

## ÇEŞİTLİ ZORUNLU ANAEROP BAKTERİLERİN DENTİN TÜBÜLLERİNE PENETRASYONLARININ SEM' DE (Scanning Electron Microscope) İNCELENMESİ\*

Doç. Dr. Fatmagül ZIRAMAN\*\*  
Doç. Dr. Berna ASLAN\*\*

Doç. Dr. Nilgün AYHAN\*\*\*  
Dr. Nesrin ÖZSOY\*\*\*\*

### EVALUATION OF TUBULAR PENETRATION OF VARIOUS OBLIGATE ANAEROB MICROORGANISMS ( A SEM Study )

#### ABSTRACT

The obligate anaerob microorganisms which play an important role in the pathogenesis of the pulp diseases and periapical pathology can penetrate into the dentinal tubules before or during the endodontic therapy and they can prevent themselves from the effects of endodontic files and irrigation solutions.

The aim of this study was to evaluate the dentinal tubule penetration abilities of the obligate anaerob microorganisms *F. nucleatum* and *B. melaninogenicus* which were resistant to the endodontic therapy. 18 upper incisor teeth were used in this study. The cylindrical dentinal blocks which were prepared from these teeth were incubated for 21 days in the culture medium including these microorganisms.

At the end of this period the samples were fixed in 2,5 % glutaraldehyd solution. Bacterial colonies and their penetrations into the dentinal tubules were evaluated under SEM.

As a result both microorganisms appeared colonisation on the dentin surface, but very few of them penetrated into the dentinal tubules due to their morphologies and it was seen that they only would go to a short distance.

**Key words :** Dentinal tubules, Bacterial invasion, Obligat anaerobic microorganisms

#### ÖZET

Pulpa ve periapikal doku hastalıklarının patogenezinde önemli rol oynayan zorunlu anaerob mikroorganizmalar, tedavi öncesi ya da tedavi sırasında dentin tübüllerine yayılarak endodontik aletlerin ve irrigasyon solüsyonlarının etkisinden korunurlar.

Çalışmamızda endodontik tedaviye direnç gösteren enfeksiyonlarda bulunan zorunlu anaerob mikroorganizmalardan *F.nucleatum* ve *B. melaninogenicus*'un dentin tübüllerine penetrasyon kabiliyetleri SEM'de (Scanning electron microscope) incelendi. Bu amaçla 18 adet üst keser dişten elde edilen silindirik dentin blokları her iki mikroorganizmayı içeren besiyerlerine konularak 21 günlük inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda örnekler % 2,5' luk glutaraldehid solusyonunda fikse edilerek SEM'de dentin yüzeyinde bakteri kolonizasyonu ve dentin tübüllerine penetrasyonları yönünden incelendi.

Sonuç olarak her iki mikroorganizmanın da dentin yüzeyinde yoğun kolonizasyon oluşturdukları ancak az sayıda bakterinin dentin tübüllerine girebildiği ve kısa mesafede ilerleyebildiği tesbit edildi.

**Anahtar Kelimeler:** Dentin Tübülleri, Bakteriyel İnvazyon, Zorunlu Anaerob Mikroorganizmalar.

#### GİRİŞ

Pulpa ve periapikal doku hastalıklarının patogenezinde bakteriler önemli role sahiptir.<sup>2, 6,15,21,22</sup> Anaerob bakteriyoloji alanındaki gelişmeler enfekte kök kanallarında hakim olan mikroorganizmaların zorunlu anaeroplara olduğunu ortaya koymuştur. Bunlar arasında *Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, *Fusobacterium*, *Eubacterium* türlerinin sıklıkla izole edildiği ve klinikte ağrı, kötü koku, fistül oluşumu, şişlik, perküsyon duyarlılığı şeklinde semptom veren kök kanal enfeksiyonlarına sebep oldukları bildirilmiştir.<sup>4,7-10,13,25, 29,30,32,34</sup>

Tronstad ve arkadaşları<sup>31</sup> 1986 yılında asemptomatik periapikal lezyonları anaerobik kültür tekniği ile incelemişler ve *Bacteroides*, *Actinomyces*, *Peptostreptococcus* türlerinin bulunduğunu bildirmişlerdir.

Iwu ve arkadaşları<sup>14</sup> 1990 yılında yaptıkları araştırmada 16 asemptomatik periapikal lezyonu incelemişler ve % 55 oranında fakültatif, % 45 oranında ise zorunlu anaerob bakteri tesbit etmişlerdir.

Baumgartner ve Falke<sup>5</sup> 1991 yılında periapikal lezyon içeren dişlerin kök kanallarının apikal 5 mm' lik kısımlarını aerobik ve anaerobik kültür teknikleriyle incelemişler ve % 68 oranında zorunlu anaerob mikroorganizma içerdiklerini bulmuşlardır. Bunların : *Actinomyces*,

\* Bu çalışma Ankara Üniversitesi Araştırma fonunca ( 98-02-00-01) desteklenmiştir

\*\*A.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Bilim Dalı

\*\*\*A.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı

\*\*\*\*A.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

Lactobacillus, Bacteroides, Peptostreptococcus, Veillonella, Enterococcus faecalis, Fusobacterium nucleatum ve Streptococcus mutans olduğunu tesbit etmişlerdir.

Assed ve arkadaşları<sup>3</sup> 1996 yılında yaptıkları çalışmada kronik periapikal periodontitisli dişlerin kök kanallarında % 56 oranında Actinomyces viscosus, % 48 oranında Prevotella intermedia, % 40 oranında Fusobacterium nucleatum ve % 16 oranında Porphyromonas gingivalis bulunduğunu bildirmişlerdir.

İnatçı enfeksiyonlara tedavi öncesi yada tedavi sırasında dentin tübüllerine yayılan mikroorganizmaların neden olduğu, endodontik aletlerin ve irrigasyon solüsyonlarının etkisinden korundukları bilinmektedir.<sup>26</sup>

Dentin tübüllerine çeşitli mikroorganizmaların penetrasyonunu in vitro olarak inceleyen pek çok çalışma vardır. Ancak zorunlu anaerob mikroorganizmaların kullanıldığı araştırmalar daha sınırlı sayıdadır.<sup>1,12,16,17,19,23,24,27,28</sup>

Çalışmamızda endodontik tedaviye direnç gösteren enfeksiyonlarda bulunan zorunlu anaerob mikroorganizmalardan Fusobacterium nucleatum ve Bacteroides melaninogenicus'un dentin tübüllerinde ilerleme kabiliyetlerini SEM'de (Scanning electron microcope) incelemeyi amaçladık.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda 18 adet çürüksüz, üst keser diş kullandı. Dişlerin kron kısımları uzaklaştırıldıktan sonra köklerin 1/3 koronal kısımlarından itibaren sert doku mikrotomu\* ile 4 mm uzunluğunda, dış çapı 5 mm, iç çapı 1.5 mm olan diskler elde edildi. Hazırlanan dentin bloklarından smear tabakasının uzaklaştırılması amacıyla % 17' lik EDTA ve % 5.25'lik NaOCl ile irrigasyon yapıldı ve son olarak fosfat tamponlu salin solüsyonunda tüm artıkların giderilmesi amacıyla 30 dakika bekletildi. Irrigasyon işleminden sonra 2 örnek smear tabakasının uzaklaştırılmasının ve dentin tübül ağzlarının açık hale geldiğinin görülmesi amacıyla SEM'de incelendi. Daha sonra örneklerin dış yüzleri 2 kat oje ile kapatıldı ve 30 dakika içi su dolu petri kutusu içinde otoklavda 120 °C tutularak steril olmaları sağlandı. Sterilizasyonun kontrolü için dentin blokları Brain-heart sıvı besiyerinde 37 °C' ta 10 gün süreyle bekletildi.

Public Health Laboratory Service'den temin edilen zorunlu anaerob mikroorganizmalar olan Fusobacterium nucleatum (NCO 11321) ve Bacteroides melaninogenicus (NCO 11326) standart suşları, içlerinde 3 ml Brain-heart sıvı besiyeri bulunan tüplere ekildi. Steril edilen dentin

bloklarında her tüpte 1 adet dentin diski olacak şekilde bu tüplere yerleştirilerek 21 günlük inkübasyona bırakıldı. Haftada bir tüplerin içindeki besiyeri boşaltılıp taze besiyeri kondu. Bu işlemler yapılırken besiyerinin kontamine olmamasına özen gösterildi ve kontrol amacıyla her üç günde bir kanlı agar besiyerine ekim yapıldı.

21 günlük inkübasyon süresinin sonunda her bir mikroorganizma grubu için 8'er adet olmak üzere dentin diskleri ayrıldı ve % 2.5'luk glutaraldehit içinde 2 saat süreyle fikse edildikten sonra steril poşet içinde spatül yardımıyla ikiye bölündü. Böylece her iki mikroorganizma grubu için incelenmek üzere 16 yarı elde edilmiş oldu. Dişlerin SEM'de değerlendirilmesi için gerekli işlemler A.Ü.Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünde yürütüldü. İkiye ayrılan örnekler sodyum fosfat tamponda 1 saatlik sürede üç defa yıkandıktan sonra % 1' lik osmiyum tetroksit içinde postfikse edildi. Daha sonra tekrar üç defa sodyum fosfat tamponla yıkandı ve etanol serisinde dehidrate edildi.

Dehidratasyon işleminden sonra dişler kurutma kağıdı üzerinde ağız kapalı petri kutusunda 24 saat süreyle kurumaya bırakıldı.

Çalışmamızda SEM\*\* değerlendirilmesi O.D.T.Ü. Mühendislik Fakültesi Metalürji Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yürütüldü. Dişlerin SEM'de incelenmesi için her diş yaklaşık 300°A kalınlığında altın ile kaplandı.

## BULGULAR

21 gün sonra Scanning elektron mikroskopunda incelenen örneklerimizde; dentin yüzündeki bakteriyel kolonizasyon ve dentin tübüllerine olan bakteriyel invazyon yönünden değerlendirme yapıldı.

Bakteriyel kolonizasyon tesbitinde pulpaya bakan tüm dentin yüzeyi tarandı ve kolonizasyonun görülmediği örnekler(-), seyrek ve küçük kolonizasyon gösteren örnekler (+) tek pozitif, yoğun kolonizasyon görülen örnekler ise (++) çift pozitif olarak skorlandı.

Dentin tübüllerine olan invazyon ise dentin tübüllerinin uzun aksına paralel olarak kırılan dentin yüzeyleri incelenerek yapıldı. Değerlendirmede; kanallarda invazyonun görülmediği örnekler 0, invazyonun 5 µm'den küçük ve tübüller giriş ile sınırlı olduğu örnekler 1 ve invazyonun 5µm' den büyük olduğu , derin penetrasyon gösteren örnekler ise 2 skor derecesiyle değerlendirildi. Yukardaki skorlamalara ait sonuçlar Tablo 1' de gösterildi.

\*Finocut hassas kesme cihazı, Metkon Ltd. Şti.

\*\*JEOL JSM-T330 Scanning Electron Microscope

SEM'den elde ettiğimiz sonuçlara göre kontrol grubunu oluşturan dentin bloklarında dentin tübüllerinin boş ve temiz olduğu görüldü (Resim 1).

F. nucleatum ve B. melaninogenicus inoküle edilmiş deney gruplarımızın her ikisinde benzer şekilde 21 gün sonunda dentin yüzeyinde yoğun kolonizasyon gösterdikleri izlendi. Dentin tübüllerinin çoğunlukla boş ve temiz olduğu, yer yer tübül içine girebilen mikroorganizmaların ise ortalama 5 µm derinliğinde ilerleyebildikleri tespit edildi (Resim 2-4).

	K					I							
F.nucleatum (21 gün)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B. Melaninogenicus (21 gün)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tablo 1

K : Kolonizasyon

(-) Kolonizasyon yok

(+) Kolonizasyon seyrek

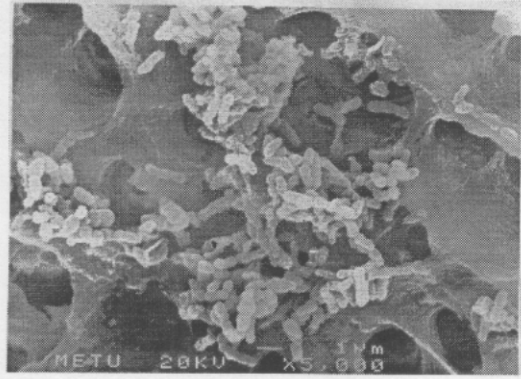
(++) Kolonizasyon yoğun

I : İnvazyon

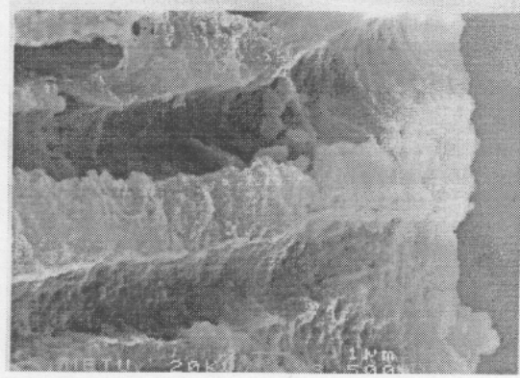
(o) İnvazyon yok

(1) Tübül giriş ile sınırlı ve  
5 µm'den az

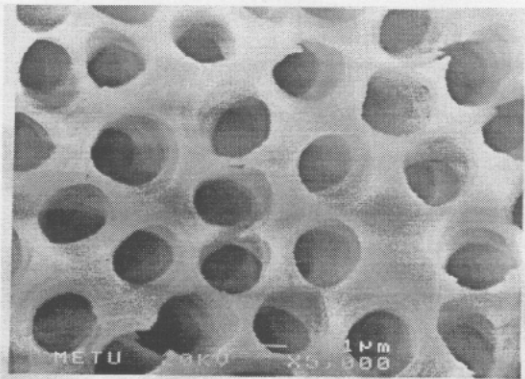
(2) 5 µm'den fazla derin  
penetrasyon



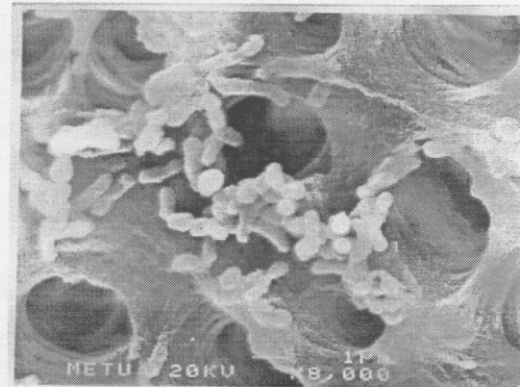
Resim 2: 21 gün sonunda dentin yüzeyinde yoğun B.melaninogenicus kolonizasyonu görülmekte (SEM X 5000)



Resim 3: 21 gün sonunda dentin tübülü içinde B.melaninogenicus izlenmekte (SEM X8500)



Resim 1: Kontrol grubuna ait örnekte smear tabakasının kalktığı, dentin tübüllerinin açık olduğu izlenmekte (SEM X5000)



Resim 4: Dentin kanalları ağzında, dentin tübülleri içine girme eğilimindeki B. melaninogenicus kümeleri görülmekte (SEM X8000)

## TARTIŞMA

Kök kanal sistemi : ana kök kanalı , dentin kanalları, aksesuar kanallar, kanal ramifikasyonları, apikal deltalar ve transvers anastomozlar gibi mikroorganizmaların kolayca barınabilecekleri kompleks bir yapıya sahiptir. Pulpa nekrozuna ve bunu takiben oluşan apikal periodontitislere bu bölgelere yayılan mikroorganizma ve ürünlerin sebep olduğu bildirilmiştir.<sup>4,15,27,28</sup>

Çeşitli mikroorganizmaların dentin tübüllerine penetrasyonu ile ilgili yapılan in vitro çalışmalarda fakültatif mikroorganizmalar sıkça kullanılmış, akut periapikal enfeksiyon ve ciddi klinik semptomlara sebep olan zorunlu anaerob mikroorganizmalar aynı yoğunlukta incelenmiştir.<sup>3,13,27,28</sup>

Akpata ve Blechman<sup>1</sup> çekilmiş insan dişlerinde zorunlu anaerob bakteriler olan *B. melaninogenicus* ve *Peptostreptococcus asaccharoliticus* ile fakültatif anaerob bakterilerden *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus sanguis*'in dentin tübüllerine invazyonunu incelemişler ve zorunlu anaerob bakterilerin dentin tübüllerine penetre olmadıklarını bildirmişlerdir.

Haapasalo ve Ørstavik<sup>12</sup> sığır kesici dişlerinde *Enterococcus faecalis*'in kök kanalı içinde dentin tübüllerine ilerlemesini ışık mikroskobu ve SEM'de incelemişler ve 3 haftalık inkübasyon süresi sonucunda ortalama 300-400 µm'luk penetrasyon derinliği gösterdiklerini tespit etmişlerdir.

Ørstavik ve Haapasalo<sup>19</sup> 1990 yılında yaptıkları bir diğer çalışmada 14 günlük inkübasyon süresi sonunda SEM'de, *Enterococcus faecalis* ve *Streptococcus sanguis*'in bütün tübül mesafesi boyunca, *Escherichia coli*'nin ise en fazla 600 µm penetre olabildiğini bildirmişlerdir.

Perez ve arkadaşları<sup>23</sup> sığır dişlerinde *Streptococcus sanguis*'in dentin tübüllerine penetrasyonunu SEM ve ışık mikroskobu ile incelemişler ve 28 günlük inkübasyondan sonra maksimum 792 µm penetrasyon derinliğinde ilerleme gösterdiğini bulmuşlardır.

Perez ve arkadaşları<sup>24</sup> yaptıkları diğer bir çalışmada sığır dişlerinde *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces naeslundii* ve *Prevotella intermedia*'nin dentin tübüllerinde ilerlemesini SEM ve ışık mikroskobunda incelemişlerdir. 28 günlük inkübasyon süresinden sonra *S. sanguis*'in 458.8 µm penetrasyon derinliği gösterdiğini, *P. intermedia* ve *A. naeslundii*'nin tübüllere penetre olmadığını tespit etmişlerdir.

Siqueria ve arkadaşları<sup>28</sup> çekilmiş insan dişlerinde *Porphyromonas endodontalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinomyces israeli*, *Porphyromonas gingivalis*, *Propionibacterium acnes*, *Enterococcus faecalis*'in dentin tübüllerine invazyonunu incelemişler ve farklı uzunluklarda olmak üzere tüm bakterilerin dentin tübüllerine penetre olabildiğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda zorunlu anaerob mikroorganizmalardan *F. nucleatum* ve *B. melaninogenicus*'un dentin tübüllerinde ilerleme kabiliyetleri SEM'de incelendi. Her iki mikroorganizmanında dentin yüzeyinde yoğun kolonizasyon gösterdikleri ancak dentin tübüllerine yer yer girebildikleri ve tübül içinde çok az ilerleyebildikleri (ortalama 5 µm) izlendi.

Smear tabakasının kaldırılmasının mikroorganizmaların dentin tübüllerine penetrasyonlarını arttırdığı çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir.<sup>11,18,20</sup> Bizde çalışmamızda organik doku çözücü olan %5.25'lik NaOCl ve inorganik doku eritici olan %17'lik EDTA'yı çalışmamızda ard arda kullanarak smear tabakasını kaldırdık.

Bazı araştırmacılar çalışmalarında sığır dişlerinden elde edilen dentin bloklarını kullanırken,<sup>12,19,23,24,28,29</sup> bazılarında<sup>1,16,17</sup> çekilmiş insan dişlerini kullanmışlardır. Sığır vb. deneklerden elde edilen dentin bloklarında çok geniş dentin tübüllerinin bulunması ve dentin tübüllerinin sayı ve çaplarının farklı oluşu nedeniyle çalışmamızda insan dişlerini kullanmayı tercih ettik.

Mikroorganizmaların dentin tübüllerine penetrasyonlarını incelemek için yapılan in vitro çalışmalar sonunda bakteriler arası kümeleşme eğilimleri ve morfolojik yapılarının penetrasyonda temel etken olduğu; basil şekilli mikroorganizmaların dentin tübüllerine çok zor girebildikleri, kok şeklinde olanların ise dentin tübüllerinde rahatlıkla ilerleyebildikleri bildirilmiştir.<sup>1,18,23,24</sup> Çalışmamızda da bu bilgilere paralel olarak pleomorfik çubukçuk şeklinde olan *B. melaninogenicus* ve *F. nucleatum*'un, şekilleri nedeni ile az sayıda dentin tübülüne girebildikleri ve tübül içinde de fazla ilerleyemedikleri görüldü (ortalama 5 µm). Özellikle *F. nucleatum*'un dentin yüzeyini yoğun bir şekilde kaplayarak tübül girişini örttüğü izlendi.

## SONUÇ

Çalışmamız sonunda ciddi klinik semptom gösteren vakalarda bulunan zorunlu anaerob mik-roorganizmalardan *B.melaninogenicus* ve *F.nucleatum*'un dentin yüzeyinde yoğun koloni-zasyon oluşturdukları ancak dentin tübüllerine az sayıda ve kısa mesafede (ortalama 5 µm) girebil-dikleri tespit edildi. *F.nucleatum* ve *B.melanino-genicus*'un tespit edildiği enfeksiyonlarda yeterli kemomekanik preparasyonu takiben kısa süreli kanal içi medikaman uygulamanın bu mikroor-ganizmaları uzaklaştırmada yeterli olacağı kamsındayız.

## KAYNAKLAR

- 1- Akpata ES, Blechman H. Bacterial invasion of pulpal dentin wall in vitro. *J Dent Res* 1982; 61:435- 8.
- 2- Anđ Ö. Ağız mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul , 1990 :59-79
- 3- Assed S, Ito IY, Leonardo MR, Silva LAB, Lopatin DE. Anaerobic microorganisms in root canals of human teeth with chronic apical periodontitis detected by indirect immunofluorescence. *Endod Dent Traumatol* 1996; 12:66- 9.
- 4 -Baumgartner JC. Endodontic microbiology. In : Principles and Practice of Endodontics, Walton R.F, Torabincjad M, 2 ed. Philadelphia W.B, Saunders Company, 1996 : 277- 91.
- 5- Baumgartner JC,Falkler WA. Bacteria in the apical 5 mm of infected root canals. *J Endodon* 1991 ; 17:380-3.
- 6 -Farber PA, Seltzer S. Endodontic microbiology. I. Etiology. *J Endodon* 1988; 14: 363 - 71.
- 7 -Fukushima H, Yamamoto K, Hirohata K, Sagawa H, Leung KP, Wayker CB.: Localization and identification of root canal bacteria in clinically asymptomatic periapical pathosis. *J Endodon* 1990; 16:534- 8.
- 8 -Gomes BPFA, Drucker DB, Lilley JD. Association of specific bacteria with some endodontic signs and symptoms. *Int Endod J* 1994 ; 27:291- 8.
- 9 - Gomes BPFA, Lilley JD, Drucker DB. Association of endodontic symptoms and signs with particular combinations of specific bacteria. *Int Endod J* 1996 29:69-75.
- 10 -Griffie MB, Patterson SS, Miller CH, Kafrawy AH, Newton CW .The relationship of *Bacteroides melaninogenicus* to symptoms associated with pulpal necrosis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1980; 50:457- 61.
- 11-Gutierrez JH, Villena F, Jofre A, Amin M. Bacterial infiltration of dentin as influenced by proprietary chelating agents . *J Endodon* 1992; 8:448-54.
- 12 -Haapasalo M, Ørstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res* 1987; 66:1375- 9.
- 13 -Hashioka K, Yamasaki M, Nakane A, Horibe N, Nakamura H. The relationship between clinical symptoms and anaerobic bacteria from infected root canals. *J Endodon* 1992; 18: 558- 61.
- 14 -Iwu C, Mac Farlane TW, Mac Kenzie D, Stenhouse D.The microbiology of periapical granulomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990; 69:502-5.
- 15 -Kakchashi S, Stanley HR , Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965; 20: 340- 9.
- 16 - Love RM.Regional variation in root dentinal tubule infection by *Streptococcus gordonii*. *J Endodon* 1996; 22: 290- 3.
- 17 -Love RM. Adherence of *Streptococcus gordonii* to smeared and nonsmeared dentine *Int Endod J* 1996; 29:108 - 12.
- 18 -Meryon SD, Jakeman KJ, Browne RM. Penetration in vitro of human and ferret dentine by three bacterial species in relation to their potential role in pulpal inflammation. *Int Endod J* 1986; 19:213- 20.
- 19 -Ørstavik D, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules . *Endod Dent Traumatol* 1990; 6:142- 9.
- 20 -Pashley DH, Michelich V, Kehl T. : Dentin permeability: Effects of smear layer removal. *J Prosthet Dent* 1981 ; 46:531- 7.
- 21 -Paterson RC, Pountney SK. The response of the dental pulp to mechanical exposure in gnotobiotic rats mono-infected with a strain of *Streptococcus mutans*. *Int Endod J* 1987; 20:159- 68.
- 22 -Paterson RC, Watts A. Further studies on the exposed germ-free dental pulp. *Int Endod J* 1987; 20:112-21.
- 23 -Perez F, Calas P, De Falgueroles A, Maurette A. Migration of a *Streptococcus sanguis* strain through the root dentinal tubules. *J Endod* 1993; 19: 297-301.
- 24 -Perez F, Roché T, Lodter JP, Calas P, Michel G. In vitro study of the penetration of three bacterial strains into root dentine. *Oral Surg. Oral Med Oral Pathol* 1993; 76:97-103.
- 25 -Seltzer S. Endodontology. Biologic Considerations in Endodontic Procedures. 2 ed. Philadelphia , Lea and Febiger , 1988:326-44.

26 -Shovelton DS. The presence and distribution of microorganism within nonvital teeth. Brit Dent J 1964; 117:101-7.

27 -Siqueira JF, de Uzeda M. Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. J Endodon 1996; 22:674-6.

28 - Siqueira JF, de Uzeda M, Fonseca MEF. A scanning electron microscopic evaluation of in vitro dentinal tubules penetration by selected anaerobic bacteria. J Endodon 1996; 22:308-10.

29 -Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. J Endodon 1992; 18:427-30.

30 -Sundqvist G, Johansson F, Stögren U. Prevalence of black pigmented Bacteroides species in root canal infections. J Endodon 1989; 15:13-9.

31 -Tronstad L, Barnett F, Flax M, Slots J. Anaerobic bacteria in periapical lesions of human teeth. J Dent Res 1986; 65:231( Abstract).

32 -Weine FS. Endodontic Therapy. 4 ed, St. Louis, The C V Mosby Company 1974.

33 -Van Winkelhoff AJ, van Steenberghe TJM, de Graaff J. Porphyromonas (Bacteroides ) endodontalis : Its role in endodontal infections. J Endodon 1992; 18:431-4.

34 -Yoshida M, Fukushima M, Yamamoto K, Ogawa K, Toda T, Sagawa H. Correlation between clinical symptoms and microorganisms isolated from root canals of teeth with periapical pathosis. J Endodon 1987, 13:24-8.

**Yazisma Adresi** :

**Doç.Dr.Fatmagül ZIRAMAN**  
Ankara Üniversitesi  
Diş Hekimliği Fakültesi  
Endodonti Bilim Dalı  
**06500 Beşevler / ANKARA**  
Tel : 0312 212 62 50 / 335  
Fax: 0 312 212 39 54