

OZONLU SU İLE KOMBİNE EDİLEN FARKLI DEZENFEKSİYON PROSEDÜRLERİNİN ENTEROCOCCUS FAECALİS KÖK KANAL BİYOFİLMİNE KARŞI ANTİBAKTERİYEL ETKİLERİ

ANTIBACTERIAL EFFECT OF DIFFERENT ROOT CANAL DISINFECTION PROCEDURES
COMBINED WITH AQUEOUS OZONE AGAINST ENTEROCOCCUS FAECALIS BIOFILMS

^{1*}Recai ZAN, ²İhsan HUBBEZOĞLU, ³Zeynep SUMER, ³Tutku TUNÇ,
⁴Esra PAMUKÇU GÜVEN, ⁵Figen KAPTAN

¹ DDS. PhD. Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti Anabilim Dalı, SIVAS.

² DDS. PhD. Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Restoratif Diş Hekimliği Anabilim Dalı, SIVAS.

³ DDS. PhD. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, SIVAS.

⁴ DDS. PhD. Okan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti Anabilim Dalı, İSTANBUL.

⁵ DDS. PhD. Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti Anabilim Dalı, İSTANBUL.

Özet

Bu araştırmanın amacı, ozonlu su ile kombine uygulanan farklı dezenfeksiyon prosedürlerinin insan kök kanallarındaki *Enterococcus faecalis* biyofilmine karşı antibakteriyel etkileridir.

132 tek kök premolar dişler seçildi. Öncelikle, kök kanalları genişletildi ve dezenfekte edildi. Kök kanalları enfekte edildi ve *E. faecalis* biyofilmi elde edildi. Daha sonra, bakteri ekim prosedürü, birinci, dördüncü, yedinci ve onuncu günlerde taze bakteri kültürleri ile tekrarlandı. *E. faecalis* biyofilmi elde edildi ve SEM ile incelendi. Enfekte kök kanalları kontrol grupları (serum fizyolojik ve sodyum hipoklorit) ve dört deney grubuna (2% CHX, 17% EDTA, 2W Er:YAG ve 2W KTP lazer) (n=20) ayrıldı. Bütün dezenfeksiyon işlemlerinde son irrigasyon ozonlu su (8 ppm) ile yapıldı. Kombine dezenfeksiyon prosedürlerinin uygulanmasını takiben bakteri örnekleri kök kanallarından kağıt koniler yardımı ile izole edildi ve beyin-kalp infüzyon besi yerine transfer edildi. Koloni (CFU) sayımı kanlı agar plakaları üzerinde yapıldı. Veriler tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanılarak değerlendirildi ve istatistiksel olarak analiz edildi.

Tüm dezenfeksiyon prosedürleri ve son irrigasyon olarak uygulanan ozonlu su ile kombinasyon benzer sonuçlar gösterdi; tüm kök kanal uygulamaları arasında yapılan ikili karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gösterdi (P<0.05).

Ozonlu su ile kombinasyon sonuçları, dezenfeksiyon prosedürlerine göre daha belirgin antibakteriyel etkiler göstermiştir. Lazer uygulamaları ile birlikte son irrigasyon olarak kombine edilen ozonlu su başarılı endodontik tedavi için faydalı olabilir.

Anahtar Kelimeler: Ozonlu su, irrigasyon, biyofilm, mikroorganizma.

Abstract

The objective of this study, antibacterial effects of different disinfection procedures applied in combination with aqueous ozone against *Enterococcus Faecalis* biofilm in human root canals.

132 single-root premolars were selected. Firstly, the root canals were prepared and disinfected. Root canals were infected and *E. faecalis* biofilms were obtained. Subsequently, bacterial inoculation procedure has been renewed in the first, fourth, seventh and tenth days with fresh bacterial culture. *E. faecalis* biofilms were obtained and were analyzed by SEM. The infected root canals were divided into control groups (saline and sodium hypochlorite) and four experimental groups (2% CHX, 17% EDTA, 2W Er:YAG and 2W KTP laser) (n=20). Final irrigation was performed with aqueous ozone (8ppm) in all disinfection procedures. Following the implementation of the combined disinfection procedures, bacterial samples were isolated from root canals with the help of paper points and were transferred to brain heart infusion broth. Colony (CFUs) counts were performed on blood agar plates. Data were evaluated using one-way ANOVA and Tukey's test and were statistically analyzed.

All disinfection procedures and combination of aqueous ozone applied as final irrigation indicated similar outcomes as; all root canal applications showed statistically significant differences in pairwise comparison (P<0.05).

Results of aqueous ozone combination demonstrated the more remarkable antibacterial effects according to disinfection procedures. Laser irradiation with aqueous ozone combination as final irrigation may be useful for successful endodontic treatment.

Key words: Aqueous ozone, irrigation, biofilm, microorganism.

Giriş

Kanal tedavisi işlemi, kök pulpasında geri dönüşümsüz kronik enflamasyon veya nekroz bulguları gösteren dişlerde, uygulanan radikal bir pulpa tedavisi yöntemidir. Kök kanal

tedavisi işleminde, kron ve kökteki pulpa dokusunun çeşitli enstrümanlarla uzaklaştırılarak, kök kanallarının mekanik olarak uygun şekilde genişletilmesi, mikroorganizmalardan arındırılması ve kök ucuna kadar üç boyutlu olarak doldurulması aşamaları bulunmaktadır (1). Mekanik ve biyolojik olarak gerçekleştirilen kök kanallarının temizlenmesi ve şekillendirilmesi işlemi, kök kanal tedavisinin en önemli aşaması olarak bildirilmiştir. Bu aşamanın başarılı olarak gerçekleştirilmesinde, kök kanalındaki pulpa dokusu, etkilenmiş dentin dokusu ve diğer

*İletişim Adresi

Dr. Recai ZAN
Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti
Anabilim Dalı, 58140 Sivas.

Tel: +90 346 2191010 / 2792

e-mail: drrecaizan@hotmail.com

artıkların tamamen uzaklaştırılması, kök kanal boşluğu dezenfeksiyonunun sağlanması ve kök kanallarına, anatomilerine sadık kalınarak apikale doğru daralan konik bir form verilmesi önemlidir (2,3).

Kök kanalındaki artık pulpa dokusu, bakteri, dentin debris ve yapısındaki düzensizlikler nedeniyle titiz bir mekanik preperasyon sonrası bile tam bir dezenfeksiyon sağlanamayabilir. Dezenfeksiyon için irrigasyon solüsyonlarının tek başına veya kombinasyonlarının kanal preperasyonunda kullanılması önerilmektedir. Irrigasyon solüsyonlarının etki spektrumu önemli rol oynamaktadır. Ayrıca solüsyonların özelliklerinin bilinmesinin yanısıra enfeksiyona neden olan mikroorganizmalar hakkında da bilgi sahibi olunmalıdır. Kök kanallarının kompleks anatomileri, konak savunması, mikroorganizmaların virulans faktörleri ve bakterilerin birbirleriyle etkileşimi endodontik tedavinin başarısını etkileyen önemli faktörlerdir (1). Kök kanallarının genişletilmesi sırasında oluşan organik ve inorganik içerikli debrisin periapikal dokulara itilmesini önlemek ve kök kanalından uzaklaştırmak, kanal aletlerinin ulaşamadığı bölgelerdeki mikroorganizmaları ve bunların yan ürünlerini yok etmek amacıyla, sık ve bol miktarda yıkama yapılması gerekir.

İdeal bir kök kanalı yıkama solüsyonu organik ve inorganik maddeleri çözebilmesi, geniş bir antimikrobiyal etki göstermeli, mekanik genişletme yöntemleri ile ulaşılamayan alanlarda etkili olabilmeli, kanal aletleri ile çalışmayı kolaylaştırmalı, smear tabakasını uzaklaştırabilmesi ve sitotoksik olmamalıdır (4,5).

Sonuç olarak kök kanal tedavisinde başarı sağlanabilmesi için kök kanal sisteminin tam bir debridmanı ve bunu takiben dezenfekte edilmesi gereklidir. Endodontik tedavinin başarısızlığında bir diğer önemli etken, kanal içerisindeki yıkıntıların yeterince uzaklaştırılmamasıdır. Kanal ve periapikal dokular için zararlı olabilecek iritanların uzaklaştırılması; kanalların enstrümantasyonu, kanallara çeşitli ilaçların yerleştirilmesi veya bazı ajanlarla yıkanması ve elektrolizis ile gerçekleştirilebilmektedir (1). Herhangi bir nedenle bu işlemlerin yapılamadığı koşullarda kanal içinde kalan mikroorganizmalar direkt olarak kendileri ya da metabolik ürünleri aracılığı ile periodonsiyumu etkileyerek, periapikal enflamasyon ve yıkıma neden olmaktadır (6).

Cilt / Volume 17 · Sayı / Number 1 · 2016

Bu araştırmanın amacı, ozonlu su ile kombine uygulanan farklı dezenfeksiyon prosedürlerinin insan kök kanallarındaki *Enterococcus faecalis* biyofilmine karşı antibakteriyel etkileridir.

Gereç ve Yöntem

Ozonlu su ile kombine edilen farklı dezenfeksiyon prosedürlerinin *E. faecalis* kök kanal biyofilmine karşı antibakteriyel etkileri amacıyla planlanan bu çalışmaya, Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı tarafından 2013-09/02 sayılı etik kurul onay raporu alınarak başlanmıştır. Çalışmanın örnek hazırlanma kısmı Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı, mikrobiyolojik deneyler kısmı Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında gerçekleştirilmiştir.

Örneklerin Seçimi ve Hazırlanması

Çalışmamızda 132 adet tek kök tek kanallı daimi insan alt premolar dişleri kullanıldı. Dişlerin koronal kısımları mine-sement birleşim seviyesinin altından ve her bir kökün boyu 14-16 mm olacak şekilde su soğutması altında steril elmas diskler kullanılarak kesildi. Daha sonra kök kanallarına #15 K-File (Mani Inc., Tochigi, Japonya) el aletleri ile girilerek kanal yolu belirlenmesi yapıldı. Kanal aletinin ucu apikal açıklıkta görülene kadar ilerletilip kanal aletinin boyu ölçüldü ve ölçülen bu boydan 1 mm geri çekilmek suretiyle lastik rondel yardımıyla her bir kök için çalışma boyu belirlendi. Daha sonra kök kanalları crown-down yöntemi kullanılarak ve üretici firma talimatları doğrultusunda bir elektrikli motora (Denta port DP-ZX, J.Morita MFG, CORP, Kyoto, Japonya) takılan ProTaper (Dentsply, Tulsa Endodontics, OK, Amerika) NiTi döner kanal aletleri ile 300 devir/dak'da şekillendirilmeye başlandı. Öncelikle SX eğesi ile köklerin koronal üçlüsü genişletildi. Daha sonra S1 ve S2 eğeleri ile köklerin apikal üçlü bölgesine ulaşıldı. Apikal üçlü ise sırasıyla F1, F2 ve F3 numaralı eğeler kullanılarak ve tüm kanalların apikal genişlikleri F3 olacak şekilde şekillendirildi. Preparasyon boyunca kanallar her bir eğe kullanımından sonra 1 ml %5,25'lik NaOCl solüsyonu ile irriga edildi.

Kök kanallarında preparasyon sırasında oluşan smear tabakasını kaldırmak için kökler

daha sonra sırasıyla %17'lik EDTA (AppliChem GmbH, Almanya), %5,25 NaOCl ve distile su kullanılarak, her bir solüsyonda ve sırasıyla olmak üzere 10'ar dakika boyunca irrigasyon yapıldı ve paper point ile kurutuldu (7). Mikrobiyolojik uygulamaların öncesinde dişleri yerleştireceğimiz şişeler, lastik kapakları çıkarılarak 10'arlı gruplar halinde ambalajlandı ve sterilizasyon sağlamak amacıyla otoklava yerleştirilerek 121°C' de ve 20 dakika süresince steril edildi (Melağ, Euroklav 23V-S, Almanya). Daha sonra dişlerin kök uçları da dahil tüm kök yüzeylerine 3 kat tırnak cilası (Loreal Jet-Set Diamond, Paris, Fransa) uygulandı. Dişler, kullanacağımız cam şişelerin lastik kapaklarının üzerine delik açılarak kapağın 2-3 mm üzerinde kalacak şekilde yerleştirildi ve sızıntının önüne geçilebilmesi amacıyla dişlerin lastik kapaklarla birleşim alanları adeziv yapıştırıcısıyla kaplandı. Daha sonra rastgele seçilen dişler herbir ambalajda 10'ar tane olmak kaydıyla Etilen Oksit (EtO) sterilizasyonuna gönderildi.

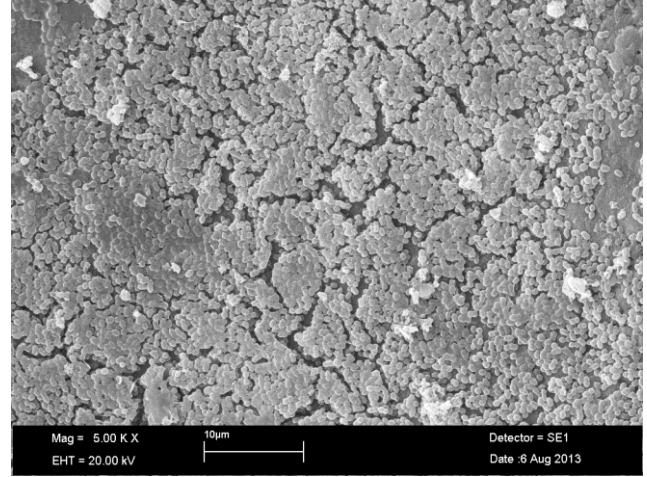
Sonuç olarak, çalışmamızda kullanmak amacıyla, ilk olarak tüm dişlerin kök kanal preparasyonları yapıldı, dezenfeksiyon ve sterilizasyon işlemleri tamamlandı ve steril lastik kapaklı cam şişelere yerleştirildi. Bu işlemlerin sonucunda mikroorganizmalardan arındırılmış ve düzeneğe yerleştirilmiş olan 132 adet diş elde edildi.

Biofilm Oluşumu

Beş µl bakteriyel süspansiyon (1.5×10^8 CFU/ml) mekanik olarak genişletilmiş kök kanallarına steril mikropipetler aracılığı ile uygulandı. ISO #20 büyüklüğünde steril kanal eğeleri kullanılarak süspansiyonun kanal içerisinde yayılması sağlandı. Negatif kontrol grubunda yer alan kök kanallarına steril besiyeri aynı yöntemle yerleştirildi. Kanal giriş kavileri geçici dolgu materyeli (Coltosol) ile kapatıldı. Bütün örnekler 37°C' de 10 gün boyunca, nemli ortamda, aerob koşullarda saklandı. 1, 4, 7, ve 10. günlerde geçici dolgu materyelleri uzaklaştırıldıktan sonra, kök kanallarına taze bakteri kültürleri eklendi. 10 günün sonunda, *E. faecalis* ekilecek ve taze besiyeri eklenecek diş kökleri, önce formaldehit içinde 24 saat bekletildi. 24 saatin sonunda, kökler separe ile dikey yönde 2'ye ayrılarak ayrılan parçalara yükselen düzeylerde alkol uygulandı. Altınla kaplanarak SEM görüntüsü alındı (Resim 1).

Sonuç itibarıyla, ozonlu su ile kombine edilen dezenfeksiyon prosedürlerinin Cilt / Volume 17 · Sayı / Number 1 · 2016

antibakteriyel etkinliklerinin incelenmesi amacı ile araştırmada kullanılan bakteri ile biofilm oluşturulmuş 132 adet enfekte tek kök tek kanallı insan dişi elde edildi ve deneysel işlemlere geçildi.



Resim 1. Kök kanallarında oluşturulan *E. faecalis* biofilmin SEM analizi

Deney Grupları ve Çalışma Dizayını

Grup 1, Serum Fizyolojik (negatif kontrol) + Ozonlu su: Kontamine edilmiş kök kanalları %0,9'luk serum fizyolojik 2ml/dak akış hızıyla 3 dak. süreyle irrigate edildi. Tekno03zone firması tarafından özel yapılan ozonlu su jeneratörü (Tekno03zone, İzmir, Türkiye)(Resim 2) ile ozonlu su elde edilecektir. Elde edilen ozonlu suyun ozon konsantrasyonu ozon tankı içerisinde yer alan prop aracılığı ile otomatik olarak ölçülüp, jeneratör üzerindeki dijital göstergeden takip edilecektir. *E. faecalis* ile enfekte olan 20 dişin kök kanalları 2ml/dak akış hızıyla 2 dak. süreyle süreyle 8 ppm ozonlu su ile irrigate edildi ve negatif kontrol grubu olarak kullanıldı.

Grup 2, Klorheksidine Glukonat + Ozonlu su grubu (8ppm): Enfekte kök kanalları 2ml/dak akış hızıyla 2ml/dak akış hızıyla 3 dak. süreyle CHX (Resim 3) ile irrigate edildikten sonra kök kanallarında kalan bakteri sayımı için kanallardan paper point yardımıyla örnek alınarak besi yerine ekim yapıldı. Daha sonra son irrigasyon 8 ppm'lik ozonlu su ile 2ml/dak akış hızıyla 2 dak süreyle uygulandı.

Grup 3, Etilen Diamin Tetra Asetikasit + Ozonlu su grubu (8ppm): Enfekte kök kanalları 3 dak. süreyle %17'lik EDTA (Resim 4) ile irrigate edildikten sonra kök kanallarında kalan bakteri sayımı için kanallardan paper point yardımıyla

örnek alınarak besi yerine ekim yapıldı. Daha sonra son irrigasyon 8 ppm'lik ozonlu su ile 2ml/dak akış hızıyla 2 dak süreyle uygulandı.



Resim 2. Ozonlu Su Jenaratörü ve Tankı

Grup 4, Er:YAG laser + Ozonlu su (8ppm): Kavite dezenfeksiyonu amacıyla Er:YAG Lazer cihazı (Smart 2940D, DEKA M.E.L.A. SRL, Calenzano, İtalya) (Resim 5) 2940 dalga boyunda kullanıldı.



Resim 5. 2W gücünde uygulanan Er:YAG lazer



Resim 3-4. Uygulanan Klorheksidin Glukonat ve Etilen Diamin Tetra Asetikası

Lazerin iletim sistemi, 7 aynaya sahip eklemli bir koldan oluşmaktadır. Lazer ışınının uygulama başlığından 1 mm çapında safir bir uç ile sağlanmaktadır. Bu safir uç diş yüzeyine temas etmemiştir. Lazerin kullanılan parametresi; frekansı 20 Hz, enerji yoğunluğu 100 mJ ve darbe uzunluğu 700 µs olacak şekilde toplam 2 Watt gücünde uygulandı. Bu lazer focus modunda diş yüzeyine 1-2 mm mesafeden E. faecalis ile enfekte olan kök kanalları 3 dak. boyunca dezenfeksiyon işlemi yapıldı. Bu işlem sonrasında kök kanallarında kalan bakteri sayımı için kanallardan paper point yardımıyla örnek alınarak besi yerine ekim

yapıldı. Daha sonra son irrigasyon 8 ppm'lik ozonlu su ile 2ml/dak akış hızıyla 2 dak süreyle uygulandı.

Grup 5, KTP lazer + Ozonlu su (8ppm): Kavite dezenfeksiyonu amacıyla KTP lazer (Smartlite D; DEKA M.E.L.A. Srl Calenzano, İtalya) (Resim 6) 532 nm dalga boyunda kullanıldı.



Resim 6. 2W gücünde uygulanan KTP lazer

Lazer darbe tekrarlı modda [lazer yayılım süresi (Ton) 20 ms, birbirini takip eden 2 atım arasındaki bekleme süresi (Toff) 30 ms] olacak şekilde toplam 2 Watt gücünde uygulandı. *E. faecalis* ile enfekte olan kök kanalları lazer cihazından çıkan lazer ışınları 200 µm çapında kırmızı başlıklı fiber optik kablo (Preciso™, DEKA M.E.L.A. Srl Calenzano, İtalya) vasıtasıyla her dişin kanal boyundan 1mm (foramen apikalenin 1 mm üstü) geride olacak şekilde birbirini takip eden rotasyonel hareketler yapıldı. Aynı zamanda prob kanaldan yukarı doğru çekilirken lazer ışını verildi. Kanalda yaklaşık 5 sn'lik sürelerle lazer ışını uygulandı. Her dişte 15 sn'lik aralar ile 9 kez

işlem tekrarlandı. Böylece lazer ile dezenfeksiyon süresi toplamda 3 dakika sürdü. Bu işlem sonrasında kök kanallarında kalan bakteri sayımı için kanallardan paper point yardımıyla örnek alınarak besi yerine ekim yapıldı. Daha sonra son irrigasyon 8 ppm'lik ozonlu su ile 2ml/dak akış hızıyla 2 dak süreyle uygulandı.

Grup 6, NaOCl (pozitif kontrol) grup + Ozonlu su: 20 dişin *E. faecalis* ile enfekte olan kök kanalları 2ml/dak. akış hızıyla 3dak süreyle basınç altında %5,25'lik Sodyum Hipoklorit (NaOCl) solüsyonu ile irrigate edildikten sonra kök kanallarında kalan bakteri sayımı için kanallardan paper point yardımıyla örnek alınarak besi yerine ekim yapıldı. Daha sonra son irrigasyon 8 ppm'lik ozonlu su ile 2ml/dak akış hızıyla 2 dak süreyle uygulandı ve pozitif kontrol grubu olarak kullanıldı.

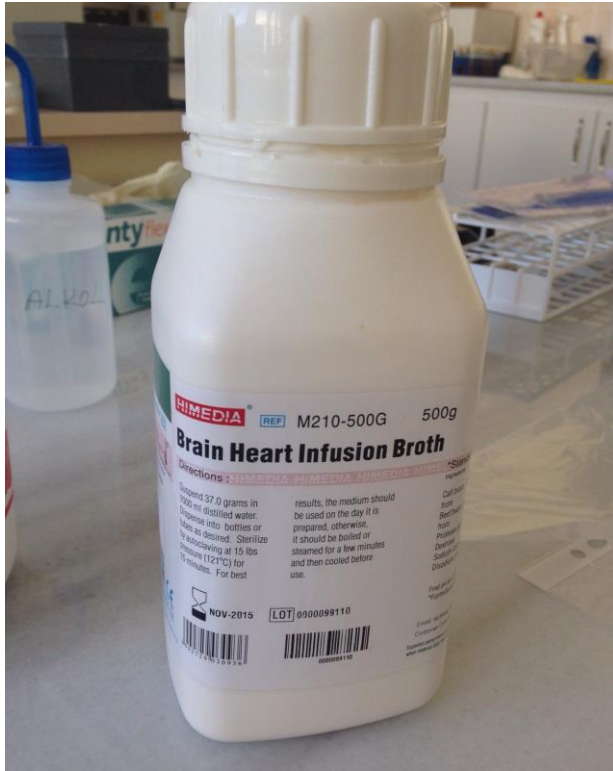
Bakteriyel Değerlendirme

Dezenfeksiyon uygulamaları öncesinde mikroorganizmaların kök kanallarındaki üremesini kontrol edebilmek, örnekler arasında standardizasyonu sağlamak amacıyla katı besiyeri olarak; *E. faecalis* bakterileri için kanlı agar'da yapılan sayım sürecinde CFU değeri $1,5 \times 10^8$ CFU/ml (LogCFU; 8,17)'nin altında olanlar çalışma dışı bırakıldı. İnfekte kök kanalları steril buyyon ile ıslatıldı, kök kanalına paper pointler yerleştirilip 5 dakika bekletildi ve içerisinde 0,5 ml beyin kalp infüzyon buyyon (Merck 1.13825) (Resim 7) bulunan steril eppendorf tüplere alındı. 15 dak. bekledikten sonra vortex (Ms1 Mini shaker IKA, Almanya) ile karıştırılan eppendorflardan steril mikropipet ile 50 µL sıvı besiyeri alınarak işlem öncesi, dezenfeksiyon prosedürleri ve son olarak ozonlu su ile irrigasyon sonrası şeklinde üçe ayrılmış olan katı besiyerine yayma ekim yapıldı. Katı besi yeri olarak; *E. faecalis* bakterisi için kanlı agar %5 koyun kanlı agar (Merck 1.10886) kullanıldı. Dezenfeksiyon uygulamaları sonrasında katı besiyerlerinde üreyen mikroorganizma kolonilerinin CFU olarak sayımları yapıldı.

İstatistiksel Yöntem

Çalışmamızın verileri SPSS (Ver:14.0) programına yüklenerek değerlendirilmiştir. Veriler değerlendirilirken iki yönlü varyans analizi ve Tukey testi uygulandı. Verilerimizin minimum, maksimum, ortalama, ± standart

sapma ve ortalama (medyan) değerleri tablo şeklinde belirtildi.



Resim 7. Beyin kalp infüzyon buyyon

Bulgular

E. faecalis ile enfekte edilen örneklerden, Tüm gruplar ait dezekfeksiyon öncesi, dezekfeksiyon sonrası ve ozonlu su irrigasyonu sonrası kök kanallarında kalan bakterilerin Log CFU ortalama (standart sapma) değerleri ile gruplar arası istatistiksel karşılaştırmaları Tablo 1'de sunulmuştur.

Dezekfeksiyon Grupları n= 20	Dezekfeksiyon Sonrası (Ort ± SP) (Log CFU mL ⁻¹)	Dezekfeksiyon + Ozonlu Su Kombinasyon sonrası (Ort ± SP) (Log CFU mL ⁻¹)
Grup 1 Serum fizyolojik (Negatif kontrol)	6.01 ± 0.96	4.95 ± 0.15
Grup 2 CHX	5.08 ± 0.88	3.98 ± 0.26
Grup 3 EDTA	5.45 ± 0.21	4.39 ± 0.25
Grup 4 Er:YAG	4.13 ± 0.18	2.60 ± 0.30
Grup 5 KTP	3.90 ± 0.70	1.70 ± 0.33
Grup 6 NaOCl (Pozitif kontrol)	0.00 ± 0.00*	0.00 ± 0.00*

F=24,563; P=0,000; P<0,05

*Sembol ile işaret edilen gruplar arasında fark yoktur (p>0,05), Yatay ve dikey düzlemlerde ifade edilen diğer tüm gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0,05).

Tablo 1. Çalışma grupları ve istatistiksel karşılaştırmalar için CFU sayımı.

Cilt / Volume 17 · Sayı / Number 1 · 2016

Tüm çalışma gruplarının tek başlarına yada ozonlu su ile kombine kullanımları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,05). En yüksek antibakteriyel etki NaOCl'de izlenirken, bunu sırasıyla KTP, Er:YAG, CHX, EDTA ve SF takip etmektedir.

Tüm gruplar kendi içlerinde yapılan karşılaştırmaları sonucunda dezekfeksiyon prosedürleri sonrası ile ozonlu su kombinasyonları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunurken (p<0,05), sadece NaOCl grubunda irrigasyon sonrası tüm bakteriler yok edildiği için ozonlu su kombinasyonu sonucu ile istatistiksel olarak fark bulunmamıştır (p>0,05).

Tartışma

Endodontik tedavinin en önemli amaçlarından birisi pulpa ve dentin debrislerinin kök kanal sisteminden uzaklaştırılmasıdır. Kök kanal sisteminin temizlenebilmesi amacıyla uygulanabilecek en etkin yaklaşım kemomekanik preparasyon ile mümkün olabilmektedir. Kemomekanik preparasyon sırasında irrigasyon solüsyonlarının kök kanalı içerisindeki mevcut mikroorganizmaları yok etmek, kanaldaki debrisyi yıkayarak uzaklaştırmak ve mekanik temizleme yöntemleri ile ulaşılamayan bölgelerin temizlenmesine yardımcı olmak gibi endodontik tedavi açısından önemli etkileri vardır (1,8,9).

Günümüzde endodontik tedavilerde en sık kullanılan irrigasyon solüsyonu olan NaOCl'nin (pH'sı 11-12) (1,8). Bu solüsyonun kök kanalındaki organik doku varlığından çok az etkilendiği, nekrotik dokuları etkin bir şekilde çözdüğü ve kök kanalında antimikrobiyal etkinliği olduğu belirtilmiştir (8,10,11). Yapılan çalışmalar NaOCl'nin kullanılan preparasyon tekniğinden bağımsız olarak yüksek konsantrasyonlarda dentin tübüllerini dezekfekte edebildiğini belirtmişlerdir. %5,25'lik NaOCl'nin *E. faecalis*'e karşı test edilen en yüksek antibakteriyel etkiye sahip irrigasyon solüsyonu olduğunu göstermişlerdir. Yapılan birçok çalışmada NaOCl'nin *E. faecalis*'e karşı yüksek derecede antibakteriyel etkisi olduğu bildirilmiştir (7,12,13). Yaptığımız çalışma sonucunda *E. faecalis* ile inoküle edilen kök kanallarına %5,25'lik NaOCl'nin 3 dakika süreyle uygulanması sonucunda örneklerdeki tüm bakterilerin elimine edildiği görülmüştür. Bu

sonuç yukarıda bahsedilen çalışma sonuçlarıyla paralellik göstermektedir (7,12,13).

Endodontik tedavilerde kullanılan diğer bir geleneksel irrigasyon solüsyonu CHX'tir. Özellikle kök kanal tedavilerinde dirençli bakterileri ortadan kaldıracak yeteneği tedavinin başarısı açısından büyük önem taşır. CHX'in farklı konsantrasyonlarda (14-16), farklı materyaller üzerinde modifiye edilmiş yüzey, siğir dentin blokları ve (17,18) ve farklı sürelerde tek başına ya da farklı ajanlarla kombinasyonlarının, E. faecalis'e karşı antibakteriyel etkinliği ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Sonuç itibarıyla, CHX'in tek başına veya kombinasyonlar ile kullanımının planktonik ve biofilm formlarındaki E. faecalis'e karşı aktivite gösterdiği ancak kök kanallarında yeterli eliminasyonu sağlayamadığı gösterilmiştir. Bu doğrultuda çalışmamızda, CHX'in yeni bir kök kanal irriganı olan ozonlu su ile kombinasyonlarının kök kanal biofilm üzerindeki etkisi araştırıldı. CHX'in ozonlu su ile kombine uygulanmasının tek başına kullanımına göre daha etkili olduğu ama kök kanallarında tam bir eliminasyon sağlayamadığı görüldü. Elde edilen bu sonuçlar yukarıda bahsedilen diğer çalışma sonuçları (14-17) ile uyumludur.

EDTA'nın aktif antimikrobiyal etkisi olmayan kimyasal bir ajan olduğu öne sürülse de, kök kanal duvarlarında oluşan smear tabakasının inorganik komponentini kaldırarak kanal içi bakteri sayısında azalmaya neden olduğu bilinmektedir (12,18). Buck ve ark (2001) EDTA solüsyonunda (%0.2) 1 dk bekletilen E. faecalis ile enfekte edilmiş insan dişi modellerinde, bakteri popülasyonunun %37'sinin elimine edildiği ifade etmişlerdir (20). CHX'in şelasyon ajanlarının veya asitlerin kök kanallarında kullanılması, dentinin inorganik yapısının uzaklaştırılmasına, kollagen liflerin açığa çıkmasına ve E. faecalis'in adezyonu için uygun bir ortam oluşturulmasına neden olmaktadır (21,22). Yapılan bir çalışmada, EDTA ve NaOCl solüsyonlarının birlikte kullanıldığı örneklerde E. faecalis biyofilm kolonizasyonunun meydana getirdiği biyofilm tabakasını önemli ölçüde kaldırdığını fakat kök kanalındaki bakterilerin tamamıyla elimine edilemediğini saptamışlardır (23). Bu çalışmamızda, EDTA'nın güçlü bir dezenfektan ajan olan ozonlu su ile kombinasyonunun kök kanal biofilm üzerindeki antibakteriyel etkisini incelendi. Sonuç olarak, Cilt / Volume 17 · Sayı / Number 1 · 2016

EDTA'nın kombine kullanımının antibakteriyel etkinliği önemli ölçüde arttırdığı ancak kök kanallarındaki bakteriyi tamamen yok edemediği görüldü. Bu sonuçun EDTA'nın kök dentin yüzeyinin serbest enerjisini ve su geçirmezliğini azaltarak E. faecalis'in dentine adezyonu ve biyofilm oluşturma yeteneğini etkilediğinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Yukarıda belirttiğimiz araştırma sonuçlarında çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçları desteklemektedir (19,20,23).

Lazer sistemler son yıllarda kök kanal sterilizasyonu açısından önemli bir rol oynamaktadır. Nd:YAG (Yasuda ve ark 2010; Meire ve ark 2012; Molander ve ark 1998) KTP (Kustarcı ve ark 2009) ve Er:YAG (Mehl ve ark 1999; Yasuda ve ark 2010; Meire ve ark 2012) lazer sistemlerinin kök kanallarındaki etkinliği ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Sonuç olarak kayda değer bir bakteriyel azalma sağlandığını rapor etmişlerdir. Er:YAG lazer özellikle sert dokular üzerinde artan ısının zararlı etkilerini önlemek ve farklı sonuçların ortaya çıkmasını engellemek amacıyla su soğutması altında kullanılması önerilmiştir (24,25,28). Yasuda ve ark (2010) deneysel olarak enfekte edilmiş siğir ve insan eğri kök kanallarında Nd:YAG ve Er:YAG lazerlerin (1 Watt) bakterisidal etkinliğini değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak, Er:YAG lazerin Nd:YAG lazere göre daha yüksek bakterisidal etki gösterdiğini bildirmişlerdir. E. faecalis ile enfekte kök kanallarına dezenfeksiyon amacıyla uygulanan Er:YAG lazerin (1 Watt) kök kanallarındaki bakterileri belli oranda azalttığı ancak tamamen yok edemediği ileri sürülmüştür (25,29). Kustarcı ve ark (2009) enfekte edilmiş olan kök kanallarında KTP lazer ve ozon gazının antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmiştir. KTP lazer kök kanallarında belirgin bir bakteriyel azalma sağlamış ancak kök kanallarında tam bir dezenfeksiyon sağlayamamıştır. Çalışmamızda, yukarıda belirtilen sonuçlar gözönüne alınarak Er:YAG ve KTP lazerlerin ışınlama güçleri yükseltilmiştir (2.0 Watt). Çalışma sonuçlarımıza göre, her iki lazerde kök kanallarındaki biyofilm üzerinde etkili olmuştur. Lazerler kendi aralarında kıyaslandığında KTP lazerin daha güçlü antibakteriyel etki gösterdiği görülmüştür. Çalışmamızdan elde edilen bu sonuç, yukarıda bahsedilen diğer çalışma sonuçları (25,27,29) ile paralellik gösterirken; Yasuda ve ark (2010) yaptıkları çalışma ile uyumsuzdur. Bunun

nedeninin, araştırmada kullanılan dişlerin kök eğim açılarının farklı olmasına, uygulanan lazer türlerinin farklı olmasına ve ışınlama parametrelerinin farklılığına bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Bunun yanısıra lazerlerin ozonlu su ile kombinasyonlarının tek başlarına uygulanmalarına kıyasla daha yüksek antibakteriyel etki gösterdiği saptandı. Ancak kombine uygulamalar dahi kök kanallarındaki bakteriyi tamamen elimine etmede başarısız olmuştur.

Endodontide son zamanlarda popülerlik kazanan dezenfeksiyon ajanlarından biri ozonlu su'dur. Huth ve ark (2009) yaptıkları çalışmada ozonlu suyun kök kanallarına inoküle edilen *E. faecalis*, *C. albicans* ve *P. aeruginosa*'ya karşı antimikrobiyal etkisini incelemişler. 20 µg/ml konsantrasyonundaki ozonlu suyun bir dakikalık uygulanması sonucunda bu üç bakterisinde yüksek derecede elimine olduğunu göstermiştir. Bu sonuca göre ozonlu suyun *E. faecalis*, *C. albicans* ve *P. aeruginosa* mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal etkisini istatistiksel olarak anlamlı olduğunu saptamışlardır. Cardosa ve ark (2008) (3,3 mg/mL, 5dk) yaptıkları bir araştırmada ozonlu suyun kök kanallarındaki *E. faecalis* ve *C. albicans* mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal etkisini incelemişler ve ozonlu suyun inoküle edilen *E. faecalis* ve *C. albicans* mikroorganizmalarının sayısında önemli derecede azalmaya sebep olduğunu göstermişlerdir. Son yıllarda yapılan bir diğer çalışmada, Zan ve ark (2013) *E. faecalis* ile enfekte kök kanallarını ozonlu su (4 mg/L) 180s boyunca irrigasyon yaptıktan sonra kök kanallarında dikkate değer mikroorganizma sayısında bir azalma olmasına rağmen, %5,25'lik NaOCl etkisine eşdeğer bir antibakteriyel etki gösteremediğini rapor etmişlerdir. Çalışmamızda 2 dakikalık sürelerle uygulanan kök kanal dezenfeksiyon prosedürlerinin ardından 2 dak. süreyle uygulanan 8mg/L ozonlu suyun, *E. faecalis* ile enfekte edilen kök kanallarındaki antimikrobiyal etkisi araştırıldı.

Uygulanan tüm kök kanal dezenfeksiyon işlemleri bakterilere karşı antibakteriyel etki göstermiştir. Ayrıca, tüm dezenfeksiyon prosedürlerin ozonlu su ile kombinasyonları tek başlarına uygulamaları ile kıyaslandığında daha yüksek bakterisidal etki ortaya koymuştur. Bu kombinasyonlar arasında en güçlü antibakteriyel etkiyi ozonlu su ile

kombine uygulanan KTP lazer grubu gösterirken, en zayıf etki EDTA grubunda gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak, kök kanal tedavisinde dezenfeksiyon prosedürleriyle yapılabilecek kombine uygulamaların seanslar arasında mikrobiyal flora'ya bağlı olarak oluşabilecek komplikasyonları azaltmada ve buna bağlı olarak endodontik tedavilerin başarısını arttırmada etkin rol oynayabileceğini düşünmekteyiz.

Kaynaklar

1. Alaçam T. (2000). "Endodonti"II. Baskı, Baris Yayınları Fakülteler Kitabevi, Ankara,738s.
2. Ruddle, C.J. (2002). Cleaning and shaping the root canal system, In Cohen S, Burns RC (eds). Pathways of the pulp. 8th ed. St. Louis, Mosby Inc., 231-91.
3. Weine, F.S. (1996). Intracanal treatment procedures, basic and advanced topics, In Weine FS (ed). Endodontic Therapy, 5th ed. St. Louis: Mosby Inc, 305-357.
4. Çalışkan, MK. (2006). Endodontide tanı ve tedaviler. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, 828s.
5. Torabinejad M, Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, Bakland, LK. Clinical implications of the smear layer in endodontics. A review. Oral Surg Oral Med and Oral Path and Endod 2002; 94: 658-666.
6. Gutmann JL. Clinical, radiographic, and histologic perspectives on success and failure in endodontics. Dent Clin North Am 1992; 36: 379-392.
7. Berber VB, Gomes BBPA, Sena NT, Vianna ME, Ferraz CCR, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing Enterococcus faecalis within root canals and dentinal tubules. Int Endod J 2006; 39: 10-17.
8. Harrison JW. Irrigation of the root canal system. Dent Clin North Am 1984; 8: 7-808.
9. Walton RE, Rivera EM. Cleaning and shaping. In: Walton RE, Torabinejad M. editors. Principles and Practise of Endodontics, 2nd. ed. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1996; 212-5.
10. Hauman CH, Love RM. Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review., Part 1. Intracanal drugs and substances. Int Endod J 2003; 36: 75-85.
11. Abou-Rass M, Oglesby SW. The effects of temperature, concentration and tissue type on the solvent ability of sodium hypochlorite. J Endod 1981; 7: 376-377.
12. 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: 331-4.
13. Radcliffe CE et al. Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. Int Endod J 2004; 37: 438-446.
14. Chavez De Paz Le, Bergeholtz G, Svensater G. The effects of antimicrobials on endodontic biofilm bacteria. J Endod 2010; 36: 70-77.
15. Spratt Da, Pratten J, Wilson M, Gulabivala K. An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates. Int Endod J 2001; 34: 300-307.

16. Ma J, Tong Z, Ling J, Liu H, Wei X. The effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine irrigants on the antibacterial activities of alkaline media against *Enterococcus faecalis*. *Arch Oral Biol* 2015; 60: 1075-81.
17. Williamson Ae, Cardon Jw, Drake Dr. Antimicrobial susceptibility of monoculture biofilms of a clinical isolate of *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2009; 35: 95-97.
18. Ballal NV, Mala Ki, Bhat KS. Evaluation of decalcifying effect of maleic acid and EDTA on root canal dentin using energy dispersive spectrometer. *Oral Surg Oral Med and Oral Path and Endod* 2011; 112: 78-84.
19. Buck RA, Eleazer PD, Staat RH, Scheetz JP. Effectiveness of three endodontic irrigants at various tubular depths in human dentin. *J Endod* 2001; 27: 206-208.
20. Kishen A, Sum CP, Mathew S, Lim CT. Influence of irrigation regimens on the adherence of *Enterococcus faecalis* to root canal dentin. *J Endod* 2008; 34: 850-854.
21. Haapasalo M, Qian W, Portenier I, Waltimo T. Effects of dentin on the antimicrobial properties of endodontic medicaments. *J Endod* 2007; 33: 917-925.
22. Nallapareddy SR, Qin X, Weinstock GM, Höök M, Murray BE. *Enterococcus faecalis* adhesion, Ace, mediates attachment to extracellular matrix proteins collagen type IV and laminin as well as collagen type I. *Infection and Immunity* 2000; 68: 5218-5224.
23. Ozdemir HO, Buzoğlu HD, Çalt 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* 2010; 36: 842-846.
24. 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; 2: 75-8.
25. Meire MA, Coenye T, Nelis HJ, De Moor RJ. In vitro inactivation of endodontic pathogens with Nd:YAG and Er:YAG lasers. *Lasers Med Sci* 2012; 27: 695-701.
26. Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 1998; 31: 1-7.
27. 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 Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 107: 73-9.
28. Mehl A, Folwaczny M, Haffner C, Hickel R. Bactericidal effects of 2.94 microns Er:YAG-laser radiation in dental root canals. *J Endod* 1999; 25: 490-3.
29. Dos Santos Antonio MP et al. Bactericidal effects of two parameters of Er:YAG laser intracanal irradiation: ex-vivo study. *Lasers Med Sci* 2012 ; 27: 1165-8
30. Huth KC et al. Effect of ozone on oral cells compared with established antimicrobials. *Eur J Oral Sci* 2006; 114: 435-440.
31. Cardoso MG, de Oliveira LD, Koga-Ito CY, Jorge AO. Effectiveness of ozonated water on *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, and endotoxins in root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol and Endod* 2008; 105: 85- 91.
32. Zan R, Hubbezoglu I, Sumer Z, Tunc T, Tanalp J. Antibacterial Effects of Two Different Types of Laser and Aqueous Ozone Against *Enterococcus faecalis* in Root Canals. *Photomed Laser Surg* 2013; 31: 150-4.