

* Nicola Maria Grande
* Gianluca Plotino
* Andrea Butti
** Massimo Pomponi
* Francesco Somma

Università Cattolica del Sacro Cuore di Roma
* Istituto di Clinica Odontoiatrica
Direttore: Prof. Renzo Raffaelli
Cattedra di Odontoiatria Conservatrice III
Titolare: Prof. Francesco Somma
** Istituto di Biochimica e Biochimica Clinica

Corrispondenza:
Dott. Gianluca Plotino
Via Eleonora Duse, 22
00197 Roma
Tel.: 068072289
E-mail: gplotino@fastwebnet.it

Interazione tra EDT A ed ipoclorito di sodio: analisi alla Risonanza Magnetica Nucleare

Interaction between EDTA and sodium hypochlorite:
a Nuclear Magnetic Resonance analysis

RIASSUNTO

Introduzione: la detersione dei canali radicolari costituisce una delle fasi essenziali della terapia endodontica. Numerose sperimentazioni hanno evidenziato come l'uso combinato dell'ipoclorito di sodio e dell'EDTA sia particolarmente efficace nella rimozione dei detriti organici e dei residui inorganici. L'EDTA può essere impiegato come liquido di lavaggio finale per eliminare lo *smear layer* prodotto dalla strumentazione. Recenti ricerche sembrano però dimostrare un effetto eccessivamente aggressivo dell'EDTA sulle pareti canalari. L'obiettivo di tale studio è stato quello di analizzare, mediante Risonanza Magnetica Nucleare (RMN), la cinetica di ossidazione dell'EDTA per mezzo di una soluzione di ipoclorito di sodio al 5%.

Materiali e metodi: sono stati utilizzati EDTA ed una soluzione di ipoclorito di sodio e sono stati analizzati alla Risonanza Magnetica Nucleare (RMN), a diversi intervalli di tempo, i picchi del tracciato dell'EDTA e la comparsa di nuovi segnali relativi ai prodotti di degradazione in seguito alla sua reazione con l'NaOCl.

Risultati: i tracciati che ci vengono forniti dall'analisi alla RMN ci confermano che le reazioni che avvengono tra l'ipoclorito di sodio e l'EDTA portano ad una ossidazione di questo e quindi ad una sua progressiva disattivazione, ma ci dimostrano anche come questa ossidazione sia estremamente lenta.

Conclusioni: tenendo ben presenti tutte le possibili limitazioni legate ad un esperimento eseguito *in vitro*, i risultati di tale studio evidenziano che non ci sarebbe l'indicazione ad eseguire un ultimo lavaggio con ipoclorito di sodio con il solo scopo di sfruttare le proprietà ossidanti di questo composto per disattivare l'azione dell'EDTA.

Parole chiave:

Risonanza Magnetica Nucleare, deterzione canalare, EDTA, ipoclorito di sodio.

ABSTRACT

Introduction: cleaning the root canal system is one of the essential goals of the root canal therapy. Several authors have recommended the use of EDTA in combination with sodium hypochlorite in order to remove organic and inorganic remnants. EDTA can be used as final flush irrigant to remove the *smear layer* resulting of the instrumentation technique. Recent studies detected erosion of the dentinal walls. The objective of this paper was to verify EDTA inactivation by means of sodium hypochlorite with a Nuclear Magnetic Resonance (NMR) analysis.

Materials and methods: a solution of sodium hypochlorite and a solution of EDTA were used. EDTA tracing and the appearance of new signals related to the products of degradation of the reaction were studied at different times with a NMR analysis.

Results: the tracings of NMR analysis confirm that the reaction between sodium hypochlorite and EDTA lead to a progressive but very slow degradation.

Conclusions: within the limitations of an *in vitro* study, the results obtained in this study show that there is no reason of a final flush with sodium hypochlorite just with the aim of limiting the chelating effects of EDTA.

Key words:

Nuclear Magnetic Resonance, root canal cleaning, EDTA, sodium hypochlorite.

INTRODUZIONE

Gli obiettivi primari dell'alesaggio biomeccanico dei canali radicolari sono rappresentati dalla sagomatura e dalla detersione dello spazio endodontico con l'eliminazione della componente organica pulpare, la ri-

mozione dei detriti inorganici e l'abbattimento della carica batterica. Queste rappresentano condizioni indispensabili per il successo a lungo termine della terapia endodontica (1).

Numerosi studi hanno dimostrato che l'alesaggio meccanico del sistema canalare da solo non è sufficiente a ridurre la popolazione microbica e ad eliminare lo *smear layer* e i detriti che si formano durante la fase di preparazione dei canali radicolari (2-4) (Fig. 1).

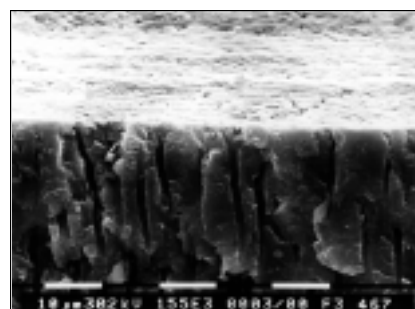


Fig. 1 - Immagine al SEM in cui si può apprezzare lo spessore dello strato di *smear layer* in una sezione della parete dentinale (1550x).

Davis et al. (5) hanno evidenziato sperimentalmente come spesso permangono, anche in canali ben preparati, residui pulpari e detriti inorganici, soprattutto in quelle aree che non entrano in contatto con gli strumenti. Infatti è stato evidenziato da Peters et al. (6) che il 35% o più della superficie canalare non viene toccata dagli strumenti durante l'alesaggio meccanico, indipendentemente dalla tecnica utilizzata. Goldman et al. (7) hanno inoltre dimostrato che, nei canali preparati senza l'ausilio degli irriganti, la quantità dei residui tissutali era superiore del 70% rispetto ai campioni in cui questi erano stati utilizzati (Fig. 2).

Un irrigante canalare ideale dovrebbe non solo possedere capacità lubrificanti e di ri-



Fig. 2 - Immagine al SEM di residui organici ed inorganici presenti su una superficie dentinale (625x).

mozione meccanica nei confronti dei detriti prodotti dalla strumentazione, ma avere anche una spiccata azione antibatterica e, soprattutto, una capacità di dissoluzione dei residui organici e inorganici presenti all'interno del lume canalare (8). Ad oggi, non si ha ancora a disposizione una soluzione che sia da sola efficace nel raggiungimento di questi obiettivi; tuttavia, conoscendo le proprietà chimico-fisiche degli irriganti maggiormente impiegati in endodonzia, se ne possono potenziare gli effetti utilizzandoli in combinazione.

Numerose sperimentazioni hanno evidenziato come l'uso combinato dell'ipoclorito di sodio (in concentrazioni dal 2,5% al 5%) e dell'EDTA (in concentrazioni dal 10% al 17%) sia particolarmente efficace nella rimozione dei detriti organici e dei residui inorganici (4, 9-12) (Fig. 3). L'ipoclorito di sodio (NaOCl), infatti, è noto per le sue proprietà antibatteriche (13, 14) e di dissolvimento della componente organica (15); avendo, inoltre, una bassa tensione superficiale, l'NaOCl giunge passivamente anche nei recessi inaccessibili alla strumentazione. Alcuni Autori (16-18) hanno suggerito l'aggiunta di un tensioattivo biocompatibile (polisorbato) o di alcool

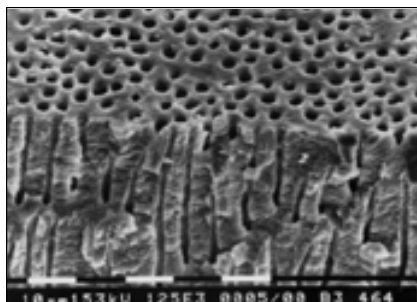


Fig. 3 - Immagine al SEM di una sezione parietale in cui si può apprezzare la buona detersione ottenuta con l'uso combinato di NaOCl ed EDTA (1250x).

etilico per incrementare ancor più questa caratteristica. L'EDTA è un agente chelante gli ioni Ca^{++} e per questa sua proprietà ha la capacità di rimuovere lo *smear layer* (2, 7, 11, 19-28), una sostanza amorfa, di spessore variabile, costituita sia da componenti organici che inorganici (10, 29) - tra cui tessuto pulpare e frammenti di processi odontoblastici, batteri, tessuto necrotico, dentina e residui della strumentazione (2, 3, 8, 30, 31) - che, aderendo tenacemente alle pareti del canale radicolare, oblitera i tubuli dentinali, non consentendo né alle medicazioni di agire in profondità (10, 11, 14, 32, 33), né al materiale da obturazione di aderire completamente alle pareti del canale stesso (34-39). La rimozione dello *smear layer* è ritenuta importante dalla maggior parte degli Autori perché potrebbe essere esso stesso infetto o comunque proteggere i batteri ed i loro prodotti eventualmente presenti nei tubuli dentinali (2, 10, 29, 33, 39-42).

Anche per quanto riguarda l'EDTA è stata proposta l'aggiunta di un tensioattivo per migliorarne le caratteristiche di bagnabilità (21, 28, 43). L'EDTA può essere impiegato come liquido di lavaggio finale, in modo tale da rendere pervi gli imbocchi dei tubuli dentinali e permettere il riempimento di un numero maggiore di canali laterali (19, 44, 45). Recenti ricerche sembrano però dimostrare un effetto eccessivamente aggressivo dell'EDTA sulle pareti canalari che può portare alla eccessiva erosione e disgregazione della dentina peritubulare ed intertubulare (8, 11, 19, 21-23, 26, 27, 46-49) e conseguentemente all'alterazione delle sue proprietà meccaniche (50-52) (Figg. 4 e 5). In ogni caso non è ancora così chiaro quanto l'erosione della dentina parietale ed il congiungimento degli orifizi tubulari tra di loro siano deleteri ai fini dell'efficacia della terapia endodontica (19, 48); è stato ipotizzato che ciò possa causare difficoltà nell'adattamento dei materiali da obturazione alle pareti canalari (26, 53). Gli effetti dannosi a carico della dentina tubulare sono risultati essere di maggiore entità nella porzione più coronale del canale, zona che rimane a contatto con il flusso degli irriganti più facilmente e per un tempo più esteso. Ciò risulta inoltre in accordo con le evidenze che l'azione degli irriganti si riduce procedendo verso la porzione apicale del canale (2, 12, 20, 24, 25, 28, 39, 52).

L'erosione delle pareti dentinali potrebbe essere dovuta, quindi, in parte alla eccessiva durata dei lavaggi con l'EDTA, in parte anche alla possibilità che questo rimanga atti-

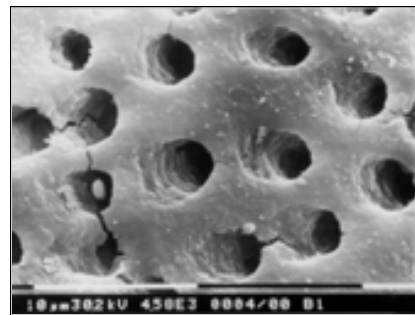


Fig. 4 - Immagine al SEM dell'erosione e disgregazione della dentina peritubulare ed intertubulare in cui si possono notare le numerose fratture dei setti intertubulari ed il congiungimento dei tubuli dentinali tra di loro (tubular joining) (4580x).

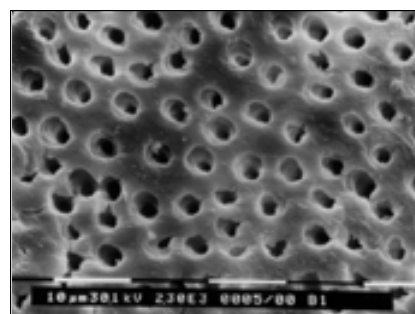


Fig. 5 - Immagine al SEM dell'erosione della dentina parietale in cui si possono notare le fratture dei setti intertubulari e la particolare struttura elicoidale delle fibre collagene demineralizzate all'interno dei tubuli dentinali (2300x).

vo all'interno dello spazio endodontico anche dopo il suo effettivo tempo di utilizzo. Infatti, anche se l'effettiva quantità di EDTA che alla fine del lavaggio residua all'interno del sistema canalare è molto esigua e le proprietà dell'EDTA sembrano autolimitanti (54-56), non può essere esclusa l'ipotesi che gli effetti dannosi sulla dentina tubulare possano essere accentuati da questo fattore. Infatti, alcuni studi hanno evidenziato che, fino al completamento di questo processo di autolimitazione, l'estensione della demineralizzazione dipende dal tempo di utilizzo e dalla quantità degli agenti chelanti (12, 52, 53, 56).

Per questo motivo, e per il fatto che il processo di autolimitazione non è comunque istantaneo, sarebbe importante che, prima di passare alle procedure di obturazione canalare, l'azione dell'EDTA venga completamente neutralizzata, per evitare che esso possa continuare ad agire attraverso la sua azione che-

lante nei confronti della porzione mineralizzata della dentina radicolare. Alcuni Autori suggeriscono nelle sequenze di utilizzo degli irriganti endodontici di effettuare gli ultimi lavaggi (*final flush*) con EDTA e quindi con ipoclorito di sodio (9, 10, 57), anche per risciacquare i residui dell'agente chelante. Questo lavaggio finale con ipoclorito di sodio potrebbe avere anche lo scopo di cercare di disinfettare maggiormente il sistema canale, essendone favorita la penetrazione all'interno dei tubuli dentinali in seguito alla rimozione dello *smear layer* da parte dell'EDTA (58, 59). Inoltre, date le sue proprietà ossidanti, questo lavaggio finale con NaOCl, oltre al risciacquo delle soluzioni chelanti, potrebbe limitarne l'azione residua; l'inattivazione dell'EDTA da parte dell'ipoclorito di sodio si realizzerebbe mediante una reazione di ossidazione (10, 60) che limiterebbe la progressiva demineralizzazione e, quindi, il possibile ulteriore indebolimento della struttura inorganica del dente stesso.

La degradazione della molecola di EDTA è stata oggetto di alcuni studi (60-63); tale processo porterebbe alla formazione di metaboliti intermedi, come l'acido gliossilico e l'acido etilendiaminotriacetico, tutti poco aggressivi nei confronti delle componenti dentinali e biocompatibili; infatti, non sembrano poter danneggiare la cellularità periapicale in caso di lievi estrusioni, che dovrebbero comunque essere evitate (30).

Allo scopo di valutare la possibilità che l'EDTA residuo al termine della terapia all'interno del sistema dei canali radicolari mantenga il suo effetto chelante i tessuti duri, determinando l'insorgenza di eventuali alterazioni della struttura dentinale, abbiamo realizzato uno studio per chiarire meglio l'interazione biochimica tra ipoclorito di sodio e EDTA e studiare la cinetica di ossidazione dell'EDTA per mezzo di una soluzione di ipoclorito di sodio al 5%, attraverso l'impiego della Risonanza Magnetica Nucleare (RMN).

MATERIALI E METODI

Sono stati utilizzati EDTA in polvere (acido etilendiaminotetracetico) (SIGMA, St. Louis, Missouri, USA) ed ipoclorito di sodio al 5% in soluzione (Nicolor 5 dentale, Ogna Laboratori Farm, MI, Italia). Tutti i reagenti utilizzati in questo studio erano analiticamente puri e ogni soluzione testata è stata con-

servata a temperatura ambiente e al riparo dalla luce.

La spettroscopia di risonanza magnetica nucleare si basa sulla perturbazione dei livelli energetici dei nuclei sotto l'effetto di un forte campo magnetico. Alcuni nuclei sono dotati di *spin*, che possono essere rappresentati come una rotazione del nucleo intorno ad un asse, e ad ogni nucleo si può associare un caratteristico momento magnetico nucleare. Quando un nucleo è immerso in un campo magnetico omogeneo esterno, si crea una interazione magnetica fra il suo momento magnetico di *spin* ed il campo magnetico. La RMN consiste appunto nello sfruttare questa interazione per permettere l'assorbimento da parte del campione di una ben definita lunghezza d'onda di radiazione elettromagnetica. La scelta della RMN facilita la registrazione dei segnali che indicano il procedere dell'ossidazione del materiale di partenza.

Basandosi su questi principi, la cinetica di ossidazione dell'EDTA è stata monitorata utilizzando la scomparsa dei segnali di risonanza magnetica relativi sia ai protoni che agli isotopi ^{13}C dell'EDTA. Le condizioni ottimali, per registrare il segnale RMN, sono state ottenute utilizzando 40 mg di EDTA disciolti in 0,7 ml di acqua deuterata (D_2O). Gli spettri del protone ^1H - 300 MHz e del carbonio ^{13}C - 75.5 MHz sono stati ottenuti mediante uno spettrometro Gemini (Varian SpA, Leini, TO, Italia).

Per calcolare il numero delle moli (n) presenti in una determinata sostanza si applica la formula:

$$n = \frac{g}{Mr}$$

dove g sono i grammi e Mr la massa relativa di un composto. Conseguentemente, il numero delle moli (n) di EDTA presenti in 40 mg è pari a 0,096 mmoli.

Questo punto di riferimento ci serve per poter calcolare la quantità di ipoclorito che avremmo dovuto aggiungere all'EDTA per permetterne teoricamente l'ossidazione. Infatti, l'interazione dell'ipoclorito di sodio con l'EDTA comporta un trasferimento di elettroni (e^-) da un atomo all'altro e l'ossidazione completa di un gruppo molecolare $-\text{CH}_2-\text{COO}^-$ richiede 1,5 molecole equivalenti di ipoclorito di sodio. Dal momento che la molecola di EDTA (Fig. 6) è costituita da quattro gruppi $-\text{CH}_2-\text{COO}^-$, il rapporto sarà di 1:6 e quindi per inattivare completamente le 0,096 mmoli di EDTA utiliz-

zate nello studio bisognerà aggiungere una quantità di ipoclorito che contenga un numero di mmoli sei volte superiore, che corrispondono a 0,576 mmoli di NaOCl. Utilizzando gli stessi calcoli fatti in precedenza, troviamo che il numero delle moli (n) presenti in 0,1 ml di NaOCl 5% sarà pari a 0,067 mmoli e quindi è necessario aggiungere 0,86 ml di ipoclorito di sodio agli 0,7 ml di EDTA per garantirne teoricamente la disattivazione completa.

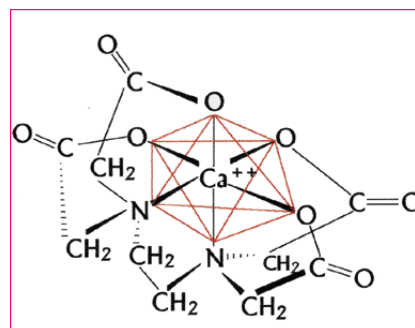


Fig. 6 - Immagine tridimensionale della molecola di EDTA.

Per studiare la cinetica della reazione sono stati aggiunti 0,86 ml di ipoclorito di sodio agli 0,7 ml di EDTA. Sono stati quindi stati analizzati alla RMN, a diversi intervalli di tempo (1,5, 4,5, 7, 11, 16, 25, 50, 80, 120 minuti), i picchi del tracciato dell'EDTA e la comparsa di nuovi segnali relativi ai prodotti di degradazione in seguito alla sua reazione con l'NaOCl.

RISULTATI

I tracciati che ci vengono forniti dall'analisi alla RMN ci confermano che le reazioni che avvengono tra l'ipoclorito di sodio e l'EDTA ne determinano l'ossidazione e quindi conducono ad una sua progressiva disattivazione (Fig. 7), ma ci dimostrano anche come questa ossidazione sia estremamente lenta (Fig. 8). Infatti, la cinetica di tale ossidazione non è istantanea, bensì, nelle condizioni di questo esperimento *in vitro*, continua a progredire nei successivi intervalli di tempo a cui sono stati analizzati i picchi, ma non si completa neanche dopo 120 minuti. Ciò è indicato nei tracciati dalla progressiva formazione dei prodotti di degradazione risultanti dalla reazione tra i due

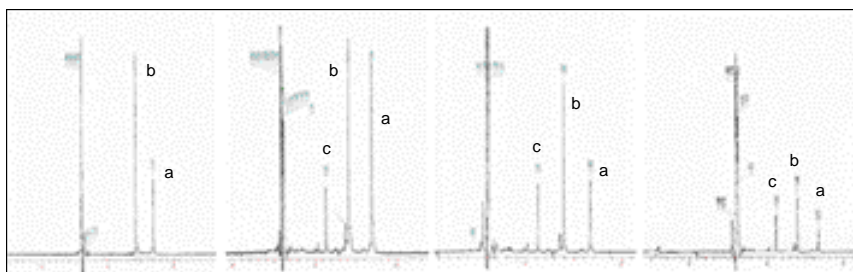


Fig. 7 - Tracciato dell'analisi RMN relativo all'ossidazione dell'EDTA ad opera dell'ipoclorito di sodio al tempo 0 e a 40, 80 e 120 minuti dell'esperimento. La diminuita intensità dei segnali a e b (relativi, rispettivamente, ai gruppi metilenici $N-CH_2-CH_2-N$ e al metilene del gruppo acetato $N-CH_2-CO_2Na$), in aggiunta alla comparsa e all'aumento di intensità del picco c, stanno ad indicare il procedere della demolizione ossidativa del chelante (EDTA) con conseguente comparsa di prodotti di ossidazione.

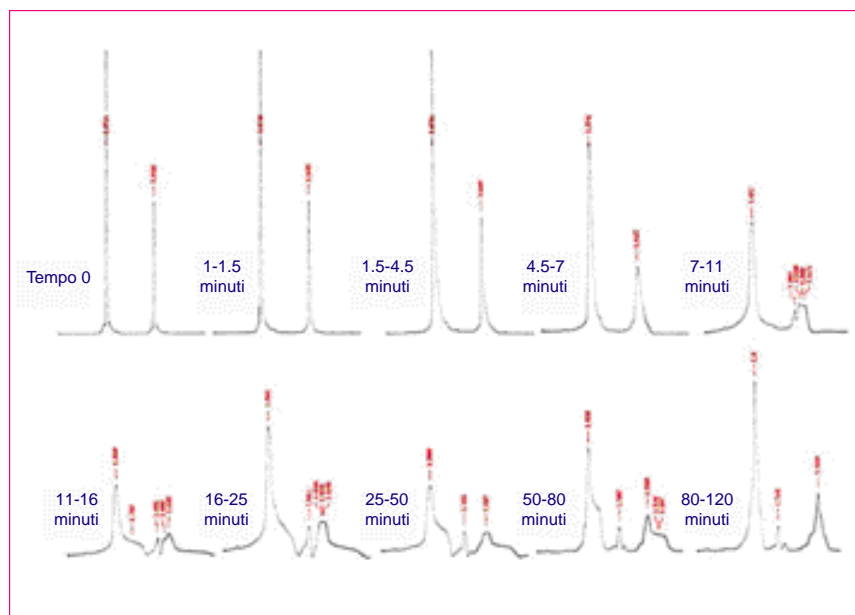


Fig. 8 - Tracciato diacronico dell'analisi RMN relativo alla Figura 7 e mostrante l'ossidazione di 0,096 mmoli di EDTA con 0,576 mmoli di NaOCl i tempi intermedi dell'esperimento. Lo spettro mostra la variazione dei picchi relativi ai segnali caratteristici dei protoni dell'EDTA nel tempo. Si può notare che dopo 120 minuti sono ancora presenti molecole di EDTA non ossidate.

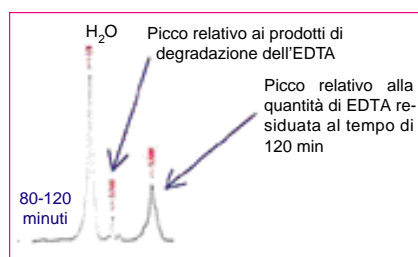


Fig. 9 - Particolare della Figura 8 in cui si specifica la lettura dei segnali relativi ai vari reagenti presenti nella reazione analizzata alla RMN.

composti. In particolare, nella Figura 8 si può osservare la continua evoluzione dei segnali relativi ai protoni dell'EDTA; da questo tracciato si può evidenziare come nei primi 7 minuti di reazione tra i due composti non si notino grandi cambiamenti nei picchi registrati, mentre nell'intervallo tra i 7 e gli 11 minuti si cominciano ad evidenziare i picchi relativi ai prodotti di degradazione della reazione che diventano sempre più chiari negli intervalli successivi (11-16 minuti, 16-25 minuti, 25-50 minuti, 50-80 minuti). Al termine dell'esperimento, dopo 120

minuti, i picchi indicano che la reazione tra l'ipoclorito di sodio e l'EDTA porta alla formazione di prodotti di ossidazione di questo composto, che però risulta ancora non completamente degradato (Fig. 9).

DISCUSSIONE

Potenzialmente l'EDTA può alterare la struttura dentinale e le sue proprietà fisico-mecchaniche, demineralizzando eccessivamente la porzione inorganica della sostanza dentale; questo è stato evidenziato in diversi studi attraverso immagini di pareti dentinali che presentavano notevoli segni di erosione (8, 11, 19, 21-23, 26, 27, 46-49). La frequenza con cui sono state riscontrate dai diversi Autori queste alterazioni della struttura dentinale e la necessità di dover assicurare un sigillo ermetico ci portano a ricercare soluzioni che preservino la struttura dentinale radicolare, che rappresenta il substrato per l'otturazione canalare.

I risultati ottenuti nel nostro studio ci forniscono lo spunto per alcune considerazioni riguardanti l'utilizzo in combinazione dell'ipoclorito di sodio (NaOCl) e dell'EDTA. Dall'esperimento effettuato si evince che l'ossidazione della molecola di EDTA non è istantanea, ma anzi che essa è progressiva nel tempo. In particolare, l'impiego della RMN ci ha permesso di dimostrare in maniera precisa la lenta ossidazione del chelante. Infatti, la frequenza della radiazione necessaria per l'assorbimento dell'energia dipende sia dal caratteristico tipo di nucleo (ad esempio, 1H o ^{13}C), sia dall'intorno chimico del nucleo. Per questo, nuclei identici in molecole diverse assorbono diversamente. Ecco perché l'ossidazione dell'EDTA, comportando un cambiamento di struttura molecolare, può essere facilmente rilevata con la RMN. Il fatto che la quantità di ipoclorito utilizzata, che teoricamente sarebbe stata sufficiente per disattivare l'EDTA, non ne abbia poi effettivamente determinato una disattivazione completa, potrebbe essere spiegata col fatto che in una soluzione l'ossidazione segue un criterio statistico e quindi avremo presumibilmente un piccolo numero di molecole completamente ossidate, un piccolo numero non ossidate affatto e via via tutte le possibili combinazioni. Inoltre, se si considera che l'ossidazione non è esclusiva dell'EDTA ma anche dei suoi prodotti, allora la quantità di molecole effettivamente ossida-

ta diminuisce ulteriormente.

La cosa importante da considerare, quindi, non è che la disattivazione comunque avvenga, ma che essa sia molto lenta; questo implica problemi connessi alla presenza dell'EDTA attivo all'interno dello spazio endodontico e potrebbe rappresentare un'ulteriore spiegazione per il frequente riscontro di immagini al SEM in cui si notano una erosione della parete dentinale e microfratture dei setti intertubulari.

Le proprietà autolimitanti dell'EDTA dimostrerebbero che la sua azione continua finché tutti i recettori per i cationi bivalenti vengano saturati con ioni Ca^{++} , e che quindi la demineralizzazione si arresta quando viene raggiunto questo equilibrio (54-56). Perez et al. (64) hanno osservato come l'effetto di autolimitazione dell'EDTA sia determinato dai cambiamenti di pH che avvengono durante la demineralizzazione; infatti, poiché il pH decresce con il progredire del processo, sia la quota di dentina demineralizzata che la quantità di dentina dissolta diminuiscono nel tempo. Tuttavia non tutti gli Autori si sono trovati d'accordo su questa proprietà *self-limiting* dell'EDTA; infatti, Patterson (49), in un precedente lavoro, non aveva riscontrato questa caratteristica.

Un lavaggio finale con l'ipoclorito di sodio non sarebbe comunque consigliato, in quanto alcuni studi hanno evidenziato che l'erosione dentinale risulta essere più evidente quando il lavaggio con EDTA viene fatto se-

guire da un ulteriore lavaggio con NaOCl (11, 48). Questa evenienza suggerisce che l'utilizzo dell'NaOCl, a seguito del lavaggio finale con EDTA per eliminare lo *smear layer*, potrebbe aumentare l'erosione dentinale, anche se gli Autori non chiarivano come l'ipoclorito di sodio potesse influenzare tale processo. In un altro studio (65) si ipotizza che questo possa avvenire perché il fattore limitante la dissoluzione della dentina da parte dell'EDTA sembra essere rappresentato dalla matrice organica della dentina stessa, che si accumula sulla superficie canalare man mano che essa viene demineralizzata, prevenendo così una ulteriore dissoluzione. Una spiegazione verosimile, quindi, potrebbe essere che l'EDTA demineralizzi la dentina tubulare durante le prime fasi dell'irrigazione finale e che il successivo utilizzo dell'NaOCl determini la dissoluzione della matrice organica peritubulare ed intertubulare così esposta, portando quindi ad una erosione più profonda (48).

CONCLUSIONI

Tenendo ben presenti tutte le possibili limitazioni legate ad un esperimento eseguito *in vitro*, i risultati di questo studio evidenziano che non ci sarebbe l'indicazione ad eseguire un ultimo lavaggio con ipoclorito di sodio al solo scopo di sfruttare le pro-

prietà ossidanti di questo composto per disattivare l'azione dell'EDTA, quantomeno in tempi compatibili con l'ambito clinico. L'irrigazione finale con NaOCl successiva all'ultimo lavaggio eseguito con EDTA potrebbe essere giustificata dalla possibilità di ottenere una disinfezione più profonda all'interno dei tubuli dentinali, dopo che questi siano stati spalancati attraverso la rimozione dello *smear layer* (58). Tuttavia sembra che questo effetto sia limitato agli strati dentinali immediatamente a contatto con il lume canalare, mentre più in profondità sia estremamente scarso e notevolmente influenzato dal tempo di utilizzo (59).

Ciò va ad aggiungersi alle evidenze che la dentina parietale subisca maggiori alterazioni se l'ultimo lavaggio con EDTA viene seguito da un lavaggio con NaOCl.

A fronte di questo effetto negativo, la sola indicazione relativa al semplice risciacquo meccanico della soluzione di EDTA utilizzata per il lavaggio finale non sembra sufficiente, in quanto questo potrebbe essere effettuato con altre soluzioni che non abbiano la stessa aggressività dell'ipoclorito di sodio nei confronti della porzione organica della dentina tubulare e che quindi non determinino un ulteriore danno del substrato radicolare per favorire, nel miglior modo possibile, la creazione di un sigillo tridimensionale efficace e stabile attraverso l'otturazione canalare.

BIBLIOGRAFIA

- Schilder H. Cleaning and shaping the root canal. *Dent Clin North Am* 1974; 18:269-96.
- McComb D, Smith DC. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *J Endod* 1975; 1:238-42.
- Mader CL, Baumgartner JC, Peters DD. Scanning electron microscopic investigation of the smeared layer on root canal walls. *J Endod* 1984; 10:477-83.
- Cengiz T, Aktener BO, Pi'kin B. The effect of dentinal tubule orientation on the removal of smear layer by root canal irrigation. A scanning electron microscopic study. *Int Endod J* 1990; 23:163-71.
- Davis SR, Brayton SM, Goldman M. The morphology of the prepared root canal: a study utilizing infectable silicone. *Oral Surg* 1972; 34:642-8.
- Peters OA, Schonenberger K, Laib A. Effects of four Ni-Ti preparation techniques on root canal geometry assessed by microcomputed tomography. *Int Endod J* 2001; 34:221-30.
- 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* 1985; 52:197-204.
- Torabinejad M, Handysides R, Ali Khademi A, Bakland LK. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 94:658-66.
- Goldman M, Goldman LB, Cavaleri R, Bogis J, Lin PS. The efficacy of several endodontic irrigating solutions: a scanning electron microscopic study. Part 2. *J Endod* 1982; 8:487-92.
- Yamada R, Armas A, Goldman M, Lin P. A scanning electron microscopic comparison of a high-volume final flush with several irrigation solutions. Part 3. *J Endod* 1983; 9:137-42.
- Baumgartner J, Mader C. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. *J Endod* 1987; 13:147-57.
- Abbott P, Heijkoop P, Cardaci S, Hume W, Heithersay G. A SEM study of the effects of different irrigation sequences and ultrasonics. *Int Endod J* 1991; 24:308-16.
- Bystrom A, Sundqvist G. Bacteriological evaluation of the effect of 0.5 % sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg* 1983; 55:307-12.
- Bystrom A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J* 1985; 18:35-40.
- 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.
- Schilder H, Fulton SY. Canal debridement and disinfection. In: Cohen S, Burns RC. Pathways of the pulp. 3rd ed. St. Louis. The C.V. Mosby Company; 1984; 175.
- Abou-Rass M, Patonai FJ. The effect of decreasing surface tension on the flow of irrigating

solutions in narrow root canals. *Oral Surg* 1982; 53:524-6.

18. Cunningham WT, Cole JS, Balekjian AY. Effect of alcohol on the spreading ability of NaOCl endodontic irrigant. *Oral Surg* 1982; 54:333-5.

19. Calt S, Serper A. Smear layer removal by EGTA. *J Endod* 2000; 26:459-61.

20. O'Connell M, Morgan L, Beeler W, Baumgartner C. A comparative study of smear layer removal using different salts of EDTA. *J Endod* 2000; 26:739-43.

21. Goldberg F, Abramovich A. Analysis of the effect of EDTAC on the dentinal walls of the root canal. *J Endod* 1977; 3:101-5.

22. Cergneux M, Ciucchi B, Dietschi J, Holz J. The influence of the smear layer on the sealing ability of canal obturation. *Int Endod J* 1987; 20:228-32.

23. Meryon S, Tobias R, Jakeman K. Smear removal agents: a quantitative study *in vivo* and *in vitro*. *J Prost Dent* 1987; 57:174-9.

24. 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. *Int Endod J* 1989; 22:21-8.

25. Aktener B, Bilkay U. Smear layer removal with different concentrations of EDTA-ethylenediamine mixtures. *J Endod* 1993; 19:228-31.

26. Garberoglio R, Becce C. Smear layer removal by root canal irrigants: a comparative scanning electron microscopic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994; 78:359-67.

27. Hottel T, El-Refai N, Jones J. A comparison of the effects of three chelating agents on the root canals of extracted human teeth. *J Endod* 1999; 25:716-7.

28. Scelza M, Antoniazzi J, Scelza P. Efficacy of final irrigation - a scanning electron microscopic evaluation. *J Endod* 2000; 26:355-8.

29. Pashley D. Smear layer: physiological considerations. *Oper Dent Suppl* 1984; 3:13-29.

30. Hülsmann M, Heckendorff M, Lennon A. Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indication for their use. *Int Endod J* 2003; 36:810-830.

31. Sen B, Wesselink P, Türkün M. The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. *Int Endod J* 1995; 28:141-8.

32. Ørstavik D, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endod Dent Traumatol* 1990; 6:142-9.

33. Brännström M. Smear layer: pathological and treatment considerations. *Oper Dent Suppl* 1984; 3:35-42.

34. White R, Goldman M, Lin P. The influence of the smeared layer upon dentinal tubule penetration by plastic filling materials. *J Endod* 1984;

10:558-62.

35. Oksan T, Aktener B, Sen B, Tezel H. The penetration of root canal sealers into dentinal tubules. A scanning electron microscopic study. *Int Endod J* 1993; 26:301-5.

36. Pallares A, Faus V, Glickman GN. The adaptation of mechanically softened gutta-percha to the canal walls in the presence or absence of smear layer: a scanning electron microscopic study. *Int Endod J* 1995; 28:266-9.

37. Kouvas V, Liolios E, Vassiliadis L, Parisis-Messimeris S, Boutsoukias A. Influence of smear layer depth of penetration of three endodontic sealers: a SEM study. *Endod Dent Traumatol* 1998; 14:191-5.

38. Gencoglu N, Samani S, Gunday M. Dentinal wall adaptation of thermoplasticized gutta-percha in the absence or presence of smear layer: a scanning electron microscopic study. *J Endod* 1993; 19:558-62.

39. Baker N, Eleazer P, Averbach R, Seltzer S. Scanning electron microscopic study of the efficacy of various irrigating solutions. *J Endod* 1975; 1:127-35.

40. Akpata E, Blechman H. Bacterial invasion of pulpal dentin wall *in vitro*. *J Dent Res* 1982; 61:435-8.

41. Meryon S, Brook A. Penetration of dentine by three oral bacteria *in vitro* and their associated cytotoxicity. *Int Endod J* 1990; 23:196-20.

42. Williams S, Goldman M. Penetrability of the smeared layer by a strain of *Proteus vulgaris*. *J Endod* 1985; 11:385-8.

43. Gambarini G. Shaping and cleaning the root canal system: a scanning electron microscopic evaluation of a new instrumentation and irrigation technique. *J Endod* 1999; 25:800-3.

44. Goldberg F, Massone JE, Spielberg C. Effect of irrigation solutions on the filling of lateral root canal. *Endod Dent Traumatol* 1986; 2:65-6.

45. Villegas JC, Yoshioka T, Kobayashi C, Suda H. Obturation of accessory canals after four different final irrigation regimes. *J Endod* 2002; 28:534-6.

46. Torabinejad M, Al Khademi A, Babagoli J, Cho Y, Johnson WB, Bozhilov K, Kim J, Shabahagan S. A new solution for the removal of the smear layer. *J Endod* 2003; 29:170-5.

47. Torabinejad M, Cho Y, Al Khademi A, Baklend L, Shabahang S. The effect of various concentrations of sodium hypochlorite on the ability of MTAD to remove the smear layer. *J Endod* 2003; 29:233-9.

48. Niu W, Yoshioka T, Kobayashi C, Suda H. A scanning electron microscopic study of dentinal erosion by final irrigation with EDTA and NaOCl solutions. *Int Endod J* 2002; 35:934-9.

49. Liolios E, Economides N, Parisis-Messimeris S,

Boutsoukias A. The effectiveness of three irrigating solutions on root cleaning after hand and mechanical preparation. *Int Endod J* 1997; 30:51-7.

50. 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 Surg Oral Med Oral Pathol* 1963; 16:83-103.

51. Cruz-Filho A, Sousa-Neto M, Saquy P, Pecora J. Evaluation of the effect of EDTAC, CDTA, and EGTA on radicular dentin microhardness. *J Endod* 2001; 27:183-4.

52. Hülsmann M, Heckendorff M. Comparative evaluation of three chelator pastes. *Int Endod J* 2002; 35:668-79.

53. Calt S, Serper A. Time dependent effects of EDTA on dentine structures. *J Endod* 2002; 28:17-9.

54. Seidberg B, Schilder H. An evaluation of EDTA in endodontics. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1974; 37:609-20.

55. Von der Fehr F, Nygaard-Ostby B. Effect of EDTAC and sulfuric acid on root canal dentine. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1963; 16:199-205.

56. Nygaard-Ostby B. Chelation in root canal therapy: ethylenediaminetetraacetic acid for cleansing and widening of root canals. *Odontologisk Tidskrift* 1957; 65:3-11.

57. Glassman GD, Serota KS. A predictable protocol for the biochemical cleansing of the root canal system. *Oral Health* 2001; 91:19-22.

58. Buck R, Eleazer PD, Staat RH. *In vitro* disinfection of dentinal tubules by various endodontics irrigants. *J Endod* 1999; 25:786-88.

59. Heling I, Chandler NP. Antimicrobial effect of irrigant combinations within dentinal tubules. *Int Endod J* 1998; 31:8-14.

60. Nortemann B. Biodegradation of EDTA. *Appl Microbiol Biotechnol* 1999; 51(6):751-9.

61. Henneken L, Nortemann B, Hempel DC. Influence of physiological conditions on EDTA degradation. *Appl Microbiol Biotechnol* 1995; 44:190-7.

62. Kluner T, Hempel DC, Nortemann B. Metabolism of EDTA and its metal chelates by whole cells and cell-free extracts of strain BNC1. *Appl Microbiol Biotechnol* 1998; 49:194-201.

63. Nortemann B. Total degradation of EDTA by mixed cultures and a bacterial isolate. *Appl Environ Microbiol* 1992; 58:671-6.

64. Perez VC, Cardenas MSM, Planells US. The possible role of pH changes during EDTA demineralization of teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1989; 68:220-2.

65. Apostolopoulos AX, Buonocore MG. Comparative dissolution rates of enamel, dentin and bone. I. Effect of the organic matter. *J Dent Res* 1966; 45:1093-100.