

Egle Milia

Ricercatore Università degli Studi di Sassari
Istituto di Clinica Odontoiatrica
Direttore: Prof. Giuliano Falcolini

Corrispondenza:

Dr. Egle Milia
07100 Sassari - Via Duca degli Abruzzi, 12/A
Tel. 079/272030 - Fax 079/228541

Analisi ultrastrutturale della dentina canalare dopo strumentazione con un sistema irrigatorio riscaldato: valutazione sperimentale

An SEM analysis of root canal dentin following instrumentation with warmed irrigation solutions: an experimental study

RIASSUNTO

È stato condotto uno studio al SEM sulla morfologia della parete endodontica strumentata in associazione ad un sistema irrigatorio costituito da NaClO-EDTA-NaClO attivato mediante riscaldamento delle soluzioni alla temperatura corporea (37°C).

La superficie dentinale dei 2/3 coronali ha mostrato, alla scansione, quadri di pressoché totale rimozione dello smear layer e dei detriti canalari con marcata demineralizzazione della dentina peritubulare. Sono state talora riscontrate delle occasionali aree di erosione della componente minerale del canale, verosimilmente attribuibili all'alternarsi delle soluzioni riscaldate sulla superficie endodontica.

Nelle porzioni dei terzi apicali è stato osservato un decremento dell'effetto solubilizzante degli irriganti con minor rimozione dello smear layer e permanenza dei detriti organici ed inorganici sulla parete.

Tale aspetto sembra potersi collegare ad una perdita di efficacia delle soluzioni testate che pare ridursi in rapporto al calibro del lume endodontico.

Parole chiave: Irriganti canalari.

Terapia canalare. Endodonzia.

ABSTRACT

In order to thoroughly eliminate bacteria from infected root canals, it is necessary to use disinfecting agents such as irrigating solutions and intracanal medicaments. The detergent action of irrigation solutions has been investigated in numerous studies; in particular these studies have revealed that a smear layer of primarily calcified debris is compacted against the dentine wall and into the tubule openings as a result of the rasping action of endodontic instruments. The smear layer can be removed by means of the chelating ability of low acids such as EDTA, but EDTA cannot dissolve the organic components of root canals. On the other hand, NaClO, which is the widely recom-

mended irrigating solution in clinical practice for its antiseptic and tissue-dissolving capacity, is unable to remove the mineralized structures.

When, during canal instrumentation, these two solutions are used sequentially between files, the antimicrobial effects of hypochlorite increase and the dentinal wall should appear free from debris and smear layer. More precisely, an SEM ultrastructural analysis shows a morphological, uneven picture of the root canal wall; and often near the clean open dentinal tubule areas, other tubule areas are covered with a smear layer and a variable quantity of root canal debris. The reduced detergent action is typical of the apical third where the narrowness of the canal reduces the irrigation action of the solution due to impeded penetration and reduced canal area.

The properties of the irrigating solution increase with their concentration, but this could be associated with cytotoxic effects. In order to achieve the effectiveness of the more concentrated solutions, they can be activated with the aid of ultrasounds and temperature. The morphology of the dentin wall instrumented with an irrigation system made up of NaClO-EDTA-NaClO warmed to body temperature (37°C) was studied by an SEM analysis.

Materials and Methods

A total of ten single-canal teeth were selected for this study. Conventional access was through the crown. The canals were prepared according to serial technique and irrigated with 2.5% NaClO at 37°C and 15% EDTA pH 7.4 at the same temperature. Ten ml of NaClO were flushed into the canal and 1 ml of the solution was injected with a syringe between each K-file to n. 25 and reamer n. 35. After first recapitulation, 10 ml of EDTA were flushed into the canal and fresh 1 ml increments of the solution were added between each reamer to n. 60. Irrigation with EDTA was maintained during the second recapitulation. The canals were then flushed with 10 ml of NaClO and fresh 1 ml increments of NaClO were ad-

ded after the use of n. 2 and 3 Gates burs. Upon completion of canal preparation, the root canals were rinsed with 5 ml of physiological saline solution and then prepared for an SEM analysis.

Results

The smear layer and canal wall surface debris appear to be entirely removed at the coronal and middle levels of the canal (Fig. 1). Demineralization of peritubular dentine showed at greater magnification and the openings of the tubules appear enlarged, pervious and flared (Figs. 2, 3). Erosion of the mineral matrix with its fracturing and unification of tubular openings could be seen when decomposition involved the intertubular dentin (Fig. 4).

A partially covered smear surface and a few irregular tubule openings were seen in the apical third of the canal as a consequence of a marked decrease in efficacy of the solutions (Fig. 5). Smear plugs, pulpal tissue and scattered debris were evident and often occluded the tubule openings (Fig. 6), while intertubular dentin appeared extremely smooth (Fig. 7).

Discussion and Conclusion

The effectiveness of the irrigation solutions may be in relation to the width of the canal; this is true particularly for chelating agents. Consequently, the progressive narrowing of the canal may reduce the flow of the solutions towards the apex diminishing their effect, and a small volume of EDTA must be present on the root canal surface in order to be fully effective.

When a higher temperature is used to potentiate the efficacy of the irrigation solutions, the solubility of EDTA increases, producing a larger volumetric concentration of the solution per unit of root canal surface. At the same time, the NaClO increases the solvent capacity of the proteic substance in the wider parts of the coronal and middle thirds of the root canal.

The combination of irrigation solutions seemed to have caused progressive dissolution of the canal wall at the expense of the peritubular and intertubular dentine. The ero-

Milia E. Analisi ultrastrutturale della dentina canalare dopo strumentazione con un sistema irrigatorio riscaldato: valutazione sperimentale. *G It Endo* 1995; 1: 19 - 24

sion of the exposed intertubular surface and the enlargement of the dentine tubules on the surface probably resulted from the combined warmed action of the NaClO, which dissolved the organic matter of the dentine, and EDTA, which demineralized the inorganic components. In the apical third, the solutions showed a decrease in both chelating and cleaning capacities with a greater presence of smear layer and surface debris. The intertubular dentin appeared smooth with small irregular tubular openings. When mechanical instrumentation is not supported by an adequate volume of irrigating solutions, especially in the narrower parts of the canal, a greater production of a parietal layer and lesser removal of residue will ensue. This would explain the ultrastructural diversities which characterize the apical third of the canals examined. In conclusion, even through warming, the action of the tested irrigating solutions varies according to canal width. The alternate use of the solutions causes a progressive dissolution of both organic and inorganic components of the dentin; at the same time, they cause partial loss of the root canal surface. In the apical region, however, where the passage is narrower, there is reduced penetration of the irrigation solutions followed by a partial masking of the structures due to the diminishing effectiveness of the solvent.

Key words: Root canal irrigants.

Root canal therapy. Endodontics.

INTRODUZIONE

È dimostrato come la sola strumentazione meccanica non annulli la carica batterica presente nel sistema canalare. Allo scopo, quindi, di provvedere ad una quanto più completa eliminazione dei microrganismi dall'endodonto infetto, vengono utilizzati degli agenti antisettici quali gli irriganti e le medicazioni canalari.

Gli irriganti vengono raccomandati per le seguenti ragioni:

- lubrificazione del canale durante la strumentazione



Fig. 1 - 2/3 coronali: rimozione dello smear layer e dei detriti dal lume endodontico trattato con il sistema NaClO-EDTA-NaClO riscaldato a 37°C.

Fig. 1 - Coronal two-thirds: removal of the smear layer and debris from the root canal using alternate NaClO-EDTA-NaClO irrigants warmed to 37°C.

- rimozione dei detriti per effetto fisico del liquido

- dissoluzione chimica della matrice canalare organica

- dissoluzione chimica della matrice canalare inorganica

- distruzione della componente microbica

- detersione delle porzioni canalari inaccessibili alla strumentazione meccanica (1).

Sono molteplici gli studi che tendono a dimostrare l'azione detergente delle varie soluzioni utilizzate per l'irrigazione endodontica (2-6). In particolare, sulla superficie radicolare strumentata si dimostra la presenza di uno strato più o meno spesso di smear layer, costituito da un accumulo di detriti prevalentemente calcificati, aderenti alla superficie dentinale e ai tubuli aperti, e conseguentemente all'azione della strumentazione meccanica del canale (7).

Lo smear layer può essere rimosso attraverso un meccanismo di chelazione calcica con l'utilizzo di acidi deboli come l'Acido Etilendiammino Tetracetico (EDTA), ma lo stesso non agisce sulla componente organica dell'endodonto. Di contro l'Ipoclorito di Sodio (NaClO), irrigante che più spesso viene raccomandato nella pratica endodontica per la sua azione antisettica e dissolvente sui tessuti molli, è inefficace sulle strutture mineralizzate.

Quando i due irriganti sono utilizzati in sequenza tra i files durante la strumentazione canalare, si incrementa l'effetto disinfettante dell'ipoclorito (8) e la superficie dentinale dovrebbe risultare libera dai detriti e priva di smear layer (1).

Più esattamente, l'indagine ultrastrutturale al microscopio elettronico a scansione (SEM) evidenzia un quadro morfologico

non uniforme della parete endodontica e sovente, accanto ad aree con tubuli dentinali beanti e detersi, sono presenti zone in cui i tubuli sono nascosti dallo smear layer e da una quantità variabile di residui endodontici (9, 10).

È da sottolineare, inoltre, come la minor detersione canalare sia caratteristica peculiare del terzo apicale. In tale porzione del canale, infatti, la ristrettezza del lume vanifica l'efficacia delle soluzioni irriganti in virtù della ridotta capacità di penetrazione dei fluidi e della minore superficie parietale esposta all'azione chimica degli stessi (5). In particolare, il diametro endodontico incide sulla chelazione calcica della parete, cosicché, mentre nelle zone del terzo coronale e medio è presente un rammollimento della sostanza dura radicolare, la durezza della dentina non viene modificata nei terzi apicali del canale (11): di conseguenza, nelle porzioni apicali, è presente uno strato di fango endodontico su cui permangono trucioli dentinali e frustoli di polpa non rimossi dalla strumentazione.

Al fine di incrementare l'efficacia delle soluzioni irriganti queste vengono proposte in varie concentrazioni ma è noto che con l'aumentare delle stesse tendono a manifestarsi anche effetti citotossici (12).

Per evitare tali inconvenienti, in alternativa all'incremento della concentrazione dei fluidi irriganti, vengono utilizzati diversi meccanismi di attivazione delle soluzioni quali gli ultrasuoni (1, 13, 4) e la temperatura (14-16).

Sulla base di tali premesse e nell'ambito di un programma di ricerche sulla detersione chemiomeccanica dell'endodonto, in corso presso l'Istituto di Clinica Odontostomatolo-

gica dell'Università di Sassari (5, 9), è stata condotta un'analisi ultramicroscopica al SEM sulla morfologia della parete dentinale strumentata in associazione ad un sistema irrigatorio costituito da NaClO-EDTA-NaClO utilizzato a temperatura corporea (37°C).

MATERIALI E METODI

Per questo studio sono stati selezionati 10 elementi dentari monoradicolati, avulsi per problemi parodontali e conservati in soluzione fisiologica alla temperatura di 4°C. Attraverso la corona degli elementi è stato praticato un accesso alla camera pulpare, quindi, con un file n. 10 si è provveduto alla determinazione visiva della lunghezza di lavoro fissandola 1 mm al di sotto del punto in cui l'estremità apicale del file compariva a livello del foramen. I denti sono quindi stati sistemati in un alveolo artificiale di silicone per prevenire la fuoriuscita degli irriganti e simulare la naturale contropressione periacicale (9).

Si è proceduto alla strumentazione endodontica mediante la tecnica seriata (17) utilizzando come irrigante un sistema compo-

sto da NaClO al 2,5% alla temperatura di 37°C e EDTA al 15%, tamponato a pH 7,4, alla medesima temperatura.

Gli irriganti sono stati mantenuti a temperatura corporea (37°C) mediante bagnomaria in termostato per tutta la durata dell'esperimento. La detersione chemiomeccanica dell'endodonto è iniziata con la conformazione del terzo apicale in associazione all'utilizzo dell'NaClO.

È stata inizialmente eseguita un'irrigazione con 10 ml di soluzione riscaldata aggiungendo 1 ml della stessa dapprima dopo l'azione di ogni file K, dal # 10 al # 25, e successivamente al lavoro di ogni reamer, dal # 20 al # 35.

È seguita la prima ricapitolazione con reamer dal # 20 al # 35 e si è provveduto alla sostituzione dell'NaClO con l'EDTA eseguendo un primo lavaggio con 10 ml di soluzione affinché fosse certa l'inattivazione dell'NaClO e il ricambio canalare con l'EDTA. Si è ancora immerso nel canale 1 ml di EDTA dopo l'azione di alesaggio con ogni reamer fino al # 60.

L'irrigazione con EDTA è stata mantenuta anche durante la seconda ricapitolazione strumentale eseguita con reamer dal # 20 fino al # 60.

L'EDTA è stato sostituito con l'NaClO nella conformazione coronale con le frese di Ga-

tes dal # 2 al # 3, irrigando inizialmente con 10 ml e in seguito con 1 ml di soluzione dopo l'utilizzo di ogni fresa di Gates.

Successivamente i canali sono stati risciacquati con 5 ml di soluzione fisiologica per allontanare le soluzioni precedentemente usate e si è proceduto all'allestimento delle superfici endodontiche per la loro osservazione al SEM (9).

L'indagine alla scansione è stata condotta con apparecchio I.S.I. D.S. 130 in dotazione presso il Centro di Microscopia Elettronica dell'Università degli Studi di Sassari.

RISULTATI

Nei campioni irrigati con il sistema NaClO-EDTA-NaClO riscaldato a temperatura corporea (37°C), le superfici coronali e medie hanno evidenziato un'asportazione pressoché totale dello smear layer e dei detriti (Fig. 1).

A maggior ingrandimento si è osservata una demineralizzazione che ha interessato la dentina peritubulare; a seguito di tale rimozione gli imbocchi dei tubuli sono apparsi ampi, pervi e leggermente svasati verso il lume endodontico (Figg. 2, 3). Talora, la so-

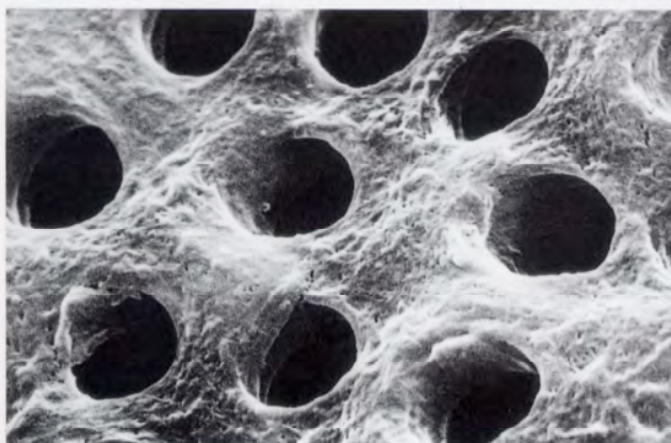


Fig. 2 - 2/3 coronali: gli imbocchi tubulari appaiono ampi, pervi e leggermente svasati in conseguenza della demineralizzazione della dentina peritubulare.

Fig. 2 - Coronal two-thirds: the tubules have "wide", pervious and slightly flared openings as a consequence of the demineralization of peritubular dentin.

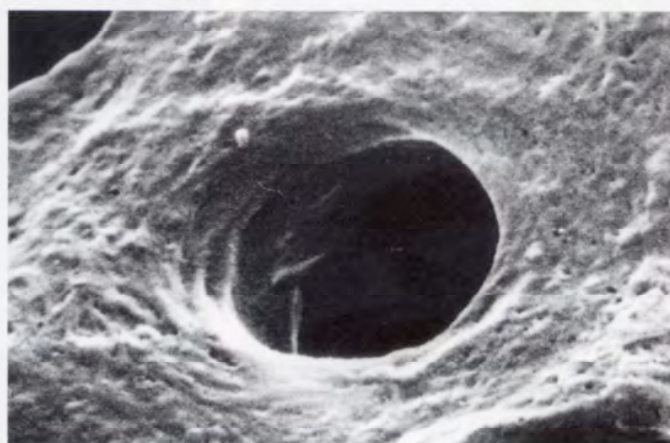


Fig. 3 - Ingrandimento della figura precedente: è evidente la solubilizzazione peritubulare.

Fig. 3 - An enlargement of the previous photograph. Peritubular solubility is evident.

lubilizzazione peritubulare si è estesa alle porzioni intertubulari provocando delle vere e proprie erosioni della sostanza minerale della parete con distacco di questa e comunicazione degli orifizi (Fig. 4).

A livello del tratto apicale le soluzioni utilizzate non hanno condotto alla completa rimozione del fango endodontico, il che ha conferito agli orifizi tubulari un diametro variabile (Fig. 5). Il lume di questi è stato spesso ostruito da residui di materiale amorfo e da accumuli grossolani di tessuto pulpale e dentinale (Fig. 6); la dentina intertubulare, inoltre, è apparsa levigata (Fig. 7).

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

L'utilizzo del sistema irrigatorio NaClO-EDTA-NaClO determina l'allontanamento, dalla superficie endodontica, delle componenti organica e inorganica del canale radicolare: ciò si realizza attraverso una chelazione della sostanza minerale e una solubilizzazione dei tessuti molli.

Il progressivo ridursi del lume canale si oppone al fluire degli irriganti verso le porzioni più apicali condizionandone anche la loro efficacia. Pertanto, il calibro endodontico gioca un ruolo importantissimo sulla detersione della parete dentinale, agevolando le azioni fisiche e chimiche delle soluzioni immerse nel canale (5). La perdita di efficacia di queste, nelle porzioni dei terzi apicali del canale radicolare, è stata descritta soprattutto per l'EDTA (11, 18) e viene attribuita, principalmente, alla ridotta capacità di diffusione della soluzione per la ristrettezza luminare. A tale fatto fa seguito la limitata distribuzione dell'EDTA sulla superficie endodontica. Quando la temperatura è utilizzata per potenziare l'efficacia del sistema irrigatorio, si incrementa la solubilità dell'EDTA con maggiore concentrazione volumetrica della soluzione per unità di superficie esposta e si esalta contemporaneamente, a mezzo dell'NaClO, la capacità solvente sulle sostanze proteiche. Nelle condizioni suddette si determina una dissoluzione pressoché totale della componente orga-

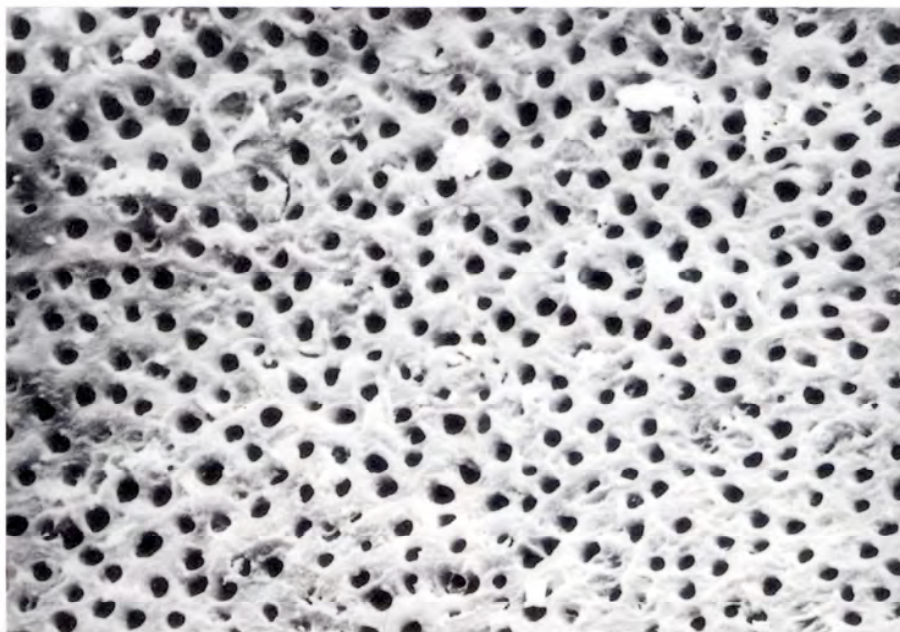


Fig. 4 - 2/3 coronali: la dissoluzione della dentina intertubulare ha talora provocato delle erosioni parietali e comunicazione degli orifizi dei tubuli.

Fig. 4 - Coronal two-thirds: the decomposition of the intertubular dentin has caused some parietal erosion and unification of tubule openings.

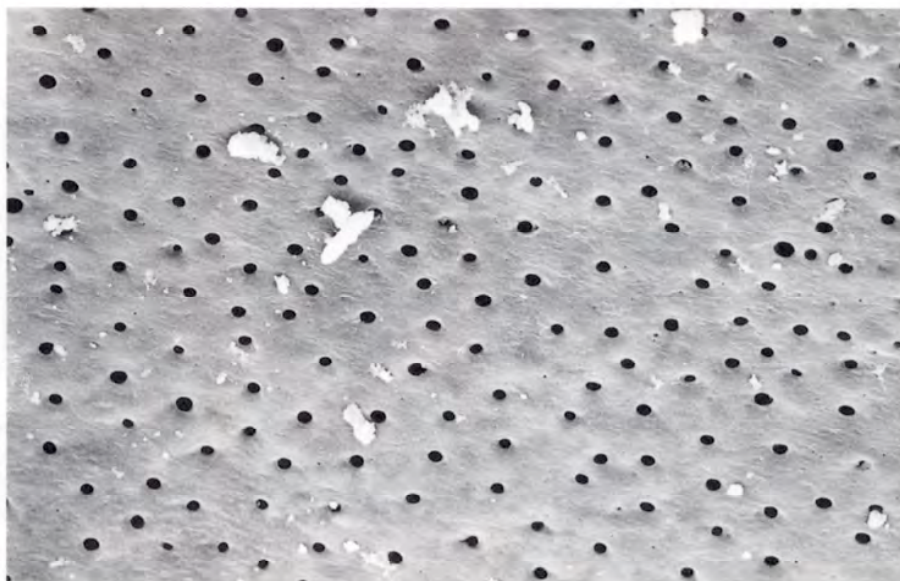


Fig. 5 - 3° apicale: la parziale permanenza dello smear layer sulla parete endodontica conferisce al lume tubulare un diametro variabile.

Fig. 5 - Apical third: remaining fragments of the smear layer on root canal walls are responsible for variations in the diameter of tubular lumina.

Piero Haller
Andrea Gini
Marco Ferrari
Piero De Fazio

Università degli Studi di Roma
Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche
Dottorato Prof. Paolo Bortol
Cattedra di Odontostomatologia
Tutore Prof. Paolo Bortol

Università degli Studi di Roma
Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche
Dottorato Prof. Paolo Bortol
Cattedra di Odontostomatologia
Tutore Prof. Paolo Bortol
Corrispondenza:
Dr. Marco Ferrari - SPN/100000 - 1° modulo
Tel. 06/49400000 - Fax 06/49400001

Estensione apicale della strumentazione e dell'otturazione canalare: revisione della letteratura

Apical limit for instrumentation and obturation of root canals: a review of the literature

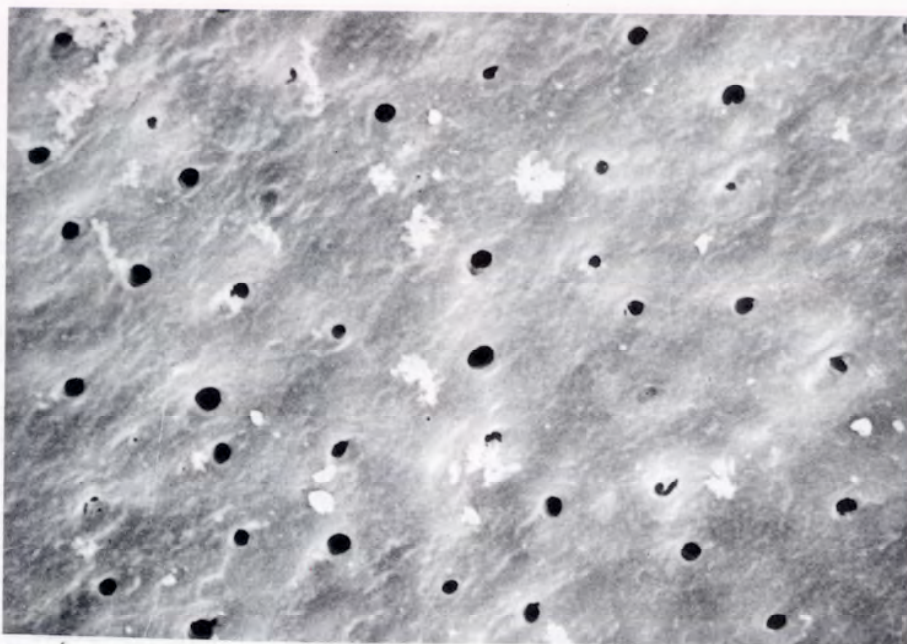


Fig. 6 - 3° apicale: detriti e residui di materiale amorfo occludono il lume dei tubuli.

Fig. 6 - Apical third: canal debris and residue of amorphous material obstruct tubular lumina.

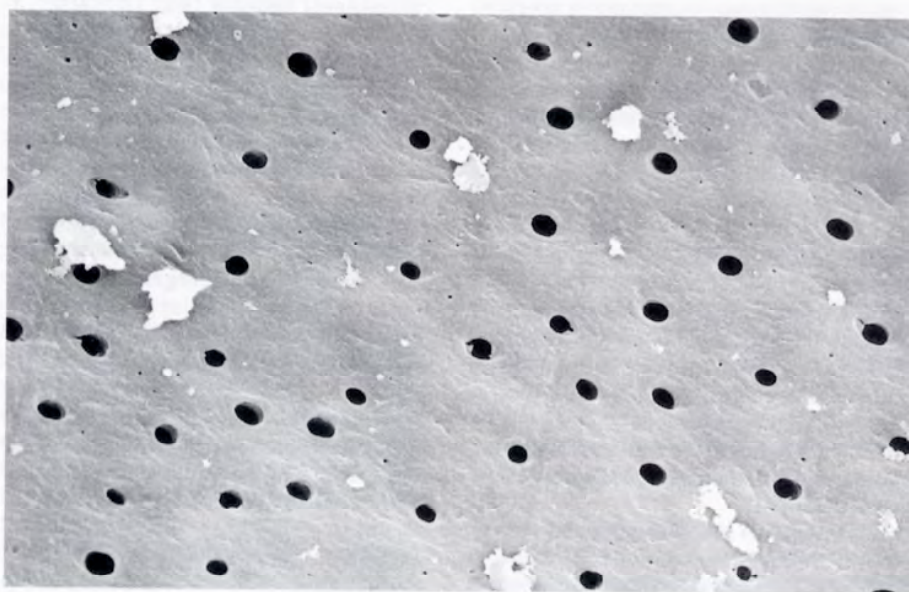


Fig. 7 - 3° apicale: nonostante si evidenzia una perdita di efficacia delle soluzioni irriganti la dentina intertubulare appare estremamente levigata.

Fig. 7 - Apical third: although the irrigants were not entirely efficacious, intertubular dentin appears to be rather smooth.

nica e inorganica del canale.

Come si può osservare dalle microfotografie, il quadro morfologico, che deriva dalla strumentazione con il sistema irrigatorio riscaldato, risente comunque del diametro canalare e dimostra aspetti ultrastrutturali che denunciano il decremento corono-apicale dell'effetto solubilizzante delle soluzioni.

Nei due terzi coronali, l'attivazione termometrica dell'NaClO e dell'EDTA porta alla completa rimozione dello smear layer e dei detriti evidenziando la componente tubulare della dentina, su cui determina, inoltre, fenomeni di forte demineralizzazione. La solubilizzazione della matrice dura interessa, prevalentemente, la dentina peritubulare e mostra aspetti di vera e propria erosione nel caso in cui si estenda alle porzioni intertubulari rendendo comunicanti gli orifici dei tubuli. Tali quadri sono probabilmente da ascrivere all'alternarsi dell'azione irrigatoria sulle componenti organica e inorganica del canale che, esacerbata dal calore, arriva fino a provocare la lesione delle stesse strutture. L'incremento della chelazione calcica determina un evidente riassorbimento della porzione ipercalcifica dei tubuli, cioè della dentina peritubulare, il cui contenuto di calcio, fosforo e magnesio è decisamente superiore rispetto a quello della dentina intertubulare (19). Come osservano Goracci e Coll. (20), l'aspetto tubulare che consegue alla dissoluzione della dentina peritubulare è quello di un orifizio aperto verso il lume endodontico a mò di imbuto.

Il riassorbimento peritubulare esporrebbe, peraltro, le fibrille collagene che rivestono il lume dei tubuli (20); queste verrebbero rapidamente ossidate dall'acido ipocloroso che evitandone il collasso intratubulare prevenirebbe il conseguente restringimento degli orifici.

Nelle regioni apicali, invece, è chiaramente evidente un decremento dell'attività solvente di entrambe le soluzioni che si manifesta con una minore rimozione del layer parietale e con una maggior permanenza di detriti pulpari e inorganici.

L'azione chelante si manifesta, prevalentemente, sulla componente intertubulare che appare levigata tra gli orifici, molti dei quali si intravedono appena sotto il sottile strato

di fango residuo. L'aspetto morfologico apicale potrebbe in gran parte essere conseguenza del ridursi della concentrazione volumetrica dei liquidi irrigatori, da cui deriva un decremento degli effetti solubilizzanti parietali. È da sottolineare ancora che l'azione di conformazione canalare meccanica non supportata, come potrebbe esserlo nelle regioni più ristrette del canale, da un adeguato volume di irrigante, determina una maggiore produzione di layer parietale e una minore rimozione di detriti. Questi fattori spiegherebbero le diversità ultrastrutturali che hanno caratterizzato il terzo apicale dei canali analizzati.

In conclusione si può affermare che, anche attraverso l'attivazione con il calore, le soluzioni irriganti testate risentono del calibro canalare. Conseguentemente, nelle porzioni più beanti del lume endodontico, l'utilizzo alterno delle soluzioni causa una progressiva dissoluzione di entrambe le componenti della dentina, ma arreca una parziale perdita della configurazione di superficie. Nelle regioni apicali, invece, dove la vacuità luminare decresce, si determina, una ridotta penetrazione dei liquidi irrigatori. A tale fatto consegue il parziale mascheramento delle strutture ad opera del progressivo annullarsi dell'attività solvente.

BIBLIOGRAFIA

- 1 - Abbott P, Heijkoop P, Cardaci S, Hume W, Heithersay G. An SEM study of different irrigation sequences and ultrasonics. *Int Endodon J* 1991; 24: 308-16
- 2 - Goldman L, Goldman M, Kronman J, Lin P. The efficacy of several irrigating solutions for endodontics: a scanning electron microscopic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1981; 52: 197-204
- 3 - Goldberg F, Spielberg C. The effect of EDTA and the variation of its working time analyzed with scanning electron microscopy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982; 1: 74-77
- 4 - De Luca M, Malagnino VA, De Marco M. Valutazione sperimentale al SEM di tre differenti tecniche di irrigazione canalare in Endodonzia pedodontica. *Mat Dent* 1990; 2: 199-209
- 5 - Milia E, Lugliè PF, Bossù M, Doersch TH. Valutazione comparativa al microscopio elettronico a scansione di una strumentazione endodontica sperimentale. Atti XXIII Congresso SIOCMF, Bologna 1992; 2: 867-72
- 6 - Franchi M, Eppinger F, Filippini G, Montanari G. Soluzioni irriganti per trattamenti endodontici. *Att Dent* 1992; 36: 12-19
- 7 - Mader C, Baumgartner J, Peters D. Scanning electron microscopic investigation of the smeared layer on root canal walls. *J Endodon* 1984; 10: 477-83
- 8 - Bystrom A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endodon J* 1985; 18: 35-40
- 9 - Milia E. Verifica sperimentale sulla tecnica di utilizzo di una nuova strumentazione endodontica. *Quintessence Int* 1992; 679-83
- 10 - Montanari MC, Selenghini M, Ferrieri P, Mongiorgi R. Smear layer endodontico ottenuto con differenti strumentazioni canalari: valutazione al SEM. II Convegno Nazionale SIDOC, Cagliari 1993; 367-72
- 11 - Ram Z. Chelation in root therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1980; 1: 64-74
- 12 - Senia E, Marshall F, Rosen S. The solvent action of sodium hypochlorite on pulp tissue of extracted teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1971; 31: 96-103
- 13 - Castellucci A, Becciani R, Bertelli E. L'impiego degli ultrasuoni in Endodonzia: indagine al M.E.S. e controlli clinici. *Dent Cadmos* 1987; 1: 27-53
- 14 - Cunningham W, Balekjian A. Effect of temperature on collagen-dissolving ability of sodium hypochlorite endodontic irrigant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1980; 2: 175-7
- 15 - Cunningham W, Joseph. Effect of temperature on the bactericidal action of sodium hypochlorite endodontic irrigant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1980; 12: 569-71
- 16 - Kennedy W, Walker III W, Gough R. Smear layer removal effects on apical leakage. *J Endodon* 1986; 12-1: 21-7
- 17 - Schilder H. Cleaning and shaping the root canal. *Dent Clin North Am* 1974; 18: 269-96
- 18 - Ciucchi B, Khettabi M, Holz J. The effectiveness of different endodontics irrigation procedures on the removal of the smear layer: a scanning electron microscopic study. *Int Endodon J* 1989; 22: 21-28
- 19 - Miller J et al. Inorganic components of the peritubular dentine in young permanent teeth. *Caries Res* 1971; 5: 264-78 citato da Goracci e Coll. (20)
- 20 - Goracci G, Mori G, Casa de' Martinis, L, Bazzucchi M. Analisi ultrastrutturale della dentina trattata con diversi agenti chimici. *Minerva Stomatol* 1993; 42: 313-25