

Luigi Cianconi¹
Loredana Cerroni²
Manuele Mancini¹
Emiliano Armellini¹
Adriano Casaglia²

Università degli Studi di Roma
"Tor Vergata"
Facoltà di Medicina e Chirurgia
Corso di Laurea Specialistica
in Odontoiatria e Protesi Dentaria
¹ Cattedra di Odontoiatria Conservatrice II,
Titolare per affidamento: Prof. Luigi Cianconi
² Cattedra di Materiali Dentali,
Titolare: Prof. Saverio Maria Condò

Corrispondenza:
Dott. Manuele Mancini
Via Luigi Luciani, 22
00197 Roma
Tel. 06 3224059
E-mail: manuele.mancini@tiscali.it

Pervenuto in Redazione l'8 aprile 2006
Accettato per la pubblicazione il 28 giugno 2006

Analisi microstrutturale del terzo apicale dopo pretrattamento con MTAD: studio *in vitro*

Microstructural analysis of apical third after treatment with MTAD: an *in vitro* study

RIASSUNTO

Scopo: la moderna endodonzia si prefigge di ottenere canali radicolari perfettamente detersi, sagomati e sigillati tridimensionalmente. Il presente lavoro vuole valutare come il pretrattamento acido dei canali, prima della fase della chiusura, dovrebbe essere in grado di favorire il raggiungimento di questi obiettivi.

Metodologia: questo studio *in vitro* si è posto l'obiettivo di valutare l'azione sulla microstruttura endocanalare dell'MTAD quando applicato per i tempi di 1, 3 e 5 minuti. L'analisi al SEM ha consentito di attribuire uno *score* ad ogni campione in base al grado di pervietà intra- e peri-tubulare ed al grado di erosione riscontrata sulle pareti endodontiche.

Risultati: i risultati ottenuti mostrano che a livello del terzo apicale l'applicazione dell'MTAD come soluzione pretrattante non produce la completa detersione delle pareti canalari dallo *smear layer*. Le differenze con i campioni di controllo si sono comunque dimostrate statisticamente significative.

Conclusioni: l'MTAD ha mostrato la sua azione coadiuvante l'ipoclorito di sodio e l'EDTA nell'ottenimento di una parziale eliminazione dello *smear layer*, ma siamo lontani dal livello di detersione auspicabile per ottenere terapie endodontiche predicibili e durature.

Parole chiave:

Irrigazione, MTAD, terzo apicale, ipoclorito di sodio, EDTA.

ABSTRACT

Aim: the goal of current endodontic treatment is to thoroughly clean, shape and tri-dimensionally obdurate root canals. The aim of the present *in vitro* study was to evaluate how acid pre-treatment of root surfaces can be an useful procedure for the above-mentioned results.

Methodology: the present *in vitro* study evaluated the microstructural action of MTAD, applied for 1, 3 or 5 minutes, on root canal walls. The study was performed using SEM analysis and each specimen was judged according to a specific score which comprised both intra- and peri-tubular cleanness and erosion of wall surfaces.

Results: results showed that the use of MTAD did not allow perfect cleaning of the endodontic space and smear layer was still present. However a statistically significant difference was noted among the test and control groups.

Conclusions: MTAD showed a positive clinical action supporting the cleaning effect due to NaOCl irrigating solutions, but still complete elimination of smear layer was not obtained. As a result, ideal cleaning of the endodontic space is still not available with current materials and techniques.

Key words:

Irrigation, MTAD, apical third, sodium hypochlorite, EDTA.

INTRODUZIONE

Dopo l'introduzione della strumentazione Ni-Ti, le terapie canalari sono diventate sempre più predicibili ed affidabili, raggiungendo risultati fino a pochi anni fa inimmaginabili (1). I tempi di strumentazione relativamente compresi hanno permesso al clinico di dedicare più tempo alla disinfezione del sistema dei canali radicolari, punto chiave questo per la realizzazione di una buona terapia endodontica (2). Infatti la stessa strumentazione NiTi, l'uso alternato dell'ipoclorito di sodio alla temperatura di 37°C ed EDTA (3), dei *sealer*, della chiusura tridimensionale con guttaperca sono "step" essenziali della moderna endodonzia.

È stato dimostrato che dopo la strumentazione residua uno strato amorfo denominato *smear layer* composto da materiale inorganico ed organico, di spessore variabile in base al tipo di preparazione (4).

Rimuovere o meno questo strato di materiale dal canale radicolare rimane un argomento dibattuto.

È stato suggerito che lo *smear layer* decresce la permeabilità della dentina e previene la penetrazione batterica attraverso i tubuli dentinali (5, 6). Altri Autori sostengono che lo *smear layer* contiene batteri ed ostacola la penetrazione di agenti antibatterici attraverso i tubuli (7, 8).

O'Connell et al. dichiarano che nessuna soluzione a base di EDTA usata in combinazione con NaOCl è efficace a livello del terzo apicale (9); soluzioni alter-

native al NaOCl sono costituite da soluzioni contenenti cetrimide e clorexidina digluconato, tra l'altro meno tossici rispetto a quest'ultimo (10); Tanoamaru Filho et al. dimostrano che, anche se l'ipoclorito di sodio e la clorexidina possiedono un'attività antibatterica, la medicazione intermedia con idrossido di calcio è di fondamentale importanza nel trattamento di lesioni periapicali (11). Buck et al. hanno evidenziato come la penetrazione batterica all'interno dei tubuli dentinali avviene a vari livelli all'interno dei canali radicolari e non si ottiene comunemente una sterilizzazione del sistema endodontico (12).

Torabinejad et al. hanno messo a punto una nuova soluzione per la rimozione dello *smear layer* con spiccata attività antibatterica, l'MTAD, irrigante contenente un antibiotico quale la doxiciclina, usata comunemente nella terapia parodontale contro batteri come *Enterococcus faecalis* (13).

Abbiamo scelto di analizzare il terzo apicale per la sua notevole complessità anatomica. A riguardo la letteratura si dimostra concorde nell'affermare che strutture quali *cul de sac*, istmi, raccordi vari, canali laterali, influenzino l'ottenimento di un ottimo sigillo apicale, della predicibilità e del successo del trattamento endodontico (14).

Nella scelta della strumentazione da utilizzare nella fase di *shaping*, occorre tener conto di diversi parametri che influenzano significativamente la produzione e la distribuzione di detriti, quali la lunghezza della superficie lavorante, il disegno della sezione trasversa, il diametro della sezione e i diversi gradi di conicità. In particolar modo, sarà l'angolo di taglio attivo che modificherà sensibilmente la quantità di fango dentinale presente sulle superfici canalari; l'angolo potrà essere di tipo positivo, quindi più aggressivo sul substrato endodontico (e rientrano in questa categoria gli strumenti con sezione trasversale a triangolo convesso, oppure a doppia elica) o di tipo negativo, caratteristico di quelle strumentazioni che si comportano come una pialla che distende uniformemente il fango dentinale sulle pareti su cui agiscono (la sezione che meglio spiega questa dinamica è la *U-shaped*).

Pertanto lo *smear layer* prodotto da questi ultimi strumenti con angolo di taglio negativo, richiederà una irrigazione più intensa per tempi ed aggressività rispetto a quella necessaria dopo l'utilizzo di strumentazioni più taglienti (15, 16). Tenendo presente che la complessità anatomica del sistema endodontico si riscontra soprattutto a livello del terzo apicale ed essendo questa l'area anatomica dove maggiormente vorremmo la penetrazione, il contatto e l'azione delle soluzioni irriganti, abbiamo cercato di considerare strumentazioni e tecniche che rendessero efficiente questa fase. Si è data quindi particolare attenzione alla metodica con cui si rilascia l'irrigante in conseguenza dell'incontestabile assunto che il sistema di rilascio della soluzione irrigante e la profondità di rilascio all'interno del lume canalare siano delle variabili da considerare attentamente in una ricerca scientifica focalizzata sull'irrigazione endodontica. Un lavoro di Segdley et al. (17) ha approfondito questo aspetto ma senza valutare appieno la molteplicità di fattori che si presentano nella preparazione canalare e quindi possiamo affermare che nella letteratura esistente ad oggi, non si ritrovano lavori e risultati che abbiano tenuto in considerazione tutti i parametri precedentemente esposti.

L'obiettivo di questo studio *in vitro* è stato la valutazione e comparazione dell'azione di una nuova soluzione irrigante denominata MTAD, con campioni di controllo trattati con NaOCl 5% ed EDTA 17%, sulla microstruttura dentinale a livello del terzo apicale, tramite microscopia elettronica a scansione.

MATERIALI E METODI

Detersione e sagomatura

Per questo studio sono stati selezionati 24 canali radicolari di elementi dentali estratti per patologie parodontali non trattabili, e privi di pregresse terapie conservative, endodontiche o protesiche. Si è eseguita l'apertura della camera pulpare con apposito kit di frese (Endoaccess Buchanan, Analytic, USA). L'analisi e lo studio dell'anatomia radi-

colare endodontica sono stati effettuati con strumenti manuali tipo K-file (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Svizzera) numero .06, .08, .10, .15 fino al raggiungimento, previa visualizzazione, dell'apice anatomico. La lunghezza di lavoro è stata valutata sottraendo 0,5 mm dal sondaggio manuale visivo effettuato a livello dell'apice anatomico; in seguito è stata confermata mediante l'utilizzo di radiografie endorali periapicali eseguite con l'aiuto di un supporto in materiale resinoso che ne permettesse la precisa ripetibilità dell'esecuzione.

Gli apici, prima di procedere alla sagomatura canalare, sono stati sigillati con cera, al fine di riprodurre condizioni cliniche similari: gradiente pressorio delle strutture parodontali ed estrusione delle soluzioni irriganti nei tessuti periapicali. La sagomatura dei canali radicolari è stata effettuata secondo una metodica *crown-down* e mediante l'utilizzo di strumenti meccanici al Nichel-Titanio montati su manipolo riduttore 16:1, i cui parametri di *torque* e velocità sono stati controllati da un processore elettronico installato sul motore endodontico Tecnica ATR®. La sistematica utilizzata fa riferimento alla tecnica di *shaping* endodontico proposta e codificata dal Dott. S. Buchanan che utilizza una serie di strumenti al Nichel-Titanio (System GT®, Dentsply Maillefer, Ballaigues, Svizzera), di cui sono stati utilizzati i quattro strumenti della serie blu corrispondente ad una sezione in D₀ di .30 mm, ma dotati di conicità differenziata .10, .08, .06, .04.

Prima di accedere al canale radicolare, tutti gli strumenti sono stati cosparsi di un gel a base di EDTA e perossido di carbammide (Glyde, Dentsply Maillefer, Ballaigues, Svizzera). Ad ogni cambio di conicità è stato eseguito un lavaggio con 2 ml di NaOCl stabilizzato al 5% alla temperatura di 37°C, veicolato da uno speciale ago endodontico al Nichel-Titanio (Stropko NiTi Flexi-Tips) posizionato ad una distanza compresa tra 1 e 2 mm dalla lunghezza di lavoro predefinita per ciascun campione. Simultaneamente all'irrigazione è stata eseguita la pervietà canalare e apicale con uno strumento manuale tipo K-file numero .15. Gli strumenti sono stati sostituiti con dei nuovi per ogni canale strumentato. Si è utilizzata la combinazione

NaOCl-EDTA veicolata in perossido di carbammide, quale soluzione irrigante durante la fase di alesatura canalare poiché è stata dimostrata essere, dagli studi comparsi in letteratura, l'unica in grado di rimuovere efficacemente lo *smear layer* (18-20). Terminata la fase di detersione e *shaping*, i canali sono stati asciugati con coni di carta sterili di diametro .30 mm.

Applicazione dell'MTAD

Terminata la fase di asciugatura, sei campioni per ciascun gruppo (compreso il campione controllo a cui non è stato applicato l'MTAD), sono stati scelti con modalità random ed è stata applicata la soluzione pretrattante, da un unico operatore, standardizzando la metodica. In seguito, i campioni sono stati denominati secondo un codice specifico di riscontro in base ai tempi di applicazione.

L'MTAD è stato introdotto all'interno dei canali utilizzando un ago al Nichel-Titanio (Stropko NiTi Flexi-Tips), ed è stato lasciato agire per tre differenti tempi: 1, 3 e 5 minuti (Tab. 1), seguendo le indicazioni fornite dal produttore.

Vogliamo sottolineare il fatto che al termine dell'applicazione della soluzione non è stato eseguito alcun ulteriore lavaggio.

Preparazione per l'analisi al SEM

La preparazione delle sezioni, per finalizzare l'analisi al microscopio elettronico a scansione (SEM), è stata eseguita mediante una tecnica non invasiva mes-

sa a punto dal nostro gruppo di ricerca. Tale tecnica prevede l'utilizzo di un bisturi con lama 15 C con il quale sono stati gradualmente asportati il cemento e la dentina radicolare fino all'esposizione della superficie interna dei canali; durante l'esecuzione della metodica ci si è avvalsi dell'ausilio di uno stereo microscopio con un ingrandimento 3.6x (Carl Zeiss, Germania). Questa metodica ci ha permesso di ottenere campioni privi di artefatti quali detriti e microfratture, a cui saremmo sicuramente andati incontro con le usuali metodiche che si avvalgono di microtomi o della tecnica della frattura dopo esposizione ad azoto liquido. I campioni così preparati, sono stati successivamente sottoposti al processo di disidratazione, che segue uno specifico protocollo basato sull'utilizzo di soluzioni a concentrazioni crescenti di etanolo. I campioni sono stati successivamente sottoposti al processo di metallizzazione per 3' utilizzando l'apparecchio dedicato (Bio-rad SEM coating system, Microscience Division). Solo alla fine del processo di metallizzazione è stato possibile osservare i campioni al SEM (Digital scanning microscope, DSM 950, Zeiss). Ciascun campione è stato osservato in tutta la sua estensione a diversi ingrandimenti, da 100x a 10000x.

Bisogna dedicare una descrizione a parte per i 6 campioni utilizzati come controllo, in cui non sono state applicate soluzioni irriganti dopo la detersione e sagomatura, che invece sono state identiche su tutti i campioni. I campioni controllo sono stati difatti preparati per l'analisi al SEM, secondo il protocollo sopra descritto, immediatamente dopo la fase di detersione, sagomatura ed asciugatura con coni di carta sterili.

Analisi delle immagini

Nel presente lavoro sono stati presi in considerazione due parametri. Il primo

di essi rappresenta il grado di pervietà intra- e peri-tubulare visualizzato nelle immagini acquisite dal SEM. Il secondo ha valutato il grado di erosione delle pareti dentinali derivante dall'azione degli acidi utilizzati durante il pretrattamento. Abbiamo ritenuto opportuno scegliere questi indici per un duplice motivo: rappresentare schematicamente ed in modo riproducibile la microstruttura della dentina radicolare, e poter meglio confrontare il nostro lavoro con quello di altri Autori.

Per standardizzare la ricerca si è scelto un ingrandimento di riferimento uguale per ciascun campione (2000x). Successivamente è stata ideata una maschera che ha suddiviso in sedici riquadri le immagini e ci ha permesso di assegnare i diversi indici sia per la pervietà che per l'erosione in maniera riproducibile. Per la descrizione del grado di pervietà ed erosione ci siamo serviti dei valori descritti nelle Tabelle 2 e 3, codificati da Torabinejad et al. (21).

L'attribuzione dei risultati è stata eseguita con la metodica del doppio cieco.

I valori di pervietà ed erosione ottenuti dall'analisi dei campioni osservati al SEM, sono stati poi statisticamente analizzati secondo la metodica del t - Student.

RISULTATI

Una valutazione random sul terzo coronale e medio dei canali è stata effettuata nonostante non fosse lo scopo del lavoro. In accordo con la letteratura, è stata evidenziata un'elevata efficacia nella rimozione del fango dentinale in queste aree dopo l'utilizzo di ipoclorito di sodio al 5% ed EDTA più perossido di carbammide alternati, durante la strumentazione (Fig. 1).

Gruppo A Campioni trattati per 1' con MTAD
Gruppo B Campioni trattati per 3' con MTAD
Gruppo C Campioni trattati per 5' con MTAD
Gruppo CTR Campioni non pretrattati

Tab. 1 - Elenco dei gruppi sottoposti allo studio.

Pervietà	Valore	Significato	Riscontro visivo
	0	Detersione totale	Assenza di <i>smear layer</i> sulle pareti radicolari, con tubuli pervi e puliti
	1	Detersione parziale	Assenza di <i>smear layer</i> sulle pareti radicolari, con tubuli contenenti detriti
	2	Detersione assente	Presenza di <i>smear layer</i> sulle pareti radicolari, con tubuli ostruiti

Tab. 2 - Criteri utilizzati per l'analisi della detersione dei campioni.

Erosione	Valore	Significato	Riscontro visivo
0		Erosione assente	Tutti i tubuli appaiono normoconformati
1		Erosione moderata	La dentina peritubulare risulta erosa
2		Erosione severa	La struttura della dentina intertubulare appare compromessa

Tab. 3 - Criteri utilizzati per l'analisi del grado di erosione dei campioni.

Questo risultato ottenuto durante la fase di *shaping* ha portato la soluzione pretrattante a mostrare risultati buoni anche se simili in termini di pervietà, dopo i diversi tempi di utilizzo. I campioni trattati con MTAD per 1' (gruppo A) hanno mostrato abbondante presenza di *smear layer* e *smear plugs* in tutta la zona del terzo apicale; alcune aree di due canali sui sei osservati, hanno presentato un grado di pervietà molto vicino alla detersione parziale. Il grado di erosione del gruppo A è risultato leggermente superiore allo 0, dunque al risultato del gruppo di controllo (Fig. 2).

La pervietà dei sei canali trattati con MTAD a 3' (gruppo B) si discosta leggermente da quella dei canali trattati per 1'; tutti i campioni del gruppo B si sono attestati su un valore intermedio tra detersione assente e detersione parziale, avvicinandosi maggiormente a que-

Gruppo	Pervietà media	Erosione media
A	1.62	0.13
B	1.31	0.25
C	1.19	0.69
CTR	2	0

Tab. 4 - Valori medi della detersione e del grado di erosione dei campioni.

st'ultimo valore (Fig. 3). Sono sempre più frequenti immagini nelle quali la dentina risulta parzialmente detersa, nonostante l'interno dei tubuli risulti ancora ostruito da detriti e fango dentinale. A fronte di una capacità di detersione soltanto moderata delle pareti canalari del terzo apicale, è stato possibile osservare un leggero incremento nel grado di erosione dei campioni, sebbene sia ancora un valore trascurabile.

Prolungare il tempo di azione dell'MTAD, portandolo a 5' (gruppo C), comporta una ulteriore riduzione della presenza dei detriti che ricoprono i tubuli dentali del canale radicolare, pur non riuscendo a renderli pervi; i risultati ottenuti dal pretrattamento si dimostrano più irregolari, con alternanza di zone più o meno deterse non solo tra campione e campione ma anche in modo sensibile all'interno dello stesso canale (Fig. 4). Aumentano i valori di erosione media, con alcune aree che superano il grado di erosione moderata, mentre altre non ne dimostrano di alcun tipo. I campioni del gruppo di controllo hanno mostrato l'insufficienza dell'effetto dei lavaggi con NaOCl al 5% alternati all'uso di un gel a base di EDTA e perossido di carbamide nella rimozione dello *smear layer* e degli *smear plugs* del terzo apicale (Fig. 5). A differenza dei risultati ottenuti a livello del terzo coronale e del terzo medio del canale, nel terzo apicale la detersione è praticamente assente ed i tubuli completamente ostruiti. Non è ovviamente presente alcuna traccia di erosione della dentina peritubulare, essendo essa completamente coperta di fango dentinale.

Analisi statistica

La Tabella 5 mostra i risultati del confronto eseguito tra i gruppi di controllo ed i gruppi trattati con MTAD.

I valori di significatività del confronto tra i quattro gruppi si sono attestati su un range di valori compresi tra $p < 0,02$ e $p < 0,0001$.

La Tabella 6 mostra invece i risultati inerenti il grado di erosione dei campioni presi in esame.

L'unico gruppo che non ha mostrato differenze statisticamente significative quando confrontato con gli altri è stato quello trattato con MTAD per 3'.

Per i valori di erosione il range utilizzato è compreso tra $p < 0,001$, e $p < 0,0005$.

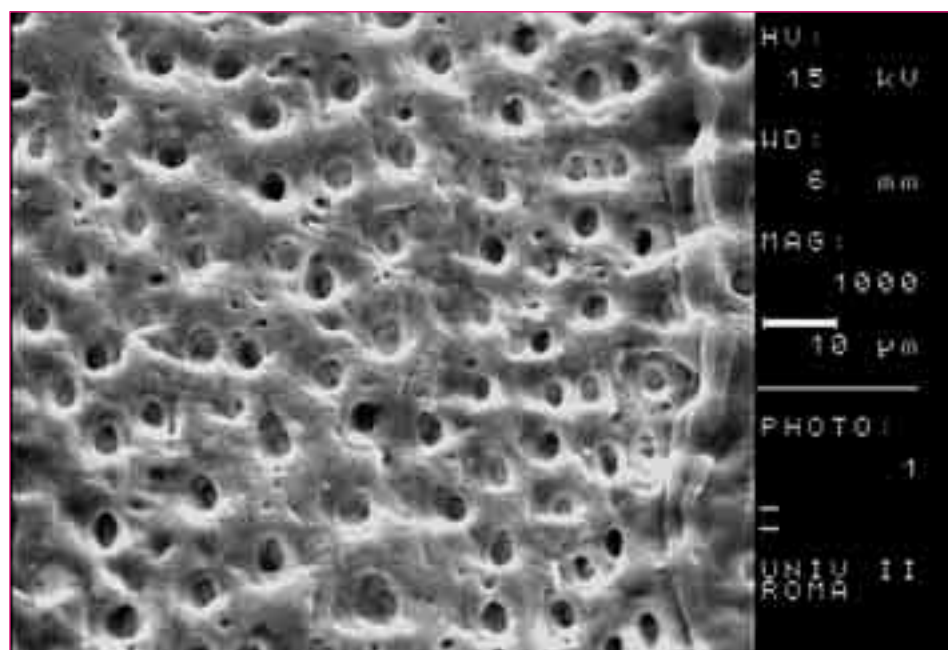


Fig. 1 - MTAD terzo medio 1000x.

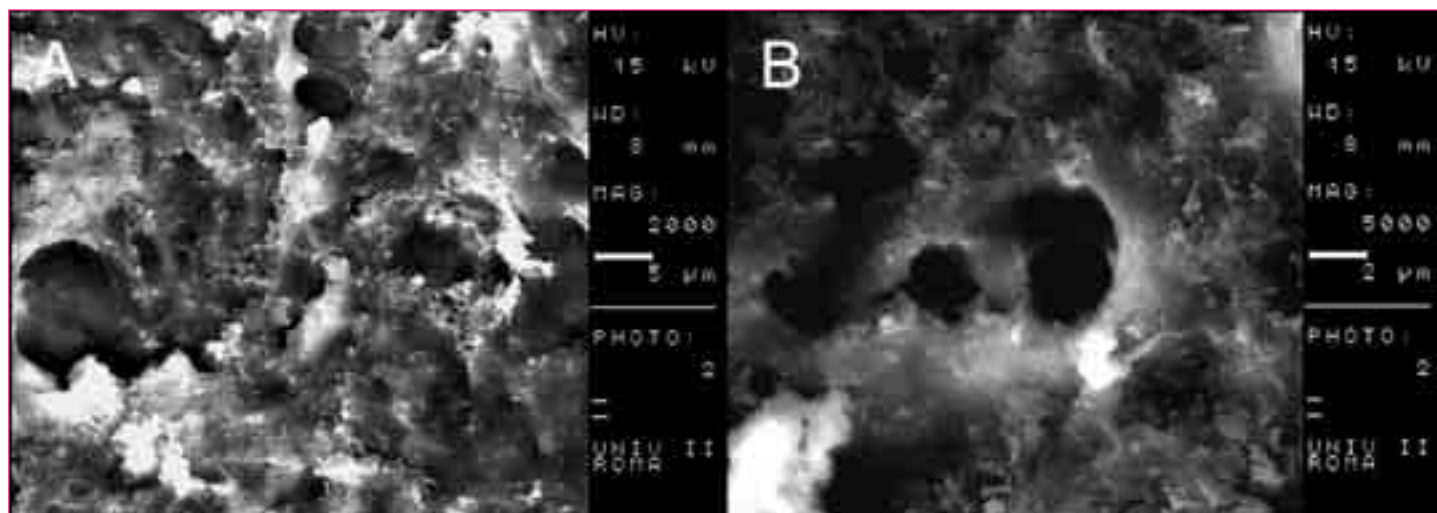


Fig. 2 - A: MTAD terzo apicale 1' 2000x; B: MTAD 1' 5000x.

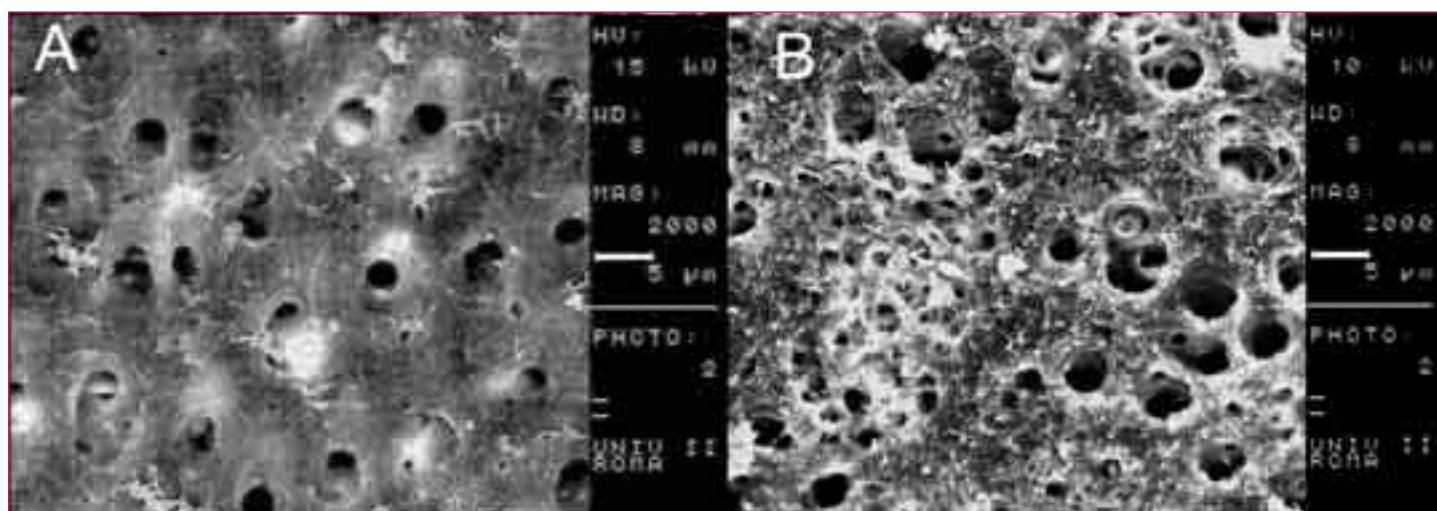


Fig. 3 - A: MTAD terzo apicale 3' 2000x; B: MTAD 3' 2000x.

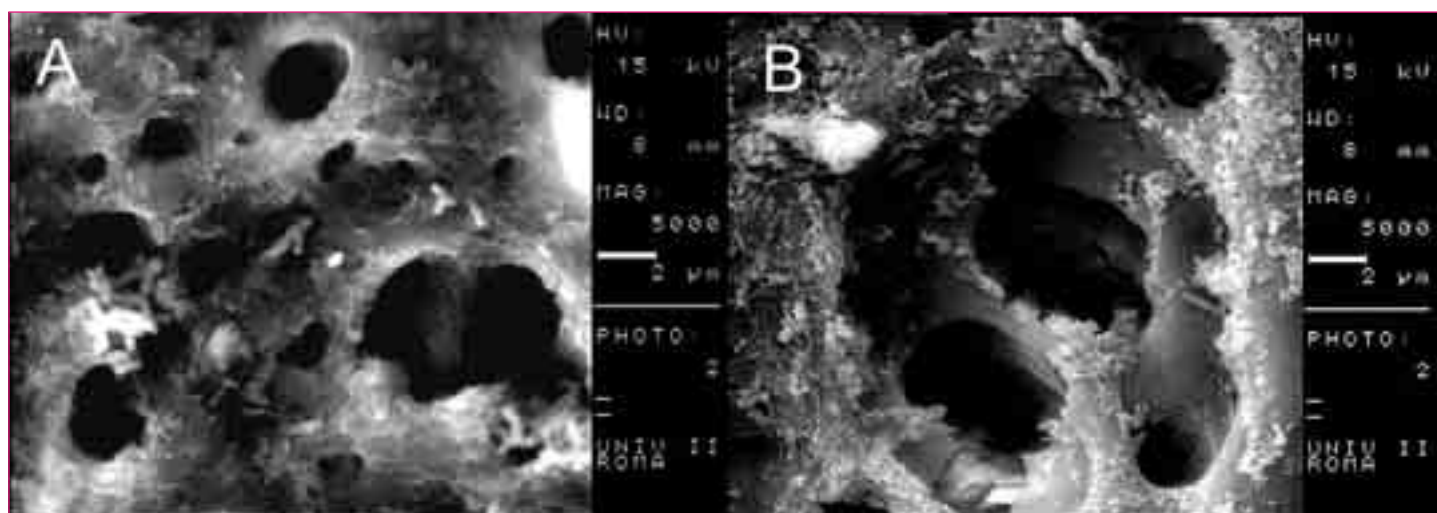


Fig. 4 - A: MTAD terzo apicale 5' 5000x; B: MTAD 5' 5000x.

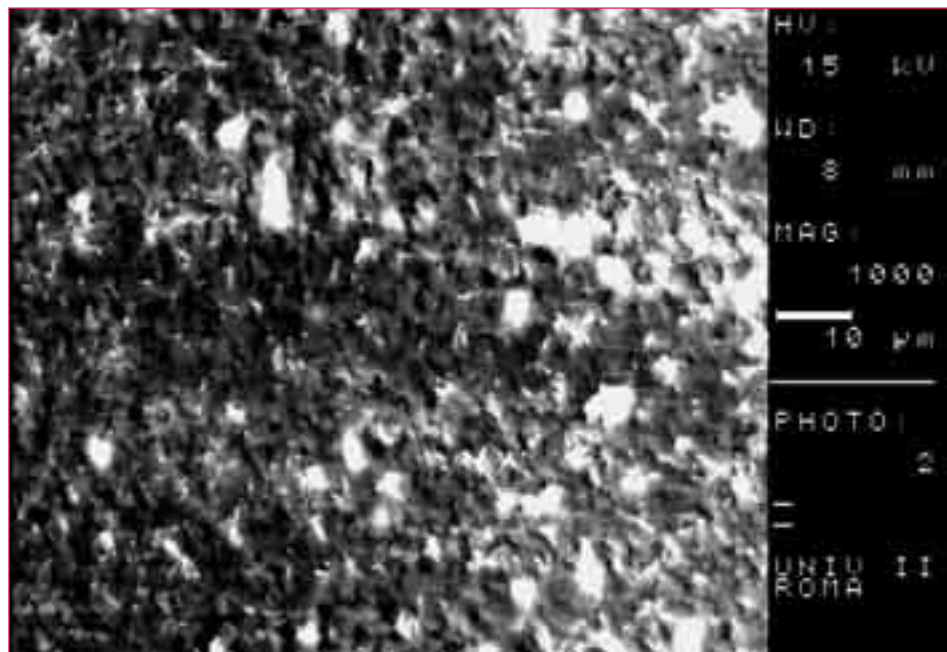


Fig. 5 - Campione controllo terzo apicale 1000x.

DISCUSSIONE

La colonizzazione batterica dei tubuli dentinali e dello *smear layer* (22-25) rappresenta uno dei punti chiave dell'insuccesso di una terapia endodontica, giustificando l'attenzione dedicata in letteratura all'argomento.

L'otturazione tridimensionale del sistema endodontico, è in stretta correlazione con l'adesione che materiali del tipo guttaperca e *sealer* endodontici possono raggiungere con i substrati dentinali: una struttura dentinale, tappezzata da uno strato amorfo di detriti, non potrà certo offrire un ottimale grado di adesione.

Al fine di evitare la presenza di artefatti nella metodologia di ricerca, abbiamo

seguito protocolli attentamente codificati e riproducibili. Ogni fase clinica effettuata è stata assegnata ad un unico operatore per tutti i campioni esaminati, dalla fase di detersione e sagomatura a quella di osservazione dei campioni al SEM.

Particolare cura è stata riservata alla fase di irrigazione, attraverso l'utilizzo di aghi al Nichel-Titanio, che hanno permesso la somministrazione degli irriganti in modo topograficamente preciso con i prescelti tempi di applicazione. L'MTAD, soluzione pretrattante presa in esame per questo lavoro, non ha sortito esiti confortanti; infatti se a livello del terzo coronale e medio radicolare determina una buona detersione, con risultati sovrapponibili a quelli che si riscontrano in letteratura (26), non raggiunge invece gli stessi valori di pervietà lad-

dove sarebbe più auspicabile, a livello cioè del terzo apicale.

In questa zona infatti, il grado di pervietà è risultato in media essere parziale soltanto per i campioni trattati per 5', con detersione accettabile in sporadici casi.

Il pretrattamento per tempi inferiori mostra risultati discutibili nella quasi totalità dei campioni, con presenza significativa di *smear layer* e tubuli ostruiti.

Il grado di erosione si è dimostrato modesto in quasi tutti i campioni e per ogni tempo di applicazione, sebbene questo dato sia in chiara connessione e dipendenza con quello della pervietà.

L'MTAD enumera inoltre tra i suoi componenti un antibiotico, la doxiciclina, che lascerebbe presupporre l'assenza sulle pareti endocanalari di batteri. Di fatto abbiamo riscontrato la presenza di colonie batteriche nei campioni del gruppo A, nonostante la parziale assenza di *smear layer* di quelle particolari sezioni analizzate al SEM.

Questi risultati sono in contrasto con quelli degli studi di Torabinejad et al. (13, 21, 27, 28).

L'analisi statistica dei dati raccolti ci fa concludere che a livello del terzo apicale endodontico, l'MTAD applicato singolarmente come pretrattante, non è in grado di rimuovere completamente lo *smear layer* ed i batteri presenti all'interno dei canali radicolari.

Alla luce della scarsa percentuale dei canali che hanno ottenuto valori di erosione e pervietà accettabili, pur nelle condizioni ottimali della sperimentazione *in vitro*, è lecito domandarsi se il fattore determinante per raggiungere la completa guarigione sia in effetti l'abbattimento della carica batterica, a parità di strumentazione e chiusura tridimensionale.

Ad avvalorare la tesi di come il successo endodontico non dipenda solo dal-

Pervietà

A	vs	CTR	p<0,02
C	vs	A	p<0,05
B	vs	CTR	p<0,0005
C	vs	CTR	p<0,0001

Tab. 5 - Analisi statistica dei valori di pervietà.

Erosione

C	vs	A	p<0,001
C	vs	CTR	p<0,0005

Tab. 6 - Analisi statistica del grado di erosione.

l'asportazione del fango dentinale, bensì anche da molteplici altri parametri non presi in considerazione nel nostro studio, un lavoro di Saleh et al. (29) ha dimostrato che la "sopravvivenza" del-

l'*Enterococcus faecalis* è anche correlata al raggiungimento di un buon sigillo apicale.

Limitatamente alle tecnologie ed ai materiali ad oggi disponibili, possiamo af-

fermare di essere lontani dal difficile obiettivo di ottenere un irrigante ideale, in grado di soddisfare i requisiti richiesti per l'ottenimento di terapie endodontiche predicibili e durature.

BIBLIOGRAFIA

1. Zmener O, Pameiker CH, Banegas G. Effectiveness in cleaning oval – shaped root canals using Anatomic Endodontic Technology, ProFile and manual instrumentation: a scanning electron microscopic study. *Inter Endod J* 2005; 38(6): 356-363.
2. Menezes MM, Valera MC, Jorge AOC, Koga-Ito CY, Camargo CHR, Mancini MNG. *In vitro* evaluation of the effectiveness of irrigants and intracanal medicaments on microorganisms within root canals. *Inter Endod J* 2004; 37: 311-319.
3. Radcliffe CE, Potouridou L, Qureshi R, Hababbeh N, Qualtrough A, Worthington H, Drucker DB. Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. *Inter Endod J* 2004; 37: 438-446.
4. Foschi F, Nucci C, Montebugnoli L, Marchionni S, Breschi L, Malagnino VA. SEM evaluation of canal wall dentine following use of Mtwo and ProTaper NiTi rotary instruments. *Inter Endod J* 2004; 37(12): 832-839.
5. Perez F, Calas P, Rochd T. Effect of dentin treatment on *in vitro* root tubule bacterial invasion. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996; 82: 446-451.
6. Drake DR, Wiemann AH, Rivera EM, Walton RE. Bacterial retention in canal walls *in vitro*: effect of smear layer. *J Endod* 1994; 20(2): 78-82.
7. Kokkas AB, Boutsoukis AC, Vassiliadis LP, Stavrianos CK. The influence of smear layer on dentinal tubule penetration depth by three different root canal sealers: an *in vitro* study. *J Endod* 2004; 30(2): 100-102.
8. Engel GT, Goodell GG, McClanahan SB. Sealer penetration and apical microleakage in smear – free dentin after a final rinse with either 70% isopropyl alcohol or Peridex. *J Endod* 2005; 31(8): 620-623.
9. O'Connel MS, Morgan LA, Beeler WJ, Craig Baumgartner J. A comparative study of smear layer removal using different salts of EDTA. *J Endodontics* 2000; 26(12): 739-742.
10. Ercan E, Ozekinci T, Atakui F, Gul K. Antibacterial activity of 2% Chlorhexidine Gluconate and 5,25% Sodium Hypochlorite in infected root canal: *in vivo* study. *J Endod* 2004; 30(2): 84-87.
11. Mario Tanomaru Filho Mario Roberto Leonardo Léa Assed Bezerra da Silva. Effect of irrigation solution and calcium hydroxide root canal dressing on the repair of apical and periapical tissues of teeth with periapical lesion. *J Endod* 2002; 28(4): 295-298.
12. Buck RA, Eleazer PD, Staat RH, Scheetz JP. Effectiveness of three endodontic irrigants at various tubular depths in human dentin. *J Endod* 2001; 27(3): 206-208.
13. Torabinejad M, Shabahang S, Aprecio RM, Kettering JD. The antimicrobial effect of MTAD: an *in vitro* investigation. *J Endod* 2003; 29(6): 400-403.
14. Mortman RE, Ahn S. Lateral canals in the palatal root of maxillary first molars. *J Endod* 2004; 30(4): 271 OR 66.
15. Falk KW, Sedgley CM. The influence of preparation size on the mechanical efficacy of root canal irrigation *in vitro*. *J Endod* 2005; 31(10): 742-745.
16. van der Sluis LWM, Wu MK, Wesselink PR. The efficacy of ultrasonic irrigation to remove artificially placed dentine debris from human root canals prepared using instruments of varying taper. *Inter Endod J* 2005; 38(10): 764-768.
17. Sedgley CM, Nagel AC, Hall D, Applegate B. Influence of irrigant needle depth in removing bioluminescent bacteria inoculated into instrumented root canals using real-time imaging *in vitro*. *Inter Endod J* 2005; 38: 97-104.
18. McComb D, Smith DC. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *J Endod* 1975; 1(4): 238-242.
19. Yesiloy C, Whitaker E, Cleveland D, Phillips E, Trope M. Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. *J Endod* 1995; 21(10): 513-515.
20. Berutti E, Marini R. A scanning electron microscopic evaluation of the debridement capability of sodium hypochlorite at different temperatures. *J Endod* 1996; 22(9): 467-470.
21. Torabinejad M, Cho Y, Khademi AA, Bakland Lk, Shabahang S. The effect of various concentrations of sodium hypochlorite on the ability of MTAD to remove the smear layer. *J Endod* 2003; 29(4): 233-239.
22. Drake DR, Wiemann AH, Rivera EM, Walton RE. Bacterial retention in canal walls *in vitro*: effect of smear layer. *J Endod* 1994; 20(2): 78-82.
23. McComb D, Smith DC. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *J Endod* 1975; 1: 238-242.
24. Siqueira José F Jr, Sen BH. Fungi in endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 97: 632-641.
25. Brannstrom M. Smear layer: pathological and treatment considerations. *Oper Dent* 1984; suppl 3: 35-42.
26. Goldman LB, Goldman M, Kronman JH, Lin PS. The efficacy of several irrigating solutions for endodontics: a scanning electron microscopic study. *Oral Surg* 1981; 52: 197-204.
27. Shabahang S, Pouresmail M, Torabinejad M. *In vitro* antimicrobial efficacy of MTAD and sodium hypochlorite. *J Endod* 2003; 29(7): 450-452.
28. Torabinejad M, Khademi AA, Babagoli J, et al. A new solution for the removal of the smear layer. *J Endod* 2003; 29: 170-175.
29. Saleh IM, Ruyter IE, Haapasalo M, Orstavik D. Survival of *Enterococcus faecalis* in infected dentinal tubules after root canal filling with different root canal sealer *in vitro*. *Inter Endod J* 2004; 37: 193-198.