

Sekonder Endodontik Enfeksiyonlarda, *Enterococcus Faecalis*'in Rolü ve Tedavisi

Role and Treatment of the Enterococcus Faecalis'in Secondary Endodontic Infections

Emre BAYRAM¹, İsmail ÖZKOÇAK²

¹Gölbaşı Hasvık Devlet Hastanesi, Diş Kliniği, Ankara

²Ankara Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti AD, Ankara

Geliş Tarihi / Received: 23.12.2011

Kabul Tarihi / Accepted: 30.12.2011

ÖZET

Kök kanal dolgulı dişlerde %29'den %70'e değişen oranda *E. faecalis* görülme sıklığı vardır. Yüksek alkali pH ve tuz konsantrasyonu içeren sert ortamlarda bile hayatta kalabilir. Litik enzimler, cytolisin, agregasyon maddeleri, fenomen, lipoteyik asit gibi *E. faecalis* belirli virulans faktörleri içerir. Uygun bir aseptik teknik kullanma, apikal preparasyon boyutunu artırma, sodyum hipoklorit ve %2'lik klorheksidin irrigasyon solüsyonlarının ilave edilmesi, *E. Faecalis*'i yok etmede en etkili yöntemlerdir. Medikaman ve dolgu patının kullanılması başarısız kök kanal tedavilerinin yenilenmesi sürecinde *E.faecalis*'i tamamen yok etmede önemli rol oynar. Bu çalışma *E. Faecalis*i ve dirençli endodontik enfeksiyonlara neden olan mekanizmasını daha iyi anlamamıza yardım etmektedir.

Anahtar Kelimeler: *E. Faecalis*; yenilenen kanal tedavisi; kök kanal irrigasyonu.

ABSTRACT

E. faecalis has been frequently found in root canal-treated teeth in prevalence values ranging from 29% to 70% of the cases. *E. faecalis* survive very harsh environments including extreme alkaline pH and salt concentrations. *E. faecalis* possesses certain virulence factors including lytic enzymes, cytolysin, aggregation substance, pheromones, and lipoteichoic acid. Currently, use of good aseptic technique, increased apical preparation sizes, and inclusion of sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine irrigants are the most effective methods to eliminate *E. faecalis*. Recent study has helped us better understand *E. faecalis* and the mechanisms that enable it to cause persistent endodontic infections.

Keywords: *E. Faecalis*; retreatment; root canal irrigation.

E. Faecalis ve Endodontik Tedavi

Dirençli veya sekonder enfeksiyonlardaki mikrobiyolojik flora, temelde kök kanalının primer enfeksiyonundan farklıdır. Tedavi edilmeyen dişlerdeki primer enfeksiyonlarda tipik olarak miks enfeksiyon görülür. Florada, Gram negatif anaerobik çomaklar dominanttır, oysa tedavi edilmiş dişlerdeki sekonder enfeksiyonlarda genellikle gram pozitif birkaç bakteri türünü görmek mümkündür (1).

Möller, başarısız olgularda her kanal için 1,6 bakteri türü tespit etmiş ve bunların %51'inin anaerobik bakteri olduğunu belirtmiştir (2). Sudqvist ve ark. ise her kanalda bulunduğu 1,3 bakteri türünden %42' sinin anaerobik bakteri olduğunu tespit etmiştir (3).

Dirençli veya sekonder enfeksiyonlarda en sık görülen bakteri türü *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) dir. *E. faecalis*in daha önce kanal tedavisi uygulanmamış olgularda hiç olmaması veya düşük düzeyde olması, bu bakteri türünün başarısızlıklara neden olan temel bakteri türü olduğunu kanıtlar (3, 4).

Molender ve ark., 100 adet periapikal lezonlu kanal tedavili dişin bakteriyolojik durumunu incelemiş, sonuç olarak fakültatif anaeroblara izole etmiş ve bunların bakterilerin %39'unu oluşturduğunu

bildirmiştir (5). İncelenen dişlerin %46'sında enterokok tespit edilmiştir. Hemen hemen aynı koşullarda Möller, Sundqvist ve ark., Peculieni ve ark., bakteri ile kontamine kanallardan sırasıyla %29, %38, %70 oranında E. faecalis izole etmişlerdir (2, 3, 6). Bu bakterinin çeşitli medikamanlara ve hatta kalsiyum hidroksit patına bile dirençli olduğu gösterilmiştir (5).

E. Faecalisin Özellikleri

E.faecalis, sporsuz form, fermantatif, oksijenin yokluğunda veya varlığında büyüme kabiliyetine sahip fakültatif anaerobik olan gram pozitif D grubu streptokoktur. E.faecalis hücreleri oval, 0.5-1µm çapındadır. Tek başına, çiftler halinde veya küçük zincirler halinde bulunur. Sıklıkla zincir doğrultusunda uzarlar (7). E.faecalis, karbonhidrat, gliserin, laktat, malt, sitrat, arginin, ağımsantin birçok α keto asit içeren değişik enerji kaynaklarını katabolize eder (8). Karbonhidratları asitlere dönüştürürler. Ortamın pH'ını 4,1-4,6'ya kadar düşürebilirler. Enterokoklar, yüksek alkali pH ve tuz konsantrasyonu içeren sert ortamlarda bile hayatta kalabilirler. Safra tuzlarına, deterjana, ağır metallere, etanol, azite ve kurutmaya karşı direnç gösterirler (9). 10°C' den 45°C'ye kadar gelişim gösterebilirler ve 60°C' de 30 dakika canlı kalabilirler (10). İnsan vücudunda oral kavitede, gingival sulkus, gastrointestinal bölge ve vajinal bölgede bulunurlar (11). Kök kanal enfeksiyonlarının ilk fazlarında bulunabilirler (12).

Enterococcus Türlerinin Belirlenmesi

23 Enterococcus türü mannitol, sorboz ve arginin ile etkileşimine göre 5 gruba ayrılır. E. faecalis; E.faecium, E.caseliflavus, E.mundtii ve E.galinarumun bulunduğu grupta yer alır. Birçok konvansiyonel yöntem Enterococ türlerinin belirlenmesi için kullanılmaktadır. Yakın geçmişte Enterococcus türlerinin hızlı ve doğru belirlenebilme yeteneği moleküler teknik ile geliştirilmiştir. DNA-DNA melezleme teknikleri içeren, 16S rRNA genlerinin sırayla dizilmesi, tüm hücre protein analizleri ve yağ asitlerinin gaz-sıvı kromatografisi sınıflandırma amacıyla kullanılmaktadır (11).

E. Faecalis Biofilm Yapısı

Mikroorganizmaların biofilm biçiminde büyümesi, bir adaptasyondur. Mikroorganizmalar, sert bir yüzeye tutunarak normal bir matris içine gömülürler. Biofilm

şeklinde büyüyen bakteriler genetik ve metabolik durumlarını değiştirerek, antimikrobiyal ajanların etkisini ve girişini önlerler. Sonradan kolonize olan organizmalar, elverişsiz çevre ve beslenme koşullarına karşı koruma kazanırlar. Bakteriler biofilm şeklinde büyüdüklerinde plaktonik hücrelere kıyasla 1500 kat daha fazla antibiyotiklere dirençli olurlar. Klinik olarak izole edilen E.faecalislerde bağlanma kapasitelerinde artış ve antimikrobiyallere karşı daha fazla dirençli gözükür. Bunlar biofilm şeklinde büyümenin özellikleridir (13).

Yaşamı Sürdürme ve Virulans Faktörleri

Litik enzimler, cytolsin, agregasyon maddeleri, fenomen, lipoteyik asit gibi E. faecalis belirli virulans faktörleri içerir. E.faecalis, sadece sahip olduğu değişik virulans faktörleriyle sınırlı değildir. Aynı zamanda, virulans özelliklerini türler arasında paylaşabilmekte ayrıca kendisinin hayatta kalabilmesine ve hastalık oluşturabilme yeteneğinin artmasına katkıda bulunmaktadır. Bu faktörlerin, E. faecalisin doğal karakterine rağmen hastalık oluşturmaya katkısı olur (7). E.faecalis, kök kanalı içerisinde yaşamda kalabilme zorunluluğunun üstesinden birkaç yolla gelebilmektedir. E. faecalisin yaygın genetik polimorfizm sergilediği gösterilmiştir. E.faecalis, dentine bağlanmasına yardımcı olan serin proteaz, galatinaz ve kollojen bağlayan proteinlere sahiptir, dentin tübüllerine yaşayabilecek yeterli büyüklüktedir. Uygun beslenme ihtiyacını karşılayana kadar açlıktan ölme periyodunu uzatarak dayanma yeteneğine sahiptir. Mevcut aç olan hücreler, serumu besin kaynağı olarak kullanıp yenilenebilirler. Alveoler kemik ve periodontal ligamentten çıkan serum aynı zamanda E. faecalisin tip 1 kollojene bağlanmasına yardım eder. Kalsiyum hidroksitin 10 günden fazla kanal içerisinde yerleştirildiğinde, dentin kanallarındaki E. faecalislerin direnç geliştirdiği gösterilmiştir. E. faecalis, biofilm formu oluşturabilmekte ve bu durum bakterinin fagositoza, antikorlara ve antimikrobiyallere karşı biofilm oluşturmaya bakterilere nazaran 1000 kat daha fazla yıkıma dirençli olmasını sağlar (4).

Sıklıkla kullanılan kanal medikamanı olan kalsiyum hidroksitin özellikle yüksek pH elde edilmediği zaman E.faecalis yok etmesinin etkisiz olduğu gösterilmektedir. Kalsiyum hidroksit ile kanal içi tedavilerde E. faecalisin hayatta kalabilmesi şu şekilde açıklanmaktadır;

Sekonder Endodontik Enfeksiyonlarda E.Faecalis
E. Faecalis in Secondary Endodontic Infections

- a) E.faecalis, pozitif olarak pH homeostasisi sağlar. Bu durum, stoplazmanın tamponlama kapasitesiyle olduğu gibi aynı zamanda hücre membranına iyonların nüfuz etmesinin bir sonucudur.
- b) E.faecalis, proton pompasına sahiptir. bu pompa, pH homeostasisinin sağlanmasında ek bir yardım sağlamaktadır. Bu durum, internal pH'ı daha düşük hücre içerisine protein pompalanması aracılığıyla gerçekleştirilir.
- c) E.faecalis, pH 11,5' da veya daha yüksek pH'larda yaşamını sürdürmez. Yine de dentinin tamponlama kapasitesinin sonucunda kalsiyum hidroksit kullanma teknikleri ile dentin tübüllerinde pH'ı 11,5 elde etmek nerdeyse imkansızdır (14).

Dentin tozu modeli kullanılan çalışmalarda kalsiyum hidroksit, sodyum hipoklorit, klorheksidin ve iyot potasyum iyodin kullanılan değişik konsantrasyonlardaki kök kanal medikamanları üzerinde dentinin inhibitör etkisi olduğu gösterilmiştir. Dentin matriksi, tip 1 kollojen, hidroksiapatit ve serum içeren dentinin değişik komponentleri, bu medikamanların antibakteriyel etkisindeki değişiminden sorumludur (11).

Aseptomatik periradiküler patolojiye sebep olan E.faecalis, yüksek virulansa sahip bir mikroorganizma değildir. Patojenitesinin sebebi virulansı yüksek bakterilere nazaran antimikrobiyal ajanlara karşı daha dirençli olmasıdır (7, 15).

Başarısız Olmuş Kanal Dolgulu Dişlerin Mikrobiyolojisi

Kanal dolgusu yapılmış ancak başarısız olmuş apikal periodontitisli dişlerin mikrobiyolojisine ilişkin bilgiler sınırlıdır. Bu bilgiler, çoğunluğu aseptomatik olan dişlerin klinik görünümü ve apikal periodontitisin teşhisi ile ilgili nedenlere dayanır. Ayrıca bu olgularda uygulanan yeniden kanal tedavisinde, kök kanal dolgusunu uzaklaştırma ve apikal bölgeye ulaşmak için kloroform gibi kimyasallar ve biyomekanik preperasyon gibi teknik işlemler, alınacak uygun bakteriyolojik örnekleri engeller. Bu problem göz önünde bulundurulduğunda nekrotik ve tedavi edilmemiş dişlerde Fusobacterium ve Prevotella gibi Gram(-) anaerobik türler daha az sıklıkla gözlenirken; kloroform kullanılmadan gerçekleştirilen çalışmalarda streptokok, enterokok, anaerobik streptokok ve

Gram(+) anaerobik çomaklar daha yüksek oranda rapor edilmiştir (9, 16). Siren ve ark., kanal tedavisi yapılmış ve başarısız olmuş dişlerde enterik bakteri varlığının daha çok arttığını tespit etmişlerdir (17).

Sekonder Kök Kanal Enfeksiyonlarda E. faecalis'in Görülme Sıklığı

E.faecalis, oral kavitede normal oşullarda bulunur. E.faecalis, inatçı enfeksiyonlar ve primer endodontik enfeksiyonları içeren değişik periradiküler hastalık formlarıyla ilişkilidir. Primer endodontik enfeksiyon kategorilerinde, E.faecalis'in semptomsuz kronik periradiküler periodontitislerle olan ilişkisi anlamlı bir şekilde akut periradiküler periodontitis ve akut periradiküler apselerden sıklıkla daha fazladır. Primer endodontik enfeksiyonlarda %4-%40 oranında E.faecalis bulunmuştur (7). Periradiküler lezyonlu kök kanal dolgulu dişlerde %24'den %74'e değişen oranda E. faecalis görülme sıklığı vardır. Bazı vakalarda, periodontal lezyonlu kanal dolgulu dişlerde E.faecalis tek organizma olarak bulunmuştur. Bu çalışmaların büyük bir çoğunluğunda kültür tekniklerinin kullanımı gerçekleştirilmektedir. Buna rağmen, Polimeraz Zincir Reaksiyonu(PCR), E.faecalis'in tespiti için günümüzde daha çok kabul gören bir tekniktir. Bu metod, kültür alma metoduna göre daha doğru, hassas ve hızlı sonuçlar verir. Ayrıca, araştırmacıların bakteri tespitinin zor veya imkansız olduğu bazı vakalarda bakteri tespiti sağlamalarına olanak tanır (11).

E. Faecalis'in Başarısızlıktaki Yeri

Kanal dolgusu yapılmış dişlerin apikal bölgesinde mikroorganizmaların hayatta kalması, bilinen en önemli başarısızlık sebebidir. Primer endodontik enfeksiyonlardan farklı olarak, sekonder enfeksiyonlardaki mikroorganizmalar bir veya birkaç bakteri türünden oluşmaktadır. E.faecalis, başarısız kök kanallarında büyük oranda bulunmuştur. Floranın büyük bir komponenti olarak veya kök kanalındaki tek organizma olarak yaşamını sürdürebilmektedir (11). Kök kanal preperasyonundan sonra dirençli enfeksiyonların, kök kanalındaki başarısızlıkların ana etyolojik faktör olduğu düşünülmektedir. Periradiküler lezyonlu kanal dolgulu dişlerin bakteriyel florası, tedavi edilmemiş apikal patolojili dişler ile karşılaştırıldığında büyük farklılık gösterir. Kaufman ve ark. yaptıkları bir araştırmada özel kültür örneklerindeki bakteri türlerinde E. faecalis'in periradiküler periodontitisli

kanal dolgulı dişlerde yaklaşık %37 oranında bulunduğunu, buna karşılık daha hassas olan polimeraz zincir reaksiyonu tekniğinde ise bu oranın %77 olduğunu bulmuşlardır (18).

E.faecalis, rahatlıkla dentin tübüllerini istila edebilmektedir. Kemomekanik enstürmantasyon ve kanal içi medikaman uygulanması sonrasında hayatta kalabilen dentin tübüllerinde içerisideki olası hücreler, doldurulmuş kök kanallarını tekrar enfekte edebilmektedir. Canlı olmayan kök dentininde dentin sıvısının oluşumu açıklanamadığı halde; bu serum benzeri sıvı, alveoler kemik ve periodontal ligamentten köken almaktadır. Bu sıvının dentin tübüllerinde içerideki hücreleri besleyip kuvvetlendirmesi ve hücrelerin periapikal doku hastalıklarına neden olması olasıdır (9).

Kanal İçi Medikamanların E. faecalis Üzerine Etkileri

E.faecalis'in kök kanal sistemi içerisine girişi, tedavi süresinde, tedavi seansları arasında, hatta tedavi bitiminden sonra olmaktadır. Bundan dolayı, tedavi planlamalarında E.faecalis enfeksiyonlarının elimine edilmesinin amaçlanması bütün tedavi safhalarında önemlidir. Kök kanalının apikal kısmının büyük numaralara kadar prepare edilmesi, kanal içi mikroorganizmaların elimine edilmesinde yardımcı olur. %3'lük NaOCl yeterli miktarda ve düzenli olarak yenilenerek uygulanırsa kök kanalındaki E.faecalis'i öldürme yeteneğine sahiptir (19). EDTA'nın düşük antibakteriyel etkisi vardır; ancak EDTA, smear tabakasındaki inorganik parçaları uzaklaştırabilmektedir. Böylece diğer irrigasyon maddelerinin dentin tübüllerinde içerisine girişine olanak sağlanır. %10 sitrik asit eklenmiş %0,1 lik sodyum benziat, E.faecalis'in yok edilme olasılığını arttırır (20). Yeni kanal irrigasyon ajanı olan MTAD'nin E.faecalis'i yok etme özelliği çalışmalarda kanıtlanmıştır. MTAD'nin etkinliği antikoijenaz aktivitesine, düşük pH'ına ve yavaş salınım özelliğine bağlıdır. %1,3'lük NaOCl, enstürmantasyon boyunca irrigasyon solüsyonu olarak kullanıldığında MTAD'nin etkinliği artar (19).

Klorheksidin %2'lik jeli ve sıvı konsantrasyonları kök kanal boşluğu ve dentin tübüllerindeki E.faecalis'in elimine edilmesinde son derece etkilidir. %2'lik klorheksidin solüsyonu, dentin tübüllerinin yüzeysel tabakasından 100µm'luk derinliğe kadar E.faecalis'i dentin tübüllerinde tam anlamıyla 15 gün içerisinde elimine etmektedir (8).

E.faecalis'in elimine edilmesinde irrigasyon solüsyonlarının kombinasyonuna ait çalışmalar mevcuttur. Kalsiyum hidroksitin paramonoklorfeenol ile kombine edilmesi dentin tübüllerinde içerideki E. faecalis'i tamamen elimine ettiği gösterilmiştir. %1-2'lik klorheksidin konsantrasyonunun kalsiyum hidroksit ile kombinasyonu E.faecalis'i tam olarak yok edebilmektedir (16).

Antibiyotikler, kanal dolgusu yapılmış dişlerde gelişen apikal periodontitis gibi kronik enfeksiyonların tedavisinde genellikle kullanılmazlar. Kronik alveoler enfeksiyonlar pulpa boşluğuna kan akımının ulaşmadığı pulpası olmayan dişlerle ilişkilidir. Bir antibiyotik sistematik etkisini takiben kök kanalına ulaşan konsantrasyon son derece azdır ve bakteriyel gelişimi engellemesi de kuşkuludur (21). Enterococcuslar penisilini de içeren antibiyotiklere karşı direnç göstermede bir takım genetik değişikliklere sahiptir (22).

Değişik dolgu patlarının E.faecalis'e karşı antibakteriyel etkinliklerine ait birçok çalışma mevcuttur. Roth 801 (çinkooksit öjenol esaslı dolgu patı), diğer patlarla karşılaştırıldığında E.faecalis'e karşı daha fazla antimikrobiyal etkisi olduğu gösterilmiştir. Epoksi rezin içerikli AH plus kanal dolgu patı ve çinko oksit öjenol içerikli Sultan dolgu patının her ikisinin de E.faecalis'e karşı iyi bir antibakteriyel etkisi olduğu gösterilmiştir. AH plus ve Grossman kanal dolgu patları enfekte dentin tübüllerinde içerideki E.faecalis'i öldürmede etkili bulunmuştur (11).

Sekonder Endodontik Enfeksiyonların Tedavisinde Başarı Oranı

Sudquist ve ark.'na göre negatif kültüre sahip dişlerin yeniden tedavisinde başarı oranı %80'dir. Pozitif bakteriyel örneklerle sahip dişlerin başarı oranı %33'tür. Bütün bakteriler kök kanallarının doldurulması sırasında izole edilmiş ve izole edilen bakteriler arasında en fazla E. faecalis bulunmuştur. Siren ve ark., ilk tedavili dişlerin ve yeniden tedavi edilmiş dişlerin kök kanallarından izole edilen en yaygın bakteri türünün E. faecalis olduğunu bulmuşlardır (8).

Sonuç olarak; kök kanal sistemi, ana kök kanalı, dentin kanalları, aksesuar kanallar, kanal ramifikasyonları, apikal deltalar ve transvers anastomozlar gibi mikroorganizmaların kolayca barınabilecekleri karışık

bir yapıya sahiptir. Ancak, yeterli bir preperasyon, uygun bir irrigasyon solüsyonu, medikaman ve dolgu patınının kullanılması başarısız kök kanal tedavilerinin yenilenmesi sürecinde E.faecalis'i tamamen yok etmede önemli rol oynar. E.faecalis'in kök kanal boşluğuna yeniden girişini önlemek için ilave işlemler yapılmalıdır. Ağız içi, tedaviden önce klorheksidin ile çalkalanmalı, diş ve rubber-dam sodyum hipoklorit ile dezenfekte edilmeli, guta perkalar kanal içerisine yerleştirilmeden önce sodyum hipoklorit ile dezenfekte edilmelidir. Tedavi sırasında ve öncesinde alınan önlemler, E.faecalis'in elimine edilmesine yardımcı olacak ve böylece kanal tedavisi yapılan vakalarda başarı oranı yükselecektir.

KAYNAKLAR

1. Siqueira JF Jr. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. *Int Endod J* 2001;34(1):1-10.
2. Moller AJ. Microbiological examination of root canals and periapical tissues of human teeth. *methodological studies. Odontol Tidskr* 1966;74(5):1-380.
3. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjogren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;85(1):86-93.
4. Siqueira JF, Rocas IN, De Uzeda M, Colombo AP, Santos KR. Comparison of 16S rDNA-based pcr and checkerboard DNA-DNA hybridisation for detection of selected endodontic pathogens. *J Med Microbiol* 2002;51(12):1090-6.
5. Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 1998;31(1):1-7.
6. Peciulienė V, Balciuniene I, Eriksen HM, Haapasalo M. Isolation of enterococcus faecalis in previously root-filled canals in a Lithuanian population. *J Endod* 2000;26(10):593-5.
7. Rocas IN, Siqueira JF Jr, Santos KR. Association of enterococcus faecalis with different forms of periradicular diseases. *J Endod* 2004;30(5):315-20.
8. Lin YH, Mickel AK, Chogle S. Effectiveness of selected materials against enterococcus faecalis: part 3. The antibacterial effect of calcium hydroxide and chlorhexidine on enterococcus faecalis. *J Endod* 2003;29(9):565-6.
9. Love RM. Enterococcus faecalis-a mechanism for its role in endodontic failure. *Int Endod J* 2001;34(5):399-405.
10. Tendolkar PM, Baghdayan AS, Shankar N. Pathogenic enterococci: new developments in the 21st century. *Cell Mol Life Sci* 2003;60(12):2622-36.
11. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. Enterococcus faecalis: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod* 2006;32(2):93-8.
12. Alaçam T (Editor). *Endodonti. 2nci Baskı, Ankara: Barış Yayınları, 2000:313-83.*
13. George S, Kishen A, Song KP. The role of environmental changes on monospecies biofilm formation on root canal wall by enterococcus faecalis. *J Endod* 2005;31(12):867-72.
14. Tanriverdi F, Esener T, Erganis O, Belli S. An in vitro test model for investigation of disinfection of dentinal tubules infected with enterococcus faecalis. *Braz Dent J* 1997;8(2):67-72.
15. Siqueira JF Jr, Rocas IN, Souto R, de Uzeda M, Colombo AP. Actinomyces species, streptococci, and enterococcus faecalis in primary root canal infections. *J Endod* 2002;28(3):168-72.
16. Portenier I, Waltimo T, Orstavik D, Haapasalo M. The susceptibility of starved, stationary phase, and growing cells of enterococcus faecalis to endodontic medicaments. *J Endod* 2005;31(5):380-6.
17. Siren EK, Haapasalo MP, Ranta K, Salmi P, Kerosuo EN. Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. *Int Endod J* 1997;30(2):91-5.
18. Kaufman B, Spangberg L, Barry J, Fouad AF. Enterococcus spp. in endodontically treated teeth with and without periradicular lesions. *J Endod* 2005;31(12):851-6.

19. Estrela C, Estrela CR, Decurcio DA, Hollanda AC, Silva JA. Antimicrobial efficacy of ozonated water, gaseous ozone, sodium hypochlorite and chlorhexidine in infected human root canals. *Int Endod J* 2007;40(2):85-93.
20. Siqueira JF Jr, Machado AG, Silveira RM, Lopes HP, de Uzeda M. Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of enterococcus faecalis from the root canal, in vitro. *Int Endod J* 1997;30(4):279-82.
21. Abbott PV, Hume WR, Pearman JW. Antibiotics and endodontics. *Aust Dent J* 1990;35(1):50-60.
22. Shepard BD, Gilmore MS. Antibiotic-resistant enterococci: the mechanisms and dynamics of drug introduction and resistance. *Microbes Infect* 2002;4(2):215-24