

# Farklı Yıkama Solüsyonlarının Dentin Dezenfeksiyonuna Etkisinin İncelenmesi

## Assessing the Effect of Different Irrigation Solutions on Dentin Disinfection

Özlem KAHVECİ<sup>a</sup> (ORCID-0000-0002-0873-2033), Ayçe ÜNVERDİ ELDENİZ<sup>b</sup> (ORCID-0000-0001-7733-3055)

<sup>a</sup>Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Ahmet Keleşoğlu Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti ABD, Karaman, Türkiye

<sup>a</sup>Karamanoğlu Mehmetbey University, Ahmet Keleşoğlu Faculty of Dentistry, Endodontics , Karaman, Türkiye

<sup>b</sup>Selçuk Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti ABD, Konya, Türkiye

<sup>b</sup>Selcuk University, Faculty of Dentistry, Department of Endodontics, Konya, Türkiye

### ÖZ

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı, farklı yıkama solüsyonları (serum fizyolojik, %5.25 NaOCl, %2 klorheksidin diglukonat (Klorhex), SmearClear) kullanımının *E. faecalis* üzerine dezenfeksiyon etkinliğinin karşılaştırılmasıdır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmada düz, tek kanallı çekilmiş 46 adet diş kullanıldı. Dişlerin kuronları uzaklaştırıldıktan sonra, apikal açıklık #15 K-file ege ile kontrol edildi. Dişler, 121°C'de 20 dakika steril edilmeden önce, var olan smear tabakası sırasıyla 17% EDTA ve %5.25 NaOCl 4 dakika kullanılarak uzaklaştırıldı. Daha sonra tüm diş kökleri 21 gün boyunca 37°C'de *E. faecalis* ile enfekte edildi. Kullanılan yıkama solüsyonuna göre rastgele 4 eşit gruba ayrıldı (n=11). Tüm diş preparasyonları ProFile Ni-Ti el eğeleri ile crown-down yöntemi ile gerçekleştirildi. Kemomekanik preparasyon sonrasında canlılığını koruyan *E. faecalis* kök kanal boşluğunun iç kanal duvarlarından dentin talaşlarıyla toplandı ve sulandırıldı. Triptik soy agar bulunan petri kaplarına ekilerek değerlendirildi. Petri kabı üzerindeki koloniler 24-48 saat sonra sayıldı ve log<sub>10</sub> değerlere çevrildi. Her gruptan bir diş, taramalı elektron mikroskopu ile değerlendirildi. Sonuçlar, Kruskal Wallis ve Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U Testi ile analiz edildi.

**Bulgular:** *E. faecalis*'in kök kanallarından uzaklaştırılması bakımından kullanılan test solüsyonları arasında hiçbir korelasyon bulunmadığı sonucuna varıldı. Çalışmanın verilerine göre en düşük antimikrobiyal etkinlik SmearClear yıkama solüsyonu ve serum fizyolojik kullanılan gruplarda izlenmiştir. Bunu %2 klorheksidin diglukonat (Klorhex) kullanılan grup izlemiştir.

**Sonuç:** Sonuç olarak, kanal tedavisi sırasında en fazla mikrobiyal eliminasyon %5.25 NaOCl kullanıldığında gerçekleşmiştir. Preparasyon sırasında oluşan smear tabakasının ortadan kaldırılması tek bir solüsyon kullanımı ile mümkün olmadığı için dentin tübüllerine nüfuz eden mikroorganizmalar antimikrobiyal solüsyonlardan tamamiyle etkilenmemektedir. Bu sebeple kök kanal tedavisi sırasında birden fazla yıkama solüsyonu kullanımı gerek smear tabakasının ortadan kaldırılması gerekse antimikrobiyal etkinlik açısından önerilebilir.

**Anahtar sözcükler:** kök kanal preparasyonu, döner aletler, yıkama, apikal debris, *Enterococcus faecalis*.

### ABSTRACT

**Background:** The aim of this in-vitro study was to compare the disinfection effectiveness of different irrigation solutions (saline, 5,25% NaOCl, 2% chlorhexidine digluconate (Klorhex), SmearClear) on *E. faecalis*.

**Materials & Methods:** Forty- six, single-straight rooted, extracted human teeth were used. After removing the crowns, apical patency was checked with a size 15-K file instrument. Smear layer was removed with the sequentially, use of 17% EDTA and 5.25% NaOCl for 4 min before sterilization at 121°C 20 min. Then all roots were inoculated with *E. faecalis* for 21 days at 37°C. Each group was then divided into 4 subgroups according to the test irrigants (n=11). All tooth preparations were performed with ProFile NiTi hand files using the crown-down method. After chemomechanical preparation survival of *E. faecalis* was assessed by collecting dentine chips from inner canal walls of the root space, serially diluted and plated on Triptic soy agar (TSA) plates. After 24-48 hours, colony forming unit's (CFU's) counted and log<sub>10</sub> values were calculated. One tooth from each group was evaluated under scanning electron microscopy. The results were analyzed with the Kruskal Wallis and Bonferroni adjusted Mann-Whitney U Test.

**Results:** There was no correlation between the elimination of the microorganism and test irrigants. Lowest antimicrobial efficiency was observed in the groups SmearClear irrigation solution and saline were used. This was followed by the group using 2% chlorhexidine digluconate (Klorhex).

**Conclusion:** The highest microbial elimination was achieved when 5.25% NaOCl was used during root canal treatment. Since the removal of the smear layer occurred during the preparation is not possible with the use of a single solution, microorganisms penetrating the dentinal tubules are not completely affected by antimicrobial solutions. For this reason, the use of more than one irrigation solution during root canal treatment can be recommended in terms of both removal of the smear layer and antimicrobial effectiveness.

**Key words:** root canal preparations, rotary instruments, irrigation, apical debris, *E. faecalis*

### GİRİŞ

Mikroorganizmalar ve bunlara ait yan ürünler, endodontik hastalıkların ortaya çıkmasında en önemli etiyolojik faktörlerdir.<sup>1</sup> Ağız boşluğunun normal florasında 500'den fazla bakteri türünün bulunduğu bilinmekle birlikte, bunlardan yaklaşık 150 mikroorganizma çeşidi kök kanallarından izole edilebilmiş ve kültürü yapılabilmektedir.<sup>2</sup>

Kök kanal florasının seçici etkiler altında kalması neticesinde bazı bakteriler diğer bakterilerden daha elverişli şartlar bulur ve daha fazla çoğalır. Özellikle primer enfekte (hiç tedavi edilmemiş nekrotik pulpa dokusu bulunan kök kanalında, mikroorganizmaların pulpa dokusuna girdiği ve organize olduğu durumlarda) kök kanallarında zorunlu

anaerob bakterilerin büyümesi kolaylaşmış olur.<sup>3</sup> Sekonder enfeksiyonlarda (endodontik tedavi sonrasında kök kanalında mikroorganizmaların varlıklarını sürdürmelerine bağlı olarak görülen enfeksiyon durumu) ise fakültatif bakterilerin çoğaldığı gözlenmiştir.<sup>4,5</sup>

Enfekte kök kanalı şekillendirme ve antibakteriyel yıkama (kemomekanik preparasyon) uygulaması sonrasında dahi sadece %50-70 oranında temizlenebilmekte; geri kalan kısımdaki bakteriler canlılıklarını devam ettirmektedir.<sup>6,7</sup> *E. faecalis* önceden kanal tedavisi geçirmiş ve kronik periapikal patoloji gösteren dişlerden sıklıkla izole edilen fakültatif bakteridir.<sup>8,9</sup>

Kök kanal dezenfeksiyonu ile kanal içindeki bakteriler ve bunların yan

Gönderilme Tarihi/Received: 17 Şubat, 2022

Kabul Tarihi/Accepted: 11 Ocak, 2023

Yayınlanma Tarihi/Published: 27 Nisan, 2023

Atıf Bilgisi/Cite this article as: Kahveci Ö, Ünverdi Eldeniz A, Farklı Yıkama Solüsyonlarının Dentin Dezenfeksiyonuna Etkisinin İncelenmesi. Selcuk Dent J 2023;10(1):21-29 Doi: 10.15311/ selcukdentj.1069290

Sorumlu yazar/Corresponding Author: Özlem KAHVECİ

E-mail: dtozlemkahveci52@gmail.com

Doi: 10.15311/ selcukdentj.1069290

ürünleri uzaklaştırılarak, periradiküler dokulara geçişleri engellenmekte ve bunun neticesinde mikroorganizmaların dokularda hastalık oluşturmalarının önlenmesi ve/veya mevcut hastalığın iyileşmesine yardımcı olmak amaçlanmaktadır.<sup>10</sup>

Bakteriden arındırılmış bir kök kanalı elde etmek için çeşitli el eğeleri veya döner aletler ile mekanik temizlik ve şekillendirme esasında antibakteriyel özelliğe sahip yıkama solüsyonları kullanılarak kimyasal temizlik de yapılmaktadır. Bu şekilde enfekte kök kanallarından enfekte dentin dokusu, pulpa dokusu, nekrotik doku ve mikroorganizmalar uzaklaştırılabilmektedir.

Günümüze dek yapılan pek çok çalışmada kök kanal temizleme ve şekillendirme işlemlerinin hangi noktada yeterli olacağına dair çeşitli görüşler öne sürülmüştür. Haga, orijinal kanaldan 2 numara daha büyük eğe ile tamamlanacak bir kanal preparasyonunun yetersiz olacağını göstermiştir.<sup>11</sup> Gutiérrez ve Garcia ise kök kanalının çapının kullanılacak alet çapından daha büyük olması halinde, temizleme işleminin yetersiz kalacağını, bu nedenle de kök kanal çapının enstrümantasyon öncesi mutlaka ölçülmesi gerektiğini bildirmişlerdir.<sup>12</sup>

Walton, bir histolojik çalışmada, 3 numara daha büyük eğeye kadar şekillendirilen kanalda tam bir temizleme meydana gelmediğini bildirmiştir.<sup>13</sup> Tan ve Messer ise, *in-vitro* bir çalışmada paslanmaz çelik alet ve Ni-Ti döner aletler kullanarak kök kanal boşluğunda kalan pulpa artıkları ve debris kalıntılarını, alınan kesitlerde ışık mikroskobu kullanarak değerlendirmişlerdir.<sup>14</sup> Sonuçta iki sistemin de kök kanalını temizlemede tamamiyle etkin olmadığı sonucuna varmışlardır. Siqueira ve ark. ise, 5 farklı enstrümantasyon tekniği kullanarak kök kanalının (apikal bölümünün) temizliğini histolojik olarak değerlendirmişlerdir.<sup>15</sup> Hiçbir tekniğin tamamiyle kök kanalından debris uzaklaştırılmasını sağlayamadığını ve bunun kök kanal anatomisindeki varyasyonlara bağlı olabileceğini bildirmişlerdir. Mekanik temizliğin tek başına yeterli olmadığını belirten çalışmalar göz önüne alındığında kanal içi yıkama işlemi kök kanalının etkin bir şekilde temizlenmesi için önem taşımaktadır.

Hülsmann ve ark (2005) kök kanal tedavisi sırasında mekanik preparasyon yapılmasında kanal içindeki vital ve nekrotik dokuları uzaklaştırmak, irrigasyon ve medikasyon için yeterli alan yaratmak, apikal kanal anatomisinin lokalizasyonu ve bütünlüğünü korumak, kanal sistemi ve kök yapısına ijtroyenik hasar vermektan sakınmak, kanal doldurma işlemini kolaylaştırmak, periradiküler dokuların irritasyonu ve/veya enfeksiyonundan sakınmak ve dişin uzun dönem ağız içinde fonksiyonuna izin verecek yeterli miktarda kök kanal dentini bırakmak gerektiğini bildirmişlerdir.<sup>16</sup>

Kök kanalının temizlenmesi ve şekillendirilmesi kanal aletleriyle yapılmasına rağmen bu işlem sırasında bol miktarda yıkama solüsyonu ile kanalların yıkanması gereklidir.<sup>17</sup> Grossman, 1943 yılında kök kanalının iyi bir şekilde genişletilmesi ve temizlenmesi için yıkamanın gerekli olduğunu söylemiştir.<sup>18</sup>

Sodyum hipoklorit ilk olarak 1. Dünya Savaşı'nda yara antiseptiği olarak kimyager Dakin ve cerrah Carrel tarafından önerilmiştir.<sup>19</sup> Sodyum hipoklorit, özellikle geniş spektrumlu antibakteriyel (sporlara ve virüslere de etkili), organik doku çözücü ve kayganlaştırıcı özellikleri nedeniyle endodonti de en çok tercih edilen yıkama solüsyonudur.<sup>20</sup> Uzun raf ömrü, ucuz ve kolaylıkla elde edilebilir olması da avantajlarındandır.<sup>21</sup>

Geniş spektrumlu antibakteriyel etkinliğe ve düşük toksisiteye sahip bir katyonik bisguanid olan klorheksidin ilk olarak 1954'te ortaya çıkmıştır.<sup>22</sup> Endodontik literatürde kök kanal yıkama solüsyonu olarak tavsiye edilen yoğunluğu %2'dir.<sup>23</sup> Klorheksidin'in diş sert dokularına bağlanarak buradan yavaş ve sürekli bir salım yaptığı ve bu şekilde kök kanallarında antibakteriyel etkinliğini 12 haftaya kadar gösterebildiği bildirilmiştir.<sup>24-26</sup>

SmearClear, %17'lik EDTA solüsyonuna ek olarak setrimid adı verilen yüzey gerilimini düşürücü ıslatıcı ajan da içermektedir.<sup>27</sup> Setrimid, kuarternar amonyum bileşiği olan bir katyonik deterjan olup, iyi bir yüzey aktif ajandır. Bundan dolayı birçok gram pozitif, gram negatif bakteriler ve mantarlar üzerinde öldürücü etkisi vardır.<sup>27,28</sup>

Kök kanal preparasyonunun en önemli amacı temiz bir kök kanal sistemi elde etmektir. Bu amaçla mekanik temizleme işlemine ek

olarak farklı yıkama solüsyonları ile yıkama da yapılır. Bu sebeple çalışmamızın amacı kanal tedavisi sırasında kullanılan farklı yıkama solüsyonlarının kök kanalında bulunan *E. faecalis*'in eliminasyonu üzerine olan etkisini değerlendirmektir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma için Selçuk Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Değerlendirme Komisyonu'na başvurulmuş ve Komisyonun 2006/10 sayılı toplantısında alınan 26 numaralı kararında etik açıdan bir sakınca oluşturmadığına karar verilmiştir.

Çalışmamızda 46 adet kök gelişimini tamamlamış, düz, tek köklü, tek kanallı insan periodontal sorunlar nedeniyle çekilmiş daimî dişleri kullanılmıştır. Dişler üzerindeki sert ve yumuşak doku artıkları periodontal küret ve pomza tozu yardımıyla kök yüzeylerine zarar vermeye dikkat edilerek temizlenmiştir.

Daha sonra dişlerin anatomik kuronları elmas separe (Mani, Tokyo, Japonya) kullanılarak kesilmiş ve her bir örnekte kök kanalları içine yerleştirilen #15 K-tipi el aleti ucu apikal açıklıkta görülüne kadar kanalda ilerletilip, lastik rondel yardımıyla işaretlenen boydan 1 mm geri çekilerek çalışma boyları saptanmıştır.

Tüm kök kanallarında apikal açıklık kontrolü ve boy belirleme esnasında oluşan smear tabakasını uzaklaştırmak için örnekler ultrasonik banyoda %17'lik EDTA ve %5,25'lik NaOCl (Çağlayan Kimya A.Ş, Konya, Türkiye) solüsyonları ile 4'er dakika yıkandıktan sonra bol miktarda distile su ile yıkanarak smear tabakası kaldırılmıştır.<sup>29</sup>

Aynı tiplerdeki kökler eşit olarak dağıtılacak şekilde 44 dişten 4 grup oluşturulmuştur. 2 diş ise biri steril diğeri de enfekte kök kanalı örneği olmak üzere SEM görüntüsü almak üzere ayrılmıştır. Köklerin her biri distile su konulmuş ayrı şişelere yerleştirilerek 121 °C'de 20 dakika otoklavda (Hirayama, Saitama, Japonya) steril edilmiştir.

Preparasyon sırasında 7 ml'lik cam şişeler (Snap-Cap Glass Vials, Hecht Assistant, Marcy-L'etoile, Fransa) kullanılmıştır. Lastik şişe kapaklarına dişlerin yerleştirileceği delikler deri delici aparat kullanılarak açılmıştır. Cam şişeler ve kapakları ayrı ayrı otoklav için uygun paketlere (Corerite Sterilization Pouches, Stepac Ambalaj Malz. San ve Tic A.Ş., Antalya, Türkiye) yerleştirilip paketlenerek otoklavda 121 °C'de 20 dakika steril edilmiştir.

Çalışmamızda sıvı besi yeri olarak kullanılan Triptik soy bulyon (TSB) (Biomerieux, Marcy-L'etoile, Fransa) ve katı besi yeri olarak kullanılan Triptik soy agar (TSA) (Biomerieux, Marcy-L'etoile, Fransa) besi yerleri üretici tavsiyesine uygun olarak hazırlanarak kullanılmıştır. Sıvı besi yeri 1 lt distile su içerisine 30 gr TSB, katı besi yeri ise 1 lt distile su içerisine 40 gr TSA eklenecek şekilde 20 dakika süre ile otoklavda steril edilmiştir. Sterilizasyon sonrası deney esnasında kullanılacak sıvı ve katı besi yerleri içerisine, 40 ml distile steril su içinde çözdürülmüş toz halindeki streptomisin (AppliChem, Biochemica, Darmstadt, Almanya) besi yeri içindeki en son konsantrasyonu mililitrede 2 mg olacak şekilde ilave edilerek deneyler esnasında çevreden gelebilecek streptomisine duyarlı suşların yaşaması önlenmiş ve yabancı bakteriler ile kontaminasyon riski elimine edilmiştir.

Triptik soy agar (TSA) besi yerine ekilen *E. faecalis* mikroorganizmalarının 24 saat inkübasyon sonrasında elde edilen taze kültürlerinden öze dolusu alınan koloniler Triptik soy bulyon (TSB) içine aktararak 24 saat inkübe edilmiştir.

Bu süre sonunda optik yoğunluğu mikroplate okuyucu ( $\mu$  Quant ELISA Reader, Bio-Tek Instruments, Winooski, VT, ABD) kullanılarak spektrofotometrik olarak (OD600)=0,5 olacak şekilde ayarlanmıştır. Sonrasında diş kökleri standart olarak hazırlanan kültüre atılmıştır. Gün aşırı aynı şekilde taze kültür hazırlanarak, örneklerin bulunduğu besi ortama toplam 10 defa taze bakteri kültürü ile yenilenmiştir. Böylece dişler hazırlanan *E. faecalis* ile enfekte sıvı besi yeri içinde 37°C'de 3 hafta süreyle bekletilerek, bakterilerin dentin tübülleri içine girerek derin dentin enfeksiyonu oluşturması sağlanmıştır.

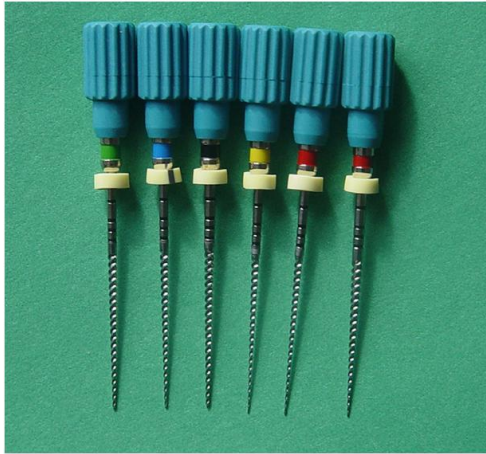
Üç hafta süreyle enfekte edilen dişler, sıvı besi yerinden çıkarılarak dış yüzeyleri tırnak cilası (Loreal Jet-Set Diamond, Paris, Fransa) ile iki kat yalıtılmıştır. Daha sonra lastik kapaklarda önceden kökün girebileceği kadar açılan deliklere, hazırlanan enfekte kökler

yerleştirilmiştir. Dişler steril edilmiş şişelere, lastik kapaklar içinde, metal kapak kapatıcı (Şilif Açıcı- Kapatıcı VWR Collection Almanya) ile sabitlenmiştir. Dişlerin etrafı mum (Sticky Wax, Kerr, Sybron Dental Specialties, Orange, ABD) ile kapatılarak dişle lastik kapak kısım arasında boşluk kalmaması sağlanmıştır. Dış ortam ile şişe içindeki havayı dengelemek amacıyla 27 numaralı enjektör ucu (Ayset Tıbbi Ürünler San. A.Ş., Adana, Türkiye) lastik kapaktan şişenin içine yerleştirilmiştir (Şekil 1). Elde edilen deney düzeneğinde şekillendirme işlemine başlanmıştır.



Şekil 1. Deney düzeneği

ProFile (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, İsviçre) Ni-Ti el eğeleri üzerine set içinde gelen aparat eklenerek crown down yöntemi kullanılarak el şekillendirme yapılmıştır (Resim 1).



Resim 1. Deneyimizde kullanılan ProFile el aletleri

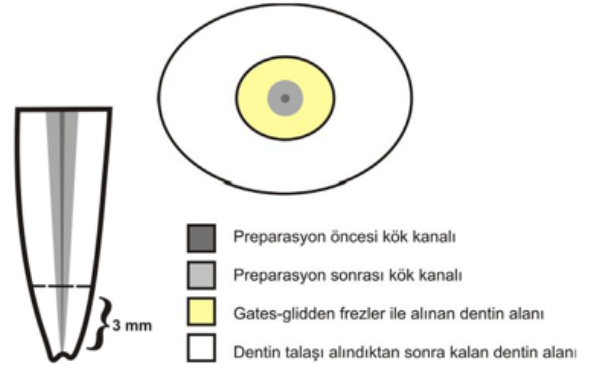
Şekillendirme sırasında ProFile döner aletlerden 0.06/25 açılı ve numaralı alet koronal 1/3'de kullanılmıştır. Konikliği 0.04 olan 25 numaralı alet ise 2/3'lük kısımda kullanıldıktan sonra 0.04/20 açılı ve numaralı alet çalışma boyunda kullanılmıştır. Konikliği 0.04 olan 25, 30, 35, 40 numaralı aletler çalışma boyunda kullanılmıştır.

Tüm şekillendirme işlemlerinde her alet değişiminde kök kanalları 2 ml serum fizyolojik ile yıkanmıştır. Test için kullanılacak yıkama solüsyonları mekanik temizleme işlemi ve preparasyon esnasında kullanılan serum fizyolojik solüsyonu sonrasında son yıkama solüsyonu olarak kök kanallarına 3 ml uygulanmıştır. Sonuç itibarıyla en son yıkama solüsyonu olarak serum fizyolojik, %5,25'lik NaOCl (Çağlayan Kimya İnşaat San. ve Tic. A.Ş., Konya), %2 klorheksidin diğluronat (Klorhex) (Drogsan İlaçları San. Ve Tic. A.Ş., Ankara, Türkiye) ve SmearClear (Kerr Sybron Endo, ABD) solüsyonları kullanılarak deney grupları oluşturulmuştur.

Özet olarak deneyimizde kullanılan 44 diş önce şekillendirme esnasında kullanılan en son yıkama solüsyonuna göre 4 gruba ayrılmıştır (n=11).

İşlemler öncesinde ortam havası UV ile steril edilmiş ve deney esnasında steril aletler kullanılarak, tüm işlemler steril şartlar altında yapılmıştır. Preparasyon işlemi sonrasında dişler şişelerden uzaklaştırılmıştır.

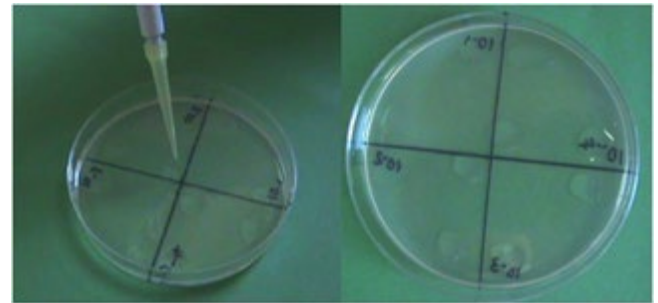
Preparasyon işlemi bitirilen dişlerin kök kanal boşluğu steril kâğıt konular yardımıyla kurulandıktan sonra buzdolabında -27 °C'de 1 saat bekletilmiştir. 30,31 Sonrasında dişlerin apikal 3 mm'lik kısmı elmas separe yardımıyla uzaklaştırılmıştır. 34 # 50, 70, 90, 110 numaralı gates-glidden frezleri (Mani Inc., Tokyo, Japonya) kullanılarak kök kanalının iç kısmındaki dentin lümeninden dentin talaşları steril alüminyum folyolar üzerine toplanmıştır (Şekil 2).



Şekil 2. Kök kanalından dentin talaşı toplama işlemi

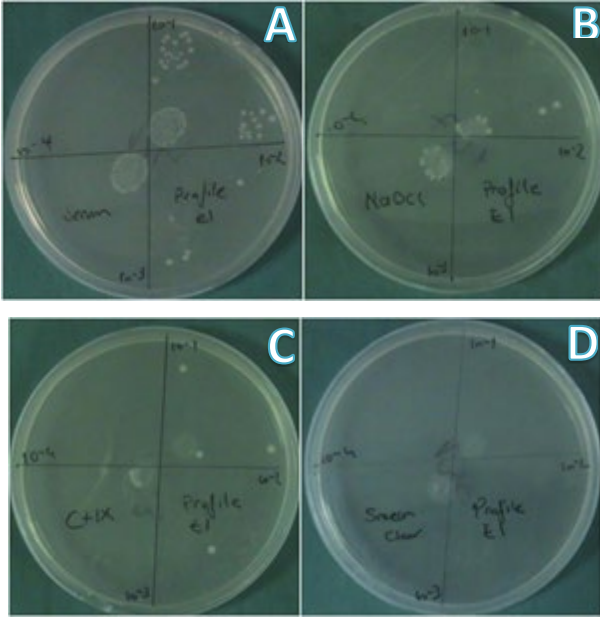
Toplanan dentin talaşları, içinde 2 ml PBS (Phosphate Buffered Saline, fosfat ile tamponlanmış salin) (Sigma-Aldrich, Steinheim, Almanya) ve cam boncuk (3 mm, Merck, Darmstadt, Almanya) bulunan cam şişelerin içine konularak, karıştırıcıda (VWR, Darmstadt, Almanya) 15 sn süreyle karıştırılmıştır. Sulandırma işlemine geçerken bu şişeden 0,1 ml alınarak önceden 0,9 ml PBS ile doldurularak hazırlanan tüpe geçilmiş ve karıştırıcıda homojen hale gelene kadar karıştırıldı. Seri olarak 10<sup>-4</sup>'e kadar sulandırılmıştır.

Sonrasında petri kabı 4 eşit bölmeye ayrılmış ve petri kaplarına örneklerin ekim işlemine geçilmiştir. (Resim 2). Her tüpten 0,25 ml alınan PBS örnekleri otomatik pipetler ile taşınarak petride işaretlenmiş ilgili alana bırakılmıştır (Resim 6). Petri kabının ortasına ise dentin talaşlarının konulup karıştırıldığı şişeden aynı miktarda alınarak konulmuştur. Petri kutularında bulunan 10 damlanın birbirlerine karışarak sayım işlemlerinin doğruluğunu etkilememesi için petriler kapatılmadan yarım saat özel havalandırılmalı güvenlik kabininde (Labconco, Kansas City, ABD) damlaların buharlaşması için tutulmuştur. Sonrasında kapatılarak ters çevrilen petriler inkübatör için uygun jarlara (Genbox Jar, Biomerieux, Marcy- L'etoile, Fransa) yerleştirilerek koloniler sayılabilir hale gelene kadar 24-48 saat inkübatörde bekletilmiştir.



Resim 2. Yapılan sulandırmalardan alınan 0,25 ml'lik örneklerin petri kabına bırakılması ve işlem sonunda petri kabının görüntüsü.

Çalışma sonunda petrilerdeki koloniler klasik koloni sayım (CFU) tekniğine uygun olarak sayılmıştır.<sup>33,34</sup> Her grubun rastgele seçilmiş bir petri kutusundan alınan örnek fotoğrafları Resim 3.a-d 'de görülmektedir.



Resim 3. a. Serum fizyolojik, Resim 3. b. NaOCl, Resim 3. c. Klorhex®, Resim 3. d. SmearClear yıkama solüsyonları ve el ile genişletme yöntemi kullanılarak şekillendirilen kök kanallarından alınan dentin örneklerine ait TSA petriyelerinin görünümü (TSA petriyeler bakteri kolonilerinin daha iyi görüntülenmesi için işlemden 48 saat sonra fotoğraflanmıştır).

Tüm deney gruplarına ait petriyelerin koloni sayımları ilgili sulandırma miktarı göz önüne alınarak yapılmıştır ve kaydedilen değerler  $\log_{10}$ 'a çevrilmiştir. Sonrasında elde edilen değerler istatistiksel analizler için hazırlanmıştır.

Mikrobiyal değerlendirme kültür yapılarak değerlendirildiği gibi her gruptan rastgele seçilen bir örnek, enfekte edilen bir örnek ve hiçbir enfeksiyon işlemine tabii tutulmayan bir örnek olmak üzere toplam 6 adet diş örneği vertikal yönde su soğutması altında elmas separe yardımıyla ikiye ayrılmıştır. Elde edilen örnekler, farklı büyütmelerde (X500 ve X5000) taramalı elektron mikroskobu (SEM) (Leo 440, Electron Microscopy Ltd. Cambridge, İngiltere) altında kök kanal yüzeyleri, dentin tübüllerinin durumu smear tabakası ve mikroorganizmaların varlığı incelenmiştir.

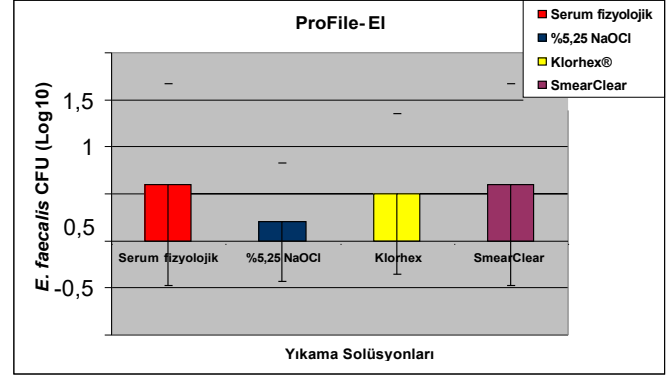
Bulguların istatistiksel analizi, SPSS 15.0 V (SPSS Inc., Chicago, ABD) bilgisayar programı kullanılarak yapılmıştır. Her iki deneyde de elde edilen veriler normal dağılım göstermediğinden non- parametrik bir test olan Kruskal-Wallis ve Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney -U testleri uygulanarak analiz edilmiştir.

## BULGULAR

ProFile el ile genişletme yöntemi ile 4 farklı yıkama solüsyonu kullanılarak yapılan preparasyon sonrasında *E. faecalis* mikroorganizmasının kök kanallarından uzaklaştırma etkinliği değerlendirilmiş ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir (Kruskal Wallis=1,48;  $P>0,05$ ) (Tablo 1 ve Grafik 1).

Tablo 1. ProFile el ile genişletme yöntemi ile serum fizyolojik, NaOCl, Klorhex® ve SmearClear kullanımının *E. faecalis* mikroorganizmasını uzaklaştırma etkinliğini gösteren ortalama  $\pm$  standart sapma (ort  $\pm$  SS) ve ortanca (m) değerleri.

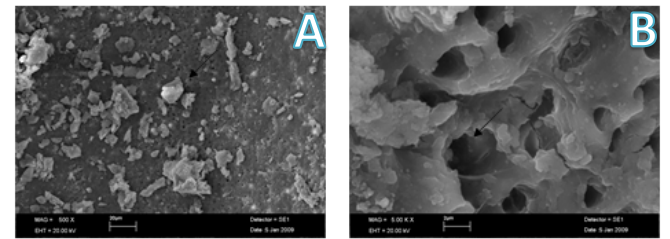
ProFile-EI ile Genişletme	Ortalama $\pm$ Standart Sapma (ort $\pm$ SS)	Ortanca (m)
Serum fizyolojik	0,60 $\pm$ 1,07	0
%5,25 NaOCl	0,20 $\pm$ 0,63	0
Klorhex®	0,50 $\pm$ 0,85	0
SmearClear	0,60 $\pm$ 1,07	0



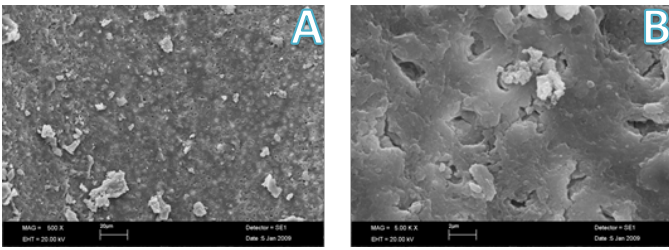
Grafik 1. ProFile el ile genişletme yönteminin serum fizyolojik, %5,25 NaOCl, Klorhex® ve SmearClear solüsyonları ile birlikte kullanımı sonrasında grupların mikrobiyolojik sayım sonuçlarının ortalama  $\pm$  standart sapma (ort  $\pm$  SS) değerlerini gösteren grafik.

Test solüsyonlarından SmearClear ve serum fizyolojik arasında hiçbir fark bulunmazken %5,25 NaOCl solüsyonunun en fazla mikrobiyal uzaklaştırma sağladığı izlenmiştir.

Mekanik preparasyon sırasında kullanılan 4 farklı solüsyon ile yıkama sonrasında kök kanal duvarlarında ve kanal içerisindeki debris miktarında meydana gelen değişimler SEM kullanılarak değerlendirilmiştir. SEM ile rastgele seçilerek hazırlanan örneklerin kök kanal duvarlarından çeşitli büyütmelerde (X500 ve X5000) alınan mikrofotografılar Resim 4 a, b ve 9 a, b 'de verilmiştir. Enfekte edilmek üzere hazırlanan steril örnekte açık dentin tübülleri net olarak izlenmektedir (Resim 8 a, b). Buna karşılık *E. faecalis* ile enfekte edilen örnekte tüm dentin yüzeyindeki yoğun mikroorganizma gözlenmektedir (Resim5 a, b).

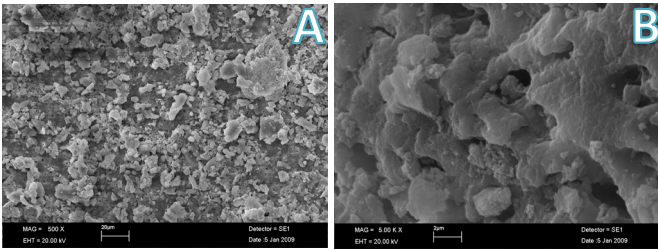


Resim 4. El ile şekillendirme yöntemi ve serum fizyolojik yıkama solüsyonu kullanılan gruba ait örnekte dentin talaşlarının yoğun bir şekilde dentin yüzeyini kapladığı gözlenmekle beraber dentin tübül ağzlarının açık olduğu belirlenmiştir (a. 20 kV'da  $\times 500$  büyütme ile alınan SEM görüntüsü ve b.  $\times 5000$  büyütme ile alınan SEM görüntüsü).

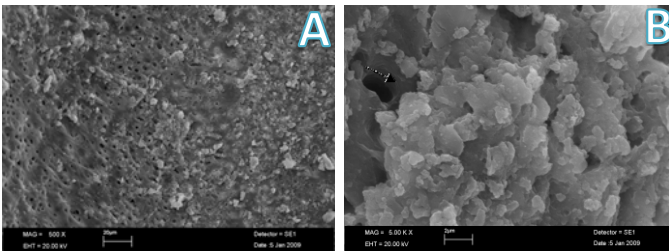


**Resim 5.** El ile şekillendirme yöntemi ve %5,25'lik NaOCl yıkama solüsyonu kullanılan gruba ait örnekte dentin talaşları ve smear tabakasının dentin yüzeyini kapladığı gözlemlenirken beraber smear tabakasının dentin tübül ağzlarını da kapattığı gözlemlenmiştir (a. 20 kV'da x500 büyütme ile alınan SEM görüntüsü ve b. x5000 büyütme ile alınan SEM görüntüsü).

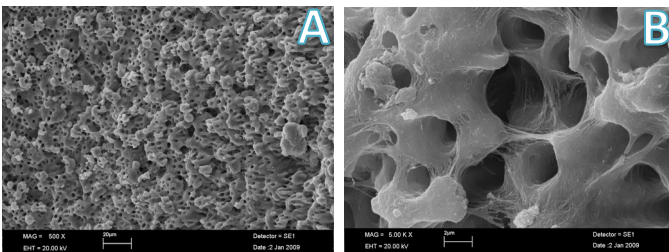
Tüm test grubu örneklerinde ise smear tabakasının yoğun olmasına karşın ve bazı dentin tübül ağzlarının açık olduğu da izlenmektedir (Resim 4 a,b ve 7 a,b).



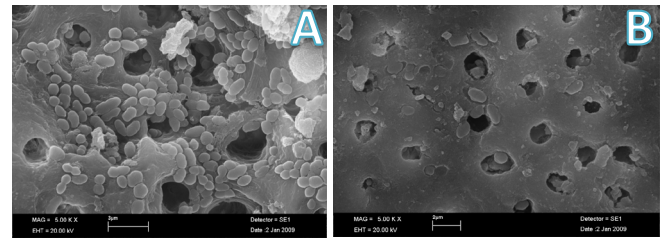
**Resim 6.** El ile şekillendirme yöntemi ve Klorhex® yıkama solüsyonu kullanılan gruba ait örnekte dentin talaşlarının dentin yüzeyini kapladığı gözlemlenirken beraber smear tabakasının dentin tübül ağzlarını kısmen kapattığı gözlemlenmiştir (a. 20 kV'da x500 büyütme ile alınan SEM görüntüsü ve b. x5000 büyütme ile alınan SEM görüntüsü).



**Resim 7.** El ile şekillendirme yöntemi ve SmearClear yıkama solüsyonu kullanılan gruba ait örnekte smear tabakasının bazı bölgelerde dentin tübül ağzlarını kapattığı gözlemlenmiştir (a. 20 kV'da x500 büyütme ile alınan SEM görüntüsü ve b. x5000 büyütme ile alınan SEM görüntüsü).



**Resim 8.** Enfekte edilmek üzere hazırlanan, smear tabakası uzaklaştırılıp steril edilmiş örnekte açık dentin tübülleri gözlemlenmektedir (a. 20 kV'da x500 büyütme ile alınan SEM görüntüsü ve b. x5000 büyütme ile alınan SEM görüntüsü).



**Resim 9.** E. faecalis ile enfekte edilmiş örnekte dentin tübülleri içinde ve tüm dentin yüzeyinde yoğun bir mikroorganizma varlığı gözlemlenmektedir (a. 20 kV'da x500 büyütme ile alınan SEM görüntüsü ve b. x5000 büyütme ile alınan SEM görüntüsü).

#### TARTIŞMA

Kök kanalının şekillendirilmesi sırasında pulpa dokusu ve dentin partiküllerinden oluşan smear tabakasının, kök kanal duvarlarını kapladığı ve dentin tübülleri içine kadar uzandığı bilinmektedir. Kök kanal şekillendirilmesi sırasında meydana gelen kalın ve homojen olmayan bir smear tabakası, hiç kuşkusuz ki, kök kanalı içindeki mikroorganizmaların etkin bir şekilde uzaklaştırılmasını engelleyebilecek ve kök kanalının tamamen tıkanmasına da neden olacaktır. Bu nedenledir ki; inorganik ve organik smear tabakasının uzaklaştırılmasının şart olduğu düşünülmüş ve bu amaçla da antibakteriyel yıkama solüsyonları ile birlikte çeşitli şelasyon ajanlarının kullanımı önerilmiştir.<sup>35,36</sup> Bizim çalışmamızda ise, her ege kullanımı sonrası sadece serum fizyolojik solüsyonu ile gerçekleştirilen yıkama işlemi ve son yıkama solüsyonu olarak da sadece bir çeşit ya antibakteriyel ya da şelasyon ajanı özelliğine sahip solüsyonunun kullanılması nedeniyle hem smear tabakasının ve dolayısıyla da tümüyle mikroorganizmaların kanal içerisinden uzaklaştırıldığı düşünülmemekle beraber antibakteriyel etkinlik açısından değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda, E. faecalis ile kontamine edilmeden önce dişlerin smear tabakasının %5,25'lik NaOCl ve %17'lik EDTA solüsyonu kullanılarak uzaklaştırılmasına bağlı olarak mikroorganizmaların dentin tübülleri penetrasyonun arttığını ve derin dentin enfeksiyonlarının oluştuğu düşünülmektedir. Smear tabakasının uzaklaştırılmasıyla E. faecalis kontaminasyonunun daha fazla olacağı bilinmekle beraber<sup>37</sup>, kanal preparasyonu sonrasında oluşan smear tabakasının bakteri eliminasyonunda daha önemli rol oynadığı kararına varılmıştır. Bilindiği üzere NaOCl solüsyonu smear tabakasının sadece organik kısmı üzerine etkili bir solüsyon iken, klorheksidin glukonat solüsyonunun smear tabakası üzerinde bilinen herhangi bir etkinliği yoktur.<sup>38,39</sup> Bu nedenle çalışmamızda bulunan derin dentin tübülleri içine yerleşmiş bakteriler ile solüsyonlar arasında bir bariyer olarak işlev gören, şekillendirme esnasında oluşan smear tabakasının elde edilen sonuçta katkısı olduğu açıktır.

Örneklerden alınan SEM görüntüleri incelendiğinde tüm test solüsyonlarının smear tabakasını tek başına tamamiyle uzaklaştıramadığını söylemek mümkündür. Bu sebeptir ki, antibakteriyel veya şelasyon özelliğine sahip test solüsyonlarının kısa süreli antimikrobiyal etkinliğini değerlendirmiş olduğumuz çalışmamızın sınırları dâhilinde aralarında bir farklılık bulunamamıştır.

Çalışmamızda kontrol yıkama solüsyonu olarak serum fizyolojik solüsyonu kullanılmıştır. Serum fizyolojik solüsyonunun antibakteriyel özelliği bulunmamasına rağmen mekanik preparasyon sırasında yıkama etkisi ile debris uzaklaştırdığı için kök kanalında bulunan bakteri sayısını azaltmaktadır.<sup>24</sup> Bizim bulgularımıza göre, serum fizyolojik solüsyonu diğer solüsyonlarla karşılaştırıldığında bakteri sayısını azaltmadaki etkinliği diğer solüsyonlardan farksız bulunmuştur. Bu sonuç diğer çalışmalarla alınan sonuçları destekler yönde değildir.<sup>40,41</sup> Bu da antibakteriyel özellikteki yıkama solüsyonlarının düşük hacimlerde uygulanmasından ve smear tabakası varlığına bağlı olarak dentin tübüllere solüsyonların ulaşmamasından kaynaklanabilir.

Jeansonne ve White (1994), %5,25 NaOCl ve %2 klorheksidin glukonatın antibakteriyel etkinliğini işlem öncesi ve sonrası alınan

kültür ile değerlendirmişlerdir. Preparasyon işlemi sırasında her ege arasında 1 ml, egeleme işlemi bitiminden sonra da 3 ml test solüsyonu kullanmışlardır.<sup>42</sup> Buna göre %2'lik klorheksidin glukonat, sodyum hipoklorite benzer bir etkinlik göstermiştir. Bu çalışmada smear tabakası uzaklaştırılmadığı için aynı miktarda kullanılan irrigasyon solüsyonlarının etkinliğinin sınırlı olduğu gösterilmiş olduğundan alınan sonuçlar çalışmamızda alınan sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Özgey ve ark (2000), EDTA ve sodyum hipoklorit solüsyonlarının art arda kullanımının en antibakteriyel yöntem olduğunu gözlemişlerdir.<sup>43</sup> İrrigasyon miktarının fazla olması ve tekrarlayan irrigasyon ile debris ve mikroorganizma uzaklaştırmanın daha etkili olduğu da Baker ve ark (1975) tarafından bildirilmiştir.<sup>44</sup> Bizim çalışmamızda ise ProFile eğeleri kullanılarak yapılan preparasyon işleminde toplam 19 ml yıkama solüsyonu kullanılmıştır (Her ege arasında 2 ml serum fizyolojik, son yıkama solüsyonu olarak ise deney solüsyonu 3 ml). Bu miktar, diğer in-vitro çalışmalarda uygulanan son yıkama solüsyonu miktarından daha azdır.<sup>43,45</sup>

Ringel ve ark (1982) yaptıkları in-vivo bir çalışmada %2,5'lik NaOCl'ün %0,2'lik klorheksidin glukonat solüsyonundan daha fazla antibakteriyel etkinliğe sahip olduğunu görmüşlerdir.<sup>46</sup> Kök kanallarının genişletme işlemi sırasında kullanılan test solüsyonlarının miktarı kesin olarak verilmemekle beraber sonrasında 25 ml steril distile su kullanıldıktan sonra kök kanallarından örnek alınmıştır. Bu miktar bizim çalışmamızda kullandığımız solüsyon miktarından çok daha fazladır. Preparasyon sırasında kullanılan serum fizyolojik solüsyon miktarı 16 ml ve test edilen yıkama solüsyonu ise 3 ml olmak üzere toplamda 19 ml yıkama solüsyonu kullanılmıştır. Bu sebeple çalışmamızda kullandığımız test solüsyonlarının [serum fizyolojik, %5,25 NaOCl, %2 klorheksidin glukonat (Klorhex) ve SmearClear solüsyonları] miktarları çok az olduğu için de antibakteriyel etkinlikleri açısından bir farklılık bulunamamış olabilir.

Aktener ve ark (1989), yüzey aktif ajanların smear tabakasının dentin tübüllerine penetrasyonu üzerine etkisini incelemişlerdir. Çalışmada yüzey aktif ajanların kanal içersinde kullanılmalarının, smear tabakasının dentin tübüllerinin daha derinine doğru penetre olmasına sebep olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca smear materyallerinin kapiller hareket ve sıvı dinamikleri ile dentin tübüllerine doğru sıkıştırıldığı hipotezi desteklenmiştir. Şayet preparasyon sırasında düşük yüzey aktiviteli deterjanlar içeren yıkama solüsyonu kullanılırsa, smear materyalinin dentin tübüllerinde daha derine penetre olacağı da bildirilmiştir.<sup>47</sup> Çalışmamızda düşük yüzey aktivitesine sahip bir ajan olan SmearClear kullanılmıştır. Yukarıda anlatılan sebeple bu solüsyonun uygulandığı gruplarda smear tabakası dentin tübüllerine daha fazla penetre olmuştur (Resim 7 a, b). Dolayısıyla da smear tabakasında bulunan mikroorganizmaların eliminasyonu da zorlaşmıştır. Bu yönüyle çalışmamızda aldığımız sonuçlar araştırmacıları desteklemektedir.

Çalışmamızda kliniği daha uygun sonuçlar alınabilmesi açısından çekilmiş insan dişleri kullanılmış ve farklı yıkama solüsyonlarının kök kanallarından bakterileri uzaklaştırma etkinlikleri değerlendirilmiştir. Yine önceden yapılmış bir başka çalışmada kök ucundaki lateral kanalların ve ramifikasyonların varlığı bilgisayarda Hess modeli kullanılarak, kök ucundan 1, 2, 3 ve 4 mm uzaklıkta kesitler alınarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak kök ucunun 3 mm kesilerek uzaklaştırılması sonrasında lateral kanalların %93 oranında azaltılabildiği bildirilmiştir.<sup>30</sup> Bu nedenle çekilmiş insan dişleri kullanılan çalışmamızda preparasyon ve yıkama işlemleri sonrasında kök kanal lümeninden dentin talaş örnekleri alınmadan önce kök ucu 3 mm kesilip uzaklaştırılmıştır. Böylelikle, dişler arasında standardizasyon sağlanmaya çalışılmış ve dişlerde mevcut olan farklı sayılardaki lateral kanallarda ve apikal deltalarda bulunan mikroorganizmaların alınacak sonuçlar üzerinde etkili olmasına engel olunmuştur.

Çoğu klinisyen iyi bir kanal tedavisi yapmak için doğru kanal boyunda mekanik temizliğin yeterli olamayacağını ve organik/inorganik smear tabakası ile mikroorganizmaların eliminasyonu için irrigasyon işleminin önemli olduğu daha önceden bildirilmiştir.<sup>36,48</sup> Çalışmamızda diş kök dentininde *E. faecalis* biyofilmli oluşturmak için dentin tübüllerinden smear tabakası tamamen uzaklaştırılmıştır. Böylelikle dişler derin dentine kadar enfekte edilebilmiştir. Fakat dişlerin el ege sistemi ile mekanik preparasyonu ile genişletilmesinde oluşan smear tabakası

sadece son irrigasyon solüsyonu olarak test solüsyonunun kullanıldığı için örneklerde ne smear tabakasının ne de *E. faecalis* eliminasyonunun tam olarak gerçekleşmediği izlenmiştir.

Diş örneklerinin dış yüzeyleri işlem öncesi tırnak cilası ile kaplanmıştır. Tırnak cilasının içeriğinde antibakteriyel özelliğe sahip bazı maddeler bulunabilir. Fakat söz konusu etkinin gözardı edilebilecek ölçüde önemsiz olduğu daha önce bildirilmiştir.<sup>29</sup>

Dişlerden elde edilen dentin talaşlarının besi yerlerine ekilmesiyle dişlerdeki canlı kalan bakterilerin belirlenmesi yöntemi literatürde "dentin modeli" olarak geçer ve şimdiye kadar çeşitli şekillerde modifiye edilerek birçok araştırmacı tarafından kullanılmış, başarıları kanıtlanmış bir değerlendirme yöntemidir.<sup>29,31,49,50</sup> Geleneksel kültür metodlarından biri olan kâğıt kon ile kültür alma yöntemi ise sadece planktonik mikroorganizmaların varlığını doğrulayabilir. Kağıt kon kanal sistemi içindeki düzensiz bölgelere ulaşamayacağı için dentin tübüllerinde kalan bakteri veya biyofilm içinde bulunan bakterilerin tespiti için uygun değildir.<sup>51</sup> Bu nedenle Haapasalo ve Ørstavik tarafından bazı modifikasyonlarla geliştirilen dentin alaşı modeli, çalışmalarında histoloji ve dentin tozu kültürü arasında iyi bir korelasyon bildirildiği için tercih edilmiştir. Ayrıca önceki bazı çalışmalarda<sup>28,31</sup> işlem sırasında Gates-glidden frezlerin kullanımı neticesinde dentinde aşırı ısınma görülebileceği ve bu ısının da bakterileri öldürebileceği görüldüğünden, bu çalışmalarda da örnekler dentin talaşı alınmadan önce buzdolabında -27°C'de 1 saat bekletilerek soğutulmuştur.

Çeşitli yıkama solüsyonlarının antimikrobiyal etkinliğini belirlemede kullanılan diğer bir method olan agar difüzyon metodu ise diş kök kanalında yapılacak olan yıkama işlemine benzer bir uygulamaya olamayacağından dolayı tam olarak kliniği yansıtmamaktadır.<sup>52</sup>

## SONUÇ

Hiçbir yıkama solüsyonu smear tabakasını tek başına tam olarak elimine edememektedir. Buna bağlı olarak solüsyonlar dentin tübüllerinde bulunan mikroorganizmalara ulaşamadığından tam bir mikrobiyal eliminasyon sağlanamamıştır. Bununla birlikte çalışmamız sınırları dâhilinde smear tabakası varlığında bile %5,25'lik NaOCl, test edilen diğer yıkama solüsyonlarından daha iyi bir kanal içi bakteri eliminasyonu sağlaması nedeniyle klinisyenlere önerilebilir.

## Değerlendirme / Peer-Review

İki Dış Hakem / Çift Taraflı Körleme

## Etik Beyan / Ethical statement

Bu çalışma Prof Dr Ayçe ÜNVERDİ ELDENİZ danışmanlığında 2009 tarihinde sunduğumuz/tamamladığımız "Farklı Ni-Ti Döner Alet Sistemleri Ve Yıkama Solüsyonları Kombinasyonlarının Dentin Dezenfeksiyonuna Ve Kök Kanalından Debris Çıkışına Etkisinin İncelenmesi" başlıklı doktora tezi esas alınarak hazırlanmıştır.

Bu çalışmanın hazırlanma sürecinde bilimsel ve etik ilkelere uyulduğu ve yararlanılan tüm çalışmaların kaynakçada belirtildiği beyan olunur.

This study has been prepared on the basis of the master's/doctoral thesis titled "Assessing The Effect Of Different Rotary Ni-Ti Systems AndIrrigation Solution Combination On Dentin Disinfection AndDebris Extrusion From The Root Canal" Which We Submitted/Completed On 2009 Under The Supervision of Prof Dr Ayçe ÜNVERDİ ELDENİZ.

It is declared that during the preparation process of this study, scientific and ethical principles were followed and all the studies benefited are stated in the bibliography.

## Benzerlik Taraması / Similarity scan

Yapıldı - ithenticate

## Etik Bildirim / Ethical statement

ethic.selcukdentaljournal@hotmail.com

## Telif Hakkı & Lisans / Copyright & License

Yazarlar dergide yayınlanan çalışmalarının telif hakkına sahiptirler ve çalışmalarını CC BY-NC 4.0 lisansı altında yayımlanmaktadır.

**Finansman / Grant Support**

Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadığını beyan etmiştir. | The authors declared that this study has received no financial support.

**Çıkar Çatışması / Conflict of Interest**

Yazarlar çıkar çatışması bildirmemiştir. | The authors have no conflict of interest to declare.

**Yazar Katkıları / Author Contributions**

Çalışmanın Tasarlanması | Design of Study: AÜE (%75), ÖK(%25)

Veri Toplanması | Data Acquisition: ÖK (%100)

Veri Analizi | Data Analysis: AÜK(75),ÖK(25)

Makalenin Yazımı | Writing up: ÖK(100)

Makale Gönderimi ve Revizyonu | Submission and Revision: ÖK(%100)

## KAYNAKLAR / RESOURCES

1. Matusow RJ. Acute pulpal-aleveolar cellulitis syndrome. I. Clinical study of bacterial isolates from pulps and exudates of intact teeth, with description of a specific culture technique. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1979;48(1):70-6.
2. Gomes BP, Pinheiro ET, Gadê-Neto CR, Sousa EL, Ferraz CC, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiol Immunol.* 2004; 19(2):71-6.
3. Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. *J Endod.* 1992;18(9):427-30.
4. Molander A, Reit C, Dahlén G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 1998; 31(1):1-7.
5. Tennert C, Fuhrmann M, Wittmer A, Karygianni L, Altenburger MJ, Pelz K, Hellwig E, Al-Ahmad A. New bacterial composition in primary and persistent/secondary endodontic infections with respect to clinical and radiographic findings. *J Endod.* 2014;40(5):670-7.
6. Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1983; 55(3):307-12.
7. Barnett F, Trope M, Khoja M, Tronstad L. Bacteriologic status of the root canal after sonic, ultrasonic and hand instrumentation. *Endod Dent Traumatol.* 1985; 1(6):228-31.
8. Sirén EK, Haapasalo MP, Ranta K, Salmi P, Kerosuo EN. Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. *Int Endod J.* 1997; 30(2):91-5.
9. Alghamdi F, Shakir M. The influence of enterococcus faecalis as a dental root canal pathogen on endodontic treatment: a systematic review. *Cureus.* 2020 13;12(3): e7257.
10. Akbulut M.B., Güneşer MB, Eldeniz AU. Farklı antiseptik taşıyıcı ve kalsiyum hidrokisit kombinasyonlarının doku çözücü etkinliğinin incelenmesi. *Selcuk Dent J.* 2017; 4(1): 1-5
11. Haga CS. Microscopic measurements of root canal preparations following instrumentation. *J Br Endod Soc.* 1968; 2(3):41-6.
12. Gutiérrez JH, García J. Microscopic and macroscopic investigation on results of mechanical preparation of root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1968; 25(1):108-16.
13. Walton RE. Histologic evaluation of different methods of enlarging the pulp canal space. *J Endod.* 1976; 2(10):304-11.
14. Tan BT, Messer HH. The quality of apical canal preparation using hand and rotary instruments with specific criteria for enlargement based on initial apical file size. *J Endod.* 2002; 28(9):658-64.
15. Siqueira JF Jr, Araújo MC, Garcia PF, Fraga RC, Dantas CJ. Histological evaluation of the effectiveness of five instrumentation techniques for cleaning the apical third of root canals. *J Endod.* 1997; 23(8):499-502.
16. Hülsmann M, Peters OA, Dummer PM. Mechanical preparation of root canals: shaping goals, techniques and means. *Endod Topics.* 2005; 10:30-76.
17. Brown DC, Moore BK, Brown CE Jr, Newton CW. An in vitro study of apical extrusion of sodium hypochlorite during endodontic canal preparation. *J Endod.* 1995;21(12):587-91.
18. Grossman LI. Irrigation of root canals. *J Am Dent Assoc.* 1943;30(23):1915-7.
19. Levine JM. Dakin's solution: past, present, and future. *Adv Skin Wound Care.* 2013;26(9):410-4.
20. Mohammadi Z. Sodium hypochlorite in endodontics: An update review. *Int Dent J.* 2008;58(6):329-341.
21. Frais S, Ng YL, Gulabivala K. Some factors affecting the concentration of available chlorine in commercial sources of sodium hypochlorite. *Int Endod J.* 2001;34(3):206-15.
22. Davies GE, Francis J, Martin AR, Rose FL, Swain G. 1:6-Di-4=chlorophenyldiguanidohexane(hibitane); laboratory investigation of a new antibacterial agent of high potency. *Br J Pharmacol Chemother.* 1954;9(2):192-6. (İçinde: Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod.* 2006; 32:389-98).
23. Gomes BP, Vianna ME, Zaia AA, Almeida JF, Souza-Filho FJ, Ferraz CC. Chlorhexidine in endodontics. *Braz Dent J.* 2013;24(2):89-102.
24. Kuruvilla JR, Kamath MP. Antimicrobial activity of 2.5% sodium hypochlorite and 0.2% chlorhexidine gluconate separately and combined, as endodontic irrigants. *J Endod.* 1998; 24(7):472-6.
25. Rosenthal S, Spångberg L, Safavi K. Chlorhexidine substantivity in root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004; 98(4):488-92.
26. Giardino L, Ambu E, Becce C, Rimondini L, Morra M. Surface tension comparison of four common root canal irrigants and two new irrigants containing antibiotic. *J Endod.* 2006;32(11):1091-3.
27. D'Arcangelo C, Varvara G, De Fazio P. An evaluation of the action of different root canal irrigants on facultative aerobic-anaerobic, obligate anaerobic, and microaerophilic bacteria. *J Endod.* 1999;25(5):351-3.
28. Khedmat S, Aligholi M, Sadeghi S. Influence of Bovine Serum Albumin on the Antibacterial Activity of Endodontic Irrigants against *Enterococcus Faecalis*. *Iran Endod J.* 2009;4(4):139-43.
29. 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.* 1997; 8(2):67-72.
30. Lei L, Shao M, Yang Y, Mao M, Yang Y, Hu T. Exopolysaccharide dispelled by calcium hydroxide with volatile vehicles related to bactericidal effect for root canal medication. *J Appl Oral Sci.* 2016;24(5):487-495.
31. Eldeniz AU, Ozer F, Hadimli HH, Erganiş O. Bactericidal efficacy of Er,Cr:YSGG laser irradiation against *Enterococcus faecalis* compared with NaOCl irrigation: an ex vivo pilot study. *Int Endod J.* 2007; 40(2):112-9.
32. Vertucci FJ. Root canal anatomy of the human permanent teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1984; 58(5):589-99.
33. Oliveira DP, Barbizam JV, Trope M, Teixeira FB. In vitro antibacterial efficacy of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007; 103(5):702-6.
34. Lin S, Kfir A, Laviv A, Sela G, Fuss Z. The in vitro antibacterial effect of iodine- potassium iodide and calcium hydroxide in infected dentinal tubules at different time intervals. *J Contemp Dent Pract.* 2009; 10(2):59-66.
35. Gambarini G. Shaping and cleaning the root canal system: a scanning electron microscopic evaluation of a new instrumentation and irrigation technique. *J Endod.* 1999; 25:800-3.
36. Menezes, M.M.; Valera, M.C.; Jorge, A.O.; Koga-Ito, C.Y.; Camargo, C.H.; Mancini, M.N. In vitro evaluation of the effectiveness of irrigants and intracanal medicaments on microorganisms within root canals. *Int. Endod. J.* 2004;37(5), 311-319.
37. Dunavant TR, Regan JD, Glickman GN, Solomon ES, Honeyman AL. Comparative evaluation of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilms. *J Endod.* 2006;32(6):527-31.
38. Cathro P. The importance of irrigation in endodontics. *Contemporary Endodontics.* 2004;1:3-7.
39. Naenni N, Thoma K, Zehnder M. Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. *J Endod.* 2004;30(11):785-7.
40. Siqueira JF Jr, Machado AG, Silveira RM, Lopes HP, de Uzeda M. Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal, in vitro. *Int Endod J.* 1997;30(4):279-82.
41. Siqueira JF Jr, Rôças 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):331-4.
42. Jeanson MJ, White RR. A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. *J Endod.* 1994;20(6):276-8.
43. Özgey E, Zıraman F, Kıyan M. Çeşitli irrigasyon solüsyonlarının antimikrobiyal etkilerinin in vitro incelenmesi. *Atatürk Üniv Dış Hek Fak Derg.* 2000;10:7-13.
44. Baker NA, Eleazer PD, Averbach RE, Seltzer S. Scanning electron microscopic study of the efficacy of various irrigating solutions. *J Endod.* 1975;1(4):127-35.
45. Pataky L, Iványi I, Grigár A, Fazekas A. Antimicrobial efficacy of various root canal preparation techniques: an in vitro comparative study. *J Endod.* 2002;28(8):603-5.



46. Ringel AM, Patterson SS, Newton CW, Miller CH, Mulhern JM. In vivo evaluation of chlorhexidine gluconate solution and sodium hypochlorite solution as root canal irrigants. *J Endod.* 1982;8(5):200-4.
47. Aktener BO, Cengiz T, Pişkin B. The penetration of smear material into dentinal tubules during instrumentation with surface-active reagents: a scanning electron microscopic study. *J Endod.* 1989;15(12):588-90.
48. Falk, K.W., Sedgley, C.M. The influence of preparation size on the mechanical efficacy of root canal irrigation in vitro. *J. Endod.* 2005; 31(10), 742-745.
49. Ørstavik D, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endod Dent Traumatol.* 1990;6(4):142-9.
50. Saleh IM, Ruyter IE, Haapasalo M, Ørstavik D. Survival of *Enterococcus faecalis* in infected dentinal tubules after root canal filling with different root canal sealers in vitro. *Int Endod J.* 2004;37(3):193-8.
51. Eldeniz AU, Guneser MB, Akbulut MB. Comparative antifungal efficacy of light-activated disinfection and octenidine hydrochloride with contemporary endodontic irrigants. *Lasers Med Sci.* 2015;30(2):669-75.
52. Briseño-Marroquin B, Callaway A, Shalamzari NG, Wolf TG. Antibacterial efficacy of peracetic acid in comparison with sodium hypochlorite or chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* and *Parvimonas micra*. *BMC Oral Health.* 2022; 9;22(1):119.