

Vittorio Franco  
Cristiano Fabiani

Liberi Professionisti  
in Roma

Corrispondenza:  
Dott. Vittorio Franco  
Via Costantino Maes, 82  
00162 Roma  
vitto.franco@tiscali.it

Pervenuto in Redazione il 5 settembre 2005  
Accettato per la pubblicazione il 14 ottobre 2005

# L'irrigazione nei canali radicolari: revisione della letteratura

## Irrigation in the root canals: a literature review

### RIASSUNTO

**Scopo:** descrivere le metodiche ed i materiali a disposizione per una valida irrigazione endodontica.

#### Sommario

La detersione e la sagomatura sono tra le fasi principali della terapia endodontica. La sagomatura è ottenuta esclusivamente tramite l'azione meccanica degli strumenti endodontici, mentre la detersione è raggiunta congiuntamente tramite l'azione meccanica degli strumenti e l'azione chimica delle soluzioni irriganti. Quindi le soluzioni irriganti devono avere azioni differenziate: dovrebbero rimuovere il substrato organico, avere un effetto battericida e infine rimuovere lo strato di materiale inorganico prodotto dalla limatura degli strumenti (*smear layer*). A tutt'oggi non ci sono soluzioni irriganti che ottengono tutti e tre questi risultati. Questa revisione della letteratura mostra le differenti proprietà, e quindi le differenti indicazioni di uso, delle soluzioni irriganti maggiormente usate: NaOCl e EDTA. NaOCl è più efficace nella rimozione del substrato organico necrotico, mentre la sua azione sui tessuti vitali sembra più blanda. Due metodi (qui riportati) di aumentare l'efficacia del NaOCl sono l'aumento della temperatura e l'aumento della concentrazione. L'EDTA e gli acidi organici sono proposti per la rimozione dello *smear layer*: a causa della imprevedibilità dello spessore e delle aree di deposizione dello *smear layer*, non è possibile stabilire un unico protocollo di uso. Ulteriori ricerche, insieme allo sviluppo di irriganti multi-componente di ultima generazione, potranno portare ad una migliore

comprensione e ad un migliore utilizzo clinico di questa procedura fondamentale nel trattamento endodontico.

#### Punti chiave di apprendimento:

- L'utilizzo razionale dell'ipoclorito di sodio.
- L'utilizzo razionale dell'EDTA.
- Lo sviluppo di nuovi irriganti multifunzione.

### ABSTRACT

**Aim:** to describe currently available materials and techniques for efficient endodontic irrigation.

#### Summary

Cleaning and shaping is one of the main phases of the endodontic procedure. While shaping is achieved only with the mechanical action of the endodontic instruments, cleaning is obtained with both the combined mechanical action of the instruments and the chemical action of the irrigating solutions. Thus, the irrigating solutions must have different actions: they should remove the organic substrate, have a bactericidal effect, and remove the inorganic layer produced by the filing action of the instruments (*smear layer*). Currently, there is no irrigating solution achieving all of these three objectives. This literature review is focused mainly on showing the different properties, and therefore different indications of use, of the most widely used irrigating solutions, namely NaOCl and EDTA. NaOCl is more effective in removing the organic necrotic substrate, while its action on vital tissues seems to be weaker. Two methods (discussed here) to strengthen the action of NaOCl are in-

crease in temperature and increase in concentration. EDTA and organic acids are proposed for the removal of the smear layer: because of the unpredictability in thickness and areas of deposition of the smear layer, a unique clinical protocol for their use is not well established. Further research, as well as testing of multi-component irrigants of new generation, can lead to a better clinical assessment of this fundamental procedure in endodontic treatment.

#### Key learning points:

- The rationale use of sodium hypochlorite.
- The rationale use of EDTA.
- The development of new multi-component irrigants.

### INTRODUZIONE

Una delle fasi più importanti della terapia endodontica è quella della "detersione e sagomatura" (cleaning and shaping) del sistema dei canali radicolari. Oggigiorno, grazie all'introduzione di strumenti rotanti a conicità aumentata in nichel-titanio, alle loro caratteristiche di flessibilità ed all'evoluzione delle tecniche operative sempre più semplici e rapide, una accettabile sagomatura dei canali radicolari è ormai alla portata anche degli operatori meno esperti. Durante questa fase di sagomatura meccanica viene rimosso dagli strumenti il tessuto pulpare presente nell'endodonto e sulle pareti canalari, ma viene anche creato dallo strato di fango dentinale (*smear layer*) (1, 2); quest'ultimo dovrà essere poi rimosso, in quanto potenzialmente infetto e/o per garantire un miglior sigillo con i materiali da otturazione

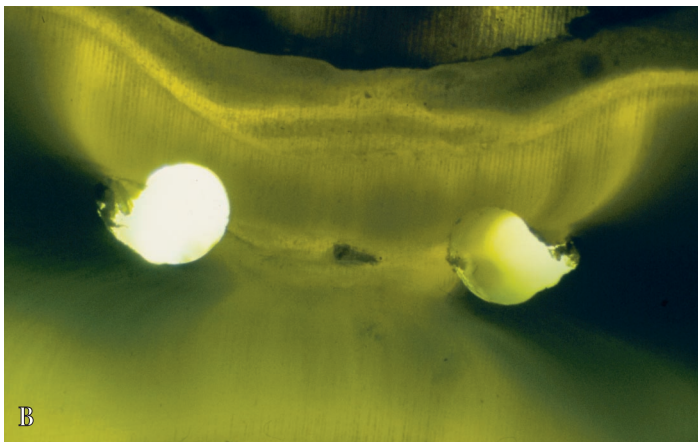
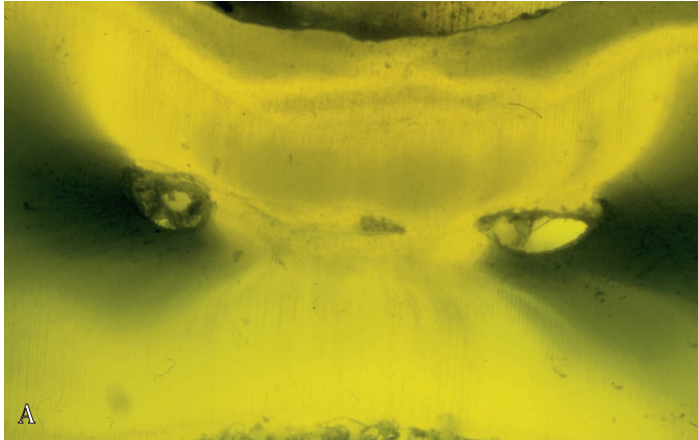


Fig. 1 - A/B: sezioni ottenute con il metodo di Bramante che ci mostrano come al termine della sagomatura spesso alcune zone non siano mai toccate dagli strumenti (da Pisacane C., Boschi M., Fabiani C., Franco V.).

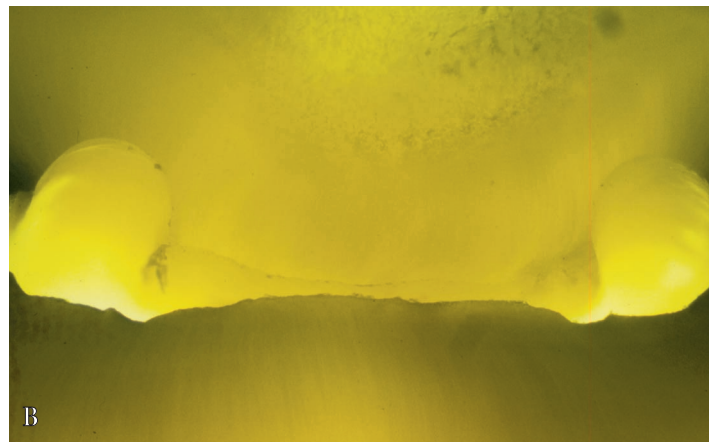
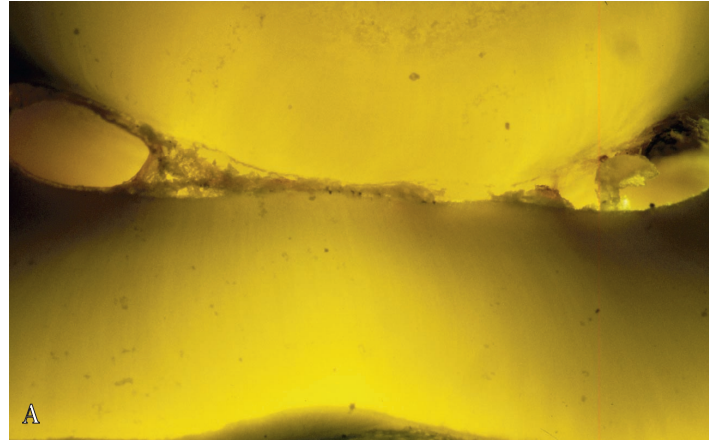


Fig. 2 - A/B: sezioni ottenute con il metodo di Bramante che ci mostrano come al termine della sagomatura spesso alcune zone non siano mai toccate dagli strumenti (da Pisacane C., Boschi M., Fabiani C., Franco V.).

endodontica adesiva, mediante soluzioni irriganti che abbiano capacità di demineralizzare i tessuti inorganici.

Una ottimale detersione del complesso sistema dei canali radicolari è un obiettivo non semplice da realizzare. In primo luogo va rilevato che una consistente porzione (stimata dal 20% al 40%) di pareti canalari del canale non viene toccata durante la fase di strumentazione (3-8) (Figg. 1 e 2). Ciò accade in particolare quando i diametri di preparazione sono ridotti, e bisogna considerare come vi siano sovente complessità anatomiche, tipo canali laterali, recessi, istmi, loop, etc. (Figg. 3 e 4), che quasi mai vengono sondate anche dalle lime più sottili e flessibili. La detersione di queste parti non strumentate del sistema endodontico viene quindi affidata solo all'azione di soluzioni irriganti che abbiano la capacità di dissolvere e rimuovere i tessuti organici.

Una ideale soluzione irrigante, secondo la moderna concezione dell'endodonzia che prevede il completo svuotamento dello spazio endodontico e la sua completa otturazione tridimensionale, dovrebbe quindi avere un'azione antibatterica, essere in grado di dissolvere i tessuti ed il materiale organico presenti all'interno dei canali, avere un'azione lubrificante che favorisca l'azione degli strumenti canalari, impedire la formazione dello *smear layer* o favorirne la rimozione, senza decalcificare i tessuti dentali, ed infine non dovrebbe essere tossica per l'organismo. Purtroppo nessun irrigante ad oggi possiede tutte queste qualità. Ne deriva che sono perciò necessarie più soluzioni irriganti per detergere adeguatamente lo spazio endodontico.

Sulla base di tali premesse lo scopo di questo lavoro è di chiarire i meccanismi di azione delle principali soluzioni irriganti.

## RIMOZIONE DEL TESSUTO ORGANICO

La rimozione del tessuto organico presente all'interno dei canali radicolari viene affidata in parte alla strumentazione meccanica ed in parte alle soluzioni irriganti. Tra le soluzioni impiegate in endodonzia le uniche ad aver mostrato una elevata capacità di dissolvere i tessuti organici associata ad una spiccata attività antibatterica sono quelle a base di Ipoclorito di sodio. Al contrario l'acido citrico, la clorexidina, il perossido d'idrogeno e le soluzioni chelanti non sono in grado di adempiere a questo compito (8).

### Ipoclorito di sodio (NaOCl)

Il suo impiego all'interno dei canali radicolari è stato descritto per primo da Grossman

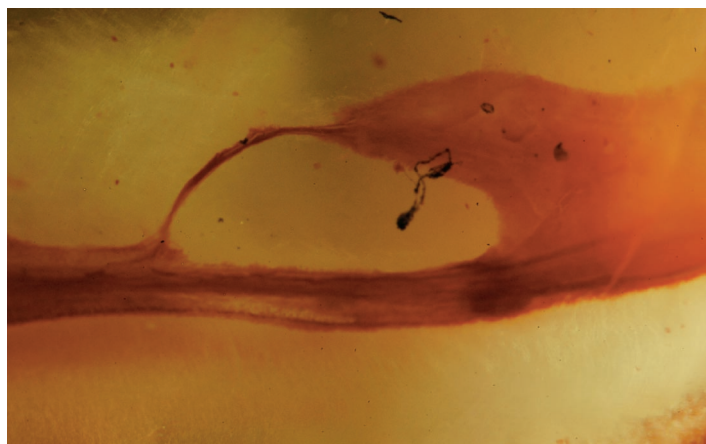


Fig. 3 - Loop in un premolare inferiore.

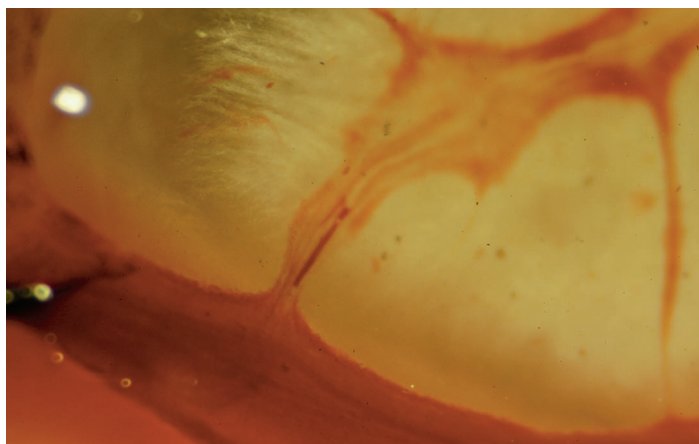


Fig. 4 - Anastomosi in un premolare inferiore.

nel 1943 (9) e da allora è in assoluto l'irrigante maggiormente impiegato in endodonzia. L'ipoclorito di sodio infatti ha una grande capacità antibatterica, agisce sui tessuti organici dissolvendoli tramite denaturazione della matrice proteica ed inoltre, grazie alla sua elevata tensione superficiale, mantiene in sospensione i detriti che si sono prodotti durante l'azione di taglio degli strumenti endodontici.

#### *NaOCl: azione sui microrganismi*

Va in primo luogo sottolineato il fatto che, dai dati che emergono dalla letteratura a riguardo, avere colture completamente negative all'interno dei canali infetti è ad oggi praticamente impossibile. Per quanto concerne l'azione dell'ipoclorito di sodio sui microrganismi, questa può dipendere da diversi fattori, tra i quali la concentrazione delle soluzioni e la resistenza dei differenti germi patogeni. Nel 1970 Shih ha dimostrato come una concentrazione di NaOCl al 5,25% sia efficace nell'eliminare i batteri all'interno dei canali radicolari (10). Questa capacità antibatterica ad ampio spettro è stata in seguito confermata da altri studi che hanno evidenziato le medesime proprietà anche per soluzioni a concentrazione inferiore al 5,25% (11, 12).

L'azione antibatterica risulta però drasticamente inferiore se la soluzione di ipoclorito usato è in concentrazione inferiore al 1% (13). Questa capacità di disinfezione risulta comunque superiore anche a quella della clorexidina al 2% (14).

Nei confronti di germi particolarmente resistenti quali l'*Enterococcus faecalis* l'ipoclorito di sodio risulta efficace a varie concentrazioni (15, 16), anche se tale efficacia

risulta maggiore per la soluzione al 5,25% (17). Infine un recente studio di Izu e coll. ha osservato la capacità dell'ipoclorito di sodio al 5,25% presente nei canali durante la terapia endodontica nel prevenire l'inoculazione di batteri nei tessuti periapicali attraverso i files di pervietà contaminati (18). Questo studio indica che l'ipoclorito presente nel sistema endodontico è sufficiente ad inattivare i microrganismi come l'*E. Faecalis* impiegati in questo studio.

#### *NaOCl: azione di dissoluzione dei tessuti*

Nel 1970 Grey ha notato l'efficacia di digestione da parte di NaOCl verso i tessuti necrotici (19), anche se la concentrazione e la temperatura della soluzione condizionano questa caratteristica. Nel 1978 Hand ha dimostrato che NaOCl al 5,25% aveva un potere di dissoluzione dei tessuti necrotici triplo rispetto al NaOCl al 2,5% (20). L'azione di digestione dei tessuti si esplicherebbe nei primi due minuti (75%) per concludersi entro cinque minuti (21). Anche in un recente studio l'ipoclorito di sodio è risultato l'unico irrigante capace di dissolvere i tessuti molli (22). Con l'aumentare della concentrazione aumenta la capacità di dissolvere i tessuti necrotici, ma parimenti il rischio di effetti collaterali in caso di fuoriuscita della soluzione oltre apice. Una concentrazione tra il 5% e il 5.25% parrebbe essere il miglior compromesso tra azione di dissoluzione e tossicità. Cunningham ha osservato un incremento della capacità di dissoluzione aumentando la temperatura a 37°C (23); Berutti e coll. (24) osservarono superfici ben deterse e prive di smear layer impiegando l'ipoclorito riscaldato a 50°C associato ad EDTA. Recentemente Kamburis et al. (25) han-

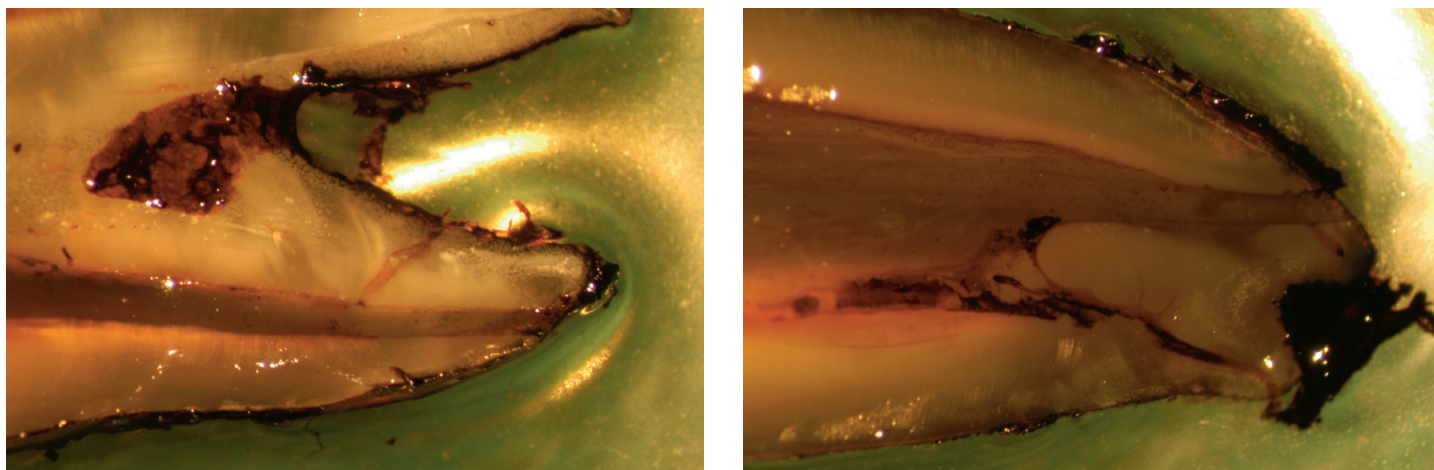
no mostrato come l'ipoclorito riscaldato a 70°C e a concentrazione 6,25% possa essere un efficace mezzo di rimozione del materiale organico dai detriti dentali prodotti dall'azione di limatura.

Con l'aumentare della temperatura viene però a variare il titolo della soluzione con una diminuzione della percentuale di cloro disponibile; inoltre vengono rilasciati vapori di clorina (26). Bisognerà quindi tenere in considerazione queste cose se decidiamo di impiegare l'ipoclorito riscaldato. Il fattore temperatura sembrerebbe però ancora più determinante del titolo della soluzione: Sirtes e coll., valutando la capacità di dissoluzione di varie soluzioni di ipoclorito di sodio rispettivamente a 20°, 45° e 60°C, hanno notato una capacità molto simile nel dissolvere il tessuto pulpare umano tra una soluzione all'1% a 45°C ed una al 5,25% a 20°C ed una capacità ancora superiore da parte della soluzione all'1% riscaldata a 60°C (27). L'attivazione mediante punte ultrasoniche per ciò che riguarda l'azione proteolitica dell'NaOCl sembra essere invece praticamente nulla (28).

Se i risultati presenti in letteratura sono confortanti per quello che riguarda i tessuti necrotici, non abbiamo risultati sovrapponibili per i tessuti vitali. Già Gray aveva osservato come l'ipoclorito non esplicasse alcuna azione sui tessuti vitali (19). Nel 1978 Rosenfeld ha studiato l'azione digestiva dell'ipoclorito al 5,25% in vivo ed ha osservato una azione di digestione da parte dell'ipoclorito nella camera pulpare ma non all'interno dei canali. La capacità di dissoluzione del tessuto pulpare osservata era comunque parziale (29).

In un altro studio *in vivo*, effettuato su den-





Figg. 5 e 6 - Sezioni longitudinali di premolari estratti (per motivi ortodontici) al termine delle procedure di detersione e sagomatura: si noti la presenza di materiale organico (colorato con soluzione di Mallory) all'interno dei canali accessori.

ti da estrarre per motivi ortodontici dove hanno paragonato diversi protocolli di irrigazione Franco e Fabiani (30) hanno osservato come in tutti i canali laterali presenti nei denti trattati risultava, al termine delle fasi di detersione e sagomatura, tessuto pulpare integro (Figg. 5 e 6). Ciò si osservava anche nel gruppo in cui era stato impiegato l'ipoclorito riscaldato, che peraltro era risultato il miglior gruppo in termini di dissoluzione del tessuto pulpare nel canale principale. Questo è in disaccordo con quanto osservato su denti estratti da Niemann e collaboratori, (31) che hanno evidenziato in uno studio *in vitro* come l'ipoclorito permetta di rendere pervi alcuni canali accessori a livello del pavimento della camera pulpare dei molari.

#### NaOCl: impiego clinico

Nel 1977 Ram ha dimostrato che la penetrazione apicale delle soluzioni irriganti è legata alla dimensione apicale del canale; l'efficacia dell'azione degli irriganti è condizionata inoltre dalla profondità di penetrazione dell'ago, e quindi dal suo diametro e dal rapporto che esso ha con i diametri dei canali radicolari (32). Un recente studio di Sadgley e coll. *in vitro* mostra come ad una maggiore penetrazione dell'ago (a 1 mm o a 5 mm dalla lunghezza di lavoro) corrisponda un miglior grado di detersione solo nei gruppi dove la quantità di ipoclorito usata ad ogni lavaggio è di 6 ml, mentre non vi sono differenze statisticamente significative nei gruppi dove i lavaggi effettuati sono di 3 ml (33).

Emerge dunque la necessità di considerare

anche un'altra variabile durante le fasi di irrigazione: la quantità di irrigante disponibile all'interno dello spazio endodontico. Infatti l'azione meccanica prodotta da lavaggi abbondanti si somma all'azione chimica dell'ipoclorito favorendo la detersione delle superfici canalari. Sull'esatta quantità di irrigante da impiegare durante una terapia endodontica non esistono lavori scientifici, ma solo raccomandazioni pratiche fatte da clinici di fama ed esperienza, i quali sostengono che l'azione degli irriganti sia proporzionale alla quantità di irrigante impiegato (34, 35).

Le modalità di penetrazione e di ricambio degli irriganti all'interno del sistema canalare sono state osservate con l'ausilio di soluzioni radiopache. Il primo a fare questo genere di studio è stato Salzberg nel 1977 con uno studio *in vivo* (36). Da allora vari Autori hanno utilizzato questa metodica: Yana, (37) riprendendo un lavoro di Machtou (38) ha osservato, mediante l'uso alternato di ipoclorito e hypaque (una soluzione radiopaca con caratteristiche fisiche simili all'NaOCl) (Figg. 7-10), come nel tratto più apicale del canale, lì dove l'ago non riesce ad arrivare, la penetrazione dell'irrigante e quindi il suo ricambio avvenga solo dopo l'introduzione di uno strumento alla lunghezza di lavoro. Gli strumenti endodontici hanno quindi la capacità di veicolare gli irriganti nel tratto apicale. Ciò si verifica anche al termine della strumentazione in canali già preparati. Questi stessi risultati sono stati poi osservati da altri Autori anche con metodiche di strumentazione con lime in nichel-titanio (39).

## RIMOZIONE DELLO SMEAR LAYER

### È necessario rimuovere lo smear layer?

Lo smear layer è un prodotto iatrogeno creato dall'incisione, dal taglio o dall'abrasione delle superfici dentali ed in particolare della dentina (Fig. 11). I primi a descrivere la presenza di *smear layer* in denti trattati endodonticamente sono stati Mc Comb e Smith (4). Questo strato è composto di detriti organici ed inorganici e nel caso di denti infetti anche da batteri (41, 42). Lo *smear layer* è presente unicamente sulle superfici che sono state strumentate; la sua densità e il suo spessore variano a seconda del tipo di strumentazione: da 1 a 5 micron (1) per lo strato superficiale (*smear layer*), e fino a 40 micron per quello intratubulare (*smear plugs*).

Nella comunità endodontica non vi è unanimità di consenso circa l'importanza della rimozione dello *smear layer* e degli *smear plugs* (43). Nello *smear layer* e sotto di esso è stato provato che possono sopravvivere e moltiplicarsi i batteri (44-48); inoltre lo *smear layer* ostacola l'azione degli irriganti e delle medicazioni intracanalari impedendone la penetrazione all'interno dei tubuli dentinali (49-57).

Le capacità di sigillo dei materiali da otturazione canalare con o senza la presenza di *smear layer* sono state oggetto di numerosi studi. Molti studi mostrano la capacità dei materiali da otturazione di penetrare all'interno dei tubuli dentinali (58-66). Questo

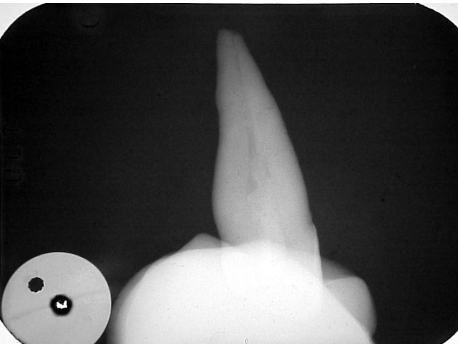


Fig. 7

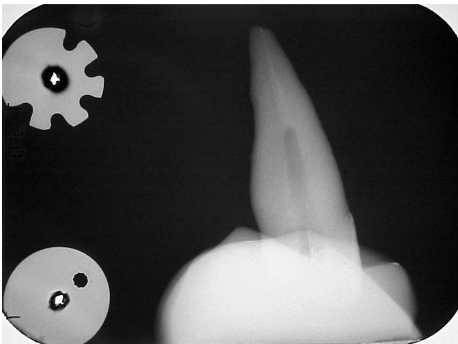


Fig. 8

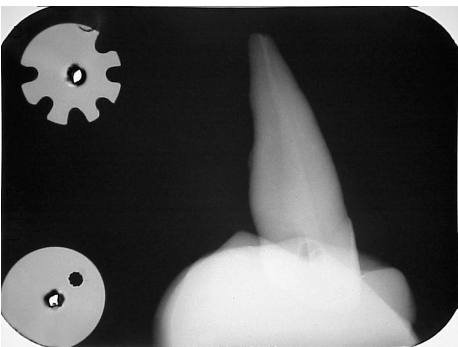


Fig. 9

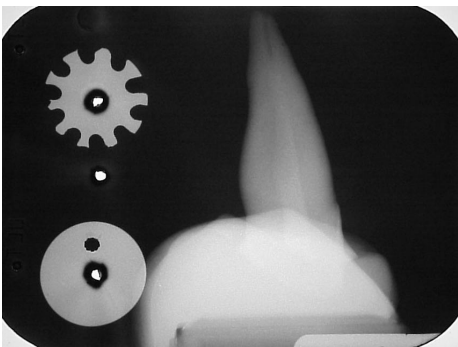


Fig. 10

Figg. 7-10 - Esempio di radiografie ottenibili attraverso l'uso alternato di Hypaque e ipoclorito di sodio come soluzione irrigante durante la terapia endodontica.

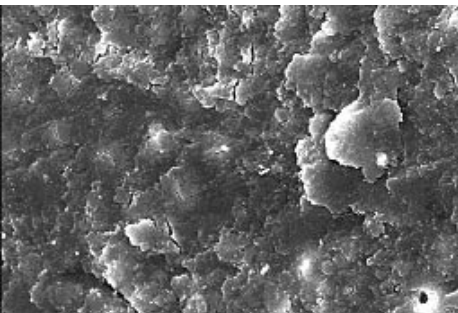


Fig. 11 - Fitto strato di smear layer presente sulle pareti canalari dopo la sagomatura dei canali (courtesy Prof. G. Gambarini).

dovrebbe garantire un migliore sigillo, ma non tutti gli studi sostengono però questa teoria, che comunque prende in considerazione solo materiali tradizionali, quali la guttaperca, e non i nuovi materiali sintetici adesivi, sui quali però la letteratura è ancora insufficiente per trarre conclusioni definitive. Va rilevato che in ogni caso i nuovi materiali da otturazione canalare sintetici che prevedono l'utilizzo di un a base acetonica

rendono indispensabile la rimozione dello smear layer (67).

Ad oggi è comunque possibile affermare che la presenza di smear layer non sembra influenzare la capacità di sigillo della guttaperca calda compattata verticalmente (68). Al contrario la rimozione dello smear layer migliora i valori di microinfiltrazione di un'otturazione con cemento resinoso; è invece ininfluente nell'otturazione con un cemento a base di ossido di zinco-eugenolo (69). Infine secondo Goldberg (64) e Villegas (70) il riempimento di canali secondari sembra favorito dalla rimozione dello smear layer.

#### Come rimuovere lo smear layer

Negli anni sono stati proposti numerosi materiali per rimuovere lo smear layer dai canali: acido formico (71), ascorbico, lattico, poliacrilico, ortofosforico (44, 72) tannico (73) solo per citarne alcuni. Attualmente le soluzioni maggiormente impiegate sono soluzioni a base di EDTA e soluzioni con acido citrico.

#### EDTA

L'EDTA è stato introdotto in endodonzia da Nygaard-Ostby nel 1957, che ne raccomandava l'uso in soluzione al 15% (74). Nel 1963 lo stesso Autore, insieme a Vod der Fehr propose l'aggiunta di un detergente per ridurre la tensione superficiale e favorirne la penetrazione in tutto il sistema canalare (1). Questa idea è stata recentemente ripresa e sono adesso presenti in commercio delle soluzioni di EDTA al 17% associate ad un detergente.

L'EDTA veniva impiegato inizialmente per favorire la strumentazione endodontica in particolare nei canali stretti e/o calcificati e solo in un secondo tempo è stato proposto per la rimozione dello smear layer. Esistono inoltre paste e gel contenenti sostanze chelanti unite a lubrificanti che sono impiegate abitualmente nelle fasi iniziali del trattamento.

#### Proprietà chimiche dell'EDTA

L'EDTA (acido etilen-diammino-tetra-acetico) è un sostanza chelante; gli agenti chelanti sono in grado di legarsi chimicamente agli ioni positivi multivalenti: in endodonzia questo si traduce con la capacità dell'EDTA di captare gli ioni calcio mediante un legame coordinativo o dativo, formando dei cosiddetti "complessi chelati", dando luogo al sale etilendiaminotetracetato di calcio. Questa sostanza agisce quindi principalmente sui tessuti duri del dente e pertanto sulla componente inorganica dello smear layer. Esistono numerosi studi che dimostrano la capacità dell'EDTA in soluzione di rimuovere lo smear layer (72, 75-80) (Fig. 12). La concentrazione più efficace risulta essere quella tra il 10% e il 17% (82) Vista la sua

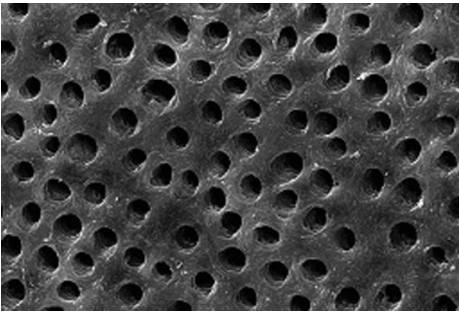


Fig. 12 - Pareti canalari prive di smear layer dopo un trattamento con una soluzione chelante (courtesy Prof. G. Gambarini).

spiccata azione demineralizzante, direttamente proporzionale al grado di acidità, l'EDTA viene normalmente fornito sotto forma di soluzioni tamponate con valori di pH di 6,5-7. L'EDTA tamponato risulta attivo non solo sugli ioni calcio, ma anche sulla componente proteica non collagenica della dentina (NCP). Essendo la percentuale di NCP inferiore nel terzo apicale, si suppone che sia questa una delle cause del peggior grado di rimozione che si ottiene in questa zona del canale (83).

La microdurezza della dentina sana è tra i 40 e i 75 Hv (durezza Vickers) (84, 85): questa durezza aumenta dal lume canale verso la giunzione cemento-dentinale e decresce in senso apico-coronale (86). La durezza delle pareti canalari risulta invece costante (87). Gli agenti chelanti riducono la durezza della dentina di circa 20 Hv (88). Già dopo 5 minuti di applicazione questa variazione di durezza avviene nelle zone adiacenti al lume canale (89). Questi effetti sono più evidenti nel terzo coronale e medio, mentre nella zona più apicale e nelle zone più ristrette dei canali la durezza non viene a diminuire: le ragioni di questa differenza vanno ricercate sia nella limitata quantità di soluzione che agisce in queste zone (90, 91), sia per la differenza strutturale della dentina (92, 93).

La permeabilità della dentina è condizionata dal numero e dal diametro dei tubuli dentinali; la densità di questi si riduce nel tratto più apicale, di conseguenza anche la permeabilità sarà ridotta in questo tratto (94). Inoltre, la dentina non è uniformemente mineralizzata e, frequentemente, quella apicale risulta sclerotica (95). Il numero dei tubuli per millimetro quadrato decresce dalla giunzione pulpo-dentinale verso quella cemento-dentinale (96), così come il diametro dei tubuli (da 1,2  $\mu$  a 0,4  $\mu$ ) (97). La permeabilità della dentina è direttamente proporzionale all'area dei lumi tubulari ed inversamente proporzionale allo spessore delle pareti canalari (98). Lo *smear layer* provoca una diminuzione della permeabilità della dentina del 25-49% (99-101). La permeabilità della dentina aumenta invece impiegando l'EDTA (47, 88, 102): questo aumento di permeabilità permette un maggiore attività ed efficacia dei medicamenti endodontici (103).

#### Impiego dell'EDTA

Poiché l'EDTA è attivo sulla componente inorganica dello *smear layer* ma non su quella organica, numerosi Autori ne hanno rac-

comandato l'impiego in associazione con l'ipoclorito di sodio (50, 104, 105). Bisogna tenere però presente che la capacità dell'EDTA di chelare gli ioni calcio e la capacità dell'ipoclorito di dissolvere i tessuti necrotici diminuiscono se queste due sostanze sono messe in contatto tra loro. Infatti, la percentuale di clorina libera crolla dallo 0,50% allo 0,06% se l'ipoclorito viene messo in soluzione con l'EDTA (106).

L'EDTA si trova attualmente in commercio in soluzione acquosa, o sotto forma di paste o gel in associazione (tensioattivi o lubrificanti). Le paste sono raccomandate nelle fasi iniziali del trattamento (87) e come lubrificanti durante la strumentazione con strumenti in Ni-Ti. In contrasto con quest'impiego delle paste a base di EDTA nelle fasi precoci, Peters e coll. hanno osservato migliori risultati con l'EDTA in soluzione rispetto all'uso di paste a base di EDTA. (107). Con l'impiego dell'EDTA si ottengono pareti canalari molto più pulite che con il solo ipoclorito, anche se la completa rimozione dello *smear layer* non è stata ancora mai ottenuta, in particolare nel terzo apicale. Ciò è confermato da numerosi studi (108-113).

Molti studi indicano che la demineralizzazione, la durezza dentinale e la pulizia delle pareti canalari dipendono dal tempo di impiego della soluzione (75, 82, 114, 115). Una buona azione di pulizia si otterrebbe in tempi compresi tra 1 e 5 minuti (51, 82, 114, 116). Un tempo di azione prolungato (10 min) porterebbe ad un'eccessiva erosione peritubulare (117). Questa erosione non dipenderebbe dal solo EDTA ma dalla combinazione di questo con l'ipoclorito (118). Infine, contrariamente a quanto avviene per l'ipoclorito di sodio, l'azione dell'EDTA all'interno dello spazio endodontico non risulta proporzionale alla quantità di soluzione impiegata per il lavaggio; se si valuta la rimozione di *smear layer* e di detriti, un ultimo lavaggio di 1 ml dà risultati sovrapponibili ad un ultimo lavaggio di 10 ml (119).

#### Sostanze acide

Numerosi tipi di acidi sono stati impiegati per rimuovere lo *smear layer*: tutti esplicano la loro azione oltre che sullo *smear layer* anche sulle strutture dentali, demineralizzando la dentina.

Bowen nel 1978 ha condotto un ampio studio su quelle che dovrebbero essere le pro-

prietà di una soluzione acida per la rimozione dello *smear layer*: si dovrebbero usare soluzioni isotoniche (0,16 M per evitare fenomeni osmotici), tamponate (per evitare innalzamenti del pH da parte delle sostanze dissolte), e con un pH non oltre 1 unità maggiore rispetto a quello dell'acido (120). In campo endodontico, l'acido citrico è quello maggiormente impiegato: infatti tra le varie sostanze acide impiegate è quella che provoca un allargamento minore dei tubuli. L'acido citrico è stato sperimentato in concentrazioni che variano dal 6% (121) al 50% (1, 44) sia da solo che associato all'ipoclorito di sodio: in questi studi l'acido citrico è risultato efficace dopo 60 secondi nella rimozione dello *smear layer* sia superficiale che intratubulare.

Meryon, confrontando l'azione di varie soluzioni, osserva che l'acido citrico è secondo solo all'EDTA nella rimozione dello *smear layer* (1). L'acido citrico è risultato efficace nella rimozione del fango dentinale sia al 25% che al 6%, quando usato in associazione all'ipoclorito di sodio (50, 122). Ne è invece sconsigliato l'impiego da solo poiché si è dimostrato scarsamente efficace sia nella rimozione dei detriti sia nell'azione antibatterica (50).

Di Lenarda e collaboratori (123, 124) non hanno trovato differenze statisticamente significative nella rimozione dello *smear layer* tra EDTA al 15% in soluzione con cetrimide e acido citrico al 19%, quando impiegati in associazione con ipoclorito di sodio al 5%. Machado-Silveiro e coll. hanno analizzato l'azione di decalcificazione dell'EDTA e dell'acido citrico concludendo che il più efficace agente decalcificante è l'acido citrico al 10% (125).

Recentemente l'uso dell'acido citrico come irrigante è tornato di grande attualità per l'introduzione di una nuova soluzione per la rimozione dello *smear layer*: l'MTAD. Questa soluzione è infatti composta da acido citrico, doxiciclina (un isomero della tetraciclina) e un detergente (126). La doxiciclina viene proposta per l'uso in parodontologia per la sua attività antibatterica associata alle proprietà chelanti e di substantività (127). Barkhordar et al. (128) e Haznedaroglu e Ersev (129) raccomandano l'uso della tetraciclina HCl per la rimozione dello *smear layer* dalle superfici canalari preparate.

Le tetraciline, incluse tetraciclina HCl, minociclina e doxiciclina, sono antibiotici ad ampio spettro. Le tetraciline hanno altre proprietà peculiari, oltre alle loro capacità



antimicrobiche: hanno un pH basso e hanno una azione chelante verso il calcio (130). La azione di demineralizzazione superficiale della dentina è infatti comparabile a quella dell'acido citrico (131). In aggiunta a questo la tetraciclina ha tra le sue proprietà quella della substantività (poiché è adsorbita e viene lentamente rilasciata dalla dentina e dal cemento radicolare) (131, 132). Torabinejad e coll. hanno testato numerose sostanze in varie concentrazioni in associazione alla doxiciclina. La migliore associazione è risultata essere quella con l'acido citrico impiegato per 5 minuti insieme alla doxiciclina. A questa soluzione è stato poi aggiunto un agente tensioattivo (twenn-80) per migliorare la penetrazione all'interno dei tubuli (126).

L'azione solvente sulla polpa e sulla dentina risulterebbe simile a quella dell'EDTA: la differenza maggiore è l'elevata affinità a legarsi con la dentina della doxiciclina (133). L'MTAD non provocherebbe variazioni della resistenza alla flessione né al modulo di elasticità della dentina (134); inoltre i denti trattati per 20 minuti con ipoclorito di sodio all'1,3% e poi per 5 minuti con MTAD non necessiterebbero di ulteriori manovre per mordenzare la dentina prima dell'applicazione di un adesivo dentale (135).

Da un altro studio risulterebbe che la soluzione più indicata per essere usata con l'MTAD sia quella alla concentrazione di 1,3% (136): questa combinazione garantirebbe una azione efficace anche contro l'*Enterococcus faecalis* (137). L'MTAD infine risulterebbe meno citotossico dell'EDTA, dell'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e dell'ipoclorito di sodio al 5% ma più citotossico dell'ipoclorito di sodio all'1,3%, 2,63% e 0,66% (138). Tutti gli studi che abbiamo citato sull'MTAD sono però frutto di un solo gruppo. Aspettiamo quindi altri lavori di altri ricercatori che confermino quanto sopra scritto.

## CONSIDERAZIONI CLINICHE

La completa detersione (rimozione completa del substrato organico ed inorganico) dei sistemi endodontici è attualmente un obiettivo non raggiungibile. Le complessità anatomiche rendono infatti alcune zone del sistema di canali radicolari difficilmente accessibili agli irriganti, impedendone l'azione. In altre zone l'esigua quantità di irrigante

penetrato non è spesso sufficiente a garantire una efficace azione.

Alcuni recenti studi hanno sottolineato come ad una più ampia preparazione apicale corrisponda un miglior grado di pulizia delle pareti canalari (139, 140). Ciò è probabilmente imputabile a due fattori: la maggiore detersione meccanica effettuata con gli strumenti endodontici e la migliore penetrazione degli irriganti stessi.

Alcune tecniche di preparazione dei canali con strumenti manuali, se eseguite *lege artis*, permettevano di ottenere pareti canalari pressoché prive di *smear layer* (141). Il tempo necessario ad ottenere questo tipo di preparazioni era abbastanza lungo e ciò, unito alle frequenti ricapitolazioni e ai numerosi lavaggi che queste tecniche prevedevano (garantendo un buon turnover degli irriganti nel terzo apicale), permetteva all'ipoclorito di sodio di avere un'azione solvente sui tessuti organici molto efficace (non esisteva il problema di quanto tempo fare agire l'ipoclorito al termine della preparazione). Infine, non essendo quasi presente grazie alla azione delicata degli strumenti manuali lo *smear layer* (o perlomeno in minime quantità rispetto alla strumentazione rotante), non esisteva l'esigenza primaria di una sua rimozione.

Queste tecniche erano e sono però fortemente operatore-dipendenti, sono lunghe e possono essere eseguite in maniera non corretta. Ben vengano quindi preparazioni più standardizzate che permettano un migliore controllo e perciò una migliore qualità delle nostre otturazioni endodontiche.

Le nuove tecniche che prevedono l'impiego di strumenti rotanti in Ni-Ti semplificano le fasi di sagomatura ma rendono più complessa la detersione dei canali radicolari ponendoci alcuni interrogativi.

Gli strumenti rotanti lasciano sulle pareti del canale uno strato di *smear layer*: questo strato non è omogeneo e non è quasi mai presente su tutta la superficie del canale, anche perché la dentina stessa, come abbiamo visto in precedenza, non è omogenea e non reagisce in maniera identica agli agenti demineralizzanti e chelanti. Come è possibile pertanto stabilire quale è il tempo necessario per rimuovere completamente lo *smear layer* dalle pareti canalari senza creare un erosione della dentina peritubulare nelle zone che hanno uno strato più sottile di *smear layer* o in quelle che non essendo state strumentate ne sono prive? Non è un caso che Hulsman e coll. (87), concludendo una

magnifica revisione della letteratura sulle sostanze chelanti e sul loro impiego, indichino un tempo d'impiego clinico dell'EDTA compreso tra 1 e 5 minuti!

Il secondo interrogativo, se vogliamo ancora più complesso, è quello che riguarda la dissoluzione dei tessuti organici. Le zone di superficie canalare non strumentate sono in media tra il 20% e il 40%. In queste zone non strumentate l'unica detersione possibile è quella chimica; ma quali sono i tempi necessari agli irriganti per dissolvere completamente tutto il tessuto presente? E, una volta scelti il tipo di irrigante, la sua temperatura di impiego, il diametro dell'ago con cui effettuare i lavaggi e la sua profondità di inserzione, quale sarà la quantità di irrigante da impiegare per ogni singolo lavaggio o per una terapia di un canale?

Una interessante prospettiva viene da un recente lavoro *in vivo* in cui gli Autori hanno osservato un notevole miglioramento nella qualità della detersione delle pareti canalari e nelle zone non strumentate dagli strumenti rotanti dopo l'applicazione per un 1 minuto, al termine della strumentazione, di ultrasuoni all'interno del canale mediante una sonda ultrasonica (142).

## CONCLUSIONI

Tutto ciò che attualmente noi facciamo nella nostra pratica endodontica quotidiana per quello che riguarda il trattamento chimico dello spazio endodontico è migliorabile: la conoscenza dei diversi meccanismi di azione e le intuizioni di grandi clinici hanno aperto una strada che però è ancora molto lunga da percorrere. A tutt'oggi non abbiamo possibilità di indicare un protocollo di irrigazione che possa essere usato nelle diverse situazioni cliniche per garantire una perfetta pulizia delle pareti canalari. Altre sostanze, oltre a quelle da noi descritte, sono impiegate attualmente in endodonzia come irriganti canalari, ma il loro impiego è marginale e non abbiamo ritenuto necessario descriverle, così come non abbiamo dedicato spazio alle reazioni avverse che pure esistono per ogni soluzione irrigante.

Recentemente l'interesse della comunità endodontica è stato focalizzato soprattutto sulla sagomatura e sulla otturazione tridimensionale, forse trascurando (a torto!) la fase di "detersione", che unitamente alle al-

tre due concorre al raggiungimento del successo endodontico. Se sagomatura e otturazione hanno raggiunto dei buoni livelli di standardizzazione e di predicibilità dei risultati, bisogna allora cercare di raggiungere una codifica anche dei protocolli di irrigazione da usare nelle diverse situazioni cli-

niche che affrontiamo, per assicurare quantomeno una certa ripetibilità nella rimozione sia delle componenti organiche che di quelle inorganiche e dello *smear layer*. La ricerca di nuovi materiali e di nuove metodiche di irrigazione, insieme ad una ancora più approfondita conoscenza dei mecca-

nismi e delle dinamiche di azione delle soluzioni irriganti potrà portare ad un maggiore controllo di ciò che avviene all'interno del sistema di canali radicolari durante le nostre terapie endodontiche, rendendo ancora più predicibile e sicuro il successo terapeutico.

## BIBLIOGRAFIA

- Goldman LB, Goldman M, Kronman JM, Sun Lin P: The efficacy of several irrigation solution for endodontics a SEM study. *Oral Surg* 1981; 52 (2): 197-204.
- Mader CL, Baumgartner JC, Peters DD. SEM investigation of the smeared layer on root canal walls. *J Endodon* 1984; 10 (10): 477- 483.
- Tucker DM, Wenckus CS, Bentkover SK. Canal wall planning by engine-driven nickel-titanium instruments, compared with stainless-steel hand instrumentation. *J Endodon* 1997; 23: 170-3.
- Wu MK, Wesselink PR. A primary observation on the preparation and obturation of oval canals. *Int Endod J* 2001;34:137-41.
- Tan BT, Messer HH. The quality of apical canal preparation using hand and rotary instruments with specific criteria for enlargement based on initial apical file size. *J Endodon* 2002; 28: 658-64.
- Rödig T, Hülsmann M, Muhge M, Schäfers F. Quality of preparation of oval distal root canals in mandibular molars using nickel-titanium instruments. *Int Endod J* 2002;35:919-28.
- Weiger R, El Ayouti A, Löst C. Efficiency of hand and rotary instruments in shaping oval root canals. *J Endodon* 2002;28:580-3.
- Naenni N, Thoma K, Zehnder M. Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential Endodontic irrigants. *J Endod.* 2004 Nov; 30(11): 785-7.
- Grossman, L: Irrigation of root canals. *J.A.D.A.*, 30: 1915-17, 1943.
- Shih M, Marshall J, Rosen S.: The bactericidal efficiency of sodium hypochlorite as an endodontic irrigant. *Oral Surg.*, 29(4):613-19,1970
- Harrison J, et al.: Comparison of the antimicrobial effectiveness of regular and fresh scent Clorox. *J. Endod.*,7:328-30, 1990.
- Ayhan H, Sultan N, Cirak M, Ruhi MZ, Bodur H. Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms. *Int Endod J.* 1999 Mar;32(2):99-102.
- Siqueira Junior JF, Batista MM, Fraga RC, de Uzeda M. Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented Gram-negative anaerobes and facultative bacteria. *J Endod.* 1998 Jun;24(6):414-6.
- Estrela CR, Estrela C, Reis C, Bammann LL, Pecora JD. Control of microorganisms *in vitro* by endodontic irrigants. *Braz Dent J.* 2003; 14(3): 187-92. Epub 2004 Mar 29.
- Abdullah M, Ng YL, Gulabivala K, Moles DR, Spratt DA.: Susceptibilities of Two Enterococcus faecalis Phenotypes to Root Canal Medications. *J Endod.* 2005 Jan;31(1):30-6.
- Siqueira Junior JF, Rocas IN, Favieri A, Lima KC. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. *J Endod.* 2000 Jun;26(6):331-4.
- Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. *In vitro* antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of Enterococcus faecalis. *Int Endod J.* 2001 Sep;34(6):424-8.
- Izu KH, Thomas SJ, Zhang P, Izu AE, Michalek S. Effectiveness of sodium hypochlorite in preventing inoculation of periapical tissues with contaminated patency files. *J Endodon.* 2004 Feb;30(2):92-4
- Grey CG.: The capabilities of sodium hypochlorite to digest organic debris from root canal, with emphasis on accessory canals. B.U. Thesis 1970.
- Hand R, Smith M, and Harrison J. Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. *J. Endodon.*,4(29):60-64,1978
- Gordon T, Damato D, and Christner P. Solvent effect of various dilutions of sodium hypochlorite on vital and necrotic tissue. *J. Endodon.*, 7(10): 466-69, 1981.
- Spano JC, Barbin EL, Santos TC, Guimaraes LF, Pecora JD. Solvent action of sodium hypochlorite on bovine pulp and physico-chemical properties of resulting liquid. *Braz Dent J.* 2001;12(3):154-7.
- Cunningham W, and Balekjin A. Effect of temperature on collagen-dissolving ability of sodium hypochlorite endodontic irrigant. *Oral Surg.*, 49 (2):175-77, 1980.
- Berutti E, Marini R. A scanning electron microscopic evaluation of the debridement capability of sodium hypochlorite at different temperatures. *J Endodon.* 1996 Sep; 22(9):467-70.
- Kamburis JJ, Barker TH, Bartfield RD, Eleazer PH. Removal of organic debris from bovine dentin shavings *J. Endodon* 2003;29(9):559-561.
- Frais S, Gulabivala K. Some factors affecting the concentration of available chlorine in commercial sources of sodium hypochlorite. *Int Endod J* 2001;34:206.
- Sirtes G, Waltimo T, Schaetzle M, Zehnder M. The Effects of Temperature on Sodium Hypochlorite Short-Term Stability, Pulp Dissolution Capacity, and Antimicrobial Efficacy. *J. Endodon* 2005; 31(9): 669-67.
- Ahmad M. Measurements of temperature generated by ultrasonic file *in vitro*. *Endod Dent Traumatol* 1990; 6(5):230-231.
- Rosenfeld E. Vital pulp tissue response to sodium hypochlorite. *J. Endodon* 1978; 4:140-46.
- Franco V, Fabiani C. Studio sulla capacità detergente del NaOCl in rapporto al tempo di azione ed alla temperatura. Studio *in vivo*. 24° Congresso Nazionale S.I.E.: Torino 2003.
- Niemann RW, Dickinson GL, Jackson CR, Wearden S, Skidmore AE. Dye ingress in molars: furcation to chamber floor. *J Endodon.* 1993 Jun;19(6):293-6.
- Ram Z. Effectiveness of root canal irrigation. *Oral Surg.*, 44(2): 306-12, 1977.
- 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*. *Int Endod J.* 2005 Feb;38(2):97-104.
- Ruddle C. L'accesso endodontico Simit-day: 6 Febbraio 2004.
- Schilder H. Cleaning and shaping of the root canal. *D.C.N.A.*,18:2,1974.
- Salzgeber R. and Brillant J. An *in vivo* evaluation of the penetration of the irrigating solution in root canals. *J. Endodon* 1977; 3(10): 394-98.
- Yana Y. An *in vivo* comparative study of the penetration of sodium Hypochlorite in root canal systems during cleaning and shaping pro-



- cedures using the B.U. technique and the sonic instrumentation. *B.U. Thesis* 1988.
38. Machtou P. Investigations sur l'irrigation en Endodontie. *M.S. Thesis, Paris 7 University* 1980.
39. Franco V, Fabiani C. Importanza della detersione del sistema dei canali radicolari per la predicibilità di successo della terapia endodontica. 22° Congresso Nazionale S.I.E.:Milano 2001.
40. McComb D, Smith D. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *Journal of Endodontics* 1975;1, 238-42.
41. Sen B, Wesselink P, Türkün M. The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. *Int. Endod J* 1995 ; 28, 14-18.
42. Torabinejad M, Handysides R, Khademi A, Bakland L. Clinical implications of the smear layer in endodontics. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics* 2002; 94, 658-66.
43. Moss HD, Allemang JD, Johnson JD. Philosophies and Practices Regarding the Management of the Endodontic Smear Layer: Results from Two Surveys. *J Endodon* 2001;27:537-539.
44. Brännström M, Johnson G. Effects of various conditioners and cleaning agents on prepared dentin surfaces: a scanning electron microscopic investigation. *Journal of Prosthetic Dentistry* 1974; 31, 322-30.
45. Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scandinavian Journal of Dental Research* 1981; 89, 321-8.
46. Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology* 1983; 55, 307-12.
47. Brannstrom M. Smear - layer : phatological and treatment considerations. *Oper Dent* 1984; Suppl. 3; 35-42.
48. Brännström M, Nordervall K. Bacterial penetration: pulpal reaction and the inner surface of concise enamel pond. Composite fillings in etched and unetched cavities. *Journal of Dental Research* 57, 3-10.
49. Baumgartner J, Mader C. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. *Journal of Endodontics* 1987; 13, 147-57.
50. Yamada R, Armas A, Goldman M, Lin P. A scanning electron microscopic comparison of a high-volume final flush with several irrigation solutions. Part III. *Journal of Endodontics* 1983; 9, 137-42.
51. Goldberg F, Abramovich A. Analysis of the effect of EDTAC on the dentinal walls of the root canal. *J Endodon* 1977; 3, 101-5.
52. Drake D, Wiemann A, Rivera E, Walton R. Bacterial retention in canal walls in vitro: effect of smear layer. *Journal of Endodontics* 1994; 20, 78-82.
53. Ørstavik D, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endodontics and Dental Traumatology* 1990; 6, 142-9.
54. Wayman B, Kopp W, Pinero G, Lazzari E. Citric and lactic acids as root canal irrigants in vitro. *J Endodon* 1979 ; 5, 258-65.
55. Farouz R, Delzangles B., Laurent E. L'enduit pariétel endodontique. Première partie : Pourquoi faut - il l'éliminer? *Revue d'odonto - stomatologie* 1988; 17(2) 107 - 115.
56. Czonstowsky M, Wilson E G, Holstein F A, the smear layer in Endodontics. *Dental Clinics of North America* 1990; 34 (1) 13 - 25.
57. Diamond A, Carrel R. The smear layer: a review of restorative progress. *Journal of Pedodontics* 1984;8, 219-26.
58. White R, Goldman M, Lin P. The influence of the smeared layer upon dentinal tubule penetration by plastic filling materials. *Journal of Endodontics* 1984; 10, 558-62.
59. White R, Goldman M, Lin P. The influence of the smeared layer upon dentinal tubule penetration by endodontic filling materials. Part II. *Journal of Endodontics* 1987; 13, 369-74.
60. Petschelt A, Stumpf B, Raab W. Dichtigkeit von Wurzelfüllungen mit und ohne Schmier-schicht ('Smear-Layer'). *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift* 1987; 2, 743-6.
61. Petschelt A, Erbert J, Hickel R. Dichtigkeit von Wurzelfüllungen in schmier-schichtfreien Wurzelkanalen *Dtsch. Zahnärztl* 1988; 43, 884-886.
62. Kennedy W, Walker W, Gough R. Smear layer removal effects on apical leakage. *Journal of Endodontics* 1986; 12, 21-7.
63. Madison S, Krell K. Comparison of ethylenediaminetetraacetic acid and sodium hypochlorite on the apical seal of endodontically treated teeth. *Journal of Endodontics* 1984; 10, 499-503.
64. Goldberg F, Bernat M, Spielberg C, Massone E, Plavano S. Analysis of the effect of ethylenediaminetetraacetic acid on the apical seal of root canal fillings. *Journal of Endodontics* 1985;11, 544-7.
65. Evans J, Simon J. Evaluation of the apical seal produced by injected thermoplasticized gutta-percha in the absence of smear layer and root canal sealer. *Journal of Endodontics* 1986; 12, 1017.
66. Timpawat, Vongsavan, Messer. Effect of removal of the smear layer on apical microleakage. *J Endod* 2001; 27: 351-353.
67. Shipper G, Ørstavik D, Teixeira FB, Trope M. An evaluation of microbial leakage in roots filled with a thermoplastic synthetic polymer-based root canal filling material (Resilon). *J Endod.* 2004 May;30(5):342-7.
68. Valle Froes JA, Parreira Horta GH, Barbosa A. Smear Layer Influence on the Apical Seal of Four Different Obturation Techniques. *J Endodon* 2000;26:351-354
69. Economides N, Liolios E, Kolokuris I, Beltes P. Long term evaluation of the influence of sSmear layer removal on the sealing ability of different sealers. *J Endodon* 1999;25:123-125.
70. Villegas JC, Yoshioka T, Kobayashi C, Suda H. Obturation of Accessory Canals After Four Different Final Irrigation Regimes. *J Endod* 2002;28:534-536.
71. Negri P,L, Eramo S, Lotito M, De Pino C, Della Ventura D. Il fango dentinale – caratteristiche ed interazioni (Parte II). *Dental Cadmos* 4. 13, 1991.
72. Meryon SD, Tobias RS, Jakeman KJ, Smear removal agents: a quantitative study *in vivo* and *in vitro*. *J Prosthet Dent* 1987; 57(2): 174-179.
73. Bitter N. C. Tannic acid for smear layer removal: Pilot study with SEM. *J Prosthet Dent* 1989; 61 (4) 503-507.
74. Nygaard-Ostby B. Chelation in root canal therapy: ethylenediaminetetraacetic acid for cleansing and widening of root canals. *Odontol. Tidskr* 1957; 65:3.
75. Von der Fehr F, Nygaard Østby B. Effect of EDTAC an sulfuric acid on root canal dentine. *Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology* 1963; 16, 199-205.
76. Ciucchi B, Khattabi M, Holz J. The effectiveness of different endodontic irrigation procedures on the removal of the smear layer: a scanning electron microscopic study. *International Endodontic Journal* 1989; 22, 218.
77. Berg M, Jacobsen E, Begole E, Remeikis A. A comparison of five irrigating solutions: a scanning electron microscopic study. *Journal of Endodontics* 1986; 12, 192-7.
78. Garberoglio R, Becce C. Smear layer removal by root canal irrigants: a comparative scanning electron microscopic study. *Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology* 1994; 78, 35967.
79. Çalt S, Serper A. Smear layer removal by EDTA. *Journal of Endodontics* 2000; 26, 459-61.
80. Di Lenarda R, Cadenaro M, Sbaizero O. Effectiveness of 1 mol L 1 citric acid and 15% EDTA irrigation on smear layer removal. *International Endodontic Journal* 2000; 33, 46-52.
81. Galvan DA, et al. Effect of smear layer removal on the diffusion permeability of human roots. *J Endodon* 1994;20(2):83-6.
82. Berutti E. La detersione del sistema dei canali radicolari. *Giornale Italiano di Endodonzia* 1999; (2): 92-8.
83. Kuboki Y, Fujisawa R, Aoyama K, Sasaki S. Calcium-specific precipitation of dentin phosphoprotein. A new method of purification and significance for the mechanism of calcification. *Journal of Dental Research* 1979; 58, 1926-32. (1979).
84. Patterson S. *In vivo* and *in vitro* studies of the effect of the disodium salt of ethylenediamine tetra-acetate on human dentine and its endodontic implications. *Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology* 1963; 16, 83103.

85. Komiya T, Kröncke A. Mikrohärtemessungen im Wurzelndentin von Zähnen mit gesunder und gangränöser Pulpa. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift* 1968; 23, 975-80.
86. Fromme H, Guttzeit R, Riedel H. Experimentelle Untersuchungen zur Frage der mechanischen und chemischen Wurzelkanalaufbereitung sowie zur Wandständigkeit von Wurzelfüllungsmaterialien. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift* 1970; 25, 865-76.
87. M. Hülsmann, M. Heckendorff & Á. Lennon. Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use. *International Endodontic Journal* 2003 36, 12 e 810-December.
88. Hampson E, Atkinson A. The relation between drugs used in root canal therapy and the permeability of the dentine. *British Dental Journal*(1964) 116, 546-60. )
89. Fraser J. Chelating agents: their softening effect on root canal dentin. *Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology* 1974; 37, 803-11.
90. Cruz-Filho A, Sousa-Neto M, Saquy P, Pecora J. Evaluation of the effect of EDTAC, CDTA, and EGTA on radicular dentin microhardness. *Journal of Endodontics* 2001; 27, 18-34.
91. Pashley D, Okabe A, Parham P. The relationship between dentin microhardness and tubule density. *Endodontics and Dental Traumatology* 1985; 1, 176-9.
92. Mjör I, Smith M, Ferrari M, Mannocci F. The structure of dentine in the apical region of human teeth. *International Endodontic Journal* 2001; 34, 346-53.
93. Vasiliadis L, Darling A, Levers B. The histology of sclerotic human root dentine. *Archives of Oral Biology* 1983; 28, 693-700.
94. Mjör I, Sveen O, Heyeraas K. Normal structure and physiology. In: Mjör I, ed. *Pulpdentin Biology in Restorative Dentistry*. Chicago. USA: Quintessence, pp. 122. (2002)
95. Pashley D. Pulpodentin Complex. In: Hargreaves K, Goodis E, eds. *Seltzer and Bender's Dental Pulp*. Chicago. USA: Quintessence, pp. 63-94, 2002.
96. Pashley DH, Livingston MJ, Reeder GW, Horner J. Effects of the degree of tubule occlusion on the permeability of human dentine in vitro. *Archs. Oral Biol* 1978; 23: 1127.
97. Reeder O, Walton R, Livingston M, Pashley D. Dentin permeability: determinants of hydraulic conductance. *Journal of Dental Research* 1978; 57, 187-93.
98. Pashley D. Smear layer: pathological considerations. *Operative Dentistry* 1984; 9, 13-29.
99. Pashley D, Depew D. Effects of the smear layer, Copalite and oxalate on microleakage. *Operative Dentistry* 1986; 11, 95-102.
100. Pashley D, Tao L, Boyd L, King G, Horner J. Scanning electron microscopy of the substructure of smear layer in human dentine. *Archives of Oral Biology* 1988; 33, 265-70.
101. Fogel H, Pashley D. Dentin permeability: effects of endodontic procedures on root slabs. *Journal of Endodontics* 1990; 16, 442- 5.
102. Cohen S, Stewart G, Laster L. The effects of acids, alkalies, and chelating agents on dentine permeability. *Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology* 1970; 29, 631-4.
103. Guignes P, Faure J, Maurette A. Relationship between endodontic preparations and human dentin permeability measured in situ. *Journal of Endodontics* 1996; 22, 60-7.
104. Goldman M, Goldman L, Cavaleri R, Bogis J, Peck S. The efficacy of several endodontic irrigating solutions: a scanning electron microscopic study. Part 2. *Journal of Endodontics* 1982; 8, 487- 92.
105. Abbott P, Heijkoop P, Cardaci S, Hume W, Heithersay G. An SEM study of the effects of different irrigation sequences and ultrasonics. *International Endodontic Journal* 1991; 24, 308- 16.
106. Grawehr M, Sener B, Waltimo T, Zehnder M. Interactions of ethylenediaminetetraacetic acid with sodium hypochlorite in aqueous solutions. *International Endodontic Journal* 2003; 36, 411- 5.
107. Peters OA, Boessler C, Zehnder M. Effect of liquid and paste-type lubricants on torque values during simulated rotary root canal instrumentation. *International Endodontic Journal* 2005; 8, 223-229.
108. Peters O, Eggert C, Barbakow F. Wurzelkanalobreflächen nach Lightspeed-Präparation im REM dargestellt eine Pilotstudie. *Endodontie* 1997; 6, 225-31.
109. Peters O, Barbakow F. Effects of irrigation on debris and smear layer on canal walls prepared by two rotary techniques: a scanning electron microscopic study. *Journal of Endodontics* 2000; 26, 6-10.
110. Hülsmann M, Schade MJ, Schäfers F. A comparative study of root canal preparation with HERO 642 and Quantec SC rotary NiTi instruments. *International Endodontic Journal* 2001; 34, 538-46.
111. Schäfer E, Lohmann D. Efficiency of rotary nickel-titanium FlexMaster instruments compared with stainless steel hand K-Flexofile. Part 2. *International Endodontic Journal* 2002; 35, 514-21.
112. Foschi F, Nucci C, Montebugnoli L, Marchionni S, Breschi L, Malagnino VA, Prati C. SEM evaluation of canal wall dentine following use of Mtwo and ProTaper NiTi rotary instruments. *Int Endod J*. 2004 Dec;37(12):832-9.
113. Heard F, Walton RE. Scanning electron microscope study comparing four root canal preparation techniques in small curved canals. *Int Endod J*. 1997 Sep;30(5):323-31.
114. Serper A, Çalt S. The demineralizing effects of EDTA at different concentrations and pH. *Journal of Endodontics* 2002; 28, 501-2.
115. Hülsmann M, Heckendorff M. Comparative evaluation of three chelator pastes. *International Endodontic Journal* 2002; 35, 668-79.
116. Scelza M, Teixeira A, Scelza P. Decalcifying effect of EDTA-T, 10% citric acid, and 17% EDTA on root canal dentin. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics* 2003; 95, 23-46.
117. Çalt S, Serper A. Time dependent effects of EDTA on dentin structures. *Journal of Endodontics* 2002; 28, 17-9.
118. Niu W, Yoshioka T, Kobayashi C, Suda H. A scanning electron microscopic study of dentinal erosion by final irrigation with EDTA and NaOCl solutions. *International Endodontic Journal* 2002 ; 35, 934-9.
119. Crumpton B J, Goodell G G, McClanahan S,B. Effects on Smear Layer and Debris Removal with Varying Volumes of 17% REDTA after Rotary Instrumentation. *Journal of Endodontics* 2005 July; 31(7):536-538.
120. Bowen RL, Eick JD, Henderson DA, Anderson DW. Smear layer removal and bonding consideration. *Oper Dent (suppl.)* 1984; 3: 30.
121. Pashley DH., Michelich V, Kehl T.: Dentin permeability :effects of smear layer removal. *J Prosthet Dent* 1981; 46: 531.
122. Bitter N.C. The effect of 25% tannic acid on prepared dentin: A scanning electron microscope - methylene blue dye study. *J. Prosthet Dent* 1990; 64 (1) 12-16.
123. Di Lenarda R., Cadenaro M., Sbaizero O. Effects of citric acid endodontic irrigation on smear-layer removal and dentinal microhardness. *ESE Abstracts. Int Endod J* 1998; 31:193.
124. Di Lenarda R, Cadenaro M., Sbaizero O. Effectiveness of 1 mol L-1 citric acid and 15% EDTA irrigation on smear layer removal. *Int Endod J* 2000;33(1):46-52.
125. Machado-Silveiro L.F., Gonzalez-Lopez S., Gonzalez-Rodriguez M.P. Decalcification of root canal dentine by citric acid, EDTA and sodium citrate. *Int Endod J*. 2004 Jun;37(6):365-9.
126. Torabinejad M, Khademi AA, Babagoli J, Cho Y, Johnson WB, Bozhilov K, Kim J, Shabahang S. A new solution for the removal of the smear layer. *J Endod*. 2003 Mar;29(3):170-5
127. Genco R, Singh S, Krygier G, Levine M. Use of tetracycline in the treatment of adult periodontitis. I. Clinical studies [Abstract]. *J Dent Res* 1978;57:266.
128. Barkhordar RA, Watanabe LG, Marshall GW, Hussain MZ. Removal of intracanal smear by doxycycline *in vitro*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1997; 84: 420-3.
129. Haznedaroglu F, Ersev H. Tetracycline HCl solution as a root canal irrigant. *J Endodon* 2001;27:738 - 40.
130. Bjorvatn K, Skaug N, Selvig KA. Tetracycline-impregnated enamel and dentin: duration of antimicrobial capacity. *Scand J Dent Res* 1985; 93: 192-7.
131. Wikesjö UM, Baker PJ, Christersson LA, et al. A biochemical approach to periodontal regeneration: tetracycline treatment conditions dentin surfaces. *J Periodontal Res* 1986; 21: 322-9.
132. Baker PJ, Evans RT, Coburn RA, Genco RJ.

- Tetracycline and its derivatives strongly bind to and are released from the tooth surface in active form. *J Periodontol* 1983;54:580-5.
133. Beltz RE, Torabinejad M, Pouresmail M. Quantitative analysis of the solubilizing action of MTAD, sodium hypochlorite, and EDTA on bovine pulp and dentin. *J Endod* 2003 May; 29(5): 334-7.
134. Machnick TK, Torabinejad M, Munoz CA, Shabahang S. Effect of MTAD on flexural strength and modulus of elasticity of dentin. *J Endod* 2003 Nov;29(11):747-50.
135. Machnick TK, Torabinejad M, Munoz CA, Shabahang S. Effect of MTAD on the bond strength to enamel and dentin. *J Endod* 2003 Dec;29(12):818-21.
136. 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 Apr;29(4):233-9. Erratum in: *J Endod*. 2003 Jun; 29(6): 424.
137. Shabahang S, Torabinejad M. Effect of MTAD on Enterococcus faecalis-contaminated root canals of extracted human teeth. *J Endod*. 2003 Sep;29(9):576-9.
138. Zhang W, Torabinejad M, Li Y. Evaluation of cytotoxicity of MTAD using the MTT-tetrazolium method. *J Endod*. 2003 Oct;29(10):654-7.
139. Albrecht LJ, Baumgartner JC, Marshall JG. Evaluation of apical debris removal using various sizes and tapers of ProFile GT files. *J Endod*. 2004 Jun;30(6):425-8.
140. Usman N, Baumgartner JC, Marshall JG. Influence of instrument size on root canal debridement. *J Endod*. 2004 Feb;30(2):110-2.
141. Ruddle C. Tecniche avanzate nella detersione e sagomatura del sistema dei canali radicolari. 21° Congresso Nazionale S.I.E.:Roma 2000.
142. Gutarts R, Nusstein J, Reader A, Beck M. In vivo debridement efficacy of ultrasonic irrigation following hand-rotary instrumentation in human mandibular molars. *J Endod*. 2005 Mar; 31(3): 166-70.