

Cristiano Fabiani¹
Vittorio Franco¹
Massimo Gagliani²

¹ Libero professionista, Roma
² Università degli Studi di Milano
Corso di Laurea in Odontoiatria
D.M.C.O. San Paolo
Clinica Odontoiatrica
Insegnamento di Riabilitazione Orale II
Titolare: Prof. Massimo Gagliani

Corrispondenza:
Dott. Cristiano Fabiani
Largo Belloni, 4 - 00191 Roma, Italy
Tel.: +39 06 3295801
Fax: +39 06 3295801
E-mail: criando@mac.com

L'azione di dissoluzione di quattro differenti protocolli di irrigazione: studio *in vivo*

Debridement action of four different irrigation protocols in vital teeth.
An *in vivo* study

RIASSUNTO

È stato dimostrato che l'ipoclorito di sodio ha una azione molto efficace verso i tessuti necrotici. Pochi studi sono stati condotti per accertare la sua vera azione verso il tessuto pulpare vitale. Questa ricerca *in vivo* ha confrontato l'azione di pulizia di quattro protocolli di irrigazione con ipoclorito di sodio usati in denti vitali durante la sagomatura con strumenti in Ni-Ti.

Ventidue denti vitali sono stati sagomati e detersi con la metodica ProTaper e divisi in quattro gruppi. Il gruppo A è stato irrigato con NaOCl al 5,25% a temperatura ambiente. Il gruppo B è stato irrigato con NaOCl al 5,25% a temperatura ambiente ed alla fine della strumentazione ha ricevuto 3 irrigazioni supplementari ogni 5 minuti. Il gruppo C è stato irrigato con NaOCl al 5,25% riscaldato a 50°. Il gruppo D è stato irrigato alternativamente con NaOCl al 5,25% a temperatura ambiente ed EDTA al 17%. Tutti i denti sono stati quindi immediatamente estratti e fissati per la successiva valutazione.

L'analisi dei risultati ha dimostrato che il gruppo dell'ipoclorito riscaldato è risultato il migliore, anche se con un livello di significatività basso ($p=0,058$). Il gruppo dell'ipoclorito riscaldato è stato l'unico gruppo in cui non ci sono state sezioni valutate D (residui presenti in più del 60% della sezione). Nessuna sezione esaminata, in nessun gruppo, presentava delle superfici comple-

tamente pulite lungo tutta l'estensione della sezione.

I protocolli di irrigazione usati in questo studio *in vivo* non sono efficaci nel rimuovere completamente i residui pulpari dal sistema di canali radicolari.

Parole chiave:
Ipoclorito di sodio, irrigazione.

ABSTRACT

The action of sodium hypochlorite has been showed to be very effective towards necrotic tissues. Few studies have been conducted to ascertain its real action towards vital pulp tissue. This *in vivo* investigation compared the debridement action of different NaOCl irrigation regimens in vital teeth during cleaning and shaping using Ni-Ti instruments.

22 vital teeth were cleaned and shaped following the standard ProTaper protocol and divided into four groups. Group A was irrigated with 5.25% NaOCl at room temperature. Group B was irrigated with 5.25% NaOCl at room temperature and received 3 extra irrigations every 5 minutes at the end of the instrumentation. Group C was irrigated with NaOCl warmed at 50°C. Group D was irrigated with the alternate use of 5.25% NaOCl at room temperature and 17% EDTA. All teeth were then immediately extracted and fixed for evaluation.

When the results were compared, the warm NaOCl group ranked best even if the statistical analysis showed a weak significance ($p=0.058$). The only group that did not produce sections scored D (debris present in more than 60% of the section) was the warm NaOCl group. No specimen showed completely clean surfaces in all observed portions.

It was concluded that the irrigation protocols used in this *in vivo* study were not effective in totally debriding the root canal.

Key words:
Sodium Hypochlorite, irrigation.

INTRODUZIONE

Uno degli obiettivi della terapia endodontica è quello di rimuovere completamente ogni substrato organico dal sistema di canali radicolari (1). Questo obiettivo è generalmente raggiunto attraverso la strumentazione chemomeccanica: mentre gli strumenti rimuovono meccanicamente questo substrato, gli irriganti sono essenziali nel coadiuvare l'azione degli strumenti.

L'ipoclorito di sodio è l'irrigante più usato nelle terapie endodontiche; è stato introdotto molto tempo fa in endodonzia con lo scopo di pulire il sistema canalare (2).

Come irrigante, l'ipoclorito di sodio ha sia un'azione biologica (cioè dissolve i

tessuti organici ed ha proprietà battericide) che fisica (cioè aiuta a mantenere i residui in sospensione ed agisce come agente lubrificante).

L'effetto battericida si ottiene sia alla concentrazione di 2,25% che a quella di 5,25% (3,4).

L'ipoclorito di sodio (NaOCl) alla concentrazione di 5,25% è molto efficace nel dissolvere i residui organici presenti nel sistema di canali radicolari (5). Il meccanismo d'azione consiste principalmente in alterazioni biosintetiche del metabolismo cellulare e distruzione dei fosfolipidi, con formazione di cloramine che interferiscono con il metabolismo cellulare, ed un'azione ossidante con inattivazione enzimatica batterica irreversibile, insieme ad una degradazione dei lipidi e degli acidi grassi. (6)

Il tempo di strumentazione usando strumenti rotanti in Ni-Ti è circa la metà del tempo di strumentazione usando strumenti convenzionali manuali (7-9). Questo significa che le soluzioni irriganti hanno a disposizione un minor tempo d'azione, e quindi sarebbe opportuno poter disporre di un irrigante più efficiente.

L'aumento di temperatura è uno dei metodi proposti per aumentare l'efficacia d'azione dell'ipoclorito di sodio (10). Kamburis et al hanno dimostrato che NaOCl alla concentrazione di 6,25% ed alla temperatura di 70°C è un metodo molto efficace per rimuovere materiale organico dai trucioli di dentina (11).

La forma del canale, così come il diametro dell'ago endodontico usato, influenza la penetrazione dell'ipoclorito di sodio nel canale (12). L'uso seriale degli strumenti veicola l'ipoclorito nella porzione apicale del canale (13), aumentandone così l'efficacia. L'effetto di veicolazione sembra essere confermato anche durante l'uso degli strumenti in Ni-Ti. (14) Foschi et al. (15) hanno dimostrato che gli strumenti in Ni-Ti producono superfici canalari pulite prive di residui nel terzo medio e coronale del canale, ma non riescono a produrre superfici canalari libere da *smear layer* e residui nel terzo apicale.

La quasi totalità degli studi ha osservato l'efficacia di azione dell'ipoclorito di sodio in denti estratti: il tessuto pulpare in questi studi deve essere consid-

erato come necrotico, poiché l'azione dell'ipoclorito di sodio si esplica dopo l'estrazione dei campioni. È stato dimostrato che l'azione di dissoluzione dell'ipoclorito di sodio non è così efficace verso i tessuti vitali come verso quelli necrotici (16).

In uno studio *in vivo* Rosenfeld (17) ha osservato infatti che, alla concentrazione di 5,25% e per 60 minuti, l'azione di dissoluzione dell'ipoclorito di sodio nei confronti del tessuto della camera pulpare non era completa.

L'uso alternato di NaOCl ed EDTA è stato proposto per ottenere la massima efficienza sia per la dissoluzione organica che per la rimozione dello *smear layer* (18). Berutti et al. hanno dimostrato che nel terzo medio del canale, quando l'ipoclorito di sodio era stato usato a 50°C lo *smear layer* era più sottile e composto di particelle più piccole e meno organizzate che non quando l'ipoclorito era stato usato a 21°C (19). Lo scopo di questa ricerca *in vivo* è stato quello di comparare l'azione di detersione e pulizia ottenuti con differenti procedure di irrigazione in denti vitali strumentati con strumenti rotanti al Ni-Ti.

MATERIALI E METODI

Sono stati selezionati 12 pazienti ortodontici (6 maschi e 6 femmine) che necessitavano di estrazioni di premolari vitali per ragioni di trattamento ortodontico. L'età dei pazienti era compresa tra 18 e 42 anni.

Il consenso informato di tutti i pazienti che hanno partecipato a questo studio è stato ottenuto dopo che la natura della procedura, e tutte le sue possibili complicazioni, era stata illustrata dettagliatamente.

Un totale di 22 denti vergini (per un totale di 32 canali strumentati) senza segni evidenti di carie sono stati inclusi nello studio. Tutti i denti hanno risposto normalmente ai test di sensibilità pulpare: tutti i denti mostravano apici completamente formati come evidenziato dall'esame radiografico ortodontico. I denti sono stati assegnati in maniera casuale in quattro diversi gruppi

sperimentali ed un gruppo di controllo per mezzo di una tabella generata dal computer; gli operatori non erano a conoscenza del gruppo di appartenenza e quindi del tipo di trattamento da effettuare fino all'inizio della procedura di pulizia e sagomatura endodontica.

Procedura clinica

Dopo la somministrazione di anestesia locale (Alfacaina 1/100K, Dentsply, Italy) ed il posizionamento della diga di gomma, è stata penetrata la camera pulpare per mezzo di frese a pallina sterili, ed il disegno della cavità di accesso è stato successivamente perfezionato mediante l'utilizzo della fresa Endo-Z (Maillefer, Ballaigues, Switzerland).

La lunghezza di lavoro è stata determinata solo elettronicamente per mezzo di un K-File 10 in acciaio ed usando un localizzatore apicale (Osada Endex) per non sottoporre i pazienti a radiazioni non necessarie.

Dopo la determinazione della lunghezza di lavoro i denti sono stati strumentati con un 10 K-File ed un 15 K-File in acciaio entrambi portati alla lunghezza di lavoro.

Questa fase iniziale di preparazione è stata la stessa per tutti i gruppi: a questo punto è stata usata la tabella generata dal computer per assegnare i denti ai diversi gruppi di irrigazione di appartenenza. Per quello che riguarda le procedure di detersione e sagomatura meccanica, esse sono state le stesse per tutti i gruppi e sono state eseguite attraverso l'uso di strumenti ProTaper (Maillefer, Ballaigues, Switzerland) seguendo il protocollo ProTaper standard; la sequenza di strumenti usata è stata SX (non alla lunghezza di lavoro), poi S1, S2, F1 (tutti alla lunghezza di lavoro). L'ultimo strumento usato alla lunghezza di lavoro è stato un F2 o, quando la misurazione del gauging apicale era maggiore di 25, un F3. Il tempo totale di strumentazione (dalla determinazione della lunghezza di lavoro al gauging apicale) è stato per ogni dente di 15 minuti.

Per quello che riguarda i diversi gruppi di irrigazione a cui sono stati assegnati i denti, essi sono stati così suddivisi: il gruppo A è stato irrigato con NaOCl al 5,25% a temperatura ambiente durante tutta la fase di strumentazione. Il grup-

Gruppo	N. denti	N. canali	Protocollo irrigazione	Temperatura	Tempo
A	5	9	5,25% NaOCl (2 cc ogni strum)	Ambiente (20°C)	15 min
B	5	9	5,25% NaOCl (2 cc ogni strum) + 3 irrigazioni extra ogni 5 min alla fine della fase di s&d	Ambiente (20°C)	30 min
C	5	7	5,25% NaOCl (2 cc ogni strum)	50°C	15 min
D	5	7	Lavaggi alternati di 2 cc NaOCl 5,25% e 2 cc EDTA 17% ogni strum	Ambiente (20°C)	15 min
Controllo	2	2	Soluzione fisiologica	Ambiente (20°C)	15 min

Tab. 1 - Descrizione dei gruppi sperimentali

po B è stato irrigato con NaOCl al 5,25% a temperatura ambiente durante tutta la fase di strumentazione, ed ha ricevuto 3 irrigazioni accessorie ogni 5 minuti alla fine della fase di strumentazione. Il gruppo C è stato irrigato con NaOCl al 5,25% riscaldato a 50°C durante tutta la fase di strumentazione. Il gruppo D è stato irrigato con l'uso alternato di NaOCl al 5,25% a temperatura ambiente ed EDTA al 17% durante tutta la fase di strumentazione. Il gruppo controllo è stato irrigato esclusivamente con soluzione fisiologica. I diversi gruppi di assegnazione sono riportati nella Tabella 1.

Alla fine della fase di strumentazione, i denti di tutti i gruppi hanno ricevuto un lavaggio finale con 2 ml di soluzione fisiologica sterile veicolata dall'inserzione passiva di un 10 K-File alla lunghezza di lavoro per inattivare l'ipoclorito. Tutti i denti sono poi stati immediatamente estratti.

Dopo l'estrazione i denti sono stati irrigati con 5 ml di formalina al 10% veicolata dall'inserzione passiva di un 10K File alla lunghezza di lavoro e successivamente immersi in soluzione di formalina al 10% per un giorno. Dopo il fissaggio, i denti sono stati colorati con una colorazione di Mallory modificata. Una volta colorati, i denti sono stati tagliati con un disco diamantato seguendo l'asse lungo del dente ad un ingrandimento di 22X usando un microscopio operatorio (M655, Leica AG, Heer-

brugg, Switzerland), per esporre esattamente una metà dell'intera lunghezza del canale.

Analisi delle sezioni

È stata creata una scala di classificazione specifica per l'analisi dei campioni: due osservatori esperti hanno valutato la presenza di residui pulpari nelle sezioni in modalità doppio cieco utilizzando una scala a quattro valori con l'ausilio di fotografie di riferimento. Se i residui pulpari colorati coprivano meno del 20% della superficie della sezione il punteggio assegnato era A; se i residui coprivano tra il 20% ed il 40% della superficie della sezione il punteggio assegnato era B; se i residui coprivano tra il 40% ed il 60% della superficie della sezione il punteggio assegnato era C; se i residui coprivano più del 60% della superficie della sezione il punteggio assegnato era D. (Fig. 1)

I canali sono stati divisi in tre diverse porzioni: porzione apicale (dall'apice fino a 3 mm), media (da 3 mm a 6 mm dall'apice) e coronale (da 6 mm fino al pavimento della camera pulpale).

Due osservatori sono stati calibrati usando quattro immagini di riferimento per lo schema di punteggio adottato. Tutte le sezioni sono state esaminate due volte da ciascun osservatore, che non era a conoscenza del gruppo di appartenenza, con l'ausilio di uno stereomicroscopio da laboratorio (Leitz LaborLux. Leica AG, Heerbrugg, Switzer-

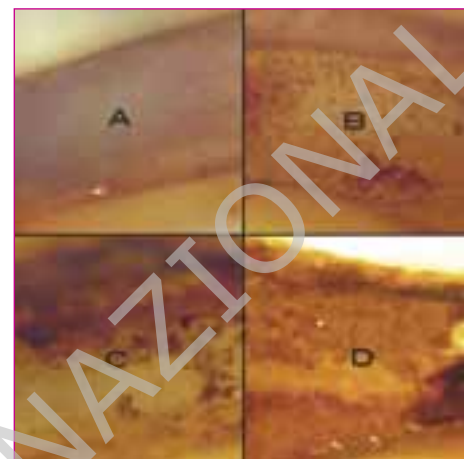


Fig. 1 - Tabella di riferimento usata per calibrare gli osservatori:

A: residui presenti in meno del 20% della sezione osservata;
B: residui presenti tra il 20% ed il 40% della sezione osservata;
C: residui presenti tra il 40% ed il 60% della sezione osservata;
D: residui presenti in oltre il 60% della sezione osservata.

land) ad un ingrandimento di 40X. Se i punteggi non coincidevano veniva scelto il punteggio peggiore. Tutti i punteggi ottenuti sono stati poi totalizzati per ogni dente.

Canali laterali

È stato registrato il numero di canali laterali osservati; il punteggio adottato per la pulizia dei canali laterali è stato di 1 (residui pulpari presenti) o 0 (residui pulpari assenti).

Analisi statistica

I risultati ottenuti sono stati analizzati usando il test Kruskal-Wallis per i dati non parametrici. I dati inter-esaminatore ed intra-esaminatore sono stati analizzati con k-statistics.

RISULTATI

Pulizia

L'unico gruppo in cui non sono state osservate sezioni con punteggio D (residui pulpari presenti in più del 60% della sezione) è stato il gruppo dell'ipoclorito riscaldato (gruppo C); il gruppo nel quale

sono state osservate meno sezioni con punteggio A (residui pulpari presenti in meno del 20% della sezione) è stato il gruppo dell'ipoclorito a temperatura ambiente per 15 minuti (gruppo A).

A rafforzare questi risultati, dobbiamo notare che quasi un quarto (precisamente il 23,7%) delle sezioni nel gruppo dell'ipoclorito riscaldato (gruppo C) erano sezioni con punteggio A, mentre nel gruppo dell'ipoclorito a temperatura ambiente per 15 minuti (gruppo A) solo il 3% delle sezioni erano "pulite", cioè con punteggio A.

Nel gruppo in cui è stato usato alternativamente ipoclorito ed EDTA (gruppo D) abbiamo osservato sezioni ugualmente distribuite, con una leggera predominanza di sezioni con punteggio C o D (cioè tendenzialmente "sporche") rispetto alle sezioni con punteggio A o B (cioè tendenzialmente "pulite").

Se consideriamo i gruppi dove è stato usato ipoclorito a temperatura ambiente, il fattore tempo sembra essere importante per produrre sezioni "pulite". Più a lungo l'ipoclorito è stato lasciato nel canale, più pulito era il canale.

I risultati sono riportati nelle Tabelle 2 e 3.

L'analisi statistica suggerisce una debole significatività ($p=0.058$) per le osservazioni raggruppate (Tab. 3), mentre non sono state trovate differenze statisticamente significative quando sono state analizzate le differenti sezioni (Tab. 2). Questo può essere attribuito al numero limitato di campioni analizzati in questo studio.

Una visione d'insieme dei risultati raggruppati mostra come le mediane delle osservazioni sono nei punteggi B o C, il che significa che c'è un considerevole ammontare di detriti residui ancora presenti nei canali con un tempo di strumentazione così ridotto.

Canali laterali

Se consideriamo il totale di 96 sezioni analizzate, in 11 di queste (11%) è stato osservato un canale laterale. Tutti i canali laterali, tranne uno, erano completamente pieni di tessuto pulpare colorato. L'unico canale laterale che mostrava una dissoluzione parziale del materiale organico è stato osservato nel gruppo dell'ipoclorito riscaldato (Fig. 2).

	Score A	Score B	Score C	Score D
Coronale				
Gruppo A	1	2	4	2
Gruppo B	1	3	4	1
Gruppo C	2	5	0	0
Gruppo D	3	1	3	0
controllo	0	1	0	1
Medio				
Gruppo A	0	4	4	1
Gruppo B	2	5	2	0
Gruppo C	3	2	2	0
Gruppo D	1	2	2	2
controllo	0	0	0	2
Apicale				
Gruppo A	0	4	3	2
Gruppo B	1	3	3	2
Gruppo C	0	4	3	0
Gruppo D	1	1	2	3
controllo	0	0	0	2

Tab. 2 - Risultati sulla pulizia: non sono state trovate differenze statisticamente significative quando sono state considerate le differenti porzioni (coronale, media, apicale) del canale. Se i residui pulpari colorati coprivano meno del 20% della superficie della sezione il punteggio assegnato era A; se i residui coprivano tra il 20% ed il 40% della superficie della sezione il punteggio assegnato era B; se i residui coprivano tra il 40% ed il 60% della superficie della sezione il punteggio assegnato era C; se i residui coprivano più del 60% della superficie della sezione il punteggio assegnato era D.

	Score A	Score B	Score C	Score D	Totale
Gruppo A	1	10	11	5	27
Gruppo B	4	11	9	3	27
Gruppo C	5	11	5	0	21
Gruppo D	5	4	7	5	21
Controllo	0	1	0	5	6

Tab. 3 - Risultati sulla pulizia per le osservazioni raggruppate: l'analisi statistica suggerisce una debole significatività ($p=0.058$) per le osservazioni raggruppate

Attendibilità degli osservatori

L'attendibilità (reliability) inter-osservatore e intra-osservatore è stata calcolata con k-statistics ed è stata rispettivamente 0,78, 0,81 e 0,77.

DISCUSSIONE

In passato sono stati proposti diversi metodi e protocolli di irrigazione, la quasi totalità dei quali è stata valutata attraverso studi *in vitro*. L'obiettivo di questo studio *in vivo* era investigare

l'efficacia di soluzioni irriganti diverse basate su ipoclorito di sodio al 5,25% ed EDTA al 17%, paragonando tempo di applicazione e temperatura di uso. È stato dimostrato che l'ipoclorito di sodio è più efficace nel rimuovere residui tissutali necrotici piuttosto che vitali (16). In letteratura solo due ricerche hanno valutato l'azione della soluzione irrigante *in vivo* su tessuti vitali (17, 20). Le sezioni sono state analizzate usando un punteggio qualitativo: questa metodologia di analisi è stata già usata in ricerche sulla capacità di detersione dell'ipoclorito di sodio (21-24). Nessun campione ha mostrato superfi-

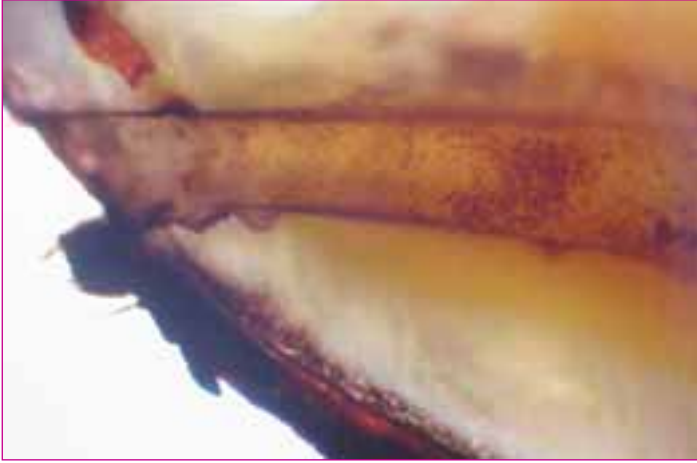


Fig. 2 - Sezione di premolare superiore in cui si può osservare un canale laterale nella porzione apicale parzialmente deterso.



Fig. 3 - Sezione di premolare inferiore in cui si notano residui pulpari nel canale non strumentato (in alto).

ci completamente pulite in tutte le porzioni osservate: ciò è in accordo con risultati di precedenti ricerche (15, 25, 26).

Le sezioni con punteggio D (sezioni più "sporche") non sono state osservate in nessuna sezione del gruppo dell'ipoclorito riscaldato. Questa osservazione sembra confermare i risultati di precedenti studi; l'aumento della temperatura è un mezzo efficace per potenziare l'azione di dissoluzione dell'ipoclorito di sodio verso i tessuti (10, 11, 27). A causa dell'alta incidenza di complessità anatomiche nei premolari (28), e poiché non sono state effettuate radiografie endorali preoperatorie per non esporre inutilmente i pazienti a radiazioni, alcune porzioni dei sistemi di ca-

nali radicolari (ramificazioni, anastomosi, biforcazioni non individuate) non sono state strumentate. In questi campioni, nelle porzioni di canale non toccate dagli strumenti erano osservabili abbondanti residui pulpari (Fig. 3). La strumentazione meccanica riveste un importante ruolo nella pulizia del sistema di canali radicolari (29, 30). Questo può essere spiegato sia con l'azione attiva di taglio ed asporto degli strumenti esercitata sulle pareti canalari, sia con la capacità che gli strumenti hanno di veicolare gli irriganti lungo tutta la loro estensione (13, 14). Sono stati osservati canali laterali in 11 sezioni. In 10 di esse i canali laterali, dove non ci si aspetta un'azione di taglio ed asporto degli strumenti e dove

l'azione chimica delle soluzioni irriganti è della massima importanza, erano pieni di residui pulpari. Solo in un canale laterale è stata osservata una dissoluzione parziale del tessuto pulpare. Questi risultati sono in contrasto con i risultati di Niemann et al (31), che hanno osservato la capacità dell'ipoclorito di sodio di pulire canali laterali della forcazione, seppure *in vitro*.

I protocolli usati in questo studio *in vivo* non sono stati efficaci nel rimuovere completamente il substrato organico dal sistema di canali radicolari durante una strumentazione meccanica su denti *in vivo*. Ulteriori ricerche sono necessarie per studiare *in vivo* l'effetto di temperatura, tempo di applicazione, concentrazione, e volume di irrigante.

BIBLIOGRAFIA

- Schilder H. Cleaning and shaping the root canal. *Dent Clin N Am* 1974;18:269-96.
- Grossman L. Irrigation of root canals. *J.A.D.A.*,30:1915-17,1943.
- Shih M, Marshall FJ, Rosen S. The bactericidal efficiency of sodium hypochlorite as an endodontic irrigant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1970 Apr;29(4):613-9.
- Harrison JW, Wagner GW, Henry CA. Comparison of the antimicrobial effectiveness of regular and fresh scent Clorox.. *J Endod* 1990 Jul;16(7):328-30.
- Hand RE, Smith ML, Harrison JW. Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. *J Endod* 1978;4:60-4.
- Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spano JC, Marchesan MA, Pecora JD. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz Dent J* 2002;13:113-7.
- Guelzow A, Stamm O, Martus P, Kielbasa AM. Comparative study of six rotary nickel-titanium systems and hand instrumentation for root canal preparation. *Int Endod J* 2005;38:743-52.
- Sonntag D, Delschen S, Stachniss V. Root-canal shaping with manual and rotary Ni-Ti files performed by students. *Int Endod J* 2003;36:715-23.
- Sonntag D, Guntermann A, Kim SK, Stachniss V. Root canal shaping with manual stainless steel files and rotary Ni-Ti files performed by students. *Int Endod J* 2003;36:246-55.
- Cunningham WT, Balekjian AY. Effect of temperature on collagen-dissolving ability of sodium hypochlorite endodontic irrigant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1980; 49:175-7.
- Kamburis JJ, Barker TH, Barfield RD, Eleazer PD. Removal of organic debris

- from bovine dentin shavings. *J Endod* 2003;29: 559-61.
12. Ram Z. Effectiveness of Root Canal Irrigation. *Oral Surg* 1977;44:306-12.
13. Yana Y. An *in vivo* comparative study of the penetration of sodium Hypochlorite in root canal systems during cleaning and shaping procedures using the B.U. technique and the sonic instrumentation. *B.U. Thesis* 1988.
14. Franco V, Fabiani C. Importanza della detersione del sistema di canali radicolari per la predicibilità di successo della terapia endodontica. 22° Congr Naz SIE, 2001.
15. 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 Ni-Ti rotary instruments. *Int Endod J* 2004;37: 832-9.
16. Grey CG. The capabilities of sodium hypochlorite to digest organic debris from root canal, with emphasis on accessory canals. *B.U. Thesis* 1970.
17. Rosenfeld EF, James GA, Burch BS. Vital pulp tissue response to sodium hypochlorite. *J Endod* 1978;4:140-6.
18. Abbott PV, Heijkoop PS, Cardaci SC, Hume WR, Heithersay S. An SEM study of the effects of different irrigation sequences and ultrasonics. *Int Endod J*. 1991;24:308-16.
19. Berutti E, Marini R. A scanning electron microscopic evaluation of the debridement capability of sodium hypochlorite at different temperatures. *J Endod* 1996;22: 467-70.
20. 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;31:166-70.
21. 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;29: 170-5.
22. Yamashita JC, Tanomaru Filho M, Leonardo MR, Rossi MA, Silva LA. Scanning electron microscopic study of the cleaning ability of chlorhexidine as a root-canal irrigant. *Int Endod J* 2003;36:391-4.
23. Al-Kilani MG, Whitworth JM, Dummer PM. Preliminary *in vitro* evaluation of Carisolv as a root canal irrigant. *Int Endod J* 2003;36:433-40.
24. Gagliani M, Colombo M, Godio E. Detersione canalare con strumenti in nicheltitanio: valutazione al SEM. *Giorn It Endod* 2001;15:56-64.
25. Gambarini G, Laszkiewicz J. A scanning electron microscopic study of debris and smear layer remaining following use of GT rotary instruments. *Int Endod J* 2002;35: 422-7.
26. Mayer BE, Peters, OA, Barbakow, F. Effects of Rotary Instruments and Ultrasonic Irrigation on Debris and Smear Layer Scores: a Scanning Electron Microscopy Study. *Int Endod J* 2002;35:582-9.
27. 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 Endod* 2005;31:669-71.
28. Sert S, Bayirli GS. Evaluation of the root canal configurations of the mandibular and maxillary permanent teeth by gender in the Turkish population. *J Endod* 2004; 30:391-8.
29. Usman N, Baumgartner JC, Marshall JG. Influence of instrument size on root canal debridement. *J Endod* 2004;30:110-2.
30. Albrecht LJ, Baumgartner JC, Marshall JG. Evaluation of apical debris removal using various sizes and tapers of ProFile GT files. *J Endod* 2004;30:425-8.
31. Niemann RW, Dickinson GL, Jackson CR, Wearden S, Skidmore AE. Dye ingress in molars: furcation to chamber floor. *J Endod* 1993;19:293-6.