

ÜÇ FARKLI KÖK KANALI YIKAMA SOLÜSYONUNUN ENTEROCOCCUS FAECALIS ÜZERİNE ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

EVALUATION OF ANTIBACTERIAL EFFECTIVENESS OF THREE DIFFERENT ROOT CANAL IRRIGANTS ON ENTEROCOCCUS FAECALIS

¹*Emel UZUNOĞLU, ²Hülya Mehtap ASLAN, ³Sevinç AKTEMUR TÜRKER, ⁴Sevilay KARAHAN

¹DDS. PhD. Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı, ANKARA.

²MD. Erzurum Bölge Eğitim Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, ERZURUM.

³DDS. PhD. Bülent Ecevit Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı, ZONGULDAK.

⁴M.Sc. PhD. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı, ANKARA.

Özet

Bu çalışmanın amacı üç farklı kök kanal yıkama solüsyonunun kök kanal patojenlerinden *Enterococcus faecalis*'e karşı antimikrobiyal etkinliklerinin değerlendirilmesidir.

Bu çalışmada, %5,25'lik sodyum hipoklorit (NaOCl), %2'lik klorheksidin glukonat (CHX) ve yeni üretilen QMix'in *E. faecalis* üzerine antimikrobiyal etkinliği, agar difüzyon yöntemi kullanılarak incelendi. Kök kanalı yıkama solüsyonları 5 mm çapındaki antibiyogram disklerine emdirilerek, besiyerlerine yerleştirildi. Besiyerleri enkübe edildi. 24, 48 ve 72. saatlerde oluşan inhibisyon zonları milimetrik olarak ölçüldü ve fotoğraflandı. Elde edilen veriler istatistiksel olarak iki yönlü ANOVA ve Bonferroni testleri kullanılarak değerlendirildi ($p<0,05$).

Zamandan bağımsız değerlendirildiğinde her üç yıkama solüsyonunun da birbirinden istatistiksel olarak farklı olduğu tespit edildi ($p<0,001$). QMix'in her zaman aralığı için *E. faecalis* üzerine olan antimikrobiyal etkisinin diğer solüsyonlardan daha fazla olduğu belirlendi ($p<0,05$). Buna karşılık en düşük antimikrobiyal etkiyi %5,25'lik NaOCl gösterdiği tespit edildi ($p<0,05$).

Yeni üretilen QMix yıkama solüsyonunun, *E. faecalis* üzerindeki antimikrobiyal etkisinin geleneksel yıkama solüsyonlarından daha etkin olduğu saptandı.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal etkinlik, klorheksidin glukonat, sodyum hipoklorit, QMix.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the antibacterial effectiveness of three different root canal irrigants on *Enterococcus faecalis*.

The antibacterial effect of 5.25% sodium hypochlorite (NaOCl), 2% chlorhexidine gluconate (CHX) and recently produced irrigation solution QMix on *E. faecalis* were investigated by the agar plate diffusion method. Antibigram disks, with a diameter of 5 mm were saturated with antimicrobial root canal irrigants and placed onto the mediums. The mediums were incubated. The inhibition zones were measured and photographed at 24, 48, and 72- hour. The data were statistically evaluated by using two way ANOVA and Bonferroni tests.

The antimicrobial efficiencies of irrigant were significantly different, regardless of tested times ($p<0,001$). QMix was the most effective irrigant at all tested times against *E. faecalis* ($p<0,05$). However, the antimicrobial efficiency of 5.25% NaOCl on *E. faecalis* was significantly lower than the other solutions ($p<0,05$).

Newly introduced QMix was superior to well-known irrigants such as CHX and NaOCl under laboratory conditions in killing *E. faecalis*.

Key words: Antimicrobial effectiveness, chlorhexidine gluconate, QMix, sodium hypochlorite.

Giriş

Endodontik tedavinin başlıca amacı kök kanal sistemini bakterilerden arındırmak ve

yeniden bakteri çoğalmasına izin vermemek üzere sızdırmaz bir şekilde doldurmaktır. Bu amaçla, kök kanal sistemi el ve döner sistemlerle şekillendirilirken, kök kanal yıkama solüsyonları ile inflame ve nekrotik dokular, mikroorganizmalar, biyofilmler ve debrisler uzaklaştırılmaya çalışılmaktadır (1,2). Yıkama solüsyonları antimikrobiyal etkileri ile mikroorganizmaların ölümüne neden olurken, kök kanal sisteminde şekillendirilemeyen alanlara ulaşarak bu alanlardan bakteriyel biyofilmlerin uzaklaştırılmasına olanak sağlayabilmelidir. Bakteriler, pulpal ve

*İletişim Adresi

Dr. Emel UZUNOĞLU
Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Endodonti Anabilim Dalı
Sıhhiye/Ankara
06100

Tel: 03123052260
e-mail: emel_dt@hotmail.com

periradiküler iltihabi hastalıkların meydana gelmesinde ana etkenlerdendir (1,3). *Enterococcus faecalis* gram-pozitif, fakültatif anaerobik, hareketsiz, spor oluşturmeyen, kok şeklindeki bakteridir. *E. faecalis*; litik enzimler, sitolizin, feromonlar ve lipoteikoik asit gibi belirli virulans faktörlere sahiptir (4). *E. faecalis*'in konak hücrelere bağlanabildiği ve konak cevabını değiştirebildiği belirtilmiştir (4,5). Dentine bağlanabilme özelliği de gösteren *E. faecalis*, dentin tübüllerine 400-1000 µm ilerleyebilecek kadar küçük boyutlu olup dentin tübülleri içerisinde yaşayabilmektedir (5,6). *E. faecalis*'in primer endodontik enfeksiyonlarda görülme sıklığı % 4-40 olarak bildirilirken, inatçı periradiküler lezyonlarda bulunma sıklığının çok daha fazla olduğu belirtilmiştir (4). Yapılan bir araştırmada *E. faecalis*'in kök kanalında ek besin olmadan 12 ay boyunca canlılığını sürdürebildiği de gösterilmiştir (7). Bunun en önemli nedenlerinden biri bakterinin günümüzde en sık kullanılan endodontik dezenfektanlarla etkin bir şekilde yok edilememesidir (8,9). Sodyum hipoklorit (NaOCl) ünümüzde kullanılan en popüler irrigasyon solüsyonudur (10). NaOCl çoğunlukla % 0,5 ve % 5,25 arasında değişen konsantrasyonlarda kullanılmaktadır (10,11). Klorheksidin glukonat (CHX) geniş antimikrobiyal spektruma sahiptir. 0.2'lik düşük konsantrasyonlarda bakteriyostatik, %2'lik yüksek konsantrasyonlarda bakteriyosidal etki göstermektedir (12). En önemli özelliği substantivitesinin olması yani sert dokulara bağlanarak antimikrobiyal etkisini uzun süre devam ettirmesidir (10,11). Planktonik mikroorganizmalar üzerinde yapılan çalışmaların bir kısmında NaOCl ile CHX arasında antimikrobiyal etkinlik açısından belirgin bir fark gözlenmezken, bir kısmında ise CHX, NaOCl'den daha etkili bulunmuştur (13,14). Yapılan bir *in vitro* çalışmada bu iki yıkama solüsyonunun kombine kullanımının *E. faecalis*'e karşı, CHX'in tek başına kullanımından daha etkili olmadığı bildirilmiştir (15). QMix 2011 yılında smear tabakasının uzaklaştırılması için üretilen içeriğinde etilendiamin tetraasetik asit, CHX ve deterjan olan yeni bir yıkama solüsyonudur. Dentin disklerinin kullanıldığı bir çalışmada *E. faecalis*'in oluşturduğu biyofilm tabakası üzerinde antibakteriyel etki gösterdiği Stojicic ve diğerleri (8) tarafından bildirilmiştir.

Çeşitli antimikrobiyal ajanların etkinliklerinin *in vitro* olarak değerlendirilmesi, *in vivo* çalışmalara öncülük etmesi açısından oldukça önemlidir. Bu çalışmanın amacı da, bahsi geçen yıkama solüsyonlarının (%5,25'lik NaOCl, %2'lik CHX ve QMix) *E. faecalis* suşu üzerindeki antimikrobiyal etkinliklerinin agar difüzyon yöntemi ile *in vitro* olarak değerlendirilmesidir.

Gereç ve Yöntem

Çalışmamızda %5,25 derişimdeki sodyum hipoklorit (NaOCl, Endosolve HP, Imicryl, Konya, Türkiye), %2 derişimdeki klorheksidin glukonat (CHX, Klorhex, Drogan İlaç, Ankara, Türkiye) ve yeni üretilen Qmix (Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, OK, ABD) kök kanal yıkama solüsyonlarının antimikrobiyal etkinlikleri agar difüzyon yöntemi kullanılarak test edildi. Yıkama solüsyonlarına ait bilgiler Şekil 1 ve Tablo 1'de yer almaktadır. Çalışmamızda Refik Saydam Kültür Koleksiyonundan temin edilen *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) bakteri suşu kullanıldı.

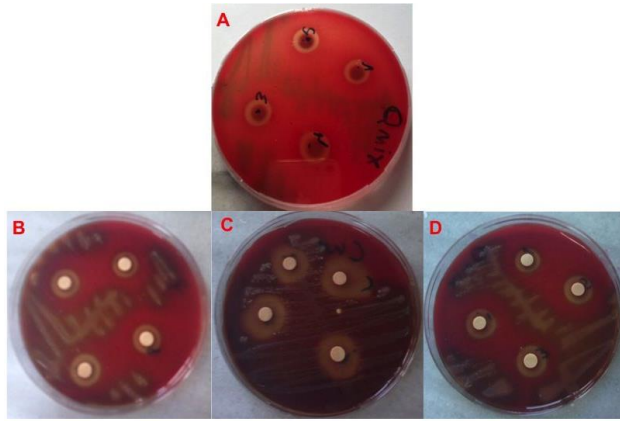


Şekil 1. Çalışmamızda kullanılan yıkama solüsyonları

Yıkama Solüsyonları	İçerik	Üretici Firma	Şehir/Ülke
Endosolve HP	%5,25'lik Sodyum Hipoklorit	Imicryl	Konya/Türkiye
Klorhex	%2'lik Klorheksidin Glukonat	Drogan İlaç	Ankara/Türkiye
QMix	Etilendiamin tetraasetik asit disodyum dehidrat ve klorheksidin diglukonat	Dentsply, Tulsa Dental	Oklahoma/ABD

Tablo 1. Çalışmamızda kullanılan yıkama solüsyonları

Bakteri suşundan triptik soy buyyon besiyerinde 12 saatlik taze kültürü hazırlanarak McFarland standart bulanıklık eşeli 0,5'e (1.5×10^8 bakteri/ml) denk gelen süspansiyon elde edildi. Her bir kanlı agar besiyerine 0.2 mL bakteri süspansiyonu steril svap ile yayılarak ekimleri yapıldı. Her petride, besiyeri üzerinde birbirine eşit uzaklıkta 5 mm çapında 4'er çukur oluşturuldu. Kök kanal yıkama solüsyonları 5 mm çapındaki antibiyogram disklerine emdirilerek, besiyerlerine yerleştirildi (Şekil 2).



A: Temsili ilk ölçüm örneği
B, C, D: Son ölçüm örneği
(sırasıyla NaOCl, CHX ve QMix gruplarında)

Şekil 2. Besiyerine yerleştirilen antibiyogram diskleri

Bu işlemi takiben besiyerleri 37°C'de 24, 48 ve 72 saat boyunca bekletildi ve bu sürelerin sonunda diskler etrafında oluşan zon çapları dijital kumpas ile ölçüldü. Her bir yıkama solüsyonu için onar ölçüm yapıldı. Her bir ölçüm üç kez tekrar edildi ve ortalamaları alınarak kaydedildi. Çalışmada elde edilen zon ölçüm değerleri normal dağılım gösterdiği için aralarındaki farklılığın tespiti için iki yönlü ANOVA testi kullanıldı. Gruplar arası farkın tespiti için ise Bonferroni post hoc testi ($p=0.05$) kullanıldı.

Bulgular

Çalışmadaki gruplardan elde edilen ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 2'de gösterildi. Bu *in vitro* çalışmanın sonucuna göre solüsyonlar zamandan bağımsız olarak karşılaştırıldığında üçü de istatistiksel olarak birbirinden farklı bulundu ($p<0,001$). Zaman faktörü göz önünde bulundurulduğunda yine iki yönlü ANOVA analizine göre gruplar arasında anlamlı farklılık bulundu ($p<0.001$). Yapılan ikili

karşılaştırmalar sonucunda QMix ölçüm yapılan tüm sürelerde CHX'ten ve NaOCl'den anlamlı olarak farklı bulundu (tüm karşılaştırmalar için $p<0,001$). Ayrıca 72. saatin sonunda elde edilen ölçümler karşılaştırıldığında CHX ve NaOCl arasında da anlamlı bir farklılık bulundu ($p=0,028$).

Yıkama Solüsyonları	Ölçüm Zamanları (saat)		
	24	48	72
Endosolve HP	13.99±1.74 ^a	14.30±1.54 ^a	15.14±1.14 ^a
Klorhex	15.25±2.03 ^a	16.80±1.58 ^a	17.87±1.52 ^b
QMix	24.89±3.52 ^b	26.03±2.57 ^b	28.08±3.57 ^c

Farklı üstsimge harflerle işaretlenen (aynı sütün ve aynı satır için geçerli olacak şekilde) sonuçlar birbirlerinden istatistiksel olarak farklıdır ($p<0.05$).

Tablo 2. *E. faecalis* suşları üzerinde üç farklı kök kanal yıkama solüsyonunun antimikrobiyal aktivitesi (ortalama zon± standart sapma çapı mm).

Yıkama solüsyonlarından bağımsız olarak ölçüm zamanları karşılaştırıldığında 72. saatte elde edilen değerler anlamlı olarak 24. saatte elde edilen verilerden farklı bulundu ($p=0,001$). Grup içi karşılaştırma yapıldığında ANOVA testine göre sadece CHX ve QMix gruplarında fark bulundu (p değeri sırasıyla, 0,043 ve 0,011'dir). Yapılan ikili karşılaştırmalarda CHX ve QMix gruplarındaki farklılıkların yine 24. ve 72. saatlerdeki ölçümlerden kaynaklandığı belirlendi (p değeri sırasıyla 0,038 ve 0,009). NaOCl grubunda farklı ölçüm zamanlarında elde edilen değerler arasında fark bulunamadı ($p>0,05$).

Tartışma

Üç farklı yıkama solüsyonunun *E. faecalis*'e olan antibakteriyel etkinliğini agar difüzyon yöntemi ile değerlendiren çalışmamızda tüm ölçüm zamanlarında en etkili solüsyon içeriğinde EDTA, CHX ve deterjan bulunduran QMix olmuştur. Kök kanal tedavisinin başarısı için ön koşul, mikrobiyal kontaminasyonun kök kanal sisteminden elimine edilmesidir. Bunun sağlanmasında uygulanan şekillendirme ve yıkama yöntemleri ve randevular arasında kullanılan pansuman materyalleri önemli rol oynamaktadır. Kök kanal irrigasyonu amacıyla günümüzde kullanılan antimikrobiyal materyaller sınırlı sayıdadır. Halen ideal bir kök kanal yıkama solüsyonunda olması gereken tüm özellikleri kapsayan bir

solüsyon mevcut değildir. Bu amaçla çalışmalar devam etmektedir. Yakın dönemde üretilen QMix yıkama solüsyonunun şekillendirme sırasında oluşan smear tabakasını etkin bir şekilde uzaklaştırdığı bildirilmiştir (8,16). Antibakteriyel etkinliğini araştıran çalışmalar kısıtlı sayıdadır (8,9,17-19). Morgental ve diğerleri (17) dentin ile temas süresi arttıkça antibakteriyel etkinliğinin azaldığını ancak 1 dak. sonunda koloni oluşturma birimi sıfır bulunan %6'lık ve %1'lik NaOCl'den istatistiksel olarak farklı olmadığını bildirmişlerdir. Dentin tübüllerini *E. faecalis* ile enfekte eden Ma ve diğerleri (19) çalışmalarında hiç bir yıkama solüsyonunun *E. faecalis*'i tamamen tübüllerden uzaklaştıramadığını ancak QMix ve %6'lık NaOCl'nin en etkili yıkama solüsyonları olduğunu ve %2'lik CHX'in etkisiz kaldığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda antimikrobiyal aktiviteyi test etmede kullanılan en yaygın yöntemlerden biri olan agar difüzyon yöntemi kullanılmıştır (20). Literatürde agar difüzyon yöntemini kullanarak NaOCl ve CHX'in *E. faecalis*'e olan antimikrobiyal etkinliklerini karşılaştıran çalışmalar farklı sonuçlar göstermiştir. Vianna ve Gomes (15) %2'lik CHX'in hem likit hem de jel formunun %5,25'lik NaOCl'den daha etkin olduğunu, Davis ve diğerleri (21) anaerobik ortamda %2'lik CHX'in %5,25'lik NaOCl'den daha etkin olduğunu bildirirken, Siqueira ve diğerleri (22) %4'lik NaOCl'nin %2'lik CHX'ten daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Sassone ve diğerleri (20) bovin serum albümüni (BSA) varlığında %1'lik CHX en etkili olduğunu belirtirken, ortama BSA ilave edilmediğinde en yüksek ölçümlerin %5'lik NaOCl ile alındığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar agar difüzyon yönteminin dikkatli bir şekilde uygulanması gerektiğini bildirmişlerdir (20). Agar difüzyon yöntemi yaygın uygulanmasına rağmen, test edilen materyalin gerçekteki antibakteriyel etkinliği dışında, yöntemin güvenilirliğini ve tekrarlanabilirliğini etkileyen pek çok faktör vardır. Bu faktörler arasında kimyasal ajanın hali (sıvı ya da jel olması), moleküler boyutu, çözünürlüğü ve agar ortamına yayılma yeteneği, materyalin ve jelin teması, agarın viskozitesi, agar plaklarının saklanma koşulları ve inkübasyon periyodu sayılabilir (23). Çalışmamızda agar difüzyon yönteminin kullanılmış olması QMix ve NaOCl arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın yol açmasına neden olmuş olabilir.

Cilt / Volume 16 · Sayı / Number 1 · 2015

Çalışmamızdan farklı olarak literatürde yer alan agar difüzyon çalışmalarında ölçümler 24 ile 48 saatle sınırlı kalmışlardır. Çalışmamızda CHX ve CHX içeren QMix'in substantivite özelliği göz önünde bulundurularak ölçümlere 72. saat de ilave edilmiştir ve tüm yıkama solüsyonlarının etkinliği zaman içinde artış göstermiştir. Yukarıda bahsi geçen çalışmalarda ölçülen zon değerleri değişkenlik göstermektedir (NaOCl için: 2,83-23,1mm CHX : 4,5 -19 mm) (15,20-22). CHX ve NaOCl için tüm zaman aralıklarında yapılan ölçümlerimiz bu aralıklarda yer alarak literatür ile tutarlılık göstermektedir (Tablo 2). CHX ve NaOCl 'nin 72. saatteki ölçümleri hariç diğer ölçümlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Çalışmamızda sağlanan koşullar altında, yeni üretilen QMix yıkama solüsyonunun, *E. faecalis* üzerindeki antimikrobiyal etkisinin geleneksel yıkama solüsyonlarından daha etkin olduğu ve bu etkinliğin zamanla arttığı saptanmıştır.

Kaynaklar

1. Siqueira JF Jr. Aetiology of Root Canal Treatment Failure: Why Well-Treated Teeth Can Fail. *Int Endod J* 2001; 34: 1-10.
2. 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.
3. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The Effects of Surgical Exposures of Dental Pulp in Germ-Free and Conventional Laboratory Rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965; 20: 340-9.
4. Rocas IN, Siqueira JF Jr, Santos KR. Association of Enterococcus Faecalis With Different Forms of Periradicular Diseases. *J Endod* 2004; 30: 315-20.
5. Love RM. Enterococcus Faecalis--A Mechanism For Its Role in Endodontic Failure. *Int Endod J* 2001; 34: 399-405.
6. Haapasalo M, Orstavik D. In Vitro Infection and Disinfection of Dentinal Tubules. *J Dent Res* 1987; 66: 1375-9.
7. Sedgley CM, Lennan SL, Appelbe OK. Survival of Enterococcus Faecalis in Root Canals Ex Vivo. *Int Endod J* 2005; 38: 735-42.
8. Stojicic S, Shen Y, Qian W, Johnson B, Haapasalo M. Antibacterial And Smear Layer Removal Ability Of A Novel Irrigant, Qmix. *Int Endod J* 2012; 45: 363-71.
9. Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. Effectiveness of Endodontic Disinfecting Solutions Against Young and Old Enterococcus Faecalis Biofilms in Dentin Canals. *J Endod* 2012; 38: 1376-9.
10. Zehnder M. Root Canal Irrigants. *J Endod* 2006; 32: 389-98.
11. Mohammadi Z, Soltani MK, Shalavi S. An Update On The Management of Endodontic Biofilms Using Root Canal Irrigants and Medicaments. *Iran Endod J* 2014; 9: 89-97.
12. Gomes BP, et al. Effectiveness of 2% Chlorhexidine Gel and Calcium Hydroxide Against Enterococcus Faecalis in Bovine Root Dentine In Vitro. *Int Endod J* 2003; 36: 267-75.
13. Buck RA, Eleazer PD, Staat RH, Scheetz JP. Effectiveness of Three Endodontic Irrigants At Various Tubular Depths in Human Dentin. *J Endod* 2001; 27: 206-8.

14. Gomes BP, *et al.* In Vitro Antimicrobial Activity of Several Concentrations of Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Gluconate in The Elimination of Enterococcus Faecalis. *Int Endod J* 2001; 34: 424-8.
15. Vianna ME, Gomes BP. Efficacy of Sodium Hypochlorite Combined With Chlorhexidine Against Enterococcus Faecalis *in Vitro*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 107: 585-9.
16. Dai L, *et al.* The Effect of Qmix, An Experimental Antibacterial Root Canal Irrigant, On Removal of Canal Wall Smear Layer and Debris. *J Endod* 2011; 37: 80-4.
17. Morgental RD, *et al.* Dentin Inhibits The Antibacterial Effect of New and Conventional Endodontic Irrigants. *J Endod* 2013; 39: 406-10.
18. Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. Effect of Smear Layer Against Disinfection Protocols On Enterococcus Faecalis-Infected Dentin. *J Endod* 2013; 39: 1395-400.
19. Ma J, Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. A New Noninvasive Model to Study The Effectiveness of Dentin Disinfection By Using Confocal Laser Scanning Microscopy. *J Endod* 2011; 37: 1380-5.
20. Sassone LM, Fidel RA, Murad CF, Fidel SR, Hirata R Jr. Antimicrobial Activity of Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine By Two Different Tests. *Aust Endod J* 2008; 34: 19-24.
21. Davis JM, Maki J, Bahcall JK. An *in Vitro* Comparison of The Antimicrobial Effects of Various Endodontic Medicaments On Enterococcus Faecalis. *J Endod* 2007; 33: 567-9.
22. Siqueira JF Jr, Batista MM, Fraga RC, De Uzeda M. Antibacterial Effects of Endodontic Irrigants On Black-Pigmented Gram-Negative Anaerobes and Facultative Bacteria. *J Endod* 1998; 24: 414-6.
23. Luddin N, Ahmed HM. The Antibacterial Activity of Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Against Enterococcus Faecalis: A Review On Agar Diffusion and Direct Contact Methods. *J Conserv Dent* 2013; 16: 9-16.