

UNIVERSITETI I MJEKËSISË, TIRANË
FAKULTETI I MJEKËSISË DENTARE
DEPARTAMENTI I TERAPISË STOMATOLOGJIKE

Disertacion i Paraqitur nga
Mr. Sci. Xhevdet Aliu

PËR MARRJEN E GRADËS SHKENCORE
“DOKTOR”

Tema:
**EFEKTI ANTIMIKROBIAL FOTODINAMIK
I HELBO LAZERIT
NDAJ ENTEROCOCCUS FAECALIS
DHE CANDIDA ALBICANS *EX VIVO***

Udhëheqës shkencor: Prof. Asc. Besnik Gavazi

MBROHET ME DATË:/...../.....

PARA JURISË

- 1.....Kryetar
- 2.....Anëtar (oponent)
- 3.....Anëtar (oponent)
- 4.....Anëtar
- 5.....Anëtar

FALENDERIME

Ky punim nuk mund të realizohej pa ndihmën dhe preokupimin e profesorëve të mi, që me këshillat dhe udhëzimet e tyre më drejtuan përgjatë gjithë kohës. Fillimisht dua të shpreh mirënjohjen time të thellë për udhëheqësin shkencor Prof. Asc. Besnik Gavazi që me njohuritë dhe eksperiencën e tij mundësoi përfundimin me sukses të këtij punimi. Gjithashtu një falenderim i veçantë shkon për Prof. Dr. Alos Ihan që me gadishmërinë dhe sugjerimet e tij u mundësua analiza mikrobiologjike e mostrave të dhëmbëve (realizimi i studimit) me instrumenta bashkëkohorë në Institutin e Biologjisë qelizore pranë Fakultetit të Mjeksisë në Ljubjanë. Gjithashtu desha të falenderoj Prof. Dr. Ruzhdie Qafmolla për këshilla dhe mbështetje të këtij punimi.

NJË FALENDERIM I VEÇANTË I DEDIKOHET FAMILJES TIME,
QË MË PËRKRAHËN PËRGJATË GJITHË KËSAJ PERIUDHE.

PËRMBAJTJA

1.	HYRJE	I
1.1	TERAPIA FOTODINAMIKE	1
1.1.1	Burimi i dritës	1
1.1.1.1	Drita e lazerit	1
1.1.2	Fotosensiteret dhe mekanizmi i veprimit	3
1.2	ENDODONTIA	7
1.3	TERAPIA FOTODINAMIKE NË ENDODONTI	8
1.4	MIKROBIOLOGJIA NË ENDODONTI	11
1.4.1	E. faecalis dhe C. albicans në florën normale të kavitetit oral	13
1.4.2	Enterococcus faecalis dhe Candida albicans në parodontitet apikale primare	15
1.4.3	Enterococcus faecalis dhe Candida albicans në parodontitet sekondare	16
1.5	TERAPIA ANTIMIKROBIALE	19
1.5.1	Irrigimi i kanalit të dhëmbit	19
1.5.1.1	Mekanizmi i veprimit të hipokloritit të natriumit (NaOCl)	21
1.5.2	Irrigimi me ultrasonifikim pasiv - PUI	26
1.6	CITOMETRIA E LËNGËT	30
1.6.1	Identifikimi i antigjeneve qelizore me metodën e Citometrisë së lëngët	31
2.	HIPOTEZA	35
3.	QËLLIMI I PUNËS	35
4.	OBJEKTIVAT	36
5.	MATERIALI DHE METODAT	37

5.1	MOSTRAT E DHËMBËVE.....	37
5.2	MATERIALET DHE INSTRUMENTET E PËRDORURA.....	38
5.2.1	Kulturat e <i>Enterococcus faecalis</i> dhe <i>Candida albicans</i>	40
5.3	ZHVILLIMI I BIOFILMIT NË KANALIN E RRËNJËS SË DHËMBIT.....	41
5.4	IRRIGIMI ME SOLUCION TË HIPOKLORITIT TË NATRIUMIT 2,5%.....	43
5.5	IRRIGIMI ME ULTRASONIFIKIM PASIV SË BASHKU ME NAOCL 2,5%	44
5.6	DEZINFEKTIMI ME APLIKIMIN E TERAPISË FOTODINAMIKE ME HELBO LAZER.....	45
5.7	ANALIZA E VIABILITETIT ME CITOMETRINË E LËNGËT.....	48
5.7.1	Procedurat kontrolluese.....	49
5.8	SKANIMI ELEKTRONIK MIKROSKOPIK (SEM).....	51
6.	REZULTATET	52
7.	DISKUTIM.....	81
8.	KONKLUSIONE.....	90
9.	REKOMANDIME.....	91
10.	LITERATURA.....	92

1. HYRJJE

Infeksionet bakteriale kanë rol të rëndësishëm në zhvillimin e nekrozës së pulpës dentare dhe në formimin e lezioneve periapikale, prandaj qëllimi kryesor i trajtimit endodontik është eliminimi i infeksionit bakterial dhe inflamacionit në indet pulpare si dhe largimi mekanik i pulpës së dëmtuar në kanalën e rrënjës së dhëmbit e cila shërben si mjedis për rritjen e mikroorganizmave [1]. Anatomia komplekse e sistemit të kanalit të rrënjës e bën të pamundur largimin e plotë të mbeturinave bakteriale nga kanali i rrënjës edhe kur përdoren metodat konvencionale bashkëkohore të trajtimit kimiko mekanik të kanalit [2]. Rezultati i trajtimit të kanalit të rrënjës është i bazuar në dezinfektimin efikas të sistemit të kanalit të rrënjës dhe parandalimin e përsëritjes së infeksionit [3,4]. Pas përpunimit mekanik të kanalit të rrënjës, zona të mëdha të sistemit të kanalit të rrënjës mbesin të pa prekura, pavarësisht nga teknika e përdorur [5,6,7]. Sipas Paque et al., 2009 pas irrigimit me NaOCl me shiringë / gjilpërë dhe instrumentim, 40-60% e kanaleve përmban ende kultura bakteriale [8]. Gjatë disa dekadave të fundit, janë zhvilluar disa pajisje të ultratingujve për të përmirësuar depërtueshmërinë dhe efikasitetin e irrigimit në zonat periferike të hapësirës së kanalit të rrënjës. Efikasiteti i këtyre pajisjeve bazohet në krijimin e fenomenit hidrodinamik në kanalën e hapur mirë dhe të mbushur me një irrigant [9,10].

Aktualisht, një mënyrë e re për dezinfektimin e kanalit të infektuar është edhe përdorimi i lazerëve me fuqi të madhe veprimi [11] dhe aplikimi i Terapisë fotodinamike – TFD [12,13].

1.1 TERAPIA FOTODINAMIKE

Në kërkim të strategjive të reja antimikrobale si metodë mjaft premtuese është treguar përdorimi i agentëve të aktivizuar me anë të dritës –Terapia Fotodinamike.

Që në kohët e lashta drita është përdorë si agjent terapeutik. Thuhet se në Egjiptin e lashtë, në Indi dhe Kinë, drita është përdorur për trajtimin e sëmundjeve të lëkurës, kancerit dhe psikozës [14].

Përdorimi i një agjenti fotosensitiv në kombinim me dritën, besohet që për herë të parë është aplikuar në Indi rreth 3000 vjet më parë për trajtimin e vitiligos dhe psoriazës [14,15]. Vrasjen fotodinamike të mikroorganizmave e demostroi për herë të parë në vitin 1900 Raab, i cili dokumentoi veprimtarinë antiprotozoale të akridinës dhe dritës së dukshme, kurse termi „Fotodinamik“ është shpikur pak më vonë në vitin 1907 nga Von Tappeiner dhe Jesionek [16]. Terapia fotodinamike -TFD ka zgjuar shumë interesim edhe si një metodë alternative terapeutike për trajtimin e sëmundjes së kancerit. Përdorimi i parë i dokumentuar për këtë indikacion ishte në vitin 1903, ku eozina dhe drita e bardhë janë përdorur për të trajtuar tumoret e lëkurës [14].

1.1.1 Burimi i dritës

Burimi i dritës i cili përdoret për TFD në përgjithësi varet nga thellësia e depërtimit të saj në inde, meqenëse thellësia e depërtimit të dritës rritet në regjionin e rrezeve të dukshme dhe rrezeve infra të kuqe, dhe gjatësia valore optimale në të cilën është arritur prodhimi maksimal i oksigjenit nascent nga një fotosensitiser i veçantë [17]. Burimet e dritës mund të jenë koherente (p.sh. drita e lazerit), ose jo-koherente.

1.1.1.1 Drita e lazerit

Fjala lazer nënkupton amplifikimin e dritës nëpërmjet emetimit të rrezatimit të stimuluar (anglisht - Light Amplified by Stimulated Emission of Radiation), dhe është burimi më

i zakonshëm i dritës që përdoret për TFD [18]. Emetimi i stimuluar u dokumentua për herë të parë nga Albert Ajnshtajni. Emetimi i stimuluar ndodh kur një tufë e rrezeve të dritës kalon përmes një mediumi dhe stimulon atomet e mediumit që të rrezatojnë më shumë dritë, në drejtim të njëjtë dhe me gjatësi valore të njëjtë sikurse rrezet e dritës origjinale [19].

Në mjekësi dhe stomatologji në përdorim janë lazerët të llojeve të ndryshme të cilët dallojnë ndërmjet tyre në bazë të materialit aktiv të përdorur, gjatësisë valore dhe ngjyrës së dritës të cilën e emetojnë. Janë të njohur lazer të gaztë, të lëngët, të ngurtë dhe lazer me diodë gjysëmpërçuese të cilët emetojnë lehtë rreze X (me $\lambda < 100$ nm), rreze ultraviolete -UV (10 nm – 400 nm), rreze të dukshme -VIS (380 – 740 nm), rreze infra të kuqe (700 nm – 1mm) dhe mikrovalë ($> 10^6$ nm).

Lazerët të cilët përdoren më së shumti në stomatologji janë lazerët e gaztë të dioksidit të karbonit (CO_2) dhe heliumit (He-Ne); grupi i lazerëve të bazuar në kristalet e itriumit dhe aluminit YAG (ang. Yttrium Aluminium Garnet) si dhe të kombinuar me atome të ndryshme, psh me neodim (Nd:YAG), erbiun (Er:YAG), holmium (Ho:YAG) etj, si dhe me jone.

Në bazë të fuqisë së dritës të cilën e emetojnë lazerët klasifikohen në: lazer me fuqi të dobët të rrezatimit (1-5 mW), me fuqi të mesme të rrezatimit (6-50 mW) dhe lazer me fuqi të fortë të rrezatimit mbi 50 mW.

Meqenëse indet biologjike janë struktura jo homogjene depërtimi i rrezeve të dritës është shumë kompleks. Energjia e emetuar nga lazeri e cila absorbohet nga indet transformohet në forma të ndryshme të energjisë.

Janë të njohura tri lloje të veprimeve biologjike të dritës së lazerit: veprimi fotobiokimik, fototermik dhe fotojonizues.

- a) Veprimi fotobiokimik bazohet në reaksionet specifike kimike dhe metabolike në brendësi të qelizës siç janë fotoinduksioni, fotorezonanca dhe fotoaktivizimi të bashkuara në reaksione biostimuluese, si rezultat i veprimit të lazerit me fuqi të dobët dhe të mesme (shërimi fotodinamik).
- b) Veprimi fototermik bazohet në transformimin e energjisë së dritës në energji të nxehtësisë. Në varësi nga temperatura e krijuar shkaktohet koagulimi i indit (60-100°C), karbonizimi i indeve dhe avullimi i ujit (100-300°C) si dhe avullimi i përbërësve të tjerë qelizor (>300°C). Këtë veprim termik e shkaktjnë lazerët me fuqi të lartë të veprimit (Nd:YAG dhe lazerët me diodë).
- c) Veprimi fotojonizues bazohet në transformimin e energjisë së dritës në energji kinetike me shkëputjen e lidhjes kimike ndërmjet atomeve, duke rezultuar në disocim të joneve të indeve.

Vetitë karakteristike specifike të dritës së lazerit dhe aftësia e saj që të depërtojë në të gjitha pjesët e sistemit kompleks kanalikular, ka ndikuar në rritjen e interesimit për aplikim të saj në dezinfektim të kanaleve të rrënjës.

Veprimi antimikrobial i Nd:YAG lazerit është hulumtuar në shumë studime laboratorike, kryesisht në eksperimentet e kryera në kanalet e rrënjës së infektuar [20-23].

1.1.2 Fotosensiteret dhe mekanizmi i veprimit

Fotosensiterët (FS) janë molekula aromatike me strukturë të ndryshme të cilët kanë aftësi të absorbojnë dritë me gjatësi valore të ndryshme. Fotosensiterët kationik siç janë ngjyrat Toluidine Blue (TB) dhe Metilen Blue (MB) të aktivizuara me veprim të rrezeve lazerike veprojnë në mënyrë selektive toksike vetëm ndaj qelizave të mikroorganizmave e jo ndaj qelizave humane. TB dhe MB janë komponime fenotiazinë të cilët veprojnë në membranën qelizore dhe acidet nukleike të qelizave të mikroorganizmave [24].

Metilen Blue absorbon shumë dritën në gjatësi valore prej 600 - 700 nm, duke marrë ngjyrë karakteristike, absorbimi maksimal i dritës ndodh në gjatësi valore prej 656 nm [25]. Formula strukturale e Metilen Blue është paraqitur në Fig. 1.

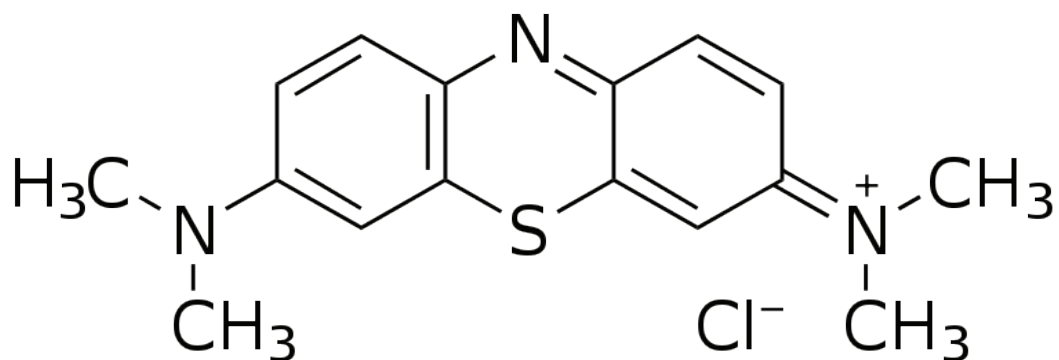


Figura 1. Formula strukturale e Metilen Blue

Inaktivizimi fotodinamik mbështetet në kapacitetin e fotosensiterit, që aktivizohet nga drita me një gjatësi valore specifike për të gjeneruar oksigjenin reaktiv i cili është toksik për mikroorganizmat. Pas absorbimit të rrezatimit, fotosensiteri i nënshtrohet një tranzicioni duke kaluar nga një nivel (gjendje) me energji të ulët në një nivel (gjendje) më të lartë të energjisë, e cila pastaj mund të reagojë me biomolekulat për të prodhuar radikalet e lira (reaksioni I), ose të reagojë me oksigjenin molekular për të prodhuar oksigjenin e lirë i cili është shumë reaktiv (reaksioni II) [26]. Këto procese janë treguar në Fig.2.

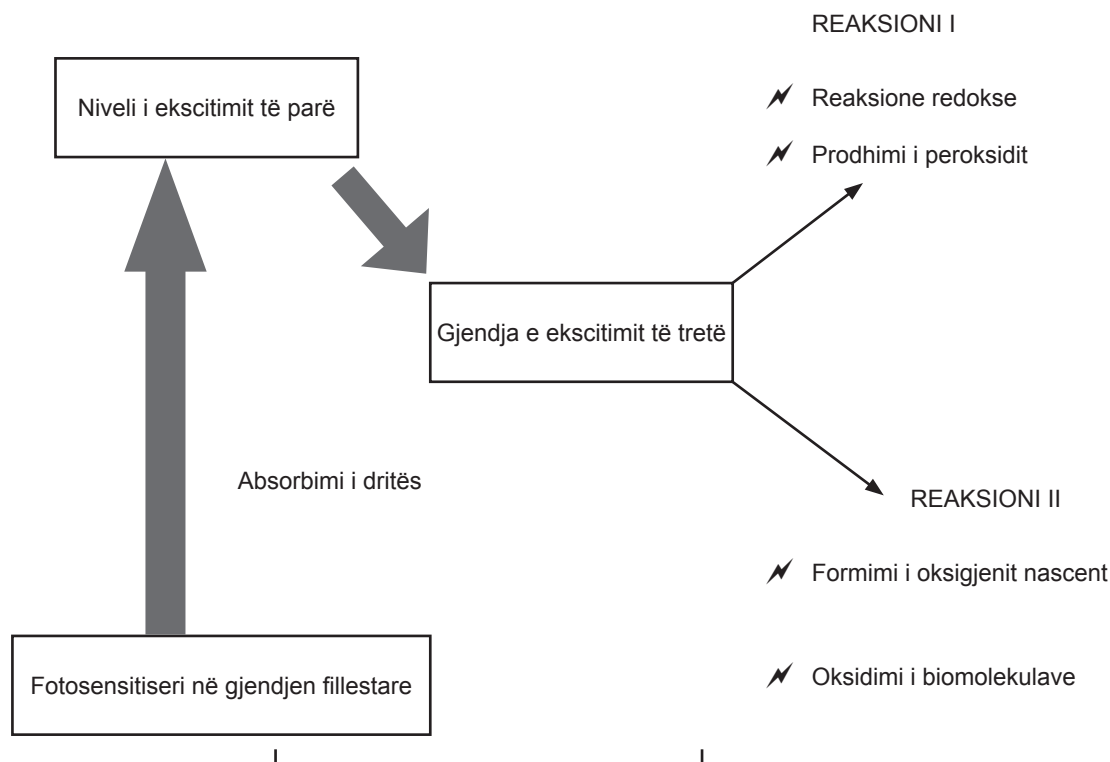


Figura 2. Mekanizmi i veprimit të fotosensitiserit (M. Wainwright, Photodynamic antimicrobial chemotherapy, *J. Antimicrob. Chemother.*, 1998, **42**, 13–28)

Oksigjeni i lirë i fituar nga reaksioni i tipit II mund të oksidojë shumë struktura biologjike siç janë proteinat, acidet nukleike dhe lipidet. Edhe pse ndodh dëmtimi i ADN-së, shkaku kryesor i vdekjes bakteriale mendohet të jetë dëmtimi i membranës citoplazmatike dhe rrjedhjes së mëvonshme të përmbajtjes celulare dhe inaktivizimit të sistemeve transportuese membranore dhe enzimave [27].

Reaksionet e tipit I shkaktojnë dëmtim të membranës nga formimi i hidroperoksi lipideve dhe radikaleve hidroksile, të cilat mund të reagojnë me biomolekula ose të kombinohen për të prodhuar peroksidin e hidrogjenit citotoksikë, megjithatë oksigjeni reaktiv - reaksionet e tipit II konsiderohet të jenë përgjegjës për vrasjen fotodinamike [25].

Një karakteristikë shumë e rëndësishme e TFD është aftësia e inaktivizimit të faktorëve virulent veçanërisht proteinave të sekretuara, pas veprimit të oksigjenit reaktiv - reaksionet e tipit II (Hamblin & Hasan, 2004). Inaktivizimi i enzimave dhe receptorëve të membranës është gjithashtu i mundur për shkak të reaksioneve të tipit I në membranën e citoplazmës [28].

TFD ka efekt toksik ndaj një numri të bakterieve, kërpudhave dhe viruseve. Ndjeshmëri më të madhe ndaj TFD kanë bakteriet Gram pozitive sepse kanë vetëm një shtresë lipidike dyfishe dhe mur qelizor relativisht permeabil. Kurse struktura e bakterieve Gram negative është më komplekse dhe ka dy shtresa lipidike dyfishe. Candida Albicans është treguar më rezistente ndaj veprimit të TFD. Zvoglimi i ndjeshmërisë së C.Albicans ndaj TFD është për shkak se membrana bërthamore e pengon depërtimin e fotosensiterit, madhësisë së qelizave si dhe rezistencës së vakuoleve qelizore ndaj fotosensiterit [29,30].

1.2 ENDODONTIA

Endodontia është degë e stomatologjisë e cila merret me studimin e morfologjisë, fiziologjisë dhe patologjisë të pulpës dentare dhe indeve peri - radikulare. Po ashtu merret edhe me studime klinike siç janë biologjia e pulpës normale, etiologjia, diagnoza, parandalimi dhe shërimi i sëmundjeve dhe lëndimeve të pulpës në lidhje me indet periradikulare [31]. Grekët e vjetër, Romakët dhe Kinezët qysh 1500 vite para Krishtit kanë tentuar të bëjnë trajtimin dhe shërimin e sëmundjeve të dhëmbit. Kinezët për herë të parë e përshkruan kariesin dentar me teorinë e krimbit të dhëmbit. Pierre Fouchard i cili njihet si themelues i stomatologjisë moderne në librin e tij „ The Surgeon Dentist“ në vitin 1728 e bëri përshkrimin e saktë të kavitetit të pulpës dhe kanaleve të rrënjës. E hodhi poshtë teorinë e krimbit dhe përshkroi metodologjinë e eliminimit të indit të pulpës së dëmtuar me aplikimin e mbushjeve të plumbit në kavitetin pulpar, dhe kjo shënon pikën fillestare të zhvillimit të endodontisë në mjekësi [32].

Disa përparime në fushën e endodontisë e ndryshuan mënyrën e terapisë së kanalit të dhëmbit. Edwin Truman në vitin 1847 e vuri në përdorim gutaperkën si mbushje dhe material dental bazë, por në vitin 1867 G.A. Bowman e përdori gutaperkën në formën e fijeve si mbushje të kanalit të rrënjës së dhëmbit [33].

W.D. Miller në vitin 1894 i përshkroi llojet e mikroorganizmave të ndryshëm të pranishëm në kanalën e rrënjës së infektuar [34]. Kolonitë e mikroorganizmave në sistemin kanalikular janë faktor kryesor etiologjik i shkaktimit të infeksioneve endodontike. Dëshmi evidente bindëse, se bakteriet janë faktor etiologjik i rëndësishëm në shkaktimin e infeksioneve në indet pulpare dhe periradikulare vijnë, nga studimi klasik i Kakehashit, Stanley-it dhe Fitzgerald [35].

Parimet e shërimeve endodontike një kohë të gjatë kanë mbetur të pandryshuara, kurse në të vërtetë doktrina e endodontisë vazhdimisht po zhvillohet. Shërimi endodontik kërkon punë organizative dhe hulumtuese dhe për këtë arsye edhe risitë më të vogla kanë ndihmuar në zhvillimin e endodontisë dhe arritjen e rezultateve më të mira.

1.3 TERAPIA FOTODINAMIKE NË ENDODONTI

Eliminimi i tërësishëm i mikroorganizmave nga sistemi i kanalit të infektuar të trajtuar me metoda konvencionale është i pamundur për shkak të rezistencës së mikrobeve ndaj dezinfektimeve kimike dhe medikamenteve intra-kanalikulare.

Shkalla e suksesit të trajtimeve konvencionale endodontike varet nga shumë faktorë siç janë anatomia e ndryshme dhe komplekse e sistemit kanalikular, e cila ka kanale të vogla përveç kanalit kryesor, të cilat për shkak të pozitës dhe madhësisë së tyre nuk lejojnë hyrje direkte në kanal gjatë përpunimit biomekanik. Përpos kësaj ndjeshmëria antimikrobale ose rezistenca e mikroflorës polimorfike [36] që përfshin bakteriet anaerobe, anaerobe fakultative dhe aerobe [37]. Terapia fotodinamike ka aftësi të madhe si mënyrë e trajtimit veçanërisht për trajtime të infeksioneve të lokalizuara [38].

Disa studime të fundit janë munduar të tregojnë arritjet e TFD në dezinfektimin e kanalit të rrënjës së infektuar duke përdorur terapinë fotodinamike.

Saukos me bashk., në 2006 hulumtuan efektin e TFD në biofilmin e patogjenëve endodontik si edhe të *E. faecalis* të infektuar në kanalin e rrënjës së dhëmbit të ekstraktuar. Në biofilm kanë aplikuar Metilen Blue (25 µg/ml) i cili i është ekspozuar dritës së kuqe me gjatësi valore 665 nm dhe energji prej 30J/cm² si pasojë *E. faecalis* janë reduktuar 53%. Metilen Blue me përqëndrim të njëjtë dhe energji 222 J/cm² kanë reduktuar 97% të *E. faecalis* [39].

Garcez me bashk., 2006 hulumtuan efektin e veprimit të lazerit dhe fotosenziterit në reduktimin e *Enterococcus faecalis* në kanalin e rrënjës së dhëmbit in vitro. Krahasuan efektin e TFD dhe NaOCl 0,5% në 30 dhëmbë të ekstraktuar, të inokuluar me *E. faecalis*. Aplikimi i fotosenziterit dhe lazerit veçmas nuk ka treguar ndonjë efekt baktericid. TFD u tregua më efikas në reduktimin e bakterieve në kanalin e rrënjës 99,2% se sa NaOCl 0,5% me 93.25% [40].

Foschi me bashk., në 2007, inokuloi *E.faecalis* (ATCC 29212) në 64 kanale të rrënjës dhe pas tri dite infektimi i kanalit të rrënjës është konfirmuar me anë të mikroskopisë me skanim elektronik (SEM). Metilen Blue është inkubuar për 5 minuta në kanal të rrënjës dhe pastaj është vepruar me lazer me $\lambda = 665 \text{ nm}$ (60 J/cm^2). Pas aplikimit të TFD viabiliteti i *E.faecalis* në kanale të rrënjës ishte reduktuar 77,5% [41].

Fimple me bashk., 2008 hulumtuan in vitro efektin fotodinamik të Metilen Blue ($25 \mu\text{g/ml}$) në biofilmin e multispecieve siç janë *Actinomyces israelii*, *Fusobacterium nucleatum* subspecies *nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* dhe *Prevotella intermedia*. Para se të aplikohet terapia prezenca e biofilmit në kanalet e rrënjës është shikuar me SEM. Në sistemin kanalikular të rrënjës kanë aplikuar Metilen Blue i cili i është ekspozuar dritës me gjatësi valore 665nm dhe energji prej 30 J/cm^2 . Me TFD është arritur që numri i kolonive të reduktohet deri në 80% [42].

Fonseca 2008, hulumtoi efektet e terapisë fotodinamike (TFD) ndaj kolonive të *Enterococcus faecalis* të inokuluar në kanalet e rrënjës së dhëmbëve të ekstraktuar. Në 46 kanale aplikoi tretësirë të ngjyrës Toluidine Blue 0.0125% pastaj veproi me diode lazer (Ga-Al-As) 50 Mw me gjatësi valore prej 660 nm. Pas aplikimit të TFD numri i kolonive CFU/ml të *E.faecalis* është zvogëluar 99,9% [43].

Sipas Bergmans 2008 trajtimi me TFD dhe lazer i kanaleve të rrënjës së 60 dhëmbëve të infektuar me disa lloje të bakterieve me TFD dhe lazer, rezultoi me reduktim të bakteries *S. anginosus* 93,8%, *E. faecalis* 88,4% dhe *F. nukleatum* 98,5%. Aplikimi i vetëm i lazerit nuk kishte efekt sinjifikant në reduktimin e bakterieve [44].

Meire me bashk., 2009, hulumtuan dhe krahasuan veprimin antibakterial të lazerit Nd:YAG, TFD dhe NaOCl 2,5% ndaj *E.faecalis* të inokuluar në kanalet e rrënjëve të 60 dhëmbëve të ekstraktuar. TFD dhe NaOCl 2,5% në mënyrë sinjifikante kanë reduktuar numrin e qelizave të *E.faecalis* ($p < 0,001$), ndërsa NaOCl 2,5% ka qenë më efikas se sa TFD dhe Nd:YAG lazeri [45].

Souza me bashk., 2010 hulumtuan efektin antibakterial të TFD në kanalin e rrënjës

së dhëmbit të kontaminuar me *E. faecalis* duke përdorur Toluidine Blue dhe Metilen Blue në bashkëveprim me NaOCl 2,5%. Konkluduan se nuk ekziston dallim sinjifikant ndërmjet TFD me Toluidine Blue dhe TFD me Metilen Blue [46].

Rios me bashk., 2011 vlerësuan efektin e veprimit antimikrobial të TFD në kanalën e rrënjës së dhëmbit të inokuluar me *E. faecalis* duke përdorur Toluidine Blue, diode lazerin me $\lambda = 628$ nm dhe NaOCl 6%. Me rezultatet e tyre treguan se në kanalet e rrënjës të trajtuar vetëm me TFD për 30 sekonda mbijetoi 2.9% e *E. faecalis*, kurse në kombinimin TFD me NaOCl 6% përqindja e *E. faecalis* të mbijetuar është zvogëluar në 0.1% [47].

Poggio me bashk., 2011 testuan in vitro dhe krahasuan efikasitetin e TFD dhe irrigimit konvencional me tretsirë të NaOCl 5,25%. Për testim kanë përdorur shtamet e *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans* dhe *Streptococcus sanguis* të inokuluara në dhëmbët e ekstraktuar, të cilët i kanë ndarë në grupe të ndryshme, ku secili grup është trajtuar me TFD, TFD dhe NaOCl 0,5%, me Toluidine Blue dhe Kontrolle pozitive (TFD me kohë më të gjatë të veprimit dhe NaOCl 5%). Rezultatet kanë ndryshuar në mënyrë sinjifikante për të gjitha grupet dhe për *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis*. Aplikimi i TFD në kohë më të gjatë së bashku me NaOCl 5% ka treguar efekt antibakterial më të lartë [48].

Bago me bashk., 2012 hulumtoi efektin antimikrobial të diodë lazerit, TFD, irrigimit konvencional me NaOCl 2,5% dhe ultrasonifikimit së bashku NaOCl 2,5% në kanalën e rrënjës së dhëmbit të infektuar me *Enterococcus faecalis*. Reduktimi i bakterieve pas trajtimeve ishte sinjifikant ($P < 0.001$). TFD dhe ultrasonifikimi së bashku me NaOCl 2,5% ishin në mënyrë sinjifikante më efikas në reduktimin e CFU-ve, se sa rrezatimi me diodë dhe vet irrigimi me NaOCl 2,5% ($P < 0.05$). Ndërsa efekti i diodë lazerit dhe NaOCl 2,5% i vetëm ishte i njëjtë ($P > 0.05$) [49].

Këto studime [39-49] sugjerojnë që aplikimi i TFD pas irrigimit të kanalit të rrënjës me NaOCl siguron reduktim sinjifikant të CFU të bakterieve dhe mund të përdoret si një metodë shumë efikase për reduktimin e mbetjeve bakteriale nga sistemi kanalikular i rrënjës së dhëmbit.

1.4 MIKROBIOLOGJIA NË ENDODONTI

Mikrobiologjia është degë e veçantë e biologjisë e cila studion organizmat me madhësi të ndryshme – mikroorganizmat siç janë bakteriet, algat, kërpudhat, viruset dhe parazitët. Origjina e mikroorganizmave e veçanërisht e bakterieve daton qysh para katër miliardë viteve duke i bërë ata paraardhës të të gjitha formave të jetës [50]. Organizmi i njeriut në kushte të shëndosha është steril, por në momentin kur organizmi vjen në kontakt me mikroorganizma atëherë fillon procesi i infeksionit - pra hyrja e mikroorganizmave dhe kolonizimi i tyre në trupin pritës nuk do të thotë që patjetër të nënkuptohet si sëmundje.

Kaviteti oral është një prej ambienteve të infektuara më komplekse të organizmit, e vëzhguar si në aspektin kualitativ po ashtu edhe në aspektin kuantitativ. Ky kompleksitet rrjedh nga prania e bakterieve Gram – pozitive dhe Gram – negative, kërpudhave, protozoareve dhe viruseve, në përqëndrime sinjifikante.

Sa i përket mikroorganizmave oral, bakteriet janë agjentët patogjen më të rëndësishëm dhe përgjegjës kryesor për etiologjinë e sëmundjeve siç janë kariesi dentar, sëmundjet periodontale, patologjitë pulpare dhe periapikale.

Aktualisht janë të njohura më shumë se 500 specie bakteriale si banor normal në kavitetin oral si dhe 200 specie të tjera të cilat mund të detektohen me metoda molekulare të identifikimit [51-53]. Edhe pse të gjitha speciet e bakterieve teorikisht kanë aftësi të njëjtë të pushtimit dhe infektimit të hapësirës së pulpës duke shkaktuar inflamacion periradikular dhe shkatërrim të kockës, vetëm një përqindje e vogël e këtyre specieve janë izoluar vazhdimisht nga një sistem i tillë i kanalit të rrënjës së infektuar [54].

Infeksionet bakteriale luajnë rol sinjifikant në përcaktimin e përbërjes dhe patogjenezës së florës së kanalit të rrënjës. Praktikisht të gjitha mikrobet e pranishme në kanalin e rrënjës kanë aftësi të njëjtë të shkaktojnë inflamacione periapikale, mirëpo disa specie të bakterieve kanë prirje të bashkimit ndërmjet tyre duke siguruar një ambient për mbështetje reciproke, ndërsa speciet e tjera për shkak të konkurrencës për ushqim mund

të formojnë asociacione negative, kështu e ndalojnë (pengojnë) rritjen e bakterieve të tjera [55,56].

Infeksionet e kanalit të rrënjës dhe periapeksit janë të karakterit të përzier dhe endogjen pasi që shkaktohen nga interaksioni i disa specieve bakteriale të cilat janë pjesë e mikrobiotës amfibiote të organizmit.

Pavarësisht nga sipërfaqja e organizmit, ngjarja vendimtare për të treguar patogjenezën e mikroorganizmave është aftësia e tyre për të aderuar në sipërfaqe të nikoqirit. Hapi tjetër pas aderimit të mikroorganizmave është kolonizimi i tyre në sipërfaqe, që supozohet të jetë akumulim i mikroorganizmave në sipërfaqen e pushtuar. Mekanizmi i akumulimit të mikroorganizmave është një fenomen mjaft kompleks i cili përfshin sipërfaqen e strukturave mikrobiale si dhe interaksionin ndërmjet mikroorganizmave dhe komponenteve nikoqire. Pas kolonizimit të tyre, mikroorganizmat janë të gjendje të shprehin efektin e tyre patogjenik, duke pushtuar indet sigurojnë përhapjen e infeksionit [50].

Mikroorganizmat me prevalencë të lartë në infeksionet mikrobiale endodontike janë bakteriet gram – pozitive, për këtë arsye janë të afta që me rritje dhe shumim të pengojnë mikroorganizmat e tjerë të cilët synojnë hapësirën e njëjtë të kanalit. Kështu p.sh. *P. endodontalis* është e aftë të pengojë ‘in vitro’ speciet e *Prevotellës*, me çka tregohet korrelacioni negativ ndërmjet tyre në rastin kur analizohet mikrobiota e kanalit të rrënjës [56,57].

Speciet enterokoke po ashtu luajnë rol sinjifikant në mikrobiotën endodontike dhe nëse nuk kontrollohen, këto bakterie të cilat tregojnë një rezistencë të përhershme ndaj agjentëve mikrobial dhe faktorëve patogjen mund të ndryshohen (modifikohen) në kanalin e rrënjës dhe të inicojnë procesin e infeksionit i cili shumë vështirë mund të trajtohet. Aktualisht, *E. faecalis* një specie mjaft e rëndësishme e klasës së enterokokeve, ka të bëjë me dështimet e trajtimeve endodontike [58,59].

Disa hulumtues të tjerë konsiderojnë se mikroorganizmat e gjinisë (klasës) *Candida*, të

cilët janë qeliza me strukturë eukariote, janë ndotës pa marrë parasysh shpejtësinë e tyre në përhapje të infeksionit në kanal të rrënjës ose potencialin e tyre patogjen [60].

1.4.1 E. faecalis dhe C. albicans në florën normale të kavitetit oral

Enterokoket janë koke gram pozitive të cilat gjenden të vetmuara ose në çifte ose si vargje të shkurtëra. Janë bakterie anaerobe fakultative të cilat kanë aftësi të rriten në prani ose mungesë të oksigjenit [61].

Speciet enterokoke jetojnë në sasi shumë të madhe në traktin intestinal tek njerëzit, traktin gjenital tek femrat si dhe në kavitetin oral por në numër më të vogël [62].

Një prej vetive karakteristike të enterokokeve është aftësia e tyre që të përballojnë vlerat ekstremisht të larta të pH (4.0-11.0) dhe përqendrimet e larta të kripës [63].

Intervali i temperaturës në të cilën enterokoket mund të rriten është prej 10°C deri në 45°C dhe mund të mbijetojnë në temperaturën prej 60°C për 30 minuta [64].

Në dekadat e fundit enterokoket janë shfaqur si patogjen nozokomial. E. faecalis është përgjegjëse për afro 80% të infeksioneve të shkaktuara nga enterokoket ndërsa me 20% nga E. faecium [65].

Format e enterokokut janë pjesë e florës normale të traktit gastrointestinal tek shtazët dhe tek njerëzit megjithëse vetëm disa studime janë fokusuar në prevalencën e tyre në kavitetin oral.

Sedgley me bashk., 2004 kanë hulumtuar prevalencën, fenotipin dhe gjenotipin e enterokokeve orale. Për studim kanë përdorur metodat e kulturave biologjike që të identifikojnë enterokoket e izoluar në mostrat e fituara nga shplarja e gojës ku 11% nga 100 pacientë kanë qenë me trajtim endodontik dhe 1% nga 100 pacientë studentë që nuk kanë histori të trajtim endodontik. Të gjitha enterokoket e izoluar janë identifikuar si

E. faecalis [66].

Faktet tregojnë qartë se *E. faecalis* është pjesë e mikrobiotës orale. Tek personat e shëndoshë pa ndonjë trajtim me antibiotik sasia relative e enterokokeve është shumë e vogël, shpeshherë edhe nën kufirin e detektimit tek mostrat normale dhe metodat e kulturës [67].

Aktualisht, disa studime të fundit pretendojnë që enterokoket nuk janë pjesë e mikrobiotës tipike komensale të kavitetit oral por më shumë janë mikroorganizma infektiv tranzit që kanë origjinë nga ushqimi. Enterokoket janë prezente kudo në produktet ushqimore siç janë djathi, salçiqet e fermentuara, mishi i derrit, mish i bluar dhe në peshk [68].

Kërpudhat përbëjnë një pjesë të vogël të mikrobiotës orale, ku përqindjen më të madhe e përbëjnë speciet e *Candidës*. *Candida albicans* është specia e kërpudhave e cila më së shpeshti detektohet në kavitetin oral, si tek personat e shëndoshë ashtu edhe tek personat me trajtime mjeksore. Raportet tregojnë se prania e *C. albicans* në kavitetin oral tek personat e rritur të shëndoshë është prej 30% deri në 45% [69,70], kurse tek pacientët e infektuar me virusin e imunodeficiencës është 95% [71].

Mundësia e depërtimit të *C. albicans* nga kaviteti oral në kanalin e rrënjës është e mundur në rastet kur kemi endodoncium të hapur patologjikisht, gjatë punës kirurgjikale jo sterile si dhe gjatë trajtimeve të gjata endodontike.

1.4.2 Enterococcus faecalis dhe Candida albicans në parodontitet apikale primare

Parodontitet apikale janë sëmundje inflamatore të indeve periradikulare të shkaktuara nga irrituesit me origjinë endodontike, kryesisht nga mikrobet persistente të cilat jetojnë në sistemin kanalikular të dhëmbit të infektuar [72,73].

Pulpa nekrotike ofron një ambient selektiv për florën endodontike [74] e cila rritet në biofilmin adheziv, agregate, koagregate dhe qeliza planktonike të suspenduara në fazën e lëngët në kanal [75].

Edhe pse janë izoluar më shumë se 700 lloje të bakterieve nga kaviteti oral, vetëm një numër i limituar janë izoluar nga infeksionet endodontike [54].

Siquera me bashk., 2002 kanë përdorur metodat molekulare për të ekzaminuar prevalencën e specieve *Actinomyces*, *Streptokoket* dhe *E. Faecalis* në infeksionet primare të kanalit të rrënjës. Mostrat janë fituar nga 53 dhëmbë të infektuar nga të cilët 27 janë me abscese akute periradikulare. *Streptokoket* janë detektuar në 22,6% të mostrave, *Actinomyces* në 9,4% të mostrave dhe *E. faecalis* në 7,5% të mostrave. Sasia e *E. Faecalis* ka qenë në mënyrë sinjifikante më e vogël në infeksionet akute (3.7%) se sa tek dhëmbët asimptomatik (1.5%) [76].

Nuk është raportuar që kërpudhat të jenë pjesë e zakonshme e mikrobiotës tek parodontitet akute.

Moller, 1994 analizoi gjithsejt 29 dhëmbë me pulpë nekrotike dhe vetëm në një mostër izoloi speciet e *Candidës* prej gjithsejt 29 dhëmbëve me pulpë nekrotike [77].

Debelian me bashk., 1997 analizoi 26 kanale të rrënjës me leziona periradikulare asimptomatike, dhe vetëm në një mostër izoloi kërpudhën *Sascharomyces cerevisiae*.

Lana me bashk. tek 27 pacientë me kanal të rrënjës të infektuar, nga 2 pacientë izoloj *Candida tropicalis* dhe në 1 pacient izoloj *Sascharomyces cerevisiae* [78].

Sen me bashk., 1995 me anë të SEM vështroi bakteriet dhe kërpudhat në kanalet e rrënjës së dhëmbit dhe në tubulat e dentinës tek 10 dhëmbë molar të ekstraktuar me kanal të rrënjës të infektuar. Në 4 dhëmbë kanë vërejtur praninë e kërpudhave në kanal të infektuar [79].

Baumgartner, 2000 detektoi *C. albicans* me anë të reaksioneve të polimerizimit të vargut vetëm në 5 mostra prej gjithsejt 24 mostrave të kanalit të rrënjës [80].

Kurse Siquera me bashk., 2004 me aplikim po ashtu të reaksioneve të polimerizimit të vargut detektoi kërpudhat vetëm në një kanal të infektuar prej gjithsejt 50 kanaleve të analizuar [81].

1.4.3 Enterococcus faecalis dhe Candida albicans në parodontitet sekondare

E. faecalis është bakterja më e zakonshme dhe nganjëherë bakterja e vetme e izoluar nga rrënja e kanalit të infektuar me periodontite persistente periapikale, nganjëherë gjenden edhe në kavitetin e gojës [82].

Rezistenca e madhe antimikrobiale, aftësia e saj që të adaptohet ndaj ndryshimeve kushteve të mjedisit dhe rritja e saj në mure të kanalit të rrënjës si biofilm e bëjnë *E. faecalis* shkaktarin kryesor të dështimeve të trajtimeve endodontike. Prandaj kjo bakterie më së shpeshti persiston pas trajtimeve endodontike dhe i ripushton hapësirat e kanalit në të cilat më parë ishte eliminuar [83].

Porteiner me bashk., 2003 hulumtoi mbijetesën e *E. faecalis* në kanal in e mbushur tek periodontiti apikal. *E. faecalis* ishte mikroorganizmi dominant i pranishëm në rrënjën e dhëmbit të mbushur tek parodontiti apikal i ritrajtuar. Po ashtu të pranishme ishin edhe disa bakterie të tjera dhe kërpudha [67].

Edhe disa studime të tjera kanë treguar se *E. faecalis* është bakterja e cila më së shpeshti është izoluar në trajtimet endodontike të dështuara.

Mollander me bashk., 1998 kanë ekzaminuar statusin mikrobiologjik të 100 dhëmbëve me kanal të mbushur, me periodontit apikal. Prania e mikrobiotës intrakanalikulare është treguar në 68% të dhëmbëve, shumica e të cilëve përmbanin një ose dy shtame të mikroorganizmave. Specia e izoluar më së shumti ishte *E. faecalis*, e ripërsëritur në 32 dhëmbë ose në 47% të kulturave pozitive të kanaleve të rrënjës [58].

Ndërsa autori Sundqvist, 1998 ritrajtoi 54 dhëmbë me ndryshime pas trajtimit endodontik. Rritja mikrobiale ishte ripërsëritur në 24 dhëmbë (45%) dhe *E. faecalis* ishte izoluar më së shpeshti dhe atë 38% prej kulturave pozitive të kanaleve [59].

Në studimin e tij Pinheiro të bërë në 60 dhëmbë me rrënjë të mbushur dhe me leziona periapikale kronike, rezultoi se mikroorganizmat ishin ripërsëritur në 51 dhëmbë (85%), kryesisht një ose dy specie ishin të pranishme në kanal, prej të cilëve 57% ishin fakultative dhe 43% ishin obligative anaerobe. *E. faecalis* ishte izoluar më së shpeshti në kanalin e infektuar [84].

Sa i përket kërpudhave, ato janë gjendur kryesisht në infeksionet primare të kanalit, por duket se ato janë më të shpeshta tek dhëmbët me trajtim të dështuar.

Valtimo me bashk., 1977 raportoi praninë e kërpudhave në 47 raste prej 692 rasteve me infeksion endodontik kronik, ku *C. albicans* ishte më shpesh e izoluar [85].

Sundqvist me bashk., 1998 nga 24 kanale të dhëmbëve me trajtim endodontik të dështuar, izoluan *C. albicans* vetëm në dy kanale të rrënjës [59].

Peciulienne me bashk., 2001 në 6 prej 33 dhëmbëve me leziona periradikulare e izoluan

C.albicans [86].

Hancock me bashk., 2001 izoluan *C. albicans* vetëm tek një rast prej gjithsejt 34 dhëmbëve të trajtuar [87].

1.5 TERAPIA ANTIMIKROBIALE

Rëndësia e terapisë në eliminimin e mikroorganizmave nga sistemi i kanalit të infektuar është temë diskutimi për shumë vite. Procesi i shërimit të kanalit të dhëmbit të infektuar është qëllim kryesor i terapisë endodontike [88].

Pastrimi kimiko-mekanik i kanalit dhe formimi i kanalit në mënyrë sinjifikante e redukton numrin e mikroorganizmave por nuk i eliminon në tërësi të gjithë mikroorganizmat [89-91].

Suksesi i trajtimeve endodontike varet drejtpërdrejt varet nga eliminimi i mikroorganizmave nga kanali i dhëmbit të infektuar. Aplikimi i solucioneve irriguese gjatë preparimit të kanalit të rrënjës së dhëmbit ka shumë rëndësi, sepse ndihmon në pastrim të kanalit, lubrifikim të instrumentave dhe shplarje të debrisit, pra irrigantët kanë efekt antimikrobial në shpërbërje të indit duke mos e dëmtuar indin periapikal. Zgjedhja e irrigantit ideal varet nga efekti i tij ndaj mikroorganizmave dhe indit periapikal.

1.5.1 Irrigimi i kanalit të dhëmbit

Irrigantë të ndryshëm janë përdorur për procesin e shkatërrimit të mikroorganizmave në kanalin e dhëmbit të infektuar. Shumica prej këtyre irrigantëve kanë shkallë të ndryshme të efektit antimikrobial prandaj është shumë vështirë të zgjidhet irrigant ideal dhe irrigant me përqëndrim të duhur [92-94].

Një solucion irrigant duhet të zotërojë këto veti:

1. Të kenë efikasitet të lartë ndaj mikrobiotës endodontike
2. Të neutralizojnë komponentet e infeksioneve endodontike (të inaktivizojnë endotoksinën)
3. Të kenë veprim direkt ndaj mikrobiotës endodontike
4. Të ndihmojnë drejtpërdrejt në instrumentimin endodontik (koeficient i ulët i viskozitetit, tension sipërfaqësor të ulët dhe lubrifikant)
5. Të ndryshojnë pH e ambientit
6. Të largojë gjakun nga kaviteti pulpar (të pengojë diskolorimin e kurorës)
7. Të parandalojnë formimin e smear shtresës
8. Të largojë materiet organike (mbetjet pulpare) dhe materiet inorganike (debrisi, mbeturinat e dentinës) dhe të zbërthejë mbeturinat e indit pulpar nekrotik (të tretë materiet organike dhe inorganike)
9. Të ketë tolerancë të mirë ndaj indeve (tretësira irriguese të mos irritoj indet periapikale; toksicitet të ulët dhe tolerancë të lartë ndaj indeve)
10. Tretësira irriguese duhet patjetër të depërtojë në thellësi të kanalit (gjilpëra me irrigant duhet të depërtojë deri në 3 mm mbi kufirin cement-dentinë të kanalit të rrënjës.

Irrigantët të cilët ndikojnë në reduktimin e infeksionit endodontik janë solucionet me komponente halogjene siç është hipokloriti i natriumit (NaOCl) me përqëndrime të ndryshme prej 0,5; 1,0; 2,5; deri 5,25 %, pastaj klorheksidina, detergjentet (anionike, kationike), pastaj reagentët helatizues (EDTA, acidi citrik, EDTAC, NaOCl + peroksidi i hidrogjenit) dhe solucione tjera (MTAD, uji i ozonizuar).

Veti shumë e rëndësishme për të gjitha solucionet irrigante është depërtimi në thellësi të kanalit të irriguar, frekuenca e irrigimit, sasia e nevojshme për irrigim dhe përqëndrimi i irrigantit. Një irrigant mund të depërtoj në brendësi të kanalit të dhëmbit të infektuar por kjo nuk do të thotë që përqëndrimi i tij është i mjaftueshëm për vrasjen e bakterieve [88].

1.5.1.1 Mekanizmi i veprimit të hipokloritit të natriumit (NaOCl)

Për trajtime të infeksioneve endodontike dhe periodontale si reagent antimikrobial më së shumti përdoren hipokloriti i natriumit dhe klorheksidina. Hipokloriti i natriumit si solucion antimikrobial ka filluar të përdoret në fund të shekullit XVIII (viti 1820) me përqëndrim 2,5% ku edhe sot përdoret.

Dakin, 1915 kombinoi solucionin 0,5 % të NaOCl me acidin borik me qëllim që të ulet vlera e pH dhe e përdori për dezinfektim të plagëve gjatë Luftës së Parë Botërore, ndërsa solucionin e NaOCl me përqëndrim 5 % në stomatologji për herë të parë e përdori Walker në vitin 1936 [95].

Hipokloriti i natriumit është irrigant i cili aktualisht më së shumti përdoret për shkak të efektit të mirë antimikrobial, ndikimit në shkrirje të indit si dhe për shkak të tolerancës së indit ndaj përqëndrimit klinik të përdorur. Problem i vetëm për përdorim të hipokloritit paraqet zgjedhja e solucionit me përqëndrim të duhur për aplikim, përshkak se gjatë irrigimit hipokloriti i shtyn indet periapikale dhe kështu i dëmton qelizat.

Faktor mjaft me rëndësi është njohja e mekanizmit të veprimit të irrigantit ndaj bakterieve predominante dhe po ashtu njohja e morfologjisë, strukturës dhe fiziologjisë së mikroorganizmave, të cilët kanë shkaktuar dhimbje dhe shkatërrim të indeve periapikale. Solucionet irriguese duhet të kenë veprim antibakterial sinjifikant dhe kapacitet të zbërthimit të indit. Hipokloriti i natriumit përdoret shumë në endodonti sepse mekanizmi i tij i veprimit shkakton alternime biosintetike në metabolizmin qelizor dhe shkatërrim të fosfolipideve, formim të kloraminës e cila e vështirëson metabolizmin qelizor, reaksione oksiduese me inaktivizim ireversibil të enzimeve bakteriale dhe shkatërrim të lipideve dhe acidit yndyror [96].

Hipokloriti i natriumit është bazë e fortë me $\text{pH} > 11$, mekanizmi i veprimit antimikrobiale mund të tregohet duke vërtetuar vetitë e tij fizike dhe kimike dhe reaksionet e tij me indet organike. NaOCl në ujë (H_2O) jonizohet në jone të natriumit (Na^+) dhe jonin hipoklorit (OCl^-), duke arritur një ekuilibër me acidin hipoklorik (HOCl).

Reaksionet e ekuilibrit dinamik të jonizimit të hipokloritit të natriumit janë:



Acidi hipoklorit (HOCl) dhe jonet hipoklorite (OCl^-) çojnë në zbërthim dhe hidrolizë të aminoacideve.

Me reaksionin ndërmjet klorureve (Cl^-) dhe grupit amin (NH_2) formohet kloramina e cila interferon në metabolizmin qelizor. Kloruret (oksidues i fortë) paraqesin veprimin antimikrobiale me pengimin e enzimeve bakteriale të çojnë deri tek një oksidim ireversibil të grupit SH (sulfhidrik) të enzimeve bakteriale esenciale. Kështu hipokloriti i natriumit tregon efektin e veprimit antimikrobiale me veprimin e tij në pjesët enzimmatike esenciale për variabilitetin bakterial, duke ndihmuar inaktivizimin ireversibël, të krijuara nga jonet hidroksile dhe mekanizmi i kloraminimit.

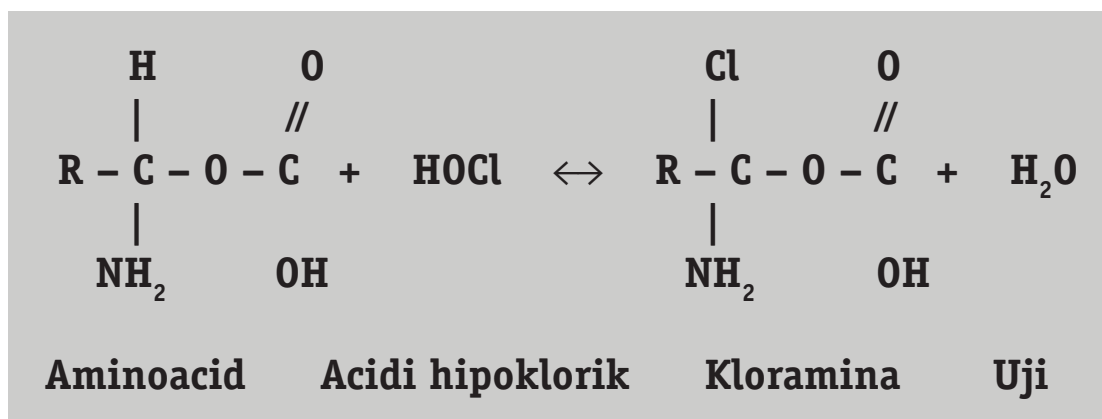


Figura 3. Reaksioni i formimit të kloraminës

Hapi i parë në trajtimet endodontike është që të dihet se cila është lidhshmëria ndërmjet mikroorganizmave dhe organizmit, me dinamikën kimike dhe biologjike të medikamenteve antimikrobiale. Përpunimi i kanalit dhe përdorimi i solucioneve irriguese, siç është NaOCl, janë të rëndësishëm për eliminimin e shumicës së mikroorganizmave nga sistemi i kanalit të infektuar.

NaOCl më së shpeshti përdoret në përqendrime ndërmjet 0.5% dhe 6%. Është një agjent me potencial të lartë antimikrobial, duke mbytur shumicën e bakterieve menjëherë, në kontakt të drejtpërdrejtë. Gjithashtu është efikas në zbërthimin e mbeturinave pulpare dhe kolagjenit që janë përbërësit kryesorë të dentinës. Hipokloriti është irriganti i vetëm i kanalit të rrënjës, prej atyre në përdorim të përgjithshëm, i cili i zbërthen indet organike nekrotike dhe ato vitale. Është vështirë të imagjinohet irrigimi i kanalit të rrënjës pa përdorim të hipokloritit. Edhe pse hipokloriti si i vetëm nuk e largon “smear” shtresën, ai ndikon në pjesën organike të “smear” shtresës, duke e mundur largimin e plotë të saj përmes irrigimit pasues me EDTA apo acid citric (AC).

Gomes me bashk., 2001 hulumtuan *in vitro* efikasitetin e NaOCl me përqendrime të ndryshme (0.5%, 1%, 2.5%, 4% and 5.25%) dhe klorheksidinës në formë të lëngut dhe xhelit me tre përqendrime (0.2%, 1% dhe 2%) në eliminimin e *E. faecalis*. Në përgjithësi të gjithë irrigantët ishin efikas në vrasjen e *E. faecalis*, por në kohëzgjatje të ndryshme. Megjithatë klorheksidina në formë lëngu me përqendrime të testuara (0.2%, 1% dhe 2%) si dhe NaOCl (5.25%) ishin më së shumti efikas [97].

Sena me bashk., 2005 hulumtuan veprimin antimikrobial të NaOCl 2,5% dhe 5,25% si dhe klorheksidinës gel dhe lëng 2,0% si irrigant ndaj biofilmit të specieve *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis* dhe *Fusobacterium nucleatum*.

Rezultatet e tyre treguan se efikasiteti i të gjithë irrigantëve ishte i njëjtë ndaj të gjithë mikroorganizmave, me përjashtim të NaOCl 2,5 % ndaj *S. aureus*. Irrigantët antimikrobial në gjendje të lëngët, veçanërisht NaOCl 5,25% dhe klorheksidina 2% kanë bërë vrasjen e mikroorganizmave menjëherë. *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis* dhe *F. nucleatum* ishin eliminuar brenda 30 sekondave nga të gjithë reagentët antimikrobial, për dallim nga bakteriet fakultative dhe aerobe [98].

Bulacio me bashk., 2006 vlerësuan efektin antibakterial të irrigantëve NaOCl 2,5%, klorheksidinës 0,2% dhe EDTA 17% ndaj *Enterococcus faecalis*. NaOCl 2,5% ishte irriganti më i fuqishëm antibakterial, pastaj klorheksidina 0,2% dhe në fund EDTA 17%. Ndërmjet NaOCl 2,5% dhe CHX 0,2% nuk kishte dallim statistikor sinjifikant. Përkundër faktit se ndërmjet irrigantëve të ndryshëm nuk është gjetur dallim statistikor sinjifikant në efektin e tyre antibakterial, këta irrigantë sipas standardeve NCCLS (1999) mund të konsiderohen efikas sepse shkatërrojnë 99,99% të qelizave bakteriale brenda një studimi [99].

Valera me bashk., 2009 studiuuan efektin e veprimit të NaOCl 1% së bashku me metodat e mjekimit ndaj *Candida albicans* dhe *Enterococcus faecalis* të inokuluar në kanale të rrënjës. Për studim morën 32 dhëmbë një rrënjësh të cilët i inokuluan me *C. albicans* dhe *E. faecalis* për 21 ditë dhe pastaj i irriguan me NaOCl 1%. Varësisht nga metoda e trajtimit të aplikuar rrënjët ishin ndarë në 3 grupe (n=12): grupi i trajtuar me kalcium hidroksid pastë, grupi i trajtuar me klorheksidinë gel 2%, dhe grupi i trajtuar me CHX gel 2% së bashku me kalcium hidroksid. Konkludimet e tyre ishin se irrigimi me NaOCl 1% si dhe trajtimet intrakanalikulare ishin efikase në eliminimin e *E. faecalis* dhe *C. albicans* të inokuluar në kanale të rrënjës. Nuk është vërejtur dallim sinjifikant statistikor ($p>0.05$) në mes të *C. albicans* dhe *E. Faecalis* [100].

Brito me bashk., 2009 krahasuan in vitro tri metoda të irrigimit: irrigimit konvencional, irrigimit të aktivizuar me sistem EndoActivator dhe irrigimit me sistem EndoVac në reduktimin e bakterieve në kanale të rrënjës të kontaminuar me *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 për 7 ditë. NaOCl dhe etilendiamintetraacidiacetik (EDTA) janë përdorur si irrigantë në të gjitha metodat. Reduktimi i bakterieve ishte shumë sinjifikant për të gjitha grupet. 3 grupet eksperimentale me NaOCl dhe EDTA si irrigantë ishin me sinjifikancë të lartë më efektiv në reduktimin e CFU. Ndërsa ndërmjet metodave të testuara nuk kishte dallime sinjifikante [101].

Soares me bashk., 2010 dhëmbët e ekstraktuar i infektuan për 21 ditë me *Enterococcus faecalis*, kanalet i irriguan me metoda konvencionale (NaOCl 5,25% dhe EDTA 17%) kurse formimin e kolonive e konfirmuan me anë të skanografisë elektronike mikroskopike (SEM). SEM konfirmoi se përdorimi i NaOCl dhe EDTA në trajtimet endodontike janë efikas dhe ndihmojnë në eliminimin e *E. faecalis* në kanalin e rrënjës së infektuar [102].

Fidalgo me bashk., 2010 testuan efektin antimikrobial të tre irrigantëve ndaj *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* dhe *Staphylococcus aureus*. Shumica e irrigantëve kishin efekt të mirë antimikrobial ndaj *Candida albicans*, solucioni i NaOCl 2,5% dhe 5,25% më shumë kishin efekt baktericid ndaj *Staphylococcus aureus*, ndërsa solucioni i NaOCl 0,5 % dhe 1% kishin vetëm efekt bakteriostatik [103].

Tirali me bashk., 2012 studiuin in vitro efikasitetin e irrigantëve të ndryshëm (Sodium hypochlorite, Chlorhexidine gluconate, Octenidine Dihydrochloride, saline) në eliminimin e *E.faecalis* dhe *C.albicans* nga tubulat e dentinës tek dhëmbët primar dhe permanent.

Rezultatet e fituara i krahasuan me anë të testeve Kruskal-Wallis dhe Mann Whitney U, në sinjifikancë $p < 0.05$. Nga irrigantët e aplikuar ndaj *E.faecalis* si në dhëmbët primar po ashtu edhe tek ata permanent, më efikas ishte Octenidine Dihydrochloride 0,1% e aplikuar për 5 minuta. Efektet antibakteriale të irrigantëve ndaj *C.albicans* nuk kishin

dallim sinjifikant [104].

1.5.2 Irrigimi me ultrasonifikim pasiv - PUI

Me procedurat endodontike ekzistuese që disponojmë është e pamundur të bëhet në tërësi formimi dhe pastrimi i kanalit të dhëmbit [105]. Kjo ndodh kryesisht për shkak të anatomisë komplekse së sistemit kanalikular të rrënjës. Me instrumentim rotativ mund të arrihet vetëm 40% e sipërfaqes apikale e murit të kanalit të rrënjës [106]. Për këtë arsye, irrigimi është pjesë esenciale e trajtimit të kanalit të rrënjës. Qëllimi i irrigimit është largimi i indeve të pulpës dhe mikroorganizmave (planktonik ose biofilm) nga sistemi i kanalit të rrënjës [107]. Efikasiteti i irrigimit varet nga mekanizmi i veprimit të irrigantit dhe aftësia e tij që të vijë në kontakt me materialet dhe strukturat e sistemit kanalikular të cilat duam ti largojmë [108,109]. NaOCl ka një përdorim të gjerë në endodonti si dezinfektues mjaft efikas sepse zbërthen indet organike, mbyt mikroorganizmat, ka rol lubrifikues dhe nuk është toksik. Sidoqoftë, jonet klorure (Cl⁻) të cilat janë përgjegjëse për zbërthimin e indeve dhe efikasitetin antibakterial të NaOCl, nuk janë stabile dhe shumë shpejt shpenzohen qysh gjatë fazës së parë të zbërthimit të indeve, me siguri brenda 2 min dhe për këtë arsye është e nevojshme rimbushja e vazhdueshme e shiringës me irrigant [110].

Që të limitohet aplikimi i irrigimit konvencional me shiringa janë zhvilluar disa metoda. Njëra ndër to është edhe irrigimi me ultrasonifikim. Richman, në vitin 1957 përdori për herë të parë në Endodonti aparatet me ultratinguj gjatë trajtimeve në kanale të rrënjës [111]. Gjilpëra e aktivizuar me anë të ultratingujve ka mundësi të përgatisë dhe përpunojë kanalën e rrënjës në mënyrë mekanike. Gjilpëra vendoset të luhetet (vibrohet) në frekuencë të ultratingujve prej 25 kHz, mbi limitin e dëgjimit tek njerëzit. Gjilpërat punojnë me vibrim rrethor, duke formuar model karakteristik të nyjeve dhe anti – nyjeve përgjatë gjatësisë së tyre [112,113]. Fatkeqësisht kjo tregon se është shumë vështirë të kontrollohet prerja e dentinës gjatë preparimit ultrasonik, që rezulton në pamundësi që të kontrollohet forma e hapësirës së kanalit të rrënjës së preparuar dhe perforimet apikale, dhe fitimin e formave të parregullta të kanalit të rrënjës [114, 115].

Në anën tjetër është treguar që gjilpërat e aktivizuara me anë të ultratingujve janë

shumë efikase për irrigimin e kanaleve të rrënjës. Në literaturë janë të njohura dy lloje të irrigimit me ultratinguj: Irrigimi me ultrasonifikim simultan (UI) dhe irrigimi me ultrasonifikim pasiv (PUI). Është treguar se UI është më pak efikas në largimin e indeve të pulpës së stimuluar nga sistemi i kanaleve të rrënjës ose largimin e smer shtresës nga muret e kanalit të rrënjës se sa PUI [116,117]. Kjo spjegohet me faktin se anatomia e kanalit është komplekse [118] dhe se instrumenti asnjëherë nuk do të mundet të prekë tërë murin e kanalit të rrënjës [119]. Kështu, UI mund të çojë deri tek prekja e pakontrolluar e murit të kanalit të rrënjës por pastrimi nuk do të jetë efikas.

Irrigimi me ultrasonifikim pasiv –PUI (passive ultrasonic irrigation) së pari është përshkruar nga Weller me bashkëpunëtor në vitin 1980. Ultrasonifikimi pasiv bazohet në përdorimin e një zgjeruesi që aktivizohet me anë të ultratingullit dhe bën në tërësi preparimin e kanalit. Termi, “pasiv” në fillim është lidhur me efektin, “jo prerës” të gjilpërës së aktivizuar me ultratinguj, por që në të vërtetë procesi i veprimit është aktiv. PUI bazohet në transmetimin e energjisë akustike nga një gjilpërë ose tel në një irrigant në kanalin e rrënjës. Energjia transmetohet me anë të valëve të ultrazërit dhe stimulon rrjedhjen e irriguesit [1120-122]. Në qendër të kanalit të rrënjës vendoset një gjilpërë e vogël ose tel i lëmuar (me madhësi prej 15 mm) deri në regjionin apikal. Pastaj kanali i rrënjës mbushet me tretësirë të irrigantit dhe vibrimet ultrasonike të gjilpërës e aktivizojnë irriguesin.

Në rastin kur kanali i rrënjës është zgjeruar (ka marrë formë të duhur), gjilpëra ose teli do të lëvizin më lehtë dhe irriganti do të depërtojë shumë më lehtë deri në pjesën apikale të sistemit kanalikular [123] dhe efikasiteti i veprimit do të jetë më i fortë [124]. Me përdorimin e kësaj metodologjie shanset për formimin e hapësirave jonormale do të reduktohen deri në minimum. Gjilpërat me diametër më të madh se 15 ose 20 mm vetëm do të vibrojnë lirshëm në gjerësinë e kanalit pa ndonjë efekt tjetër. Si pasojë e kësaj, përdorimi i Gjilpërave me diametër më të madh se 20 mm konsiderohet krejtësisht ndryshe nga parimet bazë të PUI. Efikasiteti i pastrimit me PUI nënkupton largimin efikas të debrisit të dentinës, mikroorganizmave (planktonik ose në biofilm) dhe indeve organike nga kanali i rrënjës.

Efikasiteti i PUI në largimin e debrisit të dentinës dhe mikroorganizmave (planktonik

ose në biofilm) dhe indeve organike nga kanali i rrënjës, në mënyrë sinjifikante rritet kur në vend të ujit përdoret NaOCl si irrigant [125-130].

Huque me bashk., 1998 studiuat efektin e irrigimit konvencional dhe PUI në vrasjen e bakterieve (*Propionibacterium acnes*, *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis*) në shtresat e dentinës së rrënjës së dhëmbëve të ekstraktuar. Irrigimi me Ultrasonifikim me NaOCl 5,5% dhe 12% ka eliminuar bakteriet nga smear shtresa ($P < 0.0001$), përderisa irrigimi me NaOCl 12% ka qenë i pamjaftueshëm. Ultrasonifikimi me ujë ose EDTA 15% po ashtu ka dështuar në eliminimin e bakterieve nga smear shtresa. Ultrasonifikimi me NaOCl 12% shkaktoi vrasjen e *A. israelii*, *F. nucleatum*, *P. acnes*, *S. mutans*, dhe *S. sanguis* ndërsa një numër shumë i vogël i *F. Nucleatum* kanë ngelur në 5 mostra prej gjithsejt 12. Ultrasonifikimi me NaOCl 5,5% dështoi të eliminojë plotësisht bakteriet në shumicën e mostrave [129].

Al-Madi, 2008 në studimin e tij krahasoi efektin antibakterial të PUI në kombinim me NaOCl me përqëndrime të ndryshme (2,5% dhe 5%) dhe në temperatura të ndryshme. Konkludoi se reduktimi i tërësishëm i bakterieve në kanalin e rrënjës së infektuar mund të bëhet me aplikimin e PUI në kombinim me NaOCl 2,5% në temperaturë 45°C ose në kombinim me NaOCl 5% në temperaturë të dhomës (37°C)[131].

Bhuva me bashk., 2009, 48 dhëmbë të inokuluar me *E. faecalis* (OMGS 3202) i trajtuan me ultrasonifikim pasiv me NaOCl 1% dhe irrigim konvencional me NaOCl 1% dhe krahasuan efikasitetin e tyre. Rezultoi që të dy metodat e irrigimit ishin efikase në eliminimin e tërësishëm të biofilmit të *E. faecalis* nga kanali i rrënjës së infektuar. [132].

Townsend & James, 2009 krahasuan in vitro metodat e irrigimit ultrasonik, irrigimit me gjilpërë, EndoVac irrigimit, EndoActivator dhe sonik. Rezultatet e këtij studimi treguan se irrigimi ultrasonik nuk kishte dallim sinjifikant me grupin kontrollues ($p > 0.05$, testi Tukey). Irrigimi Ultrasonik ishte më efikas në eliminimin e bakterieve se sa irrigimi me gjilpërë dhe irrigimi EndoVac ($p < 0.05$, testi Tukey) [133].

Grundling me bashk., 2011 në studimin e tyre përdorën 34 dhëmbë inciziv tek të cilët

inokuluan *E. faecalis* për 50 ditë që të formohet biofilmi. Për trajtim të dhëmbëve aplikuan: PUI + ujë i distiluar; irrigimin konvencional me NaOCl + EDTA dhe PUI me NaOCl + EDTA. Dallime sinjifikante kishte ndërmjet grupit kontrollues dhe PUI + ujë i distiluar dhe ndërmjet këtyre grupeve dhe grupeve me NaOCl. Në imazhet me SEM analysis, në zonën e mureve të kanalit, nuk kishte dallim sinjifikant ndërmjet grupeve të cilat kanë përdorur NaOCl, por kishte dallim ndërmjet grupeve me NaOCl dhe grupeve të tjera. Dallim sinjifikant kishte ndërmjet grupit kontrollues dhe grupit PUI + ujë i distiluar. Konkluzioni ishte se PUI mund të përdoret si një metodë ndihmëse për pastrim të kanalit të rrënjës dhe rolin kryesor në eliminimin e bakterieve e luan irriganti [134].

Alves me bashk., 2011 krahasuan efektet antibakteriale të metodave të dezinfektimit në kanalet e rrënjës së dhëmbëve të preparuar me metoda kimiko - mekanike. Kanalet e rrënjës të infektuar me *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) janë irriguar me NaOCl 2,5% kurse tek metoda e irrigimit me ultrasonifikim pasiv (PUI) / klorheksidine (CHX) kanalet në fund janë shplarë me klorheksidin 0,2%. Rezultatet e tyre treguan se në kanalet me irrigim reduktimi i bakterieve është me sinjifikancë të lartë ($P < 0.001$), PUI vetëm nuk e ka rritur reduktimin e bakterieve në mënyrë sinjifikante ($P > 0.05$) ndërsa shplarja e kanalit me klorheksidin nuk ka ndikuar në rritjen sinjifikante të eliminimit të bakterieve [135].

1.6 CITOMETRIA E LËNGËT

Citometri i lëngët është një aparat i cili përdoret për detektimin e antigjeneve qelizore në mostrat hulumtuese. Antigjenet në sipërfaqe ose në brendësi të qelizave mund të detektohen me metodën imunofluoreshente dhe imunohistokimike. Tek testet imunofluoreshente për vërtetimin e komplekseve imunologjike përdoren fluorokromet, ndërsa tek metodat imunohistokimike për vërtetimin e komplekseve imunologjike përdoren enzimat të cilat e nxisin (inicojnë) ngjyrosjen e substratit. Fluorokromet janë ngjyra të cilat e absorbojnë dritën me gjatësi valore specifike ndërsa japin dritë me gjatësi valore më të madhe. Tek testet imunofluoreshente mostrat i rrezatojmë me dritë ekscituese të cilën e absorbojnë fluorokromet. Rezultatet e testit fitohen nga matja e dritës së emetuar e që njëkohsisht paraqet sasinë e komplekseve imunitare. Burim i dritës së ekscitimit mund të jetë lazeri i cili ka veti si fortësia, gjatësia valore dhe homogjeniteti i dritës lazerike.

Me rëndësi është që gjatësia valore e dritës e cila përdoret për ekscitim të jetë në vlerën e asaj gjatësie valore e mjaftueshme për të ekscituar ngjyrën e fluorokromit. Kur brenda një hulumtimi në të njëjtën kohë kombinohen më tepër ngjyra fluorokrome atëherë preferohet që të gjitha ngjyrat të ekscitohen me lloj të njëjtë të dritës (dritë me gjatësi valore të njëjtë), ndërsa në anën tjetër fluorokromet duhet të japin dritë fluoreshente me gjatësi valore të ndryshme, të cilat mund të identifikohen me anë të fotodetektorëve.

Kur fluorkromi lidhet për molekula të antitropave dhe antitropat i përziejme me qeliza, atëherë mund të shihet se si qelizat fluoreshojnë në rastin kur antitropat janë lidhur me qeliza. Me këtë vërtetohet se qelizat në sipërfaqe të tyre përmbajnë antigjenet e kërkuara. Komplekset e formuara ndërmjet antigjeneve dhe antitropave të quajtura fluorkrome mund të shikohen me anë të mikroskopit fluoreshent.

1.6.1 Identifikimi i antigjeneve qelizore me metodën e Citometrisë së lëngët

Metoda e citometrisë së lëngët është e njëjtë me metodat e mikroskopisë fluoeshente por se dallon tek mënyra e leximit të përqindjes së qelizave të ngjyrosura, e cila bëhet në mënyrë automatike pra është më e shpejtë dhe më objektive. Citometrat modernë janë zhvilluar në bazë të arritjeve të teknologjisë lazerike dhe kompjuterike, prodhimit të antittrupave monoklonik dhe kimisë së fluorokromeve.

Citometria e lëngët është teknikë me anë të së cilës masim dhe analizojmë vetitë e qelizave të veçanta të cilat në suspension njëra pas tjetrës udhëtojnë nëpër tufën e ngushtë të dritës lazerike. Brenda një sekondi mund të analizohen më shumë se 100 qeliza dhe arrihet të fitohet një pasqyrë e të dhënave të besueshme në lidhje me karakteristikat biokimike dhe fizike të këtyre qelizave. Dihet se kur rrezet e dritës godasin qelizat atëherë ato refuzohen, thyhen ose absorbohen në fluorokrome të cilat më parë janë lidhur me qeliza. Qelizat me fluorokrom e refuzojnë dritën me gjatësi valore më të madhe.

Për analizë në citometër të lëngët qelizat duhet të jenë të pranishme në formë të një suspensioni, në të cilin pastaj shtojmë tretësirë të antittrupave monoklonike, të cilët janë të shënuar me ngjyrë fluorokrome. Pritet që antittrupat monoklonik të lidhen me antigenet e qelizave. Atëherë qelizat pastrohen me çka largohen antittrupat të cilët nuk janë lidhur me qeliza. Kështu që suspensionin e përgatitur e analizojmë në citometrin e lëngët ku qelizat njëra pas tjetrës udhëtojnë përmes tufës së hollë të dritës.

Kur qelizat e veçanta vijnë në kontakt me rrezet e dritës atëherë drita mund të thyhet ose të refuzohet ose mund të absorbohet në molekulat e fluorokromit i cili është i lidhur me antittrupat monoklonike. Atëherë fluorokromet do të japin dritë me gjatësi valore më të madhe. Drita të cilën e jep qeliza e ndriçuar analizohet me fotodetektor.

Burimi i dritës i cili ndriçon qelizat është lazeri, ku qelizat e veçanta japin sinjale ndriçuese të cilat varen prej karakteristikave të tyre. Sinjalet ndriçuese të cilat kanë

gjatësi valore të njëjtë me dritën lazerike krijohen për shkak të grumbullimit të dritës në strukturat qelizore.

Sinjalet ndriçuese me gjatësi valore më të madhe se sa drita ndriçuese krijohen për shkak të fenomenit të fluoreshences.

Sinjalet mblidhen dhe selektohen në fotodetektor përmes thjerrëzave dhe filtrave, ashtu që çdo fotodetektor mund të bëjë matjen e sinjaleve sipas karakteristikave specifike të tyre.

Citometrat e lëngët kanë nga dy deri në katër fotodetektor fluoreshent, ku secili prej tyre pranon dritë fluoreshente me gjatësi valore specifike dhe në këtë mënyrë matë sinjalet sipas ngjyrës specifike fluoreshente. Fotodetektorët pastaj bëjnë transformimin e sinjaleve ndriçuese në sinjale elektrike.

Vlerat e matura të sinjaleve elektrike pas përpunimit kompjuterik paraqiten matematikisht dhe grafikisht. Në këtë mënyrë për çdo qelizë të veçantë fitojmë të dhëna për madhësinë relative të saj, viabilitetin si dhe llojet dhe fortësinë e sinjaleve fluoreshente të emetuara.

Komponentet kryesore të Citometrit të lëngët janë burimi i dritës, sistemi i rrjedhjes për rregullimin e lëvizjes së lëngut kryesor përmes dritës adekuate, sistemi optik për fokusimin dhe bartjen e dritës, elektronika e cila mundëson matjen e intensitetit të sinjalit të dritës dhe transformimin e tij në sinjal elektrik dhe sistemi kompjuterik me program të veçantë për analizë të të dhënave të fituara (Fig. 4).

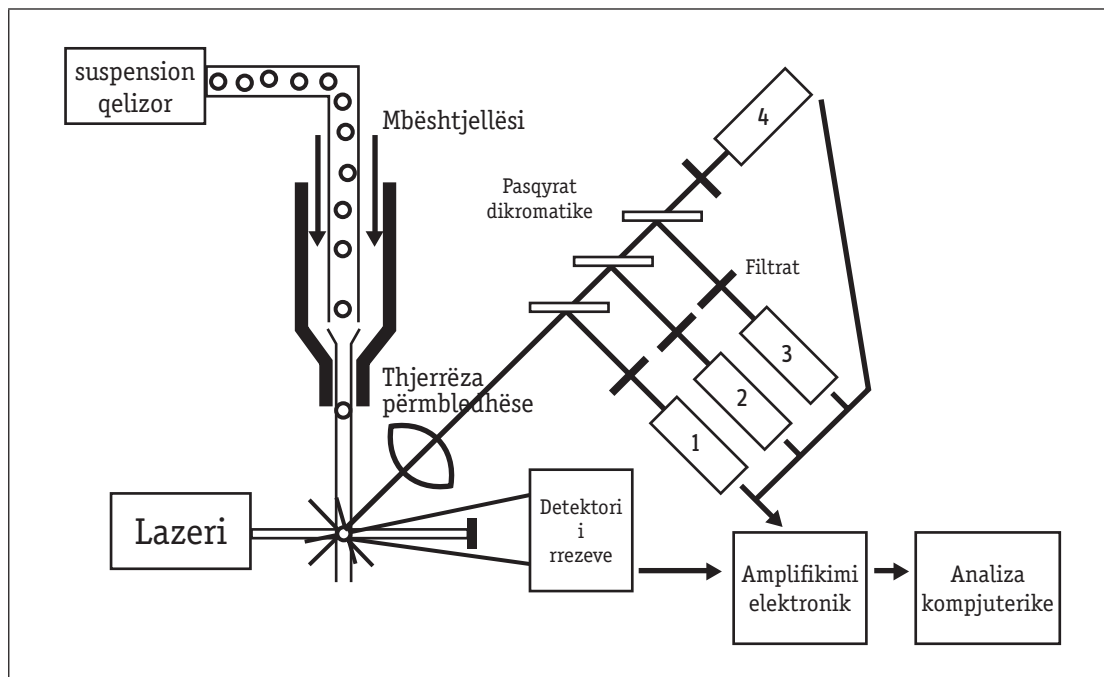


Figura 4. Paraqitja skematike e citometrit të lëngët (Brown and Wittwer, 2000).

Citometria e lëngët ka mundësi të shumta të aplikimit në shkencat biologjike dhe mjekësore për hulumtime shkencore dhe diagnostike. Kjo metodë përdoret shpesh për identifikimin, karakterizimin, monitorimin dhe kontrollin e organizmave punues në bioprosesor. Me ndihmën e citometrisë mund të fitojmë më shumë informata për ata organizma duke na mundësuar optimizim më të lehtë të bioproceseve. Me teknikat e veta mundëson matjen dhe vërtetimin e sasisë së qelizave apoptotike, matjen e qelizave të vdekura, analizën e ciklit të qelizave etj. Kjo metodë shfrytëzon ndryshimet morfologjike dhe biokimike të qelizave të cilat janë tipike për apoptozë, nekrozë apo për fazë të caktuar të ciklit qelizor. Me këto teknika fitojmë më tepër informata për gjendjen e qelizave në mostrat hulumtuese.

Për përcaktimin e viabilitetit të qelizave me citometër të lëngët mund të përdorim metodën AV /PI () ose metodën më të thjeshtë që përfshin përdorimin e ngjyrave fluoeshente TO (thiazole oranzh) dhe PI (jodur propidiumi). Të dy llojet e ngjyrave lidhen me ADN e qelizës. Membrana qelizore është permeabile për ngjyrën TO e cila depërton në qelizat e gjalla dhe të vdekura, por në sasi të ndryshme. Membrana e qelizave të gjalla

është e pakalueshme për ngjyrën PI por mund të kalojë vetëm te qelizat me membranë të shkatërruar, pra qelizat nekrotike. Kombinimi i këtyre dy ngjyrave mundëson që me anë të citometrit të lëngët të dallojmë qelizat e gjalla dhe të vdekura e me këtë edhe të vërtetojmë viabilitetin e tyre (BD Cell Viability Kit). Kiti përmban dy ngjyra, thiazol oranzh (TO) për ngjyrosjen e të gjitha qelizave dhe jodur propidiumi (PI) për ngjyrosjen e qelizave të vdekura, dhe suspension të lëngët të tophave fluoreshent për përcaktimin koncentrimin absolut të qelizave. Qelizat e gjalla të cilat nuk kanë membranë të dëmtuar nuk janë permeabile për ngjyrën PI e cila depërton tek qelizat e vdekura. TO është permeabile për të gjitha qelizat, të gjalla dhe të vdekura. Atëherë detektohet sinjali fluoreshent. Kombinimi i këtyre ngjyrave paraqet metodë të shpejtë për identifikimin e qelizave të gjalla dhe të vdekura. Përparësia e citometrit të lëngët ndaj rritjes në pllaka me agar është në shpejtësinë e arritjes së rezultateve. Rezultatet me citometër fitohen në më pak se një minutë në krahasim me pllakat e agarit ku rezultatet fitohen për 24 orë.

2. HIPOTEZA

Të vërtetohet që terapia fotodinamike (TFD) ka efekt baktericid në patogjenet e inokuluara në kanalet e rrënjës, me theks të veçantë efekti i saj në shkatërrimin e biofilmit të formuar në kanalin e rrënjës së dhëmbit.

3. QËLLIMI I PUNËS

Qëllimi i këtij punimi të doktoraturës ka qenë të vërtetohet efikasiteti i terapisë antimikrobiale, me aplikim të Terapisë fotodinamike në intervale të ndryshme kohore dhe metodave konvencionale të irrigimit: hipokloritit të natriumit (NaOCl) 2,5%; Ultrasonifikimit pasiv së bashku me NaOCl, në eliminimin e infeksionit nga kanali i rrënjës kur *Enterococcus faecalis* dhe *Candida albicans* janë të pranishëm në kanalin e rrënjës së infektuar, në mënyrë që të sigurohet një terapi e mundshme e trajtimit endodontik në praktikën klinike.

4. OBJEKTIVAT

Objektivat e këtij studimi *ex vivo* ka qenë:

- Të vërtetohet *ex vivo* efikasitetin e Terapisë fotodinamike (PDT) në dezinfektimin e kanalit të rrënjës së dhëmbit të infektuar me *E. faecalis* në intervale të ndryshme kohore.
- Të vërtetohet *ex vivo* efikasitetin e Terapisë fotodinamike (PDT) në dezinfektimin e kanalit të rrënjës së dhëmbit të infektuar me *C. albicans* në intervale të ndryshme kohore.
- Të vërtetohet efikasitetin e NaOCl 2,5% në dezinfektimin e kanalit të rrënjës së dhëmbit të infektuar me *E. faecalis* *ex vivo*.
- Të vërtetohet efikasitetin e NaOCl 2,5% në dezinfektimin e kanalit të rrënjës së dhëmbit të infektuar me *C. albicans* *ex vivo*.
- Të vërtetohet efikasitetin e Ultrasonifikimit pasiv (PUI) së bashku me NaOCl 2,5% në dezinfektimin e kanalit të rrënjës së dhëmbit të infektuar me *E. faecalis* *ex vivo*.
- Të vërtetohet efikasitetin e Ultrasonifikimit pasiv (PUI) së bashku me NaOCl 2,5% në dezinfektimin e kanalit të rrënjës së dhëmbit të infektuar me *C. albicans* *ex vivo*.
- Të krahasohet efikasitetin e të gjitha metodave të aplikuara për dezinfektimin e kanalit të rrënjës së dhëmbit të infektuar.

5. MATERIALI DHE METODAT

5.1 MOSTRAT E DHËMBËVE

Për studim janë përdorur 146 dhëmbë njërrënjësh të ekstraktuar për qëllime ortodontike, aprovuar nga Komiteti Etik në Qendrën Klinike Stomatologjike, Prishtinë. Të gjithë dhëmbët e ekstraktuar janë vendosur në tretje fiziologjike 0,9%. Kurora e dhëmbit është prerë me anë të aparatit Isomet 1000 (Buehler GmbH, Gjermani), me qëllim që të fitojmë rrënjë të dhëmbit me gjatësi prej 15 mm. Në studim janë përdorur vetëm dhëmbët me hyrje rrethore të kanalit. Me zgjerues Kerr #10 (Maillefer Instruments SA, Switzerland) kemi matur gjatësinë e punës së kanalit me apekslokator Apex.NRG BLUE(MedicNRG,Israel) i cili është për 0,5 mm më i shkurtër se sa gjatësia e mostrës. Kanalin e rrënjës së dhëmbit e kemi zgjeruar me instrumenta Protaper (Maillefer Instruments, Switzerland) #35 (F3) duke aplikuar irrigimin me NaOCl 2,5%.

Pas instrumentimit të kanalit, dhëmbët janë dërguar në Institutin e Mikrobiologjisë dhe Imunologjisë të Fakultetit të Mjekësisë në Ljubljana. Në Laboratorin për citometri të lëngët dhëmbët së pari janë sterilizuar me alkohol absolut pastaj janë shplarë me solucion të EDTA 17% që të eliminohet mbetja e debrisit. Kanalet janë tharë me paper point (Dentsply Maillefer). Sterilizimi i kanalit të rrënjës është vërtetuar me inkubim të lëngut të fituar pas shplarjes dhe aplikimit të pufferit fosfat (PBS) në kanal të rrënjës në agar gjaku, të cilët janë inkubuar për 24 orë në temperaturë prej 37 °C. Në agar nuk janë vërtetuar rritje të kolonive bakteriale. Mostrat e përgaditura në këtë mënyrë janë përdorur për eksperiment.

5.2 MATERIALET DHE INSTRUMENTET E PËRDORURA

- Isomet 1000 (Buehler GmbH, Germany)
- Apekslokator Apex.NRGLUE (MedicNRG, Israel)
- Kerr files (Maillefer Instruments SA, Switzerland)
- Protaper files (Maillefer Instruments SA, Switzerland)
- Paper points (Maillefer Instruments SA, Switzerland)
- Pipeta dhe zgjatues steril, epruveta (Eppendorf GmbH, Viena, Austria)
- Enë laboratorike prej 500 dhe 1000 ml
- Pllaka mikrotitrike për viza qelizore
- Citometër me rrjedhje të lëngët BD Canto II (Becton Dickinson, USA)
- HELBO Minilaser 2075 F dent (Bredent Medical, Germany)
- HELBO®Endo Blue photosensitizer ngjyrë (HELBO Photodynamic Systems, Germany)
- The Cell Viability Kit with Liquid Counting Beads (BD Biosciences, USA).
- Pufer fosfat (PBS) 1X me 1 mM EDTA 17%
- 10X PBS
- Serum fetal bovine (FBS)

- EDTA 17%
- NaOCl 2,5%
- TIO ushqyese
- Nefelometër
- Enterococcus faecalis (ATCC 29212)
- Candida albicans (ATCC 10231)
- Agar gjaku
- VarioSurg (NSK, Japan)
- Petëzore
- Mikroskop me skanim elektronik
- Mikroskop me dritë
- Ftohës në inkubator ose komorë inkubimi
- Ujë steril (Qiagen, Hilden, Germany)

5.2.1 Kulturat e *Enterococcus faecalis* dhe *Candida albicans*

Për përgatitjen e kulturave të *E. faecalis* dhe *C. albicans* kemi përdorur agarin e gjakut si ushqimore, flakën për punë aseptike dhe inkubatorin.

Metodologjia e punës bazohet në kultivimin e bakterieve dhe kërpudhave si dhe identifikimin e tyre. Janë përdorur llojet e ngrira të *Enterococcus faecalis* ATCC, ushqimorja e agarit të gjakut dhe reagentët për identifikimin e tyre sipas Gram ngjyrosjes. Llojet e ngrira të mikroorganizmave ATCC janë tretur dhe shpërdarë në agarin e gjakut. Ushqimorja është inkubuar 24 orë në atmosferë aerobe në temperaturë prej 37 °C.

Kolonitë tipike të bakteries *Enterococcus faecalis* janë të vogla dhe me ngjyrë të bardhë. Për identifikimin e kolonive të veçanta është formuar preparat mikroskopik sipas ngjyrosjes së Gramit. Edhe kolonitë e *Candida albicans* janë të vogla dhe gjithashtu me ngjyrë të bardhë por që për identifikimin e tyre janë përdorur preparatet native.

5.3 ZHVILLIMI I BIOFILMIT NË KANALIN E RRËNJËS SË DHËMBIT

Kjo metodologji bazohet në inkubimin e bakterieve me përqëndrime të sakta në kanalet e rrënjëve të dhëmbit të sterilizuar. Për inokulim janë përdorur tipet e bakterieve *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 dhe tipet e kërpudhave *Candida albicans* ATCC 10231.

Mostrat e 146 dhëmbëve janë ndarë në dy grupe varësisht prej llojit të mikroorganizmave të cilët janë inokuluar në kanalën e rrënjës së dhëmbit. Për inokulim në kanalën e rrënjës së dhëmbit janë përdorur suspensionet spektrometrike të kulturave, të përgatitura në TIO (tioglikolat) të ushqimores së lëngët me përqëndrim prej 5 McFarlanda ($1,5 \times 10^9$ qeliza/ml). Përqëndrimi i bakterieve është matur me Nefelometër. Kanalet e rrënjës së dhëmbit së pari janë inokuluar me këtë suspension dhe pastaj janë inkubuar 7 ditë në temperaturë prej 37 °C në kushte aerobe.

Ecuria e punës së inokulimit dhe inkubimit:

1. Dita e parë: 30 µl suspension 5 McFarland janë inokuluar në kanalën e rrënjës së dhëmbit dhe janë inkubuar 24 orë në temperaturë prej 37 °C.
2. Dita e dytë: 30 µl suspension 5 McFarland janë inokuluar në kanalën e rrënjës së dhëmbit dhe janë inkubuar për 24 orë në temperaturë prej 37 °C.
3. Dita e tretë: 30 µl të tioglikonatit të lëngët janë inokuluar në kanalën e rrënjës së dhëmbit dhe janë inkubuar për 24 orë në temperaturë prej 37 °C.
4. Dita e katërt: 20 µl suspension 5 McFarland janë inokuluar në kanalën e rrënjës së dhëmbit dhe janë inkubuar për 24 orë në temperaturë prej 37°C.
5. Dita e pestë: 20 µl të tioglikonatit të lëngët janë inokuluar në kanalën e rrënjës së dhëmbit dhe janë inokuluar për 48 orë në temperaturë prej 37 °C.
6. Dita e shtatë: 30 µl të tioglikonatit të lëngët janë inokuluar në kanalën e rrënjës së dhëmbit dhe janë inkubuar për 24 orë në temperaturë prej 37 °C.



Figura 5. Rritja e mikroorganizmave në kanalin e rrënjës së dhëmbit

5.4 IRRIGIMI ME SOLUCION TË HIPOKLORITIT TË NATRIUMIT 2,5%

Mënyra e aplikimit të NaOCl 2,5% ka qenë e njëjtë për të dy llojet e mikroorganizmave. Dhëmbët e infektuar me mikroorganizma janë shplarë me 1,2 ml NaOCl 2,5%, ku pas çdo shplarje të kanalit të rrënjës me NaOCl 2.5%, kanali poshtu është shplarë edhe me 1,2 ml tretësirë puferike 10X PBS (Tabela 1) me serumin fetal bovin (FBS) për neutralizimin e toksicitetit të hipokloritit në qelizat e gjalla të mikroorganizmave. FBS përmban albuminë i cila neutralizon toksicitetin e hipokloritit, i lidh radikale toksike të hipokloritit dhe i denatyrton. Suspensionin i fituar ka qenë në vëllim prej 4.8ml, prej të cilit janë pipetuar 500 µl për përgatitjen e mostrës për matjen e valiabilitetit me anë të Citometrisë së lëngët.

Tabela 1. Përbërja e tretësirës 10X PBS

Komponentët	Sasia
Klorur natriumi- NaCl	788.5 g
Hidrogjen fosfat kaliumi- K_2HPO_4	261.04 g
Dihidrogjen fosfat kaliumi- KH_2PO_4	39 g
Ujë i distiluar	10 L

Solucioni 1X PBS është përgatitur me hollimin e solucionit 10X PBS në raport 1:10

5.5 IRRIGIMI ME ULTRASONIFIKIM PASIV SË BASHKU ME NaOCl 2,5%

Në dhëmbët e infektuar, për të dy llojet e mikroorganizmave është aplikuar irrigimi ultrasonifikues me anë të aparatit për ultrasonifikim (VarioSurg NSK, Japan) me nga 500 µl NaOCl 2,5% 3 herë nga 10 sekonda. Pas këtij aplikimi kanalet e rrënjës së dhëmbit janë shplarë me 2,4 ml 1X PBS, me 1 mM EDTA 17% dhe FBS. Për analizë citometrike janë përdorur 500 µl suspension.

5.6 DEZINFEKTIMI ME APLIKIMIN E TERAPISË FOTODINAMIKE ME HELBO Lazer

Tek dhëmbët e infektuar me biofilma të këtyre mikroorganizmave është vepruar me fotosensiterin HELBO®Endo Blue (HELBO Photodynamic Systems, Germany) i cili është lënë të veprojë për 1 minutë sipas udhëzimeve të prodhuesit (Fig.6 dhe 7).



Figura 6. Aplikimi i fotosensiterit HELBO Endo Blue në kanale të rrënjës së dhëmbit.



Figura 7. Lidhja e fotosensiterit të paaktivizuar për biofilmin e bakterieve

Pas kësaj në kanalin e rrënjës së dhëmbit është aplikuar lazeri HELBO Minilaser 2075 F dent (Bredent Medical Germany) me sondë speciale në intervale të ndryshme kohore prej 1, 3 dhe 5 minuta (Fig. 8).



Figura 8. Aplikimi i HELBO lazerit në kanalin e rrënjës së dhëmbit

Pas rrezatimit me lazer është bërë dy herë irrigimi i biofilmit të dëmtuar me 1,2 ml 1x PBS dhe me 1mM EDTA në pH=8,3. Kanali i rrënjës është shplarë lehtë në mënyrë që

të mblidhen sa më shumë qeliza (Fig. 9).

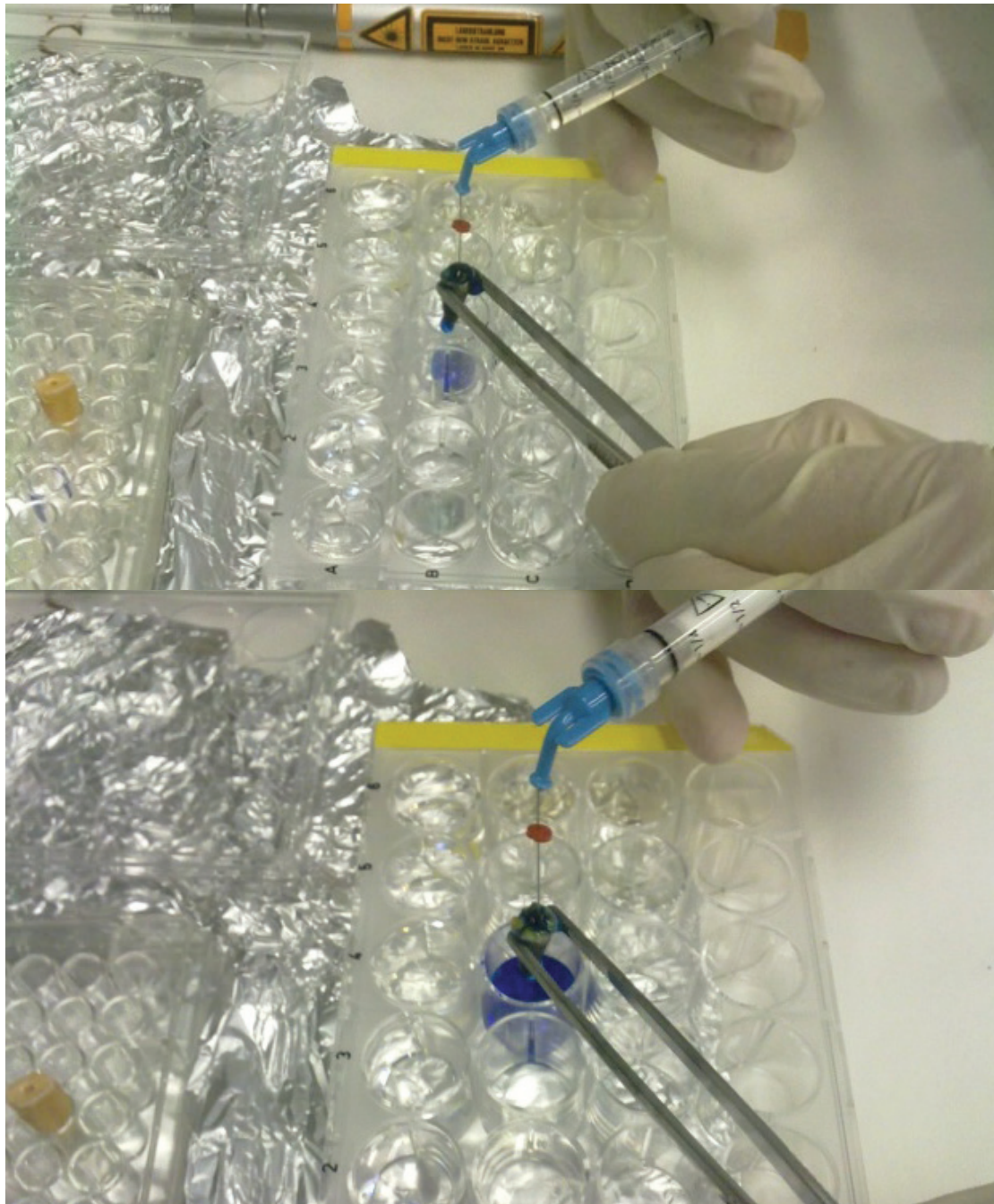


Figura 9. Shplarja e biofilmit të dëmtuar në kanalin e rrënjës së dhëmbit.

Tretësira e fituar gjatë irrigimit është mbledhur në pllakë mikrotitrike dhe vëllimi përfundimtar i tretësirës së bashku me qeliza të mikroorganizmave ka qenë 2.4 ml. Kjo tretësirë është përdorur për analiza të mëtejshme në Citometrinë e lëngët.

5.7 ANALIZA E VIABILITETIT ME CITOMETRINË E LËNGËT

Janë marrë nga 4,8 ml suspension i fituar nga çdo dhëmbë pas aplikimit të NaOCl 2,5%, PUI së bashku me NaOCl 2,5% dhe aplikimit të lazerit. Për analizë në citometër janë marrë nga 500 µl suspension të qelizave nga çdo dhëmbë.

Për përcaktimin e viabilitetit është përdorur The Cell Viability Kit with Liquid Counting Beads (BD Biosciences). Përdorimi është bërë sipas udhëzimeve të prodhuesit. 500 µl suspension janë vendosur në epruvetë për analizë në citometër. Suspensionit i janë shtuar 5 µl ngjyrë TO dhe 5 µl ngjyrë PI pastaj 50 µl BD Liquid Counting Beads dhe janë përzier mirë. Inkubimi është bërë për 10 minuta në errësirë dhe temperaturë të dhomës. Pas inkubimit mostrat janë analizuar në citometër të lëngët modeli BD FACS Canto II (Fig. 10).



Figura 10. Citometri i lëngët (BD FACSCanto II)

5.7.1 Procedurat kontrolluese

Procedurat kontrolluese janë bërë në dy mënyra: me analizë në citometër të lëngët dhe me rritje në agar gjaku.

Si Kontrollë pozitive kanë shërbyer biofilmat e bakterieve të kanalit të rrënjës së dhëmbit. Dhëmbët e inokuluar me mikroorganizma janë shplarë me 1,2 ml 1X PBS me 1 mM 17% EDTA. Nga 2,4 ml supenzion i fituar janë marrë 500 µl për analizë të viabilitetit në citometër.

Për kontrolle negative janë përdorur 16 dhëmbë steril ku 4 janë vërtetuar në agar dhe 12 në citometrën e lëngët.

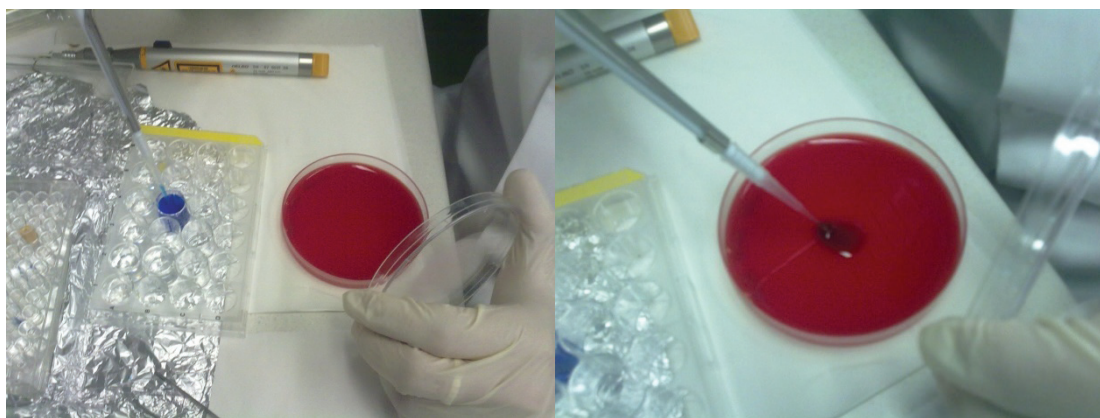


Figura 11. Kontrolli e rritjes së mikroorganizmave në agar gjaku.

Për kontrolle pozitive, për rritje të mikroorganizmave në agar janë përdorur 14 dhëmbë, ku 6 prej tyre kanë qenë të infektuar me *C. albicans* dhe 8 të infektuar me *E. faecalis*. Në të njëjtën kohë është vërtetuar Kontrollë e trajtimit të lazerit dhe NaOCl 2,5% në agar të gjakut në krahasim me citometrën e lëngët.

Janë përdorur 8 dhëmbë të infektuar me *C. albicans* ku në 6 prej tyre është aplikuar lazeri (në 2 dhëmbë nga 1 min, 2 dhëmbë nga 3 min dhe në 2 dhëmbë nga 5 minuta) dhe 2 dhëmbët e tjerë janë trajtuar me NaOCl 2,5%. Dhe 12 dhëmbë të infektuar me *E. faecalis* ku te 9 dhëmbë kemi aplikuar lazerin (3 dhëmbë nga 1 min, 3 dhëmbë nga 3 min dhe 3 dhëmbë nga 5 min) dhe 3 dhëmbë tjerë janë trajtuar me NaOCl 2,5%.

Për ecuritë kontrolluese janë marrë 100 µl suspezion të qelizave të shplara të cilat janë vendosur në agar dhe janë përzier në mënyrë që të arrihet shpërndarje më e mirë e qelizave në lëng - resuspension të qelizave të shplara. Pastaj është vazhduar me shpërndarje të masës nëpër tërë pllakën dhe në fund janë inkubuar për 24 orë në temperaturë prej 37 °C. Ditën e nesërme është bërë numrimi i kolonive respektivisht numri i CFU-ve.

5.8 SKANIMI ELEKTRONIK MIKROSKOPIK (SEM)

Për detektimin e rritjes së biofilmit si dhe veprimin dezinfektues ndaj qelizave të mikroorganizmave janë përdorur 4 mostra të dhëmbëve të infektuar me *E. faecalis* edhe atë 1 mostër nga Kontrolle pozitive, 1 mostër nga aplikimi i 2,5% NaOCl, 1 mostër nga aplikimi i lazerit për 5 minuta dhe 1 mostër nga aplikimi Ultrasonifikimit pasiv së bashku me 2,5% NaOCl.

Mostrat reprezentative janë prerë për së gjati përgjysmë dhe pastaj janë lyer me ari për analizë mikroskopike me skanim elektronik.

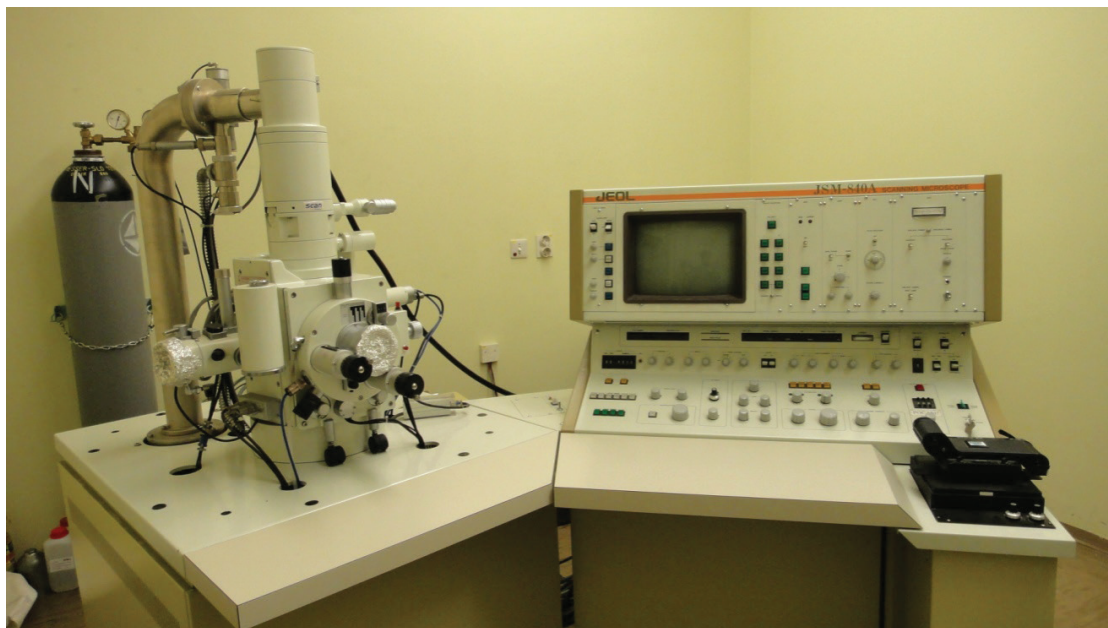


Figura 12. Mikroskopi me skanim elektronik

6. REZULTATET

Në këtë punim të doktoraturës janë krahasuar veprimi antimikrobial i metodave konvencionale dhe terapisë fotodinamike ndaj *E. faecalis* dhe *C. Albicans*. Në hulumtim janë përdorur dhëmbë të ekstraktuar të shëndoshë, një rrënjësh dhe të pa dëmtuar, në të cilët janë inokuluar mikroorganizma për rritje të biofilmit.

Rezultatet e fituara janë prezantuar në tabela dhe diagrame. Në të njëjtën kohë janë bërë Kontrollë e sterilizimit të dhëmbëve në pllaka agari; Kontrollë e rritjes së biofilmit në kanale të rrënjës së dhëmbit me SEM mikroskopi dhe Kontrollët e reagimit të mikroorganizmave ndaj veprimit të irriguesve: NaOCl 2.5%, NaOCl 2.5% së bashku me ultrasonifikimin pasiv (PUI) si dhe ndaj Terapisë fotodinamike (TFD) me metoda fluoeshente në citometrinë e lëngët.

Rezultatet e fituara janë prezantuar me tabela, figura dhe diagrame.

Për irrigim me NaOCl 2,5% janë marrë 17 dhëmbë, ku prej tyre 9 kanë qenë të infektuar me *Candida albicans* kurse 8 dhëmbë kanë qenë të infektuar me *Enterococcus faecalis*.

Pas irrigimit me NaOCl 2,5% dhëmbët e infektuar me *E. faecalis* janë analizuar në citometër të lëngët, rezultatet e fituara për secilin dhëmb janë paraqitur në Fig. 13 dhe Tabelën 2.

Në Figurën 13 qelizat e vdekura janë treguar me ngjyrë jeshile, qelizat e shkatërruara me ngjyrë të kuqe kurse qelizat e dëmtuara me ngjyrë blu.

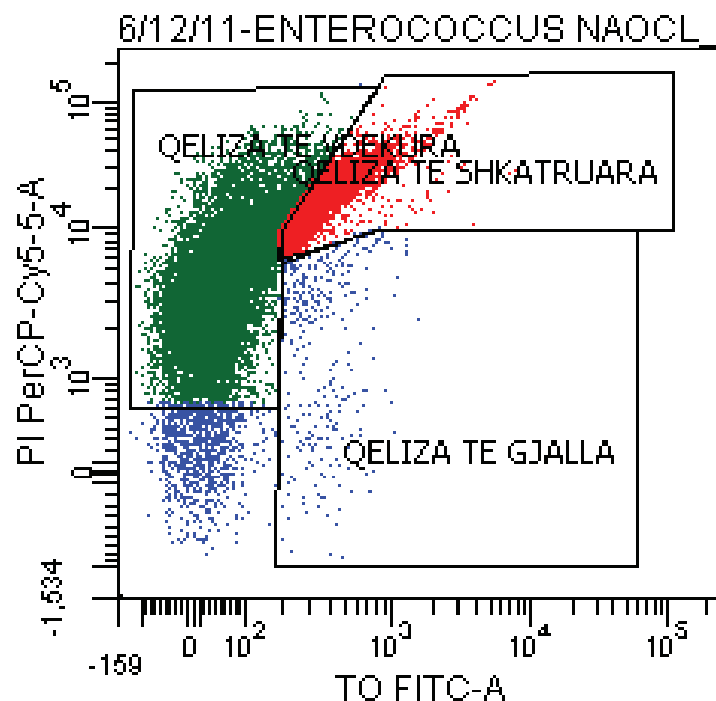


Figura 13. Rezultatet e reagimit të biofilmit të *E. faecalis* ndaj NaOCl 2,5%

Tabela 2. Përqindja e qelizave të vdekura të *E. faecalis* në 8 kanale të rrënjës së dhëmbit pas irrigimit me NaOCl 2,5%

E. faecalis	Nr i qelizave	2,4 ml NaOCl	%
Të vdekura	19578	16864	86,14
	17285	12060	69,77
	17708	15759	88,99
	19480	17473	89,70
	25826	8675	33,59
	25948	22174	85,46
	24901	16919	67,95
	23212	10346	44,57
Të gjalla	19578	472	2,41
	17285	1109	6,42
	17708	402	2,27
	19480	481	2,47
	25826	4921	19,05
	25948	548	2,11
	24901	704	2,83
	23212	1824	7,86
Të dëmtuara	19578	584	2,98
	17285	3028	17,52
	17708	536	3,03
	19480	906	4,65
	25826	12169	47,12
	25948	2662	10,26
	24901	6741	27,07
	23212	11114	47,88

Nga Tabela 2 shihet se përqindja më e lartë e qelizave të vdekura të *E. faecalis* pas irrigimit me NaOCl 2,5% është 89,70%, përqindja më e lartë e qelizave të gjalla është 19,05% kurse përqindja më e lartë e qelizave të dëmtuara është 47,88%.

Dhëmbët e infektuar me *C. albicans* pas irrigimit me NaOCl 2,5% janë analizuar në citometër të lëngët, rezultatet e fituara për secilin dhëmb janë paraqitur në Fig. 14 dhe Tabelën 3.

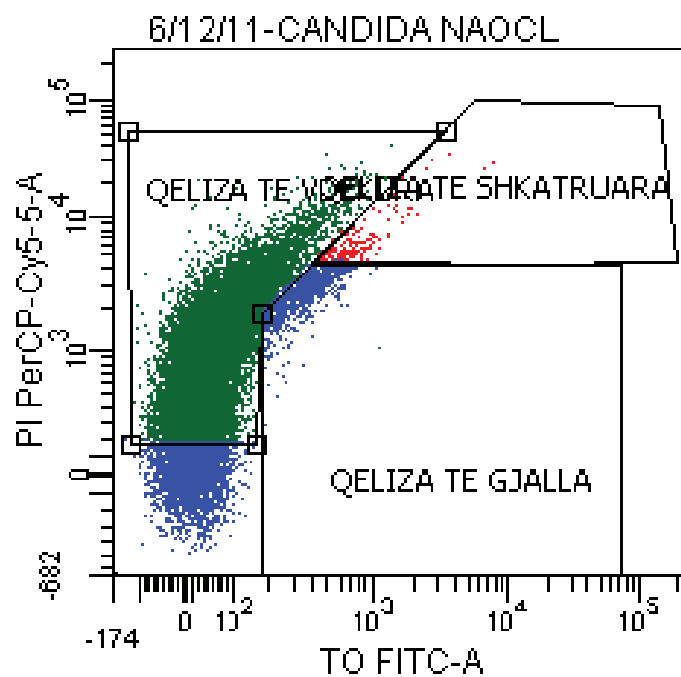


Figura 14. Rezultatet e reagimit të biofilmit të *C. albicans* ndaj NaOCl 2,5%

Tabela 3. Përqindja e qelizave të vdekura të *C. albicans* në 9 kanale të rrënjës së dhëmbit pas irrigimit me NaOCl 2.5%

C. albicans	Nr i qelizave	2,4 ml NaOCl	%
Të vdekura	22791	17273	75,79
	18360	12364	67,34
	20665	16221	78,50
	21120	16769	79,40
	10335	6486	62,76
	18161	15008	82,64
	17221	15059	87,45
	23129	21257	91,91
	22367	20639	92,27
	22791	927	4,07
Të gjalla	18360	530	2,89
	20665	270	1,31
	21120	821	3,89
	10335	248	2,40
	18161	306	1,68
	17221	261	1,52
	23129	118	0,51
	22367	45	0,20
	22791	402	1,76
	18360	417	2,27
Të dëmtuara	20665	2576	12,47
	21120	1618	7,66
	10335	1590	15,38
	18161	2083	11,47
	17221	414	2,40
	23129	995	4,30
	22367	1356	6,06

Nga Tabela 3 shihet se përqindja më e lartë e qelizave të vdekura të *C. albicans* pas irrigimit me NaOCl 2,5% është 92,27%, përqindja më e lartë e qelizave të gjalla është 4,07% kurse përqindja më e lartë e qelizave të dëmtuara është 15,38%.

Për irrigim me ultrasonifikim pasiv së bashku me NaOCl 2,5% janë marrë 16 dhëmbë të infektuar ku 8 kanë qenë të infektuar me *Enterococcus faecalis* dhe 8 dhëmbë të infektuar me *Candida albicans*.

Pas irrigimit dhëmbët e infektuar me *E. faecalis* dhe *C. albicans* janë analizuar në citometër të lëngët, rezultatet e fituara për secilin dhëmb janë paraqitur në Fig. 15 dhe Tabela 4, respektivisht Fig. 16 dhe Tabela 5.

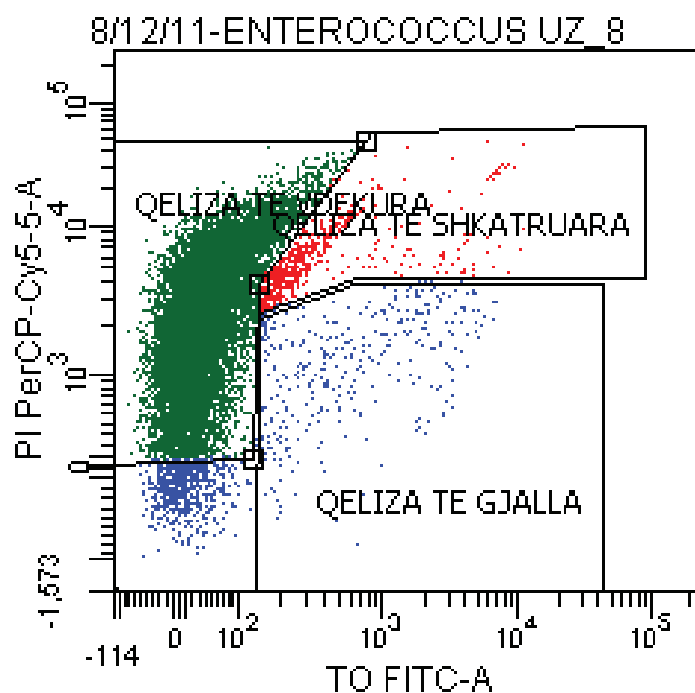


Figura 15. Rezultatet e reagimit të biofilmit të *E. faecalis* ndaj PUI me NaOCl 2,5%

Tabela 4. Përqindja e qelizave të vdekura të *E. faecalis* në 8 kanale të rrënjes së dhëmbit pas PUI me irrigim me NaOCl 2.5%

E. faecalis	Nr i qelizave	PUI + 2,5% NaOCl	%
Të vdekura	21667	16950	78,23
	22097	16819	76,11
	20204	18329	90,72
	22017	19435	88,27
	22437	18973	84,56
	22398	18780	83,85
	22510	20377	90,52
Të gjalla	15846	13966	88,14
	21667	643	2,97
	22097	450	2,04
	20204	291	1,44
	22017	436	1,98
	22437	427	1,90
	22398	749	3,34
Të dëmtuara	22510	378	1,68
	15846	396	2,50
	21667	3731	17,22
	22097	4121	18,65
	20204	1101	5,45
	22017	1790	8,13
	22437	2285	10,18
	22398	2086	9,31
	22510	1391	6,18
	15846	648	4,09

Nga Tabela 4 shihet qartë se përqindja më e lartë e qelizave të vdekura të *E. faecalis* pas irrigimit me ultrasonifikim pasiv së bashku me NaOCl 2,5% është 90,72%, përqindja më e lartë e qelizave të gjalla është 3,34% kurse përqindja më e lartë e qelizave të dëmtuara është 18,65%.

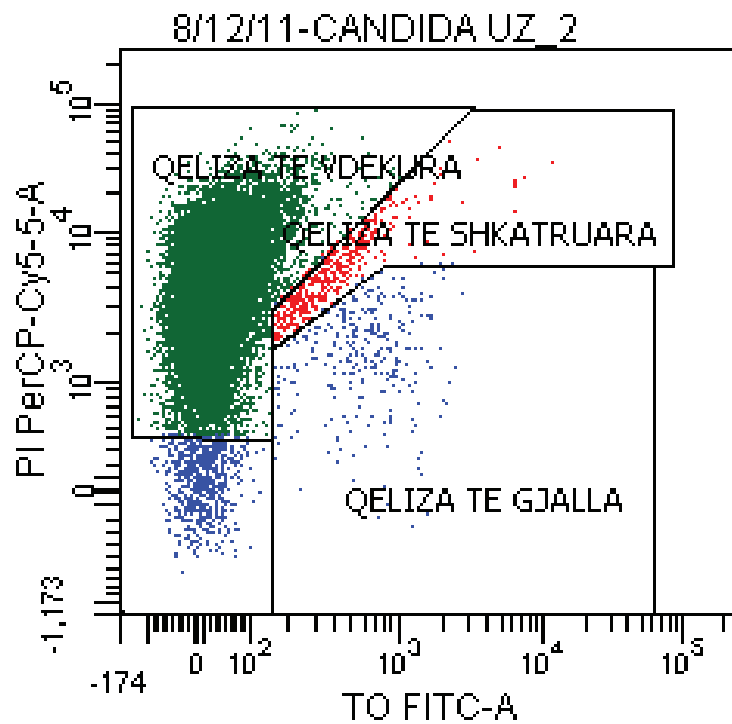


Figura 16. Rezultatet e reagimit të biofilmit të *C. albicans* ndaj PUI me NaOCl 2,5%

Tabela 5. Përqindja e qelizave të vdekura të *C. albicans* në 8 kanale të rrënjës së dhëmbit pas PUI me irrigim me NaOCl 2,5%

C. albicans	Nr i qelizave	PUI + 2,5% NaOCl	%
Të vdekura	23602	21694	91,92
	25373	24059	94,82
	22903	22038	96,22
	24413	23147	94,81
	19111	17193	89,96
	24479	22098	90,27
	24750	23223	93,83
	23791	21584	90,72
Të gjalla	23602	778	3,30
	25373	448	1,77
	22903	277	1,21
	24413	306	1,25
	19111	311	1,63
	24479	398	1,63
	24750	471	1,90
	23791	538	2,26
Të dëmtuara	23602	529	2,24
	25373	648	2,55
	22903	265	1,16
	24413	452	1,85
	19111	1091	5,71
	24479	1002	4,09
	24750	884	3,57
	23791	1136	4,77

Nga Tabela 5. shihet qartë se përqindja më e lartë e qelizave të vdekura të *C. albicans* pas irrigimit me ultrasonifikim pasiv së bashku me NaOCl 2,5% është 96,22%, përqindja më e lartë e qelizave të gjalla është 3,30% kurse përqindja më e lartë e qelizave të dëmtuara është 5,71%.

Për dezinfektim të kanaleve të rrënjës së dhëmbit me aplikim të Terapisë fotodinamike janë marrë 45 dhëmbë të infektuar me mikroorganizma, ku 21 dhëmbë janë infektuar me *E. faecalis* dhe 24 janë infektuar me *C. albicans*.

Në kanalin e rrënjës së dhëmbit të infektuar është aplikuar HELBO lazeri me sondë speciale në intervale të ndryshme kohore prej 1, 3 dhe 5 minuta. Pastaj dhëmbët janë analizuar në citometër të lëngët për të dy llojet e mikroorganizmave. Rezultatet e fituara janë paraqitur në Figurat 17 dhe 18 dhe Tabelat 6 – 11.

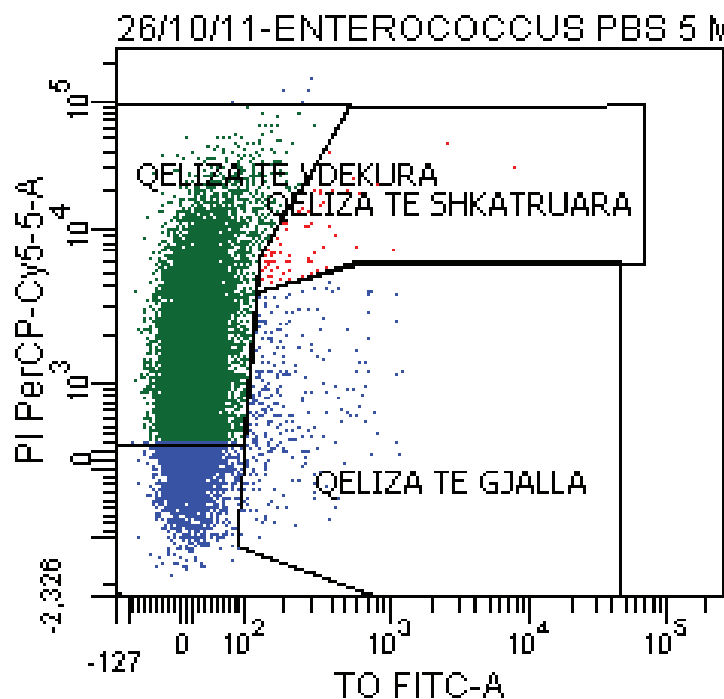


Figura 17. Rezultatet e reagimit të biofilmit të *E. faecalis* ndaj TFD

Tabela 6. Përqindja e qelizave të vdekura të *E. faecalis* në 7 kanale të rrënjës së dhëmbit pas veprimet të TFD në kohëzgjatje prej 1 minuti

E. faecalis	Nr i qelizave	1 minutë	%
Të vdekura	20164	15014	74,46
	21334	15039	70,49
	24996	12154	48,62
	27851	8666	31,12
	26204	11797	45,02
	23183	12765	55,06
	20197	11251	55,71
Të gjalla	20164	576	2,86
	21334	1661	7,79
	24996	10030	40,13
	27851	15826	56,82
	26204	11594	44,25
	23183	6277	27,08
	20197	99	0,49
Të dëmtuara	20164	34	0,17
	21334	18	0,08
	24996	781	3,12
	27851	2387	8,57
	26204	1314	5,01
	23183	713	3,08
	20197	3	0,01

Nga Tabela 6 shihet se përqindja më e lartë e qelizave të vdekura të *E. faecalis* pas aplikimit të TFD në kohëzgjatje prej 1 minuti është 74,46%, përqindja më e lartë e qelizave të gjalla është 56,82% kurse përqindja më e lartë e qelizave të dëmtuara është 8,57%.

Tabela 7. Përqindja e qelizave të vdekura të *E. faecalis* në 7 kanale të rrënjës së dhëmbit pas veprimet të TFD në kohëzgjatje prej 3 minutave

<i>E. faecalis</i>	Nr i qelizave	3 minuta	%
Të vdekura	23856	17142	71,86
	22720	15755	69,34
	19030	15339	80,60
	16605	8448	50,88
	17930	15096	84,19
	24642	17410	70,65
	23267	13639	58,62
Të gjalla	23856	2931	12,29
	22720	2792	12,29
	19030	29	0,15
	16605	5286	31,83
	17930	142	0,79
	24642	2769	11,24
	23267	5283	22,71
Të dëmtuara	23856	294	1,23
	22720	291	1,28
	19030	8	0,04
	16605	522	3,14
	17930	42	0,23
	24642	469	1,90
	23267	872	3,75

Nga Tabela 7 shihet se përqindja më e lartë e qelizave të vdekura të *E. faecalis* pas aplikimit të TFD në kohëzgjatje prej 3 minuta është 84,19%, përqindja më e lartë e qelizave të gjalla është 31,83% kurse përqindja më e lartë e qelizave të dëmtuara është 3,75%.

Tabela 8. Përqindja e qelizave të vdekura të *E. faecalis* në 7 kanale të rrënjës së dhëmbit pas veprimet të TFD në kohëzgjatje prej 5 minutash

E. faecalis	Nr i qelizave	5 minuta	%
Të Vdekura	23608	14578	61,75
	21881	17556	80,23
	23404	18496	79,03
	22543	17282	76,66
	25029	17019	68,00
	22099	13093	59,25
	24474	18656	76,23
Të gjalla	23608	4502	19,07
	21881	254	1,16
	23404	1056	4,51
	22543	1439	6,38
	25029	1927	7,70
	22099	3001	13,58
	24474	1100	4,49
Të dëmtuara	23608	1735	7,35
	21881	93	0,43
	23404	195	0,83
	22543	237	1,05
	25029	2134	8,53
	22099	727	3,29
	24474	1438	5,88

Nga Tabela 8 shihet se përqindja më e lartë e qelizave të vdekura të *E. faecalis* pas aplikimit të TFD në kohëzgjatje prej 5 minuta është 80,23%, përqindja më e lartë e qelizave të gjalla është 19,07% kurse përqindja më e lartë e qelizave të dëmtuara është 8,53%.

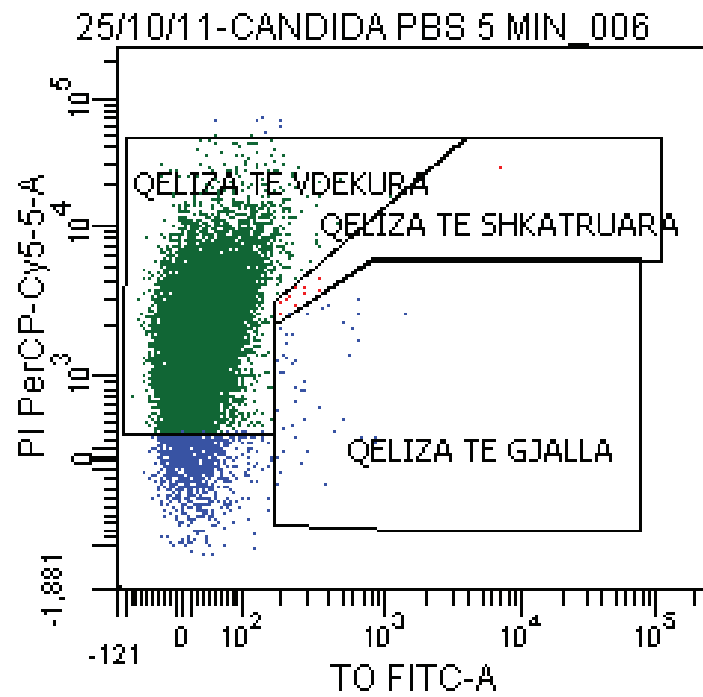


Figura 18. Rezultatet e reagimit të biofilmit të *C. albicans* ndaj TFD

Tabela 9. Përqindja e qelizave të vdekura të *C. albicans* në 8 kanale të rrënjës së dhëmbit pas veprimit të TFD në kohëzgjatje prej 1 minuti

C. albicans	Nr i qelizave	1 minut	%
Të vdekura	9307	7553	81,15
	26376	22323	84,63
	28955	23176	80,04
	27367	25933	94,76
	28830	19769	68,57
	24054	23225	96,55
	28429	17496	61,54
Të gjalla	17545	16069	91,59
	9307	1516	16,29
	26376	2275	8,63
	28955	3894	13,45
	27367	685	2,50
	28830	8058	27,95
	24054	7	0,03
	28429	9964	35,05
Të dëmtuara	17545	1179	6,72
	9307	163	1,75
	26376	24	0,09
	28955	1877	6,48
	27367	316	1,15
	28830	475	1,65
	24054	4	0,02
	28429	771	2,71
	17545	168	0,96

Nga Tabela 9 shihet se përqindja më e lartë e qelizave të vdekura të *C. albicans* pas aplikimit të TFD në kohëzgjatje prej 1 minuti është 96,55%, përqindja më e lartë e qelizave të gjalla është 35,05% kurse përqindja më e lartë e qelizave të dëmtuara është 6,48%.

Tabela 10. Përqindja e qelizave të vdekura të *C. albicans* në 8 kanale të rrënjës së dhëmbit pas veprimit të TFD në kohëzgjatje prej 3 minutash

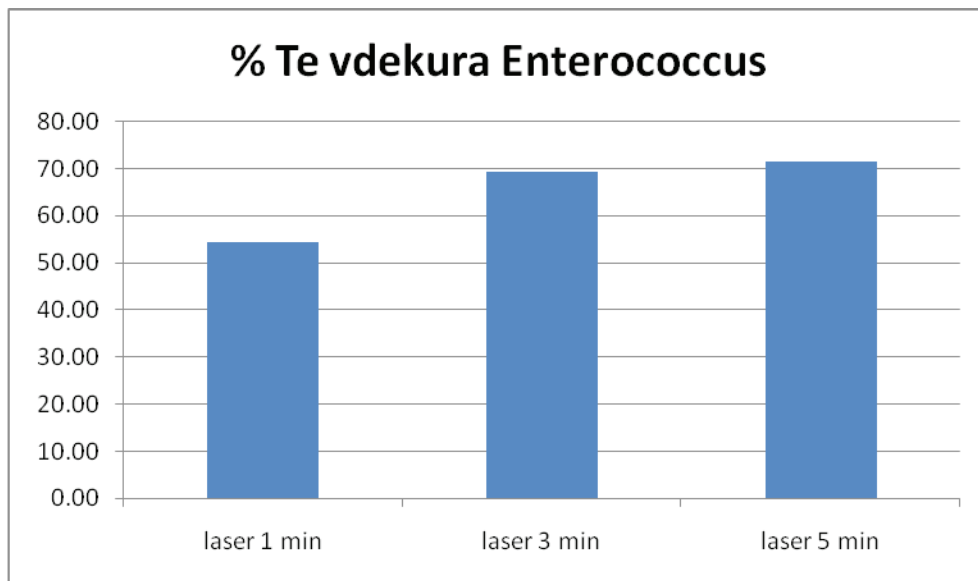
C. albicans	Nr i qelizave	3 minuta	%
Të vdekura	20768	15414	74,22
	25531	20684	81,02
	16187	14968	92,47
	23981	18341	76,48
	27854	24887	89,35
	23601	21904	92,81
	26024	20941	80,47
Të gjalla	25118	22694	90,35
	20768	1732	8,34
	25531	3725	14,59
	16187	138	0,85
	23981	1787	7,45
	27854	2437	8,75
	23601	231	0,98
	26024	1088	4,18
	25118	259	1,03
	20768	11	0,05
	25531	120	0,47
Të dëmtuara	16187	66	0,41
	23981	221	0,92
	27854	178	0,64
	23601	51	0,22
	26024	25	0,10
	25118	7	0,03

Nga Tabela 10 shihet se përqindja më e lartë e qelizave të vdekura të *C. albicans* pas aplikimit të TFD në kohëzgjatje prej 3 minuta është 92,81%, përqindja më e lartë e qelizave të gjalla është 14,59% kurse përqindja më e lartë e qelizave të dëmtuara është 0,92%.

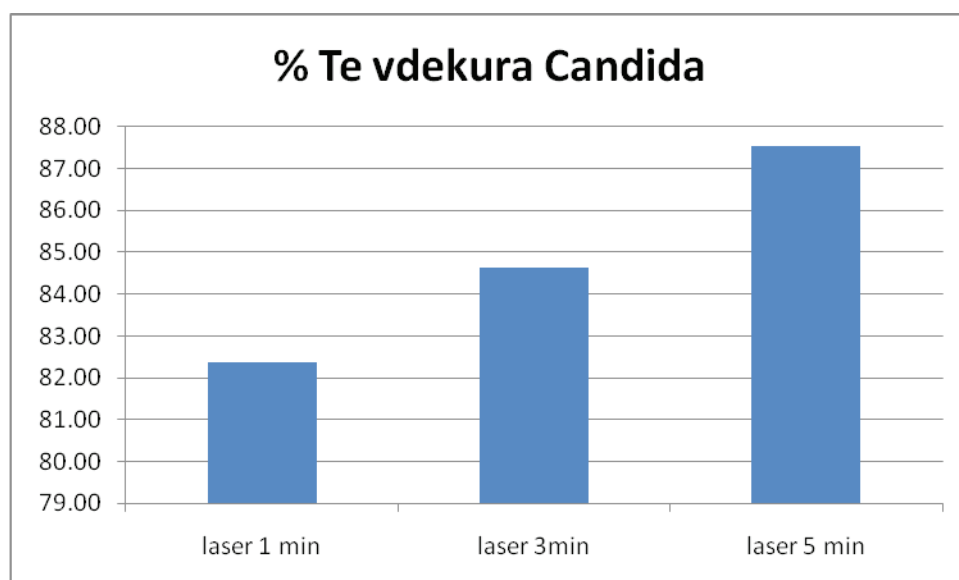
Tabela 11. Përqindja e qelizave të vdekura të *C. albicans* në 8 kanale të rrënjës së dhëmbit pas veprimit të TFD në kohëzgjatje prej 5 minutave

C. albicans	Nr i qelizave	5 minuta	%
Të vdekura	26313	23442	89,09
	28086	26061	92,79
	26966	25157	93,29
	27054	20184	74,61
	27555	25816	93,69
	26995	24402	90,39
	25439	19887	78,18
Të gjalla	24531	21681	88,38
	26313	663	2,52
	28086	1053	3,75
	26966	467	1,73
	27054	4769	17,63
	27555	774	2,81
	26995	43	0,16
	25439	620	2,44
	24531	5	0,02
	26313	13	0,05
Të dëmtuara	28086	16	0,06
	26966	64	0,24
	27054	512	1,89
	27555	186	0,68
	26995	9	0,03
	25439	35	0,14
	24531	0	0,00

Nga Tabela 11 shihet se përqindja më e lartë e qelizave të vdekura të *C. albicans* pas aplikimit të TFD në kohëzgjatje prej 5 minuta është 93,69%, përqindja më e lartë e qelizave të gjalla është 17,63% kurse përqindja më e lartë e qelizave të dëmtuara është 1,89%.



Diagrami 1. Përqindja e qelizave të vdekura të *E. faecalis* pas veprimit të TFD.



Diagrami 2. Përqindja e qelizave të vdekura të *C. Albicans* pas veprimit të TFD.

Nga Diagrami 1 shihet se përqindja e qelizave të vdekura të *E. faecalis* është më e lartë pas aplikimit të TFD në kohëzgjatje prej 5 minutash.

Ndërsa nga Diagrami 2 shihet se përqindja e qelizave të vdekura të *C. albicans* është më e lartë pas aplikimit të TFD në kohëzgjatje prej 5 minutash.

Për kontrolle pozitive janë marrë 14 dhëmbë prej të cilëve 7 kanë qenë të infektuar me *E. faecalis* dhe 7 dhëmbë të infektuar me *C. albicans*.

Për kontrolle negative janë përdorur 16 dhëmbë steril ku 4 janë vërtetuar në agar dhe 12 në citometrin e lëngët.

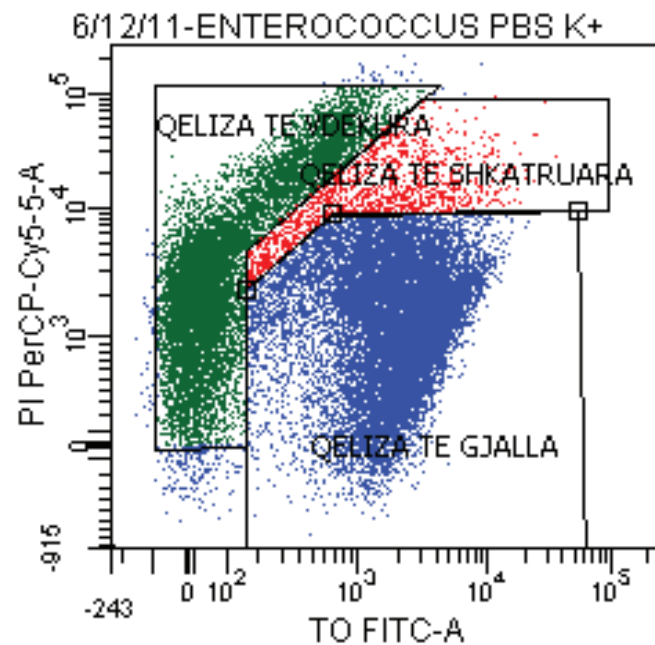


Figura 19. Kontrolli pozitiv i dhëmbëve në citometër të lëngët

Tabela 12. Përqindja e mikroorganizmave të vdekur në kontrolle pozitive të analizuar në citometër të lëngët te dhëmbët e patrajtuar.

	C. albicans	E. faecalis
% Të vdekura	44,67	36,46
	44,78	41,70
	45,33	58,98
	43,93	31,95
% Të gjalla	45,80	43,20
	48,50	42,50
	48,89	38,80
	33,71	58,02
	34,14	48,99
	17,75	35,15
	0,07	53,66
%Të dëmtuara	35,30	55,10
	35,30	55,70
	33,78	60,30
	1,00	3,81
	0,75	7,66
	0,36	0,70
	0,00	3,30
	3,70	1,70
	1,30	1,80
	0,80	0,90

Kontrollet pozitive në pllaka agar për *E.faecalis* dhe *C.albicans*

- ***Enterococcus faecalis*:**

Kontrolle pozitive	1: > 300 CFU
	2: > 300 CFU
	3: > 300 CFU
	4: > 300 CFU
	5: > 300 CFU
	6: > 300 CFU
	7: > 300 CFU
	8: > 300 CFU
	9: > 300 CFU

Koha e aplikimi të lazerit:

Lazer 1 min	1: > 300 CFU
	2: > 300 CFU
	3: > 300 CFU
Lazer 3 min	1: > 300 CFU
	2: > 300 CFU
	3: > 300 CFU
Lazer 5 min	1: 30 CFU
	2: 58 CFU
	3: 13 CFU

Irrigimi me NaOCl v 10X puffer PBS	1: 32 CFU
	2: 45 CFU
	3: 115 CFU

- ***Candida albicans:***

Kontrolle pozitive	1: > 300 CFU
	2: > 300 CFU
	3: > 300 CFU
	4: > 300 CFU
	5: > 300 CFU
	6: > 300 CFU

Koha e aplikimit të lazerit:

Lazer 1 min	1: > 300 CFU
	2: > 300 CFU
Lazer 3 min	1: > 300 CFU
	2: > 300 CFU
Lazer 5 min	1: 0 CFU
	2: 3 CFU

Irrigimi me NaOCl v 10X puffer PBS	1: 2 CFU
	2: 1 CFU

Kontrolle negative:

Pllaka e agarit të gjakut	1: 0 CFU
	2: 0 CFU
	3: 0 CFU
	4: 0 CFU

Rezultatet e fituara me skanim elektronik mikroskopik (SEM) janë paraqitur në Figurat 20 - 23.

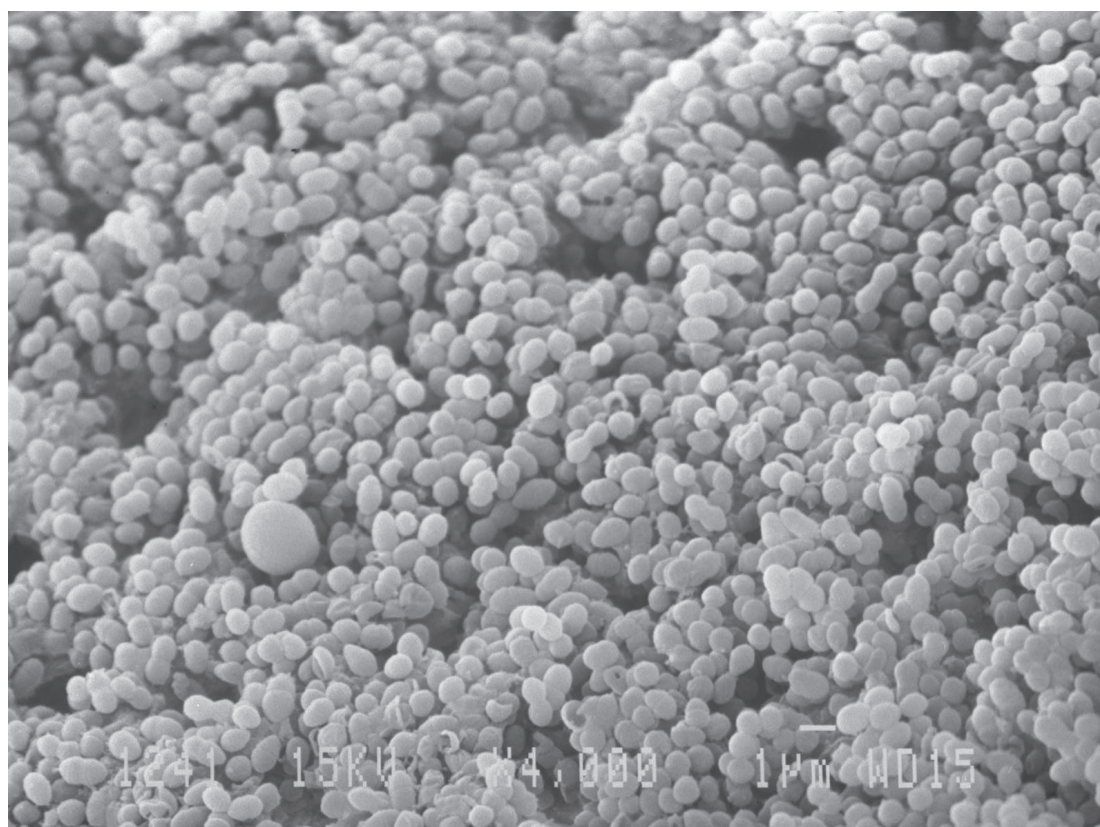


Figura 20: Biofilmi i *E. faecalis* në muret e kanalit të rrënjës së dhëmbit.

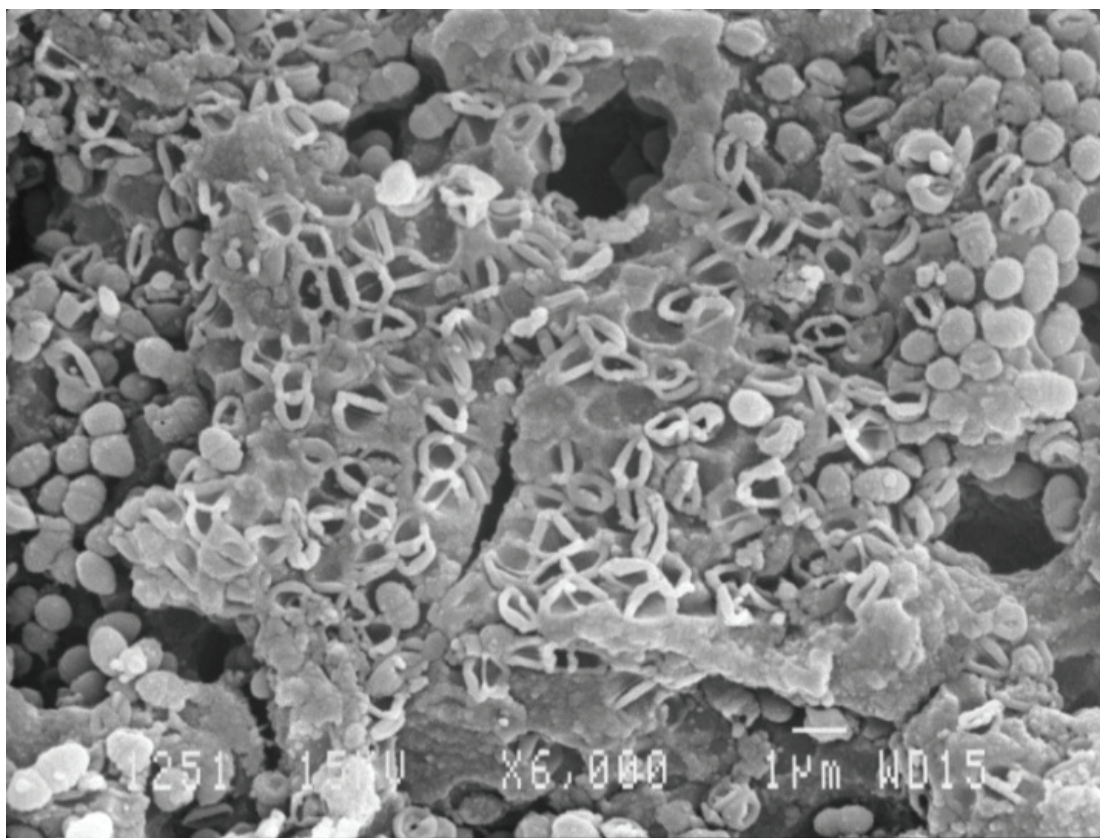


Figura 21: Qelizat e *E. faecalis* të shkatërruara pas irrigimit me NaOCl 2.5%.

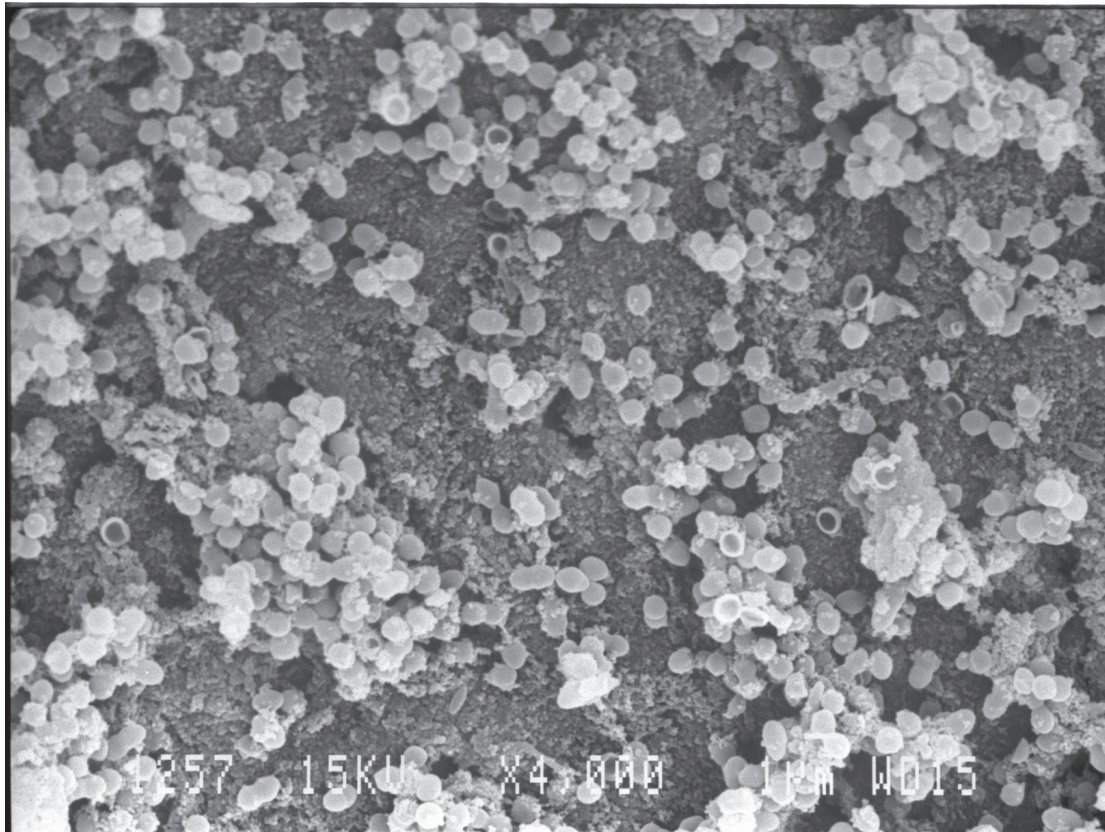


Figura 22. Qelizat e *E. faecalis* të dëmtuara dhe të vdekuara pas aplikimit të TFD në kohëzgjatje 5 minuta.

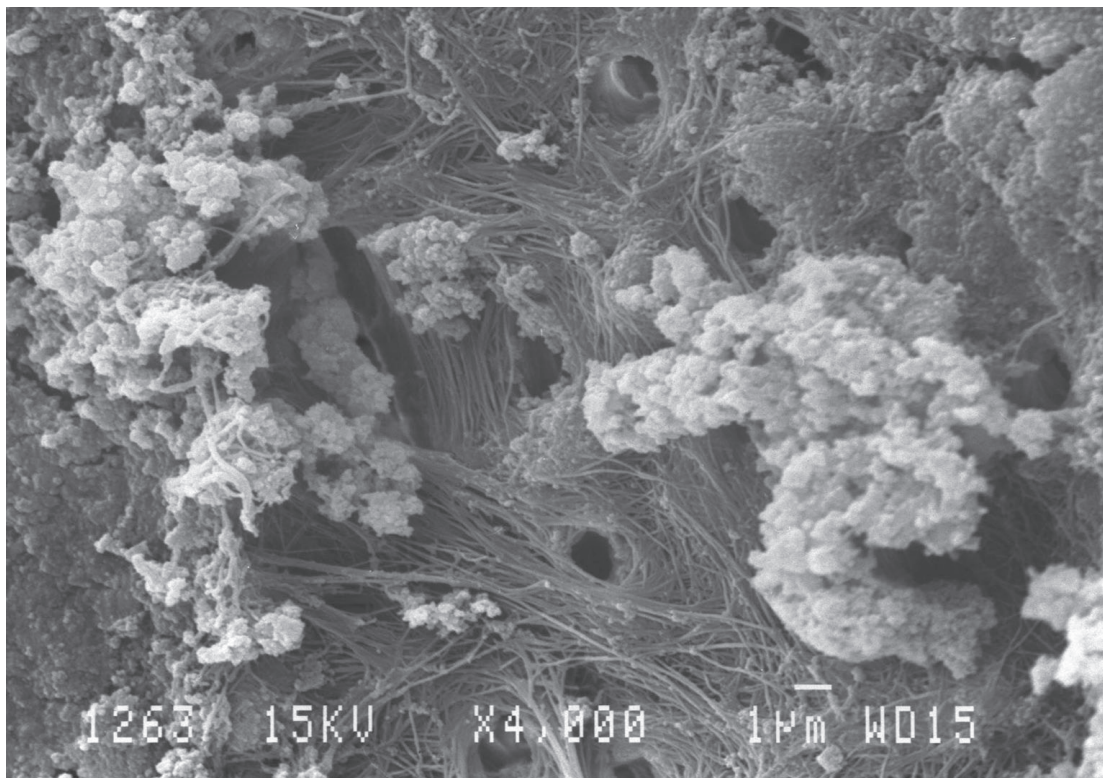
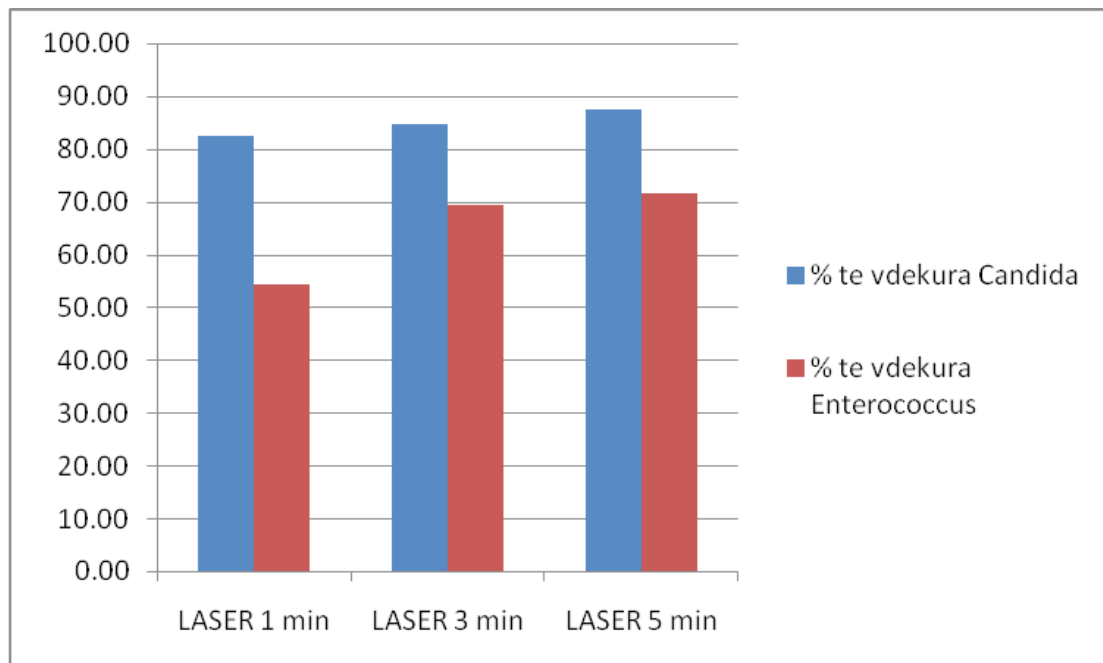


Figura 23. Tubulat dentare të hapura pothuajse fare pa qeliza të *E. faecalis* pas irrigimit me PUI dhe NaOCl 2.5%.

Për analizë statistikore të rezultateve është përdorur ANOVA dy anësore me testin Post-Hoc, programi IBM SPSS Statistics 20 (IBM, USA), ku janë krahasuar përqindjet e qelizave të vdekura të *E.faecalis* dhe *C.albicans* për të gjitha metodat e dezinfektimit të kanalit të infektuar. Përqindja e qelizave të vdekura paraqet variablën e varur ndërsa tipi i mikroorganizmit dhe tipi i metodave të përdorura paraqesin faktorët (variabla e pa varur). Shkalla e sinjifikancës është $p < 0,05$. Me këtë rezultat është vërtetuar dhe me siguri të plotë mund të thuhet se rezultatet tona janë të sakta në 95% të mostrave. Nëse vlera p e analizës statistikore ka qenë më e vogël se 0.05 atëherë e kemi hudhë hipotezën fillestare dhe kemi vërtetuar që variablat janë të mvarura që do të thotë se të disa grupe të veçanta ekziston dallim statistikor sinjifikant në përqindje. Me këtë kemi vërtetuar hipotezën tonë që në mes të metodave të veçanta të trajtimit ka dallim sinjifikant në efikasitetin e tyre antimikrobial.

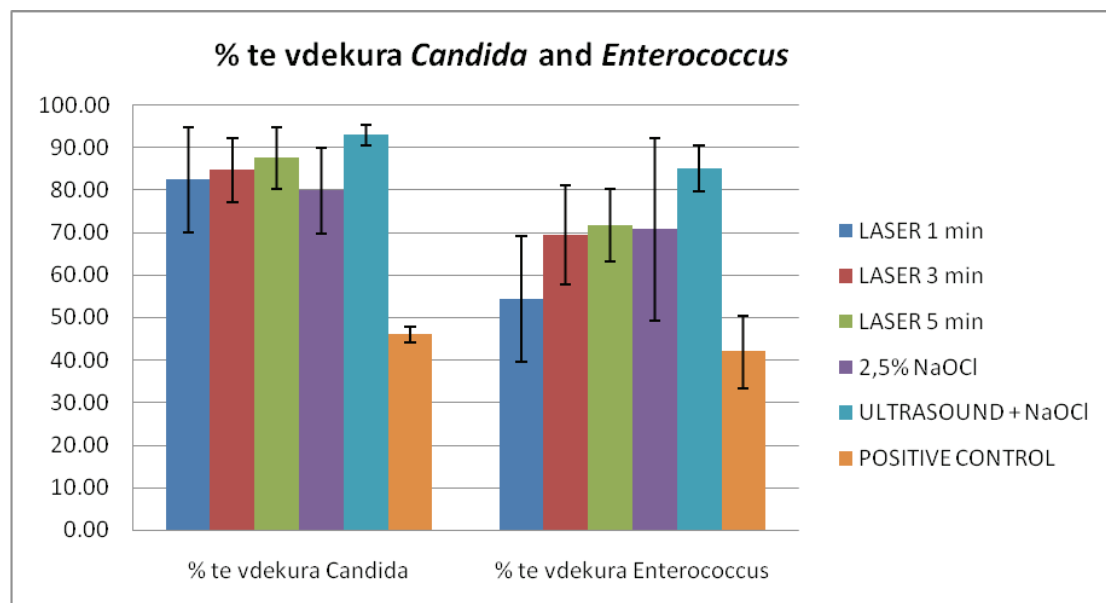
Me testin ANOVA është vërtetuar dallim stastistikor sinjifikant në mes mikroorganizmave ($p < 0,001$; $F=35,632$), në mes metodave të përdorura ($p < 0,001$; $F=29,992$), si dhe në interaksionin në mes metodave dhe mikroorganizave ($p=0,45$; $F=2,389$).



Diagrami 3. Krahasimi i përqindjeve të qelizave të *C.albicans* dhe *E.faecalis* pas aplikimit të TFD në intervale të ndryshme kohore.

Tabela 13. Përqindja e qelizave mikrobiale të vdekura me devijim standard dhe numri i CFU/ml pas trajtimeve të ndryshme me p-vlera të statistikës krahasuese të mikroorganizmave.

Variabla	<i>Enterococcus faecalis</i>		<i>Candida albicans</i>		p-vlerat
	% (qel. të vdekura)	CFU/ml	% (qel. të vdekura)	CFU/ml	
PUI + NaOCl	85,05 ± 5,48	/	92,82 ± 2,40	/	0,150
2,5% NaOCl	70,77 ± 21,45	64	79,78 ± 10,20	2	0,087
Lazer 5 min	71,59 ± 8,56	34	87,55 ± 7,22	2	0,005
Lazer 3 min	69,45 ± 11,63	>300	84,65 ± 7,45	>300	0,007
Lazer 1 min	54,35 ± 14,87	>300	82,36 ± 12,40	>300	<0,001
Kontrolle pozitive	41,94 ± 8,48	>300	45,99 ± 1,94	>300	0,482
Kontrolle negative	0	0	0	0	/



Diagrami 4. Krahasimi i përqindjeve të qelizave të vdekura të *E. faecalis* dhe *C. albicans* pas të gjitha trajtimeve antimikrobiale.

Përqindja mesatare e qelizave të vdekura të *E. faecalis* dhe *C. albicans* në grupin kontrollues pa asnjë lloj trajtimi ka qenë në sinjifikancë të vogël ($p < 0.001$), ndërsa në grupin me trajtim me PUI tregon një sinjifikancë të lartë të përqindjes së qelizave të vdekura në krahasim me grupet tjera ($p < 0.001$). Testi Post - hoc po ashtu tregon dallim

sinjifikant ndërmjet mikroorganizmave në grupe gjatë aplikimit të lazerit në kohëzgjatje prej 1 minuti ($p < 0.001$). Mirëpo nuk është vërtetuar dallim sinjifikant tek irrigimi me NaOCl 2,5% ($p = 0.087$) dhe aplikimit të PUI me NaOCl 2.5% ($p = 0.150$) ndërmjet dy llojeve të mikroorganizmave (Tabela 13, Diagrami 4). Gjithashtu në Tabelën 13 është treguar numri mesatar CFU/ml të qelizave të *E. faecalis* dhe *C. albicans* në pllakat e agarit të gjakut në krahasim me grupin kontrollues, ku shihet pas aplikimit të secilit trajtim është gjetur vlerë e zvogëluar e numrit mesatar CFU/ml të qelizave në pllakat e agarit të gjakut në krahasim me grupin kontrollues. Ashtu siç edhe është pritur, në pllakën e kontrollës pozitive dhe pllakën e rrezatuar me lazer në kohëzgjatje prej 1 minuti numri i qelizave të *E. Faecalis* dhe *C. Albicans* është rritur më shumë se 300 CFU/ml. Vlera prej 34 CFU/ml e fituar pas rrezatimit me lazer në kohëzgjatje prej 5 minuta tregon që aplikimi i lazerit ka ndikim sinjifikant në vdekjen e qelizave të *E. faecalis* në krahasim me irrigimin me NaOCl 2,5%, ku janë numëruar 64 CFU/ml qeliza. Ndërsa për *C. albicans* nuk është treguar ndonjë dallim sinjifikant ndërmjet aplikimit të lazerit në kohëzgjatje prej 5 minuta dhe irrigimit me NaOCl 2,5%.

Tabela 14. Krahasimi i p-vlerave ndërmjet metodave të trajtimit të mikroorganizmave.

p-vlerat	Lazer 1	Lazer 3	Lazer 5	NaOCl 2,5%	PUI +NaOCl 2,5%	K. Pozitive
Lazer 1		0,028	0,005	0,68	<0,001	<0,001
Lazer 3	0,28		0,521	0,643	0,003	<0,001
Lazer 5	0,005	0,521		0,262	0,017	<0,001
NaOCl	0,068	0,643	0,262		<0,001	<0,001
PUI + NaOCl	<0,001	0,003	0,017	<0,001		<0,001
K. Pozitive	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

Nga Tabela 14 shihet se ekziston dallim sinjifikant ndërmjet irrigimit me PUI së bashku me NaOCl 2,5% dhe veprimit të lazerit në kohëzgjatje prej 1 minuti ($p < 0,001$), si dhe ndërmjet irrigimit me PUI së bashku me NaOCl 2,5% dhe irrigimit me NaOCl 2,5% ($p < 0,001$).

Tabela 15. Analiza krahasuese statistikore ndërmjet mikroorganizmave sipas metodës së veçantë të trajtimit.

Metoda	Organizmi		Dallimi	F-vlerat	p-vlerat
Lazer 1	Candida	Enterococcus	28,194*	25,914	<0,001
Lazer 3	Candida	Enterococcus	15,198*	7,530	0,007
Lazer 5	Candida	Enterococcus	15,960*	8,304	0,005
NaOCl	Candida	Enterococcus	9,013	3,004	0,087
PUI + NaOCl	Candida	Enterococcus	7,769	2,108	0,150
K. Pozitive	Candida	Enterococcus	4,044	0,500	0,482

Dallimi më i lartë në përqindje i qelizave të vdekura është 28,194. Metoda e trajtimit me lazer në kohëzgjatje prej 1 minuti është treguar më e dobëta në eliminimin e mikroorganizmave. Dallimi më i vogël në përqindjen e qelizave të vdekura është 7,769 gjatë trajtimit me metodën PUI dhe NaOCl 2.5%, prandaj kjo metodë është treguar më efikase për dezinfektimin e kanalit, dhe se p-vlerat për të dy llojet e mikroorganizmave kanë dallim më të vogël ($p=0.150$), Tabela 15.

Tabela 16. Krahasimi statistikor i metodave antimikrobiale ndaj *C. albicans*.

p-vlerat	Lazer 1	Lazer 3	Lazer 5	NaOCl	PUI + NaOCl 2,5%	K.Pozitive
Lazer 1		0,669	0,334	0,623	0,54	<0,001
Lazer 3	0,669		0,589	0,353	0,131	<0,001
Lazer 5	0,334	0,589		0,139	0,328	<0,001
NaOCl 2,5%	0,623	0,353	0,139		0,014	<0,001
PUI + Na-OCl 2,5%	0,054	0,131	0,328	0,014		<0,001
K.Pozitive	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Nga Tabela 16 shihet qartë se nuk ka dallim sinjifikant ndërmjet të gjitha metodave të trajtimit të *C. albicans*.

Tabela 17: Krahasimi statistikor i metodave antimikrobiale ndaj E. faecalis.

p-vlerat	Lazer 1	Lazer 3	Lazer 5	NaOCl 2,5%	PUI + NaOCl 2,5%	K.Pozitive
Lazer 1		0,009	0,003	0,004	<0,001	<0,001
Lazer 3	0,009		0,003	0,004	<0,001	0,036
Lazer 5	0,003	0,709		0,882	0,017	<0,001
NaOCl 2,5%	0,004	0,812	0,882		0,009	<0,001
PUI + NaOCl 2,5%	<0,001	0,006	0,017	0,009		<0,001
K.Pozi-tive	0,036	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

Nga Tabela 17 shihet se nuk ka ndonjë dallim sinjifikant ndërmjet kohëzgjatjes të veprimit të lazerit të E.faecalis por ka dallim sinjifikant ndërmjet irrigimit me PUI së bashku me NaOCl 2,5% dhe aplikimit të lazerit në kohëzgjatje prej 1 minut dhe 3 minuta.

7. DISKUTIM

Bakteriet dhe produktet e tyre janë një ndër shkaktarët kryesorë të zhvillimit të lezioneve periapikale [134]. Qëllimi kryesor mikrobiologjik i përpunimeve kimiko - mekanike të kanaleve të rrënjës së dhëmbit është që të eliminohen tërësisht qelizat bakteriale intrakanalikulare ose së paku të reduktohet sasia e tyre [136]. Qëllimi i trajtimit endodontik është parandalimi dhe nganjëherë edhe shërimi endodontik i parodontiteve apikale [39]. Bakteriet persistente pas përpunimeve kimiko-mekanike kanë efekt negativ në trajtimet e mëtejshme [101].

Suksesi i terapisë endodontike është rritur në mënyrë të ndjeshme me zhvillimin dhe adaptimin e teknologjive të reja. Megjithatë gabimet më të mëdha vijnë nga pastrimi dhe dezinfektimi jo adekuat i sistemeve të kanalit nga infeksionet bakteriale [43]. Kjo sasi e bakterieve të mbetura shumë lehtë mund të riprodhohet në kanal të dhëmbit ose regjionin periapikal [137].

Mikroorganizmat të cilët u mbijetojnë trajtimeve kimiko-mekanike dhe aplikimit të terapisë medikamentoze në kanale të dhëmbit janë enterokoket, streptokoket, laktobacilet dhe disa kërpudha siç është *Candida albicans* [138].

Hapësirat ku grumbullohen mikroorganizmat dhe të cilat nuk mund të eliminohen me përdorimin e instrumenteve dhe reagjentëve kimikë gjatë përpunimit kimiko -mekanik të kanalit të dhëmbit janë istmusi intrakanalikular, kanalet aksesore si dhe kanalet laterale. Njëra prej bakterieve e cila më së shumti mbijeton gjatë gabimeve endodontike është *E. faecalis* [59], e cila mund të mbijetojë pa ushqim një kohë të gjatë dhe mund të infektojë tërë gjerësinë e tubulave dentinare [139].

E. faecalis është bakterie fakultative anaerobe e cila njëkohësisht është bakteria e vetme e cila më shpesh shkakton infeksione endodontike persistente dhe infeksione periapikale [43]. Sulmon tubulat dentinare [140]. të cilët bakteries i mundësojnë bakteries mbrojtje kundër irrigimit me reagjent të zakonshëm. Kjo ndikon që eliminimi i bakterieve është

shumë i vështirë edhe gjatë studimeve *in vitro* [141,84]. Rezistenca antimikrobiale, aftësia e adaptimit në ndryshime të ambientit si dhe rritja e saj në mure të kanalit të rrënjës si *biofilm* janë faktorët të cilët ndikojnë në mos suksesin e trajtimeve endodontike [142].

Mikroorganizëm tjetër i cili paraqitet shpesh në infeksionet endodontike sekondare është kërpudha *C. Albicans* e cila ka aftësi të formimit të *biofilmit* në sipërfaqe të ndryshme dhe pikërisht kjo karakteristikë i mundëson dallim patogjenik nga llojet e tjera të kandidave. *C. Albicans* paraqet një pjesë të vogël të mikroflorës së gojës e cila më shumë është detektuar në kavitetin oral tek personat e shëndoshë. Incidenca e *C. albicans* tek pacientët e shëndoshë varion prej 30 deri 45% dhe 95% tek pacientët e infektuar me virusin imunodeficitar (HIV). Kolonizimi i dentinës është një hap i rëndësishëm drejt përhapjes së infeksionit të kanalit të rrënjës, dhe se kanali i rrënjës paraqet një ambient me përparësi specifike për mikroorganizma në kërkim të ushqimit si dhe hapësirë e rëndësishme pas trajtimeve endodontike [81].

Sipas Grossman, 1976 endodontët një kohë të gjatë kanë qenë të vetëdijshëm se janë duke përdorur strategji antimikrobiale efikase të cilat mundësojnë eliminimin e kërpudhave nga kanali i rrënjës së infektuar [33].

Një prej problemeve të mundshme në trajtimet endodontike të kanalit të rrënjës është prania e *C. Albicans* e cila duhet të eliminohet në mënyrë që indi periapikal të ruhet në gjendje normale ose së paku që të regjenerohet indi i dëmtuar. Qëllim kryesor i trajtimeve të dhëmbëve me parodontite apikale është reduktimi ose eliminimi i patogjenëve endodontik [35]. Për këtë arsye trajtimi klinik rutinor përbëhet nga largimi mekanik i infeksionit me anë të përdorimit të instrumenteve dhe irrigimi kimik me solucion të NaOCl dhe klorheksidinës [143], acid citrik dhe EDTA [144,145], dhe hidroksid kalciumi si preparat intakanalikular [3,146].

Për përmirësimin e veprimit të metodave konvencionale të irrigimit janë zhvilluar metoda të reja bashkëkohore të irrigimit ku një ndër to është *irrigimi me ultrasonifikim pasiv* –PUI [132], e cila në të vërtetë ka përparuar me aplikimin e ultratingujve tek trajtimet e kanaleve të rrënjës [12,147-150].

E. faecalis si një anaerob fakultativ mund të mbijetojë një kohë të gjatë pa asnjë lloj ushqimi prandaj shumë lehtë depërton në tubulat e dentinës, ku i mundësohet mbrojtje ndaj agjentëve irrigues dhe vështirësi në eliminimin e saj. Terapia fotodinamike së bashku me lazerët me intensitet të ulët janë dëshmuar si mjaft efikasë në dezinfektimin e kanaleve të rrënjës [151].

Në studimin tonë për vlerësim dhe krahasim të efikasitetit antimikrobial kemi zgjedhur tri metoda të dezinfektimit: irrigimi konvencional me NaOCl 2,5%, Ultrasonifikimi pasiv (PUI) në kombinim me NaOCl 2,5% si dhe Terapia fotodinamike. Si shenjues mikrobiologjik kemi zgjedhur *E. faecalis* dhe *C. albicans*.

Hipokloritit i natriumit dhe EDTA janë solucione të cilët zakonisht më së shumti përdoren për irrigimin e kanaleve të infektuara. Meqenëse kanë veti karakteristike të ndryshme dhe role të ndryshme ata përdoren të dy së bashku në formë të perzjerjes. Në përgjithësi NaOCl është irrigant shumë i rëndësishëm dhe irriganti i vetëm i cili ka aftësi të bëjë tretjen e indeve organike, duke përfshirë edhe biofilmin dhe pjesën organike të smear shtresës. Ndërsa EDTA bën me efikasitet bënë zbërthimin e materialit inorganik përfshirë edhe hidroksiapatitet [152–155] kurse ka efikasitet të vogël në zbërthimin e indeve organike, si dhe kur përdoret i vetmuar nuk ka efekt antibakterial.

Në studimin tonë grupi me NaOCl 2,5% tregon se numri i qelizave të vdekura pas irrigimit të kanalit është 70,77% për qelizat e *E. faecalis* dhe 79,78% për qelizat e *C. albicans*. Me analizë statistikore është vërtetuar se nuk ka dallim statistikor sinjifikant ndërmjet të dy llojeve të mikroorganizmave dhe kësaj metode të dezinfektimit, p - vlera është $p=0,087$ (Tabela 13). Rezultatet e fituara gjatë hulumtimit tonë pas aplikimit të NaOCl 2,5% janë të përafërta me rezultatet e fituara nga studimet e Gomes me bashk., 2001; Sena me bashk., 2005; Bulacio me bashk., 2006.; Valera me bashk., 2009; Fidalgo me bashk., 2010 dhe Tirali me bashk., 2012.

Valera me bashk., 2009 studiuat efektin e veprimit të hipokloritit të natriumit me përqëndrim me të vogël (NaOCl 1%) ndaj *Candida albicans* dhe *Enterococcus*

faecalis të inokuluar në kanale të rrënjës. Konkludimet e tyre ishin se irrigimi me NaOCl 1% si dhe trajtimet intrakanalikulare ishin efikase në eliminimin e *E. faecalis* dhe *C. albicans* të inokuluar në kanale të rrënjës. Nuk është vërejtur dallim sinjifikant statistikor ($p>0.05$) në mes të *C. albicans* dhe *E. Faecalis*. Konkludim të njëjtë ka dhënë edhe Fidalgo me bashk., 2010. Gjithashtu edhe Tirali me bashk., 2012 tregoi se efekti i irrigimit konvencional në eliminimin e *E. faecalis* dhe *C. albicans* nga tubulat e dentinës nuk kanë dallim sinjifikant.

Aplikimi i ultratingujve në Endodonti dhe krahasimi i efikasitetit të ultratingujve dhe metodave konvencionale për pastrim të kanalit të rrënjës dhe për të lehtësuar dezinfektimin e kanalit të infektuar është vlerësuar në disa studime të mëparshme [71–74].

Shumica e këtyre studimeve konkluduan se aplikimi i ultratingujve së bashku me një irrigant ndikon në pastrim më të mirë të sistemit kanalikular se sa aplikimi i irrigimit konvencional. Efikasiteti i ultratingujve në eliminimin e bakterieve nga kanali i rrënjës së infektuar është treguar nga disa studime [81–85] megjithatë shumica e këtyre studimeve nuk janë përkrahur nga autorë të tjerë [80].

Grupi me PUI + NaOCl 2,5% tregon se numri i qelizave të vdekura është 85.05% për *E. faecalis* dhe 92.82% për *C. albicans* dhe p - vlera është $p=0.150$ (Tabela 13) pra nuk ka dallim statistikor ndërmjet të dy llojeve të mikroorganizmave. Kjo tregon për efekt të mirë të pastrimit të kanalit të rrënjës nga mikroorganizmat dhe dëshmon që PUI në kombinim me NaOCl 2,5% është metoda më e mirë për dezinfektim të kanaleve të dhëmbit me prani të infeksioneve të përziera.

Përparësia e kësaj metode ndaj metodave klasike endodontike instrumentale dhe veprimet të tretsirave irriguese spjegohet me faktin që disa zona dhe hapësira në kanalet e rrënjës janë të pa arritshme. Me analizë statistikore është gjetur dallim sinjifikant ndërmjet grupeve me PUI + NaOCl 2,5% dhe grupeve tjera testuese, NaOCl 2,5% dhe TFD, për *E. faecalis* dhe *C. albicans*.

Në studimin tonë irrigimi me NaOCl 2,5% dhe irrigimi me PUI + NaOCl 2,5% janë treguar efikas në eliminimin e *E.faecalis* dhe *C.albicans*, ku PUI + NaOCl 2,5% në krahasim me NaOCl 2,5% ka qenë më efikas në eliminimin e *E.faecalis* (85,05%) dhe *C.albicans* (92,82%), pra ka dallim sinjifikant ndërmjet këtyre dy metodave të dezinfektimit ($p < 0,001$) (Tabela 13).

Rezultatet tona janë të ngjashme edhe me hulumtimet e Townsend & James, 2009 sipas të cilëve irrigimi me ultratinguj është më efikas në eliminimin e bakterieve se sa irrigimi me gjilpërë dhe irrigimi EndoVac ($p < 0.05$) dhe Bagos me bashk., 2012 të cilët hulumtuan efektin antimikrobial të diodë lazerit, TFD, irrigimit konvencional me NaOCl 2,5% dhe ultrasonifikimit së bashku me NaOCl 2,5% në kanalin e rrënjës së dhëmbit të infektuar me *Enterococcus faecalis*. Ultrasonifikimi së bashku me NaOCl 2,5% ishin në mënyrë sinjifikante më efikas në reduktimin e CFU-ve, se sa irrigimi konvencional me NaOCl 2,5% ($P < 0.05$).

Bhuva me bashk., 2009 konstatatuan se metoda me ultrasonifikim pasiv me NaOCl 1% dhe irrigimi konvencional tek kanalet e rrënjëve të dhëmbëve të inokuluar me *E. faecalis* rezultuan që të dy metodat e irrigimit ishin efikase në eliminimin e tërësishëm të biofilmit të *E. faecalis* nga kanali i rrënjës së infektuar dhe se nuk ka dallim sinjifikant mes këtyre metodave. Ky konkluzion nuk perputhet me rezultatet tona.

Aplikimi i TFD për inaktivizimin e mikroorganizmave tek infeksionet e kanalit të rrënjës bazohet në konceptin që agjenti (fotosensiteri) i cili aktivizohet nga drita me gjatësi valore të caktuar, dhe në prani të oksigjenit të lirojë oksigjenin atomik dhe radikalet e lira të cilat janë citotoksike për mikroorganizmat [156].

Në studimin tonë është përdorur sistemi me fibra optike për rrezatim të drejtpërdrejtë. Tërë sipërfaqja e kanalit të dhëmbit është shplarë para se të bëhet inokulimi i bakterieve për depërtim më të mirë të mikrobeve, ngjyrës fotosensitizuese ose reagentit irrigues. Apeksi i rrënjës është hapur plotësisht në mënyrë që shplarja të jetë më e mirë dhe që rrezet e lazerit të arrijnë pjesët apikale të dhëmbit. Është përdorur lazeri me diodë (660 nm, 100mW), i cili emeton dritë të kuqe dhe reagenti fotosensiter me ngjyrë të kaltërt i cili e absorbon ngjyrën e kuqe. Rezultatet e studimeve të ndryshme me TFD

tregojnë efekte të ndryshme në dezinfektim, së pari për shkak të përdorimit të llojeve të ndryshme të lazerëve dhe ngjyrave (fotosensiterëve) dhe së dyti për shkak të suksesit të terapisë. Pavarësisht nga kjo terapia asnjëherë nuk ka arritur që të reduktojë qelizat mikrobiale 100% prandaj gjithnjë kanë qenë të mundshme paraqitjet e infeksioneve të përsëritura.

Grupi me TFD me aplikim të lazerit në kohëzgjatje prej 5 minuta tregon se numri i qelizave të vdekura është 71,59% për *E. faecalis* dhe 87,55% për *C. albicans* dhe p- vlera është $p=0.005$, pra ka dallim statistikor ndërmjet të dy llojeve të mikroorganizmave (Tabela 13). Me aplikim të lazerit në kohëzgjatje prej 3 minuta numri i qelizave të vdekura për *E. faecalis* është 69,45% kurse 84,65% për *C. albicans* dhe p- vlera është $p=0.007$, pra ka dallim statistikor ndërmjet të dy llojeve të mikroorganizmave (Tabela 13). Me aplikim të lazerit në kohëzgjatje për 1 minutë numri i qelizave të vdekura për *E. faecalis* është 54,35% kurse 82,36% për *C. albicans* dhe p- vlera është $p<0.001$, pra ka dallim statistikor sinifikant ndërmjet të dy llojeve të mikroorganizmave (Tabela 13).

Krahasimi i rezultateve të fituara nga rrezatimi me TFD në kohëzgjatje prej 5 minuta me kohën prej 1 minute tregohet dallim i vogël statistikor ($p=0.003$) ose nuk ka dallim statistikor në krahasim me kohën prej 3 minuta ($p=0.709$) për *E. faecalis* (Tabela 16). Tek *C. albicans* nuk ka dallim statistikor ndërmjet krahasimit prej 5 minuta rrezatim dhe 1 minuti ($p=0.334$) e as me 3 minuta rrezatim ($p=0.589$). Gjatë krahasimit të kohëzgjatjes së trajtimit të *E. faecalis* me lazer vërehet dallim statistikor sinifikant. Tek trajtimi me lazer në kohëzgjatje prej 1 minuti shihet se nuk ka ndonjë efikasitet të dezinfektimit ndaj qelizave të enterokokut, dhe për këtë arsye duhet kohëzgjatje më e madhe e trajtimit me lazer. Megjithatë nuk ka ndonjë dallim sinifikant ndërmjet kohëzgjatjes 3 dhe 5 minuta rrezatim në trajtim.

Efikasiteti i mirë antimikrobial i TFD është treguar me rezultatet e studimeve të Saukos me bashk., 2006; Garcez me bashk., 2006; Fonseca 2008; Bergmans 2008; Souza me bashk., 2010; Rios me bashk., 2011; Poggio me bashk., 2011 dhe Bago me bashk., 2012.

Saukos me bashk., 2006 hulumtuan efektin e TFD në biofilmin e *E. faecalis* të inokulluar në kanalën e rrënjës së dhëmbit të ekstraktuar. Në biofilm kanë aplikuar Metilen Blue i

cili i është ekspozuar dritës së kuqe për pasojë janë reduktuar 53% *E. faecalis*. Metilen Blue me përqëndrim të njëjtë dhe energji 222 J/cm² kanë reduktuar 97% të *E. faecalis*.

Garcez me bashk., 2006 krahasuan efektin e TFD dhe NaOCl 0,5% në 30 dhëmbë të ekstraktuar, të inokuluar me *E. faecalis*. TFD u tregua më efikase në reduktimin e bakterieve me 99,2% se sa NaOCl 0,5% me reduktim të bakterieve 93.25%.

Gjithashtu edhe Fonseca 2008, hulumtoi efektet e terapisë fotodinamike (TFD) ndaj kolonive të *Enterococcus faecalis* të inokuluar në kanalet e rrënjës së dhëmbëve të ekstraktuar. Pas aplikimit të TFD numri i kolonive CFU/ml të *E. faecalis* është zvogëluar 99,9%.

Sipas Bergmans 2008 trajtimi me TFD dhe lazer i kanaleve të rrënjës së 60 dhëmbëve të infektuar me disa lloje të bakterieve, rezultoi me reduktim të bakteries *E. faecalis* 88,4%.

Souza me bashk., 2010 hulumtuan efektin antibakterial të TFD në kanalin e rrënjës së dhëmbit të kontaminuar me *E. faecalis* duke përdorur Toluidine Blue dhe Metilen Blue në bashkëveprim me NaOCl 2,5%. Konkluduan se nuk ekziston dallim sinjifikant ndërmjet TFD me Toluidine Blue dhe TFD me Metilen Blue.

Rios me bashk., 2011 vlerësuan efektin e veprimit antimikrobial të TFD në kanalin e rrënjës së dhëmbit të inokuluar me *E. faecalis* duke përdorur Toluidine Blue, diode lazerin me $\lambda = 628$ nm dhe NaOCl 6%. Me rezultatet e tyre treguan se në kanalet e rrënjës të trajtuar vetëm me TFD për 30 sekonda mbijetoi 2,9% e *E. faecalis*, kurse në kombinimin TFD me NaOCl 6% përqindja e *E. faecalis* të mbijetuara është zvogëluar në 0.1%.

Poggio me bashk., 2011 testuan in vitro dhe krahasuan efikasitetin e TFD dhe irrigimit konvencional me tretësirë të NaOCl 5,25%. Aplikimi i TFD në kohë më të gjatë së bashku me NaOCl 5% ka treguar efekt antibakterial më të lartë. Bago me bashk., 2012 hulumtoi efektin antimikrobial të diodë lazerit, TFD, irrigimit konvencional me NaOCl 2,5% dhe ultrasonifikimit + NaOCl 2,5% në kanalin e rrënjës së dhëmbit të infektuar me *Enterococcus faecalis*. Reduktimi i bakterieve pas trajtimeve ishte sinjifikant ($P < 0.001$).

Rezultatet e studimeve të Saukos me bashk., 2006; Garcez me bashk., 2006; Fonseca 2008; Bergmans 2008; Souza me bashk., 2010; Rios me bashk., 2011; Poggio me bashk., 2011 dhe Bago me bashk., 2012 janë në përputhje me rezultatet e hulumtimit tonë ku

TFD dhe ultrasonifikimi + NaOCl 2,5% ishin në mënyrë sinjifikante më efikas në reduktimin e CFU-ve, se sa rrezatimi irrigimi me NaOCl 2,5% ($P < 0.05$).

Meire me bashk., 2009 hulumtuan dhe krahasuan veprimin antibakterial të lazerit, TFD dhe NaOCl 2,5% ndaj *E. faecalis* të inokuluar në kanalin e rrënjës të dhëmbëve të ekstraktuar. TFD dhe NaOCl 2,5% në mënyrë sinjifikante kanë reduktuar numrin e qelizave të *E. faecalis* ($p < 0,001$), që do të thotë se NaOCl 2,5% ka qenë më efikas në reduktimin e qelizave bakteriale se sa TFD, konkludim i cili nuk është në pajtim me rezultatet tona.

Tek *E. faecalis* dallime me sinjifikancë të madhe paraqiten me aplikimin e PUI + NaOCl 2,5%, prandaj kjo metodë paraqet metodën më të mirë për dezinfektimin e kanalit të rrënjës tek infeksioni me *Enterococcus* (Tabela 17).

Tek *C. albicans* vetëm grupi me irrigim me NaOCl 2,5% dhe grupi me PUI + NaOCl 2,5% kanë treguar dallim statistikor, $p=0.014$ (Tabela 16). Kjo arsyetohet me faktin që *C. albicans* formon lloj tjetër të biofilmit. Qelizat rriten së bashku edhe jashtë sipërfaqes. Mund të thuhet që *C. albicans* ka treguar ndjeshmëri të njëjtë ndaj të gjitha metodave të aplikuara për dezinfektim, megjithëse *E. faecalis* formon lloj tjetër të biofilmit ku qelizat gjithnjë rriten së bashku por që lokalizohen në vet sipërfaqen.

Rezultatet tona tregojnë epërsi të TFD dhe PUI + NaOCl 2,5% ndaj irrigimit me NaOCl 2,5%, vetëm këto dy metoda kanë arritur të shkatërrojnë qelizat e *E. faecalis* dhe *C. albicans* në kanalin e rrënjës së dhëmbëve të infektuar.

Analiza me SEM e mureve të kanalit tregon rritjen dhe formimin e biofilmit (Fig. 20) po ashtu tregon edhe shpërndarjen e qelizave bakteriale në sipërfaqen e dentinës para dhe pas aplikimit të metodave të veçanta të dezinfektimit (Fig. 21 dhe 22). Në muret e kanalit janë vërejtur ndryshime në krahasim me grupin kontrollues, ku janë dalluar qartë qelizat mikrobiale të pa dëmtuara dhe ato të dëmtuara. Pas aplikimit të trajtimit janë vërejtur ndryshime në morfologji të qelizave, zvoglim i numrit të qelizave, qelizat e dëmtuara dhe hapësira e zbrazët ndërmjet qelizave. Analiza në citometër të lëngët me

kontrolle mikrobiologjike në pllaka agari si dhe analiza me SEM ka dëshmuar që PUI + NaOCl 2,5% është metoda më e suksesshme për dezinfektimin e kanalit të dhëmbit të infektuar me *E.faecalis* dhe *C.albicans*, sepse pas aplikimit të PUI + NaOCl 2,5% nuk mbetet pothuajse asnjë mikrob në muret e kanalit. Mirëpo pavarësisht nga kjo, për shkak të anatomisë së dentinës, pas aplikimit të secilës metodë janë ende të dukshme disa qeliza mikrobiale në vet tubulat e dentinës (Fig. 23).

Rezultatet tona të fituara me SEM janë të përafërta me rezultatet e fituara nga Foschi me bashk., 2007, inokuloi *E.faecalis* në 64 kanale të rrënjës dhe pas tri dite infektimi i kanalit të rrënjës është konfirmuar me anë të mikroskopisë me skanim elektronik (SEM). Metilen Blue është inkubuar për 5 minuta në kanal të rrënjës dhe pastaj është vepruar me lazer. Pas aplikimit të TFD viabiliteti i *E.faecalis* në kanale të rrënjës ishte reduktuar 77,5%.

Fimple me bashk., 2008 hulumtuan in vitro efektin fotodinamik të Metilen Blue (25 µg/ml) në biofilmin e multispecieve siç janë *Actinomyces israelii*, *Fusobacterium nucleatum* subspecies *nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* dhe *Prevotella intermedia*. Para se të aplikohet terapia prezenca e biofilmit në kanalet e rrënjës është shikuar me SEM. Në sistemin kanalikular të rrënjës kanë aplikuar Metilen Blue i cili i është ekspozuar dritës me gjatësi valore 665nm dhe energji prej 30J/cm². Me TFD është arritur që numri i kolonive të reduktohet deri në 80%.

Në studimin tonë viabiliteti i qelizave të *E.faecalis* pas aplikimit të TFD është reduktuar në 71,59%, çka tregon se rezultatet tona janë konfirmuar edhe me SEM.

8. KONKLUSIONE

Në këtë studim është vërtetuar efekti antimikrobial i metodave të ndryshme të dezinfektimit të kanalit të infektuar së rrënjës së dhëmbit. Irrigimi me NaOCl 2,5% përdoret më shpesh për trajtimin e infeksioneve kronike të kanaleve të rrënjës së dhëmbit me *E. faecalis* dhe *C. albicans*. Metoda të tjera të cilat gjithashtu përdoren për trajtime antimikrobiale janë PUI dhe terapia fotodinamike. Në bazë të rezultateve të fituara në studimin tonë *ex vivo* vijmë në konkluzion se:

- Rezultate më të mira në dezinfektimin e kanalit të infektuar ka treguar metoda e PUI + NaOCl 2,5% kanë vdekur 92.82% qeliza të *C. albicans* dhe 85.05% qeliza të *E. faecalis*.
- Tek *C. albicans* ndërmjet metodave të trajtimit nuk ka dallime sinjifikante dhe se të gjitha metodat kanë treguar efikasitet të njëjtë të dezinfektimit.
- Tek *E. faecalis* ndërmjet metodave të trajtimit janë gjetur dallime statistikore në efikasitet të dezinfektimit me PUI + NaOCl 2,5%.
- Terapia fotodinamike në kohëzgjatje prej 5 minutash ka qenë më efikase në shkatërrimin e mikroorganizmave.
- Tek infeksionet e përziera PUI + NaOCl 2,5% është metoda e cila përdoret më së shumti dhe është më efikase për dezinfektimin e kanalit, sepse ndërmjet të dy mikrobeve ka dalimin më të vogël.

9. REKOMANDIME

Rezultatet e studimit tonë sygjerojnë rekomandimet e mëposhtme:

1. Për dezinfektimin e kanalit të infektuar të përdoret diode lazeri me $\lambda=665$ nm së bashku me fotosensiterët.
2. Te infeksionet pulpare dhe periapikale irrigimi i kanalit të bëhet me PUI + NaOCl 2,5%.

10. LITERATURA

1. Siqueira JF Jr. Endodontic infections: Concepts, paradigms, and perspectives (2002). *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*; 94(3):281–293.
2. Siqueira JF Jr, Araújo MCP, Garcia PF, Fraga RC, Dantas CJS (1997) Histological evaluation of the effectiveness of five instrumentation techniques for cleaning the apical third of root canals. *J Endod*; 23:499 –502.
3. Byström A, Sundqvist G (1985) The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *International Endodontic Journal* 18, 35–40.
4. Rossi A, Silva LAB, Leonardo MR, Rocha LB, Rossi MA (2005) Effect of rotary or manual instrumentation, with or without a calcium hydroxide 1% chlorhexidine intracanal dressing, on the healing of experimentally induced chronic periapical lesions. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics* 99, 628–36.
5. Peters OA, Laib A, Gohring TN, Barbakow F (2001) Changes in root canal geometry after preparation assessed by high-resolution computed tomography. *Journal of Endodontics* 27, 1–6.
6. Paque F, Balmer M, Attin T, Peters OA (2010) Preparation of oval-shaped root canals in mandibular molars using nickel-titanium rotary instrumentation: a micro-computed tomography study. *Journal of Endodontics* 36, 703–7.
7. Zehnder M (2006) Root canal irrigants. *Journal of Endodontics* 32, 389–98.
8. Paque F, Laib A, Gautschi H, et al. (2009) Hard-tissue debris accumulation analysis by high-resolution computed tomography scans. *Journal of Endodontics* 35, 1044–7.
9. Ahmad M, Pitt Ford TR, Crum LA (1987) Ultrasonic debridement of root canals: an insight into the mechanisms involved. *Journal of Endodontics* 13, 93–101.
10. Ruddle CJ (2008) Endodontic disinfection: tsunami irrigation. *Endodontic Topics* 11, 7–15.
11. Bahcall JK, Miserendino L, Walia H, Belardi DW (1993). Scanning electron microscopic comparison of canal preparation with Nd:YAG laser and hand instrumentation: A preliminary study. *Gen Dent*; 41(1):45–47.
12. Lee MT, Bird PS, Walsh LJ (2004) Photo-activated disinfection of the root canal: a new role for laser in endodontics. *Australian Endodontic Journal* 30, 93–8.
13. Seal GJ, Ng Y-L, Spratt D, Bhatti M, Gulabivala K. An *in vitro* comparison of the bactericidal efficacy of lethal photosensitization or sodium hypochlorite irriga-

- tion on *Streptococcus intermedius* biofilms in root canals. *Int Endod J* 2002;35:268-74.
14. Ackroyd, R., Kelty, C., Brown, N. & Reed, M. (2001). The History of Photodetection and Photodynamic Therapy. *Photochem Photobiol* 74, 656-669.
 15. Daniell, M. D. & Hill, J. S. (1991). A History of Photodynamic Therapy. *Aust N Z J Surg* 61, 340-348.
 16. Dolmans, D. E., Fukumura, D. & Jain, R. K. (2003). Photodynamic Therapy for Cancer. *Nat Rev Cancer* 3, 380-387.
 17. Mitton, D. & Ackroyd, R. (2008). A Brief Overview of Photodynamic Therapy in Europe. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 5, 103-111.
 18. Pervaiz, S. & Olivo, M. (2006). Art and Science of Photodynamic Therapy. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 33, 551-556.
 19. Silfvast, W. T. & Robert, A. M. (2001). Lasers. In *Encyclopedia of Physical Science and Technology*, pp. 267-281. New York: Academic Press.
 20. Berkiten M, Okar I, Berkiten R. *In vitro* study of the penetration of *Streptococcus sanguis* and *Prevotella intermedia* strains into human dentinal tubules. *J Endod* 2000;26:236-239.
 21. Piccolomini R, D'Arcangelo C, D'Ercole S, Catamo G, Schiaffino G, De Fazio P. Bacteriologic evaluation of the effect of Nd:YAG laser irradiation in experimental infected root canals. *J Endod* 2002;28:276-278.
 22. Bergmans L, Moisiadis P, Teughels W, Van Meerbeek B, Quirynen M, Lambrechts P. (2006) Bactericidal effect of Nd: YAG laser irradiation on some endodontic pathogens ex vivo. *Int Endod J*; 39: 547-57.
 23. Meire MA, De Prijck K, Coenye T, Nelis HJ, De Moor RJG (2009) Effectiveness of different laser systems to kill *Enterococcus faecalis* in aqueous suspension and in a n infected tooth model. *International Endodontic Journal* 42, 351-9.
 24. Garcez AS, Ribeiro MS, Tegos GP, Nunez SC, Jorge AO, Hamblin MR. (2007). Antimicrobial photodynamic Therapy Combined With Conventional Endodontic Treatment to Eliminate Root Canal Biofilm Infection. *Lasers Surg Med.* 39(1): 59-66.
 25. Wainwright, M. (2000). Methylene Blue Derivatives -- Suitable Photoantimicrobials for Blood Product Disinfection? *Int J Antimicrob Agents* 16, 381-394.
 26. Maisch, T. (2007). Anti-Microbial Photodynamic Therapy: Useful in the Future? *Lasers Med Sci* 22, 83-91.
 27. Hamblin, M. R. & Hasan, T. (2004). Photodynamic Therapy: A New Antimicrobial Approach to Infectious Disease? *Photochemical & Photobiological Sciences* 3, 436-450.

28. Wainwright, M. (1998). Photodynamic Antimicrobial Chemotherapy (Pact). *J Antimicrob Chemother* **42**, 13-28.
29. Demidova TN, Gad F, Zahra T, Francis KP, Hamblin MR. Monitoring photodynamic therapy of localized infections by bioluminescence imaging of genetically engineered bacteria. *J Photochem Photobiol B*. 2005; 81:15–25.
30. Lambrechts SA, Demidova TN, Aalders MC, Hasan T, Hamblin MR. Photodynamic therapy for *Staphylococcus aureus* infected burn wounds in mice. *Photochem Photobiol Sci*. 2005; 4(7):503–509.
31. Schaefer J. (2002) Principles and practice of Endodontics. 3rd Edition. New York, Saunders, 1:1-188.
32. Ingle J. (1985) Endodontics. 3rd ed. Philadelphia: Lea & Febiger.
33. Grossman LI. (1967) Evaluation of antifungal agents for endodontic use. *J Dent Res*, 46:215-7.
34. Miller WD (1984). An introduction to the study of the bacterio –pathology of the dental pulp. *Dent Cosmos*, 36:505-28.
35. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ (1965) The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 20:340–9.
36. Gomes BP, Lilley JD, Drucker DB. Variations in the susceptibilities of components of the endodontic microflora to biomechanical procedures. *Int Endod J*. 1996; 29(4):235–241.
37. Drucker DB, Lilley JD, Tucker D, Gibbs AC. The endodontic microflora revisited. *Microbios*. 1992; 71(288–289):225–234.
38. Demidova TN, Gad F, Zahra T, Francis KP, Hamblin MR. Monitoring photodynamic therapy of localized infections by bioluminescence imaging of genetically engineered bacteria. *J Photochem Photobiol B*. 2005; 81:15–25.
39. 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.
40. Garc  z, S.A., Núñez, S.C., Lage-Marques, J.L., Jorge, A.O., and Ribeiro, M.S. (2006). Efficiency of NaOCl and laser-assisted photosensitization on the reduction of *Enterococcus faecalis* *in vitro*. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 102, 93–98.
41. Foschi F, Fontana CR, Ruggiero K, et al. (2007) Photodynamic inactivation of *Enterococcus faecalis* in dental root canals *in vitro*. *Lasers in Surgery and Medicine* 39, 782–7.
42. Fimple, J. L., Fontana, C. R., Foschi, F. & other authors (2008). Photodynamic

- Treatment of Endodontic Polymicrobial Infection in Vitro. *J Endod* **34**, 728-734.
43. Fonesca MB, Tessare PO Jr, Pallota RC, et al. (2008) Photodynamic therapy for root canals infected with *Enterococcus faecalis*. *Photomedicine and Lasers Surgery* 26, 209–13.
 44. Bergmans L, Moisiadis P, Huybrechts B, Van Meerbeek B, Quirynen M, Lambrechts P. (2008) Effect of photo-activated disinfection on endodontic pathogens ex vivo. *Int Endod J*: 41: 227–239.
 45. Meire MA, De Prijck K, Coenye T, Nelis HJ, De Moor RJG (2009) Effectiveness of different laser systems to kill *Enterococcus faecalis* in aqueous suspension and in a infected tooth model. *International Endodontic Journal* 42, 351–9.
 46. Souza CL, Brito RRP, Oliveira CJ, Alves RF, Moreira LJ, Sampaio-Filho R, Rôças I, Siqueira Jr. (2010) Photodynamic Therapy with Two Different Photosensitizers as a Supplement to Instrumentation/Irrigation Procedures in Promoting Intracanal Reduction of *Enterococcus faecalis*. *Journal of Endodontics*, vol. 36, no. 2, pp. 292-296.
 47. Rios A, He J, Glickman GN, Spears R, Schneiderman ED, Honeyman AL (2011) Evaluation of photodynamic therapy using a light-emitting diode lamp against *Enterococcus faecalis* in extracted human teeth. *Journal of Endodontics* 37, 856–9.
 48. Poggio C, Arciola RC, Dagna A, Florindi F, Chiesa F, Saino E, Imbriani M, Visai L (2011) Photoactivated disinfection (PAD) in endodontics: an *in vitro* microbiological evaluation. *Int J Artif Organs* 2011; 34 (9): 889-897.
 49. Bago I, Plečko V, Gabric' Panduric' D, Schauperl Z, Baraba A, Anic' I. (2012) Antimicrobial efficacy of a high-power diode laser, photo-activated disinfection, conventional and sonic activated irrigation during root canal treatment. *International Endodontic Journal*.
 50. Estrela C. *Endodontic science*; second edition, vol. 2; 2009.
 51. Moore WE, Moore LV. (1994) The bacteria of periodontal diseases. *Periodontol* 2000; 5: 66–77.
 52. Munson MA, Pitt Ford T, Chong B, Weightman A, Wade WG. (2002) „Molecular and cultural analysis of the microflora associated with endodontic infections“ *J Dent Res* 81(77):761-6.
 53. Dewhirst FE, Aas Ja, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I. (2005) «Defining the normal bacterial flora of the oral cavity» *J Clin Microbiol.* 43(11):5721-32.
 54. Sundqvist G (1994) „Taxonomy, ecology and pathogenicity of the root canal flora”. *Oral Surg Oral Med Oral Path.* 78:522-530.
 55. Grenier D, Mayrand D. (1986) „Nutritional relationships between oral bacteria”. *Infect Immun.* 53:616-620.

56. Sundqvist G(1992)” Ecology of the root canal flora.J Endodont 1992;18:427-30.
57. Van Winkelhoff AJ,Kipuuw NDE,Graaf J. (1987) Cross inhibition between black-pigmented *Bacteroides* species J Dent Res,66:1663-7.
58. Molander A, Reit C, Dahle’n G, Kvist T. (1998) Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. Int Endod J;31: 1-7.
59. Sundqvist G,Fidgor D, Persson S,Sjogren UT. (1998) Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment.Oral Surg Oral Med Oral Ptolol; 85; 86-93.
60. Dahlen G.Moller AJR.(1991) Microbiology of endodontic infections ;Contemporary Oral Microbiology and immunology.Slats J.Taubman MA St.Luis; Mosby Year Book Inc,p.444.
61. 61.Gilmore,M.S.(2002)«TheEnterococci:Pathogenesis.MolecularBiology,and Antibiotic Resistance.;American Society for Microbiology.
62. Koch S,Hufnagel M,Huebner J(2004)«Treatment and prevention of enterococcal infections –alternative and experimental approaches.« Expert Opin Biol Ther 4(9):1519-31.
63. Nakajo K,Komori R,Ishikawa S,Ueno T,Suzuki Y,Iwami Y, Takahashi N (2006)«Resistance to acidic and alkaline environments in the endodontic pathogen *Enterococcus faecalis*«Oral Microbiol Immunol 21(5):283-8.
64. Hartke A,Giard J.C. Laplace M ,Auffray Y(1998)«Survival of *Enterococcus faecalis* in an oligotrophic microcosm:changes in morphology,development of general stress resistance,and analysis of protein synthesis.«Appl Environ Microbiol 64(11):4238-45.
65. 65.RuoffK, L de la Mnza L,Murtagh M.J. Spargo J.D. and Ferraro M.J.(1990),«Species identities of enterococcus isolated from clinical specimens.«J Clin Microbiol 28(3):435-7.
66. Sedgley C.M.,Lennan S.L.,and Clewel D.B. (2004).”Prevalence ,phenotype and genotype of oral enterococci.”Oral Microbiology Immunol 19(2):95-101.
67. Portenier I,Walltimo T,Haapasalo M.(2003).“*Enterococcus faecalis* –the root canal survivor and star in post –treatment disease.”Endodontic Topics 6:135-159.
68. Zehnder M, and Guggenheim B(2009).”The mysterious apperance of enterococci in filled root canals.”Int Endodontic J 42(4):277-87.
69. Lucas VS.Association of psychotropic drugs prevalence of denture-related stomatitis and oral candidosis.Community Dent Oral Epidemiol 1993;21;313-6.
70. Arendorf TM.Wallker DM.The prevalence and intra-oral distribution of *Candida Albicans* in man Arch Oral Biol 1980 25;1-10.
71. Dupont B,Graybill JR ,Armstrong D,Laroche R,Touze JE ,Wheat LJ. (1992)

- Fungal infections in AIDS patients. *J Med Vet Mycol*, 30(Suppl 1);19-28.
72. 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;20:340-349.
 73. Sundqvist G. (1966) Bacteriological studies of necrotic dental pulps. Dr. Odont. Thesis. Umea, Sweden.
 74. Fabricius L, Dahlen G, Ohman AE, Moller AJR. (1982) Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canal after varied times of closure. *Scan J Dent Res*, 90:134-44.
 75. Nair PNR. (1987) Light and electron microscopic studies on root canal flora and periapical lesions. *J Endod*: 13: 29–39.
 76. Siquera J.F.JR, Rocas I.N, Souto R, De Uzeda M, Colombo A.P. (2002) Actinomyces species, streptococci and Enterococcus faecalis in primary root canal infections. *J Endodont* 28(3):168-72.
 77. Moller AJR, Fabricius L, Dahlen G, Ohman AE, Heyden G (1981) Influence on periradicular tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scandinavian Journal of Dental Research* 89, 475–84.): 1-380.
 78. Debelian GJ, Olsen I, Tronstad L. (1997) Observation of *Saccharomyces cerevisiae* in blood of patient undergoing root canal treatment. *Int Endod J* 30;313-7.
 79. Sen BH, Piskin B, Demirci T. (1995) Observation of bacteria and fungi in infected root canals and dentinal tubules by SEM. *Endod Dent Traumatol*, 11;6-9.
 80. Baumgartner JC, Watts CM, Xia T. Occurrence of *Candida albicans* in infections of endodontic origin. 2000 *J Endodont* 26;695-8.
 81. Siquera JF, Rocas IN (2004). Polymerase chain reaction- based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med* 2004, 97 (1):85-94.
 82. Rocas, I. N., J.F. Siqueira, Jr. And K.R. Santos (2004). “ Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases.” *J Endod* 30 (5):315-20.
 83. Lin LM, Skribner JE, Gaengler P. Factors associated with endodontic treatment failures. *J Endod* 1992;18:625–7.
 84. Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, Sousa EL, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. (2003) Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Int Endod J*: 36: 1–11.
 85. Waltimo TM, Sire'n EK, Torkko HL, Olsen I, Haapasalo MP. (1997) Fungi in therapy-resistant apical periodontitis. *Int Endod J*, 30:96-101.

86. Peciuliene V., A.H. Reynaud, I.Balciuniene and M. Haapasalo(2001) , ‘ Isolation of yeasts and enteric bacteria in root –filled teeth with chronic apical periodontitis.’ Int Endod J 34(6):593-5.
87. Hancock, H.H., Sigurdsson, A., Trope, M., and Moiseiwitsch, J. (2001). Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. 91, 579–586.
88. Estrela C, Estrela RA, Decurcio DA, Hollanda CB, Silva JA. (2007) Antimicrobial efficacy of ozonated water, gaseous ozone, sodium hypochlorite and chlorhexidine in infected human root canals. International Endodontic Journal, 40: 85-93.
89. Estrela C, Bammann LL, Pimenta FC, Pecora JD. (2001) Control of microorganisms by calcium hydroxide pastes. Int Endod J ;34:341-345.
90. Estrela C, Sydney GB, Figueiredo JAP, Estrela CRdeA. A model system to study antimicrobial strategies in endodontic biofilms. J Appl Oral Sci 2009;17:87–91.
91. Martinho FC, Gomes BPFA (2008). Quantification of endotoxins and cultivable bacteria in root canal infection before and after chemomechanical preparation with 2.5% sodium hypochlorite. J Endod ;34:268–72.
92. Vianna ME, Gomes BP, Berber VB, et al. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2004;97:79–84.
93. Vianna ME, Horz HP, Gomez BPFA, Conrads G. (2006) In vivo evaluation of microbial reduction after chemo-mechanical preparation of human root canals containing necrotic pulp tissue. Int Endod J ; 39:484-92.
94. Giardino L, Ambu E, Savoldi E, Rimondini R, Cassanelli C, Debbia EA. (2007) Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of sodium hypochlorite, MTAD and Tetraclean against *Enterococcus faecalis* biofilm. J Endod; 3:852-5.
95. Walker A.(1936) Definite and dependable therapy for pulpless teeth. J Am Dent Assoc ; 23:1418–24.
96. Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ. Biofilm formation in medicated root canals. J Endod. 2002; 28(10):689–693.
97. Gomes BPFA, Ferraz CCR, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho. (2001) In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. International Endodontic Journal, 34: 424–428.
98. Sena NT, Gomes BPFA, Vianna ME, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CCR, Souza-Filho FJ (2005). In vitro antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against selected single-species biofilms. International Endodontic Journal, 39, 878–885.
99. Bulacio. M.A., Cangemi R., Cecilia M., Raiden G. (2006) in vitro antibacterial

- effect of different irrigating solutions on enterococcus faecalis. Acta Odontol. Latinoam. 19 ; 2, 75-80.
100. Valera M.C; Godinho da Silva K.C; Maekawa L.E.; Carvalho C.A.T; Koga-Ito C.Y.; Carlos Henrique Ribeiro Camargo C.H.R; Lima R.S. (2009); Antimicrobial activity of sodium hypochlorite associated with intracanal medication for candida albicans and Enterococcus faecalis inoculated in root canals.J.Appl.Oral Sci vol 17.
 101. Brito PR, Souza LC, Machado de Oliveira JC, et al.(2009) Comparison of the effectiveness of three irrigation techniques in reducing intracanal Enterococcus faecalis populations: An in vitro study. J Endod;35:1422–7.
 102. Soares JA, Carvalho MAR, Santos SMC, et al. (2010) Effectiveness of Chemomechanical Preparation with Alternating Use of Sodium Hypochlorite and EDTA in Eliminating Intracanal Enterococcus faecalis Biofilm. JOE; 36, 5.
 103. Fidalgo TKS, Barcelos R, Barbosa Portela M, de Araujo Soares RM, Gleiser R, Silva-Filho FC. (2010) Inhibitory activity of root canal irrigants against *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*. Braz Oral Res.; 24(4):406-12.
 104. Tirali RE, Bodur H,Ece G (2012) In vitro antimicrobial activity of Sodium hypochlorite, Chlorhexidine gluconate and Octenidine Dihydrochloride in elimination of microorganisms within dentinal tubules of primary and permanent teeth. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 17 (3):517- 22.
 105. Ricucci D, Bergenholtz G (2003) Bacterial status in root-filled teeth exposed to the oral environment by loss of restoration and fracture or caries – a histobacteriological study of treated cases. International Endodontic Journal 36, 787–97.
 106. Wu MK, van der Sluis LWM, Wesselink PR (2003) The capability of two hand instrumentation techniques to remove the inner layer of dentine in oval canals. International Endodontic Journal 36, 218–24.
 107. Haapasalo M, Endal U, Zandi H, Coil JM (2005) Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. Endodontic Topics 10, 77–102.
 108. Rosenfeld EF, James GA, Burch BS (1978) Vital pulp tissue response to sodium hypochlorite. Journal of Endodontics 4, 140–6.
 109. Chow TW (1983) Mechanical effectiveness of root canal irrigation. Journal of Endodontics 11, 475–9.
 110. Moorer WR, Wesselink PR (1982) Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite. International Endodontic Journal 15, 187–96.
 111. Richman MJ (1957) The use of ultrasonics in root canal therapy and root resection. Journal of Medicine 12, 12–8.
 112. Walmsley AD (1987) Ultrasound and root canal treatment: the need for scientific

- evaluation. *International Endodontic Journal* 20, 105–11.
113. Walmsley AD, Williams AR (1989) Effects of constraint on the oscillatory pattern of endosonic files. *Journal of Endodontics* 15, 189–94.
114. Stock CJR (1991) Current status of the use of ultrasound in endodontics. *International Dental Journal* 41, 175–82.
115. Lumley PJ, Walmsley AD, Walton RE, Rippin JW (1992) Effect of precurving endosonic files on the amount of debris and smear layer remaining in curved root canals. *Journal of Endodontics* 18, 616–9.
116. Weller RN, Brady JM, Bernier WE (1980) Efficacy of ultrasonic cleaning. *Journal of Endodontics* 6, 740–3.
117. Ahmad M, Pitt Ford TR, Crum LA (1987a) Ultrasonic debridement of root canals: acoustic streaming and its possible role. *Journal of Endodontics* 14, 490–9.
118. Peters OA (2004) Current challenges and concepts in the preparation of root canal systems: a review. *Journal of Endodontics* 30, 559–67.
119. Wu MK, Dummer PM, Wesselink PR. Consequences of and strategies to deal with residual post-treatment root canal infection. *Int Endod J* 2006;39:343–356.
120. Ahmad M, Pitt Ford TR, Crum LA, Walton AJ (1988) Ultrasonic debridement of root canals: acoustic cavitation and its relevance. *Journal of Endodontics* 14, 486–93.
121. Lumley PJ, Walmsley AD, Laird WRE (1991) Streaming patterns produced around endosonic files. *International Endodontic Journal* 24, 290–7.
122. Roy RA, Ahmad M, Crum LA (1994) Physical mechanisms governing the hydrodynamic response of an oscillating ultrasonic file. *International Endodontic Journal* 27, 197–207.
123. Krell KV, Johnson RJ, Madison S (1988) Irrigation patterns during ultrasonic canal instrumentation. Part I: K-type files. *Journal of Endodontics* 14, 65–8.
124. Ahmad M, Roy RA, Kamarudin AG (1992) Observations of acoustic streaming fields around an oscillating ultrasonic file. *Endodontics Dental Traumatology* 8, 189–94.
125. Cameron JA (1987b) The synergistic relationship between ultrasound and sodium hypochlorite: a scanning electron microscope evaluation. *Journal of Endodontics* 13, 541–5.
126. Metzler R, Montgomery S (1989) The effectiveness of ultrasonics and calcium hydroxide for the debridement of human mandibular molars. *Journal of Endodontics* 15, 373–8.
127. Cheung GSP, Stock CJR (1993) In vitro cleaning ability of root canal irrigant with

- and without endosonics. *International Endodontic Journal* 26, 334–43.
128. Heard F, Walton RE (1997) Scanning electron microscope study comparing four root canal preparation techniques in small curved canals. *International Endodontic Journal* 30, 323–31.
129. Huque J, Kota K, Yamaga M, Iwaku M, Hoshino E (1998) Bacterial eradication from root dentine by ultrasonic irrigation with sodium hypochlorite. *International Endodontic Journal* 31, 242–50.
130. van der Sluis LWM, Gambarini G, Wu MK, Wesselink PR (2006) The influence of volume, type of irrigant and flushing method on removing artificially placed dentine debris from the apical root canal during passive ultrasonic irrigation. *International Endodontic Journal* 39, 472–7.
131. Ebtissam M. Al-Madi (2008) The effect of different temperature and concentration of sodium hypochlorite on the elimination of *E. Faecalis* using rotary instrumentation and intermittent passive ultrasonic irrigation. *Saudi Dental Journal*; 20, 3.
132. Bhuva B, Patel S, Wilson R, Niazi S, Beighton D, Mannocci F, (2010) The effectiveness of passive ultrasonic irrigation on intraradicular *Enterococcus faecalis* biofilms in extracted single-rooted human teeth. *International Endodontic Journal*, 43, 241–250,.
133. Townsend C, Maki J (2009) An In Vitro Comparison of New Irrigation and Agitation Techniques to Ultrasonic Agitation in Removing Bacteria From a Simulated Root Canal. *JOE*; 35:1040–1043).
134. Gr€undling et al. (2011) Effect of Ultrasonics on *Enterococcus faecalis* Biofilm in a Bovine Tooth Model. *JOE*; 37:1128–1133.
135. Alves FRF, Almeida BM, Neves MAS, Moreno JO, Roˆcas IN, Siqueira JF (2011) Disinfection oval-shaped root canals: effectiveness of different supplementary approaches. *Journal of Endodontics* 37, 496–501.
136. Siqueira JF Jr, Roˆcas IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod* 2008;34:1291–301.
137. Sakamoto M, Siqueira JF Jr, Roˆcas IN, Benno Y (2007). Bacterial reduction and persistence after endodontic treatment procedures. *Oral Microbiol Immunol*: 22: 19–23.
138. Ferrari P. H. P., S. Cai, A. C. Bombana. Effect of endodontic procedures on enterococci, enteric bacteria and yeasts in primary endodontic infections. *Int. Endod. J.*, 38, 2005, 372-380.
139. Facklam RR, Collins MD. Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 731-4.
140. Love RM (2001) *Enterococcus faecalis*-a mechanism for its role in endodontic failure. *International Endodontic Journal* 34, 399–405.
-

141. Haapasalo M, Orstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res.* 1987; 66(8):1375–1379.
142. Arias-Moliz TM, Ferrer-Luque CM, Espigares-García M, and Baca P,(2009) Enterococcus faecalis Biofilms Eradication by Root Canal Irrigants. *JOE*; 35, 5.
143. Gomes BP, Souza SF, Ferraz CC et al. (2003) Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against Enterococcus faecalis in bovine root dentine in vitro. *International Endodontic Journal* 36, 267–75.
144. Scelza M, Pierro V, Scelza P, Pereira M (2004) Effect of three different time periods of irrigation with EDTA-T, EDTA, and citric acid on smear layer removal. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics* 98, 499–503.
145. Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-Rodríguez E, Lie'bana-Ureña J, Espigares-García M. (2008) Bactericidal activity of phosphoric acid, citric acid, and EDTA solutions against Enterococcus faecalis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*;106:e84–9.
146. Shuping GB, Orstavik D, Sigurdsson A, et al.(2000) Reduction of intracanal bacteria using nickel-titanium rotary instrumentation and various medications. *J Endod*; 26:751–5.
147. Van der Sluis LW, Wu MK, Wesselink PR (2005). A comparison between a smooth wire and a K-file in removing artificially placed dentine debris from root canals in resin blocks during ultrasonic irrigation. *Int Endod J*;38:593–6.
148. van der Sluis LWM, Gambarini G, Wu MK, Wesselink PR (2006) The influence of volume, type of irrigant and flushing method on removing artificially placed dentine debris from the apical root canal during passive ultrasonic irrigation. *International Endodontic Journal* 39, 472–7.
149. Van der Sluis LW, Wu MK, Wesselink PR (2007). The evaluation of removal of calcium hydroxide paste from an artificial standardized groove in the apical root canal using different irrigation methodologies. *Int Endod J*;40:52–7.
150. Gutarts R, Nusstein J, Reader A, Beck M (2005) In vivo debridement efficacy of ultrasonic irrigation following handrotary instrumentation in human mandibular molars. *Journal of Endodontics* 31, 166–70.
151. Rios A, He J, Glickman GN, Spears R, Schneiderman ED, Honeyman AL (2011) Evaluation of photodynamic therapy using a light-emitting diode lamp against Enterococcus faecalis in extracted human teeth. *Journal of Endodontics* 37, 856–9.
Rios A, He J, Glickman GN, Spears R, Schneiderman ED, Honeyman AL (2011) Evaluation of photodynamic therapy using a light-emitting diode lamp against Enterococcus faecalis in extracted human teeth. *Journal of Endodontics* 37, 856–9.
152. Czonstkowsky M, Wilson EG, Holstein FA (1990). The smear layer in endodontics. *Dent Clin North Am*; 34:13–25.

153. Baumgartner JC, Brown CM, Mader CL, et al (1984). A scanning electron microscopic evaluation of root canal debridement using saline, sodium hypochlorite, and citric acid. *J Endod* ;10:525–31.
154. Baumgartner JC, Mader CL (1987). A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. *J Endod*;13:147–57.
155. Loel DA. Use of acid cleanser in endodontic therapy. *J Am Dent Assoc* 1975;90: 148–51.
156. Raab O (1900). Ueber die Wirkung fluorizierender Stoffe auf Infusorien. *Zeit Biol*: 39: 524–546.