

Çeşitli antiseptik taşıyıcılarla karıştırılan kalsiyum hidroksitin *Enterococcus faecalis* üzerindeki antimikrobiyal etkinliği*

Makbule Bilge Akbulut^α, Mehmet Burak Güneşer^β, Ayçe Ünverdi Eldeniz^γ

Selçuk Dent J, 2017; 4: 44-51 (Doi: 10.15311/1441.308558)

Başvuru Tarihi: 24 Nisan 2017
Yayına Kabul Tarihi: 25 Mayıs 2017

ÖZ

Çeşitli antiseptik taşıyıcılarla karıştırılan kalsiyum hidroksitin *Enterococcus faecalis* üzerindeki antimikrobiyal etkinliği

Amaç: Bu *in vitro* çalışmanın amacı farklı antiseptik taşıyıcı - kalsiyum hidroksit (KH) kombinasyonlarının *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) ile enfekte kök kanallarındaki antibakteriyel etkinliğini dentin blok modeli kullanarak test etmektir.

Gereç ve Yöntemler: Altmış adet çekilmiş insan dişi örnekleri hazırlandı. Elli-beş tane kök segmenti *E. faecalis* ile 2 hafta boyunca enfekte edildi. Örnekler 5 deney grubuna ayrıldı (n=10) ve şu KH - antiseptik taşıyıcı karışımları uygulandı: Grup 1, KH + gliserin - distile su (7:1); Grup 2, KH + Octenisept; Grup 3, KH + %2'lik klorheksidin glukonat (CHX); Grup 4, KH + Savlex; Grup 5, KH + %5.25'lik sodyum hipoklorit (NaOCl). Antiseptik-KH karışımları 7 gün boyunca kök kanallarında bekletildi. Beş örnek sterilliği kontrol etmek için (negatif kontrol), beş örnek de pozitif kontrol olarak kullanıldı. Gates glidden frezler (# 3, 4, 5) yardımıyla kanal duvarlarından elde edilen dentin örnekleri fosfat-tamponlu salin (PBS) ve cam boncuk içeren şişelere aktarıldı ve 30 sn vortekslendi. Bakteri içeren PBS'ye seri dilüsyon yapıldı. Her bir dilüsyondan 25 µL halinde damlalar tripton soya agar plakları üzerine ekildi ve 37°C'de 48 saat inkübe edildi. Görünür koloni sayıları incelendi ve log₁₀ değerlerine dönüştürüldü. İstatistiksel analiz için Kruskal-Wallis ve Mann Whitney-U testleri kullanıldı.

Bulgular: Negatif kontrol grubunda bakteri üremesi görülmezken pozitif kontrol grubunun bütün örneklerinde bakteri üremesi gözlemlenmiştir (log₁₀ 3,47 CFU ml⁻¹). Deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0.05). KH + CHX ve KH + Savlex gruplarında *E. faecalis* biyofilmli tamamen elimine edilmiştir.

Sonuç: Savlex, Octenisept ve NaOCl gibi çeşitli antiseptik ajanlar KH ile karıştırılarak kullanıldığında kök kanallarından *E. faecalis*'i elimine etmede etkili bulunmuştur.

ANAHTAR KELİMELER

Antimikrobiyal, *E. faecalis*, kanal-içi medikament, kök dentini

ABSTRACT

Antimicrobial activity of calcium hydroxide mixed with various antiseptic vehicles on *Enterococcus faecalis*

Background: The aim of this *in vitro* study was to test disinfection ability of different new antiseptic vehicle-calcium hydroxide (CH) combinations in root canals infected with *Enterococcus faecalis* using a dentin block model.

Methods: Sixty extracted human root samples were prepared. Fifty-five root segments were infected with *E. faecalis* for two weeks. Then, the samples were divided into 5 groups (n=10) and following calcium hydroxide and antiseptic vehicle combinations were applied: Group 1, CH + glycerin with distilled water (7:1); Group 2, CH + Octenisept; Group 3, CH + 2% chlorhexidine gluconate (CHX), Group 4, CH + Savlex; Group 5, CH + 5.25% sodium hypochlorite (NaOCl). Antiseptic-calcium hydroxide mixtures were applied for seven days. Five samples were used to check the sterility (negative control) and five samples were used as positive control. Dentin samples were obtained from the walls with gates-glidden burs (# 3, 4, 5) and transferred to vials with PBS/glass beads and vortexed for 30 sec. PBS with resuspended enterococci was then diluted. Droplets of 25 µL from each dilution were inoculated on tryptic soy agar plates and incubated at 37°C for 48 hour. Visible colonies from appropriated dilutions were counted and transformed to log₁₀. Kruskal-Wallis and Mann Whitney-U test was used for the statistical analysis.

Results: The negative control group remained free of growth, whereas the positive control group showed log₁₀ CFU ml⁻¹ of 3.47. No significant difference was observed among the test groups (p>0.05). All *E. faecalis* cells were eliminated from the root canals in CH + CHX and CH + Savlex groups.

Conclusion: The present study demonstrated the effectiveness of various antiseptic agents; Savlex, Octenisept, and NaOCl when used in mixing calcium hydroxide as vehicles in the elimination of *E. faecalis* from the root-canals.

KEYWORDS

Antimicrobial, *E. faecalis*, root canal medicament, root dentin

Bakteriyel kolonizasyon, pulpa ve periapikal doku hastalıklarının kaynağını oluşturmaktadır.^{1, 2} Kök kanal tedavisinin en önemli amaçlarından birisi kök kanal

sisteminde bulunan bütün mikroorganizmaları elimine etmek ya da en azından konak savunmasının üstesinden gelebileceği bir bakteriyel azalma sağlamaktır.³

* Bu çalışma 2010 yılının temmuz ayında İspanya'nın Barselona eyaletinde düzenlenen 88. Genel IADR Toplantısında sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

^α Necmettin Erbakan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı, Konya

^β Bezmialem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı, İstanbul

^γ Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı, Konya

Kök kanallarında yapılan kemomekanik preparasyon, bakteriyel kolonizasyonu belli bir seviyeye kadar azaltsa da dezenfeksiyonu arttırmak için antibakteriyel etkinliği olan bir kanal içi medikament kullanımı gerekli olmaktadır.⁴ Özellikle enfeksiyonun rutin tedaviye dirençli olduğu durumlarda ve ağrı ile süregelen eksudaya bağlı olarak tedavinin tamamlanamadığı durumlarda kanal içi medikasyona olan ihtiyaç artmaktadır.⁵

Ca(OH)₂ kimyasal formülüne sahip beyaz, kokusuz bir toz olan kalsiyum hidroksit (KH), sert doku oluşumunu indüklemeye, makul antimikrobiyal etkinlik ve doku çözücü özellikleriyle endodontide geniş kullanım alanına sahiptir.⁶ Güçlü bir baz olan KH'nin (pH/12.5-12.8) kalsiyum ve hidroksil iyonlarına ayrışmasıyla bu iyonlar antibakteriyel aktiviteyi gerçekleştirir.⁷ Kanal içi medikament olarak sıklıkla tercih edilen KH aynı zamanda bakteriler için fiziksel bariyer görevi görerek ve bakterilere besin geçişini engelleyerek antibakteriyel etki göstermektedir.⁸ Bystrom ve ark⁴'nın klinik çalışmasında KH ile tedavi edilen kök kanallarında daha az bakteriye rastlandığı ifade edilirken Stevens ve Grossman⁹ da KH'nin mikroorganizma gelişimini engellemede etkili olduğunu bildirmiştir. Başarısız olan kök kanal tedavisi yenileme vakalarından en sık izole edilen tür *Enterococcus faecalis* olduğundan,² bu bakterinin elimine edilmesi klinik açıdan önem taşımaktadır. Ancak yapılan bazı çalışmalarda KH'nin *E. faecalis*'i elimine etmede yetersiz kaldığı gösterilmiştir.¹⁰⁻¹² Bu yüzden, uzun süre etkili ve geniş spektrumlu antimikrobiyal bir karışım elde etmek için KH'nin distile su ya da gliserin yerine çeşitli dezenfeksiyon solüsyonlarıyla karıştırılabileceği önerilmiştir.¹³

Sodyum hipoklorit (NaOCl), güçlü antibakteriyel aktivitesi ve doku çözücü özelliği gibi klinik etkinliği dolayısıyla endodonti alanında altın standart olarak kabul görmüş bir irrigasyon solüsyonudur.¹⁴ Hem kanal içi medikament hem de irrigasyon solüsyonu olarak kullanılan klorheksidin glukonat (CHX) geniş spektrumlu antimikrobiyal ajandır. Oktanidin hidroklorit ve fenoksietanolden oluşan Octenisept (Schülke&Mayr, Almanya), deri yanıkları ve yara dezenfeksiyonu için kullanılan bir antiseptiktir. Octenisept'in aynı zamanda ağız gargarası olarak da kullanımı mevcuttur. Savlex (Drogsan, Türkiye), içeriğinde %15 oranında setrimit ve %1.5 oranında CHX bulundurulur. Savlex genel antiseptik amaçlara yönelik temizleyici olarak kullanılmaktadır.

Bu *in vitro* çalışmanın amacı farklı antiseptik taşıyıcı ve KH kombinasyonlarının *E. faecalis* ile enfekte kök kanallarını dezenfekte etme kabiliyetini dentin blok modeli kullanarak test etmektir. KH (Sultan Chemists, Englewood, ABD) ile karıştırılmak üzere değerlendirilen antimikrobiyal ajanlar; gliserin - distile su karışımı (7:1), Octenisept, %2'lik CHX (Drogsan, Türkiye), Savlex ve %5.25'lik NaOCl'dir (Çağlayan Kimya, Türkiye).

GEREÇ VE YÖNTEM

Kök dentini örneklerinin hazırlanması

Bu çalışmada ortodontik ve periodontal nedenlerle çekilmiş olan 60 adet tek köklü insan dişi kullanıldı. Daha öncesinde kanal tedavisi uygulanan dişler çalışma dışı bırakılmıştır. Diş örnekleri, yüzey dezenfeksiyonunu sağlamak ve organik debris uzaklaştırmak amacıyla 7 günden fazla olmayacak şekilde %1.3'lük NaOCl solüsyonunda bekletildi. Periodontal kretuar yardımıyla diş yüzeylerindeki diş taşları uzaklaştırıldı. Kökün apikal 3 mm'lik kısmı ve dişin kuru su soğutması altında döner elmas separe ile kesilerek uzaklaştırıldı. Böylelikle 6 mm uzunluğunda standart kök örnekleri elde edildi. Kök kanal enstrümentasyonu için Hedström eğeleri (Mani, Inc. Japonya) kullanıldı ve apikal #55 boyutuna kadar genişletildi. Kök kanalları her bir ege arasında 10 ml %1.3'lük NaOCl ile yıkandı. Kök kanal enstrümentasyonu tamamlandıktan sonra 10 ml %17'lik EDTA ile kök kanalları yıkandı. Son olarak da irrigant artıklarını uzaklaştırmak için 20 ml steril fizyolojik salin solüsyonu ile kanallar yıkandı. Sonrasında kök örnekleri steril fosfat tamponlanmış çözelti (PBS, pH=7,2, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD) içeren test tüplerine yerleştirildi ve 121°C'de 40 dakika otoklavda steril edildi. Her bir steril test örneği 2 ml Trypton soya besiyerinde (TSB) (Biomérieux, Marcy-L'etoile, Fransa) sterilliği kontrol etmek için 37°C'de 24 saat inkübe edildi.

Kök örneklerinin enfekte edilmesi

Bu çalışmada *Enterococcus faecalis*'in klinik suşu (A197A) kullanıldı. Bakteri kültürü, katı besi yeri olan Trypton soy agar (TSA) (Biomérieux, Marcy-L'etoile, Fransa) üzerine ekildi ve 37°C'de 24 saat boyunca inkübe edildi. TSA üzerinde gelişim gösteren koloniler TSB içerisine inoküle edildi.

Elde edilen *E. faecalis* süspansiyonunun optik yoğunluğu spektrofotometrik olarak (OD₆₀₀) =0.6 olacak şekilde ayarlandı. Dişler, rastgele beş deney (n=10) ve iki kontrol grubuna ayrıldı (n=5). Negatif kontrol grubuna ait olan 5 örnek sterilliği kontrol etmek için kullanıldı ve örneklemeden önce 7 gün boyunca steril PBS içerisinde bekletildi.

Elli-beş kök örneği *E. faecalis* suşu ile 37°C'de 2 hafta boyunca inkübe edildi. Enfekte etme işlemi boyunca, bakteri medyası tazelenildi ve aynı optik yoğunluğa ayarlanmış olan yeni bakteri süspansiyonu gün aşırı tüplere yerleştirildi. Bakteri kültürünün saflığı, TSA plakları üzerindeki koloni morfolojisi ve hücresel karakteristiklerinin kontrol edilmesiyle teyit edildi.

Kanal içi medikamentlerin uygulanması

Bakteri ile kontaminasyon periyodunun ardından, her bir kök kanalı 10 ml steril salin ile yıkandı ve steril kağıt konularla kurulandı. Aşağıdaki deney medikamentleri steril lentülo yardımıyla kanallar tamamen dolana kadar kanal lümenlerine uygulandı;

Grup 1: KH + gliserin - distile su (7 kısım gliserin - 1 kısım distile su)¹⁵

Grup 2: KH + Octenisept

Grup 3: KH + %2 CHX

Grup 4: KH + Savlex

Grup 5: KH + %5.25 NaOCl

Pozitif kontrol: Medikament uygulanmamış enfekte dişler

Negatif kontrol: Medikament uygulanmamış steril dişler

Çalışmada kullanılan KH tozu ve antiseptik karışımlarının oranları **Tablo 1**'de verilmiştir. Medikamentler hazırlanırken KH'nin tüm taşıyıcı solüsyonlar içerisinde tam çözünmesi sağlanmış ve homojen bir kıvam elde edilmiştir. Örneklerin apikal ve servikal yüzeyleri steril alüminyum folyo ile kaplandı ve nemli ortamda 37°C'de 7 gün boyunca inkübe edildi.

Tablo 1.

Test medikamentlerinin içerikleri

Gruplar	Kalsiyum Hidroksit tozu ağırlığı	Taşıyıcı hacmi
KH + gliserin-distile su	5.36 gr	5.5 ml distile su /3.89 ml gliserin
KH + Octenisept	1.50 gr	1.86 ml
KH + %2 CHX	1.50 gr	1.86 ml
KH + Savlex	1.50 gr	1.86 ml
KH + %2.5 NaOCl	1.50 gr	1.86 ml

Örnekleme işlemi

Kanala uygulanan medikamentler 10 ml steril salinle yıkanarak uzaklaştırıldı. Dentin örnekleri, aseptik koşullar altında kanal duvarlarından gates-glidden frezler (# 3, 4, 5) yardımıyla elde edildi. Örnekleme esnasında gates-glidden frezler kök örneklerinin dış yüzeyine temas ettirilmedi. İnce dentin talaşları, içinde PBS bulunan cam şişelere aktarıldı ve şişeler 30 sn vorteksleildi. Bakteri içeren PBS 10 kat seyreltildi. Her bir paralel dört dilüsyondan 25 µL hacminde damlalar TSA üzerine ekildi. TSA plakları 37°C'de 48 saat inkübe edildi ve koloni oluşumu incelendi. Koloni oluşturan birim sayısı (CFU mL⁻¹) hesaplandı ve log₁₀ değerlerine dönüştürüldü. Deneyin bakteri saptama limiti 50 CFU/ml'ydı.

Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Her bir test grubundan ve kontrol grubundan birer adet ilave örnek *E. faecalis* ile enfekte edildi ve yukarıda tariflenen uygulamalara tabi tutuldu. Örnekler %2.5'lük gluteraldehit solüsyonu içinde fikse edildi ve SEM cihazı (EVO LS10, Zeiss, Oberkochen, Almanya) altında incelendi. SEM görüntüleri 3000× ve 10.000× büyütmelemlerde alındı.

İstatistiksel analiz

İstatistiksel analiz log₁₀ değerleri üzerinde gerçekleştirildi. Veriler, IBM SPSS Statistics v19 programı kullanılarak analiz edildi. Veriler normal dağılım göstermediği için parametrik olmayan testler kullanıldı. Gruplar arasında fark olup olmadığını belirlemek amacıyla Kruskal-Wallis, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını tespit etmek için Mann-Whitney testi kullanıldı. İstatistiksel analiz, %5 anlamlılık seviyesinde yapılmıştır.

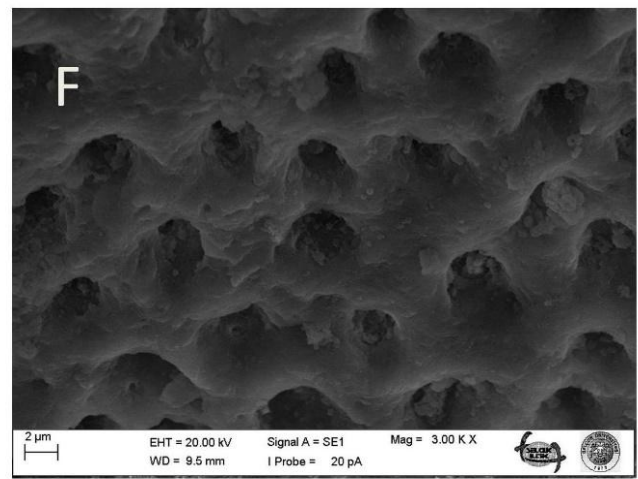
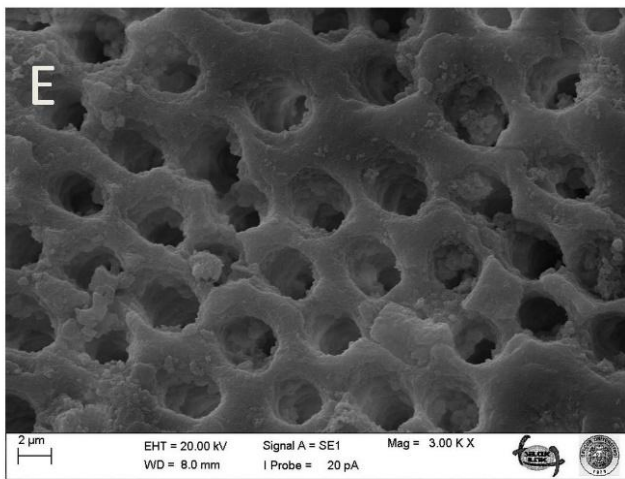
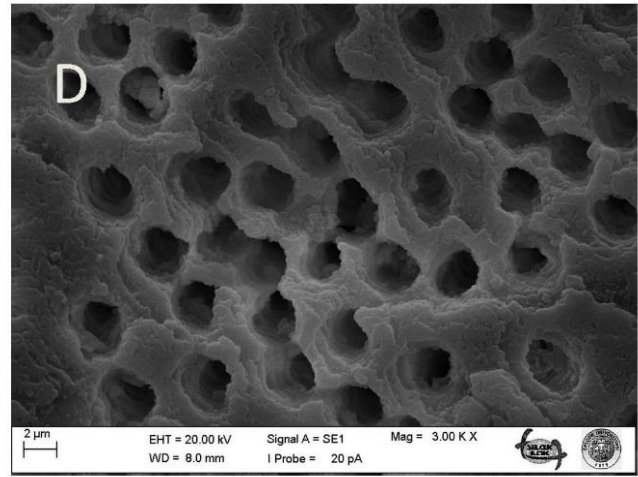
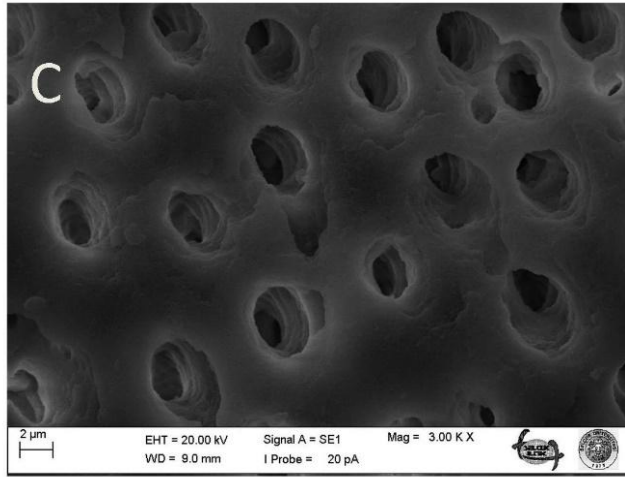
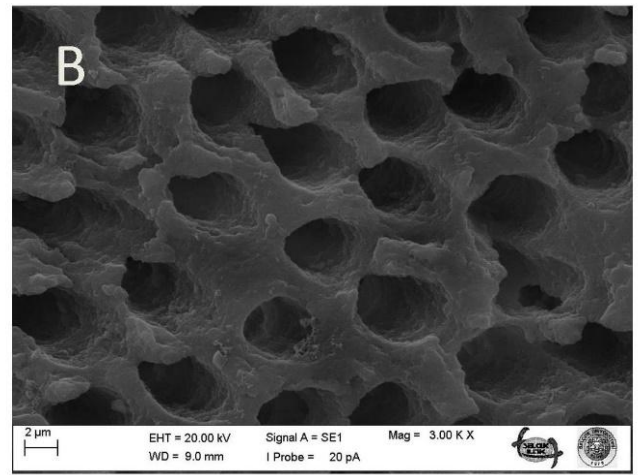
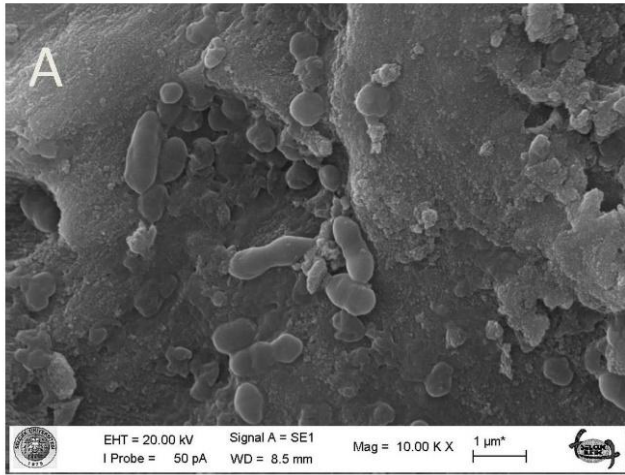
BULGULAR

Pozitif kontrol grubundaki bütün örneklerde agar plaklar üzerinde enterokok kolonilerinin gelişim gösterdiği gözlenirken negatif kontrol grubu örneklerinde bakteri üremesi gözlenmemiştir (**Resim 1**). Deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (P > 0.05). KH + Savlex ve KH + %2 CHX gruplarında enterokok üremesi gözlenmemiştir. Deney gruplarındaki pozitif ve negatif kültür örneklerinin sayısı **Tablo 2**'de verilmiştir.

Tablo 2.

Test medikamentlerinin içerikleri

Gruplar	n	Negatif kültür sayısı	Pozitif kültür sayısı	Log ₁₀ CFU Ort ± SS
KH + gliserin-distile su	10	9	1	0.16 ± 0.51
KH + Octenisept	10	9	1	0.16 ± 0.51
KH + %2 CHX	10	10	0	0 ± 0
KH + Savlex	10	10	0	0 ± 0
KH + % 2.5 NaOCl	10	9	1	0.21 ± 0.66
Pozitif Kontrol	5	0	5	3.47 ± 0.57
Negatif Kontrol	5	5	0	0 ± 0



Resim 1.

- A) İki hafta enfekte etme periyodundan sonra kök kanal duvarlarındaki *E. faecalis* kolonizasyonunu gösteren SEM görüntüsü (10.000× büyütme)
 Test medikamentleri;
 B) KH + gliserin-distile su
 C) KH + Octenisept
 D) KH + %2 CHX
 E) KH+Savlex
 F) KH +%5.25 NaOCl uygulanan kök kanal duvarlarının SEM görüntüsü (3000× büyütme)

TARTIŞMA

In vitro çalışmalarda, mikroorganizmaların antibakteriyel ajanların etkisinden korunabildiği klinik durumu oluşturmak oldukça güçtür. Haapasalo & Ørstavik¹⁰ tarafından 1987 yılında tarif edilen yöntem ile klinik durum iyi bir şekilde taklit edilebilmektedir. Bu yöntemde bazı değişiklikler yapılarak bu çalışmada kullanılmıştır. Bir dezavantaj olarak, kök kanal morfolojisi, dentinin dansitesi, dentinin kalsifikasyon derecesi, dentin tübülü içeriği gibi değişkenler bu modelde standardizasyonu güçleştirmektedir.¹⁶ Bu çalışmada kullanılan koloni sayma metodu, çeşitli koşullar altında bölünebilme yeteneğine sahip olan ve hayatta kalabilen mikroorganizmalar ile ilgili bilgi sunmaktadır.¹⁷ Fakat dentin tübüllerinde canlı olarak kalan ama kültüre edilemeyen bakteriler de bulunabilir. Bu durum göz önüne alındığında vital boyama yöntemlerinin daha avantajlı olduğu söylenebilir. Dentin blok modeline alternatif olabilecek ve yaygın kullanılan yöntemlerden birisi olan agar difüzyon metodunda bakteri ve test maddesi arasındaki direk etkileşim değerlendirilir. Agar difüzyon metodunda mikrobiyal inhibisyon zonunun oluşması, test edilen maddenin çözünürlüğü ve agar içerisine diffüze olabilme yeteneğine bağlıdır.¹⁸ Dentin ve dentin komponentlerinin kök kanal medikamentlerinin antimikrobiyal etkinliğini inhibe ettiği¹⁹ düşünüldüğünde dentin blok modelinin bu çalışma için daha uygun olduğu görülmektedir.

Başarısız olmuş kanal tedavili dişlerde *E. faecalis*'in sıklıkla izole edilmesi, bu türün ısrarcı apikal periodontitisin patogeneğinde ve hastalığın süregelmesinde önemli rol oynadığına işaret etmektedir.² *E. faecalis*'in kök kanalında bu denli ısrarcı kalabilmesini sağlayan özelliği, endodontik tedavi esnasında kullanılan geleneksel antimikrobiyal ajanlara (KH'nin alkali pH gibi özelliklerine) direnir canlılığını devam ettirebilmesidir.²⁰

KH'nin antibakteriyel aktivite sergilemesi aköz ortama hidroksil iyon salımı yapmasına bağlıdır. Oldukça reaktif olan hidroksil iyonları, lipidler, proteinler ve nükleik asitlerle hızlıca birleşerek bakterileri elimine edebilir. KH, bakterilerin sitoplazmik membranına hasar vererek, lipid peroksidasyonu ve protein denatürasyonu yaparak ya da bakteri DNA'sına zarar vererek etki gösterir.^{21, 22} Bu etki mekanizması sonucu bakteri ölümü gerçekleşmektedir. KH'nin kimyasal olarak ayrışması medikamentin taşıyıcısı kadar ortamın bileşenlerine, kalitesine ve tamponlama etkisine de bağlıdır.²³ Medikamentin taşıyıcısı iyonik ayrışma hızında ve dezenfeksiyon sürecinde önemli rol oynar.²⁴

KH'nin alkali özelliğinin dentinin derinliklerine ulaşmasının kanal içi medikasyonun başarısını arttıracak bildirilmiştir.¹⁵ Bu durumda, KH'nin yüksek pH'sını dentinin derinliğine en iyi taşıyan araç bakteriyi öldürmede daha etkili olacaktır. Alaçam ve ark¹⁵'nin çalışmasında KH gliserin - distile su kombinasyonunun

uygulandığı dişlerde dentinin farklı derinliklerinde pH'nın daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle Alaçam ve ark¹⁵ tarafından tarif edildiği şekilde çalışmamızda gliserine distile su ilave edilmiştir. Çalışmamızın bulguları bu karışımın *E. faecalis*'i bir hafta içinde öldürebildiğini göstermektedir.

Octenisept, geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivitesi olan bir antiseptiktir.²⁵ Günümüze kadar bu molekül ağız gargarası,²⁶ yanıklar için dezenfektan^{27, 28} ve müköz membran antiseptiği²⁹ olarak kullanılmıştır. Karsinogenik, mutajenik olmaması ve bakterisidal etki göstermesi gibi özellikleri dolayısıyla kök kanal irrigasyon solüsyonu olarak kullanımı önerilmiştir.³⁰ Çalışmamızın sonuçlarına göre KH + Octenisept grubu KH + gliserin-distile su kombinasyonu ile benzer antibakteriyel etkinlik sergilemiştir. Yakın zamanda yapılan ve mikrobiyolojik olarak gutta-perka dezenfektanlarını değerlendiren bir çalışmada Octenisept ve %2.5'luk NaOCl arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.³¹ Tiralı ve ark³² KH'yi Octenisept ile karıştırmanın *E. faecalis* üzerindeki antibakteriyel etkinliğini artırdığını fakat antifungal etkinliğini değiştirmediğini rapor etmiştir.

CHX, çok sayıda gram-pozitif ve gram negatif bakteriye karşı bakterisid etki gösterir.^{33, 34} Pozitif yüklü hidrofobik ve lipofilik bir molekül olan CHX bakteri hücre membranındaki fosfolipid ve lipopolisakkaritlerin negatif yüklü fosfat gruplarıyla tepkimeye girer.²³ CHX bu şekilde bakterinin osmotik dengesini bozarak ve hücre duvarının geçirgenliği artırarak antimikrobiyal etkisini gösterir.

Savlex (setrimit içeren klorheksidin) gibi yüzey aktif maddesi eklenmiş klorheksidin dezenfektan solüsyonları piyasada bulunmaktadır. Bu çalışmada KH'nin %2'lik CHX ya da Savlex ile kombinasyonu *E. faecalis* üzerinde iyi antimikrobiyal aktivite göstermiştir ve 7 günlük medikament uygulamasından sonra kök kanallarındaki bakteriyi tamamen elimine etmiştir. Savlex'in sadece CHX'e nazaran *E. faecalis*'i daha hızlı bir şekilde öldürdüğü daha önce yapılan bir çalışmada bildirilmiştir.³⁵ Çalışmamızın sonuçlarına bakarak setrimit, CHX ve KH'nin sinerjistik bir aktivite gösterdiğini söyleyebiliriz. Haenni ve ark³⁶ tarafından yapılan agar difüzyon çalışmasında KH tozunu %0.5'lik CHX ile karıştırmanın ilave bir antimikrobiyal etki sergilemediği gösterilmiştir. Benzer şekilde başka bir çalışmada CHX'in *E. faecalis*'e karşı etkinliğinin süspansiyondaki çözünmemiş KH tozu dolayısıyla engellendiği bildirilmiştir.³⁷ Bu durum, pH 10'un üzerinde olduğunda CHX'in deprotonasyona uğraması, sonrasında CHX ve bakteri yüzeyindeki etkileşimin engellenmesi ile açıklanmıştır.³⁸ Ancak

dentinin tamponlama etkisi düşünüldüğünde, hidroksil iyonu KH'den ayrıştıkça pH düşecek, CHX yeniden protonlanacak ve dentin tübülllerinde bakterisidal etkisini yeniden kazanacaktır.³⁹

NaOCl güçlü antimikrobiyal⁴⁰ ve organik doku çözücü özellikleri ile en yaygın kullanılan endodontik irrigasyon solüsyonudur.¹⁴ Düşük maliyeti, kolay ulaşılabilirliği ve uzun raf ömrü NaOCl'nin diğer avantajları arasında sayılabilir.⁴¹ Ancak periapikal dokular ile temasa geçtiğinde sitotoksik etki göstermesi NaOCl'nin en istenmeyen özelliğidir. Çalışmamızın bulguları KH + NaOCl kombinasyonunun iyi antibakteriyel aktivite sergilediğini göstermektedir. Farklı irrigasyon solüsyonlarıyla KH karışımlarının kimyasal ve antimikrobiyal özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada KH + NaOCl karışımının daha az hidroksil iyonu saldırdığı, her ne kadar agar difüzyon testinde çok etkili bulunmasa da bu karışımın en ümit vaadedici kombinasyon olduğu bildirilmiştir.³⁶ Yine başka bir araştırmada, çalışmamızın bulgularıyla paralel olarak KH + %0.5 NaOCl karışımının dentin bloklerini 24 saatte tamamen dezenfekte ettiği bildirilmiştir.³⁹

SONUÇLAR

Bu çalışmanın sonuçları Savlex, Octenisept ve NaOCl gibi çeşitli antiseptik ajanların KH tozu ile karıştırılarak kullanıldıklarında kök kanallarından *E. faecalis*'in elimine edilmesinde etkili olduğunu desteklemektedir. Bu medikamentlerle ilgili ileri klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Teşekkür

Yazarlar Doç. Dr. Serhan Akman'a istatistiksel analizdeki katkılarından dolayı teşekkür eder.

KAYNAKLAR

1. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965; 20: 340-9.
2. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, , Sjögren 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.
3. Siqueira JF, Jr., Rocas IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod* 2008; 34: 1291-301 e1293.
4. Bystrom A, Claesson R, Sundqvist G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Traumatol* 1985; 1: 170-5.
5. Spangberg L. Intracanal medication. *Endodontics* 1994; 4: 627-40.
6. Nerwich A, Figdor D, Messer HH. Ph changes in root dentin over a 4-week period following root canal dressing with calcium hydroxide. *J Endod* 1993; 19: 302-6.
7. Hermann B. Calcium hydroxid als mittelzurn, behandeln und fullen von wurzelkanalen [thesis]. Germany: University of Würzburg; 1920.
8. Siqueira JF, Jr., Lopes HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: A critical review. *Int Endod J* 1999; 32: 361-9.
9. Stevens RH, Grossman LI. Evaluation of the antimicrobial potential of calcium hydroxide as an intracanal medicament. *J Endod* 1983; 9: 372-4.
10. Haapasalo M, Orstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res* 1987; 66: 1375-9.
11. Safavi KE, Spangberg LS, Langeland K. Root canal dentinal tubule disinfection. *J Endod* 1990; 16: 207-10.
12. Siqueira JF, Jr., de Uzeda M. Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. *J Endod* 1996; 22: 674-6.
13. Waltimo TMT, Orstavik D, Siren EK, Haapasalo MP. In vitro susceptibility of candida albicans to four disinfectants and their combinations. *Int Endod J* 1999; 32: 421-9.
14. Mutluay AT, Mutluay M. Sodyum hipoklorit: Endodontide kullanım alanları. *Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg* 2015; 25: 258-65.
15. Alacam T, Yoldas HO, Gulen O. Dentin penetration of 2 calcium hydroxide combinations. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 86: 469-72.
16. Abdullah M, Ng YL, Gulabivala K, Moles DR, Spratt DA. Susceptibilities of two enterococcus faecalis phenotypes to root canal medications. *J Endod* 2005; 31: 30-6.
17. de Lucena JM, Decker EM, Walter C, Boeira LS, Löst C, Weiger R. Antimicrobial effectiveness of intracanal medicaments on enterococcus faecalis: Chlorhexidine versus octenidine. *Int Endod J* 2013; 46: 53-61.
18. Tirali RE, Bodur H, Sipahi B, Sungurtekin E. Evaluation of the antimicrobial activities of chlorhexidine gluconate, sodium hypochlorite and octenidine hydrochloride in vitro. *Aust Endod J* 2013; 39: 15-8.
19. Haapasalo HK, Siren EK, Waltimo TM, Ørstavik D, Haapasalo MP. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: An in vitro study. *Int Endod J* 2000; 33: 126-31.
20. Orstavik D, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endod Dent Traumatol* 1990; 6: 142-9.
21. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412-26.
22. Siqueira Junior JF. Tratamento das infecções endodônticas. Tratamento das infecções endodônticas. Medsi; 1997.
23. Athanassiadis B, Abbott PV, Walsh LJ. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. *Aust Dent J* 2007; 52: S64-S82.
24. Gomes BPFdA, Ferraz CCR, Vianna ME, Rosalen PL, Zaia AA, Teixeira FB et al. In vitro antimicrobial activity of calcium hydroxide pastes and their vehicles against selected microorganisms. *Braz Dental J* 2002; 13: 155-61.
25. Sedlock DM, Bailey DM. Microbicidal activity of octenidine hydrochloride, a new alkanediylbis[pyridine] germicidal agent. *Antimicrob Agents Chemother.* 1985; 28: 786-90.
26. Slee AM, O'Connor JR. In vitro antiplaque activity of octenidine dihydrochloride (win 41464-2) against preformed plaques of selected oral plaque-forming microorganisms. *Antimicrob Agents Chemother* 1983; 23: 379-84.
27. Buhrer C, Bahr S, Siebert J, Wettstein R, Geffers C, Obladen M. Use of 2% 2-phenoxyethanol and 0.1% octenidine as antiseptic in premature newborn infants of 23-26 weeks gestation. *J Hosp Infect* 2002; 51: 305-7.

- 28.Kramer A, Roth B, Muller G, Rudolph P, Klöcker N. Influence of the antiseptic agents polyhexanide and octenidine on fl cells and on healing of experimental superficial aseptic wounds in piglets. A double-blind, randomised, stratified, controlled, parallel-group study. *Skin Pharmacol Physiol* 2004; 17: 141-6.
- 29.Heeg P. Antisepsis of mucous membranes--current status and aspects of future development. *Z Gesamte Hyg* 1990; 36: 83-6.
- 30.Tirali RE, Turan Y, Akal N, Karahan Z C. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of naocl and octenisept in elimination of endodontic pathogens. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 108: E117-E20.
- 31.Sahinkesen G, Oktay EA, Er O, Koçak MM, Kiliç A. Evaluation of residual antimicrobial effects and surface changes of gutta-percha disinfected with different solutions. *J Contemp Dent Pract* 2011; 12: 47-51.
- 32.Tirali RE, Gulsahi K, Cehreli SB, Karahan ZC, Uzunoğlu E, Elhan A. Antimicrobial efficacy of octenidine hydrochloride, mtad and chlorhexidine gluconate mixed with calcium hydroxide. *J Contemp Dent Pract* 2013; 14: 456-60.
- 33.Davies GE, Francis J, Martin AR, Rose FL, Swain G. 1:6-di-4'-chlorophenyldiguanidohexane (hibitane); laboratory investigation of a new antibacterial agent of high potency. *Br J Pharmacol Chemother* 1954; 9: 192-6.
- 34.Lawrence C. Antimicrobial activity, in vitro, of chlorhexidine. *Journal of the American Pharmaceutical Association* 1960; 49: 731-4.
- 35.Portenier I, Waltimo T, Ørstavik D, Haapasalo M. Killing of enterococcus faecalis by mtad and chlorhexidine digluconate with or without cetrimide in the presence or absence of dentine powder or bsa. *J Endod* 2006; 32: 138-41.
- 36.Haenni S, Schmidlin PR, Mueller B, Sener B, Zehnder M. Chemical and antimicrobial properties of calcium hydroxide mixed with irrigating solutions. *Int Endod J* 2003; 36: 100-5.
- 37.Siren EK, Haapasalo MP, Waltimo TM, Ørstavik D. In vitro antibacterial effect of calcium hydroxide combined with chlorhexidine or iodine potassium iodide on enterococcus faecalis. *Eur J Oral Sci* 2004; 112: 326-31.
- 38.Jones DS, Brown AF, Woolfson AD, Dennis AC, Matchett LJ, Bell SE. Examination of the physical state of chlorhexidine within viscoelastic, bioadhesive semisolids using raman spectroscopy. *J Pharm Sci* 2000; 89: 563-71.
- 39.Zehnder M, Grawehr M, Hasselgren G, Waltimo T. Tissue-dissolution capacity and dentin-disinfecting potential of calcium hydroxide mixed with irrigating solutions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 96: 608-13.
- 40.Bystrom A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1983; 55: 307-12.
- 41.Frais S, Ng YL, Gulabivala K. Some factors affecting the concentration of available chlorine in commercial sources of sodium hypochlorite. *Int Endod J* 2001; 34: 206-15.

Yazışma Adresi:

Yrd.Doç.Dr.Makbule Bilge AKBULUT
Necmettin Erbakan Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Endodonti AD
Konya, Türkiye
Tel : +90 332 220 00 26
Faks : +90 332 220 00 45
E-mail: dt.bilge@yahoo.com