol) ile farklılık göstermektedir (107, 108).

Giardino ve ark. Tetraclean' in MTAD'a göre *E. faecalis* biyofilmine karşı daha etkili olduğunu göstermişlerdir. Ancak Tetraclean, bakteriyel biyofilmin uzaklaştırılmasında sodyum hipoklorit kadar etkili bulunmamıştır (109). Tetraclean yüksek maliyetlidir ve sodyum hipoklorite eşdeğer antibakteriyel etkinliğe sahip değildir. Bu nedenle kök kanal tedavisinde sodyum hipokloritle birlikte kullanılacak şekilde tercih edilmektedir (110).

2.4.6. HİDROJEN PEROKSİT

Pulpal dokudaki moleküller ile karşılaştığında yapısındaki oksijen molekülünü serbest bırakarak etki gösteren hidrojen peroksit; enfekte kök kanallarında ilk yıkama solüsyonu olarak kullanılmaktadır. Ancak organik materyal üzerinde yeterli etkisi bulunmamaktadır (111, 112).

Raf ömrü kısa olan solüsyonun, taze olarak hazırlanması gerekmektedir. Karanlık ve soğuk bir ortamda muhafaza edildiğinde bir hafta süre ile kullanılabilir (112).

Nekrotik dokular üzerinde yeterli etki göstermemesi, antibakteriyel etkinliğinin sınırlı olması ve sodyum hipoklorit ile kombine kullanımında ortaya çıkan oksijen radikallerinin apikalden taşması gibi önemli dezavantajlara sahiptir. Bu nedenle kök kanal irrigasyonu olarak kullanımı sınırlanmıştır (113).

2.4.7. KALSİYUM HİDROKSİT

Diş hekimliğinde farklı kullanım alanları bulunan kalsiyum hidroksit, irrigasyon solüsyonu olarak da kullanılmıştır. Geniş lezyonlarda eksüdanın kurutulmasında, periapikal bölgedeki sıvının kök kanallarına girişini engellemede ve sodyum hipokloritin doku çözme etkinliğini artırma da avantajlara sahiptir (114).

Kalsiyum hidroksitin antibakteriyel etkinliği, içerdiği hidroksil iyonu ve yüksek pH'ı ile ilişkilendirilmektedir. Bakterilerin hücre zarlarına etki göstermekte ve proteinleri denatüre ederek beslenmelerini engellemektedir. Ancak bu etkisi nonspesifiktir ve kök kanallarında antibakteriyel etkisi sınırlı kalmakta, özellikle enterokoklar üzerinde gerekli etkiyi gösterememektedir (62).

Harzivartyan ve ark. kök kanallarından kalsiyum hidroksitin uzaklaştırılmasını inceledikleri çalışmasında; kalsiyum hidroksiti tamamen temizlemeyi başaramadığını bildirmiştir (115).

Sjögren ve ark. kalsiyum hidroksitin *E. faecalis*'e karşı etkin olabilmesi için, uzun temas süresi gerektiğini bildirmektedir. Kalsiyum hidroksitin kök kanallarında bıraktığı artıklar, kök kanal dolum materyalinin dentin penetrasyonunu ve kanal duvarına olan adaptasyonunu olumsuz yönde etkilemektedir. Kök kanallarında tek başına kullanımda, başarılı bulunmamıştır (114, 116).

2.5. FİTOTERAPİK İRRİGASYON AJANLARI

Kimyasal ajanlarla ilgili meydana gelen sorunlar ve yaygın antibiyotik kullanımı sonucunda oluşan mikrobiyal direnç bitkisel içeriklere olan ilgiyi artırmıştır. Kök kanal tedavisinde bitkisel içerikli ekstraktların kullanımı ve araştırılması son yıllarda yaygınlaşmıştır (117). Kök kanallarında irrigasyon solüsyonu olarak en çok kullanılan bitkisel ekstraktlar: yeşil çay, hint dutu, propolis, neem, triphala, elma sirkesi, papain ve kitosandır (122, 124, 128, 129, 132,134, 136, 141, 143, 148).

2.5.1. Yeşil ay

Yeşil ay geniş antibakteriyel etkisiyle; plakta bulunan bakterilerin ürettiği asitler üzerinde etkilidir. Termojenik, probiyotik ve biyofilm oluşumunu engelleyen antimikrobiyal özelliklere sahiptir. Ayrıca içeriğinde bulunan florür, antiplak ve şelasyon özelliğini sağlamada etkilidir (119). Yapılan çalışmalarda oluşan hidroksil radikalleri sayesinde, *E. Faecalis*'e karşı güçlü antibakteriyel etkisinin olduğu ve 6 dakika gibi kısa bir sürede bakterilerin %100'n öldürebildiği bildirilmiştir (120).

Ramezanali ve ark. yeşil çay ekstresi ve %2,5 sodyum hipoklorit çözeltisinin *E. faecalis*'e karşı antibakteriyel etkisini karşılaştırmışlardır. Yeşil çay bakteri koloni sayısında anlamlı derecede azalma sağlasa da; sodyum hipoklorit kadar başarılı bulunmamıştır (121). Ayrıca yeşil çayın antibakteriyel etkisi hakkında yeterli kanıt bulunmamakta, daha fazla çalışmaya gerek duyulmaktadır (119).

2.5.2. Hint Dutu (*Morinda Citrifolia*)

Hint dutu; kanser, diyabet, tansiyon ve ağrı kontrolü gibi çeşitli alanlarda uzun yıllardır kullanılan bitkisel içeriktir. İçerdiği bileşenler sayesinde *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Proteus morganii*, *Escherichia coli*, *Salmonella* ve *Shigella* gibi bakteri suşlarına karşı etkili olduğu görülmüştür (122).

Jose ve ark. hint dutu ve sodyum hipokloritin *E. faecalis*'e karşı antibakteriyel etkinliğini değerlendirmiş, hint dutu ekstraktının çevre dokular üzerinde daha az toksik özellik gösterdiği ancak *E. faecalis*'e karşı daha az antibakteriyel etkinliğinin olduğu bulunmuştur (123).

2.5.3. Propolis

Propolis, bal arılarının çeşitli bitki özlerinden topladığı antibakteriyel, antifungal, antienflamatuar, antioksidan, anestezik ve sitotoksik özelliklere sahip kahverengi reçine karışımıdır (124).

Propolisin *S. mutans*'ın F-ATPase aktivitesini inhibe ettiği ve asit üretimini azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca *Prevotellani-grescens*, *Fusobacterium nucleatum* ve *E. faecalis* gibi anaerobik bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesi bildirilmiştir (125).

Oncag ve ark. propolisin kök kanallarında *E. faecalis*'e karşı antibakteriyel aktivitesinin başarılı olduğunu gözlemlemiştir (126).

Nara ve ark. sodyum hipoklorit, propolis ve MTAD'nin antibakteriyel etkinliğini karşılaştırmışlardır. Çalışma sonucunda propolisin bakteri eliminasyonunda, diğer solüsyonlara göre daha yetersiz olduğu görülmüştür (127).

2.5.4. Azadiarachta İndica (Neem, Hint Leylağı)

Hint leylağı olarak bilinen Azadiarachta İndica, antibakteriyel, antiviral, antioksidan ve kanama durdurucu özelliğı ile tıbbi uygulamalarda kullanılan bir bitki özüdür. Nemm'in kök kanallarındaki bakteri adezyonunu ve kolonizasyonunu engellediğı bildirilmektedir. Sodyum hipoklorit ve klorheksidin ile karşılaştırıldığı çalışmada benzer antibakteriyel etkinliğı gösterilmiştir (128).

Panchal ve ark. neem ve sodyum hipokloritin *E. faecalis* üzerindeki antibakteriyel etkisi karşılaştırılmıştır. Neem özütünün koloni sayısındaki azalmasının sodyum hipoklorite göre yetersiz olduğu gösterilmiştir (129).

2.5.5. Triphala

Triphala üç farklı bitki karışımından (*Emblica officinalis*, *Terminalia bellirica*, *Terminalia chebula*) oluşan, içerdığı tannik asit sayesinde bakteriyostatik ve bakterisid etkilere sahip doğal bir formülasyondur. Antioksidan ve antienflamatuvar özellikleri ile kök kanal irrigasyon ajanı olarak, *E. Faecalis* suşlarına karşı 6 dakika gibi kısa bir süre içerisinde yüksek başarı oranı sağladığı bildirilmektedir (130).

Pujar ve ark. triphala ve yeşil çayın antibakteriyel etkinliğini, sodyum hipoklorit ile karşılaştırmış, sodyum hipokloritin tüm *E. faecalis* kolonizasyonunu elimine ettiği görülmüştür (131).

2.5.6. Elma Sirkesi

Elma sirkesi, antiseptik özelliğı sayesinde kök kanal tedavisinde irrigasyon ajanı olarak kullanımı düşünülen bitkisel ürünlerdendir. *E. Faecalis* ve *S. Aureus*'a karşı bakterisit etkisi gösterilmiştir (132).

Morgental ve ark. çeşitli irrigasyon solüsyonlarının (sodyum hipoklorit, elma sirkesi, klorheksidin ve salin) *E. faecalis*'e karşı antibakteriyel etkinliğini değerlendirmiş, elma sirkesinin sodyum hipoklorit ile birlikte kullanımında, bakteri koloni sayısında

anlamalı bir düşüş olduğu görülmüştür. Ancak elma sirkesi tek başına kullanımında yeterli antibakteriyel etkiyi göstermemiştir (133).

2.5.7. Papain

Papain tropik bölgelerde yetişen papaya bitkisinin meyve ve yapraklarından üretilen bitkisel bir ajandır. Bakterisit, bakteriyostatik ve antiinflamatuvar etkilere sahip, kloramin içerikli bir endoproteindir. Gıda, teknoloji, ilaç ve kozmetik endüstrisinde kullanılmakta, insan pepsinine benzer özellikler taşımaktadır. İçerdiği klor ve amonyak bakterisid etkiyi; toluidin mavisi ve tuzlar da dezenfektan etkiyi sağlamaktadır (134).

Papain cilt lezyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Nekrotik dokuyu temizlemede etkili olduğu ve doku iyileşme sürecini hızlandırdığı belirtilmektedir. Diş hekimliğinde ağız ülserlerinin tedavisinde, periodontal iyileşmeyi sağlamada ve pit-fissür örtücü uygulanmasından önce organik kalıntıların temizlenmesinde kullanılmaktadır. Ayrıca papain diş macunlarında aşındırıcı olarak da bulunmaktadır (135).

Papainin diş hekimliğinde temel kullanımı, enfekte dentinin kemomekanik olarak kaldırılmasını sağlamaktır. Papain çürük diş dokusunda kollajene etki ederek denatüre etmekte ve ekskavator gibi el aletleri ile kolayca kaldırılabilen bir yapıya dönüştürmektedir (136). Sağlıklı diş yapıları korunurken, antibakteriyel etkinliği ile dezenfeksiyona yardımcı olmaktadır. Hem gram negatif hem de gram pozitif bakterilere etki edebilmektedir. Papacaire, Cariecare, Biosolv ve Brix 3000 papain içeriğine sahip ajanlardır (137).

Papacaire; bakterisid, bakteriyostatik ve antiinflamatuvar etki göstermektedir. Hem gram negatif hem de gram pozitif bakterilere etki edebilmektedir. Papacarie ve Carie-care uygulaması sonrası dentin tübüllerinde kalan bakteri invazyonunu incelemiş, her iki ajanın da bakteriyel yükün azaltılmasında etkili olduğu belirtilmiştir (134, 137).

Brix 3000, sodyum hipoklorit içermeyen; papain bazlı en son piyasaya çıkan kemomekanik ajandır. İçeriğinde papain, propilen glikol, sitrik pektin, trietanolamin,

sorbitol, disodyum fosfat, toluidin mavisi ve distile su bulunmaktadır. Brix 3000'in özellikleri arasında yüksek konsantrasyonda papain (3000 U/mg) ve biyoenkapsülasyon (EBE) teknolojisi bulunmaktadır. Bu da yapıya ideal pH sağlayarak, papaini hareketsiz hale getirip, aktivitesini artırır. Bu sayede diğer papain içerikli ajanlara göre antibakteriyel aktivitesinin artırıldığı belirtilmiştir. (138, 139).

Inamdar ve ark. çürük temizleme sırasında Brix 3000 ve Cariecare'in antibakteriyel etkinliğini değerlendirmiş, en yüksek bakteriyel azalmanın Brix 3000 ile sağlandığı gösterilmiştir (138).

Al Haidar ve ark. ise Brix 3000 ve geleneksel çürük kaldırma yönteminin antibakteriyel etkinliğini karşılaştırmış, Brix 3000'in daha etkili bir bakteriyel azalma sağladığı bildirilmiştir (139).

Papain içerikli ajanların belirtilen antibakteriyel özellikleri nedeniyle, kök kanallarında irrigasyon solüsyonu olarak kullanımı araştırılmaya başlanmıştır. Bu nedenle çeşitli çalışmalarda papain ve papain içerikli ajanların kök kanallarındaki etkinliği değerlendirilmiştir (140, 141).

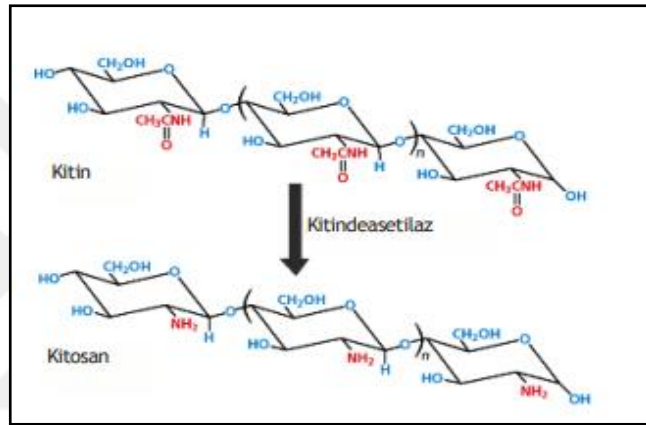
Maru ve ark. kök kanal tedavisinde irrigasyon solüsyonu olarak kullanılan Papacaire ve Carisolv'un antibakteriyel etkinliğini karşılaştırmıştır. İrrigasyon sonrasında Papacaire sodyum hipoklorit içerikli Carisolv ile karşılaştırıldığında, bakteri yükünde anlamlı bir azalma sağlamıştır (140).

Kilani ve ark. irrigasyon solüsyonu olarak kullanılan papainin, salinden daha etkili olduğunu belirtmişlerdir. Ancak antibakteriyel etkisi sodyum hipoklorite göre yetersiz bulunmuştur (141).

Yapılan çalışmalarda papainin, süt dişlerinin endodontik tedavisinde kanalların irrigasyonu için uygun ve güçlü bir alternatif olabileceği düşünülmektedir. Yapılan literatür taramasında, Brix 3000'in kök kanallarında antibakteriyel etkinliğini değerlendiren çalışma ile karşılaşılmamıştır. Bu nedenle papain ile ilgili daha kontrollü klinik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (140, 141) .

2.5.8. Kitosan

Kitosan (β (1,4) D-glukozamin) karides, yengeç ve nadiren mantar kabuklarından elde edilen kitin içerikli pozitif yüklü ve hidrofilik özellikte bir biyopolimerdir. Boncuk, toz, pul, film, hidrojel ve nanopartikül olmak üzere farklı formları bulunmaktadır. Asidik ortamda kolayca çözünebilme özelliğine sahip olan kitosan, içerdiği amino grubu nedeniyle 6,5'den daha yüksek pH değerlerinde çözünmemektedir (142).



Şekil 2.6:Kitinin Deasetiasyonu ile Kitosanın Meydana Gelmesi

Yüksek oranda biyoyumludur. Biyolojik olarak yapışma ve parçalanabilme özelliğine sahiptir ve kanıtlanmış herhangi bir toksisitesi yoktur. Düşük maliyet ve kolay elde edilmesine bağlı olarak; tıbbi ve farmasötik uygulamalar, tarım, biyoteknoloji ve biyomedikal, kozmetik gibi geniş bir kullanım alanına sahiptir (143).

Kitosan hemostatik özelliği ile hücre proliferasyonunu ve yapısal doku organizasyonunu uyarıcı özelliğe sahiptir. Belirlenen antibakteriyel ve antifungal özellikleri ile yara iyileşmesine olumlu etkiye bulunmaktadır (142, 143).

Kitosan partikülleri, pozitif yük yapısı ve geniş yüzey alanı ile negatif yüke sahip bakteri yüzeyi ile kolayca etkileşime girmektedir. Bu şekilde bakteri yüzey yapısının geçirgenliğini artırıp, hücre içi bileşenlerin sızmasını sağlayarak hücre ölümünü

gerçekleştirir (142). Kitosanın antimikrobiyal etkinliğini hücre duvarı geçirgenliğine neden olan iyonlar ile etkileşime girmesi, çekirdekte mRNA ve protein üretimini durdurması ve şelatlama ile mikroorganizmaların besin üretimini engellemesi ile gerçekleştirdiği düşünülmektedir (143). Literatürde kitosan molekülünün, antibakteriyel ve antifungal aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Geniş spektrumlu antimikrobiyal özelliği sayesinde diş hekimliğinde farklı kullanım alanlarına sahiptir (12).

Kitosanın periodontal iyileşmeye katkı sağladığı belirtilmiştir (144). Diş çekimi sonrasında kanama süresinin kısaltılmasında kullanılabileceği (145) siman içerisine ilave edilerek materyalin mekanik özelliğini arttırmada fayda sağladığı bildirilmiştir (146). Cerrahi işlemler sonrası ağrı kontrolünde kitosanın etkisinin olduğu belirlenmiştir (147). Kitosan, bakteri, virüs ve mantarlara karşı geniş ve etkili antimikrobiyal etkinlik göstermektedir. Özellikle gram pozitif bakterilerde daha etkili olduğu görülmüştür. Antibakteriyel etkisi nedeniyle, kök kanallarında irrigasyon solüsyonu olarak kullanımı değerlendirilmiştir (148, 149).

Darabpour ve ark. kitosanın antibakteriyel etkisini değerlendirmiş ve bakterilerin biyofilm yapısında bozulma sağlayarak, kök kanalında antibakteriyel etki sağladığını bildirmişlerdir (148).

Perinelli ve ark. kitosanın bakteri biyofilmleri üzerindeki etkisini incelemiştir. Kitosanın bakteri hücre zarının bütünlüğünü bozup biyofilm yapısını bozarak kök kanallarında başarılı sonuçlar gösterdiğini bildirmiştir (149).

Kadour ve ark. sodyum hipoklorit ve kitosan solüsyonunun *E. faecalis* kolonilerinde etkili olduğunu bildirmiştir. Kitosanın antibakteriyel etkinliği, sodyum hipoklorit kadar başarılı bulunmuştur (150). Kaur ve ark. ise kitosanın kök kanallarında kullanımının *E. Faecalis* 'i büyük ölçüde elimine ettiğini göstermiştir (151).

Kitosanın antibakteriyel etkinliğinin literatürde başarılı sonuçlar vermesi, sodyum hipoklorite alternatif irrigasyon solüsyonu arayışında umut vaat etmektedir (150, 151).

2.6. ENTEROCOCCUS FAECALIS İÇİN KULLANILAN BESİYERLERİ

Enfeksiyon etkenleri bakteri, virüs, mantar veya parazit olabilmektedir. Enfeksiyonun incelenmesi sırasında alınan örnekler, enfeksiyonu doğru yansıtacak bölgelerden ve yeterli sayıda alınmalıdır (152).

Besiyerleri mikroorganizmaların laboratuvar koşullarında üreme ve çoğalmalarını sağlayacak gerekli şartlara sahip olan ortamlardır. Gerekli şartlar ve ihtiyaç duyulan maddeler bakteri türüne göre değişiklik göstermektedir. Ancak karbon, nitrojen, su gibi maddeler tüm türler için ortaktır (153).

Besiyerinin sahip olması gereken özellikler:

- ✓ Üretilecek mikroorganizmanın ihtiyacı olan tüm maddeleri bulundurmali,
- ✓ Üremek için gerekli şartlar olan pH, nem, ozmotik basınç ve oksidasyon-redüksiyon potansiyelini taşımali,
- ✓ Kontaminasyonu engelleyecek uygun kaplarda hazırlanmalı,
- ✓ Uygun sterilizasyon prosedürleri gerçekleştirilmeli,
- ✓ Uygun şartlarda muhafaza edilmelidir (152, 153).

Kök kanal irrigasyonlarının *E. Faecalis*'e karşı gösterdikleri antibakteriyel etkinin incelendiği çalışmalarda çeşitli besiyerleri tercih edilmiştir (154).

2.6.1. Brain Heart Infusion (BHI) Besiyeri

İn vitro standart mikrobiyolojik analizlerde, zor gelişenler de dahil olmak üzere bakteriler için genel katı besiyeri olarak kullanılmaktadır. BHI besiyerinin içeriği; beyin, kalp ve pepton özütü, sodyum hipoklorit, disodyum hidrojen fosfat ve glikozdan oluşmaktadır (154).

Üretici firmanın önerileri doğrultusunda, 1000 mL distile su içerisinde 7 gram besiyeri homojen bir şekilde karıştırılarak hazırlanmaktadır. Olası kontaminasyon riskini önleyebilmek için 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak kullanılabilir (155, 156).

2.6.2. Mueller-Hinton Agar (MHA) Besiyeri

İn vitro yapılan standart mikrobiyolojik analizlerde, agar difüzyon testi ile klinik olarak önemli patojenlerin, antibiyotik ve çeşitli antibakteriyel maddelere karşı duyarlılığını belirlemek için kullanılan katı besiyeridir (154).

Üretici firmanın önerileri doğrultusunda, 1 litre saf su içerisinde 34 gram besiyeri homojen bir şekilde karıştırılarak hazırlanmaktadır. Tamamen homojen hale gelen besiyeri 121°C’de 15 dakika otoklavlanarak kullanılmaktadır (153).

2.6.3. Tryptic Soya Agar (TSA)

İn vitro standart mikrobiyolojik analizlerde kullanılan genel katı besiyeridir. TSA besiyerinin içeriği; soya, kazein, sodyum klorür ve agar agardan oluşmaktadır. Dehidre besiyeri, 40,0 g/L olacak şekilde damıtık su içinde ısıtılarak eritilip, otoklavda 121 C'da 15 dakika sterilize edilerek kullanılmaktadır (154, 157).

2.6.4. Tiyoglikolat Besiyeri

İn vitro standart mikrobiyolojik analizlerde anaerobların geliştirilmesi ve sayılması için katı besiyeri olarak kullanılmaktadır. Tiyoglikolat besiyerinin içeriği; kazein, glukoz, sistein, sodyum klorür ve sodyum tiyoglikattan oluşmaktadır. Besiyeri bileşimindeki indirgeyici bileşikler olan tiyoglikolat ve sistein, zor gelişen anaeroblar için de yeterli bir anaerobik ortam sağlar (152, 158).

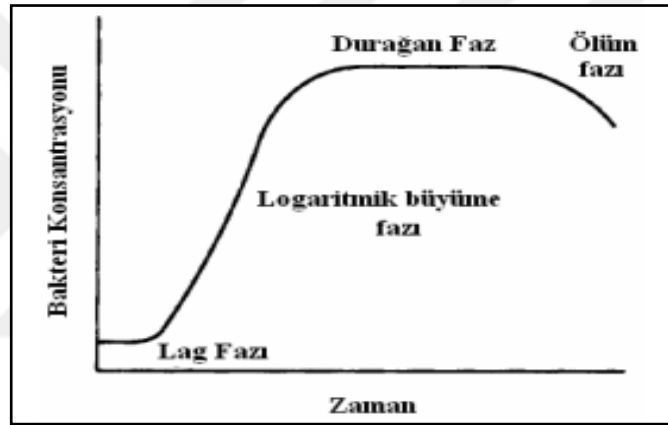
2.7. MİKROBİYOLOJİK SAYIM YÖNTEMLERİ

Deneylerde istatistiksel değerlendirme yapabilmek ve sonuçların karşılaştırılabilir olması açısından mikroorganizma sayıları kantitatif olmalıdır. Enfekte edildikten sonra antibakteriyel materyal uygulanmış dişlerden örnekler alınarak, mikrobiyolojik sayım işlemleri gerçekleştirilmektedir. Örneklerin toplanmasında, enfekte olmuş dentin parçaları veya kağıt konularla kök kanalındaki sıvı içeriğin alınması şeklinde

yöntemler tercih edilmektedir. Alınan bu örnekler, uygun besiyerine aktarılarak inkübasyona bırakılmaktadır (159, 160).

Lag fazı: Mikroorganizmaların yeni büyüme ortamlarına alışmaları için gerekli olan süredir. Başka bir ortamda büyüyen hücre yeni bir ortama alındığı zaman hücreler ortama alışmaya çalışır. Bu sürenin uzunluğu; ortamın fiziko-kimyasal özelliklerine ve hücrenin geçmişine bağlıdır (160, 161).

Logaritmik faz: Hücre sayısı logaritmik olarak artar. Logaritmik büyüme hızı sıcaklık, substrat, pH gibi birçok faktöre bağlıdır. Bakteri sayısı bu evrede maksimum sayıya ulaşmaktadır (161).



Şekil 2.7. Grafik : Bakteri Büyüme Eğrisi (158)

Duragan faz: Mikrobiyal büyümenin substrat ve besin maddelerinin tüketilmesi ve oksijen gibi elektron alıcısının tüketilmesinden kaynaklı büyümesinin durduğu döneme denilmektedir. Bu evrede büyüme ve ölüm hızı birbirine eşittir (160, 161).

Ölüm fazı: Bakterilerin ölüm hızının, büyüme hızından daha fazla olduğu dönemdir. Bu evrede canlı hücre sayısı azalmaktadır. İnkübasyon dönemi sonrasındaki bakteri sayı ve yoğunluğu direkt, indirekt ve kültür yöntemleri ile incelenmektedir (161).

2.7.1. DİREKT SAYIM YÖNTEMLERİ

2.7.1.1. Bakteri sayımı: Bu yöntemde mikroorganizmaları doğrudan sayabilmek için Petroff-Hausser adı verilen hemositometreler kullanılmaktadır. Hareketli ve çok sayıdaki bakterinin sayımının zor olması, canlı ve ölmüş bakteri ayrımı yapılamaması yöntemin dezavantajlarından (162, 163).

2.7.1.2. Froti sayımı (Breed metodu): Örnek materyalinden 10 µl alınan numunenin lam üzerine yayılarak, kurutulup tespit edilmesine dayanmaktadır. Uygun boya ile boyanan numune x100 büyütmede incelenmektedir (163).

2.7.1.3. Elektronik Sayım: Gelişen teknoloji ile birlikte özel aletlerle kısa sürede gerçekleştirilebilen yöntemdir. Ancak yöntemin pahalı olmasından dolayı yaygın olarak kullanılamamaktadır (163, 164).

2.7.1.4. Karşılaştırma Usulü: Sayım yapılacak sıvı besiyerinden 100 µl alınıp, aynı miktarda kanla karıştırılarak kurutulup tespit edilerek boyanmaktadır. Kanın 1 mm³'ünde 5×10^6 kadar alyuvar bulunmaktadır. Numunenin belirlenen alanlarında yapılan incelemelerde alyuvar sayısının ortalaması ile mikroorganizma sayısının karşılaştırılmasını sağlar (163).

2.7.2. İNDİREKT SAYIM YÖNTEMLERİ

2.7.2.1. Total hacim yöntemi: Sayım yapılacak kültürden 10-15 mL alınarak santrifüj edilmesine dayanan bir yöntemdir. Tüpün alt kısmında toplanan sedimentin hacmi ölçülerek, üreyen mikroorganizma hacimsel olarak belirlenmektedir (162).

2.7.2.2. Türbidimetrik yöntem: Kültürde üreyen mikroorganizmaların, besiyerinin bulanıklığını değiştirmesi referans alınmaktadır. Üreme varlığı ve derecesi sıvıdaki bulanıklığın spektrofotometre ile ölçülmesiyle belirlenmektedir (164).

2.7.2.3. McFarland tüpleri: Bulanıklık skalası yardımıyla, mikroorganizma sayısı görsel karşılaştırma ile belirlenmektedir. Bu yöntem, tüplerde oluşan bulanıklığın bakteri türüne göre farklı yoğunluklarda oluşması nedeniyle her mikroorganizma için kullanılamamaktadır (162, 163).

2.7.2.4. Kimyasal metod: Mikroorganizmanın temel yapısal moleküllerinden olan karbon, fosfor, azot, DNA, RNA ve diğer bileşenlerin miktarının, üreme durumu ile ilişkisine bakmaktadır (162).

2.7.2.5. Biyokimyasal metod: Mikroorganizmanın metabolik aktivitesi ile ilgisi olan glikoz ve oksijen kullanımıyla; asit, karbondioksit, amonyak üretiminin üreme durumuyla ilişkilendirilmesine dayanmaktadır (162).

2.7.2.6. Kuru ağırlık tayini: İncelenen kültür 120 °C 'de 3'er saat bırakılarak bakteri kütlesinin ağırlığı sabit olana kadar kurutulmaktadır. Sabit bir ağırlık elde edilince bakteri kültürünün ölçümü yapılmaktadır (162, 164).

2.7.3. KÜLTÜR METODLARI

2.7.3.1. Dilusyonla sayma: Alınan örneğin 10 mL'lik besiyerinde 10 katlı dilüsyonları hazırlanmaktadır. (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) Uygun sıcaklıkta inkübasyonu gerçekleştirilerek üreme olan ve olmayan tüpler belirlenmektedir. Böylece dilüsyon öncesindeki mikroorganizma miktarı tayin edilmektedir (162, 164).

2.7.3.2. Lam (Frost) metodu: Mikroorganizma barındıran sıvının, 42-45 derece sıcaklıkta besiyeri bulunduran tüplerde, on katlı seri dilüsyonları gerçekleştirilir. Son dilüsyondan 0.5 mL alınıp lama aktarılan örnek, uygun sıcaklıkta belirli sürede bekletilip boyanarak koloni sayımı mikroskopla gerçekleştirilmektedir (165).

2.7.3.3. Selüloz filtreleri ile sayım: Bu yöntemde mikroporlara sahip, ince asetattan yapılmış filtreler kullanılmaktadır. Filtrasyon sonrası sıvı besiyerine aktarılan filtrenin üzerinde üreyen kolonilerin sayımı gerçekleştirilmektedir (165).

2.7.3.4. Roller tüp metodu: İçerisinde 42-45 °C'ye kadar ısıtılmış besiyeri bulunan özel şişeler santrifüj edildiklerinde, besiyeri şişenin kenarında katılaşmaktadır. Bu sayede üreyen kolonilerin sayımı yapılabilmektedir (162, 165).

Koloni sayımı: Mikrobiyolojide ilk akla gelen klasik sayım yöntemidir. Bu yöntemde sadece canlı hücreler sayılmaktadır. Koloni oluşturan birim (CFU) tüm canlı hücreleri değil, besiyerinde sayımı yapılan ve üreyebilen mikroorganizmaların oluşturdukları kolonilerin sayısını ifade etmektedir (165).

Sodyum hipoklorit, kanıtlanmış antibakteriyel etkinliği ile kök kanal tedavisinde en sık tercih edilen irrigasyon solüsyonudur. Çevre dokular üzerinde oluşturduğu toksik etkiler nedeniyle; süt dişlerinde sodyum hipoklorit kadar antibakteriyel etkiye sahip, doku dostu, alternatif irrigasyon solüsyonu arayışı devam etmektedir. Bu nedenle birçok doğal içerikli ürün, irrigasyon solüsyonu olarak denenmektedir. Yeni geliştirilen formülü ile brix 3000' in antibakteriyel etkinliğinin papain içerikli diğer ajanlara göre artırıldığı öne sürülmektedir. Ancak yapılan literatür taramasında irrigasyon solüsyonu olarak kullanımına dair çalışma ile karşılaşılmamıştır. Çalışmada Brix-3000' in süt dişi kanal tedavisinde etkinliğinin araştırılması hedeflenmiştir. Diğer çalışma grubu ise çoğu çalışmada ümit vadeden kitosan olarak belirlenmiştir. Bu sayede bu iki ajanın kanal tedavisi başarısızlığında en sık karşılaşılan bakteri olan *E. faecalis* üzerine antibakteriyel etkinliklerinin hem birbirleri, hem de altın standart olan sodyum hipoklorit ile karşılaştırılarak incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmanın sıfır hipotezi iki ajanında, sodyum hipoklorite benzer, süt dişi kök kanal tedavisinde rutin kullanımı olabilecek doğal içerikli irrigasyon solüsyonları olabileceğidir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma için gerekli etik kurul onayı , Erciyes Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 22.09.2021 tarihli ve 2021/603 karar numarası ile alınmıştır. (Ek-1)

Çalışmada örnek toplama ve hazırlama Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı'nda, mikrobiyal analizler Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı' nda gerçekleştirilmiştir.

3.1. Örnek Sayısının Belirlenmesi

Keskin ve ark., nın (156) etki büyüklüğü baz alınarak, bu çalışmada parametrelerin ortalamalarında orta düzeyde etki büyüklüğünün (effect size=0,8) fark kabul edilmesi öngörülerek alfa anlamlılık seviyesi 0,05 %95 powerda kabul edilmiştir. Örneklem büyüklüğü her grupta 8 olmak üzere toplam 32 anterior süt dişi olarak G*Power Version 3.1.9.2 programı ile hesaplanmıştır.

3.2. Örneklerin Seçilmesi

Çalışmada Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği Kliniği' ne başvuran ve bu çalışmadan bağımsız nedenlerle derin dentin çürüğü, travma ,ortodontik amaçla diş çekimi kararı verilen hastaların anterior süt dişleri kullanılmıştır. Çalışma öncesinde veliler ve çocuklara aydınlatılmış onam formu imzalatılmıştır. (Ek 2-3) Velisi ile birlikte onam formu imzalayan çocukların çekilmiş dişleri çalışmaya dahil edilmiştir

Dişlerin çalışmaya dahil edilme kriterleri:

1. Radyografik olarak internal/eksternal kök rezorpsiyonu bulunmayan dişler,
2. Kök kanalında anatomik varyasyona ve kalsifikasyona rastlanmayan dişler,
3. Kanal ağzından, foramen apikaleye kadar kanal devamlılığına sahip olan dişler,
4. Fizyolojik olarak kök kanal gelişimini tamamlamış ve apikal açıklığı kapanmış dişler,
5. Kök kanal eğimi 5 dereceden az olan dişler,
6. Kök kanal boyu en az 12 mm olan dişler

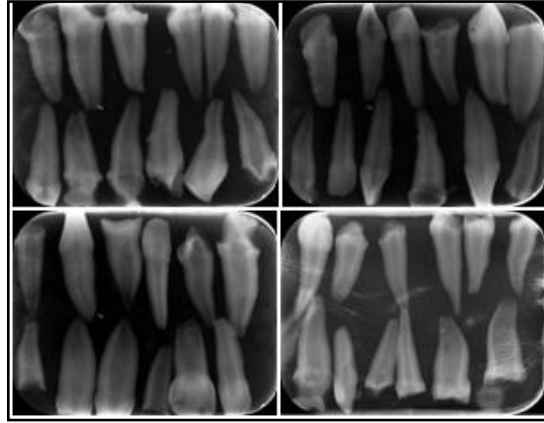
Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri:

1. Kökte birden fazla kanal bulunması,
2. Dişlerde çürük, çatlak ve kırık varlığı
3. Önceden gerçekleştirilmiş endodontik tedavi varlığı şeklindedir.



Şekil 3.1:Çalışmada kullanılacak olan süt anterior dişler

:



Şekil 3.2:Örnek Dişleri Gösteren Radyografiler

Örnek dişler, üzerindeki yumuşak doku ve artıklar kretuar ile temizlenerek, kullanım zamanına kadar oda sıcaklığında ve %0,1'lik timol içerisinde saklanmıştır.

3.3. Örneklerin Hazırlanması

Dişlerin koronal kısımları, mine-sement seviyesinin apikalinden ve ortalama kök boyları $12 \pm 0,5$ mm olacak şekilde asetat kalemi ile işaretlenerek, su soğutması altında elmas diskler (SH 393190, Sunshine Diamonds, Langenhagen, Almanya) kullanılarak kesilmiştir.

Kanal ağzından apikal sonlanmaya kadar 15 numaralı K tipi kanal eğesiyle (Shenzhen Denco Medical, Shenzhen, China), kanal aletinin ucu apikalden görülene kadar ilerletilerek kanal boyu ölçülmüştür. Belirlenen uzunluktan 1mm çıkarılarak, her bir kök için çalışma boyu belirlenmiştir.

Çalışma boyu belirlenen dişlerin apikal açıklıkları, bakteriyel sızıntıyı önlemek amacıyla akışkan kompozit (i-Flow, i-Dental, Siaulial, Lithuania) ile kapatılmıştır. Kök yüzeyleri, iki kat tırnak cilasıyla kaplanarak cilanın kurumması için ortam sıcaklığında bekletilmiştir. Hazırlanan örnek dişler enstrümantasyon öncesi pembe soğuk akriliğe (İntegra, BG Dental, Ankara, Türkiye) gömülmüştür.



Şekil 3.3: Örnek dişlerin kök uçlarını kapatmak için kullanılan kompozit materyali

3.4. Kök Kanallarının Şekillendirilmesi

Kök kanal şekillendirilmesinde üretici firmanın önerileri doğrultusunda döner eğe sistemi (X Smart Plus, Dentsply, Ballaigues, Switzerland) kullanılmıştır. Çalışma boyları belirlenen köklerin şekillendirilmesinde ‘crown down’ yöntemi tercih edilmiştir. Dişlerin kanal ağzları 1 ve 2 numaralı Gates Glidden frezleri ile genişletilmiştir. Kole bölgeleri genişletilen kanallar sırasıyla 20, 25, 30 numaralı döner sistem eğeleri (Shenzhen Perfect Medical, Ankara, Türkiye) ile çalışma uzunluğunda şekillendirilmiştir. Her alet değişiminde kök kanalları organik artık ve oluşabilecek smear tabakasını kaldırmak için sırasıyla;

- ✓ 2,5 ml %17 EDTA
- ✓ 2,5 ml salin
- ✓ 2,5 ml NaOCl

ile 3'er dakika yıkanmıştır (156). Tüm örneklerin son yıkamasında 5 ml salin kullanılmış, kanallar 30 numaralı paper point (Pearl Endo, Pearl Dent, Ho Chi Minh City, Vietnam) ile kurutularak, 121°C'de, 60 dakika, 15 psi basınç altında otoklavlanmıştır. (Trans Medikal, Ankara, Türkiye)



Şekil 3.4:Kök Kanallarının Şekillendirilmesinde Kullanılan Kanal Aletleri

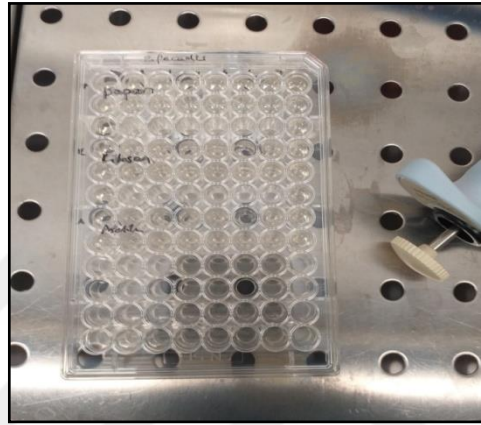
3.5. Kitosan ve Papain İçerikli İrrigasyon Solüsyonlarının MİK Değerlerinin Belirlenmesi ve Solüsyonların Hazırlanması

Solüsyonların maksimum konsantrasyonları hazırlanırken, Sarkees ve ark.'nın çalışması referans alınarak, kitosan içerikli irrigasyon solüsyonu için %1'lik asetik asit içerisinde 0,2 mg kitosan çözdürülmüştür (166). Papain solüsyonu için hazır formülasyonu bulunan Brix 3000 jel (Area Industrial Carcarana, Carcarana, Arjantin) uygun konsantrasyonda olacak şekilde distile su içerisinde çözdürülmüştür (140). Asetik asitin antibakteriyel etkinliği ayrıca değerlendirilmiştir.



Şekil 3.5 :Papain İçerikli Kemomekanik Ajan BRIX 300

Papain, kitosan solüsyonları ve solüsyonların hazırlanmasında kullanılacak olan asetik asitin, *E. faecalis* kolonilerinin çoğalmasını durduran veya eliminasyonunu sağlayan en düşük konsantrasyonunu belirlemek için sıvı dilüsyon testi uygulanmıştır. Sıvı dilüsyon testi için 96 kuyucuklu eliza plağındaher solüsyon farklı sütunlara yerleştirilmiştir. Sütunlardaki ilk kuyucuğa solüsyonların en yüksek konsantrasyonu aktarılmış; seri dilüsyona geçilmiştir.



Şekil 3.6: Seri dilüsyonların yapılması için solüsyonların aktarıldığı 96 kuyucuklu eliza plağı

Kuyucuklardaki solüsyonların konsantrasyonları papain ve asetik asit için aşağıdaki gibi seri $\frac{1}{2}$ dilüsyonla elde edilmiştir. (her sütun için yukarıdan aşağıya)

1. 1 mg/mL
2. 0,5 mg/ mL
3. 0,25 mg/ mL
4. 0,125 mg/ mL
5. 0,0625 mg/ mL
6. 0,0312 mg/ mL
7. 0,0156 mg/ mL

8. 0,0078 mg/ mL

Kuyucuklardaki solüsyonların konsantrasyonları kitosan için aşağıdaki gibi seri ½ dilüsyonla elde edilmiştir. (her sütun için yukarıdan aşağıya)

1. 0,2 mg/mL

2. 0,1 mg/mL

3. 0,05 mg/mL

4. 0,025 mg/mL

5. 0,0125 mg/mL

6. 0,00625 mg/mL

7. 0,003125 mg/mL

8. 0,0015625 mg/mL

En yüksek konsantrasyondan 100 µL alınarak, 2. kuyucuğa aktarım ve pipetasyon ; 2. kuyucuktan 100 µL alınarak 3. kuyucuğa aktarım ve pipetasyon şeklinde olmak üzere çift katlı seri dilüsyonlar yapılmıştır. Toplamda 8 defa dilüsyonu yapılan solüsyonlara bakteri süspansiyonu ilave edilerek 24 saat 37°C’de bakterilerin çoğalması sağlanmıştır.

Hazırlanan örnekler Brain Heart Infusion Broth besiyerine aktarılarak 37°C’de 24 saat boyunca inkübasyonu sağlanmıştır. Örnekler incelenerek solüsyonların farklı konsantrasyonlardaki antibakteriyel etkinlikleri değerlendirilmiştir.



Şekil 3.7:Sırasıyla kitosan, papain ve asetik asitin farklı konsantrasyonlardaki antibakteriyel etkisi

İncelenen konsantrasyonlara göre kitosan çözeltisinin elde edilebilmesi için, 0,2 g kitosan (Acros Organics, Panvo Organics, Chennai, Hindistan) 100 mL %0,5 asetik asit içinde çözülerek hazırlanmıştır. Asetik asitin, %1'lik konsantrasyonu tek başına antibakteriyel etkinlik göstermesi nedeniyle tercih edilmemiştir. Kitosanın düşük çözünme özelliğine sahip olması ve homojen, berrak bir çözelti elde edilebilmesi için 2 saat manyetik karıştırıcı (Heidolph, MR Hei-Standart, Almanya) kullanılmıştır.



Şekil 3.8 : Çalışmada kullanılan kitosan materyali



Şekil 3.9 : Solüsyonların hazırlanmasında kullanılan manyetik karıştırıcı

Papainin incelenen antibakteriyel etkinliği sonucunda, materyalin hazır preparatının istenen konsantrasyonda sağlanabilmesi için %1'lik çözelti oluşturacak şekilde distile su ile çözünmesi sağlanmıştır.

3.6. Örneklerin E. Faecalis ile enfekte edilmesi

Kök kanallarının enfekte edilmesi için Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyoteknoloji Anabilim Dalı laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan E. faecalis'in ATCC (American Type Culture Collection) 29212 suşu kullanılmıştır. Ticari olarak temin edilen Brain Heart Infusion Agar (BHI) 34 g besiyeri 1 litre saf su içerisinde çözülecek şekilde üretici firmanın önerileri doğrultusunda hazırlanmıştır. Homojen olana kadar çalkalanan besiyeri 121 °C'de 30 dakika otoklavlanmış ve 45-50°C'ye kadar soğutulurak petri kaplarına alınmıştır.

Hazırlanan petri kapları aerob ortamda, 37°C'de 24 saat boyunca inkübatör içerisine alınarak inkübasyon ile üretilmiştir. Üreyen koloniler steril cam tüpte 10 ml Brain Heart Infusion Broth (BHI) sıvı besiyeri içerisine 0,5 Mc Farland standardına göre E. faecalis miktarı (CFU/ml) ayarlaması yapılmıştır.



Şekil 3.10: *E. faecalis* kültür bulanıklığının Mc Farland standartına göre belirlenmesi

Otoklavda sterilize edilen örnekler, kontaminasyonun önlenmesi amacıyla steril kabinde (Safe Fast Classic, Ferrara, İtalya) kuyucuklara yerleştirilmiştir. Hazırlanan dış kökleri ependorf tüplerine numaralandırılarak yerleştirilmiş ve *E. faecalis* kültürü her tüpe 10 μ L olacak şekilde mikropipet yardımıyla aktarılmıştır. Ependorf tüpleri 37°C’de, 24 saat boyunca inkübatörde bekletilmiştir. (İnnova 42, New Brunswick, Almanya).



Şekil 3.11: Prosedürlerin gerçekleştirildiği steril kabin

3.7. İrrigasyon Solüsyonlarının Örneklere Uygulanması

Toplam 32 adet diş örneği 3 deney (n=8) ve bir kontrol (n=8) grubuna rastgele ayrılarak irrigasyon protokolleri uygulanmıştır.

Deney Grupları

%2,5 lik sodyum hipoklorit ve belirlenen minimum konsantrasyon değeri ile hazırlanan kitosan ve papain solüsyonları kullanım öncesinde kontaminasyon riskinin önlenmesi amacıyla kapalı kabinde UV ışını ile sterilize edilmiştir. Her örnek için 6 ml solüsyon, 2 dakika içerisinde enjektör ile kök kanallarına uygulanmıştır. İrrigasyon solüsyonlarının 30 dakika kök kanallarında beklemesi sağlanmıştır. Sonrasında kök kanalları distile su ile nötralize edilerek, solüsyon uzaklaştırılmıştır. (156)

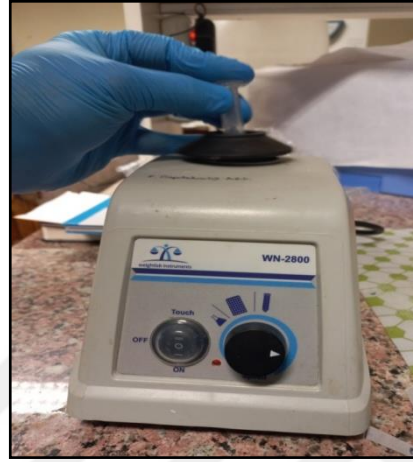
Negatif ve Pozitif Kontrol Grubu

Otoklavlanan örneklerin bakteriyel kontaminasyon öncesinde sterilizasyonunun kontrol edilmesi amacıyla 4 diş negatif kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Bakteri ekimi yapılmayan diş köklerinde 30 dakika boyunca steril Müller Hinton Broth bekletilmiştir. Steril Müller Hinton Broth bakteri bulundurmaz; yalnızca ortamda bulunan bakterilerin çoğalmasını sağlayabilecek içeriğe sahiptir. Otoklav yapılan diş köklerinde bulunabilecek ve negatif kontaminasyona neden olabilecek mikroorganizmaların çoğalmalarını sağlamak amaçlanmıştır. Bu şekilde irrigasyon protokolleri uygulamadan, kök kanallarında bakteri varlığı/yokluğu belirlenmiştir.

Bakteri inokülasyonu yapılan diş köklerinde bakteri kolonizasyonunun değerlendirilmesi amacıyla 4 diş pozitif kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Diş köklerinde kalan besiyeri uzaklaştırılarak 30 dakika boyunca steril Müller Hinton Broth bekletilmiştir. Alınan örneklerde inokülasyon sonrasında, *E. faecalis*'in 24 saatlik inkübasyonu gerçekleştirilerek bakteri kontaminasyonu doğrulanmıştır

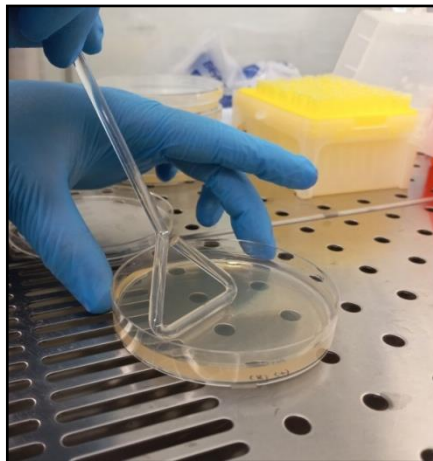
İrrigasyon işlemleri sonrasında, 35 numara H-File (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) ile kanal duvarları eğelenerek dentin kanalcıkları içindeki bakterilerin kök kanal boşluğuna dökülmesi hedeflenmiştir. (213) Kök kanallarına yerleştirilen

40 numaralı paper point kanal içeriğini tamamen absorbe edebilmesi için 30 saniye boyunca kanal içerisinde bekletilmiştir. Daha sonra paper pointler 1 ml serum fizyolojik içeren ve dişlerin grup numaraları üzerlerine kaydedilmiş olan ependorf tüplerine yerleştirilmiştir. Bakteriyel içeriğin paper pointten seruma geçebilmesi için tüpler 20 saniye boyunca vortekslenmiştir. (156)



Şekil 3.12:Çalışmada kullanılan vorteks cihazı

Ependorf tüplerindeki örnekler serumla 1 kez dilüe edilerek seyreltik çözeltileri hazırlanmıştır. Çözeltilerden mikropipetle 0,1 ml alınıp Brain Heart İnfüsion Agar besiyerine ekilmiş ve plastik drigalski spatülü ile yayılmıştır. Petri kutuları 37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası çoğalan *E. faecalis* miktarı (CFU/ml) hesaplanmış ve kaydedilmiştir.



Şekil 3.13:Bakteriyel içeriğin drigalski spatülü ile yayılması

3.8. İstatiksel Değerlendirme

İstatiksel analiz için SPSS 23.0 for Windows (IBM, Endicott, New York, ABD) programı kullanılmıştır. Değerlendirme sonuçlarının tanımlayıcı istatistikleri; kategorik değişkenler için sayı ve yüzde, sayısal değişkenler için ortalama, standart sapma, medyan, minimum, maksimum olarak verilmiştir. Normal dağılım gösteren parametreler için bağımsız student t-testi, Oneway ANOVA ve paired sample t-testi, normal dağılım göstermeyen parametreler için Mann Whitney u, Kruskall wallis testi ve Wilcoxon signed-rank testleri ile kullanılmıştır. Bağımsız gruplarda kategorik değişkenlerin oranları arasındaki farklar Ki-Kare ve Fisher exact testleri ile analiz edilmiştir. Tüm testlerde istatistiksel anlamlılık düzeyi 0,05 ve 0,001 olarak kabul edilmiştir.

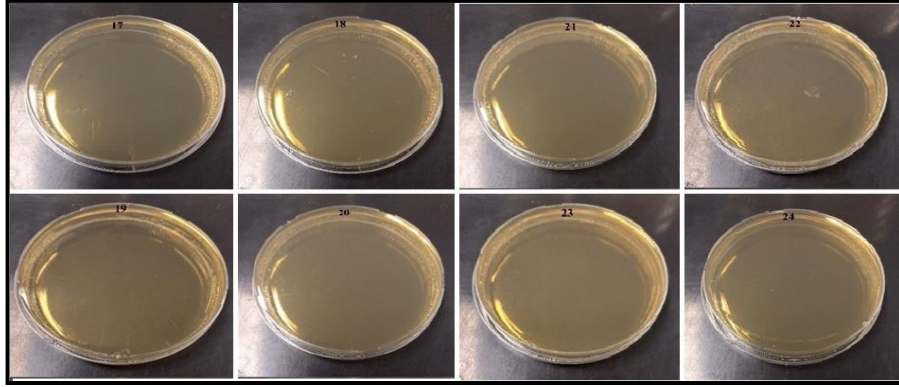
4. BULGULAR

E. faecalis ile enfekte edilen kök kanallarına %2,5 sodyum Hipoklorit, kitosan ve papain içerikli irrigasyon solüsyonları uygulandıktan sonra antibakteriyel etkinlikleri karşılaştırılmış ve elde edilen bulgular değerlendirilmiştir. 24 saatlik inkübasyon sonrası irrigasyon grupları ile pozitif ve negatif kontrol grubunda çoğalan bakteriler incelenerek *E. faecalis* miktarı (CFU/ml) hesaplanmış ve sayısal verilere çevrilmiştir.

E. faecalis ile enfekte edildikten ve sodyum hipoklorit uygulanan deney grubunda herhangi bir örnekte üreme olmamıştır. (Tablo 4.1) Şekil 4.1’de sodyum hipoklorit ile irrigate edilen örneklerde *E. faecalis* çoğalması bulunmayan petri görüntüleri verilmiştir.

Tablo 4.1: Sodyum hipoklorit grubundaki örneklerde *E. faecalis* miktarı (CFU/ml)

Örnek numarası (n=8)	<i>E. faecalis</i> miktarı (CFU/ml)
17	0.0
18	0.0
19	0.0
20	0.0
21	0.0
22	0.0
23	0.0
24	0.0
Ort±ss	0.0

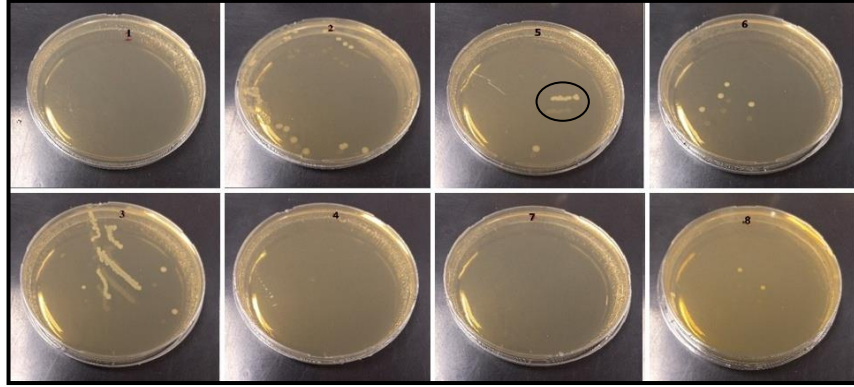


Şekil 4.1: Sodyum Hipoklorit Grubuna Ait Örnekler

E. faecalis ile enfekte edilen ve kitosan solüsyonu uygulanan deney grubunda çoğalan koloni miktarı ortalama $0,11 \pm 0,2$ CFU/mL' dir. Tablo 4.2'de örneklerin CFU/ml cinsinden değerleri görülmektedir. Şekil 4.2'de kitosan ile irriye edilen örneklerde çoğalan *E. faecalislerin* petri görüntüleri verilmiştir.

Tablo 4.2: Kitosan grubundaki örneklerde *E. faecalis* miktarı (CFU/ml)

Örnek numarası (n=8)	<i>E. faecalis</i> miktarı (CFU/ml)
1	0.0
2	$0,48 \times 10^6$
3	$0,07 \times 10^6$
4	0.0
5	$0,27 \times 10^6$
6	$0,06 \times 10^6$
7	0.0
8	$0,05 \times 10^6$
Ort $\pm$ ss	$0,11 \pm 0,2$

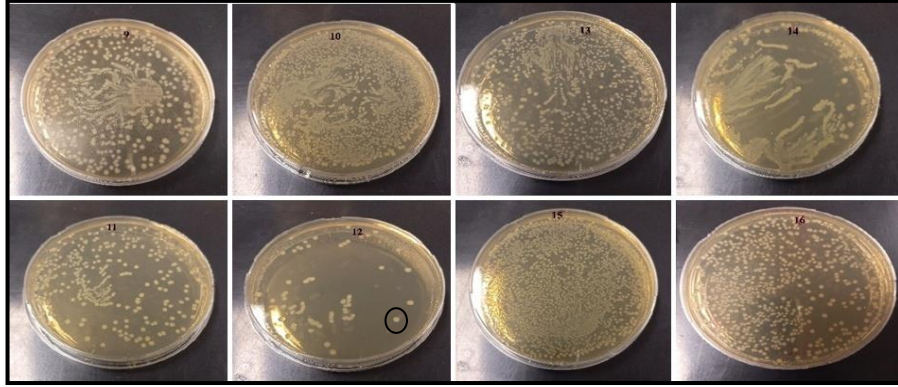


Şekil 4.2: Kitosan grubuna ait örnekler (Siyah alan: Bakteri süspansiyonunun spatül ile yayılmasına bağlı olarak oluşan sürüntü görüntüsü, bir koloni olarak hesaplanmıştır)

E. faecalis ile enfekte edilip, Papain solüsyonu uygulanan deney grubunda çoğalan koloni miktarı $3,10 \pm 1,6$ CFU/mL'dir. Tablo 4.3'de örneklerin CFU/ml cinsinden değerleri görülmektedir. Şekil 4.3'de papain ile irriye edilen örneklerde çoğalan *E. faecalis*lerin petri görüntüleri verilmiştir.

Tablo 4.3: Papain grubundaki örneklerde *E. faecalis* miktarı (CFU/ml)

Örnek numarası (n=8)	<i>E. faecalis</i> miktarı (CFU/ml)
9	$3,4 \times 10^6$
10	$4,6 \times 10^6$
11	$2,5 \times 10^6$
12	$0,88 \times 10^6$
13	$3,6 \times 10^6$
14	$0,89 \times 10^6$
15	$5,1 \times 10^6$
16	$3,9 \times 10^6$
Ort $\pm$ ss	$3,10 \pm 1,6$

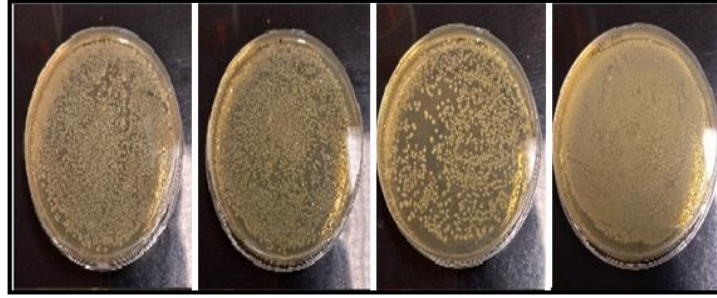


Şekil 4.3: Papain Grubuna Ait Örnekler (Siyah alan: Sayımı yapılan *E. faecalis* kolonisi)

E. faecalis ile enfekte edilip, herhangi bir tedavi uygulanmayan pozitif kontrol grubunda çoğalan koloni miktarı ortalama $7,57 \pm 0,67$ CFU/ml'dir. Tablo 4.4'de örneklerin CFU/ml cinsinden değerleri görülmektedir. Şekil 4.4'de pozitif kontrol grubuna ait örneklerde çoğalan *E. faecalis*lerin petri görüntüleri verilmiştir.

Tablo 4.4. Pozitif kontrol grubundaki örneklerde *E. faecalis* miktarı (CFU/ml)

Örnek numarası (n=4)	<i>E. faecalis</i> miktarı (CFU/ml)
1	$8,5 \times 10^6$
2	$6,9 \times 10^6$
3	$7,4 \times 10^6$
4	$7,5 \times 10^6$
Ort $\pm$ ss	$7,57 \pm 0,67$

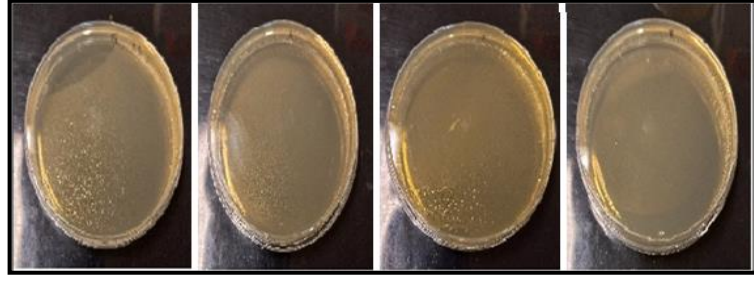


Resim 4.4: Pozitif kontrol grubuna ait örnekler

E. faecalis ile enfekte edilmeyen ve tedavi prosedürü uygulanmayan negatif kontrol grubunda, bakteriyel üreme olmadığı görülmektedir. Tablo 4.5’ de örneklerin *E. faecalis* miktarı (CFU/ml) görülmektedir. Şekil 4.5’ de negatif kontrol grubuna ait örneklerde *E. faecalis* çoğalmasının bulunmadığı petri görüntüleri verilmiştir.

Tablo 4.5: Negatif kontrol grubundaki örneklerin koloni sayıları

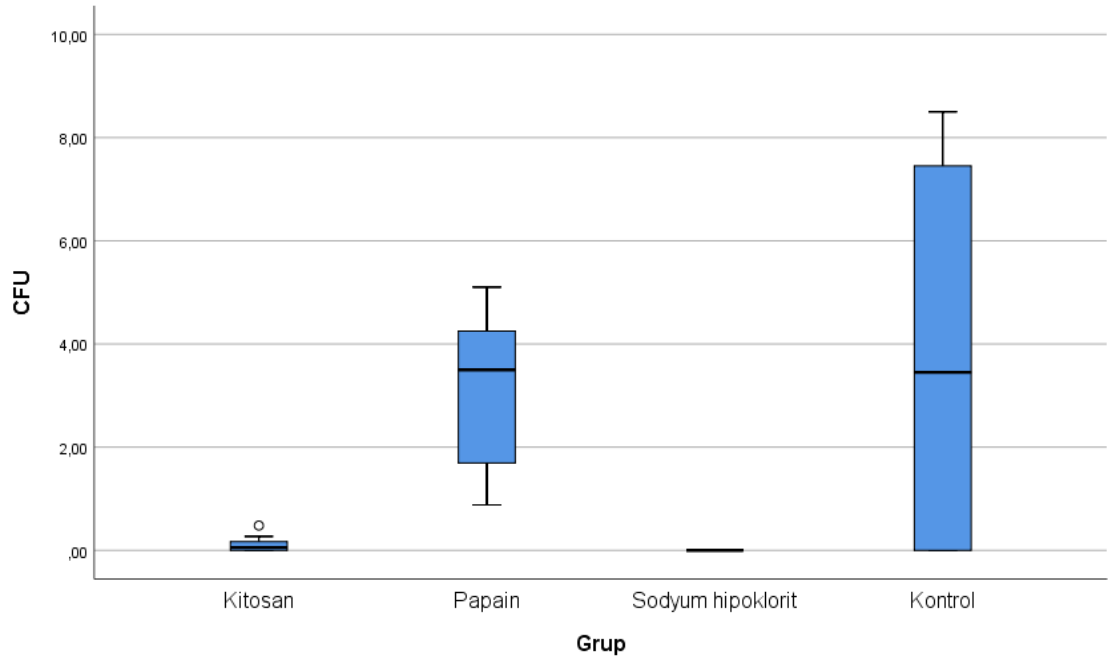
Örnek numarası (n=4)	<i>E. faecalis</i> miktarı (CFU/ml)
1	0.0
2	0.0
3	0.0
4	0.0
Ort±ss	0.0



Resim 4.5: Negatif kontrol grubuna ait örnekler

Verilen bilgilere göre Tablo 4.6’da irrigasyon solüsyonu uygulanan deney gruplarında *E. faecalis* miktarı (CFU/ml) en az olan grup sodyum hipokloritken; en fazla koloni sayısına sahip olan grubun papain olduğu görülmüştür.

Tablo 4.6: Grupların ortalama *E. faecalis* miktarını (CFU/ml) gösteren grafik



Uygulanan tüm irrigasyon solüsyonları, pozitif kontrol grubuna kıyasla koloni sayısında azalma sağlamıştır. (Tablo 4.7) Sodyum hipoklorit, kitosan ve papain ile irrigasyon yapılan gruplar, pozitif kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, *E. faecalis*

miktarı (CFU/ml) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmüştür. (sırasıyla $p=0,002$, $p=0,001$ ve $p<0,001$)

Papain ve kitosan grubu karşılaştırıldığında, papain grubunda *E. faecalis* miktarının (CFU/ml) anlamlı derecede daha yüksek olduğu görülmüştür. (Tablo 4.7) ($p=0,010$)

Sodyum hipoklorit ve papain grubu karşılaştırıldığında, papain grubunda *E. faecalis* miktarının (CFU/ml) anlamlı derecede daha yüksek olduğu görülmüştür. (Tablo 4.7) ($p<0,05$)

Kitosan ve sodyum hipoklorit grubu karşılaştırıldığında, *E. faecalis* miktarı açısından (CFU/ml) iki grup arasında anlamlı fark görülmemiştir. (Tablo 4.7) ($p>0,05$)

Tablo 4.7: *E. faecalis* miktarında (CFU/ml) istatistiksel olarak anlamlı bulunan veriler

Gruplar	<i>E. faecalis</i> miktarı (CFU/ml)	p1	p2
	Ort±ss		
Kitosan^a	0,11±0,17	<0,001**	b-a; $p=0,010$
Papain^b	3,10±1,57		b-c; $p=0,008$
Sodyum hipoklorit^c	0,0±0,0		b-e; $p=0,008$
Pozitif kontrol^d	7,57±0,67		d-a; $p=0,001$
Negatif kontrol^e	0,0±0,0		d-b; $p<0,001$
			d-c; $p=0,002$
			d-e; $p=0,002$

* $p<0,05$, ** $p<0,001$, p1: Kruskal Wallis test, p2: Post HocTamhane's T2 test

5. TARTIŞMA

Süt dişlerinde kök kanal tedavi ihtiyacı gösteren dişlere, gerekli müdahale yapılmadığı durumlarda erken süt dişi kayıpları meydana gelmektedir. Bu durum diş dizisinde oklüzyon problemlerine, beslenme yetersizliklerine bağlı olarak büyüme gelişmede aksamalara, konuşma problemlerine yol açmaktadır. Ayrıca ilerleyen aşamalarda meydana gelebilecek ağrı ve iltihap gibi problemler çocuğun yaşam kalitesini düşürmektedir. Özellikle ön dişlerde meydana gelen kayıplara bağlı olarak estetik problemler ve okul dönemindeki çocuklarda özgüven yetersizliği meydana gelebilmektedir. Bu nedenle süt dişleri daimi dişler yerini alana kadar ağızda korunmalıdır (5).

Endodontik tedavinin başarılı olabilmesi için kök kanal sistemindeki mikroorganizmaların elimine edilmesi gerekir. Mekanik prosedürlerin tek başına bakteriyel yükü azaltmada etkili olmadığı görülmüştür. Kök kanal anatomisinin karmaşık ve öngörülemez doğası irrigasyon solüsyonlarının kullanımını gerekli kılmaktadır (167). Kök kanal irrigasyonunda çeşitli solüsyonlar kullanılsa da, en sık kullanılan irrigasyon ajanı sodyum hipoklorittir (168). Bu nedenle çalışmamızda doğal içerikli solüsyonlar, altın standart olarak sodyum hipoklorit ile karşılaştırılmıştır.

Son yıllarda sodyum hipokloritin, belirtilen dezavantajları nedeniyle özellikle çocuk hastada kullanılabilecek doğal içerikli irrigasyon ajanları araştırılmaktadır. Çalışmalarda aloe vera, (169, 170, 171) propolis, (126, 127) elma sirkesi, (133) yeşil çay, (120, 121, 172) hint dutu, (123) hint leylağı, (129) ve kekik (173, 174) papain (138, 139, 140) ve kitosan (150, 151) kök kanallarında irrigasyon solüsyonu olarak denenmiştir.

Kitosan, biyolojik dokulara karşı parçalanabilme ve toksisite oluşturmama gibi yüksek biyouyumlu doğası nedeniyle multidisipliner birçok alanda (143) ve diş hekimliğinde çeşitli alanlarda kullanılmaktadır (144, 146). Zeza ve ark. kitosanın periodontal iyileşmeye katkı sağladığını bildirmişlerdir (144). Mishra ve ark. kitosanı siman içerisine ilave ederek, materyalin mekanik özelliğini arttırmışlardır. (146)

Kitosan cerrahi işlemler sonrası ağrı kontrolünde ve kanama süresinin kısaltılmasında da etkilidir (145).

Aydın ve ark. kitosan ve sodyum hipokloritin insan fibroblast hücreleri üzerindeki toksisitesini değerlendirmiştir. Çalışmada kitosanın toksik olmadığı ve oksidatif hasar oluşturmadığı belirtilmiştir (175). Kitosanın bu olumlu özelliklerinin yanı sıra, antibakteriyel özelliğe sahip olduğu da bildirilmiştir (142, 143). Bu durum irrigasyon solüsyonu olarak kullanımını gündeme getirmiştir (10, 151).

İnsan pepsin enzimine benzerlik gösteren papain, çürük doku üzerindeki yıkıcı etkisiyle diş hekimliğinde çürük kaldırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Papain ile ilgili çalışmalar genellikle, çürük kaldırma etkinliği üzerinedir (136, 138). Bunun yanı sıra Sharafeddin ve ark. papainin kompozit bağlanma direncini arttırmada da etkili olduğunu göstermiştir (176). Bastos ve ark. papainin pulpa hücreleri ve makrofajlar için hücre canlılığını etkilemediğini belirtmiştir (177). Papain içeriğinde bulunan kloramin sayesinde, güçlü antibakteriyel etkiye sahiptir (140). Bu durum göz önünde bulundurularak, papainin kök kanalında irrigasyon solüsyonu olarak kullanımı çalışmalarda değerlendirilmiştir (140, 141).

Brix 3000, en son piyasaya çıkan papain içerikli kemomekanik ajandır. Diğer papain içerikli ajanlara kıyasla papain konsantrasyonu artırılmış (30 kat) ve daha yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir (178). Brix 3000'in literatürde irrigasyon solüsyonu olarak kullanıldığı çalışmaya rastlanmamıştır. Arttırılan antibakteriyel etkisi ile irrigasyon solüsyonu olarak kullanımında etkin olabileceğini düşünmekteyiz.

Bu çalışmada doğal içerikli, toksisite göstermeyen, çalışmalarda umut vaadeden kitosan ve antibakteriyel etkisinin arttırıldığı belirtilen Brix 3000 tercih edilmiştir. Çalışmamızın amacı süt dişlerinde belirtilen dezavantajlara sahip sodyum hipoklorit ile iki ajanın antibakteriyel etkisinin karşılaştırılmasıdır.

İn vivo çalışmalarda, çocuk hasta ile ilgili yaşanabilecek zorluklar (tedavi sırasında çocuğun uyumunun bozulması, irrigasyon solüsyonunun tadı ve kokusuna karşı oluşabilecek rahatsızlık) kontaminasyon riski, kök kanal sisteminin kompleks yapısı ve standardizasyonun sağlanmasının zor olması gibi dezavantajlar bulunmaktadır. İn

vitro çalışmalar klinik çalışmaları tam olarak yansıtamasa da bu olumsuzlukları ortadan kaldırmaktadır. Papain ve kitosan gibi yeni araştırılan solüsyonların etkileri tam olarak bilinmeden, çocuk hastada kullanımı etik değildir. Bu solüsyonların etkinliğini değerlendirmek için in vitro çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

İn vitro yapılan çalışmalarda, kullanılacak olan substratın niteliği önemlidir. Literatürde çekilmiş insan dişleri, (179, 180, 181, 182) hayvan dişleri (183) ve sentetik materyaller (184) kullanılmıştır. Mikroorganizmaların tutunmasında doğal ve sentetik yüzeyler arasında farklılık vardır ve sentetik materyaller dentinin kanalcıklı ve pürüzlü yapısını taklit edememektedir. Çekilmiş hayvan dişleri anatomi ve boyut farklılıkları göz önüne alınarak çalışmada tercih edilmemiştir. Bu nedenle çalışmamız çekilmiş insan dişleri ile gerçekleştirilmiştir.

Çalışmalarda molar dişler daha az tercih edilirken, (182, 183) tek köklü diş grupları olan süt, daimi anterior dişler ve daimi mandibular premolar dişler daha çok kullanılmaktadır. (156, 179, 180, 181). Tek köklü dişler, kurvatürlerinin daha az, kök kanal hacminin daha fazla olması nedeniyle tercih edilmektedir. Bakteriyel inokülasyon ve örnek toplama aşamasında bu durum daha objektif sonuçlar sağlamaktadır. Ayrıca çok köklü süt dişlerinde furkasyon bölgesinde yer alan paradontal kanalların varlığı bakteriyel sızıntıya neden olabilmekte; farklı köklerin değişen enfeksiyon durumu kökler arası bakteriyel kontaminasyon oluşturabilmektedir. Bu nedenle çalışmamız tek köklü süt dişleriyle planlanmıştır.

Çalışmalarda örneklere ilave edilecek bakteri kültürlerinin sızdırmazlığı; sonuçların standartizasyonu ve doğruluğu için önemlidir. Çatlak ve kırık dişler enfekte edilen örneklerde sızıntıya yol açarak bakteriyel durumun objektif bir şekilde incelenememesine yol açabilir. Bu nedenle çatlak, kırık, rezorpsiyon ve kalsifikasyon bulunmayan dişler çalışmaya dahil edilmiştir. Dişlerin kuru bir ortamda muhafaza edilmesi de kök yüzeyinde çatlaklara neden olabilir. Bu durumu önlemek için çalışmalarda dişler sodyum hipoklorit (185, 186, 187) ya da timol solüsyonunda bekletilmiştir (156). Bu çalışmada dişlerin sodyum hipokloritte bekletilmesinin kırılabilirliği arttırabileceği düşünülerek, timol solüsyonu kullanılmıştır.

Diş boyutlarındaki değişkenliğin çalışma sonucunu etkilemesini önlemek amacıyla diş kökleri 12mm olacak şekilde standardize edilmiştir. Standardizasyon işlemi dişlerin koronal bölgeden aşındırılması (185, 188) veya mine sement sınırından kesilerek kronun uzaklaştırılması (189) şeklinde gerçekleştirilmektedir. Çalışmada giriş kavitesine bağlı faktörlerin ortadan kaldırılması için dişler mine sement sınırından kesilmiştir. Böylece kök kanallarının yaklaşık olarak eşit hacimde olması sağlanmıştır.

Süt dişlerinde döner alet kullanımının, nekrotik dokular ve oluşan debris daha etkili ve hızlı bir şekilde uzaklaştırdığı belirtilmiştir. Bu sayede kök kanal sisteminin istenilen koniklikte hazırlanabilmesi ile mikrobiyolojik prosedürler etkili bir şekilde gerçekleştirilebilmektedir (190). Bu çalışmada hazırlanan diş köklerinin mekanik genişletme ve şekillendirilmesinde döner alet kullanılmıştır.

Kök kanallarının mekanik enstrümantasyonu sonrasında ortaya çıkan, organik ve inorganik içeriğe sahip yapı smear tabakası olarak adlandırılmaktadır. Smear tabakası, dentin tübüllerini tıkayıp, dentin geçirgenliğini azaltarak bakteri ve ürünleri için bariyer oluşturmaktadır (191). Çalışmalarda kök kanallarının mekanik şekillendirilmesi aşamasında oluşacak smear tabakasının organik içeriğini kaldırmada sodyum hipoklorit, inorganik içeriğini kaldırmak için ise EDTA önerilmiştir (192, 193). Çalışmamızda dişler sırasıyla EDTA, salin ve NaOCl ile irriga edilmiştir.

Çalışmalarda bakteriyel sızdırmazlığın sağlanabilmesi için kök ucu kapatılmış ve kökler iki kat tırnak cılası ile kaplanmıştır (156, 188). Çalışmamızda aynı yöntem uygulanmıştır.

Çalışmalar da, kök kanallarının enfekte edilmesinden önce sterilizasyon işlemlerinin gerçekleştirildiği görülmektedir. Sterilizasyon işlemi için etilen oksit gazı (194) ve otoklav tercih edilmektedir (185, 189, 195, 196). Otoklav kullanımının mikroorganizmaların eliminasyonunda daha etkili olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda örnekler 121°C’de 60 dakika boyunca otoklavlanmıştır.

E. faecalis gram (+) kok bakteridir ve çeşitli antimikrobiyal ajanlara karşı oldukça dirençlidir. Primer endodontik enfeksiyonlar ve ilerleyen çeşitli periradiküler

hastalıklar ile ilişkilidir. Yüksek virülans, dentin kanallarına başarılı adezyon ve yüksek pH gibi dirençli koşullarda hayatta kalabilme özellikleri ile başarısız kök kanal tedavilerinde sıklıkla izole edilmiştir (197, 198, 199). Kök kanal yıkama solüsyonlarının dirençli mikroorganizmalar üzerine de antimikrobiyal etkinliklerinin olması önemlidir (156, 200) Bu nedenle çalışmalarda, inatçı endodontik lezyonlardan sıklıkla izole edilen *E. faecalis* daha çok tercih edilmektedir (179, 189, 201, 202, 203). Çalışmamızda kök kanallarının enfekte edilmesinde *E. faecalis* test bakterisi olarak kullanılmıştır.

Kullanılacak besiyeri yabancı mikroorganizmaların kolayca üremesine engel olarak, üremesi istenen bakteri için uygun özelliklere sahip olmalıdır. Enterokoklar %5' lik kan içeriğine sahip herhangi bir besiyerinde çoğaltılabilmektedir. Enterokoklar için standart besiyerleri BHI, tiyoglikat veya MHA'dır. Nara ve ark. (127) ile Keskin ve ark. (156) BHI besiyerini; Kaur ve ark. (151) MHA besiyerini; Roshdy ve ark. (158) ise tiyoglikat besiyerini tercih etmişlerdir. Pilot çalışmada MHA besiyerinde bakteri üremesi sağlanamamış, BHI besiyeri başarılı olmuştur. Bu nedenle çalışmamızda beyin kalp infüzyon agar tercih edilmiştir.

E. faecalis'in kök kanallarında inkübasyonu için gereken süre farklılık göstermektedir. Çalışmalarda inkübasyon süresinin 24 saat, (204, 205, 206) 48 saat, (207) 72 saat (191, 208) ve 21 (209) gün olduğu görülmektedir. Haapasalo ve Orstavik, *E. faecalis*'in 24 saatlik inkübasyon süresinde, dentin kanallarına 300–400 µm'ye kadar penetre olabildiğini bildirmişlerdir. İnkübasyon süresi artırıldığında, bakteri penetrasyonu açısından herhangi bir fark olmadığı görülmüştür (194). Pilot çalışmada kolonizasyon için 24 saatlik sürenin yeterli olduğu görülmüş, bu nedenle çalışmada inkübasyon süresi 24 saat olarak belirlenmiştir.

Çalışmalarda, dişin enfekte edilmesi amacı ile hazırlanan bakteri süspansiyonları, kök kanalı içerisine mikropipet aracılığıyla aktarılmıştır (210, 211). Pilot çalışmada, kök kanallarına aktarılan süspansiyonun etüvde buharlaşması nedeniyle besiyeri yetersiz kalmış, bakteri oluşumu sağlanamamıştır. Bu nedenle, bakteri süspansiyonu eklenen örnekler, içerisinde 10 µL bakteri kültürü bulunan ependorf tüpler içerisine alınıp, 24 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Pozitif kontrol grubunda yapılan

ölçümlerle, diş köklerine *E. faecalis*'in homojen bir şekilde inokülasyonunun gerçekleştiği ve standardizasyonun sağlandığı görülmüştür.

Mikrobiyolojik sayımın doğru sonuç verebilmesi için kültür alınma aşamasının dikkatli ve doğru bir şekilde yapılması önemlidir. Kök kanallarından örnek almak için, kağıt kon (156, 205) dentin duvarlarından debris toplama (206) yöntemleri tercih edilmektedir. Bazı çalışmalarda kök kanal duvarına invaze olan mikroorganizmaların, kanal içeriğindeki sıvıya aktarılması için iki yöntem birlikte kullanılmıştır. (212, 213) Çalışmada kök kanalları 35 numaralı H ege ile eğelenerek, dentin talaşlarının kanal içeriğine aktarılması sağlanmış, kağıt konlar 1 dakika süreyle kök kanallarında bekletilerek bakteri örnekleri alınmıştır. Alves ve arkadaşları, kullanılan kağıt konun anatomik düzensizlikler nedeniyle kök kanalına yeterli düzeyde temas edemeyeceğini belirtmiştir (214). Bu yüzden çalışmamızda her örnek için birden fazla kağıt kon kullanılarak, temas yüzeyi artırılmıştır.

Antibakteriyel etkinliğin ölçülmesinde farklı yöntemler mevcuttur. Histolojik kesit yöntemi, radyoaktif olarak işaretlenmiş bakteri görüntüleme tekniği, biyofotonik görüntüleme ve luminometre, mikrobiyolojik koloni sayımı bu yöntemlere örnektir (215). Koloni sayımı daha düşük hassasiyete sahip, bakterilerin hayatta kalabilmesinin zor olduğu, sayım yapılabilmesi için yüksek üreme oranına sahip olma gerekliliği gibi belirli sınırlılıklara sahiptir. Ancak ekipmana ihtiyaç duyulmaması, görece daha kolay ve ucuz bir yöntem olması nedeniyle literatürde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (216, 217). Çalışmamızda seri dilüsyon uygulanmış örnekler besiyerlerine aktararak, 24 saat inkübasyona bırakılmış ve ardından koloni sayımı gerçekleştirilmiştir.

İrrigasyon aşamasında, kullanılan solüsyon hacmi ve iğne ucunun apikale uzaklığı önemlidir. Sedgley ve ark. 6 ml kullanılan irrigasyon solüsyonunun antibakteriyel etkinliğini, 3ml'lik hacimden yüksek bulmuş, daha büyük hacimlerde ise antibakteriyel etkinlik değişmemiştir. İğne ucu, apikale 1 mm uzaklıkta konumlandırıldığında daha etkili sonuçlar gösterilmiştir (218). Çalışmamızda her diş için 6 ml irrigasyon solüsyonu kullanılmış ve iğne ucu boyları standardize edilen kök kanallarına apikale 1 mm uzaklıkta olacak şekilde konumlandırılmıştır.

Kök kanal dentin duvarı ile irrigasyon solüsyonunun temas süresi uzadıkça, antibakteriyel etkinlik artmaktadır. Çalışmalarda irrigasyon solüsyonunun kök kanallarında bekletilme süresi 10 saniye ile 40 dakika arasında değişmektedir (156, 218, 219 ,220). Radcliffe ve ark. 30 dakika bekleme süresinin, yeterli antibakteriyel etkiyi sağladığını belirtmiştir. Sonuçların, irrigasyon solüsyonlarının kalıntılarından etkilenmesini engellemek için örneklerin final irrigasyonunda serum fizyolojik, distile su veya sodyum tiyosülfat önerilmiştir (190, 200). Çalışmada kullanılan irrigasyon solüsyonları, kök kanalında 30 dakika bekletilmiş ve final irrigasyonu distile suyla gerçekleştirilmiştir.

Kök kanal dezenfeksiyonu için farklı kimyasal ajanlar önerilse de sodyum hipoklorit, düşük konsantrasyonlarda bile yüksek antibakteriyel etkisi, kök kanalından organik dokuları başarılı bir şekilde uzaklaştırmasıyla endodontik tedavide en yaygın kullanılan irrigasyon solüsyonudur (221). Dokular üzerindeki nekrotik etkisi, doğrudan temasında hemoliz- ülserasyona neden olması, fibroblast ve endotel hücrelerinde yıkım oluşturması gibi dezavantajlara sahiptir (222, 223). Süt dişlerinde meydana gelen kök rezorpsiyonuna bağlı olarak apikal daralımın bozulması, sodyum hipokloritin kök dışına taşmasını kolaylaştırmaktadır. Süt dişi kök kanal tedavisinde, kullanılan sodyum hipokloritin kök dışına taşması durumunda, süt dişinin altında yer alan daimi diş germi için toksik etkiler oluşmaktadır. Ayrıca sodyum hipokloritin sahip olduğu kötü tat ve koku çocuk hastanın tedaviye uyumunu etkilemektedir. Çocuk hastanın tedavi sırasında yapabileceği ani hareketlere bağlı olarak sodyum hipoklorit yutulması veya göze kaçırılması gibi komplikasyonlar oluşabilmektedir (224).

Sodyum hipoklorit kök kanal tedavisinde %0,5 ile % 6 oranında değişen konsantrasyonlarda kullanılmaktadır (225, 226, 227). Radcliffe ve ark. sodyum hipokloritin farklı konsantrasyonlarını (%0,5-%1-%2,5-5,25) karşılaştırmış, %2,5'luk solüsyonun tüm mikroorganizmaları elimine ettiği belirtilmiştir (220). Siqueira ve ark.'nın çalışmasında %2,5 ve %5 'lik konsantrasyonda kullanılan sodyum hipokloritin benzer antibakteriyel etki gösterdiği belirtilmiştir (200). Sodyum hipokloritin artan konsantrasyonu ile birlikte belirtilen toksik etkileri

arttığından, (219, 220, 221, 222) çalışmada %2,5'lik konsantrasyonu tercih edilmiştir.

Sodyum hipokloritin bakterilerin tamamını elimine edemediğini bildiren çalışmalar mevcuttur (209, 228, 229). Gomes ve ark. ise sodyum hipokloritin tüm bakterileri elimine ettiğini bildirmiştir (230). Çalışmamızda da, sodyum hipokloritin tüm bakterileri elimine ettiği görülmüştür. Belirtilen sonuçlar arasındaki farklılığın kullanılan sodyum hipokloritin konsantrasyon ve hacminin değişiklik göstermesi, yeterli sürede kullanılmaması gibi çeşitli yöntem farklılıkları nedeniyle olduğu düşünülmektedir.

Kitosanın antibakteriyel özelliği daimi dişlerde ve süt dişlerinde çeşitli çalışmalarda değerlendirilmiştir. Parolia ve ark. daimi molar diş köklerini *E. faecalis* ile enfekte ettikten sonra; kitosan, propolis, kalsiyum hidroksit ve klorheksidin ile irriga etmişlerdir. Tüm solüsyonların, pozitif kontrol grubuna göre bakteri kolonizasyonunu azalttığı, sayısal olarak en az bakterinin kitosan grubunda olduğu bildirilmiştir (202).

Goel ve ark.'ı daimi dişler kullanarak, % 0,2 kitosan solüsyonu, sodyum hipoklorit ve klorheksidinin antibakteriyel etkinliğini değerlendirmiş, tüm irrigasyon solüsyonlarında koloni sayısında azalma görülmüştür. Kitosan solüsyonunda anlamlı olmasa da koloni sayısının daha az olduğu bildirilmiştir (231). Suzuki ve ark. da kitosan solüsyonunun antibakteriyel etkinliğini değerlendirmiş, örneklerde 30 dakikadan sonra *E. faecalis*'in yüksek oranda elimine edildiği bildirilmiştir (232).

Roshdy ve ark. daimi dişlerde sodyum hipoklorit ve kitosanın, *E. faecalis*'e karşı anlamlı bakteriyel azalma sağladığını ve gruplar arasında antibakteriyel etki açısından farklılık olmadığını bildirmişlerdir (158).

Jaiswal ve ark.'nın daimi dişler ile kitosan, sodyum hipoklorit ve klorheksidinin etkinliğini değerlendirdikleri çalışmada, kitosan, sodyum hipoklorit kadar başarılı bulunmuştur (233). Yadav ve ark. da kitosanın antibakteriyel etkinliğinin, %3 sodyum hipoklorit ile eşit olduğunu bildirmiştir (234). Kadour ve ark ise süt dişlerinde *E. faecalis* eliminasyonunda %0,2 kitosanın, %2,5 sodyum hipoklorit

kadar başarılı olduğunu ve antibakteriyel etkileri arasında fark olmadığını bulmuşlardır (235).

Süt dişlerinde antibakteriyel etkinliği değerlendiren az sayıda çalışma bulunmaktadır. Faiek ve ark. *E. faecalis* sayısını azaltmada, sodyum hipoklorit ve kitosanın eşit derecede etkili olduğunu ancak sodyum hipokloritin daha fazla koloni eliminasyonunu sağladığını bildirmişlerdir (236). Bastawy ve ark. ise %1'lik sodyum hipokloritin daha yüksek antimikrobiyal etkiye sahipken, kitosanın sodyum hipoklorit ile karşılaştırılabilir sonuçlar verdiği belirtilmiştir (237).

Çalışma sonuçlarına bakıldığında, çoğu çalışmada kitosan ve sodyum hipoklorit arasında antibakteriyel etki açısından anlamlı bir fark görülmemiştir (158, 231, 233, 234, 235, 236, 237). Anlamlı olmasa da Parolia ve ark. (202) ile Goel ve ark. (231) kitosanın daha fazla bakteri elimine ettiğini göstermiş; Roshdy ve ark. (158), Jaiswal ve ark. (233), Yadav ve ark. (234) ile Kadour ve ark. (235) ise bakteri sayısı açısından da aralarında fark bulmamıştır. Çalışmamızda da benzer şekilde kitosan ve sodyum hipoklorit arasında anlamlı bir fark bulunmazken, Faiek ve ark. (236) ile Bastaway ve ark.'nın (237) bulgularıyla uyumlu olarak sodyum hipokloritin daha fazla bakteri elimine ettiği görülmüştür. Kitosanın bakteri eliminasyonunda daha başarılı bulan çalışmalar mevcuttur. Bunun nedeni, belirtilen çalışmalarda kitosan solüsyonu hazırlarken, %1 asetik asit ve 0,3 gram kitosan kullanmasına bağlı olarak daha yüksek antibakteriyel etki oluşturması olabilir. Mevcut çalışmada ise asetik asitin olası antibakteriyel etkisini elimine edebilmek için yapılan MİK testi sonucuna göre %0,5 asetik asit tercih edilmiştir.

Papainin antibakteriyel özelliklerini daimi ve süt dişlerinde değerlendiren sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Brix 3000'in ise irrigasyon solüsyonu olarak antibakteriyel etkinliğini değerlendiren herhangi bir çalışma bulunmamıştır.

Singhal ve ark. süt dişler üzerinde Papacaire ve sodyum hipokloritin kök kanallarını temizleme aktivitesini karşılaştırmıştır. Papacaire solüsyonunun sodyum hipoklorit ile karşılaştırılabilir sonuçlar verdiği bildirilmiştir (238).

Maru ve ark. sodyum hipoklorit ile Papacaire'in antibakteriyel etkinliklerini süt dişlerinde değerlendirmişlerdir. Gruplarda irrigasyon sonrası bakteri koloni

sayılarında anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Anlamlı olmasa da, papain kullanılan dişlerde bakteriyel yükteki azalma, sodyum hipoklorite göre daha fazladır (239).

Ferreira ve ark. sodyum hipoklorit, hint yağı ve %0,4 papain jelin antibakteriyel aktivitesini daimi dişlerde değerlendirmiştir. Sodyum hipokloritin etkisinin başarılı olduğu, papainin ise daha düşük aktivite gösterdiği bildirilmiştir (240). Kilani ve ark. ise sodyum hipoklorit ve Papacaire'in kök kanallarını temizleme etkinliğini değerlendirmiştir. Sodyum hipokloritin antibakteriyel etkisi daha fazla bulunmuştur (241).

Singhal ve ark. (241) ile Maru ve ark. (242) çalışmalarında, papain içerikli irrigasyon solüsyonlarının antibakteriyel etkinliğini sodyum hipoklorite benzer göstermiştir. Çalışmamızda papain grubu pozitif kontrol grubuna göre bakteri eliminasyonunda anlamlı bir azalma sağlasa da, sodyum hipoklorit ve kitosanla karşılaştırıldığında daha düşük antibakteriyel etki gösterdiği bulunmuştur. Bu bulgu Ferreira ve ark.'nın (240) çalışması ile uyumludur. Brix 3000'in antibakteriyel etkisinin kök kanallarında değerlendirildiği çalışma bulunmadığından, farklı papain içerikleri ile antibakteriyel etkinliği kıyaslanabilmiştir.

Brix 3000, diğer kemomekanik ajanlarla karşılaştırıldığında içerdiği papain konsantrasyonu daha yüksektir. Bu sayede antibakteriyel etkinliğinin daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Papainin sodyum hipoklorite benzer şekilde başarılı bulan çalışmaların aksine, çalışmamızda antibakteriyel etkinliği yeterli bulunmamıştır. Bu durumun nedeni farklı papain içerikli materyaller kullanılması, irrigasyon solüsyon hacmi, uygulama süresinin değişkenlik göstermesi gibi yöntem değişikliklerine bağlı olabilir. Brix 3000 daha çok çalışmada kullanılarak antibakteriyel etkinliği araştırılmalıdır.

Literatür taramasında 3 materyalin antibakteriyel etkinliğini kıyaslayan çalışma ile karşılaşılmamıştır. Mevcut çalışmada kitosan ve sodyum hipokloritin antibakteriyel etkinliği yüksek ve birbirleriyle karşılaştırılabilir bulunmuştur. Papain ile irriga edilen örneklerde ise solüsyonun antibakteriyel etkinliği daha düşük görülmüştür.

“Limitasyonlar

Çalışmamız in vitro olarak tasarlandığından, invivo koşulları tam olarak yansıtamamaktadır.

Çalışmada düzköklü/kanallı dişler tercih edilmiştir. Kullanılan irrigasyon solüsyonlarının çok köklü/ eğimli kök kanallı dişlerde de antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirileceği ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda bakteriyel örneklerin incelenmesinde en sık kullanılan, geleneksel bir yöntem olan koloni sayımı tercih edilmiştir. Kök kanallarının doğrudan incelenmesine izin veren (SEM, Konfokal lazer ve özel bakteri boyaları) yöntemler, canlı ve ölü bakterileri daha nicel olarak hesaplayabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sodyum hipoklorit, kitosan ve papainin irrigasyon solüsyonlarının, kök kanal tedavisinde sıklıkla izole edilen *E. faecalis*'e karşı antibakteriyel etkinliklerinin karşılaştırıldığı bu çalışmanın sonuçları ve öneriler şu şekildedir:

1. Tüm irrigasyon grupları bakteri kolonizasyonunda azalma sağlamıştır.
2. Sodyum hipoklorit grubu bakterilerin eliminasyonunda %100 etki göstermiştir.
3. Kitosan grubunda irrigasyon sonunda sodyum hipokloritten daha fazla *E. faecalis* izole edilse de, antibakteriyel etki açısından aralarında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu nedenle kitosan doğal içeriğe sahip olması, toksik olmaması, biyouyumlu olması gibi avantajları ile sodyum hipoklorite alternatif oluşturmaktadır.
4. Kitosanın; gümüş, bakır, çinko gibi içerisine ilave edilecek çeşitli nanopartikül yapılar ile antibakteriyel etkinliği artırılabilir. Daha ileri çalışmalar ile geliştirilebilir olması süt dişlerinde irrigasyon solüsyonu olarak kullanımında umut vaad etmektedir.
5. Sodyum hipoklorit ve kitosanın antibakteriyel etkisi, papain grubuna göre daha başarılı bulunmuştur.

Farklı konsantrasyon değerleri kullanılarak, farklı bitkisel içeriğe sahip irrigasyon solüsyonlarının kombine edilerek veya bitkinin içeriğindeki aktif komponentler izole edilerek mevcut bitkisel içerikli solüsyonlar ile planlanacak ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. Camp JH. Pulp therapy for primary and young permanent teeth. DentClin North Am 1984; 28: 651-8
2. Milnes AR. Description and epidemiology of nursingcaries. J Publ Health Dent 1996; 56: 38 – 50.
3. Ölmez S, Uzamiş M. Risk factors of earlychildhood caries in Turkish children. Turk J Pediatr2002 Jul-Sep;44:230–6.
4. Sezin Ö, Tunç EŞ. Erken çocukluk çağı çürükleri. Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi 2009
5. Weintraub JA. Prevention of early childhoodcaries: a public health perspective. CommunityDent Oral Epidemiol 1998; 26: 62-6.
6. Rifkin A. A simple, effective, safe technique for the root canal treatment of abscessed primary teeth. ASDC J Dent Child 1980;47: 435-41.
7. Moreno D, Conde AJ, Lorono G, et al. Comparison of the volume of root canal irrigant collected by 2 negative pressure needles at different flow rates of delivery. J Endod 2018;44: 838–41
8. NICHOLLS, E. Endodontic Treatment During Root Formation Internatinal Dental Journal Vol: 31, No. 1, 1981.
9. Siqueira Junior JF, Rôças IN. Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: Part 2—Redefining the endodontic microbiota. J Endod. 2005 Jul; 31(7):488-98
10. Hulsman M, Hahn W. Complications during root canal irrigation-Literature review and case reports. Int Endod J 2000; 33:186-93
11. Baumgartner JC, Cuenin PR. Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigation. J Endod 1992;18:605–12.

12. Silva PV, Guedes DF, Nakadi FV, Pecora JD, Cruz-Filho AM. Chitosan: a new solution for removal of smear layer after root canal instrumentation. *International endodontic journal*. 2013; 46: 332-8.
13. Hoshino E., Ando N., Sato M., et. al.: Bacterial invasion of non-exposed dental pulp. *Int Endod J* 1992; 25: pp. 2-5.
14. WHITWORTH JM, NUNN JH. Paediatric endodontics, in: R. Welbury (Ed.), *Paediatric dentistry*, Oxford university press, New York, USA. pp. 2001 159-187.
15. ALAÇAM T. Pulpa ve periapikal doku hastalıkları, *Endodonti*, Barış Yayınları, Ankara, Türkiye. pp. 45-72.2000
16. Stanley Hr. The effect of systemic diseases on the human pulp. *The biology of the human dental pulp* 606-648.1973
17. Tampi MP, Pilcher L, Urquhart O, Kennedy E, O'Brien KK, Lockhart PB Antibiotics for the urgent management of symptomatic irreversible pulpitis, symptomatic apical periodontitis, and localized acute apical abscess. *The Journal of the American Dental Association* 150.2019
18. Abbott PV, Yu C. A clinical classification of the status of the pulp and the root canal system. *Aust Dent J*; 52(1): 17-31 2007.
19. BAYIRLI G. Pulpa İltihapları Ve Dejenerasyonları Pulpa Patolojisi ve Tedavileri, İstanbul Üniversitesi Basımevi ve Film Merkezi, İstanbul, Türkiye. pp. 159-211 1992.
20. Pişkin B, Aktener BO, Karakış H. Neural changes in ulcerative and hyperplastic pulpitis: a transmission electron microscopic study. *Int Endod J*, 26:234, 1993.
21. Garg N, Garg A. *Pathologies of Pulp and Periapex: Textbook of Endodontics*, New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers Ltd., 2007, 24-48.
22. Şimşek N, Bulut ET. Pulpa ve Periapikal Doku Hastalıklarında Bakterilerin Önemi: Bölüm II. *Gönü Üniv. Sağ. Bil. Derg.*, 2, 44-48. 2013
23. Fuks AB: Pulp therapy for the primary dentition. In Pinkham JR: *Pediatric Dentistry: Infancy Through Adolescence*. 1999.
24. Belanger GK: Pulp therapy for the primary dentition. In: Pinkham JR. Editor: *Pediatric Dentistry: Infancy Through . Philadelphia, Saunders*, 1988.

25. Kubota K, Golden BE, Penugonda B: Root canal filling materials for primary teeth: a review of the literature. *J Dent Child*; 59:225. 1992
26. Holt RD. Advances in dental public health. *Prim Dent Care* ;8(3):99-102,2001.
27. Nyvad B, Fejerskov O, Baelum V. Visual-tactile caries diagnosis. In: Fejerskov O, Kidd E, eds. *Dental Caries: The disease and its clinical management*. Blackwell Munksgaard;2008. p. 49-69.
28. Jafarzadeh H, Abbott PV. Review of pulp sensibility tests. Part 1: general information and thermal tests. *International Endodontic Journal* 2010; 43:738-62.
29. Whaites E, Drage N. *Essentials of dental radiography and radiology*, Edinburgh Churchill Livingstone Elsevier;2015
30. Tasleem H, Arshad H. Digital Radiography in Dentistry. *J Pak Dent Assoc*. 2004;13:91-8
31. American Academy of Pediatric Dentistry: Reference manual. Guideline for pulp therapy for primary and young permanent teeth. *Pediatr Dent* ; 24:86.2002
32. Barr ES, Flaitz CM, Hicks MJ. A retrospective radiographic evaluation of primary molar pulpectomies. *Pediatr Dent* 1991;13:4-9.
33. Katz A, Mass E, Kaufman AY. Electronic apex locator: a useful tool for root canal treatment in the primary dentition. *J Dent Child*. 1996 Nov-Dec;63(6):414–417.
34. Kim E, Lee S-J. Electronic apex locator. *Dent Clin North Am*. 2004 Jan;48(1):35–54.
35. Nelson-Filho P, Romualdo PC, Bonifacio KC, Leonardo MR, Silva RA, Silva LA. Accuracy of the iPEX multi-frequency electronic apex locator in primary molars: an ex vivo study. *Int Endod J*. 2011 Apr;44(4):303–306.
36. Roberson TM, Heymann OH, Swift EJ. *Sturdevant's Art and Science of Operative Dentistry, Cariology: The Lesion, Etiology, Prevention and Control*, Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2010 p. 67-134.

37. Beighton D. The complex oral microflora of high-risk individuals and groups and its role in the caries process. *Community Dent Oral Epidemiol* 2005;33:248-255
38. Anđ, Ö. : Ağız Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 1990.
39. Shovelton, D.S. : The presence and distribution of microorganisms within nonvital teeth. *Br. Dent. J.*, 117: 101, 1964.
40. Burke, G.W., Knighton, H.T. : The incidence of microorganisms in inflamed dental pulps of rats following bacteremia. *J. Dent. Res.*, 39: 205, 1960.
41. Siqueira JF Jr, Roças IN. PCR methodology as a valuable tool for identification of endodontic pathogens. *J Dent* 2003;31:333-9
42. TIRALI RE, BODUR H. Pulpa Hastalıklarında Bakterilerin Rolü. *ADO Klinik Bil Derg*, 3, 374-379. 2009
43. Simon JHS. Periapical pathology, in : Cohen and Burns R.C. *Pathways of the pulp*, 7th Edt, St Louis, Mosby Comp: 425-455, 1998
44. Sundqvist, G: Taxonomy, ecology and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 78: 522, 1994
45. Hargreaves KM, Berman LH. *Cohen's pathways of the pulp*: Elsevier Health Sciences; 2015
46. Esen, AÖD: *Farmakoloji*. İ. Ü. Basım Merkezi, İstanbul, 1990.
47. Sundqvist, G: Associations between microbial species in dental root canal infections. *Oral Microbiol Immunol*, 7: 257, 1992.
48. Sundqvist, G: Ecology of the root canal flora. *J Endod*, 18: 427, 1992
49. Souza, CAS, Teles, RP, Souto, R, Chaves, MAE, Colombo, APV: Endodontic therapy associated with calcium hydroxide as an intracanal dressing: Microbiologic evaluation by the checkerboard DNA-DNA hybridization technique. *J Endod*, 31: 79, 2005
50. Siqueira JF Jr, Paiva SS, Rocas IN. Reduction in the cultivable bacterial populations in infected root canals by a chlorhexidine-based antimicrobial protocol. *J Endod* 2007;33:541-7.
51. Göltaş HE, Keçeci AD. Başarısız Kök Kanal Tedavilerinde *Enterococcus Faecalis*'in Rolü. *Dental Klinik Dergisi* ;8:28-34 2014

52. Zoletti GO, Siqueira JF Jr, Santos KR. Identification of *Enterococcus faecalis* in root-filled teeth with or without periradicular lesions by culture-dependent and-independent approaches. *J Endod* ;32:722-6, 2006.
53. Gilmore MS, Clewell DB, Courvalin PM, Dunne GM, Murray BE, Rice LB. *The Enterococci: Pathogenesis. Molecular Biology and Antibiotic Resistance.* Washington, DC: ASM Press. 2002.
54. Rôças IN, Siqueira Jr JF, Santos KR. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *Journal of endodontics*. 2004; 30: 315-20.
55. Portenier I, Waltimo T, Ørstavik D, Haapasalo M. The susceptibility of starved, stationary phase, and growing cells of *Enterococcus faecalis* to endodontic medicaments.
56. Nair P. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *International endodontic journal*, 2006;39(4):249-281.
57. Love RM. *Enterococcus faecalis*—a mechanism for its role in endodontic failure. *Int Endod J*. 2001;34(5):399-405.
58. Dunne G M. Genetic functions and cell-cell interactions in the pheromone-inducible plasmid transfer system of *Enterococcus faecalis*. *Molecular microbiology*, 1990;4(5):689-696.
59. Clewell D B. Bacterial sex pheromone-induced plasmid transfer. *Cell*, 1993;73(1):9-12.
60. Chow J W, Thal L A, Perri M B, Vazquez J A, Donabedian S M, Clewell D B, et al. Plasmid-associated hemolysin and aggregation substance production contribute to virulence in experimental enterococcal endocarditis. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 1993;37(11):2474-2477.
61. Haapasalo M, Ørstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res*, 1987;66(8):1375-1379.
62. Siqueira Junior JF, Rôças IDN, Marceliano-Alves MF, Pérez AR, Ricucci D. Unprepared root canal surface areas: causes, clinical implications, and therapeutic strategies. *Braz Oral Res*. 2018;32:e65.

63. Nogo-Zivanovic D, Bjelovic L, Ivanovic V, Kanjevac T, Tanaskovic I. Consideration of the Therapeutic Potential of Irrigants in Endodontic Therapy. *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research*. 2018; 19: 103-12.
64. Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, Bakland LK. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002;94(6):658–66.
65. (Shokouhinejad N, Hoseini A, Gorjestani H, Shamshiri AR. The effect of different irrigation protocols for smear layer removal on bond strength of a new bioceramic sealer. *Iran Endod J*. 2013;8(1):10–3.
66. Navarro-Escobar E, González-Rodríguez M-P, Ferrer-Luque C-M. Cytotoxic effects of two acid solutions and 2.5% sodium hypochlorite used in endodontic therapy. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2010; 15: 90-4.
67. Kandaswamy D, Venkateshbabu N. Root canal irrigants. *Journal of conservative dentistry: JCD*. 2010; 13: 256.
68. Zehnder, “Root canal irrigants,” *Journal of Endodontics*, vol. 32, no. 5, pp. 389–398, 2006.
69. Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spano JC, Marchesan MA, Pecora JD. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Brazilian dental journal*. 2002; 13: 113-7.
70. Mohammadi Z. Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. *International dental journal*. 2008; 58: 329-41.
71. Clarkson RM, Podlich HM, Moule AJ. Influence of ethylenediaminetetraacetic acid on the active chlorine content of sodium hypochlorite solutions when mixed in various proportions. *Journal of endodontics*. 2011; 37: 538-43.
72. Williamson AE, Cardon JW, Drake DR. Antimicrobial susceptibility of monoculture biofilms of a clinical isolate of *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2009; 35(1): 95-7
73. Boutsoukis, C., Psimma, Z. & van der Sluis, L.W. (2013) Factors affecting irrigant extrusion during root canal irrigation: a systematic review. *International Endodontic Journal*, 46, 599– 618.

74. Kleier, D.J., Averbach, R.E. & Mehdipour, O. (2008) The sodium hypochlorite accident: experience of diplomates of the American Board of Endodontics. *Journal of Endodontics*, 34, 1346–1350
75. Serper A, Ozbek M, Calt S. Accidental sodium hypochlorite-induced skin injury during endodontic treatment. *J Endod* 2004; 30(3): 180-1
76. El karim, J. Kennedy, and D. Hussey, “The antimicrobial effects of root canal irrigation and medication,” *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, vol. 103, no. 4, pp. 560–569, 2007.
77. Neuhaus, K.W., Liebi, M., Stauffacher, S., Eick, S. & Lussi, A. (2016) Antibacterial efficacy of a new sonic irrigation device for root canal disinfection. *Journal of Endodontics*, 42, 1799-1803.
78. Rodig, T., Sedghi, M., Konietzschke, F., Lange, K., Ziebolz, D. & Hulsmann, M. (2010) Efficacy of syringe irrigation, RinsEndo and passive ultrasonic irrigation in removing debris from irregularities in root canals with different apical sizes. *International Endodontic Journal*, 43, 581-589.
79. De-Deus, G., Belladonna, F.G., de Siqueira Zuolo, A., Perez, R., Carvalho, M.S., Souza, E.M. et al. (2019) Micro-CT comparison of XP-endo Finisher and passive ultrasonic irrigation as final irrigation protocols on the removal of accumulated hard-tissue debris from oval shaped-canals. *Clinical Oral Investigations*, 23, 3087-3093.
80. Ruksakiet K, Hanák L, Farkas N, Hegyi P, Sadaeng W, Czumbel LM, Sang-Ngoen T, Garami A, Mikó A, Varga G, Lohinai Z. Antimicrobial Efficacy of Chlorhexidine and Sodium Hypochlorite in Root Canal Disinfection: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *J Endod*. 2020 Aug;46(8):1032-1041.
81. R.A.Sardaa , R.M.Shettyb, A.Tamrakarc, S.Y.Shetty. Antimicrobial efficacy of photodynamic therapy, diode laser, and sodium hypochlorite and their combinations on endodontic pathogens. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* Volume 28, December 2019, Pages 265-272
82. Chandrashekar Murugesh Yavagal, Viplavi Chavan Patil, Puja Chandrashekar Yavagal, N Kiran Kumar, Madhu Hariharan, Sachin B Mangalekar. Efficacy of Laser Photoacoustic Streaming in Paediatric Root

- Canal Disinfection - An Ex-Vivo Study. *Contemp Clin Den.* Jan-Mar 2021;12(1):44-48.
83. Shan Sainudeen, Veena S Nair, Mohammad Zarbah, Anshad Mohamed Abdulla, Chawre Mustufa Najeeb, Sivadas Ganapathy. Can Herbal Extracts Serve as Antibacterial Root Canal Irrigating Solutions? Antimicrobial Efficacy of *Tylophora indica*, *Curcumin longa*, *Phyllanthus amarus*, and Sodium Hypochlorite on *Enterococcus faecalis* Biofilms Formed on Tooth Substrate: In Vitro Study. *J Pharm Bioallied Sci.* 2020 Aug;12(Suppl 1):S423-S429.
 84. West JD, Roane J, Goerig A. Pathways of the pulp: Cleaning and shaping the root canal system. 6th ed. St. Louis, Mosby, 1994.
 85. Hulsmann M, Heckendorff M, Lennon A. Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use. *International endodontic journal.* 2003; 36: 810-30.
 86. R. Garberoglio and C. Becce, "Smear layer removal by root canal irrigants. A comparative scanning electron microscopic study," *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, vol. 78, no. 3, pp. 359–367, 1994
 87. Basrani B, Haapasalo M. Update on endodontic irrigating solutions. *Endodontic topics.* 2012;27(1):74-102.
 88. Stewart GG, Cobe HM, Rappaport H. A study of a new medicament in the chemomechanical preparation of infected root canals. *The Journal of the American Dental Association.* 1961;63(1):33-7.
 89. Grawehr M, Sener B, Waltimo T, Zehnder M. Interactions of ethylenediamine tetraacetic acid with sodium hypochlorite in aqueous solutions. *International Endodontic Journal.* 2003;36(6):411-5
 90. Daniela Alejandra Cusicanqui Méndez, Maricel Rosario Cardenas Cuélla, Victor Feliz Pedrinha, Evelyn Giuliana Velásquez Espedilla, Flaviana Bombarda de Andrade, Patrícia de Almeida, Thiago Cruvinel. Effects of curcumin-mediated antimicrobial photodynamic therapy associated to different chelators against *Enterococcus faecalis* biofilms. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2021 Sep; 35:102464.

91. Nidambur Vasudev Ballal, Himanshu Jain, Sheetal Rao, Alexander D Johnson, John Baeten, James F Wolcott. Evaluation of SmearOFF, maleic acid and two EDTA preparations in smear layer removal from root canal dentin. *Acta Odontol Scan.* 2019 Jan;77(1):28-32.
92. Linyi Liu, Sha Leng, Linqiao Tang, Qian Lu, Weizhe Xu, Xuelian Tan, Dingming Huang, Lan Zhang. EDTA Promotes the Mineralization of Dental Pulp In Vitro and In Vivo. *J Endod.* 2021 Mar;47(3):458-465.
93. Basrani B. Chlorhexidine gluconate. *Australian Endodontic Journal.* 2005;31(2):48-52.
94. Tomás I, Rubido S, Donos N. In situ antimicrobial activity of chlorhexidine in the oral cavity. *Formatex* 2011;530-541.
95. Basrani B, Tjaderhane L, Santos JM, Pascon E, Grad H, Lawrence HP, et al. Efficacy of chlorhexidine and calcium hydroxide-containing medicaments against *Enterococcus faecalis* in vitro. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*
96. Vianna ME, Gomes BP, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004;97:79-84.
97. Hülsmann M, Rödig T, Nordmeyer S. Complications during root canal irrigation. *Endodontic Topics.* 2007;16(1):27-63.
98. Krishnamurthy S, Sudhakaran S. Evaluation and prevention of the precipitate formed on interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine. *Journal of Endodontics.* 2010;36(7):1154-7.
99. E. Kalyoncuoglu et al. Evaluation of antifungal efficacy of QMix 2 in 1 as a final irrigant: An in vitro study. *Niger J Clin Pract.* 2016
100. Dakshita Joy Sinha, Kanwar D S Nandha, Natasha Jaiswal, Agrima Vasudeva, Shashi Prabha Tyagi. Antibacterial Effect of *Azadirachta indica* (Neem) or *Curcuma longa* (Turmeric) against *Enterococcus faecalis* Compared with that of 5% sodium hypochlorite or 2% chlorhexidine in vitro. *Bull Tokyo Dent Coll.* 2017;58(2):103-109.

101. Zhang W, Torabinejad M, Li Y. Evaluation of cytotoxicity of MTAD using the MTT-tetrazolium method. *J Endod* 2003; 29(10): 654-7.
102. Torabinejad M, Shabahang S, Aprecio RM, Kettering JD. The antimicrobial effect of MTAD: an in vitro investigation. *Journal of Endodontics*. 2003;29(6):400-3.
103. T. K. Machnick, M. Torabinejad, C. A. Munoz, and S. Shabahang, "Effect of MTAD on flexural strength and modulus of elasticity of dentin," *Journal of Endodontics*, vol. 29, no. 11, pp. 747–750, 2003.
104. A. Zamany, K. Safavi, and L. S.W. Spångberg, "The effect of chlorhexidine as an endodontic disinfectant," *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, vol. 96, no. 5, pp. 578–581, 2003.
105. Behnam Bolhari , Abbas Bahador , Mehrfam Khoshkhounejad , Mahsa Sobhi Afshar , Mohammad Moghaddaszadeh . Evaluation of the Effect of MTAD on Expression of Enterococcus faecalis Virulence Factors Considering the Role of Different Obturating Materials. *J Dent Tehran*. 2018 Nov;15(6):382-392.
106. Nehal F Sharaf et al. The Comparative Evaluation of the Post Antimicrobial Effect of MTAD and %2 Chlorhexidine against Enterococcus faecalis of Permanent Teeth with Necrotic Pulp. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences* 2019
107. Giardino, L; Estrela, C; Generali, L; Mohammadi, Z; Asgary, S. The in vitro effect of irrigants with low surface tension on Enterococcus faecalis. *Iran Endod J* 2015;10:174-178.
108. Luciano Giardino, Flaviana Bombarda de Andrade, Riccardo Beltrami. Antimicrobial Effect and Surface Tension of Some Chelating Solutions with Added Surfactants. *Braz. Dent. J.* 27 (5) • Sep-Oct 2016
109. Giardino L, Ambu E, Savoldi E, Rimondini L, Cassanelli C, Debbia EA. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of sodium hypochlorite, MTAD, and Tetraclean against Enterococcus faecalis biofilm. *J Endod* 2007; 33: 852-855.

110. Zahed Mohammadi, Sousan Shalavi, Luciano Giardino, Flavio Palazzi. Effect of irrigation with Tetraclean on bacterial leakage of obturated root canals. N Y State Dent 2014 Apr;80(3):39-43.
111. Svec TA, Harrison JW. Chemomechanical removal of pulpal and dentinal debris with sodium hypochlorite and hydrogen peroxide versus normal saline solution. J Endod 3:49,1977.
112. West JD, Roane JB. Cleaning and shaping in the root canal system. In: Cohen S, Burns RC. Pathways of the pulp, 7th Ed. The C.V. Mosby Co St Louis, 1998:203-257
113. Patterson CJW, Mc Lundie AC: Apical penetration by a root canal irrigant: a case report. Int Endod J. 1989;22:197-199.
114. Chong BS, Pitt Ford TR. The role of intracanal medication in root canal treatment. Int Endod J. 1992;25:97-106.
115. Sevan Harzivartyan, Afife Binnaz Hazar, Nevin Kartal, Zühre Hale Cimilli. Evaluation of different irrigation solutions and activation methods on removing calcium hydroxide. J Dent Sci. 2021 Mar;16(2):700-705.
116. Sjögren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short term intracanal dressing. Int Endod J, 1991; 24: 119-125.
117. Murray PE, Farber RM, Namerow KN, Kuttler S, Garcia-Godoy F. Evaluation of Morinda citrifolia as an endodontic irrigant. J Endod 2008;34(1): 66-70
118. Manjunatha M, Kini A. Botanicals in endodontics: A review. Journal of Advanced Clinical and Research Insights, 2016;3(5):173-17.
119. Horiba N, Maekawa Y, Ito M, Matsumoto T, Nakamura H. A pilot study of Japanese green tea as a medicament: antibacterial and bactericidal effects. Journal of endodontics. 1991;17(3):122-
120. Tewari RK, Kapoor B, Mishra SK, Kumar A. Role of herbs in endodontics. Journal of Oral Research and Review, 2016;8(2):95
121. Fatemeh Ramezanali , Shiva Samimi , Mohammadjavad Kharazifard , Farzaneh Afkhami. The in Vitro Antibacterial Efficacy of Persian Green Tea

- Extract as an Intracanal Irrigant on *Enterococcus faecalis* Biofilm. *Iran Endod J.* Fall 2016;11(4):304-308.
122. Silva FB, Almeida JM, Sousa SMG. Natural medicaments in endodontics: a comparative study of the antiinflammatory action. *Brazilian oral research*, 2004;18(2):174-179.
 123. Jose J, Shoba K, Aman S, Tomy N, Sheena, Christi Comparative evaluation of antimicrobial activity of green tea extract, garlic extract, neem leaf extract and sodium hypochlorite as root canal irrigants against *E. faecalis* and *C. albicans* an in vitro study. *Int J Curr Microbiol Appl Sci.* 2015;4:384–91
 124. .Kayaoglu G, Ömürlü H, Akca G, Gürel M, Gençay Ö, Sorkun K, et al. Antibacterial activity of Propolis versus conventional endodontic disinfectants against *Enterococcus faecalis* in infected dentinal tubules. *Journal of endodontics*, 2011;37(3):376-381.
 125. Duarte S, Gregoire S, Singh AP, et al. Inhibitory effects of cranberry polyphenols on formation and acidogenicity of *Streptococcus mutans* biofilms. *FEMS Microbiol Lett* 2006; 257(1): 50-6.
 126. Oncag O, Cogulu D, Uzel A, Sorkun K. Efficacy of propolis as an intracanal medicament against *Enterococcus faecalis*. *Gen Dent.* 2006 Sep-Oct;54(5):319–322.
 127. Nara A, Dhanu, Chandra P, Anandakrishna L, Dhananjaya. Comparative Evaluation of Antimicrobial Efficacy of MTAD, 3% NaOCI and Propolis Against *E Faecalis*. *Int J Clin Pediatr Dent.* 2010 Jan-Apr;3(1):21-5.
 128. Agrawal V, Kapoor S, and Agrawal I. Critical review on eliminating endodontic dental infections using herbal products. *Journal of dietary supplements*, 2017;14(2):229-240.
 129. Veerale Panchal , Deepa Gurunathan , N P Muralidharan. Comparison of antibacterial efficacy of cinnamon extract, neem extract as irrigant and sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis*: An in vitro study. *Indian J Dent Res.* Jan-Feb 2020;31(1):124-128.
 130. Penumudi SM, Mandava RB, Disha DS, Santhi V, Swetha B, Gandhi B. Antimicrobial Efficacy of Herbs in Endodontics. *Journal of Advanced Oral Research.* 2015;6(1):9-12.

131. Pujar M, Patil C, Kadam A. Comparison of antimicrobial efficacy of Triphala, (GTP) Green tea polyphenols and 3% of sodium hypochlorite on *Enterococcus faecalis* biofilms formed on tooth substrate: In vitro. *J Int Oral Health* 2011;3:23-9.
132. Estrela C, Holland R, Bernabé PF, de Souza V, Estrela CR. Antimicrobial potential of medicaments used in healing process in dogs teeth with apical periodontitis. *Braz Dent J* 2004; 15(3): 181-5.
133. Dornelles-Morgental R, Guerreiro-Tanomaru JM, de Faria-Júnior NB, Hungaro-Duarte MA, Kuga MC, Tanomaru-Filho M. Antibacterial efficacy of endodontic irrigating solutions and their combinations in root canals contaminated with *Enterococcus faecalis*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011 Sep;112(3):396-400.
134. Guzman AV, Guzman MGS. The enzymatic debridement of suppurations, necrotic lesions and burns with papain. *J Int Coll Surg*, 20(6):695–702, 1953.
135. Udok VM, Storojuk VT. Use of papain in treating suppurative postoperative soft tissue complications and diases. *Khirurgia.* 19, (5): 99–101, 1981.
136. Pereira SA, Silva LR, Motta LJ, Bussadori SK. Remoção químico-mecânica da cárie por meio do gel Papacárie. *RGO*, 52(5): 385–88, 2004
137. Ericson D, Zimmerman M, Raber H, Gotrick B, Bornstein R & Thorell J. Clinical evaluation of efficacy and safety of a new method for chemomechanical removal of caries. *Caries Res*;33:171-177. 1999
138. Inamdar MS, Chole DG, Bakle SS, Gandhi NP, Hatte NR, Rao MP. Comparative evaluation of BRIX3000, CARIE CARE, and SMART BURS in caries excavation: An in vivo study. *J Conserv Dent.* 2020 Mar-Apr;23(2):163-168. doi: 10.4103/JCD.JCD_269_20. Epub 2020 Nov 5. PMID: 33384489; PMCID: PMC7720760.
139. Mafaz Mahdi Muhsin Ismail, Aseel Haidar M.J. Al Haidar. Evaluation of the Efficacy of Caries Removal Using Papain Gel (Brix 3000) and Smart Preparation Bur. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* · April 2019

140. Maru VP, Padawe D, Tripathi VP, Takate V, Dighe K, Vishwanath Dalvi S. Reduction in Bacterial Loading using Papacarie and Carisolv as an Irrigant in Pulpectomized Primary Molars - A Preliminary Report. *J Clin Pediatr Dent*. 2020;44(3):174-179. doi: 10.17796/1053-4625-44.3.7. PMID: 32644890.
141. Al-Kilani MG, Whitworth JM, Dummer PM. Preliminary in vitro evaluation of Carisolv as a root canal irrigant. *Int Endod J*;36:433-40. 2003
142. Ravi KM. A review of chitin and chitosan applications. *React Funct Polym* 2000;46:1-27.
143. Ong TH, Chitra E, Ramamurthy S, Siddalingam RP, Yuen KH, Ambu SP, et al. Chitosan-propolis nanoparticle formulation demonstrates anti-bacterial activity against *Enterococcus faecalis* biofilms. *PLoS ONE*. 2017;12(3)
144. Zeza B, Wohlfahrt C, Piloni A. Chitosan brush for professional removal of plaque in mild peri-implantitis. *Minerva Stomatol*. 2017 Aug;66(4):163-168. doi: 10.23736/S0026-4970.17.04040-7. Epub 2017 May 10. PMID: 28497660.
145. Pippi R, Santoro M, Cafolla A. The Use of a Chitosan-Derived Hemostatic Agent for Postextraction Bleeding Control in Patients on Antiplatelet Treatment. *J Oral Maxillofac Surg*. 2017 Jun;75(6):1118-1123. doi: 10.1016/j.joms.2017.01.005. Epub 2017 Jan 18. PMID: 28189659.
146. Shukla SK, Mishra AK, Arotiba OA, Mamba BB. Chitosan-based nanomaterials: a state-of-the-art review. *Int J Biol Macromol*. 2013 Aug;59:46-58. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.04.043. Epub 2013 Apr 19. PMID: 23608103.
147. Lopez-Lopez J, Jan-Pallí E, Ibez-Navarro BG, Jané-Salas E, Estrugo-Devesa A, Milani M. Efficacy of chlorhexidine, dexpantenol, allantoin and chitosan gel in comparison with bicarbonate oral rinse in controlling post-interventional inflammation, pain and cicatrization in subjects undergoing dental surgery. *Curr Med Res Opin*. 2015 Dec;31(12):2179-83. doi: 10.1185/03007995.2015.1108909. Epub 2015 Nov 4. Erratum in: *Curr Med Res Opin*. 2016;32(2):395. Lopez-Lopez, Jose [corrected to Lopez-Lopez, Jose]; González-Navarro, Beatriz [corrected to Ibez-Navarro, Beatriz Gonzá]. PMID: 26471464.

148. Darabpour E, Kashef N, Mashayekhan S. Chitosan nanoparticles enhance the efficiency of methylene blue- mediated antimicrobial photodynamic inactivation of bacterial biofilms: An in vitro study. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2016 Jun; 14:211-7.
149. Perinelli DR, Fagioli L, Campana R, Lam JKW, Baffone W, Palmieri GF et al. Chitosan based nanosystems and their exploited antimicrobial activity. *Eur J Pharm Sci.* 2018 May 30;117:8-20.
150. Waleed O. Amin Kadour, Mohamed Abu El-Maaty Mohamed Abu El-Hasan, Ibrahim Farouk Barakat. Antibacterial effect of chitosan and low-level diode laser against enterococcus faecalis in infected root canals in primary molars. *Al-Azhar Journal of Dental Science Vol. 25- No. 3- 347:352- July 2022*
151. Gurveen Kaur, T Vinay Kumar Reddy, Kondas Vijay Venkatesh, Krishnan Mahalakshmi. Effects of chitosan oligosaccharide and calcium hypochlorite on E. Faecali dentinal biofilm and smear layer removal - SEM analysis. *Indian journal of dental research.* 550-556.2020
152. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, Tille PM, 13th Ed, Elsevier, 2014
153. Medical Microbiology; Murray, Rosenthal, Pfaller; 7th Ed; Elsevier Saunders; 2013
154. Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology; 27 th Ed; McGraw Hill Lange; 2016
155. Asha Nara , Dhanu , Prakash Chandra , Latha Anandakrishna , Dhananjaya. Comparative Evaluation of Antimicrobial Efficacy of MTAD, 3% NaOCl and Propolis Against E Faecalis. *Int J Clin Pediatr Dent . Jan-Apr ;3(1):21-5.2010*
156. N B Keskin , Z U Aydın , G Uslu , T Özyürek , D Erdönmez , M Gündoğar .Antibacterial efficacy of copper-added chitosan nanoparticles: a confocal laser scanning microscopy analysis. *Odontology Oct;109(4):868-873 2021.*
157. Banu Öter , Nursen Topçuog Lu , Mehmet K Tank , Sevi Burçak Çehreli. Evaluation of Antibacterial Efficiency of Different Root Canal Disinfection Techniques in Primary Teeth. *Photomed Laser Surg. Apr;36(4):179-184 2018.*

158. Nehal Nabil Roshdy , Engy M Kataia , Neveen A Helmy. Assessment of antibacterial activity of 2.5% NaOCl, chitosan nano-particles against *Enterococcus faecalis* contaminating root canals with and without diode laser irradiation: an in vitro study. *Acta Odontol Scand* Jan;77(1):39-43;2019.
159. Tanriverdi F, Esener T, Erganiş O, Belli S. An in vitro test model for investigation of disinfection of dentinal tubules infected with *Enterococcus faecalis*. *Braz Dent J*. 8(2):67-72;1997.
160. Jeansonne Mj, White Rr. A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. *J Endod*,20,276-278;1994.
161. Erganiş O, Öztürk A. Oral mikrobiyoloji ve immünoloji. Nobel tıp kitapevi. 2003.
162. Arda M. Temel Mikrobiyoloji: Genişletilmiş İkinci Baskı. 2. Baskı, Ankara, Medisan Yayın Serisi, 2000: 1-548
163. Lee Y, Han SH, Hong SH, Lee JK, Ji H, Kum KY. Antimicrobial efficacy of a polymeric chlorhexidine release device using in vitro model of *Enterococcus faecalis* dentinal tubule infection. *J Endod*. 2008;34:855-8.
164. Heling I, Chandler P. Antimicrobial effect of irrigant combinations within dentinal tubules. *Int Endod J*. 1998;31: 8-14.
165. Baron Ej, Peterson Lr, Finegold Sm. Methods for testing antimicrobial effectiveness. In: Bailey and Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. (pp 168-193). St. Louis: Mosby-Year Book, Inc. 1994
166. M Sarkees, K Al- Maarrawi. Chitosan: A natural substitute of EDTA solution for final irrigation in endodontics treatment. *Niger J Clin Pract* 2020 May;23(5):697-703
167. Caron G, Nham K, Bronnec F, Machtou P. Effectiveness of different finalirrigant activation protocols on smear layer removal in curved canals. *J Endod*. 2010;36(8):1361-1366.
168. Yasuda Y, Kawamorita T, Yamaguchi H, Saito T. Bactericidal effect of Nd:YAG and Er:YAG lasers in experimentally infected curved root canals. *Photomed Laser Surg*. 2010;28(2):75-78.

169. Valera MC, Maekawa LE, de Oliveira LD, Jorge AO, Shygei É, Carvalho CA. Invitro antimicrobial activity of auxiliary chemical substances and natural extracts on *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis* in root canals. *Journal of applied oral science*, 2013, 21: 118-123
170. Parashar V, Khan SA, Singh P, Sharma S, Kumar A. Effect of Intracanal Medicaments on Microhardness off Root Dentine: An In Vitro Study. *J Contemp Dent Pract*. 2020 Jun 1;21(6):632-635.
171. Noushad MC, Balan B, Basheer S, Usman SB, Muhammed Askar MK. Antimicrobial Efficacy of Different Natural Extracts Against Persistent Root Canal Pathogens: An In vitro Study. *Contemp Clin Dent*. 2018 Apr-Jun;9(2):177-181.
172. Agarwal S, Tyagi P, Deshpande A, Yadav S, Jain V, Rana KS. Comparison of antimicrobial efficacy of aqueous ozone, green tea, and normal saline as irrigants in pulpectomy procedures of primary teeth. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, 2020, 38: 164.
173. Natasha Jaiswal, Dakshita-Joy Sinha, Udai-Pratap Singh, Kanwardeep Singh, Urja-Ahuja Jandial, Shivika Goel. Evaluation of antibacterial efficacy of Chitosan, Chlorhexidine, Propolis and Sodium hypochlorite on *Enterococcus faecalis* biofilm: An in vitro study. *J Clin Exp Dent*. 2017;9(9):e1066-74.
174. Yadav P, Chaudhary S, Saxena RK, Talwar S, Yadav S. Evaluation of Antimicrobial and Antifungal efficacy of Chitosan as endodontic irrigant against *Enterococcus Faecalis* and *Candida Albicans* Biofilm formed on tooth substrate. *J Clin Exp Dent*. 2017 Mar 1;9(3):e361-e367.
175. Zeliha Uğur Aydin, Kerem Engin Akpınar, Ceylan Hepokur, Demet Erdönmez. Assessment of toxicity and oxidative DNA damage of sodium hypochlorite, chitosan and propolis on fibroblast cells. *Braz Oral Res* . 2018 Nov 29;32:e119.
176. Farahnaz Sharafeddin, Mohammad Hossein Yazdanpanah, Zahra Jowkar. Evaluation of the Effects of Bromelain and Papain Enzymes on Shear Bond Strength of Composite Resin to Enamel. *Int J Dent*. 2021 Jul 12;2021:3233639.

177. Laura Shen Y, Stojicic S, Haapasalo M. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine against bacteria in biofilms at different stages of development. *J Endod*. 2011;37(5):657- 661.
178. Valera MC, Chung A, Menezes MM, Fernandes CE, Carvalho CA, Camargo SE, Camargo CH. Scanning electron microscope evaluation of chlorhexidine gel and liquid associated with sodium hypochlorite cleaning on the root canal walls. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010;110(5):e82-87.
179. Lee W, Lim S, Son HH, Bae KS. Sonicated extract of *Enterococcus faecalis* induces irreversible cell cycle arrest in phytohemagglutinin-activated human lymphocytes. *J Endod*, 2004; 30(4): 209-212 Bastos, Francine Lorencetti Silva, João Pedro de Queiroz Thomé, Maya Fernanda Manfrin Arnez, Lúcia Helena Faccioli, Francisco Wanderley Garcia Paula-Silva. Effects of Papain-Based Gel Used For Caries Removal on Macrophages and Dental Pulp Cells. *Braz Dent J*. 2019 Oct 7;30(5):484-490
180. Alkhouli MM, Al Nesser SF, Bshara NG, AlMidani AN, Comisi JC. Comparing the efficacies of two chemo-mechanical caries removal agents (2.25% sodium hypochlorite gel and brix 3000), in caries removal and patient cooperation: A randomized controlled clinical trial. *J Dent*. 2020 Feb;93:103280.
181. Mohammed SA, Vianna ME, Penny MR, Hilton ST, Mordan N, Knowles JC. A novel experimental approach to investigate the effect of different agitation methods using sodium hypochlorite as an irrigant on the rate of bacterial biofilm removal from the wall of a simulated root canal model. *Dent Mater*, 2016; 32(10): 1289-1300
182. Di Wu , Yong-Zhen Ma , Jing Jia , Bing-Chang Xin , Da-Shan Wang , De-Gang Sun , Ling-Xiang Wang. Removal of the root canal smear layer using Carisolv III and sodium hypochlorite. *Medicine (Baltimore)*. 2020 May 29;99(22):e20372.
183. Ibrahim Barakat , Mohamed A ElPatal , AlWaleed Abushanan , Bahaa Eldin Anwar Abd Elrady. Antibacterial Effect of Metronidazole vs Chlorhexidine

- Solutions in Treatment of Root Canals of Primary Anterior Teeth. *J Contemp Dent Pract.* 2020 Apr 1;21(4):396-399.
184. Farasat Moradi, Roza Haghgoo. Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Nanosilver Solution, Sodium Hypochlorite and Normal Saline in Root Canal Irrigation of Primary Teeth. *Contemp Clin Dent.* 2018 Sep; 9(Suppl 2): S227–S232.
 185. Camila Regina Maciel Martins, Marcelo Ventura de Andrade, Ana Paula Carvalho, Rafael Martins Afonso Pereira, Carmela Rampazzo Bresolin, Anna Carolina Volpi Mello-Moura, José Carlos Pettorossi Imparato. Photodynamic therapy associated final irrigation in root canals of the primary teeth. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2021 Mar;33:102182
 186. Townsend C, Maki J. An in vitro comparison of new irrigation and agitation techniques to ultrasonic agitation in removing bacteria from a simulated canal. *J Endod*, 35:1040-1043, 2009
 187. .Miller TA, Baumgartner JC. Comparison of the antimicrobial efficacy of irrigation using the EndoVac to endodontic needle delivery. *J Endod*, 36:509-511, 2010.
 188. Pasqualini D, Cuffini AM, Scotti N, Mandras N, Scalas D, Pera F, Berutti E. Comparative evaluation of the antimicrobial efficacy of a 5% sodium hypochlorite subsonic-activated solution. *J Endod*, 36:1358-1360, 2010.
 189. Sang Wan Kim, Dong Hoon Shin. Antibacterial effect of urushiol on *E. faecalis* as a root canal irrigant. *Restor Dent Endod* 2017 Feb; 42(1) 54-59
 190. Brito PR, Souza LC, Machado de Oliveira JC, Alves FR, De-Deus G, Lopes HP, Siqueira JF Jr. Comparison of the effectiveness of three irrigation techniques in reducing intracanal *Enterococcus faecalis* populations: an in vitro study. *J Endod*, 35:1422-1427, 2009.
 191. Bhuva B, Patel S, Wilson R, Niazi S, Beighton D, Mannocci F . The effectiveness of passive ultrasonic irrigation on intraradicular *Enterococcus faecalis* biofilms in extracted single-rooted human teeth. *Int Endod J*, 43:241-250, 2010.

192. Barr E, Kleier D, Barr N. Use of nickel titanium rotary files for root canal preparation in primary teeth. *Pediatric Dentistry*, 2000;22:77-78.
193. Wauters T, Wauters J. Should the dentin smear layer be preserved or eliminated? (Review of the literature). *Rev Belge Med Dent* (1984) 2000; 55(2): 93-103
194. Orstavik D, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endod Dent Traumatol* 1990; 6(4): 142- 149.
195. Mercade M, Duran-Sindreu F, Kuttler S, Roig M, Durany N () Antimicrobial efficacy of 4.2% sodium hypochlorite adjusted to pH 12, 7.5, and 6.5 in infected human root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 107(2): 295-298.
196. Spoleti P, Siragusa M, Spoleti MJ. Bacteriological evaluation of passive ultrasonic activation. *J Endod*, 29:12-14, 2003.
197. Gründling GL, Zechin JG, Jardim WM, de Oliveira SD, de Figueiredo JA. Effect of ultrasonics on *Enterococcus faecalis* biofilm in a bovine tooth model. *J Endod*, 37:1128-1133, 2011.
198. Paranjpe A, de Gregorio C, Gonzalez AM, Gomez A, Silva Herzog D, Piña AA, Cohenca N. Efficacy of the self-adjusting file system on cleaning and shaping oval canals: a microbiological and microscopic evaluation. *J Endod*, 38:226-231, 2012.
199. Shen Y, Stojicic S, Haapasalo M. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine against bacteria in biofilms at different stages of development. *J Endod*. 2011;37(5):657- 661.
200. Alves FR, Almeida BM, Neves MA, Rôças IN, Siqueira JF Jr. Time-dependent antibacterial effects of the self-adjusting file used with two sodium hypochlorite concentrations. *J Endod*, 37:1451-5, 2011.
201. Jagriti Kushwah, Ranul Mishra, Vishal Bhadauria. Antibacterial Efficacy of Sodium Hypochlorite, Ozonated Water, and 980 nm Diode Laser Used for Disinfection of Root Canal against *Enterococcus faecalis*: A Microbiological Study. *Int J Clin Pediatr Dent*. Nov-Dec 2020;13(6):694-699

202. Abhishek Parolia , Haresh Kumar , Srinivasan Ramamurthy , Fabian Davamani , Allan Pau. Effectiveness of chitosan-propolis nanoparticle against *Enterococcus faecalis* biofilms in the root canal. BMC Oral Health. 2020 Nov 25;20(1):339
203. Jelena Marinković, Biljana Nikolić , Tatjana Marković, Milena Radunović , Jugoslav Ilić , Marko Bošković, Ana Ćirić, Dejan Marković. Cymbopogon citratus essential oil: an active principle of nanoemulsion against *Enterococcus faecalis* root canal biofilm. Future Microbiol. 2021 Aug;16:907-918.
204. Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, González-Rodríguez MP, Valderrama MJ, Baca P. Eradication of *Enterococcus faecalis* biofilms by cetrimide and chlorhexidine. J Endod, 36:87-90, 2010.
205. Chávez de Paz LE, Bergenholtz G, Svensäter G. The effects of antimicrobials on endodontic biofilm bacteria. J Endod, 36:70-77, 2010.
206. Ozdemir HO, Buzoglu HD, Calt S, Stabholz A, Steinberg D. Effect of ethylenediaminetetraacetic acid and sodium hypochlorite irrigation on *Enterococcus faecalis* biofilm colonization in young and old human root canal dentin: in vitro study. J Endod, 36:842-846, 2010.
207. Prashant Bhasin , Mohit Sharma, Deepti Bindal, Deepak Tomar, Anurag Sari, Naren Sharma. An In Vitro Evaluation of Antimicrobial Effects of Three Different Root Canal Irrigating Solutions against *Enterococcus faecalis* and *Streptococcus mutans*. J Contemp Dent Pract. 2019 Feb 1;20(2):221-225.
208. Kiran Rahul Halkai, Jayashree A. Mudda, Vasundhara Shivanna, Vandana Rathod, and Rahul Halkai. Antibacterial Efficacy of Biosynthesized Silver Nanoparticles against *Enterococcus faecalis* Biofilm: An in vitro Study. Contemp Clin Dent. Apr-Jun 2018;9(2):237-241.
209. C. T. Rodrigues, F. B. de Andrade, L. R. S. M. de Vasconcelos, R. Z. Midena, T. C. Pereira, M. C. Kuga, M. A. H. Duarte, N. Bernardineli. Antibacterial properties of silver nanoparticles as a root canal irrigant against *Enterococcus faecalis* biofilm and infected dentinal tubules. Int Endod J . 2018 Aug;51(8):901-911

210. Thomas S, Asokan S, John B, Priya G, Kumar S. Comparison of Antimicrobial Efficacy of Diode Laser, Triphala, and Sodium Hypochlorite in Primary Root Canals: A Randomized Controlled Trial. *International journal of clinical pediatric dentistry*, 2017, 10: 14-17.
211. Dametto FR, Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, de Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the immediate and prolonged antimicrobial action of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant against *Enterococcus faecalis*. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 2005, 99: 768-772
212. Kuştarci A, Sümer Z, Altunbaş D, Koşum S. Bactericidal effect of KTP laser irradiation against *Enterococcus faecalis* compared with gaseous ozone: an ex vivo study. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 2009, 107: 73-79.
213. Mercade M, Duran-Sindreu F, Kuttler S, Roig M, Durany N. Antimicrobial efficacy of 4.2% sodium hypochlorite adjusted to pH 12, 7.5, and 6.5 in infected human root canals. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 2009, 107: 295-298.
214. Alves, F. R., Siqueira, J. F., Jr., Carmo, F. L., Santos, A. L., Peixoto, R. S., Rocas, I.N., & Rosado, A. S. Bacterial community profiling of cryogenically ground samples from the apical and coronal root segments of teeth with apical periodontitis. *J Endod*; 2009 35(4), 486-492.
215. Siqueira JF Jr, de Uzeda M. Intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. *J Endod* 1997; 23(3): 167-169.
216. Zapata RO, Bramante CM, de Moraes IG, Bernardineli N, Gasparoto TH, Graeff MS, Campanelli AP, Garcia RB. Confocal laser scanning microscopy is appropriate to detect viability of *Enterococcus faecalis* in infected dentin. *Journal of Endodontics*, 2008, 34: 1198-1201. 865-870.
217. Pedulla, E., Genovese, C., Campagna, E., Tempera, G., & Rapisarda, E. Decontamination efficacy of photon-initiated photoacoustic streaming (PIPS) of

- irrigants using low-energy laser settings: an ex vivo study. *Int Endod J*, 2012; 45(9)
218. Sedgley CM, Nagel AC, Hall D, Applegate B. Influence of irrigant needle depth in removing bioluminescent bacteria inoculated into instrumented root canals using real-time imaging in vitro. *Int Endod J* 2005; 38(2): 97-104.
 219. Retamozo B, Shabahang S, Johnson N, Aprecio RM, Torabinejad M. Minimum contact time and concentration of sodium hypochlorite required to eliminate *Enterococcus faecalis*. *J Endod*. 2010;36(3):520-523.
 220. Radcliffe CE, Potouridou L, Qureshi R, Hababbeh N, Qualtrough A, Worthington H, Drucker DB. Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. *International Endodontic Journal*, 2004, 37: 438-446.
 221. Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Dent Clin North Am*, 2010; 54(2): 291-312.
 222. Bramante CM, Duque JA, Cavenago BC, Vivan RR, Bramante AS, de Andrade FB, et al. Use of a 660-nm Laser to Aid in the Healing of Necrotic Alveolar Mucosa Caused by Extruded Sodium Hypochlorite: A Case Report. *J Endod*, 2015; 41(11): 1899-1902.
 223. Spencer HR, Ike V, Brennan PA. Review: the use of sodium hypochlorite in endodontics-- potential complications and their management. *Br Dent J*, 2007; 202(9): 555-559.
 224. Siqueira JF, Jr., Rocas IN, Favieri A, Lima KC. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. *J Endod* 2000; 26(6): 331-334.
 225. Agarwal S, Tyagi P, Deshpande A, Yadav S, Jain V, Rana KS. Comparison of antimicrobial efficacy of aqueous ozone, green tea, and normal saline as irrigants in pulpectomy procedures of primary teeth. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, 2020, 38: 164.

226. Elheeny AAH. Allium sativum extract as an irrigant in pulpectomy of primary molars: A 12-month short-term evaluation. *Clinical and experimental dental research*, 2019, 5: 420-426
227. Maryam Forghani, Elham Afshari, Iman Parisay, Reza Garajian. Effect of a passive sonic irrigation system on elimination of *Enterococcus faecalis* from root canal systems of primary teeth, using different concentrations of sodium hypochlorite: An in vitro evaluation. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*. Summer 2017;11(3):177-182
228. Valverde ME, Baca P, Ceballos L, Fuentes MV, Ruiz-Linares M, Ferrer-Luque CM. Antibacterial efficacy of several intracanal medicaments for endodontic therapy. *Dent Mater J*. 2017 May 31;36(3):319-324. doi: 10.4012/dmj.2016-102. Epub 2017 Feb 22. PMID: 28228624.
229. Hoedke D, Enseleit C, Gruner D, Dommisch H, Schlafer S, Dige I, Bitter K. Effect of photodynamic therapy in combination with various irrigation protocols on an endodontic multispecies biofilm ex vivo. *Int Endod J*. 2018 Jan;51 Suppl 1:e23-e34. doi: 10.1111/iej.12763. Epub 2017 Apr 10. PMID: 28276583.
230. Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J*, 2001; 34(6): 424-428.
231. Pallavi Goel, Virat Galhotra, Sameer Makkar, Jatinder Mohan, Neetu Bala, Tamanpreet Kaur. An In Vitro Study Comparing the Antimicrobial Efficacy of 0.2% Chitosan, 3 % Sodium Hypochlorite, 2% Chlorhexidine against *Enterococcus faecalis*, Alone and in Conjunction with Diode Laser
232. Shigenori Suzuki, Yoshiko Masuda, Hirobumi Morisaki, Yoshishige Yamada, Hirotaka Kuwata and Takashi Miyazaki. The Study of Chitosan-Citrate Solution as a Root Canal Irrigant: A Preliminary Report. *Oral Hyg Health* 2014, 2:
233. Natasha Jaiswal, Dakshita-Joy Sinha, Udai-Pratap Singh, Kanwardeep Singh, Urja-Ahuja Jandial, Shivika Goel. Evaluation of antibacterial efficacy of

- Chitosan, Chlorhexidine, Propolis and Sodium hypochlorite on *Enterococcus faecalis* biofilm: An in vitro study. *J Clin Exp Dent*. 2017;9(9):e1066-74.
234. Yadav P, Chaudhary S, Saxena RK, Talwar S, Yadav S. Evaluation of Antimicrobial and Antifungal efficacy of Chitosan as endodontic irrigant against *Enterococcus Faecalis* and *Candida Albicans* Biofilm formed on tooth substrate. *J Clin Exp Dent*. 2017 Mar 1;9(3):e361-e367.
 235. Waleed O. Amin Kadour, Mohamed Abu El-Maaty Mohamed Abu El-Hasan, Ibrahim Farouk Barakat. Antibacterial effect of chitosan and low-level diode laser against *enterococcus faecalis* in infected root canals in primary molars. *Al-Azhar Journal of Dental Science* Vol. 25- No. 3- 347:352- July 2022
 236. Asmaa M. Faiek, Magda A. Elmalt, Haneya A. A. Ali, Eman A.R. Mohamed. Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Chitosan as Root Canal Irrigant on *Enterococcus Faecalis*. *ADJ-for Girls*, Vol. 6, No. 4, October (2019) — PP. 437:443
 237. Ahmed Bastawy, Nour Mohammed Ahmed. Evaluation of Antibacterial Efficacy of 6% Citric Acid Versus Chitosan Irrigant Solution For Primary Anterior Teeth Root Canal. *AADJ*, Vol. 5, No. 1, April (2022) — PP. 115:122
 238. Singhal P, Das UM, Vishwanathan D, Singhal A. Carisolv as an endodontic irrigant in deciduous teeth: an SEM study. *Indian J Dent Res*. 2012 Jan-Feb;23(1):120-1.
 239. Viral P Maru, Dimple Padawe, Vandana Pandey Tripathi, Vilas Takate, Kishor Dighe, Shraddha Vishwanath Dalvi. Reduction in Bacterial Loading using Papacarie and Carisolv as an Irrigant in Pulpectomized Primary Molars – A Preliminary Report. *J Clin Pediatr Dent*. 2020;44(3):174-179.
 240. C M Ferreira, K C Bonifácio, I C Fröner, I Y Ito. Evaluation of the antimicrobial activity of three irrigating solutions in teeth with pulpal necrosis. *Braz Dent J*. 1999;10(1):15-21
 241. Al-Kilani MG, Whitworth JM, Dummer PM. Preliminary in vitro evaluation of Papacarie as a root canal irrigant. *Int Endod J*. 2003 Jun;36(6):433-40.