



Aydın Dental Journal

Journal homepage: <http://dergipark.ulakbim.gov.tr/adj>

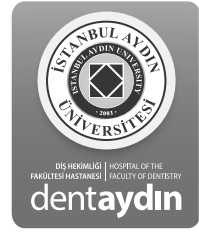


FOTO-AKTİF DEZENFEKSİYONDA KULLANILAN FARKLI FOTOSENSİTİZÖR MADDELERİN ANTİMİKROBİYAL ETKİSİNİN EX VIVO OLARAK İNCELENMESİ

DergiPark
AKADEMİK

Prof. Dr. Serap AKYÜZ¹, Dr. Özlem DEMİR¹, Prof. Dr. Ayşen YARAT², Prof. Dr. Özlem SAÇAN³,
Prof. Dr. Refiye YANARDA³, Uzm. Sadık KALAYCI⁴, Prof. Dr. Fikrettin ŞAHİN⁴

ABSTRACT

Aim: The aim of our study is to compare the antimicrobial activity of the photosensitizers used with photo-active disinfection technique to chlorhexidine digluconate, which is the gold standard in cavity disinfection.

Material and Method: In our study, three different photosensitizers (hypericin, oligomeric proanthocyanidin, *Rumex cristatus* DC.) were activated with two different light sources (Elipar S10 LED™, Fotosan 630 LAD®) and the results compared with chlorhexidine digluconate. Dentin specimens were taken from 70 extracted primary teeth, before and after cavity disinfection, and the antimicrobial effect was assessed after incubation on agar plates.

Results: The antimicrobial effect of hypericin and *Rumex cristatus* DC. as a photosensitizer were found higher than chlorhexidine, but oligomeric proanthocyanidin was lower. The LED light device provided more successful results between the light sources used for photo-activation of the photosensitizers.

Conclusion: As a result of our study, it is thought that hypericin and *Rumex cristatus* DC. can be used for cavity disinfection with LED activation.

Keywords: Photo-activated disinfection, cavity disinfection, *Hypericum perforatum*, oligomeric proanthocyanidin, *Rumex cristatus* DC.

ÖZET

Amaç: Çalışmamızın amacı foto-aktif dezenfeksiyon tekniği ile kullanılan güncel fotosensitizörlerin, antimikrobiyal aktivitesinin kavite dezenfeksiyonunda altın standart olarak kabul edilen klorheksidin diglukonat ile karşılaştırılmasıdır.

Gereç ve yöntem: Çalışmamızda üç farklı fotosensitizör (hiperisin, oligomerik proantosyanidin, *Rumex cristatus* DC.) iki farklı ışık kaynağı ile aktive edildi (Elipar S10 LED™, Fotosan 630 LAD®) ve sonuçlar klorheksidin diglukonat ile karşılaştırıldı. Çalışmada çekimi yapılan 70 adet süt dişinden tedavi öncesi ve sonrası dentin örnekleri alındı ve hazır agarlara ekilerek inkübasyon sonrası antimikrobiyal etkisi değerlendirildi.

Bulgular: Hiperisin ve *Rumex cristatus* DC.'nin fotosensitizör olarak antimikrobiyal etkisi klorheksidine göre daha yüksek ancak, oligomerik proantosyanidin daha düşük bulundu. Fotosensitizör maddelerin foto-aktivasyonu için kullanılan ışık kaynaklarından LED ışık cihazı daha başarılı sonuçlar verdi.

Sonuç: Çalışmamızın sonucuna göre fotosensitizör olarak hiperisin ve *Rumex cristatus* DC.'nin LED ışık cihazı ile aktivasyonunun kavite dezenfeksiyonunda kullanılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Foto-aktif dezenfeksiyon, kavite dezenfeksiyonu, *Hypericum perforatum*, oligomerik proantosyanidin, *Rumex cristatus* DC.

¹ Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti ABD.

² Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Temel Bilimler Biyokimya Bilim Dalı

³ İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya ABD.

⁴ Yeditepe Üniversitesi Mühendislik Fak. Genetik ve Biyomühendislik Bölümü

GİRİŞ

Diş hekimliği tarihi boyunca kavite preparasyon prensipleri, uygulanan yöntem ve restoratif materyallere göre pek çok kez revize edilmiştir. Günümüzde kullanılan restoratif materyaller ve bonding ajanlarının gelişmesiyle klasik Black prensipleri yerini daha koruyucu bir anlayışa bırakmıştır.¹ Bu anlayışta sadece yumuşamış, denatüre olmuş enfekte tabakanın kaldırılmasının yeterli olduğu savunulmaktadır. Ancak rutin tedavi sırasında enfekte tabakanın tamamen kaldırıldığından emin olmak imkansızdır.² Yapılan çalışmalar tedavi sonrası gelişen pulpal enfeksiyonların çoğunun restorasyon materyalinin toksisitesi nedeniyle olmayıp, dokuda kalan bakteriler sonucu olduğunu göstermektedir. Bu nedenle günümüzde başarılı bir restorasyon ve tedavi için sadece çürük dokunun uzaklaştırılması yeterli olmamakta, aynı zamanda doku içinde kalabilecek bakterilerin de elimine edilmesi gerekmektedir.³ Sonuç olarak kavite preparasyonunu takiben bir antimikrobiyal ajan uygulanmasının gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

Kavite dezenfeksiyonu amacıyla sıklıkla kimyasal dezenfektan maddeler kullanılmaktadır. Kimyasal dezenfektanlardan klorheksidinin *Streptococcus mutans* (*S. mutans*)'a karşı en etkili kemoterapötik ajanlardan olduğu bildirilmiştir.⁴ Kavitede sekonder çürük oluşumunu engellemek amacıyla genellikle %2'lik solüsyonu kullanılmaktadır.⁵ Ancak klorheksidinin epitelyal hücreler ve makrofajlar için toksik olması ve dişlerde renklenme meydana getirmesi gibi yan etkileri bulunmaktadır.^{6,7}

Güneş ışığının sağlık üzerindeki etkisi yüzyıllardır bilinmektedir. Modern fototerapinin temellerinin 19.yy'ın başında atıldığı bildirilmiştir.⁸ Diş hekimliğinde ise ilk kez Prof. Micheal Wilson tarafından kullanılan

Fotodinamik tedavi (FDT), oral kanser ve prekanseröz lezyonların yanı sıra enfeksiyon hastalıklarında da (candidiazis, herpes simplex) tedavi amaçlı kullanılır.⁹ Bunun yanında periodontal ceplerin tedavisi, cerrahi bölgenin dezenfeksiyonu, kanal ve kavite dezenfeksiyonu amacıyla da tercih edilmektedir.¹⁰

Foto-aktif dezenfeksiyon (FAD) yöntemi dentine fotosensitizör (FS) yani ışığa hassas moleküller uygulanarak gerçekleştirilir. Kaviteye uygulanan FS'ler bakteri hücre duvarına bağlanır ve absorbe edecekleri dalga boyunda ışık verildikten sonra moleküllerden oksijen radikalleri salınır. Salınan oksijen radikalleri hücre duvarını parçalayarak bakterisit etki gösterir.³ FS olarak pek çok doğal ve sentetik maddelerden oluşan foto-aktif bileşik tek başına veya karışım halinde kullanılmaktadır.

Hypericum türü bitkilerden doğal olarak elde edilen hiperisinin doğada bulunan en güçlü FS ajan olduğu düşünülmektedir.¹¹ Çalışmalarda bu materyalin çeşitli gram pozitif bakteri üzerine etkili olduğu gösterilmiştir.^{12,13}

Oligomerik proantosiyanidinler (OPC) ise bitkilerde doğal olarak bulunan fenolik bileşikler grubudur. Antioksidan, antikarsinojen ve antiinflamatuardır. Yapılan bazı çalışmalarda ayrıca antimikrobiyal ve antiviral etkileri bulunduğu belirtilmiştir.¹⁴

Rumex cristatus DC. (labada) ise dünyada 200'den fazla çeşidi olan ve 23 tanesi Türkiye'de bulunan bir bitkidir. Geleneksel tıpta antiinflamatuvar etkisi nedeniyle kullanılmıştır. Fitokimyasal taramalar sonucunda *Rumex cristatus* DC.'nin antrokinon türevleri, flavonoidler, terpenler, organik asitler ve naftalin içerdiği belirtilmiştir.^{15,16}

FDT’de fotobiyolojik reaksiyonun gerçekleşebilmesi için FS’nin absorpsiyon spektrumu ile uygunluk gösteren, FS’yi etkinleştirebilen düşük güçte görünür ışık kaynağı gerekir.¹⁷ Diş hekimliğinde rutin olarak kullanılan LED (Light emitting diode) ve halojen ışık kaynakları aynı zamanda FS’nin aktivasyonunda kullanılacak temel ışık kaynağını oluşturur.¹⁸

Bu çalışmada, diş çürüğünün temizlenmesi sırasında dentin dokusu içerisinde kalabilecek bakterilerin uzaklaştırılmasında FAD tekniği ile kullanılan güncel FS’lerin antimikrobiyal aktivitesinin incelenmesi ve sonuçların altın standart olarak bildirilen ‘klorheksidin diglukonat ile karşılaştırılması amaçlanmaktadır.

MATERYAL-METOD

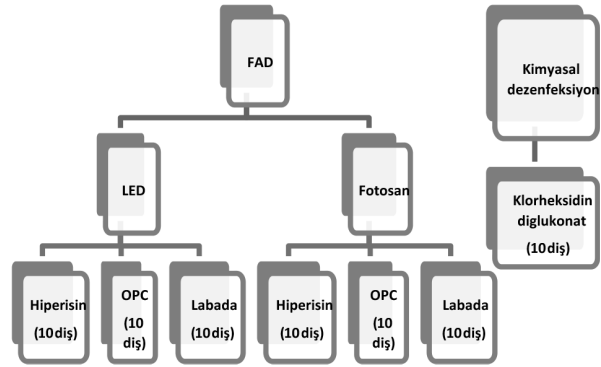
Çalışmamız için Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kuruluna başvuru yapılarak 30.05.2016 tarihinde etik onayı alındı (Karar no: 38).

Dişlerin seçim kriterleri

Antimikrobiyal aktivitenin değerlendirilebilmesi için çekim endikasyonu Pedodonti anabilim dalı tarafından konulmuş 70 adet süt azı dişi kullanıldı. Sistemik olarak sağlıklı çocukların, fizyolojik kök rezorpsiyonu 2/3’ü geçmiş, derin dentin çürüğüne sahip, süt azı dişleri çalışmaya dahil edildi. Sistemik olarak herhangi bir hastalığı olan çocukların dişleri, patolojik kök rezorpsiyonu olan dişler, pulpa ekspoze olan dişler, kesici dişler ve mine çürükleri çalışmaya alınmadı.

Çalışma hakkında bilgilendirildikten sonra onayı alınan dişler bir pedodontist tarafından lokal anestezi altında çekilerek içerisinde Brain-Heart Infusion (BHI) Broth olan eppendorf tüplerine konuldu ve 1 saat içerisinde deneyin yapılacağı laboratuvara ulaştırıldı.

Grupların oluşturulması



Bakteri Kültürleri

Antimikrobiyal aktivitenin değerlendirilmesinde, Yeditepe Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik laboratuvarlarında insan çürük dişinden izole edilmiş *S. mutans* suşu ve Leibniz Institute DSMZ - German Collection of Microorganisms and Cell Cultures’dan temin edilen *Scardovia wiggisiae* (*S. wiggisiae*) suşu tercih edildi.

S. mutans, *Mitis salivarius* agara ekilerek 37°C’de, 48 saat, % 10 karbondioksitli ortamda *S. wiggisiae* ise koyun kanlı agara ekilerek 37°C’de, 120 saat, anaerobik kavanozda inkübe edilerek çoğaltıldıktan sonra çalışmada ‘kontrol grubu’ olarak kullanıldı.

Fotosensitizörler

Daha önceki çalışmalarda FAD’da antimikrobiyal etkisi kanıtlanmış *Hypericum perforatum*’dan elde edilmiş hiperisin⁽¹³⁾ ve üzüm çekirdeğinden elde edilmiş OPC⁽¹⁴⁾ Sigma-Aldrich firmasından temin edildi. *Rumex cristatus* DC. ise İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı’nda hazırlanan dört farklı bitki ekstresi (*Cotinus coggria* Scop., *Rumex cristatus* DC., *Beta vulgaris* L.var *cicla*, *Eruca sativa*) arasında yaptığımız ön çalışma sonucunda antimikrobiyal ve fotoaktif etkisi kanıtlandıktan sonra çalışmaya dahil edildi.

Toz halinde temin edilen FS maddelerden belirlenen miktarlar hassas terazide tartıldıktan sonra uygun çözeltilerle steril falkon tüpler içerisinde vortekslenerek tamamen çözünmesi sağlandı. Hazırlanan solüsyonlar deney gününe kadar -20° de saklandı.

Işık kaynakları

FS'nin aktivasyonunda kullanılacak ışık kaynaklarına bitkilerin spektrofotometrik analiz sonuçları göz önünde bulundurularak karar verildi. Çalışmamızda kullanılan ışık kaynaklarının özellikleri ve aktivasyon süresi Tablo 1'de gösterilmiştir.

Işık kaynağı	Üretici Firma	Işık Kaynağının Dalga Boyu	Aktivasyon süresi
Elipar S10 LED	3M ESPE, Amerika	430-480 nm	2 dk
FotoSan 630 LAD	CMS Dental, Danimarka	620-640 nm	1 dk

Tablo 1: Işık kaynaklarının özellikleri ve foto-aktivasyon süresi.

Dentin örneklerinin toplanması

Laboratuvara ulaştırılan dişlerdeki çürük dentin dokusu Atravmatik Restoratif Tedavi (ART) prosedürüne uygun olarak steril bir ekskavatör ile uzaklaştırıldıktan sonra kavite tabanından ekskavatörün içini dolduracak miktarda örnek alındı. İçerisinde BHI broth olan eppendorf tüplerine konuldu ve 30 saniye vortekslendikten sonra bakteri sayısı tayini için daha önceden hazırlanmış agarlara ekildi (kavite dezenfeksiyonu öncesinde alınan örnek).

Kavite dezenfeksiyonu uygulandıktan sonra, kavite distile su ile yıkandı. Steril bir ekskavatör ile kavite tabanından ekskavatörün içini dolduracak miktarda örnek alınarak içerisinde

BHI broth olan eppendorf tüplerine konuldu ve 30 saniye vortekslendikten sonra bakteri sayısı tayini için daha önceden hazırlanmış agarlara ekildi (kavite dezenfeksiyonu sonrasında alınan örnek).

Kavite dezenfeksiyonu uygulaması

1- Foto-aktif dezenfeksiyonun uygulanışı;

Kavitedeki yumuşak çürük temizlendikten sonra kavite dezenfeksiyon yöntemleri uygulandı. FAD amacıyla hazırlanan kavitelere her bir FS'den 50'şer µL damlatıldı ve sulu ekstrenin bakteri ile teması için 3 dk bekletildi (Temas süresi). Sonrasında foto-aktivasyon amacıyla kullanılan ışık kaynakları kaviteye 1 cm uzaklıktan, dik konumda olacak şekilde ayarlandı. Elipar S10 LED™ cihazı 2 dk, Fotosan 630 LAD® cihazı ise üretici firmanın talimatı doğrultusunda 1 dk boyunca ışınlandı.

2- Kimyasal dezenfeksiyon;

50 µL klorheksidin diglukonat solüsyonu (Cavity cleanser, BİSCO, Schaumburg, Amerika) kaviteye damlatıldıktan sonra 3 dk ışınlama öncesi süre + 2 dk ışınlama süresine eşit olması amacıyla 5 dk bekletildi.

Antimikrobiyal etkinin belirlenmesi

Kavite dezenfeksiyonu öncesinde ve sonrasında alınan örnekler, altı kat seri dilüsyonları yapılarak son üç dilüsyonun her birinden 100'er µL'si hazır agarlara iki tekrarlı olacak şekilde ekildi. Hazır agar olarak *S. mutans* için *Mittis salivarius* agar, *S. wiggsiae* için koyun kanlı agar kullanıldı. Ekim sonrası *Mittis salivarius* agar 37°C'de, 48 saat, % 10 karbondioksitli ortamda ve koyun kanlı agar 37°C'de, 120 saat, anaerobik kavanozda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında koloniler sayılarak bakteri konsantrasyonu cfu/mL olarak belirlendi.

Mikrobiyal data log10 sistemine çevrildi. Logaritmik azalma işlem sonrası yaşayan

bakterileri göstermek için kullanıldı. Azalma; dezenfeksiyon öncesi alınan örnekteki yaşayan bakteri sayısından, dezenfeksiyon sonrası alınan örnekteki sayı çıkarılarak hesaplandı.

İstatistiksel Yöntem

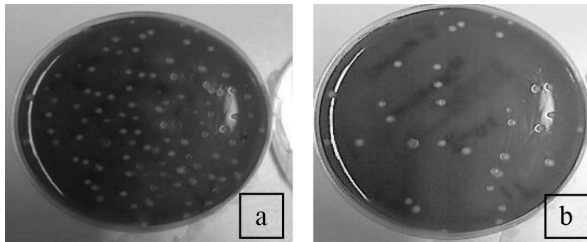
İstatistiksel analizler için SPSS Windows Versiyon 24.0 paket programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistik olarak sayısal değişkenler için ortalama \pm standart sapma değerleri verildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğunun test edilmesinde Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Ölçümlerin ikiden fazla grupta karşılaştırılmasında Kruskal Wallis ve all-pairwise çoklu karşılaştırma testleri, gruplar içinde karşılaştırmasında ise Freidman ve all-pairwise çoklu karşılaştırma testleri kullanıldı. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmamızda kavite dezenfeksiyonu uygulanan tüm dişlerde kontrol grubuna göre bir antimikrobiyal etki gözlemlendi. Bu etki gruplar arası farklılıklar göstermektedir. $1 \log_{10}$ 'dan daha az etki eden gruplar antimikrobiyal olarak yetersiz kabul edildi.

LED grubunun antimikrobiyal sonuçları

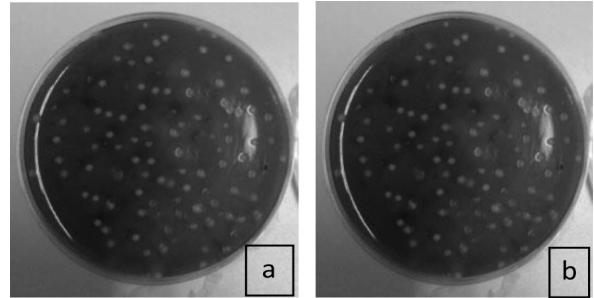
Hiperisin ve *Rumex cristatus* DC.'nin Elipar S10 LED cihazı ile aktivasyonu sonrasındaki *S. mutans* ve *S. wiggisiae* üzerine antimikrobiyal etkisi $4 \log_{10}$ (Resim 1), bulunurken OPC'nin antimikrobiyal etkisi yetersiz bulundu.



Resim 1: Foto-aktif dezenfeksiyon öncesi (a), sonrası (b) agar örnekleri.

FotoSan® grubunun antimikrobiyal sonuçları

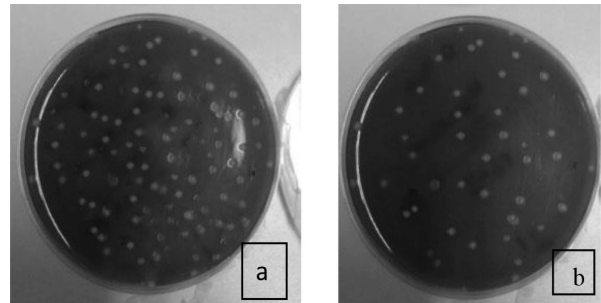
FS'lerin hiç birinde FotoSan® 630 LAD cihazı ile aktive edilmesinden sonra *S. mutans* ve *S. wiggisiae* üzerine antimikrobiyal etki saptanmadı (Resim 2).



Resim 2: Foto-aktif dezenfeksiyon öncesi (a), sonrası (b) agar örnekleri.

Klorheksidin solüsyonunun antimikrobiyal sonuçları

Kimyasal kavite dezenfektanı olarak kullanılan klorheksidin diglukonat içerikli Cavity Cleanser'in *S. mutans* ve *S. wiggisiae* üzerine antimikrobiyal etkisi $2 \log_{10}$ bulundu (Resim 3).



Resim 3: Kimyasal kavite dezenfeksiyonu öncesi (a), sonrası (b) agar örnekleri.

TARTIŞMA

Çocuk diş hekimliğinde çürük dokunun kaldırılırken alttaki remineralizasyon şansı yüksek, sert tabakanın (dentinin) bırakılması güncel bir yaklaşımdır. Sadece yumuşak çürüğü temizlemenin, çocuklarda ağrı oluşturmaması, dokunun kendini tamir

etmesine olanak sağlaması ve daha koruyucu bir tedavi hizmeti verilmesi gibi avantajları vardır.^(1,19) Ancak bu tabakada bakterilerin kalabildiği de bildirilmiştir.⁽²⁰⁾ Kalan bakterilerin zaman içinde pulpayı etkilediği ve tedavinin başarısını azalttığı düşünülmektedir.⁽²¹⁾ Tedavinin başarısını artırmaya yönelik yapılan araştırmalarda antimikrobiyal yöntemlerin öne çıktığı görülmektedir.⁽²²⁾

Çalışmamızda kavite dezenfeksiyonu uygulanmış tüm örneklerde başlangıca göre mikroorganizma sayılarında azalma olduğu görüldü. Kavite dezenfeksiyonu uygulanan örneklerin kontrol gruplarına göre daha düşük mikroorganizma sayısı göstermesi literatürdeki tüm çalışmalarla benzerlik göstermektedir.^(13,14,28)

Kavite dezenfeksiyonu için çeşitli yöntemler ve maddeler olmasına rağmen bu ajanların kimyasal olanlarının yerine doğal ve sitotoksik özelliğe sahip olmayanların kullanılması tercih edilmektedir. Geleneksel tıpta farklı etkileri nedeniyle birçok hastalığın tedavisinde kullanılan hiperisin ve proantosiyanidinler günümüzde antimikrobiyal ve antioksidan özellikleriyle dikkat çekmektedir. Bu maddeler benzer şekilde FAD amacıyla da güncel FS'ler arasında yer almaktadır.^(13,14)

FAD'da kullanılan FS ve ışık kaynakları çok farklı kombinasyonlarda kullanılabilir. Çalışmamızda en yüksek antimikrobiyal etki hiperisin ve *Rumex cristatus* DC.'nin LED ile aktive edildiği grupta bulundu. Çalışmamıza benzer şekilde Lüthi ve ark. da yaptıkları çalışmada hiperisini kullanmış ve 15 dk temas süresi verilen örneklerde 1,25 µg/mL konsantrasyonda 120 sn halojen ışığa (400-505 nm) maruz bırakıldığında *S. mutans*'ın %34 oranında azaldığını göstermiştir. Hiperisinin 10 µg/mL konsantrasyonda 30 dk temas süresi sonunda 2x120 sn foto-

aktive edilmesi ise %99,988 bakteri ölümü ile sonuçlanmıştır. Çalışmamızda Lüthi ve ark.'dan farklı olarak hiperisin (10 µg/mL) 3 dk'lık temas süresi sonunda, 2 dk LED cihazı (430-480) ile aktive edilmiş ve *S. mutans* üzerinde 4 Log₁₀'luk bir antimikrobiyal etkide bulunmuştur. Çalışmamızda hiperisinin daha düşük sürelerde temasta bırakılıp aktive edilmesine rağmen yüksek antimikrobiyal etki göstermesinin sebebinin penetrasyon etkinliği daha iyi olduğu bildirilen LED cihazı kullanmamızdan kaynaklandığını düşünmekteyiz.⁽¹³⁾

Florez ve ark.'nın yaptıkları çalışmada ise zerdeçal, hiperisin ve Photogem® antimikrobiyal açıdan incelenmiş ve negatif kontrol grubu olarak %2'lik klorheksidin solüsyonu kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda 10 mg/L hiperisinin antimikrobiyal etkisinin en fazla olduğu bildirilmiştir (6 log₁₀). Aynı çalışmada FS maddelerin farklı konsantrasyonlardaki çözeltileri de değerlendirilmiş ve 5 mg/L'de hazırlanan hiperisinin %2'lik klorheksidin solüsyonu ile eşdeğer bir antimikrobiyal etkiye sahip olduğu belirtilmiştir.⁽²³⁾ Biz de çalışmamızda hiperisin ve *Rumex cristatus* DC.'nin LED cihazı ile aktivasyonu sonrasında en yüksek antimikrobiyal etkiyi gösterdiğini (4 log₁₀) ve bu etkinin klorheksidinden (2 log₁₀) daha fazla olduğunu saptadık. Çalışmamızda hiperisinin antimikrobiyal etkisinin Florez ve ark.'nın yaptığı çalışmaya göre daha düşük bulunmasının sebebinin çalışmalardaki metod farkından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Çünkü Florez ve ark. antimikrobiyal aktivitenin değerlendirilmesinde kuyucuklu plaka tekniğini kullanarak *in vitro* bir çalışma yapmıştır ancak biz tedavimizi klinik etkiye daha yakın sonuçlar elde edildiği bildirilen *ex vivo* bir yöntemle gerçekleştirdik.⁽²³⁾

Williams ve arkadaşları 2003 yılında yaptıkları *in vitro* çalışmada, kuyucuklu plakalar kullanmış ve direkt bakteri süspansiyonu ile FS'nin mikrodilüsyon yöntemiyle ışığa maruz bırakılmasının, 2004 yılında kullandıkları *ex vivo* çalışmadaki çürük dentin dokusuna uygulanmasından daha yüksek antimikrobiyal etki gösterdiğini belirtmiştir. Tüm parametreler aynı olmasına rağmen FAD'ın çürük dentinde daha etkisiz çıkması, araştırmacılara göre FS maddenin çürük dentindeki mikroorganizmalarla yeterince temasta olamadığını göstermektedir.^(24,25) Araştırmacılar çürük dokudaki tedavinin daha zor olduğunu çünkü bakterinin, FS ve ışığın penetrasyonunu sınırlayan bir dentin yapısı ile korunduğunu bildirmiş, ayrıca peritübüler ve intertübüler dentin yüzeyindeki kırılma ve yansımaların ışığın dentine etkisini karmaşık hale getirdiğini belirtmiştir.⁽²⁾

FAD'ın, *in vitro* ortamda yetiştirilen *S. mutans* biyofilmlerinde bulunan oral mikroorganizmaların öldürülmesinde etkili olduğunu fakat *in situ* yetiştirilen çoklu spesifik biyofilmde bulunan oral streptokokların öldürülmesinde etkisiz kaldığını belirten Teixeira ve ark. biyofilmden organize edilen patojenlerin planktonik kültürlerle kıyasla antimikrobik tedavilere karşı daha dirençli olduğunu bildirmiştir.⁽²⁶⁾

Tonon ve ark. da yaptıkları çalışmada, FAD'ı laboratuvar ortamında ekilmiş standart *S. mutans* suşu ile ağızdan izole edilen *S. mutans* suşu üzerine ayrı ayrı uygulamış ve standart suşlarda daha yüksek antimikrobiyal etkinin görüldüğünü vurgulamıştır.⁽²⁷⁾ Planktonik kültürlerin yerine çürük dentindeki bakterilerin kullanılmasının daha doğru sonuçlar elde etmemizi sağladığını düşünmekteyiz.

Gökyar'ın 2012 yılında yaptığı tez çalışmasında ise hiperisin, toludin mavisi ve rose bengalin foto-aktivasyonu için çalışmamızla benzer şekilde iki farklı ışık kaynağı (FotoSan®, halojen) kullanılmış ve *S. mutans*'a karşı antimikrobiyal etkileri değerlendirilmiştir. FS'ler arasında antimikrobiyal etki açısından anlamlı fark bulunamamıştır.⁽²⁸⁾

Hiperisin gibi OPC'ler de özellikle antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri nedeniyle pek çok çalışmada kullanılmış doğal bir üründür.

Smullen ve ark. yaptıkları çalışmada çay, üzüm çekirdeği ekstraktı ve polifenol içeren pek çok doğal ürünün *S. mutans*'a karşı antimikrobiyal etkisini incelemiş ve üzüm çekirdeği ekstraktının *S. mutans*'a karşı en yüksek antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu saptamıştır.⁽²⁹⁾

Swadas ve ark. da ışık aktivasyonu kullanmadan üzüm çekirdeği ekstraktının antimikrobiyal etkisini incelemiş ve sonuçlarını çalışmamızda olduğu gibi klorheksidinle karşılaştırmıştır. Sonuçta üzüm çekirdeği ekstraktının tek başına *S. mutans* üzerinde antimikrobiyal etkisi olduğunu ancak bu etkinin klorheksidinden daha düşük olduğunu göstermiştir.⁽³⁰⁾

Yaptığımız literatür taramasında FAD'da OPC'nin FS olarak kullanılmasına yönelik sadece bir çalışmaya rastlanmıştır. Çalışmada 64 mg/mL olacak şekilde saf suda çözünen proantosiyanidinin farklı konsantrasyonda çözeltileri hazırlanarak antimikrobiyal etkinliğine bakılmış, en yüksek antimikrobiyal etkinin 0,25-4 mg/mL arasındaki konsantrasyonda 5 log₁₀ düzeyinde bir antimikrobiyal etkisi olduğunu göstermiştir. Bu sonuç bizim çalışmamızdan farklıdır. Bu farkın çalışmaların metot farkından kaynaklanabileceğini

düşünmekteyiz. Nakamura *S. aureus*' u *in vitro* ortamda 30 dk lazer ışığına (405) maruz bırakmıştır. Planktonik kültürde yapılan deney sonuçlarının dentin dokusu üzerindeki uygulamalardan daha yüksek sonuçlar verdiği bilinmektedir. Bunun yanında aktivasyon süresinin çok daha yüksek olduğu da göz ardı edilmemelidir.⁽¹⁴⁾

SONUÇ

Minimal invaziv yaklaşımın kabul edildiği günümüz diş hekimliğinde pulpanın vitalitesinin korunmasına önem verilmektedir. Özellikle derin kavitelere pulpanın vitalitesini korumak amacıyla dentin tübüllerinde kalabilecek bakterilerin eliminasyonu için kavite dezenfeksiyon yöntemleri önerilmektedir. Kavite dezenfeksiyonu amacıyla uygulanan kimyasal ajanların pulpaya dentin tübülleri vasıtası ile sızarak pulpanın rejenerasyonunu olumsuz yönde etkilediği düşünülmekte ve alternatif dezenfeksiyon yöntemleri araştırılmaktadır. Bu bilgilerin sonucunda çalışmamızda kullanılan hiperisin ve *Rumex cristatus* DC.'nin yeterli antimikrobiyal azalma gösterdiği belirlenerek gelecek için ümit vaat eden bir tedavi olduğu düşünülmektedir. Yapılan literatür araştırmaları sonucunda *Rumex cristatus* DC.'nin FS olarak ilk defa çalışmamızda kullanıldığı, kavite dezenfeksiyon yöntemlerinin antimikrobiyal etkisinin *S. mutans* dışında *S. wiggsiae* bakterisi üzerinde ilk kez araştırıldığı görüldü. Çalışmamız bu konuda literatüre katkıda bulunacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] Tyas MJ, Anusavice KJ, Frencken JE, Mount GJ. Minimal intervention dentistry—a review. *International Dental Journal*. 2000;50(1): 1-12.
- [2] Lima JP, Sampaio de Melo MA, Borges F, Teixeira AH, Steiner-Oliveira C, Nobre dos Santos M, Zanin IC. Evaluation of the antimicrobial effect of photodynamic antimicrobial therapy in an in situ model of dentine caries. *European Journal of Oral Sciences*. 2009;117(5): 568-574.
- [3] Karaarslan EŞ, Altıntaş S, Cebe AGMA, Üşümez A. Işıkla aktive edilen dezenfeksiyon işlemi uygulanmış kompozit restorasyonlarda mikrosızıntının değerlendirilmesi. *Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*. 2010;34(1): 2-9.
- [4] Emilson CG. Potential efficacy of chlorhexidine against mutans streptococci and human dental caries. *Journal of Dental Research*. 1994;73(3): 682-691.
- [5] Shafiei F, Fekrazad R, Kiomarsi N, Shafiei E. Bond strength of two resin cements to dentin after disinfection pretreatment: effects of Er, Cr: YSGG laser compared with chemical antibacterial agent. *Photomedicine and Laser Surgery*. 2013;31(5): 206-211.
- [6] Audus KL, Tavakoli-Saberi MR, Zheng H, Boyce EN. Chlorhexidine effects on membrane lipid domains of human buccal epithelial cells. *Journal of Dental Research*. 1992;71: 1298303.
- [7] Heintze SD, Twetman S. Interdental mutans streptococci suppression in vivo: a comparison of different chlorhexidine regimens in relation to restorative material. *American Journal of Dentistry*. 2002;15: 103-8.

- [8] Jurczyszyn K, Ziłkowski P, Gerber H, Osiecka BJ. Potentiality of photodynamic therapy in dentistry. *Dental and Medicinal Problems*. 2007;44(2): 255-8.
- [9] Hakimiha N, Khoei F, Bahador A, Fekrazad R. The susceptibility of *Streptococcus mutans* to antibacterial photodynamic therapy: a comparison of two different photosensitizers and light sources. *Journal of Applied Oral Science*. 2014;22(2): 80-4.
- [10] Rajesh S, Koshi E, Philip K, Mohan A. Antimicrobial photodynamic therapy: An overview. *Journal of Indian Society of Periodontology*. 2011;15(4): 323.
- [11] Kitanov GM. Hypericin and pseudohypericin in some *Hypericum* species. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2001;29(2): 171-8.
- [12] Avato P, Raffo F, Guglielmi G, Vitali C, Rosato A. Extracts from St John's wort and their antimicrobial activity. *Phytotherapy Research*. 2004;18(3): 230-2.
- [13] Lüthi M, Gyenge EB, Engström M, Bredell M, Grätz K, Walt H, Maake C. Hypericin-and mTHPC-mediated photodynamic therapy for the treatment of cariogenic bacteria. *Medical Laser Application*. 2009;24(4): 227-236.
- [14] Nakamura K, Shirato M, Ikai H, Kanno T, Sasaki K, Kohno M, Niwano Y. Photo-irradiation of proanthocyanidin as a new disinfection technique via reactive oxygen species formation. *PloS one*. 2013;8(3): e60053.
- [15] Avci E, Avci GA, Kose DA, Emniyet AA, Suicmez M. In vitro antimicrobial and antioxidant activities and GC/MS analysis of the essential oils of *Rumex crispus* and *Rumex cristatus*. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*. 2014;42(2): 193-9.
- [16] Kahraman S, Yanardağ R. Antioxidant activity of ethanolic extract from *Rumex cristatus* DC. *International Journal of Electronics; Mechanical and Mechatronics Engineering*. 2012;2(4): 319-326.
- [17] Konopka K, Goslinski T. Photodynamic therapy in dentistry. *Journal of Dental Research*. 2007;86(8): 694-707.
- [18] Nagata JY, Hioka N, Kimura E, Batistela VR, Terada RSS, Graciano AX, Hayacibara MF. Antibacterial photodynamic therapy for dental caries: evaluation of the photosensitizers used and light source properties. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 2012;9(2): 122-131.
- [19] Henne K, Gunesch AP, Walther C, Meyer-Lueckel H, Conrads G, Esteves-Oliveira M. Analysis of bacterial activity in sound and cariogenic biofilm: A pilot in vivo study. *Caries Research*. 2016;50(5): 480-8.
- [20] Berkiten M, Okar I, Berkiten R. In vitro study of the penetration of *Streptococcus sanguis* and *Prevotella intermedia* strains into human dentine tubules. *Journal of Endodontics*. 2000;26: 236-9.
- [21] Camila de Almeida BG, Simionato MRL, Ramalho KM, Imperato JCP, Pinheiro SL, Luz MA. Clinical use of photodynamic antimicrobial chemotherapy for the treatment of deep carious lesions. *Journal of Biomedical Optics*. 2011;16(8). doi088003-088003.

- [23] NammourS, Zeinoun T, Bogaerts I, Lamy M, Geerts SO, Saba SB, Limme M. Evaluation of dental pulp temperature rise during photo-activated decontamination (PAD) of caries: an in vitro study. *Lasers in Medical Science*. 2010;25(5): 651-4.
- [24] Florez FLE, Del Arco MCG, de Souza Salvador SL, Bagnato VS, de Oliveira Júnior OB. Viability study of antimicrobial photodynamic therapy using curcumin, hypericin and photogem photosensitizers in planktonic cells of *Streptococcus mutans*. *Journal of Dental Sciences*. 2015;2: 22-7.
- [25] 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 Research*. 2003;37(3): 190-3.
- [26] Williams JA, Pearson GJ, Colles MJ, Wilson M. The photo-activated antibacterial action of toluidine blue O in a collagen matrix and in carious dentine. *Caries Research*. 2004;38(6): 530-6.
- [27] Teixeira AH, Pereira ES, Rodrigues LKA, Saxena D, Duarte S, Zanin ICJ. Effect of photodynamic antimicrobial chemotherapy on in vitro and in situ biofilms. *Caries Research*. 2012;46(6): 549-554.
- [28] Tonon CC, Paschoal MA, Correia M, Spolidorio DM, Bagnato VS, Giusti JS, Santos-Pinto L. Comparative effects of photodynamic therapy mediated by curcumin on standard and clinical isolate of *Streptococcus mutans*. *The Journal of Contemporary Dental Practice*. 2015;16(1): 1-6.
- [29] GökyarS. Fotodinamik Antimikrobiyal Tedavinin Kompomer Restorasyonların Süt Dişi Dentin Dokusuna Bağlanma Kuvvetine ve Mikrosızıntısına Etkisinin İncelenmesi. Doktora Tezi, 2012, Konya (Tez danışmanı: Doç. Dr. Gül Tosun).
- [30] Smullen J, Koutsou GA, Foster HA, Zumbé A, Storey DM. The antibacterial activity of plant extracts containing polyphenols against *Streptococcus mutans*. *Caries Research*. 2007;41(5): 342-9.
- [31] Swadas M, Dave B, Vyas SM, Shah N. Evaluation and comparison of the antibacterial activity against *Streptococcus mutans* of grape seed extract at different concentrations with chlorhexidine gluconate: An in vitro study. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. 2016;9(3): 181.