

# Süperoksidge su içeren el antiseptiğinin etkinliğinin araştırılması

## Investigation of the effectiveness of hand antiseptic containing superoxidized water

Elif AYDIN<sup>1</sup> (ID), Emirhan BOZOĞLAN<sup>1</sup> (ID), Sinan DARCAN<sup>2</sup> (ID), Duygu PERÇİN RENDERS<sup>3</sup> (ID)

### ÖZET

**Amaç:** Pandemi ile beraber antiseptik ürün ihtiyacının artması, bilim insanlarını daha etkin yeni formülasyonların geliştirilmesi üzerine çalışmalara yönlendirmiştir. Yeni üretilen antiseptik solüsyonlarının içerik ve etkinlik bakımından standartlara göre değerlendirilmesi önem arz etmektedir. Çalışmamızda süperoksidge su içerikli bir antiseptik ürününün, TSE EN 1500 standardının referans aldığı %60 izopropil alkol formülasyonu ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Çalışmamızda süperoksidge su içerikli bir antiseptik ürününün antimikrobiyal aktivitesi %60 izopropil alkol ile karşılaştırılarak incelenmiştir. Bunun için toplam 20 gönüllü çalışmaya dahil edilmiş olup iki ayrı grup olarak çalışmaya alınmışlardır. Test bakterisi olarak standart *Escherichia coli* (ATCC) suşu kullanılmıştır. Birinci grupta antiseptik solüsyon 30 sn, ikinci grupta ise hem antiseptik solüsyon hem de %60 izopropil alkol kontamine ellere 2 kez 30 ml uygulandıktan sonra numune alınmıştır. Triptik Soy Agar (TSA) besiyerleri 37°C de 18±4 saat süre ile inkübe edildikten sonra koloni sayma yöntemi ile tüm koloniler sayılmıştır.

### ABSTRACT

**Objective:** The increase in the need for antiseptic products with the pandemic has led scientists to work on the development of more effective new formulations. It is important to evaluate the newly produced antiseptic solutions according to the standards in terms of content and effectiveness. In our study, it is aimed to compare an antiseptic product with superoxidized water content according to the 60% isopropyl alcohol formulation referenced by the TSE EN 1500 standard.

**Methods:** In our study, the antimicrobial activity of an antiseptic product with superoxidized water content was investigated by comparing it with 60% isopropyl alcohol. For this purpose, a total of 20 volunteers were included in the study and were separated into two separate groups. Standard *Escherichia coli* ATCC strain was used as test bacteria. In the first group, the sample was taken after applying 30 ml of antiseptic solution to the contaminated hands for 30 seconds, in the second group, both antiseptic solution and 60% isopropyl alcohol were applied twice. After incubation of Triptone Soya Agar (TSA) media at 37°C for 18±4 hours, all colonies were counted using the colony counting method.

<sup>1</sup>Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tavşanlı Sağlık Hizmetleri MYO, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Dezenfeksiyon Sterilizasyon Antisepsi Programı, Tavşanlı, Kütahya

<sup>2</sup>Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gediz Sağlık Hizmetleri MYO, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Tıbbi Dokümantasyon ve Sekreterlik Programı, Gediz, Kütahya

<sup>3</sup>Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD Kütahya



**İletişim / Corresponding Author : Elif AYDIN**

Yeni Mah. Şehit Gaffar Okan Cd. No 2, Tavşanlı, Kütahya - Türkiye

E-posta / E-mail : elif.aydin@ksbu.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 27.05.2022

Kabul Tarihi / Accepted : 08.05.2023

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2023.68335

Aydın E, Bozoğlan E, Darcan S, Perçin Renders D. Süperoksidge su içeren el antiseptiğinin etkinliğinin araştırılması. Türk Hij Den Biyol Derg, 2023; 80(3): 317 - 322

**Bulgular:** İlk kontaminasyona göre %60 izopropil alkol sonrası A ve B grubu gönüllülerde sırasıyla 3.7 ile 3.8, süperoksidize su içerikli antiseptik ürününde ise 3.1 ile 3.4 logaritmik azalma tespit edilmiştir.

**Sonuç:** Süperoksidize su içeren antiseptikle standart izopropil alkole göre kıyaslanabilir logaritmik azalma tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Antiseptik, dezenfektan, dezenfeksiyon, etkinlik, süperoksidize su

**Results:** The logarithmic reduction rates obtained with both antiseptics according to the initial contamination are shown in the table.

**Conclusion:** A comparable logarithmic reduction was detected with the antiseptic containing superoxidized water compared to standard isopropyl alcohol.

**Key Words:** Antiseptic, disinfectant, disinfection, effectiveness, superoxidized water

## GİRİŞ

El hijyeni; mikroorganizmaları ellerden uzaklaştırma ve başkalarına bulaştırılmasının engellenmesine yönelik yapılan, el yıkama, antiseptiklerle el yıkama, antiseptiklerle ellerin ovulması veya cerrahi el antisepsisi için kullanılan genel bir terimdir. Küresel olarak, hastane ilişkili enfeksiyonların (HİE) prevalansı gelişmiş ülkelerde % 4 ile %10 arasında değişmektedir ve gelişmekte olan ülkelerde %20'den fazla olduğu bildirilmiştir (1). Özellikle %20-40'ı sağlık çalışanlarının uygun olmayan el hijyeninden kaynaklı olan hastane enfeksiyonlarının tüm dünyada insidansı ortalama %7-10 civarındadır ve bu enfeksiyonların tedavi maliyeti oldukça yüksektir. Nerdeyse %30-50'si el hijyeni ile çözülebilecek bu enfeksiyonların sadece ABD'ne yıllık maliyeti yaklaşık beş milyar dolardır. Bu sorun el hijyeni gibi basit bir işlemle engellenebilir (2). Mikroorganizmalar üzerine farklı mekanizmalarla antiseptik ve dezenfektanlar (biyositler) günümüzde kullanımı yaygın olan maddeler arasındadır (3). Antiseptik maddeler, hijyen amaçlı patojen mikroorganizmaların üremelerini engellemek veya öldürmek amacıyla kullanılan değişik türlerdeki mikroorganizmalara karşı farklı etkileri olan önemli ajanlardır (4).

El derisinde kullanım için en uygun dezenfektan madde alkollerdir. El dezenfektanları içinde kullanılan

alkoller etanol ve izopropil alkoldür (5). Alkol bazlı el antiseptikler, protein denatürasyonu yoluyla gram-pozitif ve gram-negatif bakteriler, mikobakteriler ve birçok virüse karşı güçlü ve hızlı öldürücü etkiye sahiptir. %60-95'lik konsantrasyonlarda etkinlikleri en yüksek düzeydedir. Fakat, alkol oranının su oranından fazla olması denatürasyon özelliğini azaltmaktadır. Ellerde kuruluk ve dermatit oluşturma riski oluşturabilir ve bu sebeple içeriğine yumuşatıcı maddeler ilave edilmektedir. Alkol yanıcı bir madde olması nedeniyle kullanım ve depolanma esnasında dikkat edilmesi gerekmektedir (6).

Süperoksidize su, sodyum klorür çözeltilerinin elektrolizi ile üretilir. Çok iyi biyosidal aktiviteye sahiptirler ve ucuzdurlar. Biyolojik dokular için toksik olmayıp, solunum yollarını, gözleri ve cildi tahriş etmezler. Bununla birlikte, doğru yapılmayan temizlik sonrası organik kir varlığında antimikrobiyal etkinlik azalabilir (7). Hipokloröz asit (HOCL), insanlar ve hayvanların yara tedavisi için yaygın olarak kullanılmaktadır (8). HOCL, bağışıklık sistemindeki nötrofil ve makrofajların oksidatif mekanizma sürecinde ortaya çıkan ürünlerden biridir (9). HOCL çözeltilisinin nötr pH'ya sahip olması, güvenli bir sterilizatör ve etkili bir biyosit özelliği verir. HOCL bakteri hücrelerinde adeno trifosfat üretimini azaltan ve tahriş edici olmayan bir ajan olarak kabul edilir. HOCL, protein sentezini inhibe ederek ve hücre

bölünmesini ve çoğalmasını önleyerek bakteri hücrelerini yok eder (10). HOCL, biyofilm varlığında bile etkili olan geniş spektrumlu bir ajandır. Antibakteriyel ve antiviral etkileri üzerine yapılan çalışmalarda *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* ve *Candida albicans*'ı ortadan kaldırdığı tespit edilmiştir (11-12). Pandemi ile beraber antiseptik ürün ihtiyacının artması, bilim insanlarını daha etkin yeni antiseptiklerin geliştirilmesi üzerine çalışmalara yönlendirmiştir. Yeni üretilen antiseptik solüsyonlarının içerik ve etkinlik bakımından standartlara göre değerlendirilmesi önem arz etmektedir. Çalışmamızda süperoksiz su içerikli bir antiseptik ürünün (Farmisol, Türkiye) etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Farmisol'ün antimikrobiyal aktivitesi TSE EN 1500 - Kimyasal dezenfektanlar ve antiseptikler - Hijyenik el ovalama maddesi - Deney yöntemi ve gerekler standardında belirtilen yöntemle göre standart % 60 izopropil alkol ile karşılaştırılmıştır (13). Farmisol, pH 7.4'da 200 ppm klor, yaklaşık 900 mV ORP değeri olan hipokloröz asit içeren bir solüsyondur.

Çalışmaya 20 gönüllü dahil edilmiş ve iki gruba ayrılmıştır. 18 yaş altı bireyler ve ellerde kesik, sıyrık veya diğer cilt bozuklukları olanlar çalışmaya dahil edilmemiştir. Gönüllülerden ayrıca deneme günlerinde herhangi bir el ovma veya el kremi kullanmamaları istenmiştir. Tüm gönüllüler yazılı bilgilendirilmiş onam vermişlerdir.

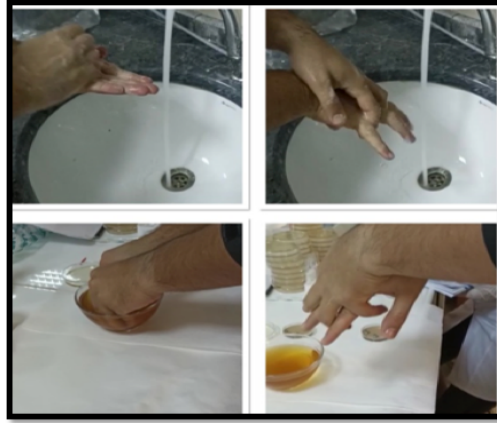
Çalışmamızda standart *E. coli* ATCC 25922 suşu test bakterisi olarak kullanılmıştır. Suş TSA'ya ekilerek 24 saat 36°C inkübe edilmiştir. Üreyen kolonilerden, triptik soy sıvı besiyeri (TSB) ile 1 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. Birinci grup öncelikle standart el yıkama talimatına göre 1dk boyunca ellerini sıvı sabun ile yıkamışlardır. Kâğıt havlu ile kuruladıktan sonra, eller 5 saniye süreyle önceden hazırlanmış kontamine TSB'ye mid-

metakarpal seviyeye kadar daldırmışlardır. Üç dakika kuruma süresi sonunda steril TSB içine el daldırılmıştır. Burada dilüsyon yapılarak TSA besiyerine 100 µl ekim yapılmıştır. Böylece yapay olarak kontamine edilmiş olan ellerdeki bakteri yoğunluğunu yansıtan ilk değer numuneleri elde edilmiş olacaktır. Eller tekrar kontamine edildikten sonra 3 ml antiseptik ürün standarda uygun şekilde uygulanıp 30 saniye sonra eller 5 saniye süre ile akan musluk suyu altından geçirildikten sonra parmak uçları, içerisinde nötralizan olarak %5 yumurta sarısı içeren 10'ar ml'lik TSB'ye daldırılarak bir dakika boyunca ovuşturma hareketi yapılmıştır (Şekil 1). Burada dilüsyon yapılarak, TSA besiyerine 100 µl ekim yapılmıştır. Böylece antiseptik uygulanması sonrası elde kalan bakterilerin sayısının (son değer) hesaplanmasında kullanılacak son değer numuneleri elde edilmiş olur. İkinci gruptaki gönüllülere antiseptikler iki kez 30 ml ve toplam 60 sn uygulandıktan sonra numune alınmıştır. TSA besiyerleri 37°C de 18±4 saat süre ile inkübe edildikten sonra koloni sayma yöntemi ile tüm koloniler sayılmıştır. Bir deney setinde her bir gönüllünün test edilen antiseptik ve referans solüsyon için ayrı ayrı logaritmik azaltma faktörleri (log AF) (log AF= log ilk değer - log son değer) formülüne göre hesaplanmıştır.

Bu çalışma, Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayı ile gerçekleştirilmiştir (Tarih: 11.11.2021 ve Karar No: 2021/15-18).

## BULGULAR

Farmisol ve izopropil alkol etkileri 30 sn ve 60 sn olarak test edilmiştir. İlk kontaminasyona göre her iki antiseptik uygulanması sonucunda elde edilen veriler Tablo 1'de gösterilmiştir. Antiseptik sonrası logaritmik azalma düzeyleri 30 sn süre ile bekleyen A grubu gönüllülerde, %60 izopropil alkol için 3.7, Farmisol için ise 3,2'dir. 60 sn süre ile bekleyen B grubu gönüllülerde %60 izopropil alkol için 3.8, Farmisol için ise 3,4'dir. Farmisol ile standart izopropil alkole göre kıyaslanabilir logaritmik azalma tespit edilmiştir (Tablo 2).



Şekil 1. Kontaminasyon işlemleri

Tablo 1. Her iki antiseptik uygulanması sonuçları

Gönüllüler	Antiseptikler	
	log AF süperoksidge su	log AF %60 izopropil alkol
A Grubu (3 ml - 30 sn)	A1	2,6
	A2	2,4
	A3	3,5
	A4	2,9
	A5	3,9
	A6	4,0
	A7	3,4
	A8	2,7
	A9	3,3
	A10	3,1
B Grubu (2 X 3 ml -60 sn)	B1	3,5
	B2	3,1
	B3	2,9
	B4	3,3
	B5	3,8
	B6	3,5
	B7	3,7
	B8	3,3
	B9	4,1
	B10	2,9

Tablo 4. Antiseptiklerin logaritmik azalma düzeyleri

Antiseptikler	A Grubu (3 ml - 30 sn)	B Grubu (2 X 3 ml -60 sn)
%60 İzopropil Alkol	3,7	3,8
Farmisol	3,2	3.4

## TARTIŞMA

COVID-19 pandemi dönemi, ticari el antisepsi ajanlarının çok fazla tüketilmesine ve azalmasına yol açmıştır. Dünya çapında etkinliği ispatlanmış antiseptikler kullanılmak istenmektedir. Antisepsi ve dezenfeksiyon amaçlı kullanılan pek çok ürün bulunmaktadır. Hastaneler ve araştırmacılar tarafından da etki spektrumuna, maliyetine, çalışan ile araç ve gereçlere verdiği zararlara, kullanım kolaylığına göre ürün seçimi yapılmaktadır. Çalışmamızda Farmisol ile %60 izopropil alkolün etkinliği karşılaştırılarak araştırılmış olup, izopropil alkole göre kıyaslanabilir logaritmik azalma tespit edilmiştir.

Dezenfeksiyon hastane enfeksiyonlarının önlenmesinde son derece önemli bir faktördür. Başarılı bir dezenfeksiyon morbidite, mortalite ve tedavi maliyetlerin azalma ve mikroorganizmaların direnç geliştirmemesi açısından önem arz etmektedir. Süperoksidge su içeren bir dezenfektan markasının farklı konsantrasyonlarının hastane enfeksiyon nedeni olduğu bilinen altı tane standart suş (*Acinetobacter baumannii* 19606, *E. coli* 25922, *Enterococcus faecalis* 29212, *Klebsiella pneumoniae* 254988, *P. aeruginosa* 27853, *S. aureus* 29213), dirençli klinik izolatlar (*A. baumannii*, *E. coli*, vancomisin-dirençli *Enterococcus faecium*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, methisilin-dirençli *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *Myroides* spp.) ile maya ve küfler üzerinde etkinliği için yapılan bir çalışmada antimikrobiyal etki gösterdiklerini tespit etmişlerdir (14).

Eftekharizadeh ve arkadaşları süper oksitlenmiş suyun, yara enfeksiyonlarını tedavi etmek için povidon iyot gibi mevcut tedavi ile karşılaştırıldıklarında güvenli, etkili ve uygun maliyetli bir yıkama ve temizleme maddesi olduğunu bildirmişlerdir (15).

California Üniversitesi'nde Landa ve ark. *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhi* ve *C. albicans* suşlarına, Tokyo'da Sakurai ve ark., ise *P. aeruginosa* ve

*Mycobacterium avium*'a karşı yaptıkları çalışmalarda yine süperoksidge suyun etkili bir dezenfektan olduğu sonucuna varmışlardır (16,17).

Choi ve ark. nın yaptığı iki farklı çalışmada ise süper oksitlenmiş suyun cilt, alet-yüzey dezenfeksiyonunda kullanılabileceğini ve çeşitli çevresel flora bakteri ve mayalarının yanı sıra *Bacillus* ve *Candida* türlerine karşı da aktif olduğunu bildirmişlerdir (18,19).

Japonya'da süper oksitlenmiş su %2 Dialox-c ve %3.8 formalin ile karşılaştırılmış ve süper oksitlenmiş suyun diğer dezenfektanlardan daha etkili olduğunu bildirmişlerdir (20). Nakayama ve ark. yaptıkları çalışmada yanık yaralarının süper oksitlenmiş su kullanılarak yıkanması ve dezenfekte edilmesinin yanık ilişkili sepsisi önlemede yardımcı olabileceğini bildirmişlerdir (21). Vorobjev ve ark., ise spor oluşturan bakterilerin sporları ve vejetatif formları ile nozokomiyal enfeksiyonlara neden olan diğer gram pozitif ve negatif bakteriler üzerine etkili olduğunu bildirmiştir (22). *E. faecalis* biyofilmleri ile enfekte olmuş kök kanallarında süper oksitlenmiş suyun antibakteriyel etkilerini araştıran bir çalışmada dikkat çekici bir bakterisidal etki gösterdiğini bildirmişlerdir (23).

Bu çalışma, süper oksitlenmiş suyun mikroorganizmalar üzerindeki aktivitesini araştıran, daha ileri çalışmalara öncülük edeceğini öngördüğümüz nadir çalışmalardan biridir. Çalışmamız sonucunda mikroorganizma kontaminasyonunda, Farmisol ile anlamlı logaritmik azalma tespit edildiğinden ve kısa süreli uygulama sonrasında olumlu etkinliğinden dolayı, verimli antisepsi sağladığını desteklemektedir. Bu alanda konunun önemi göz önüne alınarak, daha çok sayıda mikroorganizma ile dezenfektanların ve antiseptiklerin etkinlik testlerinin karşılaştırmalı olarak yapılması gerekmektedir. Bu çalışmalarla, dezenfektan ve antiseptiklerin güvenilirliği hususuna ışık tutulacaktır.

## ETİK KURUL ONAYI

\* Bu çalışma, Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayı ile gerçekleştirildi (Tarih:11.11.2021 ve Karar No: 2021/15-18).

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

## KAYNAKLAR

1. WHO Guidelines for Hand Hygiene in Healthcare. First Global Patient Safety Challenge: Clean Care is a Safer Care. Geneva: WHO patient safety; 2009.
2. Günaydın M. "Hastane Enfeksiyonları ve El Hijeni". 16. DAS Eğitim Semineri, 08 Mayıs 2010.
3. Grare M, Dibama HM, Lafosse S, Ribon A, Mourer M, Regnouf-de-Vains JB, et al. Cationic compounds with activity against multidrug-resistant bacteria: interest of a new compound compared with two older antiseptics, hexamidine and chlorhexidine. Clin Mic Infect. 2010; 16 (5), 432-38.
4. Kayan S, Altanlar N. Investigation of the antimicrobial activities of some disinfectants and antiseptics which are frequently used in hospitals. J Fac Pharm Ankara Uni, 2021; 45(2), 297-308.
5. Golin AP, Choi D, Ghahary A. Hand sanitizers: A review of ingredients, mechanisms of action, modes of delivery, and efficacy against coronaviruses. Am J Infect Control, 2020; 48(9): 1062-7.
6. Aygin D, Yaman Ö. Cerrahi alan enfeksiyonların önlemede el yıkama tekniklerinin yeri ve önemi. Sakarya Tıp Derg, 2020; 10(3): 520-7.
7. Aranke M, Moheimani R, Phuphanich M, Kaye AD, Ngo AL, Viswanath O, et al. Disinfectants in interventional practices. Curr Pain Headache Rep, 2021; Mar 11;25(4):21.
8. Alhbou Y, Karslı B, Sümer T. Comparison of the efficiency of ethacridine lactate and hypochlorous acid during the early period of wound healing in rats . Kocatepe Vet J, 2021; 14 (3), 366-75.
9. Ateş FM. Su, Tuz, Hipokloröz asit ve enfeksiyonlardan korunma. Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi. 2020; 3 (2), 154-60.
10. Yıldız I, Yılmaz O, Tileklioglu E, Sakarya S, Ertabaklar H. Stabilised hypochlorous acid: a new therapeutic strategy against dangerous parasitic eye infection agent *Acanthamoeba* spp. J Environ Protect Eco. 2018; 19(3), 1397-404.
11. Sakarya S, Gunay N, Karakulak M, Ozturk B, Ertugrul B. Hypochlorous acid: an ideal wound care agent with powerful microbicidal, antibiofilm, and wound healing potency. Wounds, 2014; 26(12):342-50.
12. Armstrong DG, Bohn G, Glat P, Kavros SJ, Kirsner R, Snyder R, et al. Expert Recommendations for the Use of Hypochlorous Solution: Science and Clinical Application. Ostomy Wound Manage, 2015; 61(5):2-19.
13. TS EN 1500, Kimyasal dezenfektanlar ve antiseptikler - Hijyenik el ovalama maddesi - Deney yöntemi ve gerekler.
14. Gunaydin M, Esen S, Karadag A. In vitro antimicrobial activity of Medilox® super-oxidized water. Ann Clin Microbiol Antimicrob, 2014;13, 29.
15. Eftekhariadeh F, Dehnavieh R, Noori Hekmat S, Mehrolohasani MH. Health technology assessment on super oxidized water for treatment of chronic wounds. Med J Islam Repub Iran, 2016; 30:384.
16. Landa-Solis C, Gonzalez-Espinosa D, Guzman B, Snyder M, Reyes-Teran G, Torres K, et al. Microcyn: a novel super-oxidized water with neutral pH and disinfectant activity. J Hosp Infect, 2005; 61(4):291-9.
17. Sakurai Y, Ogoshi K, Okubo T, Kaku M, Kobayashi I. Strongly acidic electrolyzed water: Valuable disinfectant of endoscopes. Dig Endosc, 2002; 14(2):61-6.
18. Choi TY, Kim WB. Bactericidal effect of disinfectant a super-oxidized water, Medilox. Korean J Nosocomial Infect Control, 1998; 3:1-6.
19. Choi TY, Yang EY: Bactericidal effect of Medilox, an super oxidized water generated by Medilox against bacteria, fungi and mycobacteria. J Soonclumhvcing Med Science, 2009; 14(3):H5-794.
20. Tanaka N, Fujisawa T, Daimon T, Fujiwara K, Yamamoto M, Abe T. The use of electrolyzed solutions forthe cleaning and disinfecting of dialyzers. Osaka, Japan. Artif Organs, 2000; 24(12):921-8.
21. Nakae H, Inaba H. Effectiveness of electrolyzed oxidized water irrigation in a burn-wound infection model. J Trauma Inj Infect Crit Care, 2000; 49:511-51.
22. Vorobjeva NV, Vorobjeva LI, Khodjaev EY. The bactericidal effects of electrolyzed oxidizing water on bacterial strains involved in hospital infections. Artif Organs, 2004; 28(6):590-2.
23. Zan R, Alacam T, Hubbezoglu I, Tunc T, Sumer Z, Alici O. Antibacterial efficacy of super-oxidized water on *Enterococcus faecalis* biofilms in root canal. Jundishapur J Microbiol, 2016; 9(9).