

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
ENDODONTİ ANABİLİM DALI

FOTODİNAMİK YÖNTEMLE AKTİVE EDİLEN GÜMÜŞ
NANOPARTİKÜLLERİN ENFEKTE KÖK KANALLARINDAKİ
ANTİBAKTERİYEL ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Hakan AYDIN

Tez DanıŐmanı

Prof. Dr. Kürşat ER

DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ
ANTALYA 2016

Bu Uzmanlık Tezi Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi Tarafından DesteklenmiŐtir.

Proje Numarası: TDH- 2015-778

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
ENDODONTİ ANABİLİM DALI

Hakan AYDIN tarafından hazırlanan “**Fotodinamik yöntemle aktive edilen gümüş nanopartiküllerin enfekte kök kanallarındaki antibakteriyel etkinliğinin değerlendirilmesi**” adlı çalışmasının savunma sınavı 18.03.2016 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / ~~oy çokluğu~~ ile diş hekimliğinde uzmanlık teziolarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

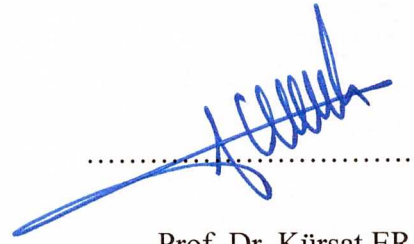
İmza

Danışman
Prof. Dr. Kürşat ER

Jüri Üyesi
Prof. Dr. Tamer TAŞDEMİR

Jüri Üyesi
Doç. Dr. Alper KUŞTARCI





Prof. Dr. Kürşat ER

Dekan

Diş Hekimliğinde uzmanlık tezi olarak sunduğum “**Fotodinamik yöntemle aktive edilen gümüş nanopartiküllerin enfekte kök kanallarındaki antibakteriyel etkinliğinin değerlendirilmesi**” başlıklı bu çalışmamın baştan sona kadar danışmanım **Prof. Dr. Kürşat ER**’in sorumluluğunda tamamladığımı, tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.



Dt. Hakan AYDIN

ÖZET

T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
ENDODONTİ ANABİLİM DALI

“Fotodinamik Yöntemle Aktive Edilen Gümüş Nanopartiküllerin Efekte Kök Kanallarındaki Antibakteriyel Etkinliğinin Değerlendirilmesi”

Amaç: Bu çalışma çekilmiş insan dişlerinde deneysel oluşturulan 3 haftalık olgun *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) biyofilmi üzerine fotosensitizan bir ajan olan Toluidin Mavisini O (TBO) ve bir nanoajan olan gümüş nanopartikül (AgNP) kombinasyonuna ışık uygulanmasının antibakteriyel etkinliğini incelemeyi amaçlamıştır. **Gereç ve Yöntem:** Ön çalışma ile TBO/AgNP kombinasyonunda 20 ppm TBO ve 10 ppm AgNP karışımının *E. faecalis*'e karşı en yüksek antibakteriyel etkinlik sergilediği görüldü. Şekillendirme sonrası 130 tane tek köklü, düz kanallı insan mandibular premolar dişin boyları 13 mm olacak şekilde kuronları uzaklaştırıldı, kanallar *E. faecalis* ile kontamine edildi, 21 günlük bekleme sonrası deneysel işlemler gerçekleştirildi. Dişler rastgele 5 deneysel ($n=20$) ve sodyum hipoklorit (NaOCl) ($n=10$) ve serum fizyolojik (SF) solüsyonu gruplarına ($n=10$) bölündü. Daha sonra deneysel gruplar 2 alt gruba (30 ve 60 sn) ($n=10$) bölündü. Deneysel gruplar şunlardan oluştu: G1; Fotodinamik tedavi (FDT) (TBO/Işık), G2; AgNP, G3; TBO/AgNP, G4; AgNP/Işık, G5; TBO/AgNP/Işık. 2 mL %2,5'lik NaOCl ile 1 dk yıkama ve 2 mL, %0,9'luk SF ile 1 dk yıkama sırasıyla pozitif ve negatif kontrol gruplarını oluşturdu. Çalışmanın verilerinin istatistiksel değerlendirilmesinde Kolmogorov Smirnov, Oneway ANOVA ve Tukey HSD testleri kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık olarak Bonferroni düzeltmesi sonrası

$p < 0,004$ değeri kabul edildi. **Bulgular:** NaOCl diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla bakteri azalması sağladı ve en gcl antibakteriyel etkinlik sergileyen grup oldu ($p < 0,004$). TBO/AgNP kombinasyonuna ışık uygulaması NaOCl'den sonra en fazla bakteri azalması sağlayan grup oldu. **Sonuçlar:** TBO/AgNP kombinasyonunun fotoaktivasyonu FDT etkinliğinin artmasına yol açtı ve bu grup NaOCl'den sonra en başarılı grup oldu. FDT'nin etkinliğinin artmasında nanoajanların taşıyıcı olarak kullanılması önemli rol oynamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Fotodinamik Tedavi, Gümüş Nanopartikülü, Kök Kanal Dezenfeksiyonu, *Enterococcus faecalis*, Toluidin Mavisi O

ABSTRACT

T.C.

AKDENIZ UNIVERSITY FACULTY OF DENTISTRY

DEPARTMENT OF ENDODONTICS

“Evaluation of Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Activated By Photodynamic Method In Infected Root Canals”

Objectives: The aim of present study was to investigate the effect of antibacterial activity of light application on the combination of a photosensitizer agent, Toluidine Blue O (TBO) and a nano agent, silver nanoparticles (AgNPs) on a 3-week old mature *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) biofilm formed experimentally on extracted human teeth. **Materials and Methods:** In this study, concentration at 20 ppm TBO and 10 ppm AgNP that the provided highest antibacterial effect against *E. faecalis* on TBO/AgNP combination was used according to preliminary study. After instrumentation, 130 human single-root, straight-canal mandibular premolars teeth that a standard length had adjusted to 13 mm contaminated with *E. faecalis* bacteria and experimental procedures were conducted against 21-day old mature biofilm. Teeth were randomly divided into 5 main experimental groups ($n = 20$) and sodium hypochlorite (NaOCl) ($n=10$) and saline solution ($n=10$). Then, these main groups were divided into 2 subgroups (30 and 60 sec) ($n = 10$). Experimental procedures consists of the following groups: G1; Photodynamic therapy (PDT) (TBO/Light), G2; AgNP,

G3; TBO/AgNP, G4; AgNP/Light, G5; TBO/AgNP/Light. Irrigation with 2 mL of 2.5% NaOCl for 1 min and irrigation with 2 mL of 0.9% saline solution for 1 min serve positive and negative control, respectively. Kolmogorov Smirnov, Oneway ANOVA and Tukey HSD tests were used to carry out statistical analysis of the study's data. After Bonferroni correction, $p < 0.004$ was taken as the statistical significance. **Results:** NaOCl group provided a bacterial reduction, which was higher than all other groups in a statistically significant manner, and was the group that displayed the highest antibacterial activity ($p < 0.004$). Light application on the TBO/AgNPs combination was the group that provided the highest bacterial reduction after NaOCl. **Conclusions:** Photoactivation on TBO/AgNP combination led to increase in effect of PDT and this group was the most successful group after NaOCl. The use of nano agents as carriers plays an important role in increasing the efficiency of PDT.

Keywords: Photodynamic Therapy, Silver Nanoparticles, Root Canal Disinfection, *Enterococcus faecalis*, Toluidine Blue O

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
TABLO LİSTESİ.....	x
RESİM LİSTESİ.....	xi
SEMBOL LİSTESİ.....	xiii
ÖNSÖZ.....	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Enterokok cinsinin genel özellikleri.....	3
2.1.1. KKT açısından <i>E. faecalis</i> 'in önemi.....	5
2.2. FDT.....	6
2.2.1. FDT'nin tarihi.....	7
2.2.2. FDT'nin hareket mekanizması.....	8
2.2.3. Moleküler düzeyde fotodinamik hedefler.....	10
2.2.4. Işığa duyarlı ajanlar.....	12
2.2.4.1. Fenotiyazin deriveleri.....	14
2.2.5. Işık kaynakları.....	15
2.2.5.1. Işığın dalga boyu ve penetrasyon derinliği.....	15
2.2.5.2. FDT'de kullanılan ışık kaynakları ve aktarım sistemleri.....	16
2.2.5.3. FotoSan sistemi.....	17
2.2.6. FDT'nin yan etkileri ve sınırlamaları.....	19
2.2.7. FDT'nin klinik uygulamaları.....	20
2.2.7.1. FDT'nin diş hekimliğinde kullanım alanları.....	20
2.2.7.2. FDT üzerine endodontide yapılmış olan <i>in vitro</i> çalışmalar..	22
2.2.7.3. FDT kullanılan <i>in vivo</i> ve klinik çalışmalar.....	23
2. 3. Nanoteknoloji ve nanopartiküller.....	25
2.3.1. Tanım	25

2.3.2. Nanoteknolojinin tarihçesi.....	27
2.3.3. Nanoteknolojinin uygulama alanları.....	28
2.3.4. Nanoteknolojinin yararları ve avantajları.....	30
2.3.5. Nanoteknolojinin diş hekimliğinde uygulama alanları.....	30
2.3.6. Gümüşün özellikleri ve antimikrobiyal etkileri.....	32
2.3.7. Gümüş nanopartiküller.....	32
2.3.7.1. AgNP'lerin diş hekimliğinde kullanımı.....	33
2.3.7.2. AgNP üzerine endodontide yapılmış olan çalışmalar.....	34
2.3.8. FDT ile nanopartiküllerin beraber kullanıldığı çalışmalar.....	35
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	38
3.1. Ön çalışma ve bulguları.....	38
3.1.1. AgNP'nin sentezi ve karakterizasyonu.....	38
3.1.2. AgNP'lerin antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi.....	39
3.1.3. AgNP ile TBO kombinasyonu ve antibakteriyel etkinlikleri....	40
3.2. Diş örneklerin seçimi ve hazırlanması.....	44
3.3. Kültür elde edilmesi ve kök kanal kontaminasyonu.....	45
3.4. Fotosensitizan ve ışık kaynağı.....	46
3.5. SEM preparasyonu ve incelemesi.....	46
3.6. Deneysel işlemler.....	47
3.7. Mikrobiyolojik değerlendirme.....	48
3.8. İstatistiksel değerlendirme.....	49
4. BULGULAR.....	50
4.1. Nanopartiküllerin karakterizasyonu.....	50
4.2. Kök örneklerinin SEM analizleri ve CFU değerleri.....	52
4.2.1. Grup 1 (FDT=TBO/Işık).....	57
4.2.2. Grup 2 (AgNP).....	59
4.2.3. Grup 3 (TBO/AgNP).....	61
4.2.4. Grup 4 (AgNP/Işık).....	63
4.2.5. Grup 5 (TBO/AgNP/Işık).....	65
4.2.6. Pozitif kontrol (NaOCl).....	67
4.2.7. Negatif kontrol (Serum Fizyolojik).....	68
5. TARTIŞMA.....	71

6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	87
7. KAYNAKLAR.....	88
ÖZGEÇMİŞ.....	Ek 1
ETİK KURUL ONAYI.....	Ek 2

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1	1900'den günümüze FDT'nin tarihi. 8
Şekil 2	FDT'nin Jablonski diyagramı üzerinde şematik gösterimi..... 10
Şekil 3	MB molekülünün kimyasal yapısı..... 15
Şekil 4	FotoSan sistemi..... 18
Şekil 5	FotoSan sisteminde bulunan tedavi uçları..... 18
Şekil 6	FotoSan sisteminde şırıngalar ve flakon içerisindeki TBO ajanı..... 19
Şekil 7	Karbon 60 (fulleren) nanopartikülünün logaritmik olarak uzunluk ölçüleri ile gösterilerek nano ve mikro boyutlardaki biyolojik bileşenlerle karşılaştırılması..... 26
Şekil 8	Günümüzde nanoteknolojinin başlıca kullanım alanları..... 28
Şekil 9	Malvern Zetasizer Nano series Nano-ZS cihazı..... 50
Şekil 10	AgNP boyutunun sayıca dağılımı..... 51
Şekil 11	20 ppm TBO, 20 ppm TBO + 10 ppm AgNP ve 10 ppm AgNP çözeltilerine ait UV-Vis spektrumları..... 52
Şekil 12	Prepare edilmiş ve smear tabakasının tamamen uzaklaştırıldığı kök örneklerinden <i>E. faecalis</i> ile kontamine edilmeden önce alınan SEM örnekleri. (A ve B) X1500, (C) X5000 ve (D) X10000 büyütme..... 53
Şekil 13	21 günlük <i>E. Faecalis</i> kolonilerinin SEM mikrografileri. (A) X5000, (B) X10000 ve (C,D,E ve F) X15000 büyütme..... 54
Şekil 14	Tedaviler sonrası sağ kalım yüzdeleri..... 57
Şekil 15	Grup 1 örneklerinin tedavi öncesi ve sonrası ortalama log ₁₀ CFU değerleri..... 58
Şekil 16	Grup 2 örneklerinin tedavi öncesi ve sonrası ortalama log ₁₀ CFU'ları..... 60

Şekil 17	Grup 3 örneklerinin tedavi öncesi ve sonrası ortalama CFU değerleri	62
Şekil 18	Grup 4 örneklerinin tedavi öncesi ve sonrası CFU değerleri.....	64
Şekil 19	Grup 5 örneklerinin tedavi öncesi ve sonrası CFU değerleri.....	66
Şekil 20	NaOCl ile tedavi edilen örneklerde tedavi öncesi ve sonrası ortalama CFU değerleri.....	68
Şekil 21	SF ile tedavi öncesi ve sonrası CFU değerleri.....	69

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1	AgNP ve Ag ⁺ antibakteriyel test çözeltilerinin içeriği.....	39
Tablo 2	AgNP ve Ag ⁺ antibakteriyel test çözeltileri ile yapılan denemelerdeki bakteri azalma oranları (%).	40
Tablo 3	Değişik oranlarda AgNP ve TBO içeren test çözeltilerinin içerikleri.....	41
Tablo 4	Tablo 3’de belirtilen test çözeltilerindeki bakteri yükü azalma miktarları.....	42
Tablo 5	Farklı oranlarda AgNP içeren 20 ppm TBO çözeltilerinin içerikleri.....	43
Tablo 6	Tablo 5’de belirtilen test çözeltilerindeki bakteri yükü azalma miktarları.....	43
Tablo 7	Tedaviler sonrası grupların ortalama azalma yüzdeleri, minimum ve maksimum azalma yüzdeleri değerleri.....	55
Tablo 8	CFU’lar sayılarak elde edilen verilerde tedavi sonrası azalma yüzdelerinin logaritmik (log ₁₀) azalmaya dönüştürüldükten sonraki ortalama log azalması, her alt gruptaki en az ve en fazla azalma değeri ile standart sapma değerleri	56

RESİM LİSTESİ

Sayfa

Resim 1	Çalışmada kullanılan spektrofotometre cihazı.....	45
Resim 2	Kapaklı flakon kutuları içerisine yerleştirilmiş Eppendorf tüpleri.....	46
Resim 3	(A) Alüminyum tablacıklara yerleştirilen dış örnekleri. (B) Altın palladyum kaplaması gerçekleştirilmiş dış örnekleri. (C) SEM incelemesi için SEM tablacıklarına yerleştirilen dış örnekleri.....	47
Resim 4	Grup 1A'da rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan <i>E. faecalis</i> kolonilerinin görüntüsü. (A) tedavi öncesi (1000 kat seyreltme) (B) tedavi sonrası (100 kat seyreltme).....	58
Resim 5	Grup 1B'de rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan <i>E. faecalis</i> kolonilerinin görüntüsü. (A) tedavi öncesi (1000 kat seyreltme), (B) tedavi sonrası (100 kat seyreltme).....	59
Resim 6	Grup 2A'da rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan <i>E. faecalis</i> kolonilerinin görüntüsü. (A) tedavi öncesi (1000 kat seyreltme), (B) tedavi sonrası (100 kat seyreltme).....	60
Resim 7	Grup 2B'de rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan <i>E. faecalis</i> kolonilerinin görüntüsü. (A) tedavi öncesi (1000 kat seyreltme), (B) tedavi sonrası (100 kat seyreltme)	61
Resim 8	Grup 3A'da rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan <i>E. faecalis</i> kolonilerinin görüntüsü. (A) tedavi öncesi (1000 kat seyreltme), (B) tedavi sonrası (100 kat seyreltme).....	62
Resim 9	3B'de rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan <i>E. faecalis</i> kolonilerinin görüntüsü. (A) tedavi öncesi	

	(1000 kat seyreltme), (B) tedavi sonrası (100 kat seyreltme).....	63
Resim 10	Grup 4A'da rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan <i>E. faecalis</i> kolonilerinin görüntüsü. (A) tedavi öncesi (1000 kat seyreltme), (B) tedavi sonrası (100 kat seyreltme).....	64
Resim 11	Grup 4B'de rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan <i>E. faecalis</i> kolonilerinin görüntüsü. (A) tedavi öncesi (1000 kat seyreltme), (B) tedavi sonrası (100 kat seyreltme).....	65
Resim 12	Grup 5A'da rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan <i>E. faecalis</i> kolonilerinin görüntüsü. (A) tedavi öncesi (1000 kat seyreltme), (B) tedavi sonrası (100 kat seyreltme).....	66
Resim 13	Grup 5B'de rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan <i>E. faecalis</i> kolonilerinin görüntüsü. (A) tedavi öncesi (1000 kat seyreltme), (B) tedavi sonrası (100 kat seyreltme).....	67
Resim 14	NaOCl ile tedavi edilen grupta rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan <i>E. faecalis</i> kolonilerinin görüntüsü. (A) tedavi öncesi (1000 kat seyreltme), (B) tedavi sonrası (100 kat seyreltme).....	68
Resim 15	SF ile irrigasyon grubunda rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan <i>E. faecalis</i> kolonilerinin görüntüsü. (A) tedavi öncesi (1000 kat seyreltme), (B) tedavi sonrası (100 kat seyreltme).....	70

SEMBOL LİSTESİ

ÇB	Çalışma Boyu
KKT	Kök Kanal Tedavisi
NP	Nanopartikül
Ag	Gümüş
Ag ⁺	Gümüş İyonları
AgNP	Gümüş Nanopartikül
FDT	Fotodinamik Tedavi
FAD	Fotoaktif Dezenfeksiyon
FS	Fotosensitizan
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
TBO	Toluidin Mavisi O
MB	Metilen Mavisi
PEI	Polietilenimin
ce6	Klorin e6
RB	Roze Bengal
QPEI	Kuaterner Amonyum Polietilenimin
PLGA	Poli (laktik-ko-glikolik asit)
LED	Işık Yayan Diyot
Nd: YAG	Neodymium-doped Yttrium Aluminium Garnet
KH	Kalsiyum Hidroksit
NaOCl	Sodyum Hipoklorit
KHG	Klorheksidin Diglukonat
SF	Serum Fizyolojik
NaCl	Sodyum Klorür
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
ATCC	American Type Culture Collection
CFU	Koloni Oluşturan Birim
BH broth	Beyin Kalp Broth
BHI broth	Beyin Kalp İnfüzyon Broth

Spp	Türleri
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>S. faecalis</i>	<i>Streptococcus faecalis</i>
<i>S. faecium</i>	<i>Streptococcus faecium</i>
<i>E. faecium</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>E. casseliflavus</i>	<i>Enterococcus casseliflavus</i>
<i>E. mundtii</i>	<i>Enterococcus mundtii</i>
<i>E. gallinarum</i>	<i>Enterococcus gallinarum</i>
<i>P. intermedia</i>	<i>Prevotella intermedia</i>
<i>F. nucleatum</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
<i>P. micros</i>	<i>Peptostreptococcus micros</i>
<i>S. intermedius</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>A. israelii</i>	<i>Actinomyces israelii</i>
<i>P. gingivalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>S. mutans</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>S. sanguis</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>S. mitis</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>A. naeslundii</i>	<i>Actinomyces naeslundii</i>
<i>S. oralis</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
ark	Arkadaşları
nolu	Numaralı
DNA	Deoksiribonükleik Asit
RNA	Ribonükleik Asit
LPS	Lipopolisakkarit
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TEM	Geçişli Elektron Mikroskobu
CLSM	Konfokal Lazer Tarama Mikroskobu
ELISA	Enzyme-linked-immunosorbent Assay
PCR	Polimer Zincir Reaksiyonu

AFM	Atomik Güç Mikroskobu
FTIR	Fourier Dönüşüm Kızılötesi
UV	Ultraviyole
nm	Nanometre
μm	Mikrometre
Å	Angström
mm	Milimetre
cm	Santimetre
m	Metre
cm^2	Santimetrekare
cm^3	Santimetreküp
sn	Saniye
dk	Dakika
gr	Gram
mg	Miligram
μg	Mikrogram
mL	Mililitre
L	Litre
mW	Miliwatt
V	Volt
mA	Miliamper
ppm	Parts per million (milyonda bir birim)
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat Derece
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
λ	Dalga Boyu
S1	Birinci Örnek
S2	İkinci Örnek
n	Örnek Sayısı

ÖNSÖZ

Tüm uzmanlık süresi ve uzmanlık tezi boyunca çalışmalarına bilgi ve deneyimiyle yön veren, yardımını ve sabrını esirgemeyen, gerekli tüm imkân ve olanakları sağlayan, çalışmak istediğim her konuda beni motive eden tez danışmanım, değerli hocam Prof. Dr. Kürşat ER'e teşekkür ederim.

Mesleki eğitimim ve tezimde katkıları olan, uzmanlık eğitimine başladığım ilk günden beri pozitif enerjisi, güler yüzü ve canayakın tavrıyla daima yanımda olan Sayın Doç. Dr. Alper KUŞTARCI ve Yrd. Doç. Dr. Öznur TUNCAY'a,

Çalışmada kullandığım kimyasalların sentezi, temini ve elde edilmesinde ve mikrobiyolojik işlemlerin gerçekleştirilmesi sırasında laboratuvar ortamının sağlanması, kontrolü ve her türlü bilgisel desteği sağlayan Yrd. Doç. Dr. Murat AKARSU ve Gül Merve GENÇER'e,

Büyük bir mutluluk ve inanılmaz bir keyifle birlikte çalıştığım, birbirinden güzel ve değerli sayısız anıları paylaştığım, her zaman destek ve yakınlıklarımı gördüğüm klinik arkadaşlarım ve personellere,

Sabrı ve sınırsız sevgisi ile her zaman yanımda olan sevgili eşim Mücella AYDIN'a,

Hayatım boyunca sevgilerini ve desteklerini sürekli hissettiğim aileme,

En içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Başarılı bir KKT için kök kanal sisteminin yeterli temizleme ve şekillendirme işleminden sonra biyouyumlu bir dolgu maddesi kullanarak tam bir tıkama yapılması önemlidir. Geleneksel KKT'lerinde kemomekanik yaklaşım uygulanmaktadır. Bu yaklaşım; metalik enstrümanlar ile kök kanallarının temizlenme ve şekillendirme kombinasyonunu, kimyasal dezenfektanlar ile irrigasyon ve/veya ilaç konulmasını ve kök kanal sisteminin kor materyali ve kanal patı ile doldurulmasını içermektedir (1).

Güncel temizleme ve şekillendirme teknikleri kullanıldığında bile, kök kanal sistemi içerisinde önemli miktarda bakterinin kalabildiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (2, 3). Peters ve ark (4), kullanılan metottan bağımsız olarak kök kanal dentin yüzeylerinin %35'inde dokunulmamış alanlar kaldığını göstermişlerdir. Ayrıca, anastomozlar, istmuslar ve lateral kanallar gibi anatomik varyasyonlar nedeniyle kök kanallarının bazı bölgelerine ulaşamamaktadır (5).

Geleneksel dezenfektanlar *in vitro* olarak yüksek antimikrobiyal etkinlik sergilemesine rağmen, klinik çalışmalarda temizleme ve şekillendirme işlemlerinden sonra kök kanal sistemi içerisinde inatçı bakteri varlığı gösterilmiştir (3, 6). Antimikrobiyal irriganların etkinliği kabul edilmesine rağmen, karmaşık kök kanal anatomilerinden dolayı ulaşamayan alanlarda bakteri varlığı devam etmektedir. Ayrıca, antibakteriyel kimyasalların etkinliği; konsantrasyonlarına, zamana ve irrigan miktarına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Kök kanal sisteminin bütün bölgelerinde, irriganın optimum konsantrasyona/hacime ulaşması için yeterli zamanı sağlamak zordur (7).

Bu problemleri aşmak için birçok ileri dezenfeksiyon stratejileri geliştirilmiş ve test edilmiştir (8-10). Bu ileri antibiyofilm stratejilerinin birincil amacı, sağlıklı dokularda istenmeyen etkiler oluşturmadan şekillendirilmemiş bölümlerden ve kök kanalının anatomik karmaşıklıklarından biyofilm bakterisini elimine etmektir. Endodontik biyofilmlerin eliminasyonu için kullanılmış olan ileri terapötik stratejilerden bazıları lazer destekli kök kanal dezenfeksiyonu, FDT, antibakteriyel nanopartiküller, ozon ve herbal/enzim alternatifleridir (11).

Kronik apikal periodontitis ve başarısız KKT'lerinde etkin olan bakterinin *E. faecalis* olduğu gösterilmiştir (12, 13). Kök kanal sisteminde enterokokların yaşamını devam ettirmesi enfeksiyonun inatçılığına neden olmaktadır (12). *E. faecalis*, gram-pozitif, sporsuz, fakültatif anaerop bir bakteridir ve tedavi sırasında değişik ilaçlara karşı dirençlidir (14). Dentin tübüllerine invaze olabilmekte, tübüller içerisinde uzun dönem canlılığını devam ettirebilmekte (15), farklı çevresel koşullarda dentine bağlanabilmekte ve biyofilm oluşturabilmekte (16), kanal içi dezenfektanlara direnç gösterebilmekte ve KKT uygulanmış dişlerde zor şartlarda yaşayabilmektedir (17) .

FDT, kanser için geliştirilmiş bir tedavi çeşididir ve FS olarak bilinen toksik olmayan ajanların kullanıldığı ve sonrasında uygun dalga boyu bir ışık kaynağı ile ışık uygulama sonucunda singlet (tekil) oksijen ve serbest radikallerin üretildiği, hedef dokudaki hücrelere karşı sitotoksik bir tedavidir (18). Son yıllarda, kök kanalındaki hedef MO'lar üzerine *in vitro* ve *in vivo* olarak FDT kullanılmıştır ve kullanılmakta olan geleneksel dezenfeksiyon işlemlerine ilave faydaları olduğundan dolayı önerilmektedir (8, 19-23).

Son zamanlarda birçok tıp dalında, geniş spektrumlu bakterisidal ve virüsidal özelliklerinden dolayı AgNP'ler kullanılmaktadır. AgNP'ler, reaktivlik özelliklerini artıran yüksek yüzey alan-hacim oranına ve benzersiz kimyasal ve fiziksel özelliklere sahiptir (24). Bakteri hücrelerine adherenslik ve penetrasyon gibi çoklu antibakteriyel mekanizmalar göstermektedir ve bakteri hücre membranının bütünlüğünde ve hücre duvarında permeabilite kaybına yol açmaktadır (25). Önceki çalışmalar (25, 26), 10-100 nm boyuta sahip AgNP'nin gram (+) ve gram (-) bakterilere karşı güçlü bakterisidal potansiyel taşıdığını göstermişlerdir. AgNP'nin kök kanal irriganı olarak tercih edilmesinde sadece güçlü bakterisidal etkiye sahip olması değil aynı zamanda biyoyumlu olması ve düşük konsantrasyonlarda etkinliği nedeni ile de önerilmektedir (27).

Bu çalışma çekilmiş insan dişlerinde deneysel oluşturulan 3 haftalık olgun *E. faecalis* biyofilmi üzerine fotosensitizan bir ajan olan Toluidin Mavisi O (TBO) ve bir nanoajan olan gümüş nanopartikül (AgNP) kombinasyonuna ışık uygulanmasının antibakteriyel etkinliğini incelemeyi amaçlamıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Pulpal ve periradiküler patolojiler için başlıca etiyolojik faktör MO'lardır. Belirli bir yapısal bütünlük içerisinde kendi ürettikleri ekstrasellüler polimerik maddeden oluşan bir matriks içine gömülü ve sert yüzeylere sıkıca tutunmuş halde hayatını sürdüren hücrelerle karakterize mikrobiyal topluluk olan biyofilm, endodontik patolojilerde kök kanal sistemindeki MO'ların kolonizasyonunda önemli bir oluşumdur (28). Biyofilm oluşumu için planktonik MO'ların var olması ön şartlardan biridir (29). Biyofilm içerisindeki MO'lar planktonik durumdakilerle karşılaştırıldığında dış etkilere karşı kendilerini korumalarının daha iyi olması ve daha yüksek direnç göstermeleri nedeniyle endodontik açıdan öneme sahiptirler (30). Endodontik bakteriyel biyofilmlerin eliminasyonu veya önemli ölçüde azaltılması ve kök kanal sisteminin tekrardan kontamine olmasının önlenmesi endodontik tedavide başarılı sonuçlara ulaşmak için önemlidir (28).

Ağız kavitesinden 300'den fazla çeşit bakteri izole edilirken, endodontik enfeksiyonlardan sınırlı sayıda bakteri izole edilmektedir (31). Hiç tedavi edilmemiş nekrotik pulpa dokusu bulunan kök kanallarından izole edilen bakteriler içerisinde sayıları çok az olmasına rağmen, başarısız olmuş endodontik tedavili ve periapikal lezyonlu dişlerin kök kanallarından en sık izole edilen bakterilerin *E. faecalis* olduğu gösterilmiştir (32) ve endodontik açıdan üzerinde en çok çalışılan MO'lardan biridir (33, 34).

2.1. Enterokok cinsinin genel özellikleri

Enterokok cinsi bakteriler 1984 yılından önce taksonomide Streptokok cinsi altında yer almaktaydı. Enterokok cinsinin ilk tanımlanması 1899 yılında Thiercelin tarafından yapılmış ve 1903 yılında Thiercelin ve Jouhaud tarafından Enterokok olarak tanımlanmıştır. 1906 yılında Andrews ve Harder eski sınıflandırmada *S. faecalis* ve *S. faecium* olarak bilinen bakterileri, yeni sınıflandırmada Lancefield D grubunda yer aldirmişler, *E. faecalis* ve *E. faecium* olarak adlandırmışlardır (35).

Enterokoklar tekli, ikili veya kısa zincirler oluşturan gram (+) koklardır. Mikroskopik olarak streptokok türlerinden ayırt edilmeleri zordur. Bazen gram (+) kokobasil şeklinde görülebilirler. Fakültatif anaeroblardır, oksijen varlığında veya

yokluğunda büyüme yeteneğine sahiptirler, sporsuz formdadırlar ve fermentatiflerdir. Bir enterokok olan *E. faecalis* hücreleri ovaldır ve 0,5-1 µm çapındadırlar (17, 36).

10-45 °C'de üreyebilen enterokok türlerinin en uygun gelişme sıcaklığı 37 °C'dir. Eskülünü hidrolize edebilen, %6,5 NaCl'li ortamda üremeyi sürdürebilen ve 60 °C'de 30 dk canlı kalabilen bakterilerdir. Ayrıca, pH 9,6'da, %40 safra tuzu içeren besiyerinde üreyebilirler. Sitokrom enzimleri olmaması nedeniyle katalaz negatiftirler. Glikozdan gaz oluşturmazlar. Kanlı jelozda, enterokok kolonileri büyükçe, gri, parlak görünümde olup; alfa, beta hemolitik ya da nonhemolitiklerdir (37). Karbonhidrat, gliserin, laktat, malat, sitrat, arginin, agmatin ve birçok α keto asitler gibi geniş kapsamlı enerji kaynaklarını metabolize edebilir (38, 39).

E. faecalis, olumsuz çevresel koşullara adaptasyon sağlama ya da bu koşulları tolere etme özellikleri bakımından diğer türlere oranla oldukça üstün özelliklere sahiptir. Metabolik değişkenlikleri ve soğuğa karşı içsel dirençlerinden dolayı geniş ölçüde kolonize olma yetenekleri vardır. Spor formları olmamasına rağmen kurumaya karşı oldukça dayanıklıdırlar ve kuru yüzeylerde aylarca inatçı kalabilirler. Ayrıca, pH'ye, iyonize radyasyona, deterjanlara, etanole, tuzlara, osmotik ve oksidatif streslere, yüksek ağır metal konsantrasyonlarına ve antibiyotiklere de dayanıklıdırlar. Yüksek kommensal özelliğinden dolayı gıda endüstrisinde ve hastalıkları önlemek ve iyileştirmek için probiyotik olarak sıkça kullanılmaktadır (38, 40).

Enterokok türleri, insan intestinal lümeninde çok sayıda (feçesinin her gr'da 10⁵-10⁸ CFU) bulunmaktadır ve çoğu durumda konaklarına zarar vermemektedirler. Daha az olmak üzere kadınların genital yolları ve oral kavitede de bulunmaktadır (41). İnsanlarda idrar yolunu, kan dolaşımını, endokardiyumu, abdomeni, safra yollarını, yanık yaralarını ve kalıcı yabancı cihazları enfekte ederek birçok hastalığa neden olabilirler (42). Enterokoklar, nozokomiyal bakteriyel patojenler arasında ilk üçte sayılmaktadır (43). Suşları antibiyotiklere karşı dirençli olmasından dolayı terapötik zorlukları vardır (44).

Bugün 23 farklı Enterokok türü bulunmaktadır ve mannitol, sorboz ve arginin ile etkileşimlerine göre 5 gruba ayrılmaktadır. *E. faecalis*; *E. faecium*, *E. casseliflavus*, *E. mundtii* ve *E. gallinarum* ile aynı gruptadır. Bu 5 tür, mannitol broth ve hidrolize argininde asit oluşturmada fakat sorboz brothda asit oluşturamamaktadır (38, 45). *E. faecalis*'in rastgele artırılmış polimorfik DNA analizleri ve değişken alanlı jel

elektroforezi ile DNA sekanslarında varyasyonları belirlenerek değişik alt tipleri tespit edilmiştir (46).

2.2.1. KKT açısından *E. faecalis*'in önemi

E. faecalis, oral kavite normal florasının bir üyesidir. Başarısız endodontik tedavili dişlerde en çok izole edilen bakteridir (6, 47). Enterokoklar, özellikle de *E. faecalis*, tedavi edilmemiş nekrotik pulpaya sahip dişlerin florasının küçük bir oranını oluşturuyorken, kronik apikal periodontitisli kök kanal dolgulu dişlerde %23-70 gibi yüksek oranlarda bulunmaktadır (48-51). Başarısız KKT'li vakalarda *E. faecalis* görülme sıklığı primer endodontik enfeksiyonlardan yaklaşık olarak 9 kat fazladır (17). Periodontal lezyonlu kanal dolgulu dişlere sahip bazı vakalarda *E. faecalis* baskın MO olarak bulunmuştur (45). Kök kanallarına değişik saf bakteri kültürlerinin inoküle edildiği hayvan çalışmalarında diğer bakterilere göre *E. faecalis*'in kök kanalında daha fazla örnekte kolonize olduğu bulunmuştur (52, 53).

E. faecalis, litik enzimler, sitolizin, agregasyon maddesi, feromonlar ve lipoteik asit gibi bazı virulans faktörlerine sahiptir (17). Bunun yanında, türler arasında bu virulans faktörlerini paylaşırabilen ve bu sayede sağ kalımını ve hastalığa neden olma yeteneğini artırabilmektedir (42). Endodontik başarısızlığa neden olabilen lenfositlerin hareketini baskılayabilmektedir (54). Yaygın genetik polimorfizm sergilediği gösterilmiştir (55). *In vitro* çalışmalarda (56, 57), *E. faecalis*'in dentin tübüllerine invaze olduğu gösterilmiştir. Dentin tübüllerinde 400-1000 µm ilerleyebilecek kadar küçük boyutlu olup, tübüller içerisinde yaşayabilmektedir (15, 57). Dentine bağlanmaya yardım eden serin proteaz, jelatinaz ve kollajen bağlayıcı proteine sahiptir. *E. faecalis*'in kök kanalında ek besin olmadan 12 ay boyunca canlılığını sürdürebildiği de gösterilmiştir (58). Yeterli besini sağlayana kadar uzun besinsiz kalma periyotlarına katlanma kapasitesi vardır (59).

E. faecalis, intrinsik olarak veya edinim yoluyla geniş spektrumda antibiyotiklere direnç gösterebilir (44). Dahlen ve ark (48), *E. faecalis*'in benzilpenisilin, metronidazol, klindamisin, tetrasiklin ve ampisiline karşı dirençli, eritromisin ve vankomisin gibi ilaçlara duyarlı olduğunu bildirmişlerdir.

Kanal içi ilaç olarak KH kullanıldığı zaman özellikle yüksek pH elde edilemezse, *E. faecalis*'in tam olarak eliminasyonunda etkisiz olduğu gösterilmiştir (60). Bunun nedenleri; (i) *E. faecalis*'in pozitif olarak pH homeostazisi sağlaması, (ii)

E. faecalis'in proton pompasına sahip olması bunun da pH homeostazisi sağlanmasında ek yardım sağlaması ve (iii) *E. faecalis*'in pH 11,5 ve üzerinde yaşamını sürdüremese de dentinin tamponlama kapasitesi sonucunda KH medikasyonu ile dentin tübüllerinde 11,5 pH'ın sağlanmasının zor olmasına yorumlanmaktadır (61).

E. faecalis'in KKT'sindeki başarısızlıklarda öne çıkan MO türü olması ve eliminasyonundaki yukarıda bahsedilen zorluklardan dolayı üzerinde araştırma yapılmaya devam edilmektedir (62-64). Bu sorunları aşmak için son zamanlarda özellikle FDT (33) ve NP'lerin (65) antimikrobiyal amaçlı kullanımı popüler hale gelmiştir.

2.2. FDT

Tedavi amacıyla UV, görünür veya görünüre yakın bölgedeki ışığın kullanıldığı uygulamalara fototerapi, ışığa duyarlı fotokemoterapötik bir ajanın kullanıldığı fototerapi uygulamalarına ise fotokemoterapi denmektedir (66). FDT, fotokemoterapinin bir çeşididir ve tedavi için ışık, FS ve moleküler oksijene gereksinim duymaktadır (67). Işık ile uyarılması sonucu hücrelerin, MO'ların ve moleküllerin inaktivasyonu olarak tanımlanan antimikrobiyal bir stratejidir (68). MO'ların FDT ile inaktivasyonu için *antimikrobiyal FDT*, *fotodinamik antimikrobiyal kemoterapi*, *fotodinamik dezenfeksiyon*, *fotoaktivasyonlu dezenfeksiyon*, *ışık ile aktive dezenfeksiyon* veya *letal fotosensitizasyon* gibi farklı tanımlamalar yapılmıştır (11, 69).

FS'nin, oksijen varlığında ışık ile aktive olması sonucu bir dizi reaksiyonla serbest radikaller ve singlet oksijen üretilmekte ve bakteriyel ölüm meydana gelmektedir (70). Fotodinamik etki veya doku/hücre hasarının kapsamı; FS'nin tipine, dozuna, inkübasyon zamanına ve lokalizasyonuna; oksijen varlığına; mW/cm²'de ölçülen ışık güç yoğunluğuna ve ışık enerjisinin akımına bağlıdır (68).

FDT'nin ana avantajı yüksek oranda seçicilik göstermesidir. FDT'de 3 temel bileşen olan; FS, moleküler oksijen ve görünür/infrared benzeri ışık, hücreler ve dokular için toksik değildir ve hedef dokuda kümelenmektedir. FS'ler ışık yokluğunda zararsız olduğundan sadece istenilen alan ışınlanarak genel toksisitesinden kaçınılabılır (71).

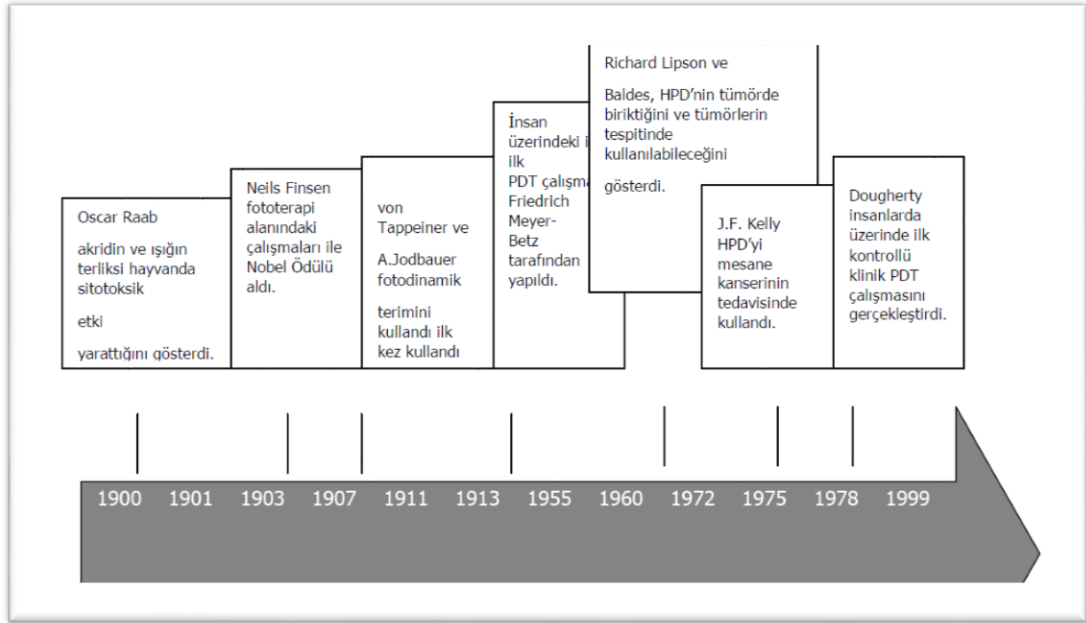
2.2.1. FDT'nin tarihi

Işığın tedavi amacıyla kullanımı antik çağlara kadar uzanmaktadır (72). Güneş ışığının sağlık üzerindeki etkisi uzun zamanlardan beri bilinmektedir. Fototerapiyi bilimsel bir yöntem olarak ilk kez kullanan ise Niels Finsen olmuştur (73). Ondokuzuncu yüzyılın sonlarında Finsen, kırmızı ışığı kullanarak çiçek hastalığını tedavi etmeyi başarmıştır. Ayrıca, kırmızı ışığın sivilcelerin cerahat toplamasını engellediğini göstermiştir. Güneşten elde ettiği UV ışığı kullanarak deri tüberkülozunu tedavi etmeyi başararak Nobel Ödülü almıştır (74).

FDT ise Münih Üniversitesi Farmakoloji Enstitüsü'nde Oscar Raab isimli bir tıp öğrencisinin 1900'da ekşi portakal ve ışık kombinasyonu ile yaşayan organizmaların (paramezyum) yok edildiğini gösteren raporuyla başlamıştır (75). Bu rapordan 3 sene sonra, Tappeiner ve Jesionek (76), deri tümörlerini tedavi etmek amacıyla beyaz ışığı kullanmışlardır. Çalışmalarında, topikal eosin ve yüksek doz ışınlama uygulamışlardır. Bu araştırmacılar muhtemelen FDT'yi onkolojide ilk defa kullanmış olan araştırmacılarıdır.

Işık, FS ve oksijen varlığında gerçekleşen kimyasal reaksiyonları ifade etmek üzere *fotodinamik etki* terimini ilk defa kullanan da Von Tappeiner olmuştur (77). Alman bir hekim olan Friedrich Meyer-Betz (78) 1913'te kendi derisine FS olarak hematoporfirini enjekte ederek meydana gelen şiddetli ödem ve eritem gibi deri fotosensitivitesi bulgularını ilk tanımlayan kişi olmuştur ve FDT'nin gelişmesinde çığır açmıştır. FDT, o zamanki adıyla *Foto Radyasyon Terapisi* olarak bilinen bir tedaviydi. 1942 yılında insan ve hayvanlarda sistemik hematoporfirin ve UV ile tümör tedavisi Auler ve Banzer (79) tarafından araştırılmıştır. Schwartz ve ark (80), ışık duyarlılığı özelliğine sahip hematoporfirin türevlerini tanımlamışlardır. Lipson ve ark (81), deneysel sıçan tümörlerini göstermek için sistemik verilen hematoporfirin türevleri uygulaması ve takip eden UV ışınlanması sonrası meydana gelen floresansı tanımlamışlardır. FDT'nin bugünkü ismini alması, bir tıbbi ürün firmasında ürün müdürü olarak çalışan Amerikalı John Toth tarafından gerçekleştirilmiştir (82). Tümör tedavisinde ilk kez kullanımı ise 1978 (83) yılında gerçekleşmiştir. O zamandan beri FDT, onkolojide yeni bir tedavi yöntemi olarak pek çok klinik ve prelinik çalışmanın konusu olmuştur. Thomas Dougherty 1986'da Uluslararası Fotodinamik Derneğini kurmuştur ve bu tedavi yöntemi üzerinde ilgi artmıştır. 1990 yılında Avustralyalı

Kennedy ve ark. ilk kez yerel aminolevulinik asit kullanmak suretiyle deri tümörlerini tedavi etmişlerdir. Tedavi yöntemi ilk kez 1995 yılında özofagus kanseri için FDA onayı almış, deri hastalıkları alanında ise ilk kez 1999 yılında aktinik keratozların tedavisi için FDA onayı verilmiştir (84).



Şekil 1. 1900'den günümüze FDT'nin tarihi (85) [Tunçer'den (77)].

2.2.2. FDT'nin hareket mekanizması

FDT'nin etki mekanizması, FS özellikli bir ajanın uygun dalga boylu bir ışık ile ışınlanması sonrası aktivasyonu ile oluşan reaktif oksijen radikallerinin esansiyel hücre yapılarını geri dönüşümü olmayan yolla okside ederek doku hasarı ve nekroz oluşturma esasına dayanmaktadır (84).

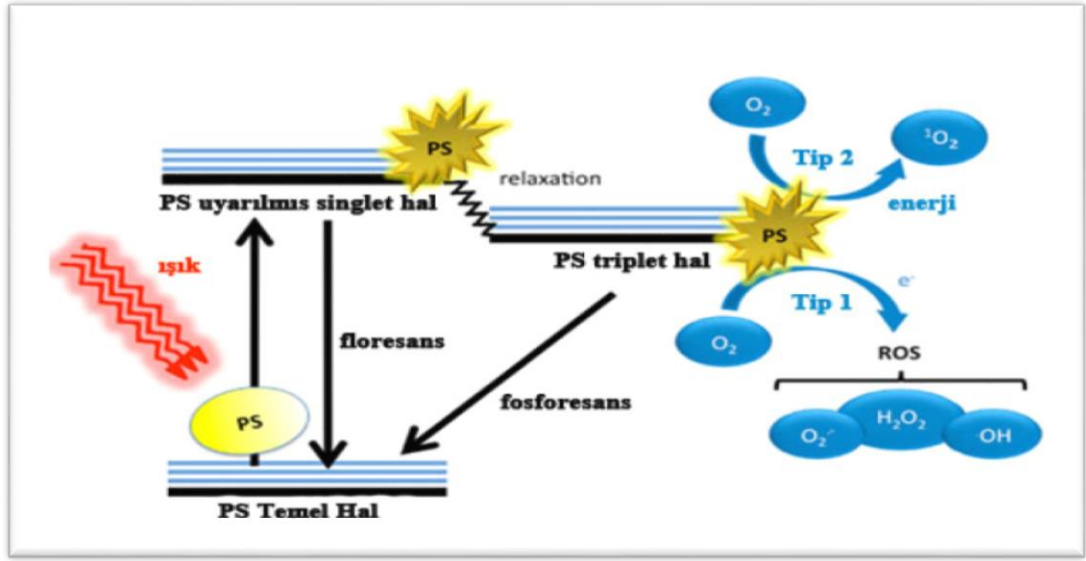
FDT, 3 tane toksik olmayan ajanın ortamda var olmasına dayanmaktadır: FS, ışık ve oksijen. FDT'nin temeli uygun dalga boyundaki ışıkla uyarılan FS tarafından başlatılan bazı fotokimyasal reaksiyonlardır (86). FS'ler ajanın çeşidine bağlı olarak intravenöz, oral veya topikal olarak uygulanabilmektedir (87).

FS'ler molekül orbitallerinde elektronların özel biçimde düzenlendiği maddelerdir. Temel durumda, düşük enerji moleküler orbitallerinde zıt dönüşlü elektron çiftlerine sahiptirler. Uygun dalga boylu ışığın absorpsiyonu, dönüşünde

değişiklik olmadan bir elektronu yüksek enerji orbitale yükseltmektedir. Bu, kısa ömürlü (nanosaniye) bir uyarılmış singlet durumudur ve FS enerjisini kaybedebilir ve ışığı emerek (floresan) veya ısı ile tekil duruma geri döndürebilir (71).

Tip 1 mekanizmasında elektron/hidrojen, FS'den iyonlar oluşturarak direk transfer edilmektedir veya substrat molekülünden serbest radikaller oluşturmak için bir elektron/hidrojen uzaklaştırma vardır (88). Serbest radikaller, oksijenle hızlıca reaksiyona girmekte ve oldukça reaktif oksijen türleri oluşumu ile sonuçlanmaktadır (89). Uyarılmış triplet durumunda FS, etrafındaki azalan bir molekülden bir elektron ayırmaktadır. Bir çift radikal anyon ve radikal katyonlar (biyomolekül⁺) oluşturulur. Aerobik bir ortamda FS radikal anyonu, fazla elektronlarını süperoksit anyon radikali oluşturarak O²'ye vermektedir (90).

Tip 2 mekanizmada, singlet oksijen olarak bilinen, elektronik olarak uyarılmış ve oldukça reaktif oksijen çeşidi salınmaktadır. Singlet oksijen türleri aracı olduğundan dolayı bu mekanizma, mikrobiyal hücre ölümünde majör yol kabul edilmektedir (89). Tip 2 fotoreaksiyonda, FS'nin T₁ durumu, enerjisini direk olarak moleküler oksijene transfer etmektedir. Singlet oksijenin FDT'de primer hasar türü olduğu düşünülmektedir (71). Reaktif singlet oksijen, hedef dokuda vasküler endotel ve hücre membranlarında hasar meydana getirerek doku yıkımına neden olur. Singlet oksijen biyolojik ortamlarda 0,04 milisaniyeden daha kısa ömre ve 0,02 mm'den daha az hareket yarıçapına sahiptir. Bu yüzden reaksiyon sınırlı bir alanda gerçekleşmekte, lokal bir cevaba yol açmaktadır; bu özellik FDT'yi uzak bölgeleri etkilemeden, hücre ve organlarda lokalize alanlara uygulama için ideal yapmaktadır (70).



Şekil 2. FDT'nin Jablonski diyagramı üzerinde şematik gösterimi (91).

2.2.3. Moleküler düzeyde fotodinamik hedefler

Hücreler, FDT ile üretilen singlet oksijen ve diğer reaktif türler için potansiyel maddeler olan bir takım biyomoleküller içermektedir. Singlet oksijenin FDT'de ana hasar verici faktör olduğu düşünülmektedir ama Tip 1 mekanizması da oldukça reaktif olabilmektedir (92). FS'ler nadiren sadece Tip 1 ve Tip 2 aşamalara katılmaktadır bu yüzden fotodinamik aktivasyon genellikle singlet oksijen ve radikallerin karışımını üretmektedir (93).

Singlet oksijen ve diğer ROS ile tepkimeye girmek için nispeten yüksek oran sabiti ve çoklukları yüzünden proteinler, ana FDT hedefi olarak düşünülmektedir (94). Lipitler, proteinlerden daha az bulunmaktadır ama doymamış yağ asitlerinin özellikle biyomembranlarda yüksek orada bulunması membran organelleri ve plazma membranını, foto üretimli singlet oksijen ve diğer ROS için hedef yapmaktadır (95). Oksidatif oluşturulan DNA hasarı, FDT'de hücre ölümünün nedenleri arasındadır (95, 96). Tip 1 ile üretilen ROS'lar arasında en fazla hasar oluşturan, difüzyon sınırlı oranlarda tüm DNA bileşenleri ile tepkimeye giren hidroksil radikalleridir (97).

Hüresel kompartmanların foto üretim reaktif türlere karşı hassaslıkları oldukça değişkenlik göstermektedir. FS'lerin subsellüler dağılımı, FDT etkinliklerinde güçlü

bir belirleyicidir. Spesifik subsellüler hedeflere foto hasarın lokalizasyonu; sinyalizasyon/regülasyon yolunun aktivasyonu, hücre sel cevabın tipi ve FDT sonrası hücre ölümünün modu için önemlidir (98).

Hücre ölümünde mitokondride lokalize olan FS'ler, diğer hücre sel bölgelerde lokalize olan FS'lerden daha etkili olmaktadır. Mitokondriler, fotosensitizasyon sonrası ultrayapısal değişiklik gösteren ilk organeller arasındadır. Mitokondrideki fotodinamik hasar; elektron transport zincirinin bozulması, mitokondriyal membran potansiyelinin dağılması ve mitokondriyal şişme ile sonuçlanan bir işlem zincirinin primer olayıdır (99).

Fotodinamik etkinlikte diğer bir hücre bileşeni biyomembranlardır. Membranlarda meydana gelen fotodinamik etki, FDT etkinliğinin artması için anahtar bir faktördür. FS'nin membrana bağlanması sonrası ışınlama ile oluşan uyarılmış triplet türler, artan oksijen konsantrasyonu ile karşılaşmaktadır ve daha fazla singlet oksijen üretilmektedir. Ayrıca, membran içerisinde üretilen singlet oksijen, çoklu doymamış yağ asitlerini içeren duyarlı membran bileşenleri ile daha fazla tepkimeye girme olasılığı bulacaktır. Membranların hücrenin bütünlüğünün devamındaki rollerinden dolayı FDT sonrası membranlarda meydana gelebilecek bir hasar FDT etkinliği ile direkt ilintilidir (100).

Mitokondri ve diğer organellerde lokalize olan FS kadar etkili olmasa da lizozomda lokalize olmuş FS'lerin de etkili oldukları bilinmektedir. Lizozomal membranların foto uyarım ile bozulması sonucunda hücrenin salınan hidrolitik enzimler ile sindirildiği ileri sürülmüştür (101).

Sitoskeletal elemanlar, FDT için diğer bir çekici hedefdir. Düşük FS dozları, tübülüne spesifik olarak bağlanarak ve ışınlama sonrası polimerizasyonunu önleyerek mikrotübül fonksiyonunun inhibitörlerine benzer şekilde davranabilir (102).

FDT ile hücre ölümünde FS'lerin fizikokimyasal özellikleri, subsellüler lokalizasyonu, lokal konsantrasyonu, oksijen konsantrasyonu ve kullanılan ışığın dalga boyu gibi değişik faktörler hücre ölümünün tipini etkilemektedir (103). FDT sonrası hücre ölümünün tipi fotodinamik süreç ile üretilen ROS'un miktarına, konumuna ve tipine bağlıdır (104). Aynı FS, şayet ışınlama normoksik ortamda

yapılırsa nekroz meydana getirebilir ama ışınlama hipoksik ortamda yapılırsa apoptozisi indüke edebilir (105). Sistemik uygulamalarda, vaskülarizasyonun az olduğu hipoksik tümörlerde FS'nin tümör sahasına taşınmasının zor olmasından dolayı FDT'ye direnç görülmüştür (106).

2.2.4. Işığa duyarlı ajanlar

Tümörlerin tedavisi ve antimikrobiyal amaçlar için FDT kullanıldığı zaman başarılı sonuçlara ulaşmak için, kullanılan ışık uzunluğunda yüksek absorpsiyon kapasitesine sahip ve toksik olmayan etkili bir FS'nin seçimi önemli bir konudur (107).

İdeal bir FS şu özelliklere sahip olmalıdır (108):

- a. Saf kimyasal yapıda olmalı
- b. Prekürsörlerinden sentezlenebilmeli ve kolayca yeniden üretilebilmeli
- c. Yüksek singlet oksijen kuantum verimi ($\Phi\Delta$)
- d. Yüksek bir sönüm (ekstinksiyon) katsayısı ile görülür spektrumun kırmızı bölgesinde (680-800 nm) güçlü absorpsiyon
- e. Tümör bölgesinde etkili birikimi olmalı ve hem FS hem de metabolitleri için karanlıkta düşük toksisiteye sahip olmalı
- f. Vücut doku sıvılarında kararlı (stabil) ve çözünebilir olmalı ve enjeksiyon veya diğer metotlar yoluyla vücuda kolayca taşınabilmeli
- g. Tedavi sonrası vücuttan atılması kolay olmalıdır.

İdeal bir FS'de aynı zamanda olması gereken diğer özellikler arasında; yerel uygulama sonrası etkinliğini kaybetmemesi, yeterli patolojik doku hasarı potansiyeli taşıması, tümör seçici olması sayılabilir. Ancak, günümüzde tüm bu kriterleri taşıyan bir FS yoktur. Optimal terapötik etki elde etmek için sensitizan maddenin konsantrasyonunun yanı sıra ışığın dozu da önem taşımaktadır (84). FS'ler MO'lar için yüksek bağlanma afinitesi göstermelidir (109). Memeli hücreleri için ise düşük bağlanma afinitesi sergilemeli, kimyasal toksisitesi ve mutajenitesi düşük olmalıdır (110).

Biyolojik bir ortamda, yaşam ömrünün ve buna bağlı olarak singlet oksijen ve diğer ışık ile üretilen reaktif türlerin migrasyonunun sınırlı olmasından dolayı, FS molekülünün lokalizasyonu, FDT'de hangi yapıların hasara uğrayacağını belirlemede

temel faktördür. Bu hedeflerin doğası ve fotohasarın boyutu, fizyolojik reaksiyonlarda ve de FDT sonucunda önemli bir etkiye sahiptir. FS molekülünün yükü, lipofilitesi ve üç boyutlu yapısı, FS'nin uptake'i ve hücreler altı dağılımında temel belirleyici faktörlerdir (71).

Binlerce doğal ve sentetik foto aktif bileşik FS olma potansiyeline sahiptir. Bunlar; klorofil bozulma ürünleri, poliasetlenler, tiyofenler, kinonlar, antrakinonlar ve metaksiproralenlerdir (111). Klinik olarak kullanılan FS'lerin çoğunluğu, boyalar, porfirinklorin platformu ve furokumarinlere aittir (112).

Birinci nesil FS'lar; photofrin ve hematoporfirin deriveleridir. Photrin'in maksimum dalga boyunda ışık absorpsiyon yoğunluğu düşüktür ve 630 nm'de ışığın etkili doku penetrasyonu 2-3 mm olmak üzere sınırlıdır, fakat yüksek singlet oksijen verimine sahiptir (113). Diğer hematoporfirin tipleri; Photogem, Photosan-3'dür (67). İkinci nesil FS'larda, deri fototoksitesisi, görülür spektrumun kırmızı bölgesinde düşük absorpsiyon ve sentezleme metodundan kaynaklı karmaşık karışım gibi istenmeyen özellikler giderilmek hedeflenmiştir (67). İkinci nesil FS'ler; porfirinler, klorinler, pheophorbidesler, bakteriyopheophorbidesler, texapirinler, fitalosiyeninler'dir. Porfirin olmayan FS'ler ise; antrakinonlar, fenotiyazinler, ksantenler, siyaninler, curcuminoidlerdir (67).

FS'lerin çoğu 630 ile 700 nm arasındaki ışık ile aktive olmaktadır. Bu değerlerde penetrasyon derinliği, 0,5 cm (~630 nm) ile 1,5 cm (~700 nm) arasındadır. Literatürde bulunan bazı FS'ler için uygun dalga boyları şu şekildedir; hematoporfirin deriveleri (620-650 nm), fenotiyazinler (620-700 nm), siyanin (600-805 nm), hitalosiyeninler (660-700 nm) (69, 107).

TBO (8, 9, 33, 34, 63, 114-124), MB (19, 122, 125-135), PEI ve ce6 arasındaki konjugat (21, 136, 137), indosiyenin yeşili (138), eritrosin (139), radaklorin (119), RB (140), RB yüklü NP'ler (141, 142), MB yüklü NP'ler (65), curcumin (62, 140), eosin Y (140) endodontide yapılmış olan değişik *in vivo*, *in vitro* ve *ex vivo* çalışmalarda kullanılmış olan farklı FS'lerdir.

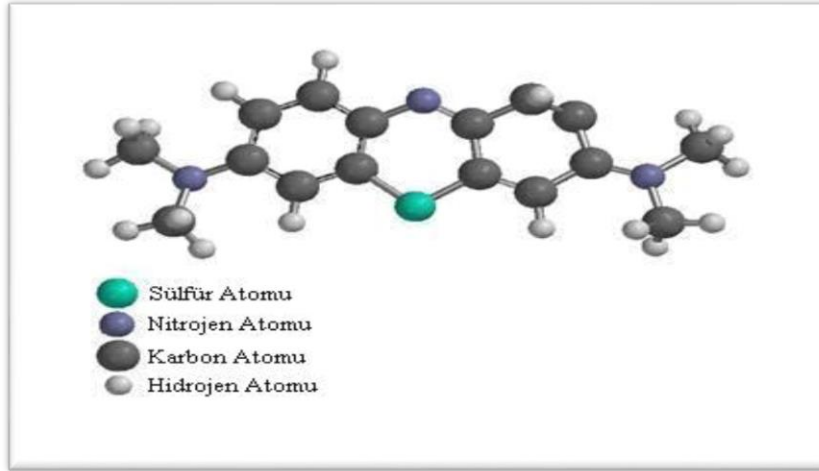
2.2.4.1. Fenotiyazin deriveleri

İlk fenotiyazin boyaları 19. yüzyılın sonlarında, tekstil endüstrisinde kullanılmak üzere Almanya'da sentez edilmiştir. 1870 yılında Heinrich Caro tarafından MB'nin patenti alınmıştır (143). Fenotiyazin boyaları, tek pozitif yüklüdür ve üçlü halka π -sisteme bağlı oksokromik yan gruplardan oluşmaktadırlar, singlet oksijen kuantum verimi yaklaşık 0,5'dir bu nedenle tip 1 ve tip 2 mekanizmaları ile hareket etmektedir (144). Yaygın olarak kullanılan fenotiyazin boyaları TBO, MB ve RB'dir.

TBO, aynı zamanda tolonyum klorit olarak da bilinmektedir. Asidik doku bileşenlerini (sülfatlar, karboksilatlar ve fosfat radikalleri gibi) seçici olarak boyayan, asidofilik, metakromatik ve mavi renklendirici bir ajandır (145). Gram (+) ve gram (-) bakterilere karşı geniş yelpazede etkilidirler. Kök kanalında sulu solüsyonlarında %0,001-0,01 w/v gibi düşük konsantrasyonlarda kullanılmaktadır. Bu kimyasala düşük düzeyde görülür kırmızı ışığın (635 nm) ekspozuru bakteri hücre duvarının bütünlüğünü bozan singlet oksijen salınımına neden olmaktadır (11). Nükleik asitlere afinitesi vardır ve bu yüzden nükleer doku materyallerine bağlanmaktadır (146). TBO, mukozal lezyonlar için vital bir boya olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır ve metakromatik özelliklerinden dolayı doku kesitlerindeki uygulamalarda belirli komponentleri özel olarak boyamaktadır (147).

MB, fenotiyazin ailesine ait boyar bir maddedir. Dimetilanilinden elde edilir. 663 nm dalga boyunda maksimum absorbanslığa sahiptir (148). Katyoniktir (bazik) ve boyu 16, eni 8,4 ve kalınlığı 4,7 Å olan bir moleküldür (149). Heterosiklik aromatik bir kimyasal bileşiktir. Oda ısısında katı, kokusuz, koyu yeşil bir tozdur, suda çözüldüğü zaman mavi bir solüsyon olmaktadır. Hidrat formu her MB molekülünde üç tane su molekülüne sahiptir (11). MB molekülü kimyada redoks indikatörü olarak kullanılabilir. Jel içerisinde veya mikroskop altında DNA veya RNA'yı inceleme amacıyla renklendirici materyal olarak kullanılabilir. Suların işlenmesi ve temizlenmesinde de kullanılan bir bileşiktir (148). Gram (+) ve gram (-) oral bakterileri de kapsayan çok sayıda MO'nun MB ile fotoinaktive olduğu bilinmektedir. Fenotiyazin boyaları hedef türlerin hem DNA'sına hem de dış membranına fototoksisite sergilemektedir (150). MB'nin hidrofilitesi, düşük moleküler ağırlığı ve pozitif yüklü olması gibi özellikleri gram (-) bakterinin dış membranında porin-protein

kanallarından geçişine izin vermektedir. MB, ağırlıklı olarak fotosensitizasyon sürecine katılan, MB dimerleri üretimiyle sonuçlanan anyonik LPS makromolekülü ile etkileşime girmektedir (11).



Şekil 3. MB molekülünün kimyasal yapısı (148).

RB; (Tetrakloro-tetraiyodofloresein), ağır halojenli organik bir boyadır. Sulu ortamlarda pH'ye bağlı olarak katyonik, nötral, anyonik ve dianyonik durumlarda bulunabilir (151). Floresein analogu olarak 1884'de hazırlanmıştır. Bengal'de kadınların yüzyıllardır ayaklarını kırmızıya boyamak için kullandıkları bir boya olan alta'ya benzerliğinden dolayı bu ismi almıştır. Aynı zamanda sentetik kimyada triplet oksijenden singlet oksijen üretmek için de kullanılmaktadır (11). 500-570 nm ışığı absorbe etmekte ve 540-650 nm ışığı yaymaktadır (151).

2.2.5. Işık kaynakları

2.2.5.1. Işığın dalga boyu ve penetrasyon derinliği

FDT'de ışık kaynağı, tedavide kullanılan FS'nin aktivasyon spektrumuna uygunluk gösteren dalga boyundaki ışığı sağlamalıdır. FS'lerin çoğu geniş bir dalga boyu aralığında aktive olabilir fakat maksimum absorpsiyon veren dalga boyu ile FS'nin aktivasyonu üperoksit anyon radikali gibi toksik foto ürünlerin daha yüksek miktarda üretilmesine olanak tanır (77).

Işınlatma, FDT’de anahtar bir unsurdur ve dokuların optik özellikleri, tedavinin derinliğini ve etkinliğini belirlemektedir (71). Dalga boyuyla birlikte, ışığın hücreler ve diğer mikro yapılar tarafından kırılması ve bazı moleküller (özellikle hemoglobin, melanin ve su) tarafından absorbe edilmesi penetrasyonu etkiler (152). Endojen kromoforlar (hemoglobin, melanin gibi) ile ışığın absorpsiyonu ve saçılması, ışık penetrasyonunu 650 nm’den küçük dalga boylarında sınırlamaktadır. Dokularda ışık penetrasyonu, 1300 nm’den daha büyük değerlerde su moleküllerinin absorpsiyonu nedeniyle azalmaktadır. Bu yüzden ışığın dokulara maksimum penetrasyonu ‘fototerapötik aralık’ta başarılabilir (71, 153, 154). $\lambda > 850$ nm ışık, moleküler oksijenin singlet oksijene uyarılması için yeterli enerji sağlamamaktadır (155). Fotonlar dokuya girdiği zaman bir kısmı yüzeyden yansırken kalanı doku içinde saçılır veya kromoforlar tarafından absorbe edilir. Teorik olarak az sayıda foton doku hacmini kat edebilir. Fakat bu sayı çok küçüktür. Sekizyüz nm’den daha küçük dalga boyları makro moleküller tarafından daha etkin bir şekilde saçılırlar, çünkü bunlar partiküllerin boyutlarına eşit ya da daha küçüktürler (156, 157).

2.2.5.2. FDT’de kullanılan ışık kaynakları ve aktarım sistemleri

FDT’de bugüne kadar koherent (lazerler) ve koherent olmayan (lambalar ve LED) ışık kaynakları kullanılmıştır. Her iki tipin de kendilerine özgü bir takım avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır (158). Lambalarda akkor lambalar (tungsten lamba, tungsten-halojen lamba) ve gaz-deşarj lambalar (ksenon lamba ve metal halide lambalar) kullanılmışken lazerlerde argon lazerler, ayarlanabilir boya lazerler, altın buhar lazerler, Nd:YAG lazerler ve diyot lazerler kullanılmaktadır (84, 158).

Lazer ışık kaynaklarının avantajları ışık aktarımında fiber optik donanım sağlaması ve monokromatik dalga boyu nedeniyle ışınım süresinin sınırlandırabilmesidir. Buna karşılık lazer olmayan ışık kaynakları daha ucuz olması, geniş dalga boyu spektrumu nedeniyle FS ile uyumsuzluk riskinin düşük olması, birden fazla absorpsiyon piki oluşturan FS’ler için uygun olması, oluşan ara ürünlerin fotoaktivasyonu ve uzun dalga boyları nedeni ile derin penetrasyon sağlaması gibi avantajlı özellikleri bulunmaktadır (84). Diyot lazerler daha fazla tercih edilmektedir çünkü daha kompaktırlar, kullanımları rahattır, çok yönlüdürler ve biyolojik dokular

tarafından iyi absorbe edilirler (110). FDT’de kullanımı esnasında sıcaklık artışı meydana gelmemektedir (159). LED’ler son zamanlarda FDT’de alternatif ışık kaynağı olarak sıkça kullanılmaya başlanmıştır, çünkü her ne kadar lazerler kadar güçlü olmasalar da, pahalı değildirler, esnekler, ebat olarak küçük ve hafiftirler ve kullanımları kolaydır (11, 160).

Endodontik dezenfeksiyonda ise en sık diyot lazerler (helyum-neon lazerler [633 nm] ve galyum-alüminyum-arsenit lazerler [630-690, 830 veya 906 nm]) (9, 65, 122, 133, 134, 136) ve LED’ler (33, 34, 62, 161) kullanılmıştır. Yüksek düzey enerjili lazer ışınlanması, ışığa duyarlı boyayı aktive etmek için kullanılmamaktadır çünkü düşük düzey bir ışına maruz kalma nispeten daha yüksek bir bakterisidal etki oluşturmaktadır (160). Yüksek güçlü lazerler çevre dokularda hasar oluşumuna neden olabilmektedir (69).

FDT’de ışık kaynağı tarafından üretilen ışığın kök kanal sistemine aktarımı önemli bir konudur. Işık kaynağı ve aktarım aygıtı arasındaki kombinasyonun ana amacı, FS’nin optimum aktivasyon ve hedef dokuda penetrasyonu için uygun dalga boylarında yeterli ışık üretmek ve ışığın üç düzlemde dağılımını sağlamaktadır (11).

FDT’de en yaygın kullanılan fiber optik taşıma cihazı, silindirik dağılım yapan fiber uçtur. Endodontide kök kanal sistemi dezenfeksiyonu amacıyla FAD uygulandığı zaman çalışmalarda farklı çaplarda fiberler kullanılmıştır. 200 µm (137), 216 µm (159), 250 µm (65, 128, 135), 300 µm (120, 122), 320 µm (9), 400 µm (8, 125, 138), 500 µm (19, 131) ve 600 µm (124) gibi fiber optik çaplar en uygun etkiyi sağlamak amacıyla kullanılmıştır. Konik yumuşak plastik uçlar da (161) ışık aktarımında kullanılmıştır. Işığın uniform olması istenilen bir durumdur (11).

2.2.5.3. FotoSan sistemi

Işığa duyarlı kimyasal bir madde ile güçlü bir kırmızı ışığı birleştiren sistemdir. Işık kaynağı olarak kullanılan el parçası FotoSan 630 olarak adlandırılmaktadır. Sistemde taşıma cihazı olarak, 4 mm çapında kör sonlanan bir uç, 8 mm çapında kör sonlanan bir uç, ışığı uç kısımdan ve iki tane omuzdan yayan 0,5 mm çapında endodontik bir uç, 15 mm uzunluğunda ve 1 mm çapında uç kısmından ve distal 5

mm'den ışık yayan periodontal bir uç ve 23 mm uzunluğunda 1 mm çapında, uç kısmından ve distal 5 mm'den ışık yayan periodontal bir uç bulunmaktadır.



Şekil 4. FotoSan sistemi



Şekil 5. FotoSan sisteminde bulunan tedavi uçları

Cihazın voltajı 3,2 V, nominal kapasitesi 1,200 mA, çıkış gücü 2000-4000 mW/cm², dalga boyu spektrumu 620 nm ile 640 nm arasındadır.

FS ajanı olarak 0,1 mg/mL konsantrasyonunda, 3 farklı viskozitede ve 2 farklı hacimli paketlerde TBO bulunmaktadır. Ajanlar, kullanımı kolaylaştırmak ve hızlandırmak amacıyla 1,2 mL'lik hazır şırıngalar içerisinde veya 6 mL'lik flakon

şişelerde bulunmaktadır. Endodontide düşük viskoziteli ajanın kullanımı önerilmektedir.



Şekil 6. FotoSan sisteminde enjektörler ve flakon içerisindeki TBO ajanı

Endodontik uygulamalarda düşük viskoziteli FotoSan ajanı kök kanalına enjekte edilir. Kuvvet uygulaması olmadan endodontik uç kök kanalında mümkün mertebe en derine yerleştirilir. Otuz sn süre ile FS ajanı ışık ile aktive edilir. Şayet uç, kanalın yaklaşık olarak 2/3'üne ulaşmazsa 30 sn ilave bir ışınlama yapılır.

Gambarini ve ark (162), insan fibroblastlarında FotoSan ile FDT'nin sitotoksitesini incelemişler ve ışık ile aktive edilmiş ve edilmemiş FotoSan ajanının, yaygın olarak kullanılan endodontik irriganlara benzer toksisiteye sahip olduğunu bulmuşlardır. Schlafer ve ark (34) ve Rios ve ark (33) çalışmalarında FDT'de ışık kaynağı olarak FotoSan'ı kullanmışlardır.

2.2.6. FDT'nin yan etkileri ve sınırlamaları

FDT'nin beklenen ve beklenmeyen yan etkileri, kullanılan FS ajanına ve ışık kaynağına bağlı değişiklikler göstermektedir (84). Yan etkiler arasında ağrı, fotosensitivite, eritem, ödem, ateş, plevral efüzyon, konstipasyon, anemi ve solunum yetmezliği bulunmaktadır (163). Başlıca yan etkisi ışınlamanın erken safhasında başlayarak sonrasında azalan ağrıdır. Fotosensitivite aylarca sürebilir ve yaygın

görülmektedir. Pek çok yan etkinin uygun FS tipi ve dozu, ışınlama parametresi ve FDT tedavi protokolünde diğer detayların seçimi ile hafifletilebileceğini vurgulamak önemlidir (71).

Klinik FDT’de kullanılan FS’lerin sınırlamaları arasında tedavi edilen geniş tümör kitlelerindeki zorluk ve sınırlı tedavi derinliği vardır. Görünür ışık dokulara 5-10 mm’den daha fazla penetre olamamaktadır bu da FDT’nin kullanımını yüzeysel lezyonlar ile sınırlamaktadır (163). FDT, ablatif bir işlemdir ve histolojik diagnoz için uygun bir yöntem değildir. Teşhisin, tedavi öncesi konulması gerekmektedir (69).

Kök kanalına uygulanmış olan FS’nin, dentin tübüllerine penetrasyonu sınırlı olabilmektedir ve mikro çevrede bulunan oksijen moleküllerinin düşük konsantrasyonları antibakteriyel etkinliği düşürmektedir. Enfekte dokuya ışık penetrasyonunun yetersiz olması da aşılması gereken diğer bir problemdir. Pulpal dokular, serum, dentin matriksi ve bakteri artıkları gibi kök kanal sistemi bileşenleri gibi değişik doku inhibitörlerinin varlığı da FDT’nin antibakteriyel etkinliğini azaltmaktadır (11).

2.2.7. FDT’nin klinik uygulamaları

FDT bugüne kadar viral lezyonlarda, dermatolojik infeksiyonlarda, dental infeksiyonlarda, leishmanialarda ve gastrik infeksiyonlarda kullanılmıştır (164). Dermatolojideki endikasyonları; aktinik keratoz, aktinik keilit, lökoplaki ve eritroplaki, Bowen hastalığı, bazal hücreli kanser, skuamöz hücreli kanser, kütanoz T hücreli lenfoma, deri metastazları, Kaposi sarkomu, keratoakantoma gibi onkolojik hastalıklar ile psoriasis, verruka vulgaris, kondilomata aküminata, hipertrofik liken planus, hirsutizm, alopesi areata, akne vulgaris, lokalize skleroderma gibi onkolojik olmayan hastalıklardır (84).

2.2.7.1. FDT’nin diş hekimliğinde kullanım alanları

Baş ve boyun bölgesinin premalign ve malign lezyonlarının teşhisi ve tedavisi, oral liken planus, kandidiyazis, herpes simpleks infeksiyonları gibi oral lezyonlar, periodontoloji, restoratif diş tedavisinde kavite dezenfeksiyonu, peri-implantitis tedavisi, diş çekimi sonrası çekim socketinin dezenfeksiyonu ve endodontide kök kanal

sisteminin dezenfeksiyonu (69, 82) FDT'nin diş hekimliğinde başlıca kullanım alanlarıdır.

Oral liken planus'ta, immünomodülatör etkiye sahip olabilen ve psoriasis ve liken planus'ta bulunan hiperproliferatif inflamatuvar hücrelerdeki apoptozisin indüke edilmesi amacıyla faydalanılmaktadır. Böylece liken planus'un hiperproliferasyonu ve enflamasyonu önlenmektedir (165). Orofarengeal kandidiyazis'in etkeni olan *C. albicans*'ın yok edilmesinde oldukça etkili olduğu gösterilmiştir (166). Labial herpes simpleks gibi viral infeksiyonlarda virüsün etrafındaki viral zarfın konak hücreye absorpsiyonunu ve penetrasyonunu engellediği ve virüsidal etki görüldüğu bildirilmiştir (167). Düşük seviye lazer tedavisi, vezikül nüks sıklığını azaltarak hastada konforu artırmıştır. Lezyonlar hızlıca iyileşmiş ve önemli bir yan etki bildirilmemiştir (168).

Larinks, nazal kavite, farenks ve oral kavite bölgelerini içeren baş ve boyun bölgesinin malign ve premalign lezyonlarında temel tedavi cerrahi, kemoterapi ve radyasyon olsa da bu tedavilerin ağrı, ağız yaraları, disfonksiyonel tükürük bezi büyümesi ve çiğneme, yutma ve konuşma zorlukları gibi bir takım yan etkiler göstermesinden dolayı FDT, minimal invaziv bir tedavi yöntemi olarak düşünülmüştür (69, 169).

Antimikrobiyal FDT, bakteriler üzerinde toksik etkiye sahip olduğundan dolayı periodontal tedavi sırasında bakteriyel eliminasyon etkinliğine sahiptir ve cerrahi olmayan periodontitis tedavisinde periodontal ceplerden bakteriyel enfeksiyonun eliminasyonunda kullanımı başarılı sonuçlar ortaya çıkarmıştır (170). Deneysel periodontitiste, periodontal enflamasyon belirtilerini ve alveol kemik kaybını azaltmıştır (171). Geleneksel yöntemlere ilave olarak veya tek başına kullanılabilir. Periodontal cerrahide, flep operasyonlarında veya kapalı küretajda, mekanik temizliğin zor olduğu bölgelerde uygulanması kolaydır ve tedavi sonuçları üzerine ilave katkılar sağlamıştır (160).

FDT, peri-implantitis tedavisinde implant yüzeyini temizlemek için mukoperiostal flebin kaldırıldığı geleneksel tedavilere göre etkili ve invaziv olmayan bir yöntemdir. İmplant yüzeyini ve/veya çevre dokuları boyamamaktadır (172). Sadece boya uygulanan ve ışık alan bölgede etkili olması, antibiyotiklerin aksine

etkilenmeyen bölgelerdeki mikroflora üzerine tahribat yapmaması gibi avantajlara sahiptir. FDT sonrası hedef bakteri üzerinde direnç gelişmemektedir (173, 174). FDT'nin oral cerrahide diş çekimi sonrası çekim soketine uygulandığında alveolit oluşumunu engellediği gösterilmiştir. Ayrıca operasyon yaralarının iyileşmesini hızlandırmak ve ameliyat bölgesinin dekontaminasyonu için de kullanılmaktadır (175).

2.2.7.2. FDT üzerine endodontide yapılmış olan *in vitro* çalışmalar

Rios ve ark (33), *E. faecalis* ile enfekte edilmiş çekilmiş insan dişlerinde, ışık kaynağı olarak LED lamba kullanılan FDT ve %6'lık NaOCl'nin antibakteriyel etkinliklerini değerlendirmişlerdir. İki haftalık *E. faecalis* biyofilmine karşı, NaOCl/TBO/ışık uygulaması, diğer deneysel gruplardan daha fazla antibakteriyel etki göstermiştir. Bir mL, %6'lık NaOCl ile 30 sn irrigasyonun antibakteriyel etkinliğini, TBO'nun LED bir lamba olan FotoSan ile 30 sn aktivasyonu ile elde edilen antibakteriyel etkinlikten daha fazla olduğunu bulmuşlardır. FS olarak TBO da önemli antibakteriyel etkinlik sergilemiştir ve yazarlar FDT'nin geleneksel endodontik tedavilere ilave bir antimikrobiyal işlem olma potansiyeline sahip olduğu sonucunu çıkarmışlardır.

In vitro bir çalışmada (9), KKT sırasında geleneksel ve sonik aktivasyonlu irrigasyon, FAD ve yüksek enerjili diyot lazerin antibakteriyel etkinlikleri karşılaştırılmıştır. FS olarak deneysel gruplarda TBO ve fenotiyazin klorit (Helbo Endo Blue, Grieskirchen, Avusturya) kullanılmıştır. Her iki FAD grubu ile EndoActivator'ün (Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, ABD), *E. faecalis* popülasyonunu azaltmada eşit değerlerde etkili ve yüksek güçlü diyot lazer ve geleneksel NaOCl enjektör irrigasyonundan istatistiksel olarak daha etkili olduğu bulunmuştur.

Doğal olarak enfekte olmuş insan dişlerinin çekildikten hemen sonra *ex vivo* olarak FDT ile antimikrobiyal etkisini değerlendiren bir çalışmada (128) FS olarak MB kullanılmıştır. Dişlere çekim sonrası bir grupta sadece KKT, diğer grupta ise geleneksel KKT'ye ilave olarak FDT uygulanmıştır. İlave FDT uygulanan grupta pozitif örnek gösteren diş sayısı, sadece KKT uygulanan gruba göre anlamlı derecede daha az bulgulanmıştır. Fakat dentin tübüllerinde bazı bakteriler FDT sonrası halen

varlığını devam ettirmiştir. Araştırmacılar daha uygun sonuçlar elde etmek için FDT'nin geliştirilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

Yao ve ark (123), FAD'ın etkinliğini planktonik solüsyon ve enfekte diş modellerinde *E. faecalis*'e karşı değerlendirmişlerdir. Planktonik solüsyonda farklı enerji dozlarını kullanarak FAD'ın etkisi değerlendirilmiştir. Enfekte köklerde ise test grupları olarak FAD, NaOCl ve SF kullanmışlardır. FS olarak 12,7 µg/mL tolonyum klorit kullanılmış ve 150 sn diyet bir lazerle 100 mW güç ayarında ışın uygulanmıştır. Solüsyonda enerji dozları artırıldığı zaman daha fazla bakteri ölümünün gerçekleştiğini bulmuşlardır. Diş modelinde ise en etkili grup NaOCl olmuştur. FAD ise SF'den önemli derecede daha etkili görülmüştür. 72 saat sonra bakteri üremesinde FAD ve SF grubu dezenfeksiyon öncesine dönmüştür.

FS olarak MB'yi kullandıkları bir çalışmada Foschi ve ark (131) çekilmiş insan dişlerinde FDT'nin etkisini *E. faecalis*'e karşı incelemişlerdir. Deneysel gruplarda MB'nin, ışık uygulanmadan ve ışık uygulama sonrası antibakteriyel etkinliği değerlendirilmiştir. Tedaviler sonrası en yüksek ortalama CFU sayısı sırasıyla kontrol grubu olan ışık ve MB'nin olmadığı grup, sadece MB, sadece ışık ve FDT grubu olmuştur ve FDT grubu ile diğer gruplar arasında önemli istatistiksel fark gözlenmiştir. Sadece ışık ile sadece MB grubu arasında ise anlamlı istatistiksel fark görülmemiştir. FDT'nin *E. faecalis*'e karşı önemli antibakteriyel etkinliği vurgulanmış fakat kök kanalında maksimum bakteri ölümü için optimum MB konsantrasyonu ve ışık parametrelerinin belirlenmesi sonucu çıkarılmıştır.

Fimble ve ark (135) *in vitro* çalışmalarında çekilmiş insan dişlerini *A. israelii*, *F. nucleatum*, *P. gingivalis* ve *P. intermedia* patojenleri ile enfekte etmişler ve kök kanal dezenfeksiyonunda MB'yi kök kanallarına 10 dk uygulayıp sonrasında kırmızı ışığa maruz bıraktıklarında %80 CFU azalması bulmuşlardır. Yazarlar sonuç olarak FDT'nin endodontik tedaviye ilave katkıları olduğunu bildirmişlerdir.

2.2.7.3. FDT kullanılan *in vivo* ve klinik çalışmalar

Bonsor ve ark (116), 2006 yılında *in vivo* olarak, tek köklü ve büyük azı dişler olmak üzere toplamda 64 dişin KKT'sinde FDT'yi kullanmışlardır. Grubun bir tanesinde kanallar ÇB'den 2 mm kısa döner aletler ile prepare edilmiş ve yıkanmıştır.

Tolonyum klorit solüsyonu kanalda 60 sn bekletilmiş ve 25 nolu 0,2 açılı bir el eğesi ile ajite edilmiştir. Işık kaynağının taşıma ucu çalışma boyundan 4 mm kısa yerleştirilmiş ve ışık kaynağı 100 mW güç ayarında 120 sn aktive edilmiştir. Daha sonra kanal preparasyonu ÇB'ye kadar genişletilmiştir. Mikrobiyal örnekler kanal enstrümantasyonu öncesi, FDT sonrası ve kanal preparasyonu tamamlandıktan sonra alınmıştır. Diğer grupta ise kemomekanik temizleme yapıldıktan sonra bir örnek alınmış ve sonrasında FDT uygulanıp bir örnek daha alınmıştır. Kök kanal dezenfeksiyonunda NaOCl'ye alternatif araçların kullanımı kanallarda bakteriyel yükün azalması ve eliminasyonunda daha etkili bulunmuştur.

FS olarak PEI ve ce6 konjugatı kullanılan bir çalışmada (136), FDT'nin etkisi nekrotik pulpalı ve periapikal lezyonlu dişlerde *in vivo* olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada tek köklü dişler kullanılmıştır. Mikrobiyolojik örnekler kanal preparasyonu öncesi, preparasyon sonrası ve FDT sonrası alınmış, kanallara KH ilacı gönderilmiş ve bir hafta sonra tekrardan aynı işlemler uygulanıp örneklenmiştir. Elde edilen bulgular, FDT'nin bakteriyel yükte ilave azalmalar gösterdiği ve ikinci seans uygulanan FDT'nin ilk seanstan daha etkili olduğunu göstermektedir.

FDT etkisini nekrotik pulpalı süt dişlerinde değerlendiren bir çalışmada (176), kemomekanik temizleme sonrası FAD için %0,005 mg/L MB solüsyonu kullanılmıştır. Sonuç olarak FDT, kemomekanik temizleme sonrası uygulandığında toplam bakteri sayısında ilave %15,78 bir azalma sağlamıştır. Yazarlar çocuk hastaların tedavisinin ve süt dişlerinin anatomik ve fizyolojik özelliklerinin kemomekanik temizlemeyi sınırlayabileceği düşünüldüğünde, FDT'nin düşük maliyetli olduğu ve travmatik olmadığını ve geleneksel tedaviye tamamlayıcı bir alternatif olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Garcez ve ark (137), 2010 yılında daha önce KKT uygulanmış ve başarısız olmuş 21 hastadan 30 tane tek köklü dişte FDT etkinliğini test etmişlerdir. Örnekler preparasyon öncesi, sonrası ve FDT sonrası alınmıştır. KKT sonrası 10 örnekte %100 bakteriyel eliminasyon görülmüşken, FDT ile kombinasyon sonrası tüm dişlerde bu bulgu görülmüştür. Araştırmacılar FDT'nin çoklu-ilaç dirençli bakterilere karşı etkili olduğunu bildirmişler ve kök kanal sisteminde kalan çoklu-ilaç dirençli bakterileri yok etmede etkili bir araç olduğunu ileri sürmüşlerdir.

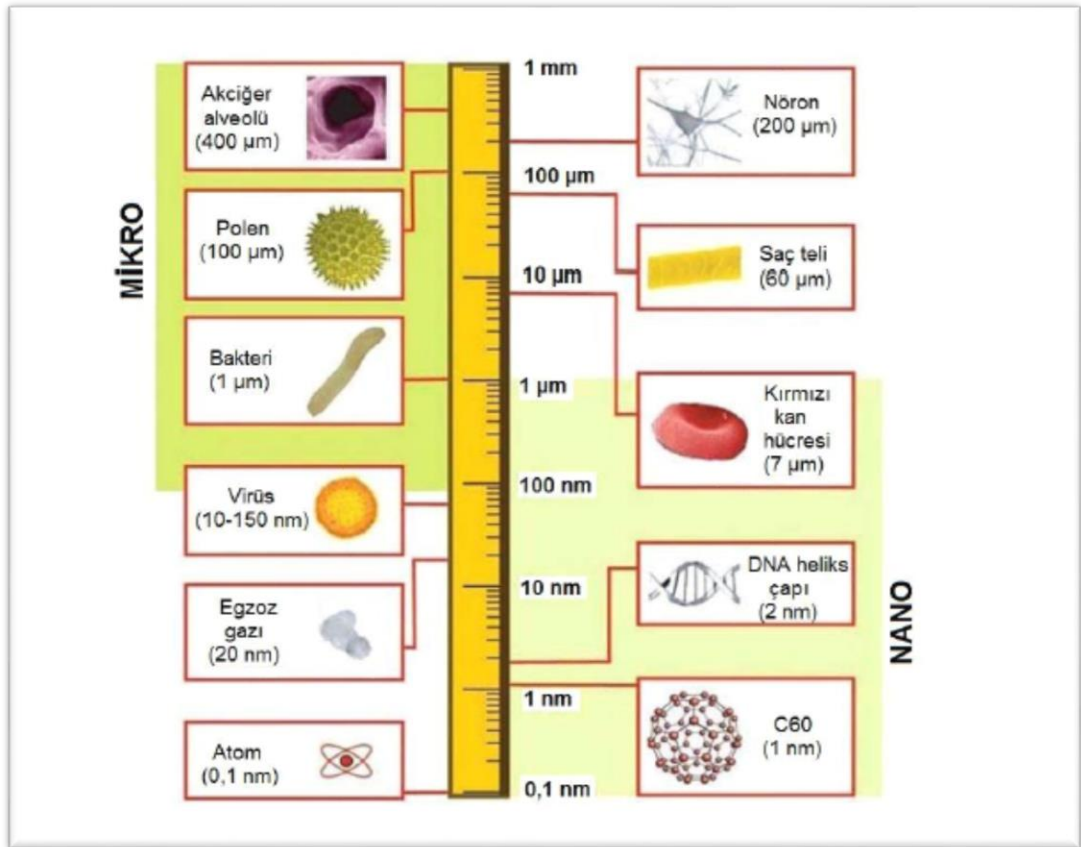
Daha önce KKT uygulanmış dişlerde FDT uygulayan diğer bir çalışmada (177), FS olarak fenotiyazin klorit kullanılmıştır. KKT sonrası 21 dişin sadece 1 tanesinde bakteri gözlenmemişken, FDT sonrası 11 dişte herhangi bir bakteriyel büyüme görülmemiştir.

FAD kullanarak periapikal lezyonların iyileşmesi klinik ve radyografik olarak da değerlendirilmiştir (121). Periapikal lezyonlu dişlerde kök kanal dezenfektanı olarak FDT, üçlü antibiyotik patı ve KH kullanılmıştır. FDT grubunda %0,01'lik tolonyum klorit kullanılmıştır. Onsekiz aylık takip sonucunda FAD grubu kök kanal dezenfektanı olarak en etkili bulunmuştur ve periapikal lezyonların iyileşmesini desteklemiştir.

2.3. Nanoteknoloji ve nanopartiküller

2.3.1. Tanım

'Nano', Yunanca nan(n)os kelimesinden türemiştir ve 'cüce' anlamına gelmektedir. "Nano" terimi, bir şeyin bir milyarda biri anlamına gelir ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$). "Nanoteknoloji", "nanobilim" gibi başında "nano" öneki bulunan terimler "nanometre" teriminden gelmektedir. Temel olarak nanometre diğer ölçü birimleri gibi bir ölçü birimidir. Bir nanometre içine yan yana ancak 2-3 atom dizilebilmekte ve yaklaşık 100-1000 atom bir araya gelerek nano ölçeklerde bir nesneyi oluşturmaktadır (178-180).



Şekil 7. Karbon 60 (fulleren) nanopartikülünün logaritmik olarak uzunluk ölçüleri ile gösterilerek nano ve mikro boyutlardaki biyolojik bileşenlerle karşılaştırılması (181). [Boran'dan (182)]

Nanoteknoloji ise ölçek olarak 100 nm'den daha küçük materyallerin tasarımını, üretimini, montajını, karakterizasyonunu ve bu materyallerden elde edilmiş olan minyatür fonksiyonel sistemlerin uygulamalarının incelenmesini ve hızlı biçimde gelişen disiplinler arası araştırma-geliştirme faaliyetlerini temsil etmektedir (183). Çeşitli kimyasal ve fiziksel metotlar kullanarak 0,1 ile 100 nm boyutları arasında değişen fonksiyonel materyaller ve yapıların molekül mühendisliği ile üretimidir. Nanoteknoloji kavramı, maddenin moleküler atomik düzeylerde kontrolünü ifade etmektedir (184).

Nanoteknolojide en fazla araştırılmış olan konulardan birisi NP'lerdir (180). NP'ler, 100 nm'den küçük boyutlara sahiptirler ve elektron tutucu etkisi, geçici mıknatıslık özelliği, yüzey plazmon rezonansı gibi boyutlarına özgül özelliklere sahip

bileşiklerdir. Bu özelliklerinden dolayı biyolojik sistemlere entegrasyonları kolaydır (185). Prizma, çubuk, küp, iğne şeklinde farklı morfolojiye sahip koloidal yapılardır (186). Boyutlarından dolayı NP'ler elektronik, optik, manyetik, yapısal ve mekanik özellikler bakımından farklılık gösterirler. Farklılığın sebebi yüksek yüzey-hacim oranları ve nano boyutlarda ortaya çıkan kuantum alan etkileridir (187).

2.3.2. Nanoteknolojinin tarihçesi

Nanoteknolojinin başlangıcı kabul edilen tarih, 29 Aralık 1959'da Nobel ödüllü Fizikçi Richard Feynman'ın Amerikan Fizik Cemiyetinin yıllık toplantısında yaptığı 'Aşağıda Daha Çok Yer Var' isimli konuşmasında nanoteknolojide yapılabilen olaylardan bahsetmesidir. Bu konuşmasında atomların ve moleküllerin çok hassas aletlerle yönlendirilmesine ve çok küçük boyutlarda işlemler yapılabilmesine değinmiştir. Bu tarihi konuşmasında Feynman özetle, "Vurgulamak istediğim şey, bir şeyleri küçük ölçekte manipüle ve kontrol etmektir" demiştir (178, 183).

"Nanoteknoloji genel olarak, maddelerin bir atomla veya bir moleküle ayrılma, birleştirilme, şekil bozulma ve sağlamlaştırılma işlemidir" tanımı ile kelime olarak nanoteknoloji kavramını 1974 yılında ilk olarak kullanmış olan kişi Japon bilim adamı Norio Taniguchi'dir (188).

Nanoteknolojide devrim meydana getiren 'Taramalı Tünelleme Mikroskobu' 1981'de geliştirilmiş ve atomların tek tek görüntülenmesine olanak sağlanmıştır. Nano yapıların ölçümü için gerekli olan AFM 1986'da bulunmuştur. Aynı yıl Drexler tarafından ilk defa nanoteknoloji organizasyonu 'Foresight' kurulmuştur. Drexler, 1988'de, üniversitede ilk nanoteknoloji dersini veren kişi olmuştur. 'Nanotechnology' dergisi 1989'da yayına başlamıştır. Sumio Iijima, 1991'de karbon nanotüpü bulmuştur. NASA 1996 yılında, nanoteknoloji üzerinde çalışmaya başlamıştır. İlk nanoteknoloji şirketi Zynex 1997'de kurulmuştur. Nanomekanik sistemler için ilk merkez ise 2004 yılında kurulmuştur. (183, 189).

Nanoteknolojiye ilgi artan şekilde devam etmektedir ve Tıp ve Diş Hekimliğinde uygulama alanları genişlemektedir.

2.3.3. Nanoteknolojinin uygulama alanları

Nanoteknoloji, diğer bilim dalları ile devamlı etkileşim ve onlarla birlikte gelişim göstermektedir. Özellikle 21. yüzyılda yenilikçi teknolojiler ile nanoteknolojinin gelişimi stratejik bir değer kazanmaktadır (190). Bilim insanları daha kaliteli bir yaşam için bu teknolojiyi birçok alanda uygulamaya başlamışlardır (183). Şekil 8’de nanoteknolojinin günümüzde başlıca kullanım alanları gösterilmiştir.

Uygulama Alanı	Örnek
Enerji üretimi, dönüşümü ve depolanması	<ul style="list-style-type: none">• Karbon nanotüplere dayalı yeni hidrojen depolama sistemleri ve diğer hafif malzemeler• Fotovoltaik hücreler ve organik ışık yayan cihazlar• Güneş pillerindeki kompozit film kaplamaları için karbon nano tüpler• Hidrojen üretimi için nano katalizörler• Membranlar
Tarımsal verimlilik	<ul style="list-style-type: none">• Çiftlik hayvanları için besinlerde ve ilaçlarda, bitkiler için gübrelerde ve verimli sulamada kullanılan nanoporoz zeolitler• Zararlı ot öldürücü ilaçların taşınmasında nanokapsüller• Bitki sağlığı ve toprak kalitesini izlemede kullanılan nano sensörler• Toprağın temizlenmesinde kullanılan nano magnetler
Su arıtma	<ul style="list-style-type: none">• Suyun temizlenmesinde kullanılan nanomembranlar• Patojenlerin ve kirliliğin tespitinde kullanılan nanosensörler• Suyun temizlenmesinde kullanılan nanoporoz zeolitler ve polimerler• Su arıtımında kullanılan manyetik nanopartiküller

	<ul style="list-style-type: none"> • Su kirleticilerin katalitik indirgenmesinde kullanılan TiO₂ nanopartiküller
Tıbbi teşhis	<ul style="list-style-type: none"> • Nanoliter sistemler • Karbon nanotüplere dayanan nanosensörler • Nanosensörlerde kullanılan manyetik partiküller • HIV-1 ve kanser teşhisinde kullanılan antikör-dendrimer bağlayıcılar • Teşhiste kullanılan nanokablolar ve nanosensörler • Görüntü almayı hızlandıran nanopartiküller
İlaç taşıyıcı sistemler	<ul style="list-style-type: none"> • Yavaş ve sürdürülebilir ilaç dağıtım sistemleri için nanokapsüller, lipozomlar, dendrimerler, bucky küreleri, nanobiyo magnetler
Gıda	<ul style="list-style-type: none"> • Paketlemede kullanılan plastik filmler için nanokompozitler • Temizlikte kullanılmak üzere antibakteriyel nano emülsiyonlar • Patojen tespitinde kullanılan nanoteknoloji biyosensörler
Hava kirliliği	<ul style="list-style-type: none"> • Otomatik temizleme sistemlerinde hava kirleticilerinin fotokatalitik indirgenmesinde kullanılan TiO₂ nanopartiküller • Daha verimli katalitik konverterler için nanokatalizörler • Toksik maddelerin ve kaçakların tespitinde nanosensörler • Gaz ayırmada kullanılan nano cihazlar
Yapı ve inşaat	<ul style="list-style-type: none"> • Asfalt ve betonu sızıntı suyuna karşı daha dayanıklı hale getiren nanomoleküler yapılar • Ultraviyole ve kızılötesi ışınları bloke eden ısıya karşı dayanıklı nano malzemeler • Kaplamalar, yalıtım malzemeleri ve yüzeyler için nanomalzemeler • Kendi yüzeyini temizleyebileyen biyoaktif kaplamalar
Tıbbi Sensörler	<ul style="list-style-type: none"> • Kolesterol, CO₂ ve glikoz sensörlerinde nanotüpler, homeostazi görüntüleme

Zirai mücadele	<ul style="list-style-type: none">• Haşere tespitinde nanosensörler, zirai ilaçlarda nanopartiküller
----------------	--

Şekil 8. Günümüzde nanoteknolojinin başlıca kullanım alanları (191) [Şen'den (190)].

2.3.4. Nanoteknolojinin yararları ve avantajları

Nanoteknoloji ile atom ve moleküler düzeyde çalışarak tamamen yeni, fiziksel, kimyasal, biyolojik özelliklere sahip gelişmiş yapıların elde edilmesi mümkündür. Boyut olarak 100 nm'nin altında geleneksel teori ve modeller yetersiz kalmaktadır. Nanoteknoloji bu safhada devreye girmekte ve daha sağlam, daha kaliteli, daha uzun ömürlü, daha ucuz, daha hafif ve daha küçük cihazlar üretilmektedir (189).

Nanoteknoloji tasarruf demektir. Daha az maliyet ile daha çok üretim sağlanabilir. Nanoteknolojik enerji kaynaklarından elde edilen tasarruf ile enerji maliyetleri düşürülebilir. Nanoteknoloji ile üretim süreçleri kısaltılarak zaman ve maliyet kaybı önlenir ve rekabet gücü artırılabilir. Ürün kalitesi yükseltilebilir. Nanoteknolojik ürünler ile insanların yaşam standartı ve kalitesi yükseltilebilir, daha sağlıklı ve daha güvenli bir yaşam sunulur. Nanoteknoloji, ulusal gelir düzeyinin yükselmesinde önemli bir rol üstlenir (183).

2.3.5. Nanoteknolojinin diş hekimliğinde uygulama alanları

Nano diş hekimliği, nanoyapıda materyaller kullanarak ağız ve diş hastalıklarının teşhisi, tedavisi ve önlenmesinin, ağrının azaltılmasının, diş sağlığının korunmasının ve geliştirilmesinin bilimi ve teknolojisi olarak tanımlanmaktadır. Bu kapsama nanoölçek özelliklere bağlı olarak değişen implantlardan oral hijyen ürünlerine kadar bir çok yeni ürün girmektedir (192). Nano diş hekimliği nanorobotları, nanodiagnozu ve nanomateryalleri kapsamaktadır.

Nanoyapıların elde edilmesinde 3 farklı yöntem ve yaklaşım bulunmaktadır; aşağıdan yukarı, yukarıdan aşağı ve fonksiyonel. Aşağıdan yukarı yaklaşımda küçük bileşenler daha karmaşık yapılar içerisinde düzenlenmektedir. Nanogözenekler, nanotüpler, kuantum noktaları, lipozomlar, nanoçubuklar, nanoküreler, nanoteller,

nanokapsüller, dendrimerler, nanokabuklar diş hekimliğinde kullanım alanı bulmaktadır. Yukarıdan aşağı yaklaşımda nanoölçekli yapıların üretimi için daha büyükleri kullanılır (193).

Restoratif materyallere NP teknolojisinin uygulanması kompozit rezinlerdeki en son yeniliklerden biridir. Nanoteknoloji, nanoboyutlu doldurucu partiküllerin üretilmesini ve bu sayede de daha büyük miktarda doldurucunun kompozit rezin matrikse eklenmesine olanak sağlamıştır (194). Cilalama sonrası düz yüzeyli kompozitlerin elde edilmesine izin vererek materyalin estetik özelliklerini artırmış, materyale şekillendirme kolaylığı sunmuş ve abrazyona yüksek direnç özelliği kazandırmıştır (195).

Dağılıbilir NP'ler ile oluşturulan ve daha sonra bonding ajanında bir bileşen olarak kullanılan nanosolusyonlar (nanoadezivler), dentine ve mineye bağlanma dayanımını artırmış, yüksek gerilim absorpsiyonu sağlamıştır (196).

Geleneksel polivinilsiloksan ölçü maddeleri nanodoldurucular ile birleştirilmiş ve materyalin akıcılığında artma, daha fazla hidrofilik özellikler ve üstün detay hassaslığı gibi özelliklerle özgün bir materyal üretilmiştir (196). Yapay protez dişler, nanoboyutlarda inorganik doldurucular ile iyi cilalanabilme, renklenmeye karşı direnç artışı, canlı estetik görünüm, iyi yüzey sertliği ve aşınma direnci kazanmışlardır (193).

Nanodiagnoz aygıtlar hastalıkların erken teşhisi için hücresel düzeyde kullanılabilir. Nanotıp, insan sıvıları veya doku örneklerini toplamak ve subsellüler seviyede çoklu analizler yapmak için selektif nanoaygıtlar kullanarak, *in vitro* teşhislerin etkinliğini ve güvenilirliğini artırabilmektedir (197).

Gelecekte nanoteknolojinin diş hekimliğinde daha yaygın olarak kullanılacak gelişmeler olması beklenmektedir. Planlanan hedefler şunlardır; lokal anestezi induksiyonunda mikron boyutlarda dental robotları içeren milyonlarca aktif analjezili koloidal bir süspansiyonun hastanın diş etine damlatılması ve nanorobotların diş eti oluşuna hareketi ve ağrı duyulmadan istenilen yere yönlendirilmesi ile anestezinin sağlanması; dişeti, periodontal ligament, sement ve alveol kemiğinden oluşan periodontal dokuların ortodontik robotlarla yönlendirilmesi; lokal organik materyalleri kullanan nanorobotlar yardımıyla hızlı ve stabil şekilde dentin tübüllerinin kapatılması

sonucu dentin hipersensivitesinin tedavi edilebilmesi; dişlerin renatüralizasyonu ile doğal dentisyondan ayırt edilemez yapıların oluşturulması; dental implant yüzeylerinde nano boyutlu partiküller oluşturularak osteoblast proliferasyonunun indüklenmesi ve artmış implant yüzey alanı sağlanması; ağız kanserlerinin teşhis ve tedavi edilmesinde yeni metotların gelişimi (184, 196, 198, 199).

Diş Hekimliğinin farklı alanlarında nanoteknolojide bu gelişmeler oluyor iken Endodontide de son dönemlerde kitosan ve çinko oksit gibi NP'lerin *E. faecalis* 'e karşı güçlü antibakteriyel aktivite sergilediği bildirilmiştir (200, 201). Aynı zamanda AgNP'ler de son endodontik araştırmalarda sıkça incelenmeye başlanmış ve araştırmacıların odaklandığı bir kanal içi dezenfeksiyon ajanı olmuştur ve endodontik amaçlı umut verici bir dezenfektan olarak hizmet edebileceği düşünülmektedir (60, 202).

2.3.6. Gümüşün özellikleri ve antimikrobiyal etkileri

Gümüş, Latince argentum kelimesinden gelmekte olup, simgesi Ag olan, beyaz, parlak bir elementtir. Atom numarası 107,87 gr, ergime noktası 967,93 °C, kaynama noktası 2212 °C ve özgül ağırlığı 10,5 g/cm³'tür. Bileşiklerinin çoğunda +1 değerlidir.

Yüzyıllardan beridir yanıkların ve kronik yaraların tedavisinde kullanılmaktadır (203). Ag'nin antibakteriyel özellikleri Ag miktarı ve salınan Ag oranı ile ilintilidir. Metalik halde inerttir ama derideki nem ve yaralardaki sıvılarla reaksiyona geçmekte ve iyonize duruma gelmektedir. İyonize Ag oldukça reaktiftir ve doku proteinlerine bağlanmakta, bakteri hücre duvarı ve nükleer membranda yapısal değişiklikler meydana getirerek hücrenin bozulması ve ölümüne yol açmaktadır. Aynı zamanda bakteriyel replikasyonu denatüre ve inhibe ederek DNA ve RNA'yı da bağlamaktadır (204).

2.3.7. Gümüş nanopartiküller

AgNP genel olarak en az bir boyutta 1-100 nm boyutlara sahiptirler. Partikül boyutu düştüğü zaman AgNP'nin yüzey alanı-hacim oranı önemli ölçüde yükselmektedir, bu da fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinde önemli

değişikliklere sebep olmaktadır. Boyut (yüzey alanı), şekil, yüzey yükü, çözünme hızı, kaplama ve yığılımı, biyolojik etkileşimlerini ve etkilerini belirlemek için özellikle önemlidir. Daha küçük partiküller daha geniş yüzey alanına sahiptirler ve bu yüzden toksik potansiyelleri daha fazladır (205, 206) .

Ag nano yapıların şeklinin, fiziksel ve kimyasal özelliklerini anlamlı ölçüde etkileyebildikleri iyi bilinmektedir. Biyomedikal alanda sıklıkla kullanılan Ag nano yapılar; küre AgNP'ler, nanoteller, nanoçubuklar, nanoplakalar ve nanoküplerdir (207). Son zamanlarda AgNP'ler, antibakteriyel, antifungal, antiviral ve anti-inflamatuar aktivitelerinden dolayı biyomedikal uygulamalarda giderek artan bir popüleriteye sahip olmuştur (206). Yaraların pansumanında, kardiyovasküler implantlarda, kateterlerde, dental materyallerde, biyodiagnozda, kanserlerin tedavisinde, kontakt lenslerin kaplanmasında AgNP'ler kullanılmaktadır (206).

AgNP'ler, diğer tuzlar ile karşılaştırıldığında MO'lar ile daha iyi temas sağlamasına neden olan oldukça yüksek yüzey alanına sahip olduğundan dolayı etkili antimikrobiyal etkinlik gösterirler. Hücre membranına tutunmakta ve bakteriyeye penetre olmaktadır. Respirator zincir ve hücre bölünmesini etkilemesi sonucu hücre ölümü meydana gelmektedir. AgNP'ler bakteri hücresinde Ag iyonu salmaktadırlar bu da bakterisidal aktivitelerini artırmaktadır (203).

Toksisitesiyle ilgili olarak hastaların AgNP'ye maruz kalma yollarında deri teması, oral uygulama, inhalasyon ve kan dolaşımı gibi farklı şekiller vardır. İnsan vücudunda AgNP ile ilk karşılaşan hücreler makrofajlardır (208). AgNP'nin toksisitesi çoğunlukla salınan Ag iyonlarıyla ilintilidir ve en fazla etkilenen organlar karaciğer, dalak, akciğer ve böbreklerdir. Toksikolojisiyle ilgili çok sayıda çalışma olsa da kesin bir hüküm bulunmamaktadır. Hayvan modelleri ile karşılaştırıldığında hücresel seviyedeki toksisitesi oldukça azdır (209, 210)

2.3.7.1. AgNP'lerin dış hekimliğinde kullanımı

Ag'nin proteinlerin sülfidril grubu ve DNA ile etkileşime girdiği, hidrojen bağlanmasını, respirator süreci, hücre duvarı sentezini ve hücre bölünmesini değiştirdiği ve makro seviyede bu etkileşimlerin bakteriyel ölümü etkili şekilde

sağladığı bildirilmiştir (211). AgNP'lerin geniş kapsamlı antibakteriyel, antiviral, antifungal etkilerinden diş hekimliğinde faydalanılmaktadır.

AgNP, dental materyallere marjinal aralık ve materyal yüzeylerinde karyojenik bakteriyel kolonizasyon ile mücadele etmek için dahil edilmiştir. Kompozitlere ve ortodontik braketlere eklendiği zaman, *S. mutans* ve *Laktobacillus spp.* dahil çok sayıda bakteri türüne antibakteriyel etkiler sergilediği görülmüştür (212, 213). Ag içeren rezin kompozitler Ag iyonu salınımını devam ettirdiğinden dolayı uzun süreli antibakteriyel etkiye sahiptirler. Ag içeren bir dental kompozitin *S. mutans* büyümesini 6 ay boyunca inhibe ettiği gösterilmiştir (214, 215).

Ag solüsyonu özellikle de Ag diamin florid, çürük önleyici olarak kullanılmıştır. Bu bağlamda, florid ve Ag, florapatit oluşturmak için sinerjik olarak etkileşime girmektedir. İlk etapta ortamda kalsiyum florid ve Ag fosfatın oluşumu meydana gelmekte ikinci aşamada ise kalsiyum ve floridin sıralı ayrılması olmaktadır (216). Ag partiküller aynı zamanda kalsiyum silikat simanların yeterli radyoopasitesini sağlamak ve radyopasifiyer ajanların saflığını değerlendirmek için alternatif bir radyopasifiyer olarak da kullanılmıştır (217).

2.3.7.2. AgNP üzerine endodontide yapılmış olan çalışmalar

Endodontide nanoölçekte üretilen materyaller, farklı kimyasal ve fiziksel özelliklerinden dolayı kullanılmaktadır. Son zamanlarda kitosan ve çinko oksit gibi NP'lerin *E. faecalis*'e karşı güçlü antibakteriyel etkinlik sergiledikleri bildirilmiştir (200, 201). AgNP'lerin de farklı endodontik bakteri türlerine karşı antibakteriyel olduğu gösterilmiştir (60, 218). AgNP'lerin antimikrobiyal ajan olarak kullanımı giderek artmaktadır çünkü altın, çinko, bakır ve magnezyum NP'lerden daha etkilidirler (203). Bunun yanı sıra antibakteriyel AgNP'lere karşı bakterilerin direnç geliştirme kapasiteleri yoktur. Bundan dolayı endodontide umut verici dezenfektan olarak görev yapabilir (219).

E. faecalis ile enfekte kök dentinlerinde AgNP solüsyonunun ve AgNP jelinin antibakteriyel etkinliğini değerlendirdikleri çalışmalarında Wu ve ark (60), %0,1'lik AgNP solüsyonunu %2'lik NaOCl ve SF ile %0,01 ve %0,02 konsantrasyonda AgNP jelini ise KH ve SF ile karşılaştırmışlardır. %0,1'lik AgNP solüsyonu ile irrigasyon *E. faecalis* biyofilm yapısını bozamamış ve biyofilm bakterisinde anlamlı derecede bir

ölüm gerçekleştirmemiştir. Medikaman olarak %0,02'lik AgNP jelin kullanılması *E. faecalis* biyofilm yapısının önemli ölçüde bozulmasını ve bakterinin ölümünü sağlamıştır.

Abbaszadegan ve ark (219), planktonik *E. faecalis*'e karşı farklı yüklerdeki AgNP'nin (pozitif, negatif ve nötral) antibakteriyel etkinliğini %2,5'lik NaOCl ve %0,2'lik KHG ile karşılaştırmışlardır. Pozitif yüklü iyonik likit korumalı AgNP kullanımının *E. faecalis*'e karşı etkili olduğunu ve NaOCl ve KHG kıyasla *in vitro* L929 fibroblast hücrelerine karşı anlamlı derecede daha az sitotoksik olduğunu bulmuşlardır. Çalışma, $5,7 \times 10^{-8}$ ve $5,7 \times 10^{-10}$ mol/l konsantrasyonlarda pozitif yüklü AgNP'nin planktonik süspansiyonda 5 dk sonra *E. faecalis*'in büyümesini tam olarak önlediğini, 20 dk ekspozürde $5,7 \times 10^{-11}$ ve $5,7 \times 10^{-12}$ mol/L'de *E. faecalis*'i öldürdüğünü göstermiştir.

AgNP'ler kanal içi ilaç olarak KH'ye eklenerek de kullanılmış ve KH'nin tek başına kullanımı ile *E. faecalis*'e karşı antibakteriyel etkileri karşılaştırılmıştır (220). *E. faecalis* ile enfekte edilen kök kanallarında medikamanlar 1 gün ve 1 hafta bekletilmiştir. Her iki test süresinde de KH/AgNP grubu sadece KH grubundan anlamlı derecede daha fazla CFU sayısı azalması sergilemiştir.

2.3.8. FDT ile nanopartiküllerin beraber kullanıldığı çalışmalar

NP'ler, FS içeren farklı antibakteriyel ajanların taşınmasında kullanılabilir. Metal veya polimer esaslı nanopartiküller, şu an kullanılan endodontik dezenfeksiyon metotlarını geliştirmek için değerlendirilmektedir (7). Nano boyutlu cam boncuklara veya altınlara FS'lerin (RB veya TBO) kaplanması veya yüzey eklenmesi, antibakteriyel özelliklerinin önemli derecede artmasını sağlamıştır (7).

Titanyum oksit, çinko oksit ve deriveleri gibi bazı NP'ler singlet oksijen üretebilirler. Aynı zamanda FS molekülünün NP'ler ile kombine edilebilmesi, NP'lerde kapsüle edilmemiş fotosensitize moleküllere göre bir takım avantajlara sahip olmasını sağlamıştır. Bunlar (221);

- a) Hücreleri parçalayan reaktif oksijen türlerinin üretilmesi için daha geniş bir kütle
- b) İlaç molekülünü dışarı pompalamak için hedef hücrelerin yeteneğini kısıtlama, böylece çoklu ilaç direnci olasılığının azalması
- c) Pasif hedefleme veya NP'nin yüklü yüzeyi yoluyla aktif hedefleme ile başarılabilen lokalize taşıma ajanları ile tedavinin seçiciliği
- d) NP matriksi immünolojik değildir.

Pagonis ve ark (65), MB yüklü PLGA NP'lerinin *E. faecalis*'e karşı etkilerini süspansiyonda ve enfekte kök kanallarında değerlendirmişlerdir. Deneysel gruplar kontrol grubunu, MB yüklü PLGA NP grubunu ve MB PLGA NP/Işık uygulama grubu kapsamıştır. MB yüklü PLGA NP grubu hem planktonik süspansiyonda hem de kök kanal biyofilminde *E. faecalis*'e karşı anlamlı derecede daha etkili olmuştur. Yazarların sonucu, PLGA NP'lerin fotoaktif ilaçlar ile kapsüllenmesinin antimikrobiyal endodontik tedavide umut verici bir destek olabileceğidir.

Bir biyoaktif polimer olan kitosan NP'leri de FDT ile kombine kullanılmıştır. Kitosan, serbest amin ve hidrosil grupları sebebiyle diğer reaktif moleküllerle konjugasyon için çekici bir materyaldir. Bu değişken polimer, değişik farmotik ve biyomedikal uygulamalar için nanoformlara sentezlenebilmektedir (7). Kitosanın FDT ile birlikte kullanımı, FDT'nin antibakteriyel etkisini önemli ölçüde artırmaktadır. Bu etki, kitosanın membran stabilitesini bozması, permeabilitesini artırması ve daha sonra da singlet oksijenin bakteri hücrelerinde etkisinin artmasına atfedilmiştir. Bir FS olan RB'nin serbest karboksil grupları kitosan NP'lerin amin grubu ile kimyasal bağ yapmaktadır (222).

RB fonksiyonlu kitosan NP'lerin dentinde çoklu tür biyofilmde (*P. intermedia*, *A. naeslundii* ve *S. oralis*) antibakteriyel etkisi değerlendirilmiştir (223). Bu güncel FS fonksiyonlu biyoaktif NP'ler bakteri hücre membranına artan afinite sergilemiş, biyofilm yapısına daha fazla penetre olmuş ve bakterilerin eliminasyonunda daha etkili olmuştur.

FDT ve kitosan NP'nin dentin kollageninin stabilitesi üzerine *in vitro* etkisi de incelenmiştir (224). Kitosan NP ve FDT kombinasyonu, *in vitro* bakteriyel kollajenaz aktivitesini engellemiştir. Kitosan NP'nin kollajenaz inhibitör özelliği ve kitosan

NP'ler ile infiltre edildiği zaman FDT'nin kollajen fibrillere bağlanma yeteneği ile bu kombine yaklaşım demineralize kök kanal dentininin yapısal bütünlüğünü artırmıştır.

Bu çalışmada çekilmiş insan dişlerinde deneysel oluşturulan 3 haftalık olgun *E. faecalis* biyofilmi üzerine fotosensitizan bir ajan olan Toluidin Mavisi O (TBO) ve bir nanoajan olan gümüş nanopartikül (AgNP) kombinasyonuna ışık uygulanmasının antibakteriyel etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlandı. Sıfır hipotez, TBO ile AgNP arasındaki kombinasyona ışık uygulama işleminin antibakteriyel etkinliklerinde artmaya yol aacağıdır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada, stabilize edilmiş Ag iyon nanopartikülleri ile FDT'nin kök kanal dezenfeksiyonundaki etkilerinin araştırılması amaçlandı. Öncelikle, hangi derişimde oluşturulan grupların optimal antimikrobiyal etki sergilediğini tespit etmek için değişik derişimlerde mikrobiyal testler yapıldı. Elde edilen verilere göre gruplar oluşturuldu.

Tüm deney çalışmaları Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Fen Fakültesi Kimya Bölümü ve Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Elektron Mikroskopisi Laboratuvarlarında yapıldı. Çalışma öncesi, çalışma protokolü Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na sunuldu ve 01.04.2015 tarihli, 70904504 sayılı 147 karar nolu etik onay raporu alındı (Ek 1).

3.1. Ön çalışma ve bulguları

Deneysel olarak enfekte edilen çekilmiş diş köklerinde deneysel protokoller gerçekleştirilmeden önce çalışmada kullanılacak olan TBO, AgNP, bunların birlikte kullanımının ve bu kombinasyonun fotoaktivasyonunun hangi derişimlerde en uygun etkiyi sağladığını tespit etmek amacıyla ön çalışmalar gerçekleştirildi.

3.1.1. AgNP'nin sentezi ve karakterizasyonu

AgNP'nin sentezi için 0,21 gr Ag nitrat (Merck, Darmstadt, Almanya) alındı ve 20,79 gr distile su içerisinde çözüldükten sonra 44,8 gr distile su ilave edilerek seyreltildi. Bu seyreltilmiş Ag nitrat çözeltilisine polivinilpirolidonun (Sigma–Aldrich, St. Louis, ABD) ağırlıkça %10'luk sulu çözeltilisinden 0,68 gr eklendi. Aynı bir kaptaki 0,1568 gr potasyum bromür (Sigma-Aldrich) 66,52 gr distile su içerisinde tamamen çözümlenerek karıştırılırken polivinilpirolidon içeren Ag çözeltilisine damla damla ilave edildi ve elde edilen karışım oda sıcaklığında 5 saat karıştırıldı. Bu karışımındaki Ag derişimi 1000 ppm olup bundan sonraki denemelerdeki çözeltilerin hazırlanmasında kullanıldı. Sonraki denemelerde istenilen AgNP çözeltilerin hazırlanması 1000 ppm AgNP çözeltilisinin sterilize edilmiş distile su ile seyreltilmesiyle yapıldı.

3.1.2. AgNP'lerin antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi

Antibakteriyel etkinlik testleri *E. faecalis* (ATCC 29212)'e karşı gerçekleştirildi. AgNP'lerin antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi için 1000 ppm'lik AgNP çözeltisi steril su ile 200 ppm'e seyreltildi. Ayrıca, AgNP ile karşılaştırma amacıyla Ag nitrat suda çözülerek 200 ppm'lik Ag⁺ içeren çözelti de hazırlandı. Daha sonra Tablo 1'de belirtilen bileşenler ve miktarlar sırasıyla eklenerek test çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan test karışımlardaki Ag derişimi 10 ppm olup bakteri yoğunluğu ise 1x10⁵ CFU/mL idi. Bakteri yoğunluğu, daha önceden belirlenmiş olan bir tez çalışmasından (225) *E. faecalis* için bakteriyel popülasyon artış eğrisi baz alınarak hesaplandı. *E. faecalis* (ATCC 29212) suşundan tek koloni ekimi yaptıktan sonra 24 saat boyunca 37± 2 °C'de inkübasyona bırakıldı. Ardından elde edilen kültür ortamından 100 µL alınarak 50 mL sıvı besiyeri içeren erlene aktarılarak *E. faecalis* bakterisi için popülasyon artışının maksimum olduğu süre olarak belirtilen 5^{1/2} saat boyunca çalkalayıcı inkübatörde 37 ± 2 °C'de inkübe edildi. FDT'de kullanılacak sistemlerin belirlenmesi için yapılan çalışmalarda ışık uygulama işlemi LED bir cihaz (FotoSan; CMS Dental, Kopenhag, Danimarka) yardımıyla gerçekleştirildi. Sistemlerde kullanılan besiyeri karışımı ise %1,8 laktoz broth (Merck) ve %0,5 glukoz (Merck) içeren steril sulu çözeltiydi. Işık uygulaması 30 sn süresince yapıldı ve ışık uygulama sonrasında %1,8 broth, %0,5 glukoz ve %1,7 agar (Merck) içeren petri kutularına 100 µL ekim yapıldı (10 kat seyreltme). Işık uygulanmayan sistemlerde ise test çözeltileri hazırlandıktan 30 sn sonra yine 100 µL alınarak hazırlanan besiyerine ekildi.

Tablo 1. AgNP ve Ag⁺ antibakteriyel test çözeltilerinin içeriği.

	10 ppm AgNP	10 ppm Ag ⁺
200 ppm AgNP çözeltisi	50 µl	-
200 ppm Ag ⁺ çözeltisi	-	50 µl
Steril su	600 µl	600 µl
Besiyeri karışımı	250 µl	250 µl
1x10 ⁵ CFU/ mL <i>E. faecalis</i> çözeltisi	100 µl	100 µl

Tablo 2. AgNP ve Ag⁺ antibakteriyel test çözeltileri ile yapılan denemelerdeki bakteri azalma oranları (%).

Işık Uygulama	Bakteri Yükünde Azalma Miktarı	
	10 ppm AgNP	10 ppm Ag ⁺
(-)	%12	%18
(+)	%51 [log0,31]	%31 [log0,16]

Tablo 2’de görüldüğü gibi ışınlama olmadan yapılan testlerde AgNP’nin antibakteriyel etkinliği Ag iyonlarına kıyasla yaklaşık %6 oranında daha düşüktü. Fakat 30 sn süreyle ışınlama sonrasında ise AgNP antibakteriyel etkinliği %20 daha yüksekti. Bu durumun açıklanması için daha kapsamlı araştırma yapılması gerekmektedir.

3.1.3. AgNP ile TBO kombinasyonu ve antibakteriyel etkinlikleri

FDT etkinliğinin artması için TBO ile AgNP ile kombine edildiğinde farklı derişimlerde AgNP ve TBO içeren test çözeltileri Tablo 3’de belirtildiği gibi hazırlandı. Tabloda belirtilen 50 ppm AgNP + 165 ppm TBO çözeltisi 200 ppm AgNP ve 330 ppm TBO sulu çözeltilerinden elde edildi ve daha sonra bundan istenilen derişimde AgNP ve TBO içeren test çözeltileri hazırlandı. AgNP ve TBO içermeyen test çözeltisi kontrol olarak alındı. Otuz sn ışık uygulama veya ışık uygulama olmadan 30 sn bekletildikten sonra test çözeltilerindeki bakteri yoğunluğundaki azalma incelendi. Bu denemelerin sonucu Tablo 4’de verildi.

Tablo 3. Değişik oranlarda AgNP ve TBO içeren test çözeltilerinin içerikleri.

	50 ppm TBO + 5 ppm AgNP	50 ppm TBO + 10 ppm AgNP	20 ppm TBO + 6 ppm AgNP	50 ppm TBO	20 ppm TBO	Kontrol
50 ppm AgNP + 165 ppm TBO çözeltisi	100 µl	200 µl	120 µl	-	-	-
333 ppm TBO çözeltisi	-	-	-	150 µl	-	-
100 ppm TBO çözeltisi	335 µl	170 µl	-	-	200 µl	-
Steril su	215 µl	280 µl	530 µl	500 µl	450 µl	650 µl
Besiyeri	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl
1×10^5 CFU/ mL <i>E. faecalis</i> çözeltisi	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl

Test MO'su olan *E. faecalis*'in kullanılan kırmızı ışık kaynağından etkilenmesi az olduğundan dolayı kontrol grubunda herhangi önemli bir azalma görülmemektedir. 20 ve 50 ppm TBO içeren test çözeltileri ışık uygulama olmadığında bakteri sayısında azalma meydana gelmiyorken, 30 sn ışınlama sonrasında derişim artışıyla pozitif korelasyonlu bakteri sayısındaki azalma miktarı yükselmektedir (20 ppm'de %98,2 ve 50 ppm'de %99,3 azalma). Elli ppm TBO çözeltisine 5 ppm'lik AgNP ilave edildiğinde bakteri yükündeki azalma miktarı (%96,3) yalnız 50 ppm TBO içerenin azalma miktarı (%99,3) ile karşılaştırıldığında düşüş göstermektedir. Fakat AgNP derişimi 10 ppm'e çıkarıldığında bu azalma oranı (%99,5) tekrar 50 ppm'lik

TBO'kenden daha büyük gerçekleşmektedir. Bakteri yükündeki en fazla azalma ise 20 ppm TBO ve 6 ppm AgNP içeren test çözeltilisinde görülmüştür.

Tablo 4. Tablo 3'de belirtilen test çözeltililerindeki bakteri yükü azalma miktarları.

Işık Uygulama	Bakteri Yükündeki Azalma Miktarı					
	50 ppm TBO + 5 ppm AgNP	50 ppm TBO + 10 ppm AgNP	20 ppm TBO + 6 ppm AgNP	50 ppm TBO	20 ppm TBO	Kontrol
(-)	%42,3	%51,0	%40,6	<%1	<%1	<%1
(+)	%96,3 [log1,43]	%99,5 [log2,30]	%99,7 [log2,52]	%99,3 [log2,15]	%98,2 [log1,74]	<%1

Tablo 4'de gösterilen sonuçlar temelinde en uygun AgNP ve TBO derişimlerini tespit etmek için 20 ppm TBO içeren test çözeltililerindeki AgNP derişimleri Tablo 5'de verildiği gibi 5, 10 ve 20 ppm olacak şekilde ayarlanmıştır.

Tablo 5. Farklı oranlarda AgNP içeren 20 ppm TBO çözeltilerinin içerikleri.

	20 ppm TBO + 5 ppm AgNP	20 ppm TBO + 10 ppm AgNP	20 ppm TBO + 20 ppm AgNP	Kontrol
50 ppm AgNP çözeltisi	100 µl	200 µl	400 µl	-
100 ppm TBO çözeltisi	200 µl	200 µl	200 µl	-
Steril su	350 µl	250 µl	50 µl	650 µl
Besiyer	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl
1×10^5 CFU/mL <i>E. faecalis</i> çözeltisi	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl

Tablo 6. Tablo 5’de belirtilen test çözeltilerindeki bakteri yükü azalma miktarları.

Işık Uygulama	Bakteri Yükündeki Azalma Miktarı			
	20 ppm TBO + 5 ppm AgNP	20 ppm TBO + 10 ppm AgNP	20 ppm TBO + 20 ppm AgNP	Kontrol
(-)	%42,3	%25,6 [log0,13]	%40,8	<%1
(+)	%99,7 [log2,52]	%99,9 [log3]	%91 [log1,05]	<%1

20 ppm’lik TBO çözeltisindeki AgNP derişimi 5 ppm’den 10 ppm’e çıkarıldığında bakteri yükündeki azalma miktarı %99,7’den % 99,9’a çıkmaktadır. AgNP derişimi 20 ppm yapıldığında ise bu azalma %91’e düşmektedir. Kontrol numunesinde ise beklenildiği üzere herhangi bir azalma görülmemektedir. Yapılan ön denemelerde en yüksek azalma miktarı 20 ppm TBO + 10 ppm AgNP ile elde edildiğinden bundan sonraki çalışmalara bu oranlar ile devam dilmesine karar verilmiştir.

3.2. Diş örneklerin seçimi ve hazırlanması

Bu çalışmada 130 adet yeni çekilmiş, kök gelişimi tamamlanmış, tek köklü ve düz kanallı alt çene küçük azı dişleri kullanıldı. Çekim endikasyonu periodontal ve ortodontik nedenlerle olan dişler çalışmaya dâhil edildi. Dişlerin istenilen anatomik yapılaraya sahip olup olmadıkları anlamak için mesiodistal ve bukkolingual yönlerden dijital radyografileri alındı ve tek kanala sahip oldukları doğrulandı. Dişlerin seçiminde, endodontik tedavi görmemiş olması ve kök çürüğü bulunmaması dikkate alındı. Kök yüzeylerinden periodontal yumuşak doku küretler yardımıyla uzaklaştırıldı. Çekimden sonra deney aşamasına kadar tüm örnekler timol solüsyonu içerisinde bekletildi.

Dişlerin kök boyları standart bir uzunluk elde etmek amacıyla su soğutması altında 016 nolu elmas fissür frezler (Komet, Rock Hill, SC, ABD) ile kesilerek 13 mm'ye ayarlandı. Bu standart uzunluk tüm örnekler için kök kanal şekillendirilmesi ve dezenfeksiyon stratejilerinin benzer şartlarda uygulanmasına izin vermiştir. Kök kanallarının ÇB tespitinde bir 10 nolu K-tipi eğe (MicroMega, Besançon, Fransa) kök ucuna kadar ilerletilip, kök ucundan çıktığı nokta görüldüğü değerden 1 mm çıkartılarak hesaplandı. Kök kanal preparasyonları ProTaper Universal (Dentsply Maillefer, Ballagues, İsviçre) NiTi döner eğeler ile üretici firma talimatları doğrultusunda, crown-down preparasyonu tekniği kullanılarak gerçekleştirildi. SX, S1, S2, F1, F2, F3 ve F4 eğeleri sıra ile önerilen hız ve tork ayarlarında kullanıldı. Şekillendirme esnasında kanallar her eğe değişimi sonrası 27G uç çapına sahip 2,5 mL'lik standart enjektörler (Genject; Genject A.Ş., Ankara, Türkiye) yardımıyla 2,5 mL %2,5'lik NaOCl (ACE, Fater Temizlik Ürünleri Ltd. Şti, Kocaeli, Türkiye) ile yıkandı. Son yıkama 5 mL %17'lik EDTA (2 dk) (Calasept EDTA; Nordiska Dental, Ängelholm, İsveç), 2 mL %2,5'lik NaOCl ve 5 mL SF kullanılarak yapıldı. Dişler 5 gün boyunca artık NaOCl'yi uzaklaştırmak için SF içerisinde bekletildi. Kanallar ProTaper F4 kâğıt konlar (Dentsply Maillefer) ile kurutuldu. Her dişin apikal forameni bakteri sızıntısı ve irrigan taşmasını önlemek için ışık ile sertleşen akıcı kompozit rezin (Clearfil Majesty Flow; Kuraray Noritake Dental Inc., Okayama, Japonya) ile kapatıldı. Dişlerin kök yüzlerine iki kat tırnak cilası sürüldü. Daha sonra örnekler etilen oksitte bekletilerek steril edildi. Sterilizasyon sonrası, 5 örnek smear tabakası ve

bakteri varlığının tam olarak uzaklaştırılıp uzaklaştırılmadığını SEM ile doğrulamak için rastgele olarak seçildi.

3.3. Kültür elde edilmesi ve kök kanal kontaminasyonu

Bu çalışmadaki tüm mikrobiyolojik işlemler aseptik koşullar altında, bir laminar flow kabininde gerçekleştirildi. Çalışmada test bakterisi olarak, Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarından temin edilen ATCC'ye kayıtlı standart suşlardan *E. faecalis* (ATCC 29212) suşu kullanıldı. *E. faecalis* dondurulmuş stoklarından alındı. Kültürler, triptikaz soy agar içeren besiyerlerinde subkültüre edilerek devam ettirildi ve suşun ekimi kanlı agara yapıldı. 37 °C'de mikro aerofilik ortamda 24 saat inkübe edilerek kültürleri hazırlandı. Hücre sayıları optik yoğunluklarına bakılarak besi ortamının mL'sinde 10^8 hücre içerecek şekilde bir spektrometre cihazında (Varian Cary 5000 Bio UV-Vis spektrofotometre, Varian, ABD) ayarlandı (Resim 1).



Resim 1. Çalışmada kullanılan spektrofotometre cihazı

Yüz yirmi beş dişin her biri 1,5 mL'lik steril Eppendorf tüplere transfer edildi. İnsülin iğneleri yardımıyla 10^8 *E. faecalis* içeren 1 mL BH broth (Merck) prepare edilmiş olan kök kanallarına enjekte edildikten sonra her örnek tamamen BH broth'a gömüldü (65). Tüpler, kapaklı flakon kutularına yerleştirildi (Resim 2) ve etüvde 37

°C’de 21 gün boyunca, *E. faecalis* biyofilm oluşumu için inkübe edildi. Her tüpteki besi ortamı 3 günde bir yenilendi. İnkübasyon periyodundan sonra tüplerdeki medyum aseptik olarak aspire edildi, kök kanallarındaki artık ortam kâğıt konlar ile uzaklaştırıldı.



Resim 2. Kapaklı flakon kutuları içerisine yerleştirilmiş Eppendorf tüpleri

3.4. Fotosensitizan ve ışık kaynağı

Deneyisel işlemlerde ışık kaynağı olarak LED bir cihaz (FotoSan) kullanıldı. Bu sistemin çıkış gücü $2000-4000 \text{ mW/cm}^2$, dalga boyu spektrumu 620 ile 640 nm arasındadır. Sistemde FS ajan olarak 0,1 mg/mL konsantrasyonunda TBO bulunmasına rağmen yukarıda anlatılan ön çalışma bulgularına bağlı olarak 0,02 mg/mL TBO kullanıldı.

3.5. SEM preparasyonu ve incelemesi

E. faecalis biyofilmi oluşumunu doğrulamak için 5 örnek SEM ile incelendi. Örneklerden rastgele 5 diş seçildi, köklerin yüzeylerinde kanala ulaşmayacak şekilde yüksek hızlı elmas bir frez (Komet, Rock Hill, SC, ABD) ile sığ, longitudinal oluklar açıldı. Sonrasında geniş bir siman spatülü ile köklerin bu oluklar sayesinde ikiye ayrılması sağlandı. Örnekler biyofilme bağlı olmayan hücreleri uzaklaştırmak için SF

ile yıkandı, %10'luk formalin içerisinde 24 saat fikse edildi ve artan etanol konsantrasyonlarında (%50, 70, 90 ve 100 iki kez) 20'şer dk inkübe edildi. Gece boyu oda ısısında havada kuruması sağlandı. Daha sonra SEM'in alüminyum tablacıklarına monte edildi ve vakum altında 300 Å altın palladyum alaşımı ile kaplandı ve SEM (Zeiss Leo 1430 SEM, Oberkochen, Almanya) altında 15kV'de incelendi. SEM görüntüleri apikal, orta ve koroner üçlüde ve kırık yüzeyinde alındı.



Resim 3. (A) Alüminyum tablacıklara yerleştirilen diş örnekleri. (B) Altın palladyum kaplaması gerçekleştirilmiş diş örnekleri. (C) SEM incelemesi için SEM tablacıklarına yerleştirilen diş örnekleri

3.6. Deneysel işlemler

Geri kalan 120 diş örneği rastgele olarak 5 ana deney grubuna ayrıldı ($n = 20$). Sonrasında bu ana gruplar 2 alt gruba ayrıldı ($n = 10$).

Grup 1A: 0,02 (20 ppm) mg/mL konsantrasyonlarda TBO kök kanallarına enjekte edildi ve 15 nolu K-tipi bir el eğesi (MicroMega) ile ajite edildi. Kök kanallarında 1 dk boyunca bırakıldı ve sonrasında FotoSan'ın ışık taşıma sistemi olan 0,5 mm'lik uç yardımıyla 30 sn aktive edildi. Uç, tüm gruplarda apeksten 4 mm kısa yerleştirildi.

Grup 1B: Grup 1A'daki işlemlerin aynısı yapıldı fakat 30 sn aradan sonra ilave bir 30 sn ışık uygulaması gerçekleştirildi. Toplamda 60 sn'lik ışık uygulama süresi uygulandı.

Grup 2A: 10 ppm AgNP solüsyonu kök kanallarına enjekte edildi ve 15 nolu bir el eğesi ile ajite edildikten sonra kanallarda 30 sn bırakıldı.

Grup 2B: 10 ppm AgNP solüsyonu kök kanallarına enjekte edildi ve 15 nolu bir el eğesi ile ajite edildikten sonra kanallarda 60 sn bırakıldı.

Grup 3A: 20 ppm TBO ve 10 ppm AgNP karışımının homojen dağılımı sağlandı. Daha sonrasında kök kanallarına yerleştirildi ve 30 sn bekletildi.

Grup 3B: Grup 3A işlemleri 60 sn gerçekleştirildi.

Grup 4A: 10 ppm AgNP solüsyonu kanallara gönderildikten sonra 30 sn ışık uygulaması gerçekleştirildi.

Grup 4B: 10 ppm AgNP kanallara gönderildikten sonra 60 sn ışık uygulaması gerçekleştirildi.

Grup 5A: 10 ppm AgNP ve 20 ppm TBO karışımı kanallara gönderildi ve 1 dk boyunca kök kanal sistemlerine dağılımı için beklendi ve sonrasında 30 sn boyunca ışık uygulandı.

Grup 5B: 10 ppm AgNP ve 20 ppm TBO karışımı kanallara gönderildi ve 1 dk boyunca kök kanal sistemlerine dağılımı için beklendi ve sonrasında 60 sn boyunca ışık uygulandı.

Geri kalan 20 tane diş, pozitif ve negatif kontrol gruplarını oluşturdu. Pozitif kontrolde 2 mL %2,5'lik NaOCl ile örnekler ($n = 10$) 1 dk boyunca yıkandı. Kanalda kalan NaOCl'yi inaktive etmek için pozitif kontrol grubu dişleri 5 mL %5'lik sodyum tiyosülfat ile 1 dk irriga edildi (64). Negatif kontrolde ise örnekler ($n = 10$) 2 mL %0,9'luk SF solüsyonu ile 1 dk süre ile yıkandı.

3.7. Mikrobiyolojik değerlendirme

Bütün deneysel ve kontrol gruplarında mikrobiyolojik değerlendirme, tedavi rejimleri uygulanmadan önce ve uygulandıktan hemen sonra yapıldı. Tedavi rejimlerinden sonra ajanları uzaklaştırmak için kök kanalları 1 mL SF ile yıkandı. Örneklem işlemlerinde Souza ve ark (122) kullanmış oldukları yöntemde olduğu gibi kök kanalları SF ile dolduruldu ve örnekler üç tane steril kâğıt konun sıra ile kullanımı ile alındı. Bu üç tane kâğıt kon, CFU'yu hesaplamak için kombine edildi. Kâğıt konlar kök kanallarında çalışma boyunda 1 dk bekletildi. Tedavi sonrası mikrobiyolojik

örnekleme için kâğıt konların yerleşimi öncesi kök kanallarında 25 nolu bir H-tipi kanal eğesi ile çevresel eğeleme gerçekleştirildi (9). Bu işlem biyofilmin bozulmasını ve biyofilm içerisinde kalarak kâğıt konlar ile ulaşamayan bakterilerin de eldesine olanak sağlamak için yapıldı. Kağıt konlar 10 mL steril BH broth içeren deney tüplerine transfer edildi. Şayet MO miktarı sayılamayacak kadar fazla ise bu deney tüpünden 1 mL alınarak 9 mL BH broth içeren diğer bir deney tüpüne aktararak ilk deney tüpünün 10 kat dilüe olması sağlandı. 10 kat seri dilüsyonlardan sonra 0,1 mL alikotlar kanlı agara ekildi, 37 °C’de 24 saat inkübe edildi. CFU sayıldı ve bilinen dilüsyon faktörleri temelinde gerçek sayıları belirlendi.

3.8. İstatistiksel değerlendirme

Bulguların istatistiksel analizi SPSS (SPSS Inc., Chicago, ABD) bilgisayar programı kullanılarak yapılmıştır. CFU’lar sayılarak elde edilen verilerde tedavi sonrası azalma yüzdeleri logaritmik (\log_{10}) azalmaya dönüştürülmüştür ve istatistiksel değerlendirme \log_{10} azalma değerinden gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın verilerinin istatistiksel değerlendirilmesinde Kolmogorov Smirnov, Oneway ANOVA ve Tukey HSD testleri kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık olarak Bonferroni düzeltmesi sonrası $P < 0.004$ değeri kabul edilmiştir.

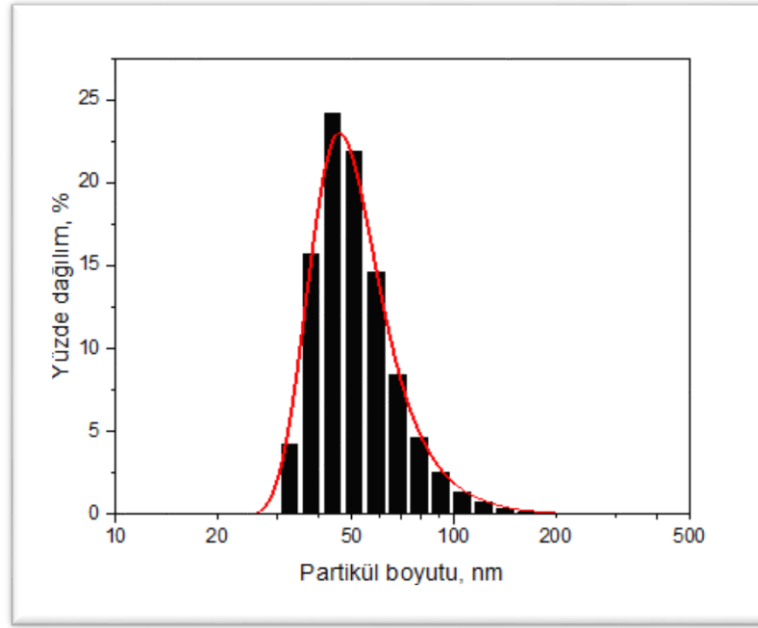
4. BULGULAR

4.1. Nanopartiküllerin karakterizasyonu

Sentezlenen AgNP'lerin boyut dağılımları DLS (dynamic light scattering) prensibine dayalı olarak çalışan Malvern Zetasizer Nano series Nano-ZS (Şekil 9) cihazı ile ölçüldü. Yapılan ölçümlere göre sentezlenen partiküllerin ortalama büyüklüğü 52 nm olup partikül boyutunun sayıca dağılımı Şekil 10'da verildiği gibidir.

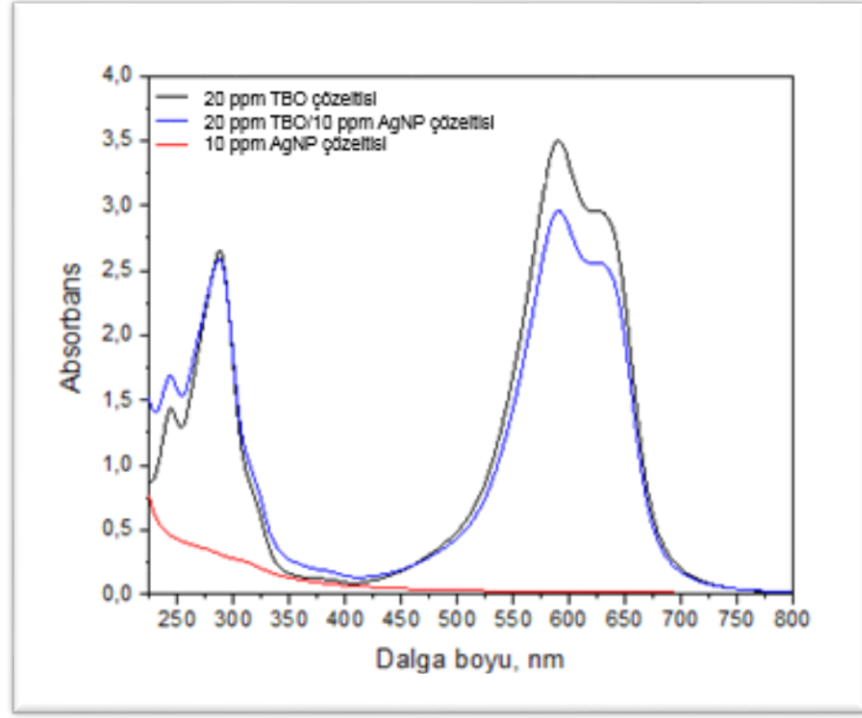


Şekil 9. Malvern Zetasizer Nano series Nano-ZS cihazı



Şekil 10. AgNP boyutunun sayıca dağılımı.

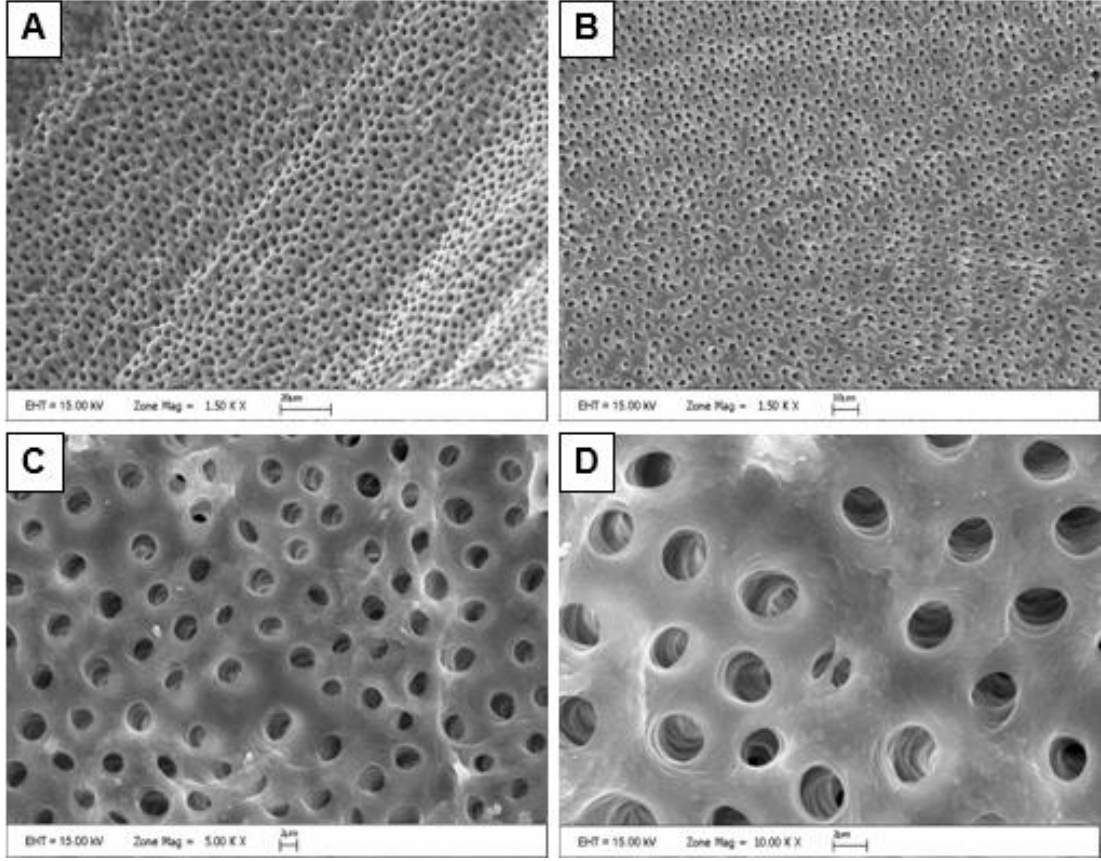
Sentezlenen AgNP'lerin TBO absorpsiyonuna etkisi UV-Vis spektroskopisi ile incelendi. Şekil 11'deki 20 ppm TBO, 20 ppm TBO + 10 ppm AgNP ve 10 ppm AgNP çözeltilerinin UV-Vis spektrumları incelendiğinde sadece AgNP içeren çözeltinin görünür bölgede herhangi bir absorpsiyon yapmadığı görülmektedir. TBO ise yaklaşık 600 nm'de maksimum absorpsiyon yapmaktadır. TBO çözeltisine AgNP ilave edilmesi bu maksimum absorpsiyon yerini değiştirmemektedir.



Şekil 11. 20 ppm TBO, 20 ppm TBO + 10 ppm AgNP ve 10 ppm AgNP çözeltilerine ait UV-Vis spektrumları

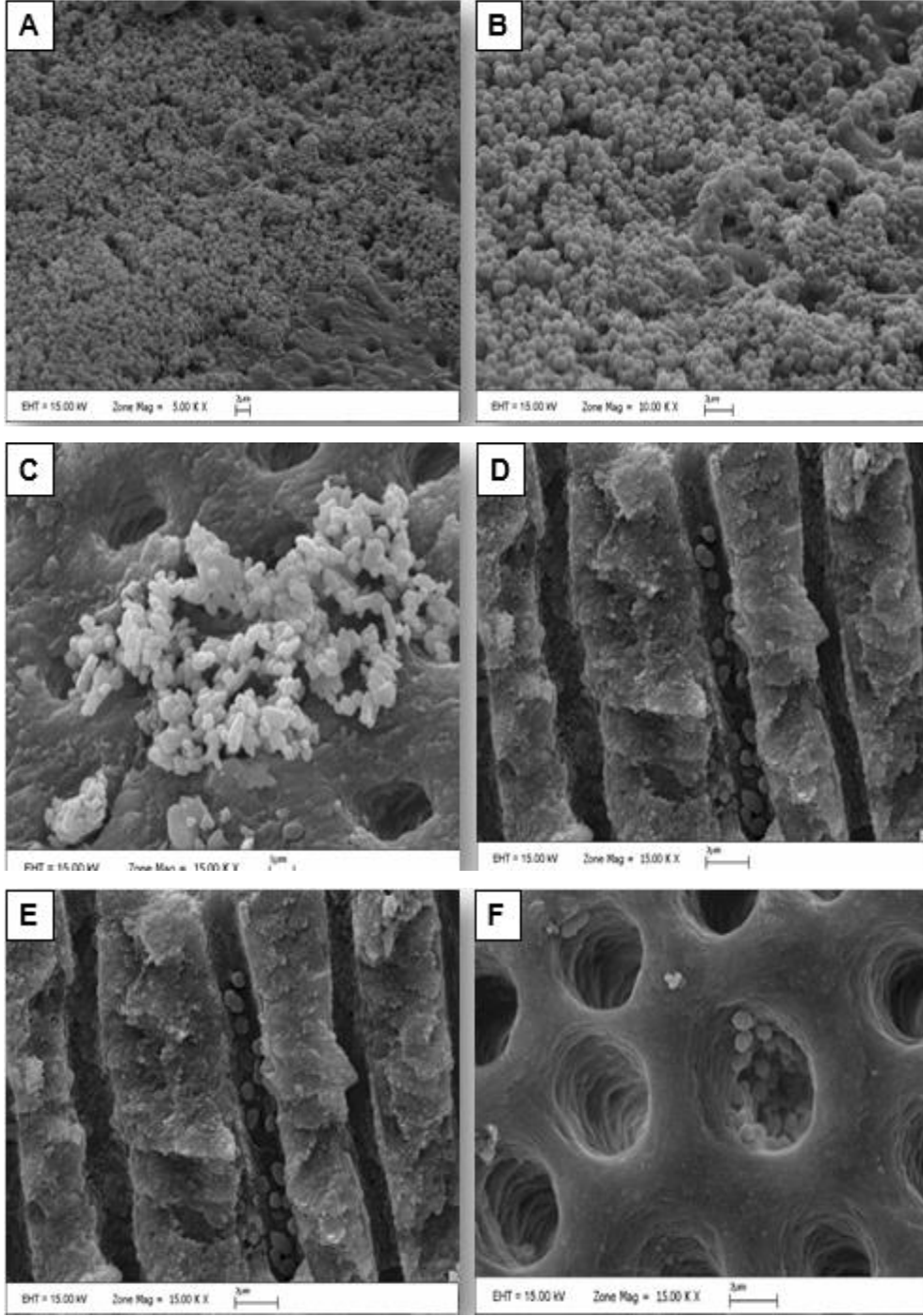
4.2. Kök örneklerinin SEM analizleri ve CFU değerleri

Kök örneklerinin preparasyonu sonrası kanal sistemleri *E. faecalis* ile kontamine edilmeden önce smear tabakası ve bakterinin tam olarak uzaklaştırıldığını doğrulamak için incelenen SEM görüntüleri açık dentin tübülleri ile temiz dentin yüzeylerini göstermiştir (Şekil 12).



Şekil 12. Prepare edilmiş ve smear tabakasının tamamen uzaklaştırıldığı kök örneklerinden *E. faecalis* ile kontamine edilmeden önce alınan SEM örnekleri. (A ve B) X1500, (C) X5000 ve (D) X10000 büyütme.

Tedavi protokolleri uygulanmadan önce SEM görüntüleri 21 günlük olgun biyofilmin varlığını doğrulamıştır (Şekil 13). Kök kanal duvarları *E. faecalis* hücreleri ile yoğun şekilde kolonizeydi. Bazı bölgelerde hücreler biyofilmlerde organize idi ve dentin tübüllerine penetre oldukları görüldü.



Şekil 13. 21 günlük *E. Faecalis* kolonilerinin SEM mikrografileri. (A) X5000, (B) X10000 ve (C,D,E ve F) X15000 büyütme.

Kök kanal duvarlarının etkili kolonizasyonu yüksek S1 CFU sayıları (Şekil 15-21) ile de doğrulanmıştır. Tedavi protokolleri uygulandıktan sonra tüm alt gruptaki ortalama CFU azalma yüzdesi, her alt gruptaki örneklerde en az ve en fazla CFU azalma yüzdesi ile standart sapma değerleri Tablo 7’de listelenmiştir. CFU’lar

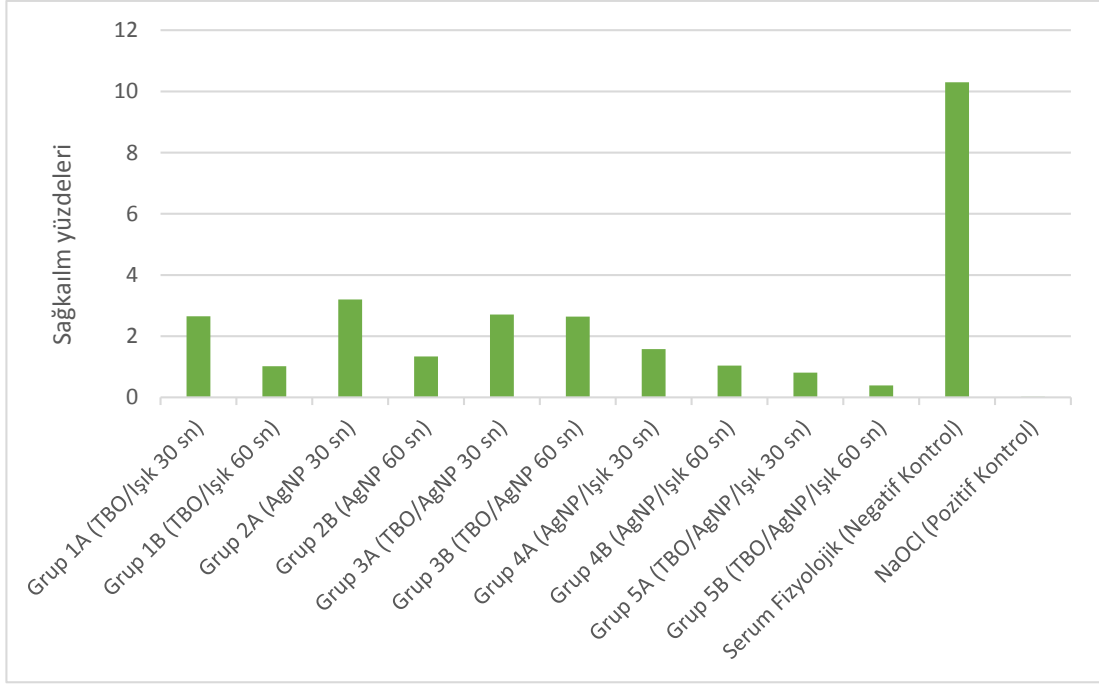
sayılarak elde edilen verilerde tedavi sonrası azalma yüzdelerinin logaritmik (\log_{10}) azalmaya dönüştürüldükten sonraki ortalama log azalması, her alt gruptaki en az ve en fazla azalma değeri ile standart sapma değerleri Tablo 8’de listelenmiştir. Tedaviler sonrası sağ kalım yüzdeleri ise Şekil 14’te gösterilmiştir.

Tablo 7. Tedaviler sonrası grupların ortalama azalma yüzdeleri, minimum ve maksimum azalma yüzdeleri değerleri.

GRUPLAR	N	Ortalama Azalma Yüzdesi	Standart Sapma	Standart Hata	Minimum	Maksimum
Grup 1A (TBO/IŞIK 30 sn)	10	97,3497	1,56311	,49430	94,13	98,92
Grup 1B (TBO/Işık 60 sn)	10	98,9826	,51857	,16399	97,72	99,49
Grup 2A (AgNP 30 sn)	10	96,8089	1,84541	,58357	94,20	99,80
Grup 2B (AgNP 60 sn)	10	98,6580	,88039	,27840	97,00	99,58
Grup 3A (TBO/AgNP 30 sn)	10	97,2871	2,35320	,74415	92,15	99,88
Grup 3B (TBO/AgNP 60 sn)	10	97,3602	4,40490	1,39295	85,31	99,84
Grup 4A (AgNP/Işık 30 sn)	10	98,4154	,73758	,23324	96,94	99,26
Grup 4B (AgNP/Işık 60 sn)	10	98,9637	,90885	,28740	97,16	99,68
Grup 5A (TBO/AgNP/Işık 30 sn)	10	99,1853	,34758	,10991	98,71	99,84
Grup 5B (TBO/AgNP/Işık 60 sn)	10	99,6140	,52295	,16537	98,18	99,99
Pozitif Kontrol (NaOCl)	10	99,9815	,03294	,01042	99,89	100,00
Negatif Kontrol (Serum Fizyolojik)	10	89,7093	4,49532	1,42155	80,63	96,05

Tablo 8. CFU'lar sayılarak elde edilen verilerde tedavi sonrası azalma yüzdelerinin logaritmik (\log_{10}) azalmaya dönüştürüldükten sonraki ortalama log azalması, her alt gruptaki en az ve en fazla azalma değeri ile standart sapma değerleri. Üst harfler istatistiksel olarak diğer gruplarla olan farkları göstermektedir.

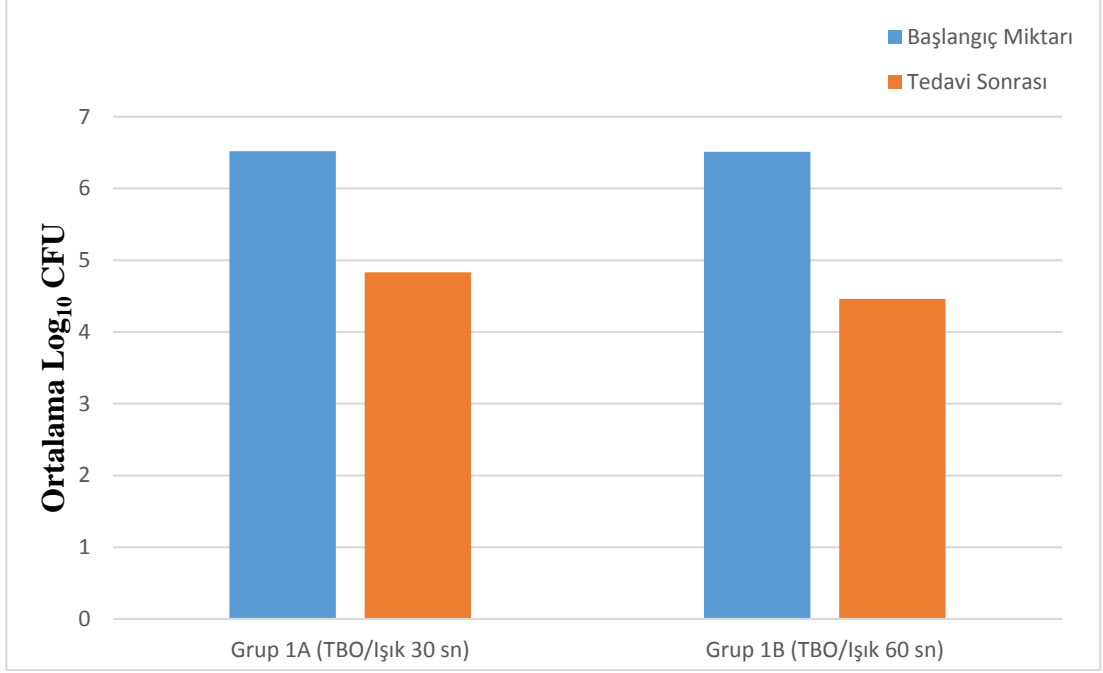
GRUPLAR	N	Ortalama Log Azalması	Standart Sapma	Standart Hata	Minimum	Maksimum
Grup 1A ^(a) (TBO/Işık 30 sn)	10	1,6365 ^{k,j}	,23464	,07420	1,23	1,97
Grup 1B ^(b) (TBO/Işık 60 sn)	10	2,0339 ^{k,m}	,19240	,06084	1,64	2,29
Grup 2A ^(c) (AgNP 30 sn)	10	1,6195 ^{j,k}	,43416	,13729	1,24	2,71
Grup 2B ^(d) (AgNP 60 sn)	10	1,9599 ^{k,m}	,29959	,09474	1,52	2,38
Grup 3A ^(e) (TBO/AgNP 30 sn)	10	1,8020 ^{j,k}	,58783	,18589	1,11	2,94
Grup 3B ^(f) (TBO/AgNP 60 sn)	10	1,9356 ^{k,m}	,55996	,17707	0,83	2,80
Grup 4A ^(g) (AgNP/Işık 30 sn)	10	1,8402 ^{j,k}	,19584	,06193	1,51	2,13
Grup 4B ^(h) (AgNP/Işık 60 sn)	10	2,1019 ^{k,m}	,31585	,09988	1,55	2,49
Grup 5A ⁽ⁱ⁾ (TBO/AgNP/Işık 30 sn)	10	2,1458 ^{k,m}	,26992	,08536	1,89	2,80
Grup 5B ^(j) (TBO/AgNP/Işık 60 sn)	10	2,7166 ^{a,c,e,g,k,m}	,60527	,19140	1,74	3,85
NaOCl ^(k) (Pozitif Kontrol)	10	4,2911 ^{a,b,c,d,e,f,g,h,i,j,m}	,96253	,30438	2,95	6,00
Serum Fizyolojik ^(m) (Negatif Kontrol)	10	1,0271	,20099	0,6356	,71	1,40



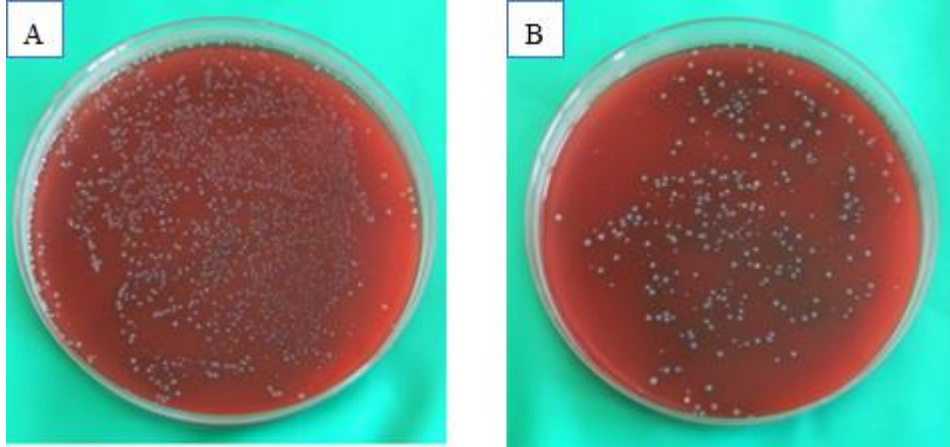
Şekil 14. Tedaviler sonrası sağ kalım yüzdeleri

4.2.1. Grup 1 (FDT=TBO/Işık)

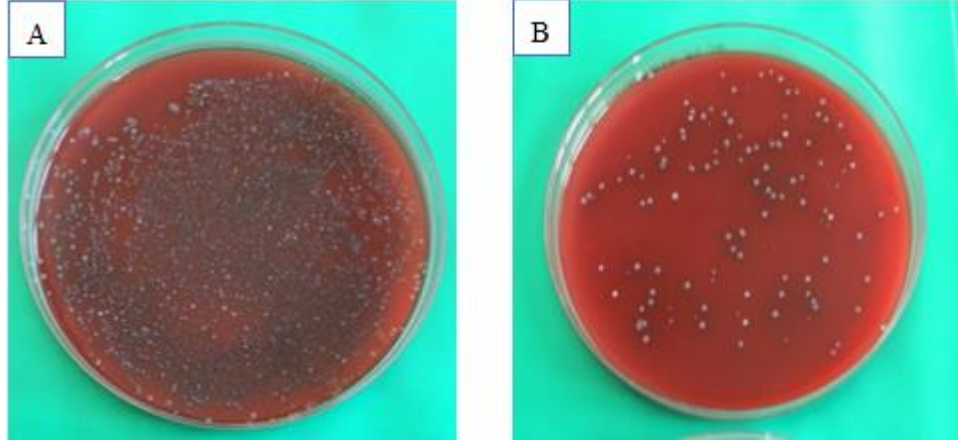
Grup 1 örneklerinin tedavi öncesi ve sonrası ortalama \log_{10} CFU değerleri Şekil 15'te gösterildi. FDT sonrası örneklerde bakteri azalma yüzdelerinin ortalamaları 30 sn tedavi uygulanan Grup 1A için 97,35 ve 60 sn ışık uygulanan grup 1B için ise 98,98 idi (Tablo 7). Log azalma değerlerinin ortalaması ise grup 1A için 1,64 ve Grup 1B için 2,03 idi (Tablo 8). Işınlama sonrası log azalma değerlerinin istatistiksel değerlendirilmesine göre Grup 1A, pozitif kontrol grubu ve Grup 5B'den anlamlı derecede daha az etkinlik gösterdi ($p < 0,004$). Diğer gruplarla arasında istatistiksel bir fark görülmedi ($p > 0,004$). 60 sn ışınlama sonrası etkinlikte ise negatif kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede etkili bulunmuşken pozitif kontrol grubundan daha az etkili bulundu ($p < 0,004$). Diğer gruplar ile arasında bir fark bulunmadı ($p > 0,004$). Grup 1A'da ve grup 1B'de rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan *E. faecalis* kolonilerinin görüntüsü sırası ile Resim 4 ve 5'te gösterildi.



Şekil 15. Grup 1 örneklerinin tedavi öncesi ve sonrası ortalama log₁₀ CFU değerleri



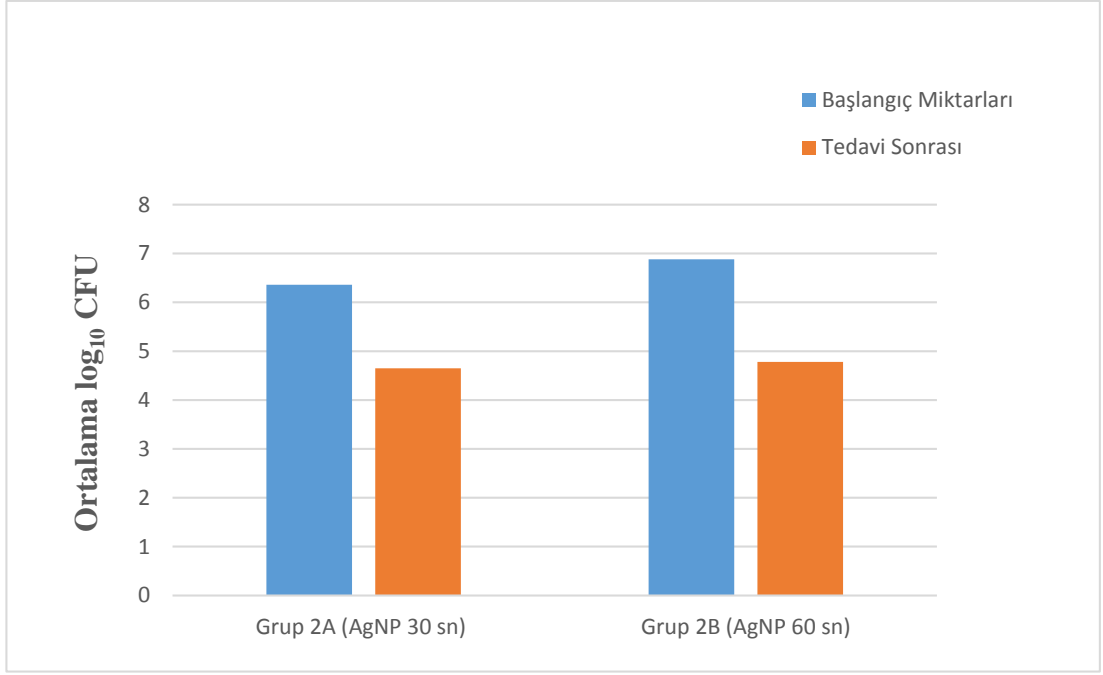
Resim 4. Grup 1A'da rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan *E. faecalis* kolonilerinin görüntüsü. (A) tedavi öncesi (1000 kat seyreltme), (B) tedavi sonrası (100 kat seyreltme).



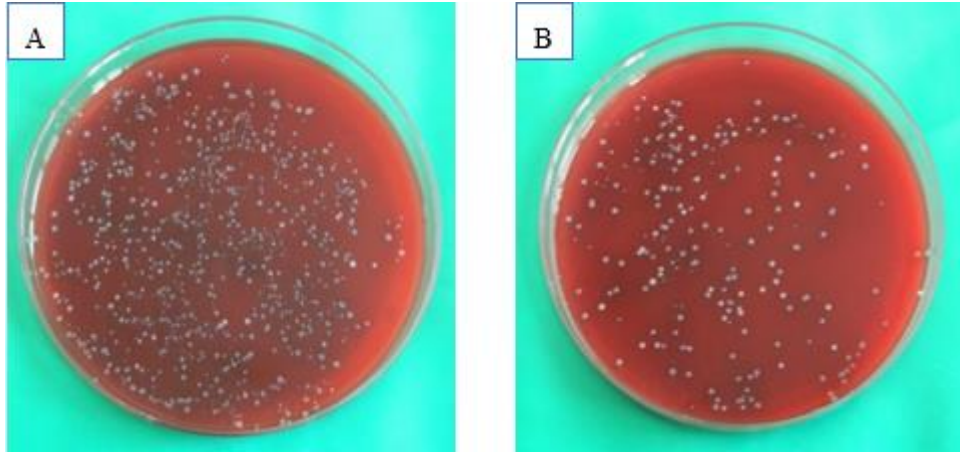
Resim 5. Grup 1B’de rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan *E. faecalis* kolonilerinin görüntüsü. (A) tedavi öncesi (1000 kat seyreltme), (B) tedavi sonrası (100 kat seyreltme).

4.2.2. Grup 2 (AgNP)

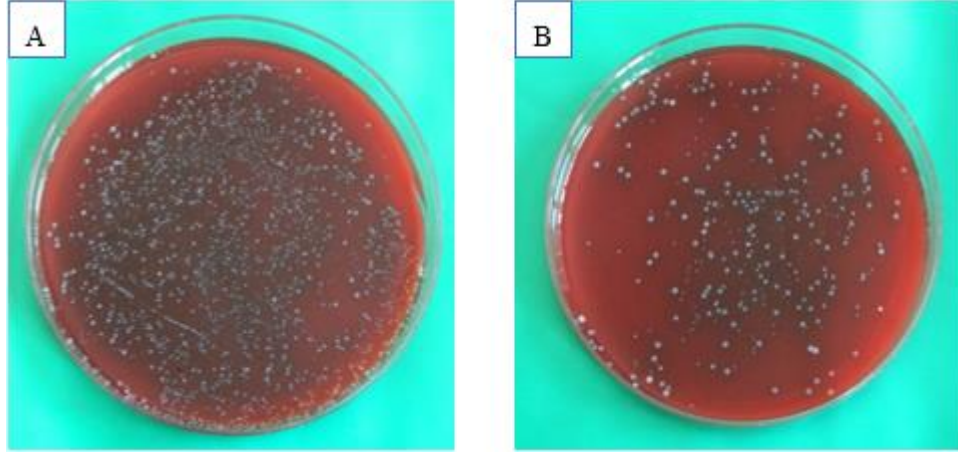
Grup 2 örneklerinin tedavi öncesi ve sonrası ortalama \log_{10} CFU değerleri Şekil 16’da gösterildi. Bu gruptaki alt gruplarda AgNP’lerin kök kanallarında 30 sn bekletilmesi ile elde edilen bakteri azalma yüzdesi 96,81 iken 60 sn uygulanması sonrası %98,66 bakteri azalması görüldü (Tablo 7). Log azalması değerleri ise Grup 2A için 1,62, Grup 2B için 1,96 idi (Tablo 8). Log azalmalarının istatistiksel değerlendirmesinde Grup 2A, pozitif kontrol grubu ve Grup 5B grubundan anlamlı derecede daha az antibakteriyel etkinlik sergilemişken ($p < 0,004$) diğer gruplarla arasında bir fark bulunmadı ($p > 0,004$). Grup 2B, negatif kontrol grubundan anlamlı derecede daha fazla log azalması sağlamışken, pozitif kontrol grubundan daha az etkiliydi ($p < 0,004$). Diğer gruplar arasında fark yoktu ($p > 0,004$). Grup 2A’da ve Grup 2B’de rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan *E. faecalis* kolonilerinin görüntüsü sırası ile Resim 6 ve 7’de gösterildi.



Şekil 16. Grup 2 örneklerinin tedavi öncesi ve sonrası ortalama log₁₀ CFU'ları



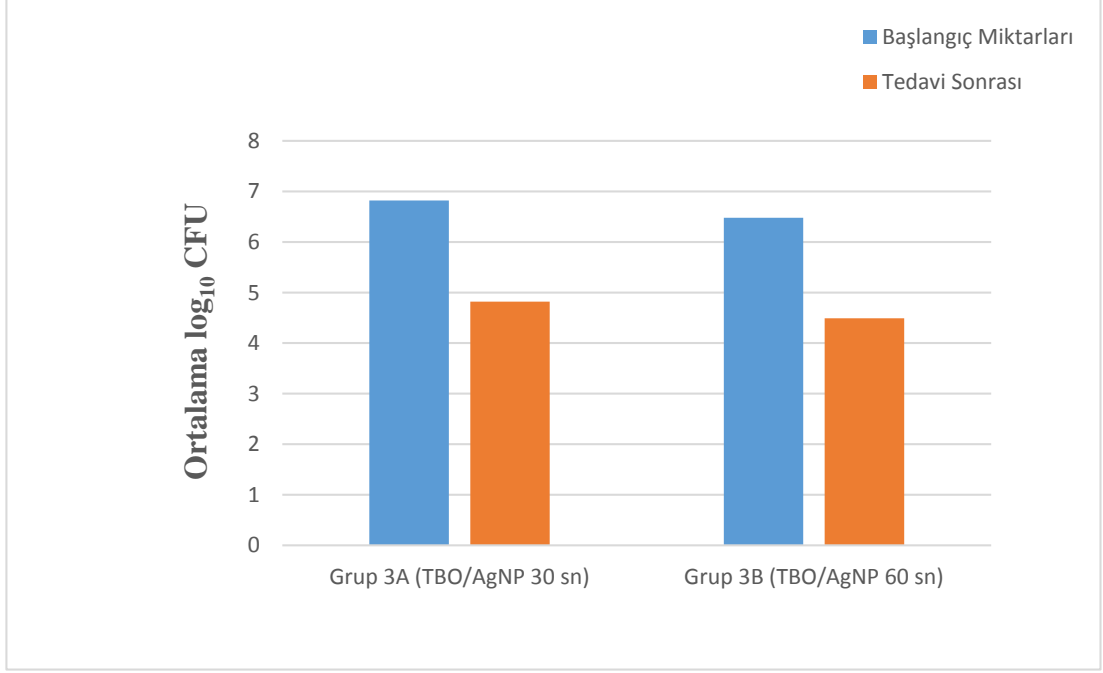
Resim 6. Grup 2A'da rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan *E. faecalis* kolonilerinin görüntüsü. (A) tedavi öncesi (1000 kat seyreltme), (B) tedavi sonrası (100 kat seyreltme).



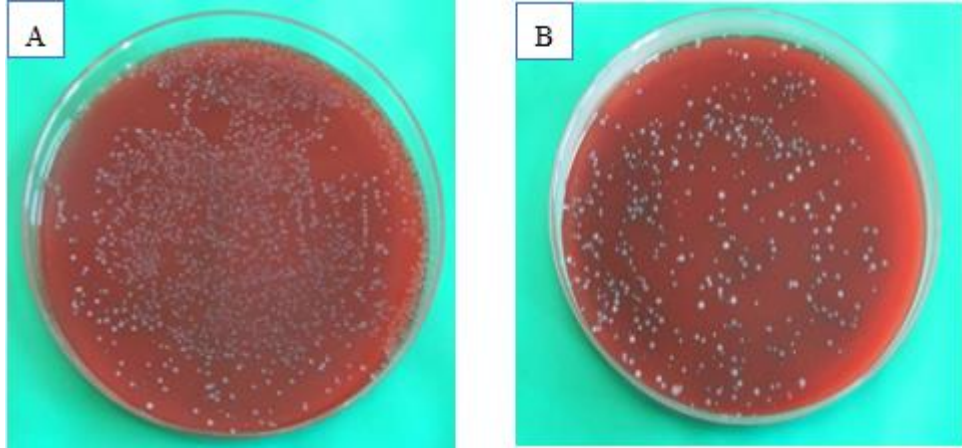
Resim 7. Grup 2B’de rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan *E. faecalis* kolonilerinin görüntüsü. (A) tedavi öncesi (1000 kat seyreltme), (B) tedavi sonrası (100 kat seyreltme).

4.2.3. Grup 3 (TBO/AgNP)

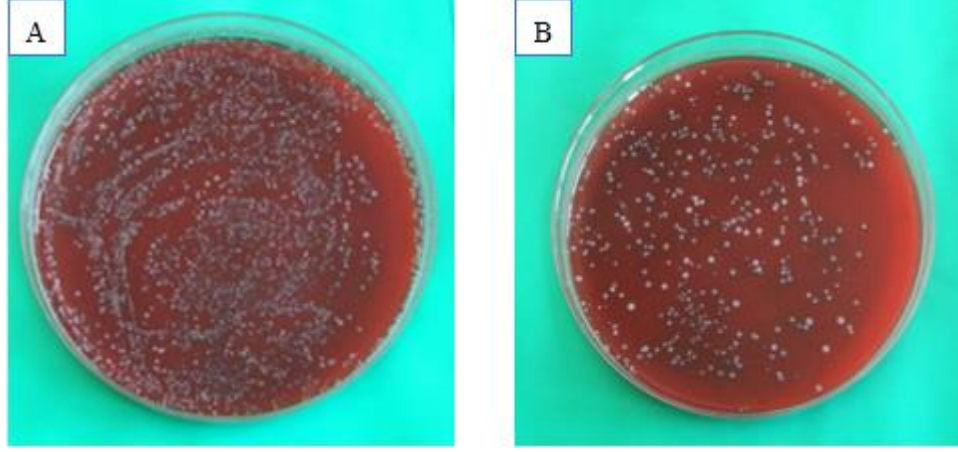
Grup 3 örneklerinin tedavi öncesi ve sonrası ortalama \log_{10} CFU değerleri Şekil 17’de gösterildi. Grup 3A ve Grup 3B için bakteri azalma yüzdeleri sırasıyla 97,29 ve 97,36 idi (Tablo 7). Log azalma değerleri sırasıyla 1,80 ve 1,94 idi (Tablo 8). Grup 3A için log değerlerinin istatistiksel analizi pozitif kontrol grubu ve Grup 5B’den daha az azalma göstermişken ($p < 0,004$), diğer gruplarla arasında fark bulunmadı ($p > 0,004$). Grup 3B ise, pozitif kontrol grubundan daha az etkinlik sergilemişken negatif kontrol grubundan daha etkili bulundu ($p < 0,004$). Diğer gruplarla arasında bir fark gözlenmedi ($p > 0,004$). Grup 3A’da ve Grup 3B’de rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan *E. faecalis* kolonilerinin görüntüsü sırası ile Resim 8 ve 9’da gösterildi.



Şekil 17. Grup 3 örneklerinin tedavi öncesi ve sonrası ortalama CFU değerleri



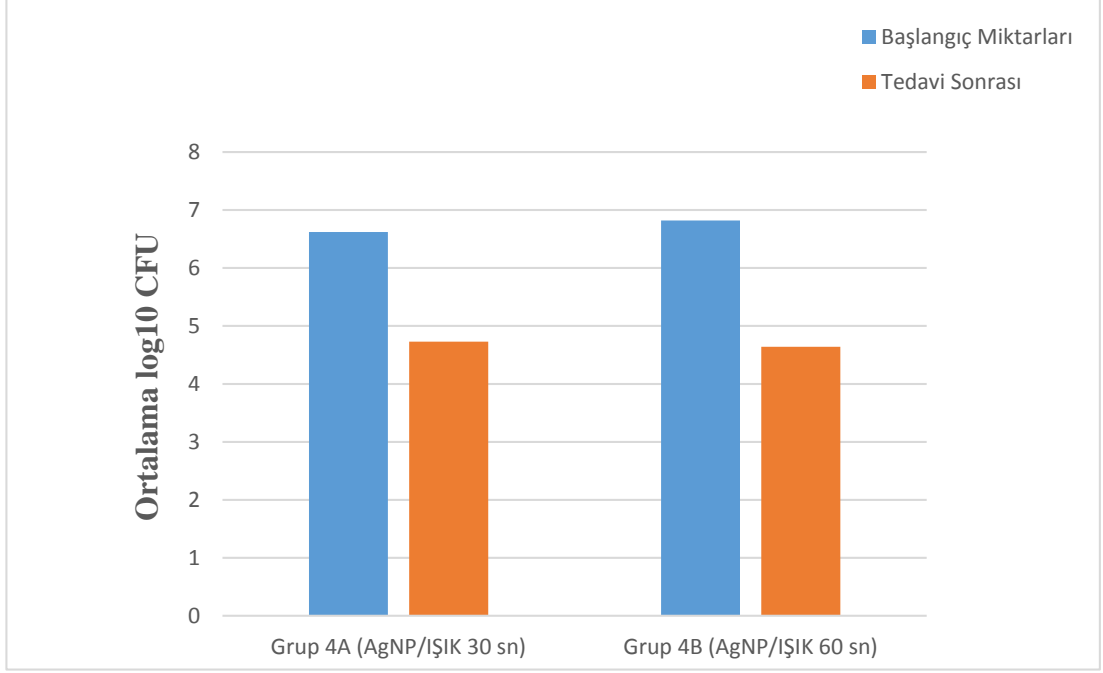
Resim 8. Grup 3A'da rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan *E. faecalis* kolonilerinin görüntüsü. (A) tedavi öncesi (1000 kat seyreltme), (B) tedavi sonrası (100 kat seyreltme).



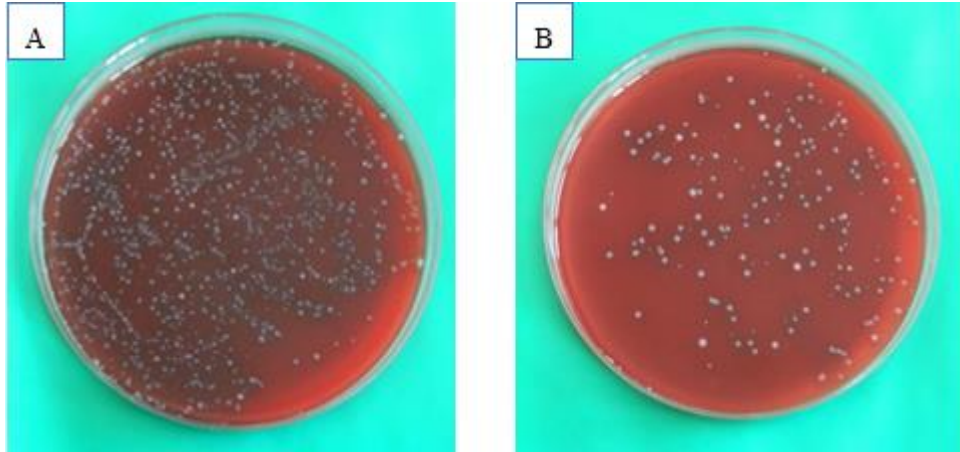
Resim 9. 3B’de rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan *E. faecalis* kolonilerinin görüntüsü. (A) tedavi öncesi (1000 kat seyreltme), (B) tedavi sonrası (100 kat seyreltme).

4.2.4. Grup 4 (AgNP/Işık)

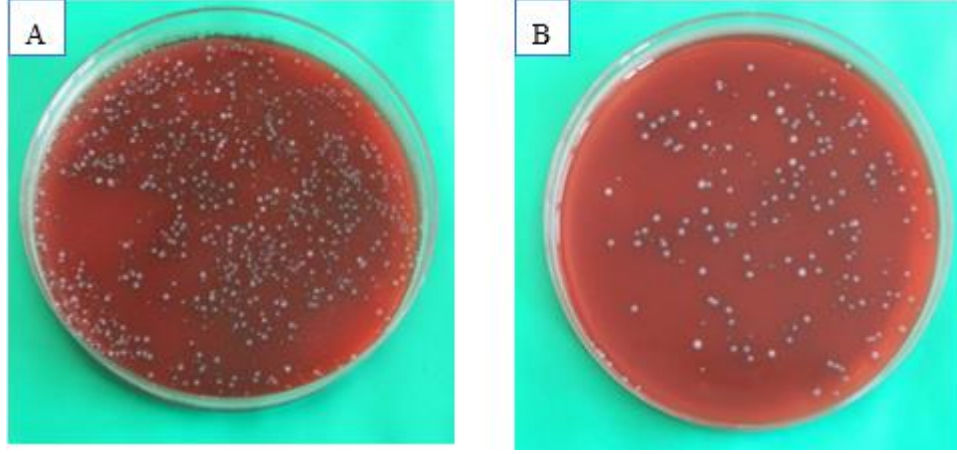
Grup 4 örneklerinin tedavi öncesi ve sonrası ortalama \log_{10} CFU değerleri Şekil 18’te gösterildi. Grup 4A ve Grup 4B için bakteri azalma yüzdeleri sırasıyla 98,42 ve 98,96 idi (Tablo 7). Log azalma miktarlarının ortalaması sırasıyla 1,84 ve 2,1 idi (Tablo 8). Log azalma değerlerinin istatistiksel değerlendirmesinde her iki alt grup da pozitif kontrol grubundan anlamlı derecede daha az antibakteriyel etkinlik sergiledi ($p < 0,004$). Grup 4B, negatif kontrol grubundan daha fazla bakteri azalması sergiledi ($p < 0,004$), diğer gruplarla arasında ise bir fark bulunmadı ($p > 0,004$). Grup 4A, Grup 5B’den daha az etkinliğe sahipti ($p < 0,004$). Diğer gruplarla arasında bir fark yoktu ($p > 0,004$). Grup 4A’da ve Grup 4B’de rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan *E. faecalis* kolonilerinin görüntüsü sırası ile Resim 10 ve 11’de gösterildi.



Şekil 18. Grup 4 örneklerinin tedavi öncesi ve sonrası CFU değerleri



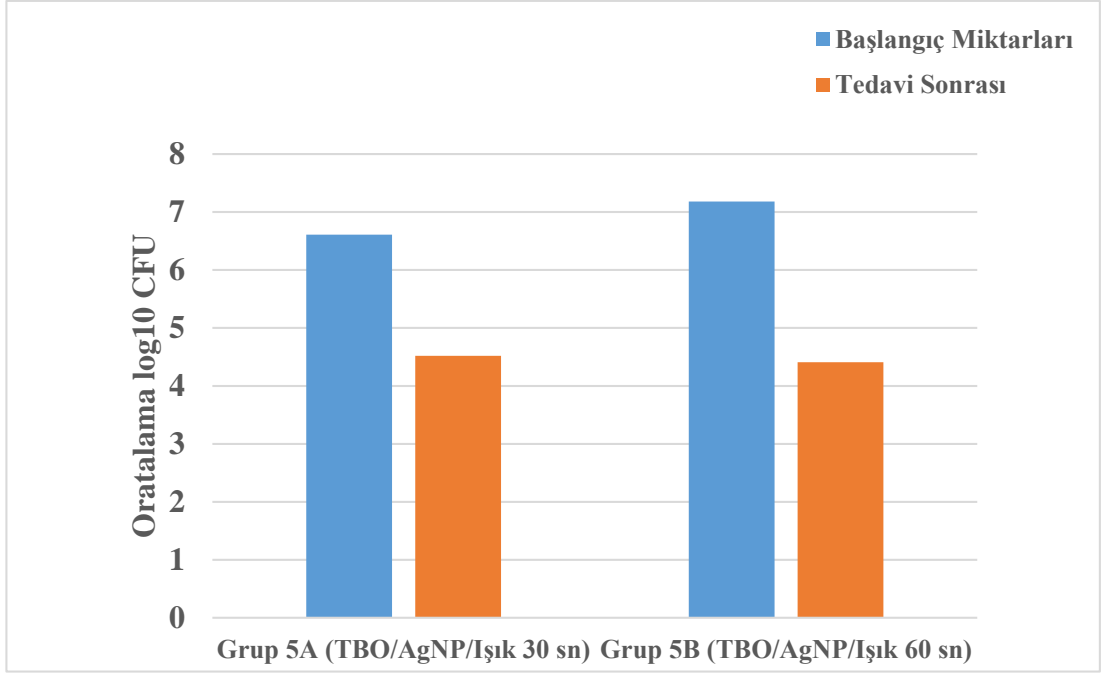
Resim 10. Grup 4A'da rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan *E. faecalis* kolonilerinin görüntüsü. (A) tedavi öncesi (1000 kat seyreltme), (B) tedavi sonrası (100 kat seyreltme).



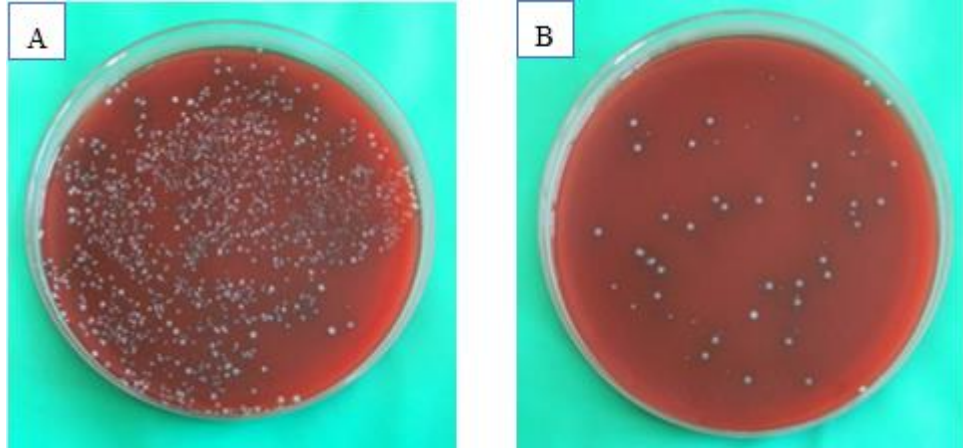
Resim 11. Grup 4B’de rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan *E. faecalis* kolonilerinin görüntüsü. (A) tedavi öncesi (1000 kat seyreltme), (B) tedavi sonrası (100 kat seyreltme).

4.2.5. Grup 5 (TBO/AgNP/Işık)

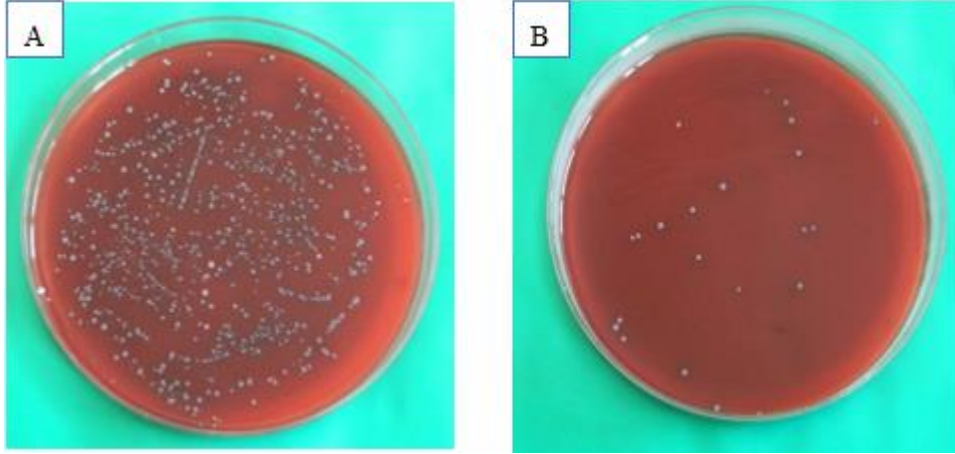
Grup 5 örneklerinin tedavi öncesi ve sonrası ortalama \log_{10} CFU değerleri Şekil 19’da gösterildi. Grup 5A ve 5B için ortalama bakteri azalma yüzdeleri sırasıyla 99,19 ve 99,61 idi (Tablo 7). Log azalmalarının ortalamaları sırasıyla 2,15 ve 2,72 idi (Tablo 8). Log azalma değerlerinin istatistiksel analizinde her iki grup da pozitif kontrol grubundan anlamlı derecede daha az etkinliğe sahipti ($p < 0,004$). Grup 5A, negatif kontrol grubundan daha etkili bulunmuşken ($p < 0,004$) diğer gruplarla arasında bir fark bulunmadı ($p > 0,004$). Grup 5B ise Grup 1A, Grup 2A, Grup 3A, Grup 4A ve negatif kontrol grubundan anlamlı derecede daha etkiliydi ($p < 0,004$) ve pozitif kontrol grubundan sonra en etkili gruptu. Grup 5A’da ve Grup 5B’de rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan *E. faecalis* kolonilerinin görüntüsü sırası ile Resim 12 ve 13’te gösterildi.



Şekil 19. Grup 5 örneklerinin tedavi öncesi ve sonrası CFU değerleri



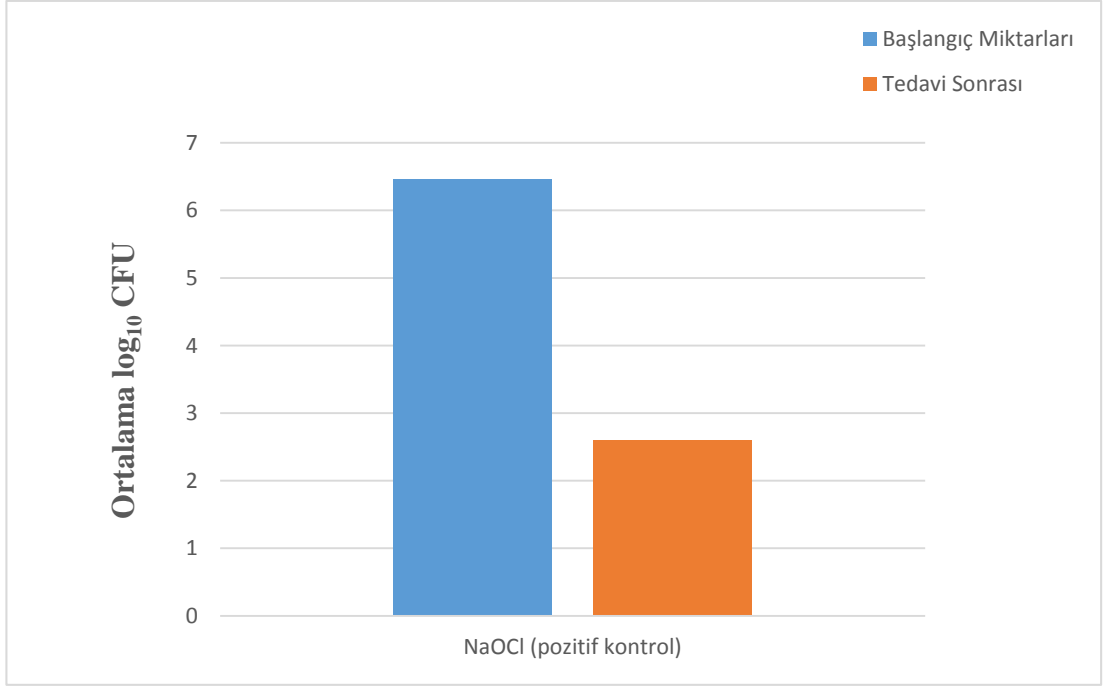
Resim 12. Grup 5A'da rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan *E. faecalis* kolonilerinin görüntüsü. (A) tedavi öncesi (1000 kat seyreltme), (B) tedavi sonrası (100 kat seyreltme).



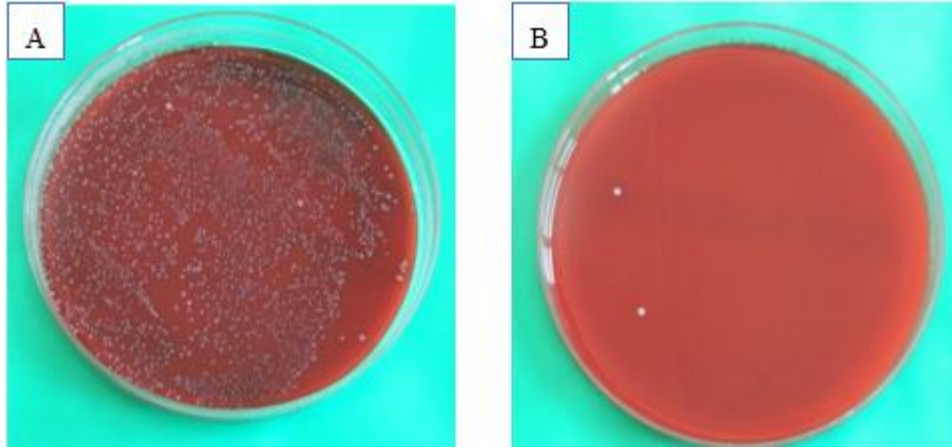
Resim 13. Grup 5B’de rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan *E. faecalis* kolonilerinin görüntüsü. (A) tedavi öncesi (1000 kat seyreltme), (B) tedavi sonrası (100 kat seyreltme).

4.2.6. Pozitif kontrol (NaOCl)

Pozitif kontrol grubu örneklerinin tedavi öncesi ve sonrası ortalama \log_{10} CFU değerleri Şekil 20’de gösterildi. NaOCl ile 1 dk 2 mL irrigasyon sonrası elde edilen antibakteriyel etkinlik tüm gruplar arasında en iyisiydi. Ortalama bakteri azalma yüzdesi 99,98 ve log azalmalarının ortalaması 4,29 idi (Tablo 7 ve 8). Tüm gruplarla arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,004$). Tedavi sonrası bazı örneklerde bakteriye rastlanmadı ve bu bulgu sadece bu grupta gözlemlendi. NaOCl ile tedavi edilen grupta rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan *E. faecalis* kolonilerinin görüntüsü Resim 14’te gösterildi.



Şekil 20. NaOCl ile tedavi edilen örneklerde tedavi öncesi ve sonrası ortalama CFU değerleri

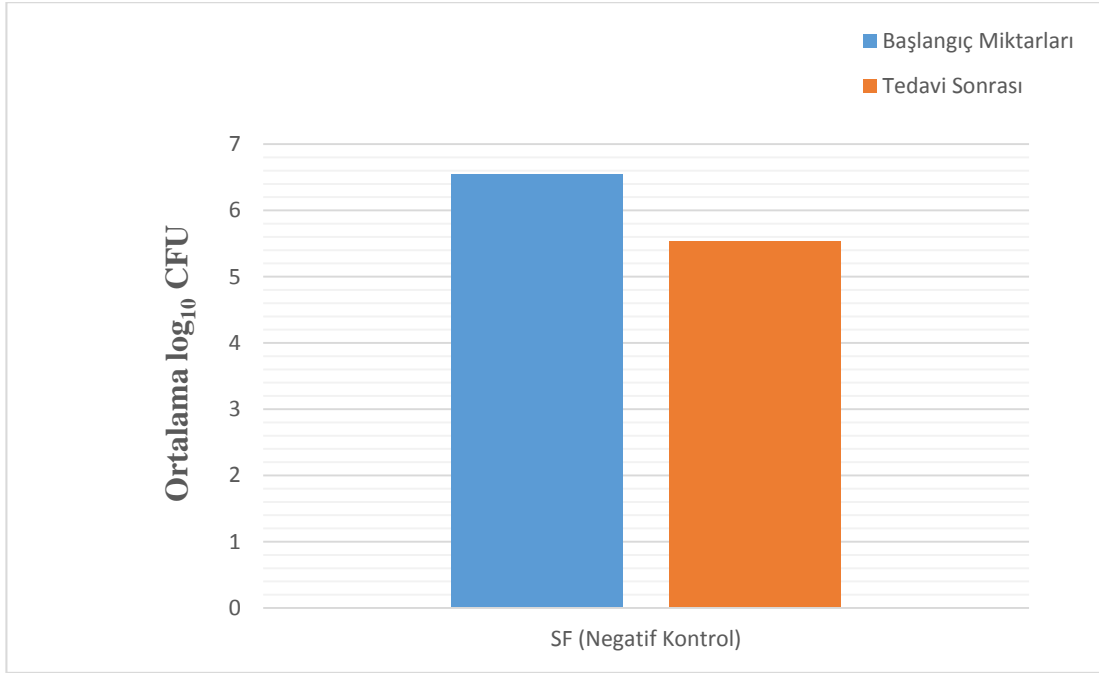


Resim 14. NaOCl ile tedavi edilen grupta rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan *E. faecalis* kolonilerinin görüntüsü. (A) tedavi öncesi (1000 kat seyreltme), (B) tedavi sonrası (100 kat seyreltme).

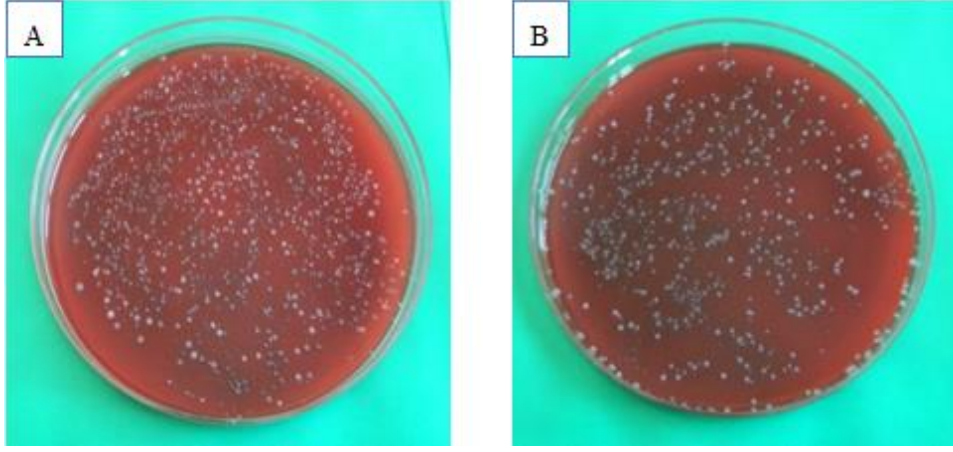
4.2.7. Negatif kontrol (Serum Fizyolojik)

Negatif kontrol grubu örneklerinin tedavi öncesi ve sonrası ortalama log₁₀ CFU değerleri Şekil 21’de gösterildi. Bu grupta bakteri azalma yüzdesi ve log azalma miktarlarının ortalaması sırasıyla 89,71 ve 1,03 idi (Tablo 7 ve 8). Tüm gruplar

arasında en başarısız grup oldu. Log azalma değerlerinin istatistiksel analizinde Grup 1A, Grup 2A, Grup 3A ve Grup 4A ile fark bulunmamışken ($p>0,004$) diğer gruplardan anlamlı derecede daha az antibakteriyel etkinliğe sahipti ($p<0,004$). SF ile tedavi edilen grupta rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan *E. faecalis* kolonilerinin görüntüsü Resim 15'te gösterildi.



Şekil 21. SF ile tedavi öncesi ve sonrası CFU değerleri.



Resim 15. SF ile irrigasyon grubunda rastgele seçilen bir örneğin kanlı agar besiyeri üzerinde oluşan *E. faecalis* kolonilerinin görüntüsü. (A) tedavi öncesi (1000 kat seyreltme), (B) tedavi sonrası (100 kat seyreltme).

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada çekilmiş insan dişlerinde deneysel olarak oluşturulan 3 haftalık olgun *E. faecalis* biyofilmi üzerine FS bir ajan olan TBO ile nanoajan AgNP kombinasyonuna ışık uygulaması ile antibakteriyel etkinlikte artma olup olmayacağının değerlendirilmesi amaçlandı. Bu yöntemle başarılı antibakteriyel etkinlik; FDT, AgNP, AgNP'ye ışık uygulaması ve ışık uygulaması gerçekleştirilmeyen TBO/AgNP kombinasyonunun antibakteriyel etkinlikleri ile karşılaştırıldı. SF ve NaOCl ile tedavi edilen dişler kontrol grupları olarak hizmet kullanıldı.

Bu çalışma iki aşamada gerçekleştirildi:

İlk aşamada TBO ve AgNP kombinasyonu ile bu kombinasyona ışık uygulama işlemlerinin hangi derişimlerde en iyi sonucu gösterdiğini bulmak için ön bir çalışma yapıldı. Bu çalışmanın bulgularına göre 20 ppm TBO ve 10 ppm AgNP kombinasyonu *E. faecalis* içeren süspansiyona karşı en iyi sonuçları sergiledi. Bu yüzden prepare edilmiş olan kök örneklerinde yapılan deneyde bu derişimlerin kullanılmasına karar verildi. UV-Vis spektrumlarının incelemesinde AgNP içeren çözeltinin absorbsiyon yapmadığı, TBO'nun ise yaklaşık 600 nm'de absorbsiyon yaptığı görüldü. TBO çözeltisine AgNP ilavesi maksimum absorbsiyonun yerini değıştirmede. Bu bulgular temelinde deneyde ışık uygulamada kullanılacak olan ışık kaynağı olarak 600 nm'ye yakın dalga boyunda ışık veren FotoSan cihazı tercih edildi.

Çalışmamızda kök boyları 13 mm olacak şekilde dişlerin kuronları uzaklaştırılmıştır, tüm örneklerin aynı boyda olması sağlanmıştır. Kuronların uzaklaştırılması şekillendirme ve bakteri ekimi sırasında kolaylık sağlamış ve ışık kaynağının yerleşimi sırasında kuronların farklılığından kaynaklı değışkenlik en aza indirilmiştir. Son preparasyon ProTaper Universal F4 eğeleri ile yapılarak kanalların da benzer boyutlarda olması sağlanmış ve böylece inokülasyon sırasında aynı miktarda bakterinin kanallara enjekte edilmesine ve antibakteriyel ajanların kanallara aynı miktarlarda uygulanmasına olanak sağlanmıştır.

Çalışmamızda kök örneklerinin dış yüzeyleri *E. faecalis* ile enfekte edilmeden önce apeksler de dâhil 2 kat tırnak cilası ile kaplanmıştır. Bu sayede dışarıdan

oluşabilecek herhangi bir kontaminasyonu ve ajanların kök kanalına enjekte edilmesinden sonra meydana gelebilecek bir sızıntı önlenmiştir.

Bu çalışmada test mikroorganizması olarak *E. faecalis* seçildi. Gram (+) ve fakültatif bir anaerob olan *E. faecalis*, başarısız endodontik tedavili dişlerin kanalları ve periapikal bölgelerinde en sık izole edilen türdür (226). *E. faecalis*'in primer endodontik enfeksiyonlarda prevalansı düşük olmasına rağmen inatçı enfeksiyonlarda yüksek prevalanslarda bulunmaktadır (32, 45, 227). Değişik virulans faktörlerine sahip olsa da periradiküler hastalık oluşturma yeteneği kök kanallarında ve dişin dentin tübüllerinde, uygulanan KKT prosedürlerinin etkilerinden kendilerini koruyabilmesi ve inatçı kalabilmesinden kaynaklanmaktadır (45). Diğer birçok türün aksine, kök kanal sisteminde kendi kendine yaşayabilmekte ve ekolojik değişkenlikleri tolere edebilmektedir (53). Dentin tübülleri içerisinde 250 µm'ye kadar penetre olabilme yeteneği bulunmaktadır (228). *In vitro* bir çalışmada (58) kök kanal dolgulı dişlerde 12 ay boyunca yaşamaya devam ettirmiştir. Bu özelliklerinden dolayı, bu patojen endodontik çalışmalarda (33, 64, 122, 229, 230) en sık tercih edilen MO'lar arasında olup *in vitro* araştırmalar için uygun bir bakteridir ve laboratuvar şartlarında biyofilm oluşturulması kolaydır. Bu çalışmada da yukarıda bahsedilen özelliklerinden ve daha önce yapılan çalışmaların bulguları ile karşılaştırma yapma şansının daha fazla olmasından dolayı test MO'su olarak *E. faecalis* seçildi.

Bu çalışmada ajanların antibakteriyel etkinliğinin değerlendirilmesinde planktonik süspansiyon yerine daha önce yapılan çalışmalara (9, 33, 60, 231) benzer şekilde biyofilm oluşumu tercih edildi. Biyofilm içerisindeki MO'lar, planktonik durumda olan MO'lara göre daha güçlü patojenik potansiyel taşımaktadırlar (232). Hem konak savunma mekanizmaları hem de kimyasal ve mekanik antimikrobiyal tedavi işlemleri gibi terapötik yaklaşımlara karşı kendilerini korumaları daha iyi olduğundan dolayı klinik olarak özel önem taşımaktadırlar (30). Bu yüzden biyofilm içerisindeki bakterileri yok etmek daha zor olmaktadır (30). Biyofilm bakterisinin bu direnci ekstrasellüler polimerik matriks ile sağlanan koruyucu bariyere bağlanmaktadır (233). Polimerik matriks içindeki biyofilm yapısı ve yoğun organizasyonu ajanların penetrasyonunu kısıtlamaktadır ve biyofilm içerisinde derin lokalizasyondaki MO'lar etkilenmeden yaşamlarını devam ettirmektedir (234). Bu nedenle, planktonik veya biyofilm içerisinde bulunan MO'lara karşı kullanılan

endodontik dezenfeksiyon yöntemleri farklı neticelere yol açmaktadır (235). Dolayısıyla planktonik MO'lar ile yapılan çalışmalar klinik koşulları tam olarak yansıtmamaktadır (236). Bu yüzden ön çalışmamızda ajanların hangi derişimlerde etkili sonuçları sergilediği planktonik solüsyonda test edildikten sonra deneyler olgun biyofilm yapısında gerçekleştirildi.

Laboratuvar çalışmalarında biyofilm oluşumu için inokulumdaki mikrobiyal konsantrasyon, inkübasyon zamanı, büyüme şartları ve substrat özellikleri gibi çok fazla sayıda parametre önemlidir (237). Güncel endodontik prosedürlerin ve materyallerin antimikrobiyal etkisini değerlendirmek için; çekilmiş insan dişleri (9, 33, 122), çekilmiş enfekte insan dişleri (128), dentin örnekleri (229), çekilmiş dişlerden hazırlanan dentin tüpleri (238), çekilmiş sığır dişleri (115), hidroksiapatit diskler (239), kollagen kaplı hidroksiapatit diskler (240), cam yüzeyler (241), membran filtreler (242), polisterin bloklar (243) ve kuyucuklu plakalar (244) gibi çok sayıda biyofilm modeli *in vitro* çalışmalarda kullanılmıştır. Bu çalışmada, biyofilm tabakası çekilmiş insan dişlerinin kök kanal sistemi içerisindeki dentin yüzeylerinde meydana getirildi. Enfekte dentin modeli yönteminin kullanılması; kolonizasyonun pulpal duvar ve dentin tübüllerinde olmasını, kullanılan ajan ile dentin arasındaki olası etkinin değerlendirilmesini, kök kanal sistemi gibi kapalı bir ortamda ajanların penetrasyonu ve dağılımına bağlı etkilerin dikkate alınmasını, ışık uygulama sırasında karanlık bir ortamın sağlanmasını ve ajanın uygulama süresinin klinik koşullarla benzerlik göstermesini sağladı. Bu şekilde klinik şartlara en yakın koşullar elde edildi.

In vitro oluşturulan biyofilmler üzerinde antimikrobiyal etkinliğin değerlendirilmesinde mikrobiyolojik kültür teknikleri, kolorimetrik teknikler, mikroskopik teknikler (ışık mikroskobu, SEM, TEM, epi-florasan mikroskobu, CLSM), fiziksel metotlar (biyofilmin kalınlığı, ağırlığı, alanı ve yoğunluğunun ölçümleri), biyokimyasal metotlar (ELISA, PCR), moleküler biyolojik metotlar ve gelişmiş teknikler (AFM, FTIR spektroskopisi) gibi farklı değerlendirme yöntemleri kullanılmaktadır (237). Mikrobiyolojik kültür tekniklerinde yüzeye bağlı bakteri miktarının direk olarak sayılması yoluyla yüzeyde oluşan biyofilm miktarı hesaplanabilmektedir (237). Bu çalışmada uygulanan dezenfeksiyon protokollerinin etkinliği, endodontide güncel çalışmalarda (64, 245-248) sıkça kullanılmış olan CFU mikrobiyolojik kültür tekniği ile incelendi.

Kök kanallarındaki bakterilerin mikrobiyal inceleme amacıyla toplanması için literatürde farklı teknikler bulunmaktadır. Bunlar; dentin talaşlarının kanal eğeleri ile toplanması (33), kök kanal duvarlarından rond frezler ile farklı derinliklerde dentin biyopsisi (115, 125), kâğıt konların belirli bir süre kök kanalında bekletilmesi (63, 124), kanal içeriğinin enjektörlerle aspirasyonu (9), Gates-Glidden frezler ile kanaldan dentin örneklerinin elde edilmesi (220) ve dişin bir öğütücü ile öğütülerek elde edilen diş parçalarının incelendiği yöntemlerdir (64). Her yöntemin kendine göre avantajlı ve eksik tarafları bulunmaktadır ve hangi yöntemle daha doğru sonuçlara ulaşıldığı ile ilgili literatürde bir uzlaşma bulunmamaktadır. Bu çalışmada tercih edilen kâğıt kon yönteminde tedavi sonrası alınan örneklerde yüzeyden daha derinde kalan bakterilerin tespitini sağlamak için 25 nolu bir H-tipi ege ile çevresel egeleme yapıldı ve böylece bu bakterilerin de kanal boşluğuna geçmesi sağlandı.

Biyofilm oluşum süresine ilişkin bir standardizasyon belirlenememiştir. Bu yüzden *in vitro* çalışmalarda biyofilm oluşumu için beklenen inkübasyon zamanı da farklılıklar göstermiştir. Bir gün (249), 2 gün (124), 3 gün (131, 132), 4 gün (125), 7 gün (9, 122), 21 gün (123, 134, 220), 28 gün (125, 133) gibi farklı zaman periyotlarında deneysel işlemler gerçekleştirilmiştir. Farklı dezenfektanların antimikrobiyal özelliği, biyofilm olgunlaşmasının safhasına bağlıdır (125). Erken *E. faecalis* biyofilm (94 saate kadar) modelinde NaOCl'nin antibakteriyel aktivitesini tedavi zamanı ve biyofilm yaşı ile değerlendiren yeni bir çalışmada (250), tüm test edilen konsantrasyonlarda NaOCl'nin antibakteriyel aktivitesi biyofilm yaşı ile ilişkili bulunmuş ve biyofilm yaşının artması ile etkinlik azalmıştır.

In vitro modellerde yeterli bakteri-substrat etkileşimi ve optimum çevre şartlarının sağlanmasının önemli olduğu belirtilmiştir (237). Seneviratne ve ark (251), güçlü bir olgun biyofilm elde etmek için 72 saatlik bir büyümenin gerektiğini ve moleküler çalışmalar için bu sürenin olası referans zamanı olabileceğini bildirmişlerdir. Buna karşın Lim ve ark (125), 4 günlük ve 4 haftalık *E. faecalis* biyofilmlerinde dezenfeksiyon stratejilerini karşılaştırdıkları çalışmalarında 4 haftalık biyofilmin antibakteriyel ajanlara karşı çok daha dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Benzer bir çalışmada (252), hidroksiapatit disklerde subgingival plak örneğinin 2 gün, 1, 2, 3, 6 ve 12 haftalık biyofilm büyümesi değerlendirilmiştir. Üç haftalık ve daha

olgun biyofilmlerdeki bakterilerin yeni ve genç biyofilmdeki bakterilere göre (2 gün-2 haftalık) KHG'ye karşı daha dirençli oldukları bulunmuştur.

Bu çalışmada inkübasyon zamanı olarak daha önce yapılan çalışmalara benzer şekilde (123, 220, 231) ve yukarıda bahsedilen olgun biyofilm süresi için yeterli bir zaman olması nedeniyle 3 haftalık periyot seçildi. Bu periyot sonrası alınan SEM görüntüleri olgun biyofilm varlığını doğruladı ve kök kanal duvarlarında yoğun şekilde *E. faecalis* kolonizasyonu olduğu görülerek deneysel işlemler başlatıldı.

Bu çalışmada daha önce yapılan pek çok çalışmada olduğu gibi (33, 62, 122, 125) tek bir MO türü kullanıldı. Ancak, tek bir MO türünün kullanılması, tam olarak klinik koşulları yansıtmamakta ve polimikrobiyal özellikte bulunan endodontik enfeksiyon modeline uymamaktadır. Çünkü endodontik enfeksiyonlar polimikrobiyal bir doğaya sahiptir ve bir biyofilm içerisinde farklı türler arasındaki etkileşimin biyofilm içerisindeki davranışı etkileme olasılığı yüksektir. Tek MO türünün kullanılması bu çalışmanın sınırlamalarındandır.

Kök kanal duvarlarında ve dentin tübüllerinde, biyomekanik olarak temizleme ve şekillendirme işlemleri uygulandığı zaman düzensiz bir tabaka oluşmaktadır. Smear tabakası olarak adlandırılan bu tabakada dentin debrisleri gibi inorganik, canlı ve cansız pulpa dokusu artıkları, MO'lar ve MO'ların metabolik artıkları gibi organik materyaller bulunmaktadır (253). Endodontik tedavi sırasında aletlerin temas etmediği bölgelerde veya herhangi bir endodontik tedavi görmemiş kanallarda izlenmeyen bu tabakanın direkt eğeleme ve kesme işlemleri ile bağlantılı olduğu ortaya konulmuştur (254). Yüzeyde gevşek olarak tutunan, altta ise dentin tübüllerinin ağzını tıkayan bir tabaka olmak üzere iki katmandan oluşan smear tabakasında yüzeyel tabaka intertübüler alanları ve dentin tübüllerinin ağzlarını örtmektedir ve 1-5 µm kalınlıktadır. İkinci tabaka dentin tübüllerinin içine sıkışmıştır ve derinliğinin 40 µm'ye kadar ulaşabildiğini belirtilmiştir (254).

Drake ve ark (255), smear tabakasının kaldırılması ile bakterilerin tübüllerde daha derin ve daha fazla kolonize olduğunu bulmuşlardır. *In vitro* bakteriyel kolonizasyon modeli çalışmalarında kök kanal tedavisi sırasında oluşan smear tabakasının dentin tübüllerine bakteriyel girişi önlediğini ve bakteriyel kolonizasyonu engellediğini ileri sürmüşlerdir. Bu sebepten dolayı bu çalışmada da kök kanallarının şekillendirilmesi sonrası oluşan smear tabakasının uzaklaştırılması amaçlandı. Smear

tabakasının uzaklaştırılması için %17'lik EDTA solüsyonu kök kanallarında 2 dk boyunca bekletildi. Smear tabakasının organik ve inorganik yapıyı bir arada bulundurması sebebiyle irrigasyon esnasında tek bir solüsyonun kullanılması bu tabakayı tamamen uzaklaştırmada yetersiz kalmaktadır (256). EDTA ve NaOCl'nin dönüşümlü kullanımı önerilmektedir (257). Bu çalışmada da şekillendirme sırasında her ege değişimi sonrası dişler NaOCl ile yıkandı ve EDTA ile yıkama sonrası dişler tekrardan NaOCl ile irrigate edildi. Kök örneklerinin bakteri ile kontaminasyonu öncesi değişik büyütme ve lokalizasyonda alınan görüntülerde smear tabakasının tamamen uzaklaştığı ve dentin tübül ağzlarının açık olduğu görüldü.

NaOCl, geniş spektrumlu antimikrobiyal etkinliğinin yanında organik maddeleri çözebilme yeteneği nedeniyle endodontide ana yıkama solüsyonu olarak önerilmektedir (258). %1-15 gibi farklı derişimlerde sulu solüsyonları ticari olarak bulunmaktadır (259) ve endodontide irrigasyon sırasında genellikle %0,5-5,25'lik derişimleri kullanılmaktadır (260). Alkali bir solüsyondur ve tedavi amacıyla kullanılan ticari formlarının pH'si genellikle 10-12 civarındadır. Bu pH değeri solüsyonun kimyasal olarak daha stabil olmasını sağlamaktadır (261). Hem okside edici hem de hidrolize edici bir ajandır (262).

NaOCl'nin yıkama solüsyonu olarak kullanımında derişimi hakkında tartışmalar bulunmaktadır. Derişimin artmasıyla antibakteriyel ve doku çözücü etkinliği artmaktadır fakat toksisitesi de yükselmektedir (263). Irrigasyon sırasında kazara periapikal dokulara taşıdığı veya lastik örtüden sızdığı zaman yüksek derişimlerle ilgili şiddetli irritasyonlar bildirilmiştir (264). Solüsyonun istenmeyen etkilerini azaltmak amacıyla araştırmacılar etkili olduğu bilinen %2,6-5,25 arasındaki konsantrasyonlar yerine çok daha düşük konsantrasyonlarının kullanılmasını önermişlerdir (264). Ancak düşük konsantrasyonlarda kullanıldığında sitotoksik ve irrite edici özelliklerinin yanında, doku çözücü ve antibakteriyel etkilerinin de belirgin biçimde azaldığı bildirilmiştir (265).

Bu çalışmada, NaOCl pozitif kontrol grubu olarak kullanıldı ve bu grupta dişler 1 dk boyunca 2 mL solüsyonla yıkandı. Derişim olarak daha önce birçok çalışmada (9, 266-268) kullanılmış ve antimikrobiyal etkinliği kanıtlanmış olan %2,5 konsantrasyon kullanıldı. Bu grup, tüm gruplar arasında *E. faecalis*'e karşı en başarılı grup bulundu ve diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla bakteri ölümü

sağladı. Aynı zamanda iki örnekte tedavi sonrası bakteriye rastlanmadı ve tam bir bakteri ölümü görüldü. NaOCl ile irrigasyon sonrası kâğıt konlar ile mikrobiyolojik değerlendirmeye kadar geçen sürede NaOCl'yi etkisizleştirmek için 5 ml %5'lik sodyum tiosülfat ile 1 dk boyunca örnekler yıkandı. Bu sayede dentin tübülleri içerisindeki artık NaOCl solüsyonunun devam eden antibakteriyel etkisi önlendi.

Bir irriganın bakteriyi elimine etme yeteneğinde derişim ve zaman önemli bir rol oynamaktadır (260). Zamanın artmasına bağlı olarak NaOCl'nin antibakteriyel etkinliğinin arttığı gösterilmesine (269) rağmen, bizim çalışmamızda NaOCl'nin pozitif kontrol grubu olması ve diğer ajanların etkinliklerinin karşılaştırılmasında kullanılması nedeni ile süre olarak diğer gruplarda ajanların kullanım süresi olan 1 dk boyunca dişler yıkandı. Bu sürede 2 mL yıkama ile %99,89 azalma yüzdesi ve 4,29 log azalması sağladı. Bu çalışmanın bulgularına benzer şekilde çekilmiş insan dişlerinde deneysel oluşturulan *E. faecalis* biyofilmi üzerine değişik dezenfeksiyon tekniklerinin değerlendirildiği bir çalışmada (9) %2,5'lik 5 mL NaOCl'nin geleneksel iğne irrigasyonu yardımıyla 1 dk irrigasyonunda %99,80 bakteri azalması sağlanmıştır. Başka bir çalışmada (270), %2,5'lik NaOCl'nin *E. faecalis* biyofilmi üzerine etkinliği Nd:YAG ve KTP lazer sistemleri ve PAD ile karşılaştırılmıştır. Bizim çalışmamızdan farklı olarak NaOCl kanallarda irrigasyon gerçekleştirilmeden 15 dk bekletilmiştir. Diğer gruplardan anlamlı derecede fazla bakteri azalması sağlasa da kültür yöntemi ile sadece 2,1 log azalması görülmüştür ve bizim çalışmamıza göre irrigasyon gerçekleştirilmemesine bağlı olarak daha az azalma sağlanmıştır. Bizim çalışmamızdan farklı olarak derişim olarak %6'lık NaOCl'nin *E. faecalis* biyofilmi üzerine etkisi değerlendirilen bir çalışmada (33) yıkama 30 sn süre gerçekleştirilmiştir ve %0,66'lık canlı bakteri oranı görülmüştür. Bizim çalışmamızda görülen yüzde 0,02'lik değerden daha çok bir bakterinin başlıca nedeni derişimin daha yüksek olmasına rağmen 30 sn gibi daha kısa bir süre olabilmesidir. Fakat bizim çalışmamıza benzer şekilde FDT'ye göre daha etkili bulunmuştur. Kemomekanik temizleme sırasında %1, %2,5 ve %5,25'lik NaOCl'nin *E. faecalis* biyofilmi üzerine etkisini değerlendiren bir çalışmada ise (271) aralarında fark bulunmadan her 3 derişimde de güçlü antibakteriyel etkinlik görülmüş ve NaOCl'nin KKT sırasındaki önemi vurgulanmıştır.

Bu çalışmada tedavi rejimlerinin karşılaştırılmasında negatif kontrol grubu olarak ise SF kullanıldı. SF, diğer irriganlar kadar etkili bir antibakteriyel ajan olmaması (64, 272), doku çözücü özelliğinin bulunmaması (273) ve smear tabakasını kaldıramaması (274) gibi özellikleri nedeniyle rutin bir endodontik irrigan olarak kullanılmamaktadır. Bununla birlikte Cachovan ve ark (248), *in vitro* çalışmalarında solüsyon olarak %0,9'luk SF'yi kullanmışlar ve pasif ultrasonik yıkama sistemi, hidrodinamik sistem ve manuel kullanımın antimikrobiyal özelliğini karşılaştırmışlardır. Her ne kadar el ile irrigasyonda daha az olsa da tüm irrigasyon tekniklerinde önemli CFU azalması bulmuşlardır. QMix, NaOCl ve KHG'nin antimikrobiyal etkilerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada (272) SF ile 3 mL irrigasyon kontrol grubu olarak kullanılmıştır. *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı tüm gruplarda CFU miktarlarında önemli azalma bildirilmiştir. Bago ve ark (9), 1 dk boyunca 5 mL geleneksel enjektör irrigasyonu ile *E. faecalis* biyofilmine karşı %99,7 gibi yüksek oranda bir bakteriyel azalma bildirmişlerdir. SF ile oluşan bu ciddi antibakteriyel etkiyi dk'de 5 mL akış hızıyla sürekli irrigasyonun bir sonucu olarak sıvının yer değişimi ve akışın mekanik hareketine yorumlamışlardır. Bizim çalışmamızda da SF ile standart iğne irrigasyonu sonrası 1,03 log CFU azalması görüldü. Diğer tüm gruplardan daha az antibakteriyel etki görülse de yukarıda bahsedilen çalışmalarda (9, 248, 272) olduğu gibi önemli bakteri azalması sağladı.

FDT, kemomekanik preparasyon sonrası mikrobiyal dekontaminasyonu artırdığından dolayı geleneksel endodontik tedavilere destek olarak önerilen bir tedavidir (19, 21, 135, 137). Yetersiz enstrümantasyon, gözden kaçarak şekillendirilmeden kalan bir kanal veya yetersiz bir restorasyonun tedavi sonrası endodontik probleme yol açmasının yanında (51) en yüksek teknik standartlarla geleneksel bir kemomekanik temizleme işlemleri gerçekleştirilse bile kök kanal sisteminin anatomik karmaşıklığı bakterinin tam olarak eliminasyonunu zorlaştırmaktadır (2). Mekanik preparasyonu destekleyen kimyasal dezenfeksiyon teknikleri güçlü bakterisidal etkiye sahip olsa da NaOCl, KHG gibi yaygın kullanılan irriganlar ve KH ile seanslar arası kanal içi bir ilaç uygulama işlemleri enfekte kök kanallarından mikrobiyal florayı tam olarak yok edememektedir (275, 276). FDT geleneksel tedavilere ilave olarak mikrobiyal eliminasyonu artırmak amacıyla son önerilen bir stratejidir (63, 161).

FDT'de toksik olmayan bir FS ve uygun dalga boylu bir ışık kullanılmaktadır (71). Işınlama ile uyarılan FS, MO'larda hasar ve ölüm meydana getiren kuvvetli reaktif oksijen türleri oluşturmak için moleküler oksijenle reaksiyona girmektedir (277). FS, bakterinin hücre membranına bağlanmakta, ışınlama sonucu singlet oksijen üretimi meydana gelmekte ve singlet oksijen ile bakteri duvarında yıkım gerçekleşerek bakteri ölümü olmaktadır (126). Diğer normal dokuları etkilemeden ve çevre dokulara zarar vermeden bakterileri seçici olarak yok etmesi avantajları arasındadır (278). Konak hücre yaşayabilirliğini etkilemeden endodontik patojenleri inaktive edebilecek güvenli bir terapötik aralığı bulunmaktadır ve memeli hücrelerine NaOCl'den çok daha az sitotoksiktir (127).

FDT üzerine yapılan çalışmalarda, bazı araştırmacılar FDT'yi NaOCl'den daha başarılı (9, 20) veya NaOCl kadar etkili (134) bulmuşlarken, bazıları ise daha başarısız (33, 125) bulmuşlar ve çelişkili sonuçlar bildirmişlerdir. Bildirilen bu farkların nedeni kullanılan metodolojiler ve NaOCl konsantrasyonları ile FDT prosedürlerindeki çeşitlilikten kaynaklanmaktadır. Hecker ve ark (115), FDT'nin yeterli dezenfeksiyon sağlamada etkisiz olduğunu ileri sürmüşlerdir. FDT etkinliği üzerine yapılmış olan çalışmalarda karşılaştırma yapmak zordur. Çünkü farklı FS'ler, FS konsantrasyonları, ışık parametreleri, ışınlama süreleri ve ışık aktarım sistemleri kullanılmıştır.

Bizim çalışmamızda FS olarak 20 ppm'lik TBO ile ışık kaynağı olarak LED bir cihaz olan FotoSan kullanıldı. FS ajan, kök kanallarına uygulandıktan sonra 15 nolu bir el eğesi ile ajanın apikal üçlüye taşınması sağlandı ve kök kanal boşluğunda FS'nin homojen dağılımı ve penetrasyonunun artması için 1 dk beklendikten sonra alt grup 1A'da 30 sn bir ışık uygulama gerçekleştirildi. Alt grup 1B'de ilk ışık uygulaması sonrası 30 sn beklendi ve tekrardan 30 sn'lik ışık uygulandı. Otuz sn ve 60 sn'lik alt gruplarda sırası ile %96,81 ve 98,66'lık, log olarak ise ortalama 1,63 ve 2,03 bakteriyel azalma meydana geldi. Pozitif kontrol grubuna göre bakteri sayısında anlamlı derecede daha az azalma görülmüşken sürenin artması ile etkinlik artmıştır.

Işık kaynağı olarak bizim çalışmamızda olduğu gibi FotoSan'ı tercih eden bir çalışmada (33), FDT'nin (TBO/Işık) etkinliği NaOCl ve FDT/NaOCl ile karşılaştırılmıştır. Tedaviler 30 sn gerçekleştirilmiş ve FDT, NaOCl'den daha az olmak üzere ciddi bakteriyel azalma sağlamıştır. Otuz sn, 0,1 mg/mL TBO ile FDT sonrası bizim çalışmamıza benzer %97,1 azalma görülmüştür. NaOCl sonrası FDT

uygulama ise ilave azalmalar başarmıştır. NaOCl ile irrigasyonda %99,34 azalma görülmüşken, FDT desteği ile %99,90 azalma sağlanmıştır. Başka bir çalışmada (133) FDT'nin *E. faecalis* biyofilmine olan etkisi, değişik lazer sistemleri ile karşılaştırılmıştır ve bizim çalışmamızda olduğu gibi SF ve NaOCl kontrol grubu olarak kullanılmıştır. MB'nin 60 sn ışınlanması ile sağlanan etki kök kanal duvarı yüzeyinde %98,13 bulunmuş ve bizim çalışmamıza benzerlik göstermiştir. Aynı şekilde NaOCl ile irrigasyon, FDT ve diğer lazer sistemlerinden daha etkili görülmüş, SF ise en başarısız grup olmuştur. Bago ve ark (9), %2,5'lik NaOCl, %2,5'lik NaOCl'nin EndoActivator ile aktivasyonu, diyet lazer (LaserHF), iki farklı diyet lazer ve FS (LaserHF/TBO ve Helbo/fenotiyazin klorit) ile FDT'nin antibakteriyel etkinliklerini 7 günlük *E. faecalis* biyofilmi üzerine karşılaştırmışlardır. Kontrol grubu olarak SF kullanmışlar ve bizim çalışmamızda elde edilen bulgular gibi tüm gruplarda önemli bakteriyel azalma gözlemişlerdir. Fakat bizim çalışmamızdan farklı olarak SF, geleneksel NaOCl irrigasyonu ve diyet lazer aralarında istatistiksel fark olmadan diğer gruplardan daha az etkili olmuştur. FDT ve EndoActivator en başarılı gruplar olarak bizim bulgularımız ile çelişmiştir.

Schiffner ve ark (63) *in vitro* çalışmalarında *E. faecalis* ile enfekte diş örneklerinde kısa dönem tedavi gruplarında SF irrigasyonu, SF/FS/Işık, SF sonrası sadece FS ve SF sonrası sadece ışık kullanmışlar ve tedaviler sonrası hemen mikrobiyolojik değerlendirme gerçekleştirilmiştir. Uzun dönem tedavi gruplarında ise SF, SF/NaOCl ve SF/NaOCl/FDT kullanmışlar ve 2 ve 4 gün sonra yeniden mikrobiyolojik değerlendirme yapmışlardır. Kısa dönem bulgularda 5 mL SF ile irrigasyonda mevcut çalışmayla uyumlu $1,14 \pm 0,23 \log_{10}$ azalması görülmüştür. Sadece FS ve sadece Işık uygulamaları, SF ile irrigasyona ilave anlamlı bakteri azalmaları sağlamamış, FS/Işık uygulama ise mevcut çalışmaya benzer log 2'ye yakın bir azalma sağlamıştır.

Çalışmamızda kullandığımız test MO'su *E. faecalis* dışındaki endodontik patojenlere karşı da FDT'nin etkisi incelenmiştir. Tek köklü çekilmiş insan dişlerinde *A. israelii*, *F. nucleatum*, *P. gingivalis* ve *P. intermedia* içeren çoklu tür bir biyofilme FDT etkinliğini değerlendiren çalışmalarında Fimple ve ark (135), FS ajan olarak MB kullanmışlar, ışınlama 665 nm dalga boyunda ışık yayan bir diyet lazer ile gerçekleştirilmiştir. Bizim çalışmamız gibi ışınlama süreci kesikli gerçekleştirilerek

ışık uygulama arasında belirli bir süre ara verilip tekrar ışık uygulanmıştır fakat şimdiki çalışmadan farklı olarak 2,5 dk (2 kez) uygulanmıştır. MB'nin BHI broth ve fosfat tamponlu salinde çözünmesiyle hazırlanan süspansiyonlara ışık uygulanması ile sırasıyla %73 ve 80 CFU azalması bulgulanmıştır. FDT'nin standart endodontik antimikrobiyal tedaviye ilave katkıları olacağı sonucunu bildirmişlerdir. Farklı MO'lar üzerine yürütülen diğer bir çalışmada (8), 4 farklı bakteri türü, *F. nucleatum*, *P. micros*, *P. intermedia* ve *S. intermedius*, üzerine FDT'nin antibakteriyel etkileri planktonik süspansiyonda ve yapay kök kanallarında araştırılmıştır. FS olarak bizim gibi TBO kullanılmış fakat ışınlama diyet bir lazer yardımıyla yapılmıştır. Sadece ışık ve sadece TBO'ya göre TBO/Işık uygulamasının tüm MO'larda anlamlı derecede fazla bakteri sayısı azalması sağladığı bulunmuştur. Enerji dozunun artırılması bakteri ölümünü artırmışken, TBO konsantrasyonunun artırılmasının bakteri ölümüne etkisi sınırlı bulunmuştur.

Mekanik şekillendirme sonrası FDT uygulamanın bakteriyel yükte azalma etkinliği de değerlendirilmiştir (122). *E. faecalis* ile deneysel olarak enfekte edilen kanallarda şekillendirme sırasında dişler %2,5'lik NaOCl veya SF ile yıkanmış ve sonrasında FDT uygulanmıştır. FS olarak MB ve TBO kullanılmıştır. NaOCl kullanılarak gerçekleştirilen preparasyon, SF kullanarak yapılan preparasyondan daha etkili olmuş, sonrasında uygulanan FDT prosedürü kanal içi bakteri popülasyonunda azalmayı desteklemiştir ama etki istatistiksel olarak anlamlı görülmemiştir. MB ve TBO arasında bir fark bulunmamıştır. Araştırmacılar, FDT ile tam bir bakteriyel eliminasyon olmamasının nedenleri arasında özellikle dentin tübüleri ve düzensizliklerden dolayı kanallarda oksijenin düşük konsantrasyonda olmasını ileri sürmüşler ve böylece oluşan sitotoksik oksijen türlerinin engellendiği veya minimize olduğunu belirtmişlerdir. Ng ve ark (128), pulpal nekrozlu ve periapikal patolojiye sahip çekilmiş dişlerde yapmış oldukları çalışmalarda kanalların kemomekanik temizlenmesi sonrası FDT uygulamışlar ve FDT ile bakteriyel yükün azaldığını bulmuşlardır fakat tam bir eliminasyon sağlanamamasını; (i) FS'nin dentin komponentleriyle etkileşimi sonucu tübüllerde tam olmayan FS penetrasyonuna, (ii) kanal biyofilmlerine FS'nin penetrasyonundaki başarısızlığa ve (iii) yetersiz oksijene bağlamışlardır.

FDT’de ışınlama enerjisinin dozunun ve verim gücünün artması ile bakteriyel etkinlik artmaktadır (123). Fakat yüksek güç yoğunlukları, düşük oksijene sahip dentin tübülleri ile kaplı bir mikroçevrede moleküler oksijenin hızlı tükenmesine yol açmakta ve singlet oksijen aracılı hasarı engellemekte veya minimize etmektedir (11). Oksijen tükenmesi problemini aşmak için ışık aktarımının bölünmesi ve belirli bir süre ara verildikten sonra tekrardan ışık uygulanması önerilmektedir (11). Mevcut çalışmada zaman parametresinde bu faktör göz önüne alındı ve üreticinin de talimatları doğrultusunda 30 sn’lik bir ışık uygulama sonrası anoksik duruma gelmiş kök kanal sisteminin tekrardan oksijen ile dolması sağlandı, sonrasında tekrardan 30 sn’lik bir ışık uygulaması gerçekleştirildi. İstatistiksel bir fark olmasa da mevcut çalışmada da ışık uygulama süresinin artması ve 30 sn’lik bir ara verilmesi etkinliği artırmıştır.

FDT’de kullanılan ışık aktarım sisteminin yerleşiminin kök apeksine yakınlığı ve ışık dağılımının kök kanalı boyunca homojen olması daha etkili sonuçlara yol açmaktadır (132). Çalışmamızda kullandığımız FotoSan sisteminde aktarım parçasının apikal ebatı 500 µm ve apikal kısmın açısı 0,03’dir. Bu durum aktarım parçasının kök kanalında apeksten uzak yerleşimine yol açmaktadır. FDT’de lazer uygulamaları sırasında optik bir fiber/difüzör kullanılması, giriş kavitesinden lazer ışınının yönlendirilmesinden daha etkilidir (132). Bu çalışmada FDT ile elde edilen etkinin NaOCl’den daha düşük olmasının olası sebepleri arasında sistemde önerilen bu parçanın geniş ebata sahip olması sonucu apikalden uzakta lokalize olması ve buna bağlı ışık dağılımındaki yetersizliği olabilir.

Geleneksel endodontik tedavilerin ve FDT’nin bakteriyel eliminasyonda tam bir başarı sağlayamaması üzerine son dönemlerde araştırmacıların odaklandığı konulardan bir tanesi NP’lerin antimikrobiyal amaçlı kullanımınıdır (60, 142, 219, 220). Kitosan (200), magnezyum oksit (249), çinko oksit (201), QPEI (279), PLGA (65) ve AgNP (60, 220) gibi NP’ler kök kanal dezenfeksiyonunda yıkama solüsyonu olarak, kanal patları ve kanal içi ilaçlara eklenerek ve kanal dolgusu öncesi dezenfeksiyonu artırmak amacıyla incelenmiştir.

AgNP’ler en az bir boyutta ebat olarak 1-100 nm’dir ve partikül boyutunun azalması ile yüzey alanı-hacim oranı önemli ölçüde yükselmekte ve bu da fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinde önemli değişikliklere yol açmaktadır (206). Son zamanlarda antibakteriyel, antifungal, antiviral ve antiinflamatuvar aktiviteye sahip

olması nedeniyle biyomedikal uygulamalarda yoğun ilgi görmektedir (206). Antimikrobiyal özelliği, AgNP yüzeylerinin güçlü oksidatif aktivitesi ve biyolojik çevrelere Ag iyonları salmasına atfedilmektedir (280). Hem AgNP hem de Ag iyonları ROS üretmekte ve hücrelerde molekül, organel ve tüm hücre düzeylerinde oksidatif strese neden olmaktadır. AgNP'ler, hücre membranı, lizozom, mitokondri ve nükleus gibi organellere güçlü oksidatif hasarı uyarak apoptozis ve nekroza neden olmaktadır (209). Biyolojik sellüler proteinler, karboksil ve sülfidril içerebilen yan zincirleri nedeniyle negatif yüklüdürler ve bakteri hücreleri içerisindeki negatif yüklü moleküllere Ag'nin yüksek afinitesi, bakteriyel hücrelerin kritik fonksiyonlarını inaktive etmekte ve bakteriyel büyüme ve biyofilm oluşumunu engellemektedir (281). Bu sebepten dolayı pozitif yüklü NP'ler negatif ve nötral olanlara göre daha fazla antibakteriyel etkiye sahiptirler (219).

Diş hekimliğinde AgNP'nin antibakteriyel etkilerine rağmen konak hücreye sitotoksitesisi ve dentini boyaması bu partikülleri *in vivo* uygulamalar için tartışmalı bir ajan yapmaktadır (282). Küçük boyutları, birim kütle başına yüksek bir yüzey alanı, kimyasal kompozisyonu ve yüzey özellikleri, NP'ler ile indüğe edilen toksisitede önemli faktörlerdir ve spesifik olmayan oksidatif hasar en büyük endişelerden biridir (283). Fakat AgNP'ler ile ilgili kabul edilen genel görüş non-toksik oldukları fakat geniş kapsamlı kullanım alanları olan bu partiküllerin olası yan etkileri üzerine daha fazla çalışma yapılması gerektiğidir (203). Gomes-Filho ve ark (27), sıçan bağı dokusuna AgNP'nin cevabını inceledikleri çalışmalarında 23 ve 47 ppm AgNP ile %2,5'lik NaOCl'nin sitotoksitesisini karşılaştırmışlar ve özellikle 23 ppm gibi düşük konsantrasyonlarda AgNP'nin biyoyumlu olduğunu bulmuşlardır. L929 fare fibroblastlarında sitotoksitesisi değerlendirilen bir çalışmada (219) $5,7 \times 10^{-10}$ mol L⁻¹ konsantrasyonda pozitif yüklü AgNP, 1-24 saat aralığında hücre canlılığını etkilemeyerek NaOCl ve KHG'ye göre daha sitouyumlu olduğu görülmüştür. Mevcut çalışmada kullanılan 10 ppm'lik AgNP ile düşük bir sitotoksik cevap beklemek mantıklı olacaktır.

Abbaszadegan ve ark (219), farklı yüzey yükleri (nötral, pozitif ve negatif) ve farklı boyutlarda sentezlenmiş olan stabil AgNP'lerin antibakteriyel aktivitelerini ve sitotoksitesilerini değerlendirmiş ve %2,5'lik NaOCl ve %0,2'lik KHG ile karşılaştırmışlardır. Pozitif yüzey yüklü AgNP, diğer ajanlara göre oldukça düşük

konsantrasyonlarda etkili olmuştur. Benzer şekilde Lotfi ve ark (10) önemli derecede düşük konsantrasyonda AgNP'nin, %5,25'lik NaOCl ile aynı bakterisidal etkiye sahip olabileceğini göstermişlerdir. Çalışmalarında AgNP ile eşdeğer antibakteriyel etkiyi elde etmek için 70 kat fazla NaOCl konsantrasyonu gerekmiştir. Bu çalışmaların bulgularının aksine ve Wu ve ark (60), %0,1'lik AgNP solüsyonunun antibakteriyel etkisini dentin örneklerinde %2'lik NaOCl ve SF ile karşılaştırmışlardır. Rezidüel biyofilm yapısının değerlendirilmesini SEM ve CLSM ile gerçekleştirdikleri çalışmada solüsyonlar ile 6 mL, 2 dk irrigasyon yapılmıştır. %0,1'lik AgNP solüsyonu *E. faecalis* biyofilm yapısını bozmamış ama önemli biyofilm bakteri ölümü sağlamıştır. NaOCl diğer gruplardan daha başarılı bulunmuştur. Bu çalışmanın bulguları bizim çalışmamızın bulgularına benzerlik göstermiştir.

Bizim çalışmamızda ise AgNP, yıkama solüsyonu olarak değil dolgu öncesi dezenfeksiyonu artırma amaçlı kullanıldı. Bu sayede FDT grubu ile karşılaştırmaya olanak sağlandı. AgNP solüsyonları kanallara enjekte edildi ve ajitasyon sonrası 30 sn ve 60 sn bekletildi. AgNP'lerin derişimi 10 ppm ve boyutu 52 nm idi. Sırasıyla %96,80 ve 98,66 ve log olarak 1,62 ve 1,96 bakteriyel azalma bulguları. Her ne kadar NaOCl'den daha az etkili olsa da ciddi bir bakteriyel azalma sağladığı ve umut verici bir ajan olduğu görüldü. AgNP'lere ışık uygulama ise istatistiksel olarak önemli olmayan bir etkinlik artması meydana getirdi.

AgNP'lerin antibakteriyel etkisinde etkili faktörlerden biri NP'lerin boyutlarıdır. *E. coli*, *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *A. actinomycetemcomitans* ve *F. nucleatum* MO'larına karşı farklı boyutlarda (5, 15 ve 55 nm) sentezlenen AgNP'lerin antibakteriyel etkisini değerlendirdikleri çalışmalarında Lu ve ark (284), farklı boyutlarda antibakteriyel etkinin değiştiğini ve en etkili bulguların 5 nm'de görüldüğünü bildirmişlerdir. Daha küçük boyutlarda AgNP'lerin daha fazla yüzey alanı sayesinde bakteriyle daha fazla temas geçtiğini ve etkileşimini artırdığını ileri sürmüşlerdir. Benzer şekilde Martinez-Castanon ve ark (285), 7, 29 ve 89 nm boyutlarında sentezlenen AgNP'leri, *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı incelemişler ve partikül boyutunun azalması ile daha fazla antibakteriyel etki gözlemlemişlerdir. Daha büyük AgNP'lerin kullanılması salınan Ag iyonlarının konsantrasyonlarını düşürmektedir (286). Mevcut çalışmada kullandığımız AgNP'ler 52 nm boyutlara

sahipti. Farklı boyutlarda sentezlenen AgNP'lerin kök kanal dezenfeksiyonunda etkilerini değerlendirmek için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kanal içi ilaç olarak KH ile AgNP kombinasyonu kullanılması *E. faecalis* bakteri sayısını önemli derecede azaltmakta ve sadece KH'ye göre daha başarılı olmaktadır (220). %0,01'lik ve %0,02'lik AgNP jelleri ve KH ile tedavi edilen dentin örneklerinin karşılaştırılmasında %0,02'lik AgNP örneklerinde yaşayan rezidüel bakteri oranı daha az bulunmuştur (60).

Son yıllarda NP'lerin aracılığıyla FDT'nin fotokimyasal etkisini oldukça artırabilen FDT ile nanoteknolojik tekniklerin kombine kullanımı araştırmacıların odaklanmaya başladığı bir konu olmuştur (65, 142). Nanomateryallerin en önemli faydalarından biri de hedef alanda en fazla terapötik etkiyi sağlamak amacıyla ilaç taşınmasını artırma potansiyeline sahip olmasıdır (287). FDT'de önemli dezavantajlardan biri FS'lerin zayıf su çözünürlüğü ve fizyolojik şartlarda sulu bir çevrede kümelenme eğilimleridir (288). Bu sorunu aşmak için ilk aşamada FS'nin fotokimyasal özelliklerini artıran ve kök kanal sisteminin anatomik karmaşıklıklarına FS'nin daha iyi difüzyonuna izin veren bir formülasyonda çözünen FS kullanarak gerçekleştirilen birinci aşama ve sonrasında ışınlama safhasında ışık dağılımını kolaylaştıran ve oksijen varlığını artıran oksijen taşıyıcı bir solüsyonun uygulandığı ikinci aşama olmak üzere iki aşamadan oluşan gelişmiş invaziv olmayan ışık ile aktive dezenfeksiyon prosedürü ileri sürülmüştür (22, 129). Diğer bir yöntem de FS'nin hedef dokuya taşınabilirliğini artırmak için nanoajanların kullanımı yoluyla hidrofobik FS'nin çözünürlüğü artırmaktır (288). FS'ler ile fonksiyonlandırılmış NP'ler; hedef hücreye seçicilik, hücrelere FS'nin uptake'nin artması, hedef hücreden FS'nin sızmasının azalması, konjugasyon sonrası FS molekülünün stabilitesinin artması, FS agregasyonunun neden olduğu fiziksel sönmenin engellenmesi ve ROS salınımının kontrollü olmasına izin vermesi gibi fizikokimyasal avantajlara izin vermektedir (142).

Ksanten bir FS boya olan RB ile fonksiyonlandırılmış Kitosan NP'lerin kullanıldığı bir çalışmada (142) dentinde oluşturulan çoklu tür bir biyofilmde antibiyofilm etkinliği test edilmiş ve bakteriyel hücre membranına artan afinite, biyofilm yapısına daha fazla penetrasyon ve daha fazla bakteri eliminasyonu sağlanmıştır. Bu kombinasyonun kök kanalında bulunan doku inhibitörleri varlığında

antibakteriyel etkinliğinin değerlendirildiği bir çalışmada (7) ise Kitosan NP'nin antibakteriyel etkisi ve fotoaktivasyon sonrası RB'den salınan singlet oksijenin sinerjik etkisi doku inhibitörleri varlığında bile bu kombinasyona önemli antibakteriyel etkinlik sağlama potansiyeli sağlamıştır.

Pagonis ve ark (65), MB yüklü PLGA NP'ler ve ışık ile aktivasyonlarının antibakteriyel etkinliklerini *E. faecalis*'e karşı incelemişlerdir. Solüsyonlar 15 dk kanalda bekletildikten sonra ışınlama diyot bir lazer yardımıyla 5 dk boyunca gerçekleştirilmiştir. Işınlama sonrası CFU değerlerinde anlamlı derecede azalma bulgulanmıştır.

Mevcut çalışmada da AgNP ve TBO arasındaki konjugasyonda hangi deşişimlerin kullanılacağı ve etkili olacağını anlamak için yapılan ön çalışmanın bulguları temelinde 20 ppm TBO ve 10 ppm AgNP solüsyonları arasındaki konjugasyon kök kanallarına enjekte edildikten sonra FDT grubu gibi 1 dk beklendiği ve ışık uygulanmadığı zaman 30 sn ve 60 sn sırasıyla %97,29 ve 97,36 bakteri azalması elde edildi. Bu konjugasyona 30 sn ve 60 sn ışık uygulama ise sırasıyla %99,18 ve 99,61 bakteri azalması sağladı. Log olarak bu değerler 2,14 ve 2,72 idi. Işık uygulama antibakteriyel etkinliği ciddi ölçüde artırdı ve NaOCl grubundan sonra en başarılı grup oldu. Bizim bilgilerimize göre bugüne kadar literatürde TBO ile AgNP arasında bir konjugasyonun fotoaktivasyon ile kullanımına dair bir bilgi bulunmamaktadır. Bu yüzden karşılaştırma yapmak olası olmamıştır. Fakat yukarıda bahsettiğimiz farklı konjugasyonların fotoaktivasyonu ile etkinliklerini arttırdığını bildiren çalışmalar ile mevcut bulgular uyum göstermiştir.

In vitro çalışmalar direk olarak klinik çalışmalara yorumlanamamakla birlikte kliniğe bir ışık tutması nedeniyle önem taşımaktadır. İleri alışmalar ile NP'ler ve NP'lerin fotoaktivasyonlarının *in vivo* alışmalarda nasıl etkiler oluşturacağı belirlenme gereği duymaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmaların sınırlamaları içerisinde elde edilen sonuçlar aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- a) *E. faecalis*'e karşı %2,5'lik NaOCl ile 2 ml el ile irrigasyon yöntemi tüm gruplar arasında en güçlü antibakteriyel etkinlik sergileyen grup olmuştur.
- b) FDT ile tam bir bakteriyel eliminasyon gerçekleşmemekte fakat geleneksel endodontik tedavilere ilave destek sağlayan bir tedavi olması açısından önem taşımaktadır.
- c) 10 ppm konsantrasyon ve 52 nm boyutlarında sentezlenen AgNP kök kanal dezenfeksiyonunda umut verici bir ajandır. AgNP'ye ışık uygulaması etkisinde önemli artma sağlamamaktadır.
- d) Fotosensitizan bir ajan TBO ile nanoajan AgNp'nin kombinasyonu, AgNP'nin etkisini değiştirmemektedir. Fakat bu kombinasyona ışık uygulanması etkisinde artmalara neden olmaktadır ve bu grup NaOCl'den sonra en başarılı grup olmuştur. FDT'nin etkinliğinin artmasında nanoajanların taşıyıcı olarak kullanımını önemli bir rol oynamaktadır.
- e) SF ile elde edilen etkinlik önemli olsa da, en başarısız grup olmuştur ve antimikrobiyal özellik açısından ideal bir irrigan değildir.

7. KAYNAKLAR

1. Nair PN. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *Int Endod J* 2006; 39: 249-281.
2. Siqueira JF, Jr., Araujo 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: 499-502.
3. Nair PN, Henry S, Cano V, Vera J. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 99: 231-252.
4. Peters OA, Schonenberger K, Laib A. Effects of four Ni-Ti preparation techniques on root canal geometry assessed by micro computed tomography. *Int Endod J* 2001; 34: 221-230.
5. Bystrom A, Happonen RP, Sjogren U, Sundqvist G. Healing of periapical lesions of pulpless teeth after endodontic treatment with controlled asepsis. *Endod Dent Traumatol* 1987; 3: 58-63.
6. Siqueira JF. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. *Int Endod J* 2001; 34: 1-10.
7. Shrestha A, Kishen A. Antibacterial efficacy of photosensitizer functionalized biopolymeric nanoparticles in the presence of tissue inhibitors in root canal. *J Endod* 2014; 40: 566-570.
8. Williams JA, Pearson GJ, Colles MJ. Antibacterial action of photoactivated disinfection {PAD} used on endodontic bacteria in planktonic suspension and in artificial and human root canals. *J Dent* 2006; 34: 363-371.
9. Bago I, Plecko V, Gabric Panduric D, Schauerl Z, Baraba A, Anic I. Antimicrobial efficacy of a high-power diode laser, photo-activated disinfection, conventional and sonic activated irrigation during root canal treatment. *Int Endod J* 2013; 46: 339-347.
10. Lotfi M, Vosoughhosseini S, Ranjkesh B, Khani S, Saghiri M, Zand V. Antimicrobial efficacy of nanosilver, sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate against *Enterococcus faecalis*. *Afr J Biotechnol* 2011; 10: 6799-6803.

11. Singh S, Nagpal R, Manuja N, Tyagi SP. Photodynamic therapy: An adjunct to conventional root canal disinfection strategies. *Aust Endod J* 2015; 41: 54-71
12. Sjogren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 1997; 30: 297-306.
13. Zhu X, Wang Q, Zhang C, Cheung GS, Shen Y. Prevalence, phenotype, and genotype of *Enterococcus faecalis* isolated from saliva and root canals in patients with persistent apical periodontitis. *J Endod* 2010; 36: 1950-1955.
14. Siqueira JF, Jr., Rocas IN, Souto R, de Uzeda M, Colombo AP. Actinomyces species, streptococci, and *Enterococcus faecalis* in primary root canal infections. *J Endod* 2002; 28:168-172.
15. Love RM. *Enterococcus faecalis*- a mechanism for its role in endodontic failure. *Int Endod J* 2001; 34: 399-405.
16. George S, Kishen A, Song KP. The role of environmental changes on monospecies biofilm formation on root canal wall by *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2005; 31: 867-872.
17. Rocas IN, Siqueira JF, Santos KRN. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod* 2004; 30: 315-320.
18. Dougherty TJ, Gomer CJ, Henderson BW, Jori G, Kessel D, Korbelik M, Moan J, Peng Q. Photodynamic therapy. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 889-905.
19. Soukos NS, Chen PS, Morris JT, Ruggiero K, Abernethy AD, Som S, Foschi F, Doucette S, Bammann LL, Fontana CR, Doukas AG, Stashenko PP. Photodynamic therapy for endodontic disinfection. *J Endod* 2006; 32: 979-984.
20. Silva Garcez A, Nunez SC, Lage-Marques JL, Jorge AO, Ribeiro MS. Efficiency of NaOCl and laser-assisted photosensitization on the reduction of *Enterococcus faecalis* in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 102: 93-98.
21. Garcez AS, Ribeiro MS, Tegos GP, Nunez SC, Jorge AOC, Hamblin MR. Antimicrobial photodynamic therapy combined with conventional endodontic treatment to eliminate root canal biofilm infection. *Lasers Surg Med* 2007; 39: 59-66.

22. George S, Kishen A. Advanced noninvasive light-activated disinfection: assessment of cytotoxicity on fibroblast versus antimicrobial activity against *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2007; 33: 599-602.
23. George S, Kishen A. Photophysical, photochemical, and photobiological characterization of methylene blue formulations for light-activated root canal disinfection. *J Biomed Opt* 2007; 12: 034029.
24. Cheng Z, Al Zaki A, Hui JZ, Muzykantov VR, Tsourkas A. Multifunctional nanoparticles: cost versus benefit of adding targeting and imaging capabilities. *Science* 2012; 338: 903-910.
25. Rai MK, Deshmukh SD, Ingle AP, Gade AK. Silver nanoparticles: the powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria. *J Appl Microbiol* 2012; 112: 841-852.
26. Guzman M, Dille J, Godet S. Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine* 2012; 8: 37-45.
27. Gomes-Filho JE, Silva FO, Watanabe S, Cintra LT, Tendoro KV, Dalto LG, Pacanaro SV, Lodi CS, de Melo FF. Tissue reaction to silver nanoparticles dispersion as an alternative irrigating solution. *J Endod* 2010; 36: 1698-1702.
28. Ricucci D, Siqueira JF, Jr. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *J Endod* 2010; 36: 1277-1288.
29. Bowden GH, Hamilton IR. Survival of oral bacteria. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998; 9: 54-85.
30. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 1999; 284: 1318-1322.
31. Sundqvist G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1994; 78: 522-530.
32. Sunde PT, Olsen I, Debelian GJ, Tronstad L. Microbiota of periapical lesions refractory to endodontic therapy. *J Endod* 2002; 28: 304-310.
33. Rios A, He J, Glickman GN, Spears R, Schneiderman ED, Honeyman AL. Evaluation of photodynamic therapy using a light-emitting diode lamp against *Enterococcus faecalis* in extracted human teeth. *J Endod* 2011; 37: 856-859.

34. Schlafer S, Vaeth M, Horsted-Bindslev P, Frandsen EV. Endodontic photoactivated disinfection using a conventional light source: an in vitro and ex vivo study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010; 109: 634-641.
35. Erginkaya Z, Yurdakul NE, Karakaş A. *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis*'in starter ve probiyotik kültür özellikleri. *GIDA* 2007; 32: 137-142.
36. Ruoff KL, de la Maza L, Murtagh MJ, Spargo JD, Ferraro MJ. Species identities of enterococci isolated from clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 435-437.
37. Yıldırım M. Enterokoklar ve Enterokoklarla Gelişen Enfeksiyonlar. *Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2007; 2: 46-52.
38. Gilmore MS. *The Enterococci: pathogenesis, molecular biology, and antibiotic resistance*. Washington: ASM Press, 2002.
39. Ramsey M, Hartke A, Huycke M. *The Physiology and Metabolism of Enterococci*. In: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shankar N, Eds. *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection*. Boston, 2014.
40. Yüksel FN. Gıda kaynaklı *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* suşlarında virülans faktörlerinin belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi 2012, Ankara (Danışman: Prof. Dr. Mustafa AKÇELİK).
41. Koch S, Hufnagel M, Theilacker C, Huebner J. Enterococcal infections: host response, therapeutic, and prophylactic possibilities. *Vaccine* 2004; 22: 822-830.
42. Jett BD, Huycke MM, Gilmore MS. Virulence of enterococci. *Clin Microbiol Rev* 1994; 7: 462-478.
43. Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP, Surveil NNI. Nosocomial infections in combined medical-surgical intensive care units in the United States. *Infect Cont Hosp Ep* 2000; 21: 510-515.
44. Hunt CP. The emergence of enterococci as a cause of nosocomial infection. *Brit J Biomed Sci* 1998; 55: 149-156.
45. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod* 2006; 32: 93-98.

46. Dautle MP, Ulrich RL, Hughes TA. Typing and subtyping of 83 clinical isolates purified from surgically implanted silicone feeding tubes by random amplified polymorphic DNA amplification. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 414-421.
47. Wang QQ, Zhang CF, Chu CH, Zhu XF. Prevalence of *Enterococcus faecalis* in saliva and filled root canals of teeth associated with apical periodontitis. *Int J Oral Sci.* 2012; 4: 19-23.
48. Dahlen G, Samuelsson W, Molander A, Reit C. Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from the root canal. *Oral Microbiol Immunol* 2000; 15: 309-312.
49. Hancock HH 3rd, Sigurdsson A, Trope M, Moiseiwitsch J. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radio Endod* 2001; 91: 579-586.
50. Peciuliene V, Balciuniene I, Eriksen HM, Haapasalo M. Isolation of *Enterococcus faecalis* in previously root-filled canals in a Lithuanian population. *J Endod* 2000; 26: 593-595.
51. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjogren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 85: 86-93.
52. Sobrinho AP, Barros MH, Nicoli JR, Carvalho MA, Farias LM, Bambirra EA, Bahia MG, Vieira EC. Experimental root canal infections in conventional and germ-free mice. *J Endod* 1998; 24: 405-408.
53. Fabricius L, Dahlen G, Holm SE, Moller AJ. Influence of combinations of oral bacteria on periapical tissues of monkeys. *Scand J Dent Res* 1982; 90: 200-206.
54. Lee W, Lim S, Son HH, Bae KS. Sonicated extract of *Enterococcus faecalis* induces irreversible cell cycle arrest in phytohemagglutinin-activated human lymphocytes. *J Endod* 2004; 30: 209-212.
55. Sedgley CM, Lennan SL, Clewell DB. Prevalence, phenotype and genotype of oral enterococci. *Oral Microbiol Immunol* 2004; 19: 95-101.
56. Orstavik D, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endod Dent Traumatol* 1990; 6: 142-149.

57. Haapasalo M, Orstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res* 1987; 66: 1375-1379.
58. Sedgley CM, Lennan SL, Appelbe OK. Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals ex vivo. *Int Endod J* 2005; 38: 735-742.
59. Figdor D, Davies JK, Sundqvist G. Starvation survival, growth and recovery of *Enterococcus faecalis* in human serum. *Oral Microbiol Immunol* 2003; 18: 234-239.
60. Wu D, Fan W, Kishen A, Gutmann JL, Fan B. Evaluation of the antibacterial efficacy of silver nanoparticles against *Enterococcus faecalis* biofilm. *J Endod* 2014; 40: 285-290.
61. Tanriverdi F, Esener T, Erganis O, Belli S. An in vitro test model for investigation of disinfection of dentinal tubules infected with *Enterococcus faecalis*. *Braz Dent J* 1997; 8: 67-72.
62. da Frota MF, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M, Bagnato VS, Espir CG, Berbert FL. Photodynamic therapy in root canals contaminated with *Enterococcus faecalis* using curcumin as photosensitizer. *Lasers Med Sci* 2015; 30: 1867-1872.
63. Schiffner U, Cachovan G, Bastian J, Sculean A, Eick S. In vitro activity of photoactivated disinfection using a diode laser in infected root canals. *Acta Odontol Scand* 2014; 72: 673-680.
64. Christo JE, Zilm PS, Sullivan T, Cathro PR. Efficacy of low concentrations of sodium hypochlorite and low-powered Er,Cr:YSGG laser activated irrigation against an *Enterococcus faecalis* biofilm. *Int Endod J* 2016; 49: 279-86.
65. Pagonis TC, Chen J, Fontana CR, Devalapally H, Ruggiero K, Song X, Foschi F, Dunham J, Skobe Z, Yamazaki H, Kent R, Tanner AC, Amiji MM, Soukos NS. Nanoparticle-based endodontic antimicrobial photodynamic therapy. *J Endod* 2010; 36: 322-328.
66. Bonnett R. *Chemical Aspects of Photodynamic Therapy*. Gordon and Breach Science Publishing, 2000.
67. Alexandra BO, Harold SF. Dye sensitizers for photodynamic therapy. *Materials* 2013; 6: 817-840.

68. Chrepa V, Kotsakis GA, Pagonis TC, Hargreaves KM. The effect of photodynamic therapy in root canal disinfection: a systematic review. *J Endod* 2014; 40: 891-898.
69. Gursoy H, Ozcakil-Tomruk C, Tanalp J, Yilmaz S. Photodynamic therapy in dentistry: a literature review. *Clin Oral Investig* 2013; 17: 1113-1125.
70. Moan J, Berg K. The photodegradation of porphyrins in cells can be used to estimate the lifetime of singlet oxygen. *Photochem Photobiol* 1991; 53: 549-553.
71. Benov L. Photodynamic Therapy: Current Status and Future Directions. *Med Princ Pract* 2015; 24 Suppl 1: 14-28
72. Taylor EL, Brown SB. The advantages of aminolevulinic acid photodynamic therapy in dermatology. *J Dermatolog Treat* 2002; 13 Suppl 1: 3-11.
73. Finsen N. *Phototherapy*. London: E. Arnold. 1901.
74. Allison RR, Mota HC, Sibata CH. Clinical PD/PDT in North America: An historical review. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2004; 1: 263-277.
75. Raab O. On the effect of fluorescent substances on infusoria (German). *Z Biol* 1900; 39: 524.
76. Von Tappeiner H, Jesionek A. Therapeutische Versuche mit fluoreszierenden Stoffen (Therapeutic experimennts with fluorescent substances). *Muench Med Wochenshr* 1903; 47: 2042-2044.
77. Tunçer S. Yeni sentezlenmiş ışığa duyarlı maddeler (fotosensitayzırlar) kullanarak uygulanan fotodinamik terapinin serviks epitelyal karsinoma ve mezotelyoma hücrelerine etkisi. Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi 2007, Gebze (Danışman: Yrd. Doç. Dr. Nil Saydan).
78. Meyer-Betz F. Untersuchungen über die Biologische (Photodynamische) Wirkung des Hamatoporphyrins und anderer Derivative des Blut- und Galenfarbstoffs (Investigation on the biological (photodynamic) action of haematoporphyrin and other derivatives of blood and bile pigments). *Deutsch Arch Klin Med* 1913; 112: 476-503.
79. Auler H, Banzer G. Untersuchungen über die rolle der porphrine bei geschwulstkranken menschen und tieren. *Z Krebsforsch* 1942; 53: 65-68.

80. Schwartz SK, Abosolon K, Vermund H. Some relationship of porphyrins, X-rays and tumors. Univ Minn Med Bull 1955; 27: 7-8.
81. Lipson RL, Baldes EJ, Olsen MJ. The use of a derivative of hematoporphyrin in tumor detection. J Natl Cancer Inst 1961; 26: 1-11.
82. Öncü B. Antimikrobiyal fotodinamik terapinin, alt 20 yaş dışı çekimlerinin postoperatif dönemine olan etkilerinin incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi 2013, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. Serhat Yalçın)
83. Dougherty TJ, Kaufman JE, Goldfarb A, Weishaupt KR, Boyle D, Mittleman A. Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. Cancer Res 1978; 38: 2628-2635.
84. Kutlubay Z, Pehlivan Ö, Engin B. Fotodinamik Tedavi. Dermatoz 2011; 2: 391-404.
85. Dolmans DE, Fukumura D, Jain RK. Photodynamic therapy for cancer. Nat Rev Cancer 2003; 3: 380-387.
86. Moor ACE, Ortel B, Hasan, T. Mechanism of Photodynamic Therapy. Hong Kong: Sun Fung Offset Binding Co. Ltd., 2003.
87. Gluckman JL. Hematoporphyrin photodynamic therapy: Is there truly a future in head and neck oncology? Reflections on a 5-year experience. Laryngoscope 1991; 101: 36-42.
88. Dai T, Huang YY, Hamblin MR. Photodynamic therapy for localized infections-state of the art. Photodiagnosis Photodyn Ther 2009; 6: 170-188.
89. Foote CS. Definition of type I and type II photosensitized oxidation. Photochem Photobiol 1991; 54: 659.
90. Mroz P, Bhaumik J, Dogutan, DK, Aly Z, Kamal Z, Khalid L, Kee HL, Bocian DF, Holten D, Lindsey JS, Hamblin MR. Imidazole metalloporphyrins as photosensitizers for photodynamic therapy: role of molecular charge, central metal and hydroxyl radical production. Cancer Lett 2009; 282: 63-76.
91. Taşkın GC. Fotodinamik terapi uygulamaları için ışığa duyarlı yeni silisyum ftalosiyanimler. Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi 2014, Gebze (Danışman: Doç. Dr. Devrim Atilla).

92. Ashur I, Goldschmidt R, Pinkas I, Salomon Y, Szewczyk G, Sarna T, Scherz A. Photocatalytic generation of oxygen radicals by the water-soluble bacteriochlorophyll derivative WST11, noncovalently bound to serum albumin. *J Phys Chem A* 2009; 113: 8027-8037.
93. Pattison DI, Rahmanto AS, Davies MJ. Photooxidation of proteins. *Photochem Photobiol Sci* 2012; 11: 38-53.
94. Davies MJ. Reactive species formed on proteins exposed to singlet oxygen. *Photochem Photobiol Sci* 2004; 3: 17-25.
95. Girotti AW. Photosensitized oxidation of membrane lipids: reaction pathways, cytotoxic effects, and cytoprotective mechanisms. *J Photochem Photobiol B* 2001; 63: 103-113.
96. Epe B. DNA damage spectra induced by photosensitization. *Photochem Photobiol Sci* 2012; 11: 98-106.
97. Cadet J, Douki T, Ravanat JL. Oxidatively generated base damage to cellular DNA. *Free Radic Biol Med* 2010; 49: 9-21.
98. Agostinis P, Buytaert E, Breyskens H, Hendrickx N. Regulatory pathways in photodynamic therapy induced apoptosis. *Photochem Photobiol Sci* 2004; 3: 721-729.
99. Ricchelli F, Franchi L, Miotto G, Borsetto L, Gobbo S, Nikolov P, Bommer JC, Reddi E. Meso-substituted tetra-cationic porphyrins photosensitize the death of humanfibrosarcoma cells via lysosomal targeting. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; 61: 250-281.
100. Pavani C, Uchoa AF, Oliveira CS, Iamamoto Y, Baptista MS. Effect of zinc insertion and hydrophobicity on the membrane interactions and PDT activity of porphyrin photosensitizers. *Photochem Photobiol Sci* 2009; 8: 233-240.
101. Oleinick NL, Evans HH. The photobiology of photodynamic therapy: cellular targets and mechanisms. *Radiat Res* 1998; 150: 146-156.
102. Liu T, Wu LY, Berkman CE. Prostate-specific membrane antigen-targeted photodynamic therapy induces rapid cytoskeletal disruption. *Cancer Lett* 2010; 296: 106-112.

103. Castano AP, Demidova TN, Hamblin MR. Mechanisms in photodynamic therapy: part two-cellular signaling, cell metabolism and modes of cell death. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2005; 2: 1-23.
104. Benov L, Craik J, Batinic-Haberle I. The potential of Zn(II) N-alkylpyridylporphyrins for anticancer therapy. *Anticancer Agents Med Chem* 2011; 11: 233-241.
105. Al-Mutairi DA, Craik JD, Batinic-Haberle I, Benov LT. Induction of oxidative cell damage by photo-treatment with zinc meta N-methylpyridylporphyrin. *Free Radic Res* 2007; 41: 89-96.
106. Tsoukas MM, Gonzales S, Flotte TJ, Anderson RR, Sherwood ME. Wavelength and fluence effect on vascular damage with photodynamic therapy on skin. *J Invest Dermatol* 2000; 114: 303-308.
107. Meisel P, Kocher T. Photodynamic therapy for periodontal diseases: state of the art. *J Photochem Photobiol B* 2005; 79: 159-170.
108. Pushpan SK, Venkatraman S, Anand VG, Sankar J, Parmeswaran D, Ganesan S, Chandrashekar TK, Porphyrins in photodynamic therapy- a search for ideal photosensitizers. *Curr Med Chem Anticancer Agents* 2002; 2: 187-207.
109. Alves E, Costa L, Carvalho CM, Tome JP, Faustino MA, Neves MG, Tome AC, Cavaleiro JA, Cunha A, Almeida A. Charge effect on the photoinactivation of Gram-negative and Gram-positive bacteria by cationic meso-substituted porphyrins. *BMC Microbiol* 2009; 9: 70.
110. Soukos NS, Goodson JM. Photodynamic therapy in the control of oral biofilms. *Periodontol* 2000 2011; 55: 143-166.
111. Ebermann R, Alth G, Kreitner M, Kubin A. Natural products derived from plants as potential drugs for the photodynamic destruction of tumor cells. *J Photochem Photobiol B* 1996; 36: 95-97.
112. Allison RR, Downie GH, Cuenca R, Hu XH, Childs CJ, Sibata CH. Photosensitizers in clinical PDT. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2004; 1: 27-42.
113. Usuda J, Kato H, Okunaka T, Furukawa K, Tsutsui H, Yamada K, Suga Y, Honda H, Nagatsuka Y, Ohira T, Tsuboi M, Hirano T. Photodynamic therapy (PDT) for lung cancers. *J Thorac Oncol* 2006; 1: 489-493.

114. Williams JA, Pearson GJ, Colles MJ, Wilson M. The effect of variable energy input from a novel light source on the photoactivated bactericidal action of toluidine blue O on *Streptococcus Mutans*. *Caries Res* 2003; 37: 190-193.
115. Hecker S, Hiller KA, Galler KM, Erb S, Mader T, Schmalz G. Establishment of an optimized ex vivo system for artificial root canal infection evaluated by use of sodium hypochlorite and the photodynamic therapy. *Int Endod J* 2013; 46: 449-457.
116. Bonsor SJ, Nichol R, Reid TM, Pearson GJ. An alternative regimen for root canal disinfection. *Br Dent J* 2006; 201: 101-105.
117. Bonsor SJ, Nichol R, Reid TM, Pearson GJ. Microbiological evaluation of photo-activated disinfection in endodontics (an in vivo study). *Br Dent J* 2006; 200: 337-341.
118. Vaziri S, Kangarlou A, Shahbazi R, Nazari Nasab A, Naseri M. Comparison of the bactericidal efficacy of photodynamic therapy, 2.5% sodium hypochlorite, and 2% chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* in root canals; an in vitro study. *Dent Res J* 2012; 9: 613-618.
119. Vahabi S, Fekrazad R, Ayremlou S, Taheri S, Zangeneh N. The effect of antimicrobial photodynamic therapy with radachlorin and toluidine blue on *streptococcus mutans*: an in vitro study. *J Dent* 2011; 8: 48-54.
120. Bergmans L, Moisiadis P, Huybrechts B, Van Meerbeek B, Quirynen M, Lambrechts P. Effect of photo-activated disinfection on endodontic pathogens ex vivo. *Int Endod J* 2008; 41: 227-239.
121. Johns DA, Varughese JM, Thomas K, Abraham A, James EP, Maroli RK. Clinical and radiographical evaluation of the healing of large periapical lesions using triple antibiotic paste, photo activated disinfection and calcium hydroxide when used as root canal disinfectant. *J Clin Exp Dent* 2014; 6: 230-236.
122. Souza LC, Brito PRR, de Oliveira JCM, Alves FRF, Moreira E JL, Sampaio HR, Roças IN, Siqueira JF, Jr. Photodynamic therapy with two different photosensitizers as a supplement to instrumentation/irrigation procedures in promoting intracanal reduction of *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2010; 36: 292-296.

123. Yao N, Zhang CF, Chu CH. Effectiveness of photoactivated disinfection (PAD) to kill *Enterococcus faecalis* in planktonic solution and in an infected tooth model. *Photomed Laser Surg* 2012; 30: 699-704.
124. Fonseca MB, Tessare PO, Pallota RC, Ferreira H, Denardin OVP, Rapoport A, Roças IN, Siqueira JF. Photodynamic therapy for root canals infected with *Enterococcus faecalis*. *Photomed Laser Surg* 2008; 26: 209-213.
125. Lim Z, Cheng JL, Lim TW, Teo EG, Wong J, George S, Kishen A. Light activated disinfection: an alternative endodontic disinfection strategy. *Aust Dent J* 2009; 54: 108-114.
126. Komine C, Tsujimoto Y. A small amount of singlet oxygen generated via excited methylene blue by photodynamic therapy induces the sterilization of *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2013; 39: 411-414.
127. Xu Y, Young MJ, Battaglino RA, Morse LR, Fontana CR, Pagonis TC, Kent R, Soukos NS. Endodontic antimicrobial photodynamic therapy: safety assessment in mammalian cell cultures. *J Endod* 2009; 35: 1567-1572.
128. Ng R, Singh F, Papamanou DA, Song X, Patel C, Holewa C, Patel N, Klepac-Ceraj V, Fontana CR, Kent R, Pagonis TC, Stashenko PP, Soukos NS. Endodontic photodynamic therapy ex vivo. *J Endod* 2011; 37: 217-22.
129. George S, Kishen A. Augmenting the antibiofilm efficacy of advanced noninvasive light activated disinfection with emulsified oxidizer and oxygen carrier. *J Endod* 2008; 34: 1119-1123.
130. Miranda RG, Santos EB, Souto RM, Gusman H, Colombo AP. Ex vivo antimicrobial efficacy of the EndoVac system plus photodynamic therapy associated with calcium hydroxide against intracanal *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 2013; 46: 499-505.
131. Foschi F, Fontana CR, Ruggiero K, Riahi R, Vera A, Doukas AG, Pagonis TC, Kent R, Stashenko PP, Soukos NS. Photodynamic inactivation of *Enterococcus faecalis* in dental root canals in vitro. *Lasers Surg Med* 2007; 39: 782-787.
132. Garcez AS, Fregnani ER, Rodriguez HM, Nunez SC, Sabino CP, Suzuki H, Ribeiro MS. The use of optical fiber in endodontic photodynamic therapy. Is it really relevant? *Lasers Med Sci* 2013; 28: 79-85.

133. Cheng XG, Guan SM, Lu H, Zhao CM, Chen XX, Li N, Bai Q, Tian Y, Yu Q. Evaluation of the bactericidal effect of Nd:YAG, Er:YAG, Er,Cr:YSGG laser radiation, and antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) in experimentally infected root canals. *Lasers Surg Med* 2012; 44: 824-831.
134. Yildirim C, Karaarslan ES, Ozsevik S, Zer Y, Sari T, Usumez A. Antimicrobial efficiency of photodynamic therapy with different irradiation durations. *Eur J Dent* 2013; 7: 469-473.
135. Fimple JL, Fontana CR, Foschi F, Ruggiero K, Song X, Pagonis TC, Tanner AC, Kent R, Doukas AG, Stashenko PP, Soukos NS. Photodynamic treatment of endodontic polymicrobial infection in vitro. *J Endod* 2008; 34: 728-734.
136. Garcez AS, Nunez SC, Hamblin MR, Ribeiro MS. Antimicrobial effects of photodynamic therapy on patients with necrotic pulps and periapical lesion. *J Endod* 2008; 34: 138-142.
137. Garcez AS, Nunez SC, Hamblin MR, Suzuki H, Ribeiro MS. Photodynamic therapy associated with conventional endodontic treatment in patients with antibiotic-resistant microflora: a preliminary report. *J Endod* 2010; 36: 1463-1466.
138. Nagayoshi M, Nishihara T, Nakashima K, Iwaki S, Chen KK, Terashita M, Kitamura C. Bactericidal effects of diode laser irradiation on *Enterococcus faecalis* using periapical lesion defect model. *ISRN Dent* 2011; 2011: 870364.
139. Lee YH, Park HW, Lee JH, Seo HW, Lee SY. The photodynamic therapy on *Streptococcus mutans* biofilms using erythrosine and dental halogen curing unit. *Int J Oral Sci* 2012; 4: 196-201.
140. Bulit F, Grad I, Manoil D, Simon S, Wataha JC, Filieri A, Feki A, Schrenzel J, Lange N, Bouillaguet S. Antimicrobial activity and cytotoxicity of 3 photosensitizers activated with blue light. *J Endod* 2014; 40: 427-431.
141. Shrestha A, Kishen A. The effect of tissue inhibitors on the antibacterial activity of chitosan nanoparticles and photodynamic therapy. *J Endod* 2012; 38: 1275-1278.
142. Shrestha A, Kishen A. Antibiofilm efficacy of photosensitizer-functionalized bioactive nanoparticles on multispecies biofilm. *J Endod* 2014; 40: 1604-1610.

143. Lopez-Munoz F, Alamo C, Cuenca E, Shen WW, Clervoy P, Rubio G. History of the discovery and clinical introduction of chlorpromazine. *Ann Clin Psychiatry* 2005; 17: 113-135.
144. Wilkinson F, Helman WP, Ross AB. Quantum yields for the photosensitized formation of the lowest electronically excited singlet-state of molecular-oxygen in solution. *J Phys Chem Ref Data* 1993; 22: 113-262.
145. Epstein JB, Scully C, Spinelli J. Toluidine blue and Lugol's iodine application in the assessment of oral malignant disease and lesions at risk of malignancy. *J Oral Pathol Med* 1992; 21: 160-163.
146. Epstein JB, Oakley C, Millner A, Emerton S, vanderMeij E, Le N. The utility of toluidine blue application as a diagnostic aid in patients previously treated for upper oropharyngeal carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1997; 83: 537-547.
147. Sridharan G, Shankar AA. Toluidine blue: A review of its chemistry and clinical utility. *J Oral Maxillofac Pathol* 2012; 16: 251-255.
148. Kaplan İH. Metilen mavisinin elektropolimerizasyonuna oksidasyon potansiyelinin etkisi ve poli (metilen mavisi) ince filmlerinin oluşum mekanizmasının incelenmesi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans Tezi 2010, Erzurum (Danışman: Yrd. Doç. Murat Alanyalıoğlu).
149. Günhan G. Bazı boyar maddelerin sepiyolit üzerindeki adsorbsiyonunun incelenmesi. Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi 2006, İzmir (Danışman: Prof. Dr. Kadir Yurdakoç).
150. Wainwright M, Crossley KB. Methylene Blue - a therapeutic dye for all seasons? *J Chemother* 2002; 14: 431-443.
151. Bron AJ, Argueso P, Irkeç M, Bright FV. Clinical staining of the ocular surface: Mechanisms and interpretations. *Prog Retin Eye Res* 2015; 44: 36-61.
152. Wilson B. Photodynamic Therapy. Technologies and biophysical techniques for PDT. Photodynamic Therapy Patrice T, Eds. Hong Kong: Sun Fung Offset Binding Co. Ltd, 2003.
153. Yoon I, Li JZ, Shim YK. Advance in photosensitizers and light delivery for photodynamic therapy. *Clin Endosc* 2013; 46: 7-23.

154. Castano AP, Demidova TN, Hamblin MR. Mechanisms in photodynamic therapy: part one-photosensitizers, photochemistry and cellular localization. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2004; 1: 279-293.
155. Juzeniene A, Nielsen KP, Moan J. Biophysical aspects of photodynamic therapy. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2006; 25:7-28.
156. MacDonald IJ, Dougherty TJ. Basic principles of photodynamic therapy. *J Porphyr Phthalocya* 2001; 5: 105-129.
157. Bereket C. Deneysel olarak ratlarda oluşturulan ağız mukozası displazisinde fotodinamik tedavinin etkisinin incelenmesi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi 2006, Samsun (Danışman: Prof. Dr. Melahat Ögütçen Toller).
158. Calin MA, Parasca SV. Light sources for photodynamic inactivation of bacteria. *Lasers Med Sci* 2009; 24: 453-460.
159. Nunes MR, Mello I, Franco GC, de Medeiros JM, Dos Santos SS, Habitante SM, Lage-Marques JL, Raldi DP. Effectiveness of photodynamic therapy against *Enterococcus faecalis*, with and without the use of an intracanal optical fiber: an in vitro study. *Photomed Laser Surg* 2011; 29: 803-808.
160. Takasaki AA, Aoki A, Mizutani K, Schwarz F, Sculean A, Wang CY, Koshy G, Romanos G, Ishikawa I, Izumi Y. Application of antimicrobial photodynamic therapy in periodontal and peri-implant diseases. *Periodontol* 2000 2009; 51: 109-140.
161. Muhammad OH, Chevalier M, Rocca JP, Brulat-Bouchard N, Medioni E. Photodynamic therapy versus ultrasonic irrigation: interaction with endodontic microbial biofilm, an ex vivo study. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2014; 11: 171-181.
162. Gambarini G, Plotino G, Grande NM, Nocca G, Lupi A, Giardina B, De Luca M, Testarelli L. In vitro evaluation of the cytotoxicity of FotoSan light-activated disinfection on human fibroblasts. *Med Sci Monit* 2011; 17: 21-25.
163. Ochsner M. Photophysical and photobiological processes in the photodynamic therapy of tumours. *J Photochem Photobiol B* 1997; 39: 1-18.
164. Kharkwal GB, Sharma SK, Huang YY, Dai T, Hamblin MR. Photodynamic therapy for infections: clinical applications. *Lasers Surg Med* 2011; 43: 755-767.

165. Aghahosseini F, Arbabi-Kalati F, Fashtami LA, Fateh M, Djavid GE. Treatment of oral lichen planus with photodynamic therapy mediated methylene blue: a case report. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006; 11: 126-129.
166. Teichert MC, Jones JW, Usacheva MN, Biel MA. Treatment of oral candidiasis with methylene blue-mediated photodynamic therapy in an immunodeficient murine model. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 93: 155-160.
167. Smetana Z, Ben-Hur E, Mendelson E, Salzberg S, Wagner P, Malik Z. Herpes simplex virus proteins are damaged following photodynamic inactivation with phthalocyanines. *J Photochem Photobiol B* 1998; 44: 77-83.
168. Marotti J, Aranha AC, Eduardo Cde P, Ribeiro MS. Photodynamic therapy can be effective as a treatment for herpes simplex labialis. *Photomed Laser Surg* 2009; 27: 357-363.
169. Silverman S, Jr. Oral cancer: complications of therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999; 88: 122-126.
170. Komerik N, Nakanishi H, MacRobert AJ, Henderson B, Speight P, Wilson M. In vivo killing of *Porphyromonas gingivalis* by toluidine blue-mediated photosensitization in an animal model. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 932-940.
171. Börekçi T. Generalize agresif periodontitisli hastalarda başlangıç periodontal tedavi ve fotodinamik terapi uygulamasının klinik ve mikrobiyolojik incelenmesi. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi 2010, İstanbul (Danışman: Doç Dr. Leyla Kuru).
172. Hayek RRA, Araujo NS, Gioso MA, Ferreira J, Baptista-Sobrinho CA, Yamada AM, Ribeiro MS. Comparative study between the effects of photodynamic therapy and conventional therapy on microbial reduction in ligature-induced peri-implantitis in dogs. *J Periodontol* 2005; 76: 1275-1281.
173. Komerik N, MacRobert AJ. Photodynamic therapy as an alternative antimicrobial modality for oral infections. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2006; 25: 487-504.
174. Wilson BC. Photodynamic therapy for cancer: principles. *Can J Gastroenterol* 2002; 16: 393-396.

175. Neugebauer J, Jozsa M, Kubler A. Antimicrobial photodynamic therapy for prevention of alveolar osteitis and post-extraction pain. *Mund Kiefer Gesichtschir* 2004; 8: 350-355.
176. Pinheiro SL, Schenka AA, Neto AA, de Souza CP, Rodriguez HM, Ribeiro MC. Photodynamic therapy in endodontic treatment of deciduous teeth. *Lasers Med Sci* 2009; 24: 521-526.
177. Juric IB, Plecko V, Panduric DG, Anic I. The antimicrobial effectiveness of photodynamic therapy used as an addition to the conventional endodontic re-treatment: A clinical study. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2014; 11: 549-555.
178. Demir D. Dösetaksel içeren nanopartiküllerin formülasyonu ve in vitro değerlendirilmesi. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi 2013, Ankara (Danışman: Prof. Dr. Yılmaz Çapan).
179. Crane M, Handy RD, Garrod J, Owen R. Ecotoxicity test methods and environmental hazard assessment for engineered nanoparticles. *Ecotoxicology* 2008; 17: 421-437.
180. Araz ND. Rhodopseudomonas palustris kullanılarak gümüş nanopartiküllerin üretimi. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi 2012, Ankara (Danışman: Prof. Dr. Erhan Pişkin)
181. Buzea C, Pacheco, II, Robbie K. Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointerphases* 2007; 2: 17-71.
182. Boran H. Nanopartiküllerin Zebra balığı (Danio rerio) larvaları üzerine olan etkilerinin gen ekspresyon yöntemiyle belirlenmesi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi 2012, Trabzon (Danışman: Prof. Dr. İlhan Altınok).
183. Usta M. Biokütle destekli nanopartiküllerin sentezi ve karakterizasyonu. Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi 2012, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. Göksel Akçin).
184. Nagpal A, Kaur J, Sharma S, Bansal A, Sacchdev P. Nanotechnology-the era of molecular dentistry. *Indian J Dent Sci* 2011; 5: 80-82.
185. Hayat MA. Colloidal gold, principles, methods and applications, 1 st Ed. London: Academic Press, 1989.

186. Allaker RP, Ren G. Potential impact of nanotechnology on the control of infectious diseases. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2008; 102: 1-2.
187. Murphy CJ. Optical sensing with quantum dots. *Anal Chem* 2002; 74: 520-526.
188. Yer M. Gümüş nanopartiküllerim sentezlenmesi ve karakterizasyonu. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi 2012, Konya (Danışman: Prof. Dr. Ahmet Avcı).
189. Toksöz AK. Yerel olmayan elastisite teorisinde açılı ve ritz yöntemlerinin nanoteknolojiye uygulanması. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi 2010, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. Reha Artan).
190. Şen TC. Nikelalüminat (NiO/Al₂O₃) nanopartiküllerin üretimi. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi 2014, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. Sebahattin Gürmen).
191. Salamanca-Buentello F, Persad DL, Court EB, Martin DK, Daar AS, Singer PA. Nanotechnology and the developing world. *PLoS Med* 2005; 2: e97.
192. Sharma S, Cross SE, Hsueh C, Wali RP, Stieg AZ, Gimzewski JK. Nanocharacterization in dentistry. *Int J Mol Sci* 2010; 11: 2523-2545.
193. Kürkçüoğlu I, Köroğlu A, Özkır, SE, Ateş M. Nanoteknoloji kavramı ve diş hekimliğindeki uygulamaları. *SDÜ Sağlık Bilimleri Dergisi* 2014; 5: 77-80.
194. Jung M, Sehr K, Klimek J. Surface texture of four nanofilled and one hybrid composite after finishing. *Oper Dent* 2007; 32: 45-52.
195. Yesil ZD, Alapati S, Johnston W, Seghi RR. Evaluation of the wear resistance of new nanocomposite resin restorative materials. *J Prosthet Dent* 2008; 99: 435-443.
196. Bhardway A, Bhardway A, Misuriya A, Maroli S, Manjula S, Singh AK. Nanotechnology in dentistry. *J Int Oral Health* 2014; 6: 121-126.
197. Freitas RA, Jr. Nanodentistry. *J Am Dent Assoc* 2000; 131: 1559-1565.
198. Kanaparthi R, Kanaparthi A. The changing face of dentistry: nanotechnology. *Int J Nanomedicine* 2011; 6: 2799-2804.
199. Mantri SS, Mantri SP. The nano era in dentistry. *J Nat Sci Biol Med* 2013; 4: 39-44.

200. Kishen A, Shi Z, Shrestha A, Neoh KG. An investigation on the antibacterial and antibiofilm efficacy of cationic nanoparticulates for root canal disinfection. *J Endod* 2008; 34: 1515-1520.
201. Shrestha A, Shi Z, Neoh KG, Kishen A. Nanoparticulates for antibiofilm treatment and effect of aging on its antibacterial activity. *J Endod* 2010; 36: 1030-1035.
202. Zand V, Lotfi M, Aghbali A, Mesgariabbasi M, Janani M, Mokhtari H, Tehranchi P, Pakdel SM. Tissue reaction and biocompatibility of implanted mineral trioxide aggregate with silver nanoparticles in a rat. *Iran Endod J* 2016; 11: 13-16.
203. Rai M, Yadav A, Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnol Adv* 2009; 27: 76-83.
204. Lansdown AB. Silver. I: Its antibacterial properties and mechanism of action. *J Wound Care* 2002; 11: 125-130.
205. Johnston HJ, Hutchison G, Christensen FM, Peters S, Hankin S, Stone V. A review of the in vivo and in vitro toxicity of silver and gold particulates: particle attributes and biological mechanisms responsible for the observed toxicity. *Crit Rev Toxicol* 2010; 40: 328-346.
206. Ge L, Li Q, Wang M, Ouyang J, Li X, Xing MM. Nanosilver particles in medical applications: synthesis, performance, and toxicity. *Int J Nanomedicine* 2014; 9: 2399-2407.
207. Rycenga M, Cobley CM, Zeng J, Li W, Moran CH, Zhang Q, Qin D, Xia Y. Controlling the synthesis and assembly of silver nanostructures for plasmonic applications. *Chem Rev* 2011; 111: 3669-3712.
208. Pratsinis A, Hervella P, Leroux JC, Pratsinis SE, Sotiriou GA. Toxicity of silver nanoparticles in macrophages. *Small* 2013; 9: 2576-2584.
209. Zhang T, Wang L, Chen Q, Chen C. Cytotoxic potential of silver nanoparticles. *Yonsei Med J* 2014; 55: 283-291.
210. De Jong WH, Van Der Ven LT, Sleijffers A, Park MV, Jansen EH, Van Loveren H, Vandebriel RJ. Systemic and immunotoxicity of silver nanoparticles in an intravenous 28 days repeated dose toxicity study in rats. *Biomaterials* 2013; 34: 8333-8343.

211. Garcia-Contreras R, Argueta-Figueroa L, Mejia-Rubalcava C, Jimenez-Martinez R, Cuevas-Guajardo S, Sanchez-Reyna PA, Mendieta-Zeron H. Perspectives for the use of silver nanoparticles in dental practice. *Int Dent J* 2011; 61: 297-301.
212. Ahn SJ, Lee SJ, Kook JK, Lim BS. Experimental antimicrobial orthodontic adhesives using nanofillers and silver nanoparticles. *Dent Mater* 2009; 25: 206-213.
213. Durner J, Stojanovic M, Urcan E, Hickel R, Reichl FX. Influence of silver nanoparticles on monomer elution from light-cured composites. *Dent Mater* 2011; 27: 631-636.
214. Damm C, Munsted H, Rosch A. Long-term antimicrobial polyamide 6/silver-nanocomposites. *J Mater Sci* 2007; 42: 6067-6073.
215. Yoshida K, Tanagawa M, Atsuta M. Characterization and inhibitory effect of antibacterial dental resin composites incorporating silver-supported materials. *J Biomed Mater Res* 1999; 47: 516-522.
216. Rosenblatt A, Stamford TC, Niederman R. Silver diamine fluoride: a caries "silver-fluoride bullet". *J Dent Res* 2009; 88: 116-125.
217. Camilleri J, Gandolfi MG. Evaluation of the radiopacity of calcium silicate cements containing different radiopacifiers. *Int Endod J* 2010; 43: 21-30.
218. Kim JS, Kuk E, Yu KN, Kim JH, Park SJ, Lee HJ, Kim SH, Park YK, Park YH, Hwang CY, Kim YK, Lee YS, Jeong DH, Cho MH. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomed-Nanotechnol* 2007; 3: 95-101.
219. Abbaszadegan A, Nabavizadeh M, Gholami A, Aleyasin ZS, Dorostkar S, Saliminasab M, Ghasemi Y, Hemmateenejad B, Sharghi H. Positively charged imidazolium-based ionic liquid-protected silver nanoparticles: a promising disinfectant in root canal treatment. *Int Endod J* 2015; 48: 790-800.
220. Javidi M, Afkhami F, Zarei M, Ghazvini K, Rajabi O. Efficacy of a combined nanoparticulate/calcium hydroxide root canal medication on elimination of *Enterococcus faecalis*. *Aust Endod J* 2014; 40: 61-65.
221. Koo YE, Fan W, Hah H, Xu H, Orringer D, Ross B, Rehemtulla A, Philbert MA, Kopelman R. Photonic explorers based on multifunctional nanoplatforms for biosensing and photodynamic therapy. *Appl Opt* 2007; 46: 1924-1930.

222. Moczek L, Nowakowska M. Novel water-soluble photosensitizers from chitosan. *Biomacromolecules* 2007; 8: 433-438.
223. Shrestha A, Kishen A. Antibiofilm efficacy of photosensitizer-functionalized bioactive nanoparticles on multispecies biofilm. *J Endod* 2014; 40: 1604-1610.
224. Persadmehr A, Torneck CD, Cvitkovitch DG, Pinto V, Talior I, Kazembe M, Shrestha S, McCulloch CA, Kishen A. Bioactive chitosan nanoparticles and photodynamic therapy inhibit collagen degradation in vitro. *J Endod* 2014; 40: 703-709.
225. Gençer GM. Antibakteriyel özellik taşıyan piperidin bazlı iyonik sivilerin sentezi. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi 2014, Antalya (Danışman: Yrd. Doç. Murat Akarsu).
226. Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, Sousa EL, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Int End J* 2003; 36: 1-11.
227. Zhang C, Du J, Peng Z. Correlation between *Enterococcus faecalis* and persistent intraradicular infection compared with primary intraradicular infection: A systematic review. *J Endod* 2015; 41: 1207-1213.
228. Schafer E, Bossmann K. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine and two calcium hydroxide formulations against *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2005; 31: 53-56.
229. Du T, Wang Z, Shen Y, Ma J, Cao Y, Haapasalo M. Combined antibacterial effect of sodium hypochlorite and root canal sealers against *Enterococcus faecalis* biofilms in dentin canals. *J Endod* 2015; 41: 1294-1298.
230. Neelakantan P, Cheng CQ, Mohanraj R, Sriraman P, Subbarao C, Sharma S. Antibiofilm activity of three irrigation protocols activated by ultrasonic, diode laser or Er:YAG laser in vitro. *Int Endod J* 2015; 48: 602-610.
231. Afkhami F, Pourhashemi SJ, Sadegh M, Salehi Y, Fard MJK. Antibiofilm efficacy of silver nanoparticles as a vehicle for calcium hydroxide medicament against *Enterococcus faecalis*. *J Dent* 2015; 43: 1573-1579.
232. Lewis K. Riddle of biofilm resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 999-1007.

233. Dunne WM, Mason EO, Kaplan SL. Diffusion of rifampin and vancomycin through a *Staphylococcus-Epidermidis* biofilm. *Antimicrob Agents and Chemother* 1993; 37: 2522-2526.
234. Gilbert P, Das J, Foley I. Biofilm susceptibility to antimicrobials. *Adv Dent Res* 1997; 11: 160-167.
235. Estrela C, Sydney GB, Figueiredo JA, Estrela CR. A model system to study antimicrobial strategies in endodontic biofilms. *J Appl oral Sci* 2009; 17: 87-91.
236. Hope CK, Garton SG, Wang QA, Burnside G, Farrelly PJ. A direct comparison between extracted tooth and filter-membrane biofilm models of endodontic irrigation using *Enterococcus faecalis*. *Arch Microbiol* 2010; 192: 775-781.
237. Kishen A, Haapasalo M. Biofilm models and methods of biofilm assessment. *Endod Topics* 2012; 22: 58-78.
238. Shahriari S, Mohammadi Z, Mokhtari MM, Yousefi R. Effect of hydrogen peroxide on the antibacterial substantivity of chlorhexidine. *Int J Dent* 2010; 2010: 946384.
239. Shen Y, Qian W, Chung C, Olsen I, Haapasalo M. Evaluation of the effect of two chlorhexidine preparations on biofilm bacteria in vitro: a three-dimensional quantitative analysis. *J Endod* 2009; 35: 981-985.
240. Stojicic S, Amorim H, Shen Y, Haapasalo M. Ex vivo killing of *Enterococcus faecalis* and mixed plaque bacteria in planktonic and biofilm culture by modified photoactivated disinfection. *Int Endod J* 2013; 46: 649-659.
241. Williamson AE, Cardon JW, Drake DR. Antimicrobial susceptibility of monoculture biofilms of a clinical isolate of *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2009; 35: 95-97.
242. Hiraishi N, Yiu CK, King NM, Tagami J, Tay FR. Antimicrobial efficacy of 3.8% silver diamine fluoride and its effect on root dentin. *J Endod* 2010; 36: 1026-1029.
243. Liu H, Wei X, Ling J, Wang W, Huang X. Biofilm formation capability of *Enterococcus faecalis* cells in starvation phase and its susceptibility to sodium hypochlorite. *J Endod* 2010; 36: 630-635.
244. Duggan JM, Sedgley CM. Biofilm formation of oral and endodontic *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2007; 33: 815-818.

245. de Almeida AP, Souza MA, Miyagaki DC, Dal Bello Y, Cecchin D, Farina AP. Comparative evaluation of calcium hypochlorite and sodium hypochlorite associated with passive ultrasonic irrigation on antimicrobial activity of a root canal system infected with *Enterococcus faecalis*: an in vitro study. *J Endod* 2014; 40: 1953-1957.
246. Nabeshima CK, Caballero-Flores H, Cai S, Aranguren J, Borges Britto ML, Machado ME. Bacterial removal promoted by 2 single-file systems: Wave One and One Shape. *J Endod* 2014; 40: 1995-1998.
247. Bortoluzzi EA, Carlon D, Jr., Meghil MM, El-Awady AR, Niu L, Bergeron BE, Susin L, Cutler CW, Pashley DH, Tay FR. Efficacy of 3D conforming nickel titanium rotary instruments in eliminating canal wall bacteria from oval-shaped root canals. *J Dent* 2015; 43: 597-604.
248. Cachovan G, Schiffner U, Altenhof S, Guentsch A, Pfister W, Eick S. Comparative antibacterial efficacies of hydrodynamic and ultrasonic irrigation systems in vitro. *J Endod* 2013; 39: 1171-1175.
249. Monzavi A, Eshraghi S, Hashemian R, Momen-Heravi F. In vitro and ex vivo antimicrobial efficacy of nano-MgO in the elimination of endodontic pathogens. *Clin Oral Investig* 2015; 19: 349-356.
250. Chau NPT, Chung NH, Jeon JG. Relationships between the antibacterial activity of sodium hypochlorite and treatment time and biofilm age in early *Enterococcus faecalis* biofilms. *Int Endod J* 2015; 48: 782-789.
251. Seneviratne CJ, Yip JW, Chang JW, Zhang CF, Samaranayake LP. Effect of culture media and nutrients on biofilm growth kinetics of laboratory and clinical strains of *Enterococcus faecalis*. *Arch Oral Biol* 2013; 58: 1327-1334.
252. Shen Y, Stojicic S, Haapasalo M. Antimicrobial Efficacy of Chlorhexidine against Bacteria in Biofilms at Different Stages of Development. *J Endod* 2011; 37: 657-661.
253. Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, Bakland LK. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 94: 658-666.

254. Mader CL, Baumgartner JC, Peters DD. Scanning electron microscopic investigation of the smeared layer on root canal walls. *J Endod* 1984; 10: 477-483.
255. Drake DR, Wiemann AH, Rivera EM, Walton RE. Bacterial retention in canal walls in vitro: effect of smear layer. *J Endod* 1994; 20: 78-82.
256. Stewart GG. A scanning electron microscopic study of the cleansing effectiveness of three irrigating modalities on the tubular structure of dentin. *J Endod* 1998; 24: 485-486.
257. Violich DR, Chandler NP. The smear layer in endodontics - a review. *Int Endod J* 2010; 43: 2-15.
258. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod* 2006; 32: 389-398.
259. Rutala WA, Weber DJ. Uses of inorganic hypochlorite (bleach) in health-care facilities. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10: 597-610.
260. Gomes BPFA, Ferraz CCR, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza FJ. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 2001; 34: 424-428.
261. Mentz TCF. The Use of Sodium-Hypochlorite as a General Endodontic Medicament. *Int Endod J* 1982; 15: 132-136.
262. Pashley EL, Birdsong NL, Bowman K, Pashley DH. Cyto-Toxic effects of NaOCl on vital tissue. *J Endod* 1985; 11: 525-528.
263. Spangber L, Engstrom B, Langelan K. Biologic effects of dental Materials. 3. toxicity and antimicrobial effect of endodontic antiseptics in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1973; 36: 856-871.
264. Hulsmann M, Hahn W. Complications during root canal irrigation - literature review and case reports. *Int Endod J* 2000; 33: 186-193.
265. Turkun M, Cengiz T. The effects of sodium hypochlorite and calcium hydroxide on tissue dissolution and root canal cleanliness. *Int Endod J* 1997; 30: 335-342.
266. Rodrigues RC, Antunes HS, Neves MA, Siqueira JF, Jr., Rocas IN. Infection control in retreatment cases: In vivo antibacterial effects of 2 instrumentation systems. *J Endod* 2015; 41: 1600-1605.

267. Arias-Moliz MT, Ordinola-Zapata R, Baca P, Ruiz-Linares M, Ferrer-Luque CM. Antimicrobial activity of a sodium hypochlorite/etidronic acid irrigant solution. *J Endod* 2014; 40: 1999-2002.
268. Bago Juric I, Plecko V, Anic I. Antimicrobial efficacy of Er,Cr:YSGG laser-activated irrigation compared with passive ultrasonic irrigation and RinsEndo((R)) against intracanal *Enterococcus faecalis*. *Photomed Laser Surg* 2014; 32: 600-605.
269. Retamozo B, Shabahang S, Johnson N, Aprecio RM, Torabinejad M. Minimum contact time and concentration of sodium hypochlorite required to eliminate *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2010; 36: 520-523.
270. Meire MA, De Prijck K, Coenye T, Nelis HJ, De Moor RJ. Effectiveness of different laser systems to kill *Enterococcus faecalis* in aqueous suspension and in an infected tooth model. *Int Endod J* 2009; 42: 351-359.
271. 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: 331-334.
272. Elakanti S, Cherukuri G, Rao VG, Chandrasekhar V, Rao AS, Tummala M. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of QMix 2 in 1, sodium hypochlorite, and chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. *J Conserv Dent* 2015; 18: 128-131.
273. Cobankara FK, Ozkan HB, Terlemez A. Comparison of organic tissue dissolution capacities of sodium hypochlorite and chlorine dioxide. *J Endod* 2010; 36: 272-274.
274. Baumgartner JC, Brown CM, Mader CL, Peters DD, Shulman JD. A scanning electron microscopic evaluation of root canal debridement using saline, sodium hypochlorite, and citric acid. *J Endod* 1984; 10: 525-531.
275. Siqueira JF, Jr., Magalhaes KM, Rocas IN. Bacterial reduction in infected root canals treated with 2.5% NaOCl as an irrigant and calcium hydroxide/camphorated paramonochlorophenol paste as an intracanal dressing. *J Endod* 2007; 33: 667-672.
276. Siqueira JF, Jr., Rocas IN, Paiva SS, Guimaraes-Pinto T, Magalhaes KM, Lima KC. Bacteriologic investigation of the effects of sodium hypochlorite and

- chlorhexidine during the endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 104: 122-130.
277. Demidova TN, Hamblin MR. Photodynamic therapy targeted to pathogens. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2004; 17: 245-254.
278. Bhatti M, MacRobert A, Meghji S, Henderson B, Wilson M. Effect of dosimetric and physiological factors on the lethal photosensitization of *Porphyromonas gingivalis* in vitro. *Photochem Photobiol* 1997; 65: 1026-1031.
279. Kesler Shvero D, Abramovitz I, Zaltsman N, Perez Davidi M, Weiss EI, Beyth N. Towards antibacterial endodontic sealers using quaternary ammonium nanoparticles. *Int Endod J* 2013; 46: 747-754.
280. He W, Zhou YT, Wamer WG, Boudreau MD, Yin JJ. Mechanisms of the pH dependent generation of hydroxyl radicals and oxygen induced by Ag nanoparticles. *Biomaterials* 2012; 33: 7547-7555.
281. Bhardwaj SB, Mehta M, Gauba K. Nanotechnology: role in dental biofilms. *Indian J Dent Res* 2009; 20: 511-513.
282. Allaker RP. The use of nanoparticles to control oral biofilm formation. *J Dent Res* 2010; 89: 1175-1186.
283. Kim S, Choi JE, Choi J, Chung KH, Park K, Yi J, Ryu DY. Oxidative stress-dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells. *Toxicol In Vitro* 2009; 23: 1076-1084.
284. Lu Z, Rong K, Li J, Yang H, Chen R. Size-dependent antibacterial activities of silver nanoparticles against oral anaerobic pathogenic bacteria. *J Mater Sci Mater Med* 2013; 24: 1465-1471.
285. Martinez-Castanon GA, Nino-Martinez N, Martinez-Gutierrez F, Martinez-Mendoza JR, Ruiz F. Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles with different sizes. *Journal of Nanopart Res* 2008; 10: 1343-1348.
286. Sotiriou GA, Pratsinis SE. Antibacterial activity of nanosilver ions and particles. *Environ Sci Technol* 2010; 44: 5649-5654.
287. Paszko E, Ehrhardt C, Senge MO, Kelleher DP, Reynolds JV. Nanodrug applications in photodynamic therapy. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2011; 8: 14-29.

288. Yin R, Agrawal T, Khan U, Gupta GK, Rai V, Huang YY, Hamblin MR. Antimicrobial photodynamic inactivation in nanomedicine: small light strides against bad bugs. *Nanomedicine* 2015; 10: 2379-2404.