



*Università degli Studi di Genova*  
*Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche*  
*Corso di Laurea in Odontoiatria e Protesi*  
*Dentaria*

Presidente del corso di laurea: Prof.ssa Maria Menini

*Tesi di Laurea*

***“I laser in endodonzia: efficacia  
della tecnica PIPS come metodo di  
attivazione degli irriganti”***

**Relatore: Prof. Stefano Benedicenti**

**Candidato: Sobhan nakhaei**

**Anno accademico: 2023/2024**

# INDICE

|  |    |
|--|----|
| <b>INTRODUZIONE</b> .....  | 2  |
| 1. ENDODONZIA .....  | 3  |
| <b>1.1 - CHE COS'E' L'ENDODONZIA</b> .....   | 3  |
| <b>1.2 - CENNI ANATOMICI</b> .....   | 3  |
| <b>1.3 - EZIOPATOGENESI DELLE PATOLOGIE PULPARI</b> .....  | 3  |
| <b>1.4 - EZIOPATOGENESI DELLE LESIONI DI ORIGINE ENDODONTICA</b> .....                                       | 5  |
| <b>1.5 - CLASSIFICAZIONE CLINICA DELLE MALATTIE PULPARI E<br/>DELLE LESIONI DI ORIGINE ENDODONTICA</b> ..... | 5  |
| <b>1.6 - LA FLORA BATTERICA NELLE INFEZIONI ENDODONTICHE</b> .....   | 6  |
| <b>1.7 - INDICAZIONI E CONTROINDICAZIONI ALLA TERAPIA<br/>ENDODONTICA</b> .....                              | 9  |
| <b>1.8 - FASI DEL TRATTAMENTO ENDODONTICO</b> .....  | 9  |
| <b>1.9 - CAVITA' D'ACCESSO</b> .....   | 9  |
| <b>1.10 - SAGOMATURA DEL SISTEMA DEI CANALI RADICOLARI</b> .....   | 10 |
| <b>1.11 - DETERSIONE DEL SISTEMA DEI CANALI RADICOLARI</b> .....   | 12 |
| <b>1.12 - ATTIVAZIONE DEGLI IRRIGANTI</b> .....  | 17 |
| <b>1.13 - OTTURAZIONE TRIDIMENSIONALE DEL SISTEMA DEI CANALI<br/>RADICOLARI</b> .....                        | 22 |
| <b>1.14 - BIBLIOGRAFIA</b> .....   | 23 |
| 2. FISICA DEI LASER.....   | 31 |
| <b>2.1 - CENNI STORICI</b> .....   | 31 |
| <b>2.2 - PRINCIPI DI FUNZIONAMENTO</b> .....   | 33 |
| <b>2.3 - PRINCIPI FISICI DI FUNZIONAMENTO DELL'APPARECCHIO<br/>LASER</b> .....                               | 34 |
| <b>2.4 - PARAMETRI CHE CARATTERIZZANO E DESCRIVONO LE ONDE<br/>ELETTRROMAGNETICHE</b> .....                  | 37 |
| <b>2.5 - PROPRIETA' FONDAMENTALI DELLA LUCE LASER</b> .....  | 38 |
| <b>2.6 - ELEMENTI COSTITUTIVI DEI SISTEMI LASER</b> .....  | 39 |
| <b>2.7 - MODALITA' DI EMISSIONE DELLA LUCE LASER</b> .....   | 42 |
| <b>2.8 - SISTEMI DI CONDUZIONE DELLA LUCE LASER</b> .....  | 43 |
| <b>2.9 - REGOLE PRATICHE PER L'UTILIZZO</b> .....  | 45 |
| 3. INTERAZIONE LASER-TESSUTO.....  | 46 |
| <b>3.1 - EFFETTI BIOLOGICI DEI LASER</b> .....   | 48 |

|   |     |
|---|-----|
| <b>3.2 - BIBLIOGRAFIA</b> .....                             | 50  |
| 4. LASER IN ODONTOIATRIA.....                               | 50  |
| <b>4.1 - LASER A DIODO</b> .....                            | 51  |
| <b>4.2 - LASER AD ERBIO</b> .....                           | 61  |
| <b>4.3 – BIBLIOGRAFIA</b> .....                             | 65  |
| 5. NORME DI SICUREZZA .....                                 | 65  |
| <b>5.1 - NORME GENERALI</b> .....                           | 65  |
| <b>5.2 – PROCEDURA OPERATIVA</b> .....                      | 66  |
| 6. LASER IN ENDODONZIA .....                                | 67  |
| <b>6.1 - BIBLIOGRAFIA</b> .....                             | 74  |
| 7. REVISIONE DELLA LETTERATURA.....                         | 77  |
| <b>7.1 - METODOLOGIA DI RICERCA DELLA LETTERATURA</b> ..... | 77  |
| <b>7.2 - BIBLIOGRAFIA</b> .....                             | 115 |
| <b>MATERIALI E METODI</b> .....                             | 126 |
| <b>RISULTATI</b> .....                                      | 131 |
| <b>DISCUSSIONE</b> .....                                    | 135 |
| <b>CONCLUSIONI</b> .....                                    | 137 |
| <b>RINGRAZIAMENTI</b> .....                                 | 142 |

# **INTRODUZIONE**

# 1. ENDODONZIA

## 1.1 - CHE COS'E' L'ENDODONZIA

Secondo la definizione fornita dall'American Association of Endodontists [1], l'Endodonzia è più di una semplice “branca” dell'odontoiatria; è considerata una “specialità” che si occupa della morfologia, fisiologia e patologia della polpa dentale umana e dei tessuti periradicolari. Include anche la biologia della polpa normale, l'eziologia, la diagnosi, la prevenzione e il trattamento delle patologie pulpari e delle condizioni periapicali correlate.

## 1.2 - CENNI ANATOMICI

Da quando Hess e Zurcher pubblicarono il loro studio (Hess & Zurcher 1925), si è compreso che i denti non presentano canali semplificati, ma piuttosto sistemi canalari complessi. Lo spazio che ospita la polpa, interno al dente e delimitato dalla dentina, è denominato cavità pulpare. Il suo contorno corrisponde al contorno esterno del dente (Bjørndal et al. 1999); tuttavia, fattori come l'invecchiamento fisiologico, processi patologici o carico oclusale determinano l'apposizione di dentina secondaria o terziaria o di cemento. Di conseguenza, la cavità pulpare generalmente diminuisce di dimensioni e modifica la sua forma con l'avanzare dell'età. La cavità pulpare è divisa in due compartimenti: la camera pulpare, situata all'interno della corona dentale, e i canali radicolari, che si trovano internamente alle radici. Altre peculiarità anatomiche dello spazio endodontico da considerare sono i canali laterali, i canali accessori e gli istmi. I canali laterali si dipartono dal canale principale approssimativamente ad angolo retto; i canali accessori, invece, decorrono obliquamente nella regione apicale, contribuendo a formare il delta apicale. Gli istmi, infine, sono comunicazioni strette tra due canali radicolari che possono contenere polpa o tessuto di derivazione pulpare, diventando potenziali serbatoi batterici. L'identificazione e il trattamento di tali strutture sono fondamentali per il successo del trattamento endodontico.

## 1.3 - EZIOPATOGENESI DELLE PATOLOGIE PULPARI

Le cause di pulpopatia sono riconducibili a cinque grandi gruppi riportati schematicamente qui sotto:

1) **Cause batteriche:**

- *ingresso coronale*
- *fratture*
- *anomalie di struttura*
- *ingresso radicolare*
- *infezione retrograda*

2) **Cause fisiche:**

- *meccaniche*
- *termiche*
- *elettriche*
- *traumatiche*

3) **Cause iatrogene:**

- *preparazione di cavità, monconi*
- *profondità della preparazione*
- *estensione dei cornetti pulpari*
- *disidratazione*
- *emorragia pulpare*
- *esposizione pulpare*
- *presa dell'impronta*
- *cementazione*
- *calore provocato da lucidatura*
- *movimenti ortodontici*
- *curettage parodontale*

4) **Cause chimiche:**

- *vernici cavitare*
- *liners*
- *sottofondi*
- *mordenzanti*
- *adesivi smalto-dentinali*

5) **Cause da alterazioni idiopatiche:**

- *invecchiamento*
- *riassorbimento interno*
- *riassorbimento esterno*
- *ipofosfatasi*
- *anemia falciforme*
- *herpes zoster*

#### **1.4 - EZIOPATOGENESI DELLE LESIONI DI ORIGINE ENDODONTICA**

La polpa è un organo estremamente delicato che può facilmente andare incontro a infiammazione, necrosi e gangrena per tre motivi anatomici e topografici:

- Rappresenta un grande volume di tessuto con un apporto sanguigno relativamente scarso.
- Gode di una circolazione di tipo “terminale”.
- È contenuta all'interno di “pareti inestensibili” di dentina, e quindi non può beneficiare del processo infiammatorio che comporta un aumento di volume del tessuto (vasodilatazione, fuoriuscita degli elementi del sangue dai vasi, ecc.) per giungere alla “restitutio ad integrum”.

Una volta che la polpa è andata in necrosi, i batteri, le tossine batteriche, gli enzimi diffusori (elastasi, collagenasi) e gli enzimi proteolitici (fosfatasi acida, beta-glicuronidasi) possono raggiungere la zona periradicolare attraverso tutte le vie di comunicazione tra endodonto e parodonto, causando così lesioni periapicali.

#### **1.5 - CLASSIFICAZIONE CLINICA DELLE MALATTIE PULPARI E DELLE LESIONI DI ORIGINE ENDODONTICA**

Le malattie pulpari possono essere classificate clinicamente in:

- *Polpa clinicamente normale*
- *Iperemia pulpare o ipersensibilità dentinale*
- *Pulpite*
- *Necrosi e gangrena*

Invece le lesioni periapicali di origine endodontica, dal punto di vista clinico, possono essere classificate in:

- *Periodontite apicale acuta*

- *Ascesso alveolare acuto*
- *Periodontite apicale cronica*
- *Periodontite apicale cronica riacutizzata*

## **1.6 - LA FLORA BATTERICA NELLE INFEZIONI ENDODONTICHE**

Tra le patologie dentali, l'infezione del canale radicolare presenta caratteristiche uniche, poiché si verifica in un'area dove i microrganismi normalmente non risiedono. Al contrario, altre patologie infettive del cavo orale, come la carie e le malattie parodontali, si sviluppano in siti già colonizzati da biofilm microbici. Modifiche nelle condizioni ambientali, nel tipo di flora microbica o nell'efficacia della risposta immune dell'ospite possono favorire l'insorgenza di tali patologie [2]. Finché smalto e cemento rimangono intatti, la polpa e il canale radicolare sono protetti dall'invasione, ma la perdita di integrità di queste strutture a causa di carie, fratture o traumi apre la strada alla penetrazione batterica attraverso i tubuli dentinali.

Tra le patologie dentali, l'infezione del canale radicolare si distingue per la sua unicità, poiché si verifica in una sede dove normalmente i microrganismi non risiedono. Al contrario, altre patologie infettive del cavo orale, come la carie e le malattie parodontali, insorgono in aree già colonizzate da biofilm microbici. Cambiamenti nelle condizioni ambientali, nel tipo di flora microbica o nell'efficacia della risposta immunitaria dell'ospite possono favorire l'insorgenza di tali patologie [2]. Finché smalto e cemento rimangono integri, la polpa e il canale radicolare sono protetti dall'invasione. Tuttavia, la compromissione dell'integrità di queste strutture, causata da carie, fratture o traumi, apre la strada alla penetrazione batterica attraverso i tubuli dentinali.

Tutti i batteri presenti nel cavo orale hanno la stessa opportunità di invadere il canale radicolare; tuttavia, solo un ristretto gruppo di specie è stato identificato nei canali infetti [3-5]. L'uso di tecniche molecolari recenti per l'identificazione di microrganismi suggerisce che la complessità della flora endodontica possa essere maggiore di quanto precedentemente ritenuto [6]. L'ambiente anaerobico, le interazioni tra microrganismi e la disponibilità di nutrienti sono i principali fattori che determinano la composizione della flora microbica.

L'ambiente endodontico funge da habitat selettivo che promuove lo sviluppo di microflora anaerobica in proporzioni specifiche. Il consumo di ossigeno e la produzione di anidride carbonica e idrogeno, insieme alla progressiva diminuzione del potenziale ossidoriduttivo a causa dei microrganismi che inizialmente invadono il canale, favoriscono la crescita selettiva

di batteri anaerobi.

Il tipo e la disponibilità di nutrienti sono fondamentali per determinare la crescita batterica. I nutrienti possono provenire dal cavo orale, da tessuti connettivi in fase degenerativa, dal contenuto dei tubuli dentinali o da fluidi derivanti dai tessuti periapicali.

La sostituzione degli anaerobi obbligati con anaerobi facoltativi all'interno del canale nel tempo è probabilmente legata a modifiche nelle sostanze nutrienti disponibili e alla ridotta disponibilità di ossigeno. Inoltre, esiste un ampio spettro di interazioni nutrizionali tra i batteri orali che può influenzare le associazioni tra microrganismi all'interno del canale radicolare [7-9].

Nella fase iniziale di un'infezione del canale radicolare, il numero di specie batteriche è generalmente limitato. Se l'invasione è causata da carie, i batteri presenti all'inizio del processo carioso sono i primi a raggiungere la polpa. Nei casi in cui non vi sia apparente comunicazione con il cavo orale e i batteri penetrano attraverso i tubuli dentinali, come nei traumi dentali senza esposizione della polpa, l'invasione batterica primaria non segue uno schema ricorrente [5].

Sembra, inoltre, che vi sia una correlazione tra la dimensione della lesione periapicale e il numero di specie e cellule batteriche presenti nel canale radicolare. Poiché il tipo di ambiente e la disponibilità di nutrienti all'interno del canale radicolare influenzano la dinamica della flora batterica, il tipo di batteri presenti dipenderà dallo stadio dell'infezione. All'inizio potrebbe non esserci una chiara associazione tra le specie batteriche, ma presto si svilupperà una forte associazione positiva tra un ristretto gruppo di microrganismi della flora orale a causa del tipo di nutrienti presenti nell'ambiente [8, 10-12].

Nelle infezioni endodontiche, i batteri non si presentano come colonie separate, ma crescono in comunità interconnesse all'interno di una matrice extracellulare, formando un biofilm batterico. Nair ha descritto l'aspetto di tali biofilm nei canali infetti come comunità aggregate con una struttura a palizzata [13]. Il significato clinico di questa modalità di crescita in un biofilm è che i batteri all'interno di comunità coaggregate sono relativamente protetti rispetto alle forme planctoniche (in sospensione) e sono più resistenti ai trattamenti antimicrobici [14-16].

Si ritiene generalmente che la persistenza dell'infezione endodontica sia correlata a difficoltà incontrate durante il trattamento iniziale. Un controllo insufficiente della sterilità, una preparazione imprecisa della cavità d'accesso, la mancata identificazione di tutti i canali, un'insufficiente strumentazione e danneggiamenti a restauri temporanei o permanenti sono tutti esempi di difetti procedurali che possono portare alla persistenza della patologia endodontica [17].

Nei canali di denti con patologia persistente, di solito si trovano solo una o poche specie batteriche. Queste sono per lo più microrganismi Gram-positivi con una distribuzione equilibrata di anaerobi facoltativi e obbligati [18-19]. La flora microbica è notevolmente diversa rispetto a quella tipica delle infezioni di denti non trattati, che è polimicrobica con proporzioni simili di specie Gram-positive e Gram-negative, e una predominanza di anaerobi obbligati. Nonostante le differenze tra le specie isolate da diversi canali con la stessa presentazione clinica (patologia periapicale persistente), molti studi concordano sull'elevata prevalenza di enterococchi e streptococchi [18-24]. Altre specie, rilevate in proporzioni significative in alcuni studi, includono lactobacilli [18], actinomiceti e peptostreptococchi [22], *Pseudoramibacter alactolyticus*, *Propionibacterium propionicum*, *Dialister pneumosintes*, *Filifactor alocis* [24] e *Candida albicans* [18-20, 22-24].

Esistono differenze nella flora microbica campionata durante il ritrattamento, tra denti trattati in modo inadeguato e denti ben trattati. Nei primi, la flora è simile a quella delle infezioni polimicrobiche tipiche dei canali non trattati [19-25]. La prevalenza di enterococchi è stata riscontrata in tutti gli studi che hanno analizzato la flora dei canali trattati endodonticamente [18-25], con un'unica eccezione [26], il che implica che *Enterococcus faecalis* debba essere considerato un patogeno opportunistico specifico della patologia periapicale persistente.

L'ambiente del canale radicolare infetto non trattato fornisce ai microrganismi una varietà di sostanze nutrienti che si modificano nel corso dell'infezione. Mentre nel canale infetto non trattato la flora microbica può trovare nutrimento in abbondanza, nel canale trattato endodonticamente può andare incontro a carestia. Idealmente, tutta la polpa necrotica presente inizialmente sarà stata eliminata, lasciando condizioni asciutte e povere per la sopravvivenza delle specie microbiche rimaste. Queste specie devono resistere alla fame e a un ambiente statico, ma a volte possono trovare un po' di nutrimento nell'essudato proveniente dal tessuto periapicale. Le specie persistenti sono quelle che sono sopravvissute ai trattamenti antimicrobici oppure sono entrate nel canale durante il trattamento e si sono stabilite dove altre specie non hanno potuto farlo. Se il sigillo coronale è difettoso, può verificarsi infiltrazione batterica, aumentando la possibilità di una nuova infezione del canale.

In generale, i microbi coinvolti nelle infezioni persistenti adottano tre strategie per sfuggire alla risposta immune: sequestro, evasione cellulare e evasione umorale [27]. Il sequestro implica una barriera fisica tra microbo e ospite. L'evasione cellulare significa che i microrganismi evitano i meccanismi difensivi leucocitari. L'evasione umorale significa che i batteri evitano il riconoscimento da parte di anticorpi e complemento dell'ospite. Almeno due di queste tre strategie sono adottate dai microrganismi coinvolti nella patologia

endodontica persistente [28]. *Actinomyces israelii* è un esempio di patogeno endodontico che mostra evasione cellulare, evitando la fagocitosi dei leucociti polimorfonucleati in vivo [29-31] attraverso un meccanismo di coesione collettiva [32]. *Enterococcus faecalis* e *Candida* possono invece rimanere sequestrati all'interno del sistema canalare. I microrganismi coinvolti nella patologia persistente devono possedere proprietà che consentano loro di entrare e stabilirsi nel canale.

## **1.7 - INDICAZIONI E CONTROINDICAZIONI ALLA TERAPIA ENDODONTICA**

Secondo Schilder tutti i denti possono essere trattati endodonticamente con successo, l'unica controindicazione è rappresentata dalla malattia parodontale avanzata.

Lo scopo ultimo della nostra terapia è quello di sigillare tutte le porte di uscita della patologia, indipendentemente dall'approccio che vogliamo utilizzare, attraverso la diga e la cavità d'accesso o sollevando un lembo chirurgico per sigillare chirurgicamente quel sistema canalare qualora non fosse aggredibile per via ortograde.

## **1.8 - FASI DEL TRATTAMENTO ENDODONTICO**

Il trattamento endodontico prevede le seguenti fasi di lavoro:

- 1) Diagnosi
- 2) Piano di trattamento
- 3) Anestesia
- 4) Pre-trattamento
- 5) Isolamento del campo operatorio
- 6) Cavità d'accesso
- 7) Sagomatura del canale
- 8) Detersione del canale
- 9) Otturazione del canale
- 10) Sigillo coronale

## **1.9 - CAVITA' D'ACCESSO**

Dopo un'accurata diagnosi, eseguita attraverso esame obiettivo, test pulpari e indagini radiologiche, si procede alla definizione di un piano di trattamento, seguita dall'anestesia, il pretrattamento endodontico e l'isolamento del campo operatorio con diga di gomma.

A questo punto si può procedere con la cavità d'accesso. L'apertura della camera pulpare deve essere eseguita correttamente per poter poi localizzare facilmente i canali radicolari, detergerli, sagomarli, disinfettarli e infine otturarli nelle tre dimensioni.

Secondo Castellucci i requisiti della cavità d'accesso sono:

- 1) Rimozione di tutto il contenuto camerale
- 2) Visione diretta e completa del pavimento camerale e degli imbocchi canalari
- 3) Facile introduzione degli strumenti canalari negli imbocchi dei canali radicolari
- 4) Accesso rettilineo al terzo apicale del canale, sia per gli strumenti per la sagomatura che a quelli per l'otturazione
- 5) Supporto stabile all'otturazione provvisoria
- 6) Quattro pareti

Nella preparazione della cavità d'accesso si riconoscono tre fasi, valide per ogni dente da trattare: penetrazione, allargamento e rifinitura.

### **1.10 - SAGOMATURA DEL SISTEMA DEI CANALI RADICOLARI**

La sagomatura dei canali radicolari rappresenta l'obiettivo principale del trattamento endodontico, in quanto influisce sull'efficacia di tutte le procedure successive. Essa consente di ampliare in modo controllato uno o più canali radicolari principali, facilitando così la detersione del sistema canalare. Inoltre, è un requisito essenziale per ottenere una chiusura tridimensionale dello spazio endodontico utilizzando un materiale termoplastico e un cemento sigillante.

Le difficoltà maggiori in tutti questi processi sono strettamente legate alle complesse anatomie intrinseche del sistema endodontico, il quale presenta naturalmente morfologie come canali laterali, accessori, diramazioni, delta apicali e molte altre anomalie [39-43].

È noto che la sola alesatura meccanica non è sufficiente per garantire una pulizia adeguata, poiché, per quanto avanzati siano, gli strumenti non riescono a entrare in contatto con tutte le pareti del canale, impedendo così l'asportazione completa del materiale nocivo. La sagomatura rimane, quindi, un passaggio cruciale del trattamento canalare. In assenza di strumenti adeguati, gli irriganti troveranno maggiore difficoltà a raggiungere il terzo apicale, risultando in una detersione insufficiente. Una sagomatura eccessivamente invasiva, inoltre, può causare altri problemi, come l'indebolimento della radice e una maggiore predisposizione alla frattura dell'elemento trattato [44-46].

Inoltre, la sagomatura è fondamentale per il processo di riempimento tridimensionale dello spazio endodontico, che è essenziale per mantenere nel tempo uno stato di disinfezione e il

controllo della carica batterica residua nell'anatomia endodontica. In assenza di una corretta morfologia fornita dal processo di alesatura, le procedure di otturazione risulteranno complesse e, in ultima analisi, inefficaci nel raggiungere l'obiettivo prefissato. Questo potrebbe vanificare l'intero trattamento canalare e, più in generale, compromettere la salute e la durata dell'elemento dentale nell'arcata del paziente. Un fattore secondario, ma di rilevanza per il risultato finale, è l'esperienza clinica dell'operatore, sia nelle fasi di pianificazione che in quelle terapeutiche [47-50].

Il processo di ampliamento dello spazio endodontico ha conosciuto, nel corso degli anni, una rapida evoluzione ed è stato oggetto di numerose revisioni. Negli anni Trenta, il principio che il canale radicolare dovesse essere svuotato progressivamente dalle parti più coronali a quelle più apicali era già parte del sapere odontoiatrico, raggiunto attraverso ragionamenti intuitivi tipici di una disciplina che da poco era diventata scienza.

I requisiti per una corretta sagomatura dei canali radicolari sono stati descritti e codificati in modo completo da Schilder nel 1974. Schilder ha teorizzato alcuni concetti per realizzare un protocollo strumentale basato sul massimo controllo in tutti i passaggi della tecnica, applicabile a tutte le situazioni cliniche [51, 52].

Requisiti meccanici della sagomatura secondo Schilder:

- Mantenere l'anatomia iniziale, fattore chiave per ottenere il successo a lungo termine del trattamento endodontico.
- Sviluppare una sagomatura tronco-conica continua, come requisito fondamentale necessario per la successiva fase di riempimento tridimensionale dello spazio endodontico: infatti, con la tecnica di Schilder, per l'otturazione canalare si utilizza un cono di guttaperca con un sottile strato di cemento sigillante; il cono, reso plastico dall'apporto di calore, viene compattato con i pluggers, ottenendo una scomposizione delle forze verticali applicate in forze laterali che, sfruttando le caratteristiche idrauliche della guttaperca, resa plastica, e del cemento, permettono il riempimento tridimensionale dello spazio vuoto ottenuto con la sagomatura e la detersione; la tecnica offre il giusto controllo solo se la cavità è tronco-conica continua, priva di gradini e di irregolarità.
- Creare una preparazione più piccola apicalmente: la sagomatura, per essere funzionale alla tecnica, deve risultare, in ogni suo diametro trasverso, più piccola apicalmente per raggiungere una naturale forma di contenimento in senso apicale, pur considerando che i canali, come i denti, sono entità tridimensionali che non possono essere completamente standardizzati.
- Mantenere forma e dimensione del forame apicale per ottenere la migliore sagomatura

possibile, utilizzando strumenti adeguati di dimensioni via via crescenti, cercando di comprendere la reale anatomia del forame apicale ed effettuando costantemente un'adeguata precurvatura degli strumenti, che devono interagire con il delicato settore del forame, la cui forma e posizione saranno mantenute solo con il controllo continuo della pervietà apicale.

- Mantenere il forame più piccolo possibile è un obiettivo necessario per offrire all'operatore un'otturazione più semplice; si cercherà di misurare, per quanto possibile, la dimensione del forame per poi sviluppare una sagomatura che permetta tutte le operazioni necessarie per completare la disinfezione e l'otturazione tridimensionale; risulta quindi evidente che un forame troppo piccolo non è adeguato alle necessità, mentre allargare un forame già praticabile non è necessario.

Obiettivi biologici della sagomatura secondo Schilder:

- Contenere la strumentazione all'interno del canale: non è necessario, infatti, sagomare il canale oltre la sua lunghezza, così come non è necessario allargare il forame qualora esso sia già praticabile. Vi è un'unica eccezione: portare uno strumento sottile oltre la lunghezza di lavoro per mantenere la pervietà del forame apicale.
- Evitare di spingere oltre il forame il materiale prodotto dalla sagomatura o già presente all'interno del canale, che può essere causa di infiammazione postoperatoria o di riattivazione dell'infezione; sarà quindi opportuno cercare di rimuovere dal canale il materiale presente all'interno, mantenendolo in sospensione con un'adeguata irrigazione, ed evitare di spingerlo meccanicamente oltre il forame.
- Rimuovere tutto il tessuto pulpare per ridurre il rischio di lasciare all'interno del canale materiale infetto o suscettibile di colonizzazione batterica in un tempo successivo.
- Detergere e sagomare i canali nella stessa seduta per evitare successive infezioni dei canali stessi.
- Creare uno spazio adeguato a contenere l'eventuale essudato per ridurre l'incidenza di dolori legati alla compressione diretta sui tessuti di sostegno del dente.

### **1.11 - DETERSIONE DEL SISTEMA DEI CANALI RADICOLARI**

Scopo della detersione è quello di rimuovere dall'interno del sistema dei canali radiolari tutto il materiale intracanalare, sia esso di origine pulpare, vitale o necrotico, sia esso costituito da microrganismi. La rimozione del tessuto pulpare necrotico e dei microrganismi avviene esclusivamente grazie all'azione delle soluzioni irriganti.

Secondo Castellucci le soluzioni irriganti in Endodonzia devono rispondere a precisi requisiti:

- devono avere la proprietà di digerire le sostanze proteiche e quindi di sciogliere i tessuti necrotici
- devono avere una bassa tensione superficiale, per raggiungere il delta apicale e tutte le zone non raggiungibili dagli strumenti
- devono avere proprietà germicide e antibatteriche
- devono essere non tossiche e non irritanti per i tessuti periapicali
- devono mantenere sospesi i residui dentinali
- devono fornire una lubrificazione agli strumenti canalari
- devono prevenire il discolorimento del dente e anzi eventualmente schiarirlo
- devono essere relativamente innocue per il paziente e per l'operatore
- devono essere facilmente reperibili e poco costose

Non esistono irriganti che possiedano tutte le caratteristiche desiderabili senza avere anche caratteristiche negative; la soluzione irrigante oggi universalmente più usata e che risponde più delle altre a tutti requisiti sopra citati è l'ipoclorito di sodio (NaClO).

Gli irriganti possono essere divisi in irriganti con azione antibatterica e in irriganti con azione decalcificante. Per questo motivo, generalmente, i regimi di irrigazione si basano su irriganti ad azione antibatterica (come NaClO) per una fase iniziale, accoppiati a irriganti ad azione decalcificante (come EDTA) per una fase intermedia, durante la quale si liberano le pareti canalari dallo smear layer prodotto dagli strumenti di sagomatura, e una fase finale in cui gli irriganti antibatterici possono essere usati con varie tecniche di potenziamento per riuscire a penetrare in profondità nei recessi anatomici dell'endodonto. L'uso corretto di una combinazione di irriganti e di tecniche di potenziamento contribuisce a una detersione quanto più possibile ottimale.

Esistono in commercio diversi tipi di irriganti:

- **Ipoclorito di sodio**

L'ipoclorito di sodio è l'irrigante più comunemente utilizzato; si dissocia in acqua in ioni  $\text{Na}^+$  e  $\text{OCl}^-$ , stabilendo un equilibrio con l'acido ipocloroso (HClO). A pH neutro o acido, la forma predominante è HClO, che è responsabile dell'attività antibatterica. NaClO è generalmente utilizzato a concentrazioni che variano tra lo 0,5% e il 5,5% [53]. A differenza degli altri irriganti, NaClO è in grado di dissolvere sia i residui pulpari necrotici che, in misura minore, i residui pulpari vitali e il collagene dentinale, ma non la componente

inorganica dello smear layer.

La concentrazione minima antibatterica efficace di NaClO è influenzata dalla presenza di materiale organico; negli esperimenti in vitro, è efficace anche a concentrazioni dello 0,5% [54], anche se con tempi prolungati. Tuttavia, in vivo, la presenza di essudato, residui pulpari e batterici riduce l'efficacia e consuma NaClO [55, 56]. Pertanto, è fondamentale un continuo ricambio per garantire l'adeguata efficacia di NaClO. Quando si considera l'azione sul biofilm, è estremamente importante utilizzare NaClO a concentrazioni elevate (5,25-6%) [57]. La temperatura ha un'influenza positiva sull'azione antibatterica e litica di NaClO, per cui si consiglia di riscaldarlo a 50-60°C [58]. I punti critici dell'uso di NaClO includono l'odore, la tossicità e l'inefficacia nel rimuovere lo smear layer, cioè le componenti inorganiche. Inoltre, la scarsa efficacia antibatterica di NaClO in vivo (a causa della presenza di peculiarità anatomiche come istmi, anastomosi, fin, recessi, e per la presenza di essudato e residui organici pulpari) spinge a ricercare metodiche per aumentarne l'efficacia in situazioni cliniche.

- **Clorexidina**

La clorexidina digluconata è un irritante endodontico con buone capacità antibatteriche [59]. Per essere efficace in ambito endodontico deve essere impegnata alla concentrazione del 2%. A differenza di NaClO non ha nessun tipo di attività di dissoluzione né sui tessuti [60] né nel biofilm [57], e quindi non può essere impiegata in sostituzione di esso. Come l'ipoclorito, è influenzata dalla presenza di residui organici all'interno del sistema dei canali radicolari.

- **EDTA**

Per eliminare i residui inorganici non rimossi da NaClO, la soluzione più comunemente usata è una soluzione a pH 7 di EDTA (acido etilendiaminotetracetico). L'EDTA non ha proprietà antibatteriche, ma rimuove esclusivamente lo strato di smear layer depositato dall'azione meccanica degli strumenti rendendo di nuovo accessibili ai disinfettanti le pareti dei canali. L'uso raccomandato di EDTA è un lavaggio di 1-3 minuti alla fine della fase di strumentazione e dopo l'uso di NaClO [53]. Bisogna tener presente che l'uso di EDTA insieme a NaClO non è possibile, in quanto l'EDTA, essendo chelante, riduce immediatamente la quantità di cloro disponibile, risultando in una perdita di efficacia di NaClO [61]. L'uso di NaClO dopo la rimozione della porzione inorganica dello smear layer può produrre erosione dentinale [62], il cui significato clinico è ancora da chiarire.

- **Acido citrico**

Tra le varie sostanze acide impiegate, l'acido citrico è quella che provoca un allargamento minore dei tubuli. Sia a concentrazioni del 10% che dell'1%, risulta più efficace come agente decalcificante rispetto all'EDTA al 17% [63].

- **Nuovi irriganti**

Come accennato in precedenza, NaClO ed EDTA presentano dei limiti: la dentina esercita un effetto tampone neutralizzando dopo pochi secondi l'azione degli irriganti [55], la complessa anatomia endodontica spesso non permette la penetrazione degli irriganti negli spazi negativi del sistema dei canali radicolari; inoltre NaClO, reagendo con il tessuto pulpare, produce gas che può rimanere intrappolato come una bolla all'interno dello spazio canalare impedendo un ricambio dell'irrigante nel terzo apicale. Infine, l'EDTA, se miscelato con NaClO, ne neutralizza l'azione. Non si devono dimenticare le possibili reazioni avverse dovute all'incauto utilizzo di NaClO e la possibile erosione peritubulare, anche se di quest'ultima si ignora al momento il reale impatto clinico. I nuovi irriganti possono avere le seguenti caratteristiche:

- essere meno “tossici”, ovvero non costituire un reale pericolo in caso di fuoriuscita oltre apice: fanno parte di questa categoria le acque ozonate e le soluzioni attivate elettrochimicamente (ECA) [64];
- avere una spiccata azione antibiotica, possibilmente prolungata nel tempo: fanno parte di questa categoria gli irriganti che contengono derivati delle tetracicline;
- ad alcuni irriganti “classici” viene aggiunto un tensioattivo per facilitarne la penetrazione verso apicale: fanno parte di questa categoria prodotti formati da NaOCl con tensioattivo e EDTA con tensioattivo.

Esistono inoltre composti di varie sostanze proposti come unico irrigante al termine delle manovre di detersione e sagomatura e prima dell'otturazione canalare; queste soluzioni dovrebbero rimuovere lo smear layer e contemporaneamente disinfettare lo spazio endodontico: a tutt'oggi questi prodotti sono conosciuti come BioPure MTAD (Dentsply Tulsa Dental Specialties, Tulsa, OK), Tetraclean (Ogna Laboratori Farmaceutici, Milano, Italia) (che contengono un tensioattivo, un derivato della tetraciclina e un demineralizzante) e Qmix (Dentsply Tulsa Dental Specialties, Tulsa, OK) (che contiene un agente demineralizzante e clorexidina in percentuale del 2%).

I problemi da affrontare per ottenere una detersione completa dell'endodonto sono molteplici. Da un lato, la complessità anatomica del sistema dei canali radicolari e la

presenza dei tubuli dentinali aumentano notevolmente la superficie disponibile per la colonizzazione da parte dei batteri. La formazione di smear layer durante la fase di sagomatura ostacola un contatto adeguato tra gli agenti irriganti e i patogeni. Inoltre, la presenza di biofilm batterici, che sono particolarmente resistenti all'azione degli irriganti, rende ulteriormente difficile questo compito. È fondamentale considerare che la sicurezza durante l'uso (soprattutto quando si irriga con NaClO) non è sempre facile da mantenere.

Il regime di irrigazione alternato tra agente chelante e NaClO, pur possedendo le caratteristiche necessarie per una detersione completa dello spazio endodontico, non garantisce un livello di pulizia ottimale, specialmente nel terzo apicale [65, 66], e può provocare effetti indesiderati come l'erosione peritubulare. La ricerca è attivamente impegnata nel migliorare la qualità della detersione canalare, per assicurare la completa rimozione del tessuto pulpare e dei microrganismi presenti nello spazio endodontico. A tal fine, gli sforzi si sono concentrati sullo sviluppo di nuovi irriganti, su sistemi che migliorano il ricambio e la penetrazione dell'irrigante all'interno dello spazio canalare, e su nuove modalità per l'attivazione dell'irrigante, che vanno dalla semplice agitazione della soluzione all'adozione di approcci che combinano le strategie descritte in precedenza.

I fattori chiave che influenzano l'efficacia di una soluzione irrigante all'interno del sistema canalare sono pochi. Innanzitutto, è essenziale che qualsiasi soluzione venga a contatto sia con i tessuti su cui deve agire, sia con i microrganismi da eliminare. Inoltre, gli angusti spazi del sistema canalare non consentono di mantenere grandi quantità di soluzione irrigante all'interno dei canali. Considerando anche l'effetto tampone della dentina e dei tessuti che reagiscono con l'irrigante, è evidente che un ricambio frequente, se non continuo, dell'irrigante consenta di ottenere risultati migliori. Un notevole miglioramento nell'azione degli irriganti può essere ottenuto amplificando la reattività della soluzione, permettendo così di ottenere risultati migliori in tempi più brevi. Infine, un fattore direttamente legato alla capacità di detersione dello spazio canalare è l'effetto fisico determinato dalla forza meccanica dell'irrigante sulle pareti del canale: la cosiddetta tensione tangenziale (shear stress), che rappresenta la forza esercitata dal flusso dell'irrigante sulle superfici canalari.

Le siringhe utilizzate per l'irrigazione non dovrebbero avere una capacità superiore a 5 mL per evitare di esercitare troppa pressione durante i lavaggi, riducendo così il rischio di fuoriuscite accidentali di NaClO nel periapice. È consigliabile che abbiano un attacco tipo Luer, che impedisce lo sgancio accidentale dell'ago, evitando così che NaClO possa

macchiare i vestiti del paziente o irritare gli occhi o il viso.

Gli aghi per l'irrigazione endodontica sono stati notevolmente ridotti nelle dimensioni; oggi si preferiscono aghi 27 G (diametro 0,42 mm) o, meglio, aghi 30 G (diametro 0,31 mm). È noto che il ricambio dell'irrigante avviene solo poco oltre la punta dell'ago [53, 67]; per questo motivo è preferibile utilizzare aghi che penetrino il più vicino possibile all'apice, senza aumentare il rischio di fuoriuscita di NaClO. A tal fine, sono stati progettati diversi puntali da irrigazione.

Il flusso e il ricambio degli irriganti all'interno del sistema dei canali radicolari possono essere studiati attraverso l'uso di additivi radiopachi o fluorescenti che non alterano le proprietà fisiche dell'irrigante studiato [68]. Per analizzare la dinamica del ricambio degli irriganti, si ricorre anche a studi di simulazione del flusso intracanalare (CFD, Computational Fluid Dynamics) [69]. È stato dimostrato che il ricambio nella parte apicale, che è anche la più importante per il successo a lungo termine del trattamento, è estremamente limitato. Solo con l'ausilio di mezzi di agitazione è possibile ottenere un sufficiente ricambio di irrigante nella parte apicale

## **1.12 - ATTIVAZIONE DEGLI IRRIGANTI**

### **Riscaldamento**

Il più comune tra i sistemi di potenziamento dell'azione di NaClO è il riscaldamento della soluzione, che può avvenire all'esterno dell'elemento dentale, in appositi contenitori o riscaldando le siringhe, oppure all'interno del dente, mediante l'utilizzo di portatori di calore (gli stessi utilizzati per la compattazione a caldo della guttaperca) o mediante inserti ultrasonici.

La temperatura aumenta la reaction rate di NaClO, influenzando positivamente la capacità di dissoluzione dei tessuti organici e l'azione antibatterica di NaClO, per cui si consiglia di riscaldare NaClO a 50-60 °C [58].

### **Agitazione manuale**

Un metodo estremamente semplice per implementare l'attività degli agenti irriganti consiste nell'introdurre all'interno del canale un cono di guttaperca che si adatta perfettamente alla forma del canale e muoverlo con movimenti su e giù di ampiezza 2-3 mm. Questo movimento consente un efficace effetto idrodinamico e facilita la penetrazione dell'irrigante [70, 71]. Tale tipo di agitazione è estremamente economica e facile da realizzare, prevedendo

idealmente circa 100 movimenti su e giù in 30 secondi.

In alternativa, è possibile utilizzare strumenti manuali mossi passivamente nel canale, come finger spreader o carrier. È importante ricordare che questa metodica agisce esclusivamente sul ricambio dell'irrigante all'interno del sistema canalare, senza potenziare l'effetto intrinseco dell'irrigante. In altre parole, non migliora il tasso di reazione, ma aumenta solo il contatto.

Inoltre, questo metodo ha la capacità di ridurre al minimo l'effetto vapor lock, poiché lo spazio precedentemente occupato dall'aria viene sostituito dal cono di guttaperca, il quale porta con sé un velo di irrigante fino alla lunghezza di lavoro [72].

### **Ultrasuoni**

Le lime ultrasoniche sono state introdotte in endodonzia nel 1957 da Richman [73] per sagomare e detergere i canali, ma fu Martin, nel 1980, a disegnare un'unità ultrasonica utilizzabile per l'endodonzia [74].

Attualmente sono descritte in letteratura due diverse metodiche di irrigazione ultrasonica:

- *PUI (Passive Ultrasonic Irrigation)*: L'attivazione e il potenziamento degli irriganti possono essere effettuati senza contatto della lima ultrasonica con le pareti canalari; da questa caratteristica deriva la definizione di metodo passivo. Per questa tecnica sono stati progettati appositi inserti di diverse forme, tutti privi di angolo di taglio, per ridurre al minimo la possibilità di alterazioni della forma del canale in caso di contatto accidentale con le pareti canalari.

Si tratta di una tecnica in due fasi: l'irrigante viene introdotto mediante una siringa e successivamente attivato con l'uso di inserti ultrasonici. Secondo Ahmad et al. [75], in questa tecnica l'inserito ultrasonico, vibrando, genera uno streaming acustico che produce uno shear stress sufficiente a dislocare i detriti nei canali strumentati, migliorando così la pulizia delle pareti canalari [76-78].

Gli inserti, vibrando liberamente all'interno del canale a frequenze comprese tra 25 e 30 kHz (le frequenze inferiori a 20 kHz producono vibrazioni soniche e non ultrasoniche), creano microcavitazione. I piccoli vuoti che si formano, implodendo, generano un'intensa agitazione della soluzione all'interno dello spazio canalare, migliorando la rimozione dei detriti sia organici che inorganici [77, 79-83] e la penetrazione intratubulare a livello del terzo apicale [84].

L'attivazione tramite PUI consente anche un aumento della temperatura dell'irrigante [85-87] e un incremento del tasso di reazione [88]. Tutto ciò si traduce in una maggiore capacità di detersione, un'attività antibatterica più efficace [89-94] e un'azione di

dissoluzione dei tessuti più potente [95, 96].

Il principale limite di questa tecnica riguarda la passività: non è semplice far lavorare l'inserito in modo passivo all'interno di canali stretti e curvi; se l'inserito entra in contatto, si verifica una perdita di efficacia poiché la vibrazione viene inibita in quel punto. Infine, si attendono studi futuri che indichino le tempistiche ottimali per questa tecnica: attualmente, il protocollo maggiormente consigliato prevede 3 cicli di 20 secondi [97].

- *UNI (Ultrasonic Needle Irrigation)*: attivazione dell'irrigante da parte dell'inserito ultrasonico è contemporanea all'irrigazione. Introdotta da Nusstein [98], questa tecnica prevede la fuoriuscita dell'irrigante da un ago di diametro 25 G che, contemporaneamente, vibra a frequenze ultrasoniche. In questo modo si accoppiano i vantaggi degli ultrasuoni con un ricambio continuo dell'irrigante. Questa metodica consente di ottenere un buon livello di pulizia sia nel canale principale sia negli istmi [99, 100] ed è molto efficace nell'abbattimento della carica batterica [101]. I vantaggi di questa tecnica sono: un ricambio migliore, un buon shear stress, un aumento della reaction rate, ma c'è il rischio di estrusione dell'irrigante oltre apice. Per questo motivo bisogna evitare di avvicinare la punta dell'ago a una distanza inferiore a 5 mm dall'apice soprattutto in elementi dentali con il diametro del forame apicale superiore ai 60-70 ISO.

### **Sistemi sonici**

I sistemi sonici rappresentano un metodo efficace per l'agitazione dell'irrigante. Introdotti da Tronstad per l'endodonzia nel 1985 [102], hanno fornito risultati promettenti per quanto riguarda la disinfezione dei canali radicolari [103].

Le ampie oscillazioni degli inserti, quando sono liberi di muoversi nel canale, generano un movimento della soluzione irrigante che porta a un livello di detersione migliore rispetto all'irrigazione tradizionale effettuata esclusivamente con la siringa [82]. È importante notare, tuttavia, che la maggiore potenza dei sistemi ultrasonici è più efficace nella rimozione dei detriti dentinali rispetto ai sistemi sonici meno potenti [104-106]. Le due metodologie, invece, non mostrano differenze significative nella detersione dei detriti dentinali se si prolungano i tempi di utilizzo [82].

Questa metodica non aumenta il tasso di reazione di NaClO; inoltre, gli inserti, specialmente nel terzo apicale, possono perdere efficacia quando costretti all'interno del sistema canalare. Questo accade perché la vibrazione sonica, generando movimenti dell'inserito di maggiore ampiezza, risulta meno potente rispetto alla vibrazione ultrasonica. I due strumenti maggiormente utilizzati per questa metodica sono i file rispisonic (Medidenta International Inc, Woodside, NY) su manipolo 1500 Micro-Mega, Besançon, France e

l'endoactivator (Dentsply Tulsa Dental Specialties, Tulsa, OK).

### **Irrigazione a pressione negativa**

Prima di descrivere la metodica dell'irrigazione a pressione negativa, è utile fornire una breve spiegazione del fenomeno noto come vapor lock.

Il vapor lock è caratterizzato dalla formazione di una bolla d'aria o di gas all'interno di un sistema chiuso. Questa bolla ostacola la penetrazione del liquido irrigante e impedisce fenomeni di osmosi o soluzione, isolando completamente la porzione canalare a valle della bolla e ostacolando il ricambio dell'irrigante nel tratto più delicato, ovvero il terzo apicale.

La creazione di questa bolla può verificarsi non solo a causa di un'eventuale iniezione accidentale di aria nel canale, ma anche a seguito dell'azione della soluzione irrigante, che, reagendo con i tessuti, libera ossigeno. La rimozione di questa bolla, se si trova in profondità, può risultare complessa, considerando la difficoltà di raggiungere il limite apicale con la punta di un ago per irrigazione. Inoltre, posizionare l'ago da irrigazione in queste aree del canale radicolare comporta il rischio di far estrudere l'irrigante oltre l'apice se la punta è collocata a ridosso del forame apicale.

Negli ultimi anni sono state proposte metodiche che, basandosi su un'intuizione di Lussi [107], garantiscono la penetrazione dell'irrigante all'interno dello spazio endodontico attraverso pressione negativa. Queste metodiche offrono un indubbio vantaggio in termini di sicurezza, evitando l'iniezione profonda di NaClO; tuttavia, è fondamentale posizionare la cannula aspirante esattamente all'apice.

Con i sistemi a pressione positiva, non è possibile avere la certezza assoluta del limite apicale raggiunto dalla soluzione irrigante; al contrario, con i sistemi a pressione negativa si ha il controllo e la consapevolezza che l'irrigante arriverà esattamente dove termina la cannula aspirante e non oltre.

Per questo sistema, chiamato EndoVac (Smart Endodontics; Discus Dental, Culver City, CA), sono state progettate cannule microscopiche con un diametro di 0,32 mm (corrispondente a 32 ISO) dotate di 12 fori per l'aspirazione. Per posizionarle in apice, è necessario che i canali abbiano un diametro apicale almeno uguale a 35 ISO e una conicità di almeno 0,04, in modo da consentire l'inserimento della microcannula in apice e lasciare spazio sufficiente affinché l'irrigante possa defluire.

Con questo sistema di aspirazione endocanalare, la quantità di irrigante che può estrudere dall'apice è limitata [108]. Inoltre, sia il livello di detersione nel terzo apicale [109] sia il livello di pulizia degli istmi nei molari inferiori [110] risultano nettamente superiori rispetto a quelli raggiungibili con le tradizionali metodiche a pressione positiva. Anche l'azione

antibatterica è migliore rispetto all'irrigazione tradizionale con siringa e ago [111]. La tecnica a pressione negativa raggiunge questi risultati garantendo un flusso continuo di soluzione irrigante e uno shear stress lungo le pareti del canale; tuttavia, non ha alcun effetto sulla temperatura e sul tasso di reazione dell'irrigante.

L'obbligatorietà di avere preparazioni apicali con diametro superiore alla misura minima della cannula (32 ISO) può rendere questa tecnica laboriosa in alcune circostanze.

### **Sistemi combinati**

Esistono sistemi di attivazione misti, nei quali si cerca di combinare le caratteristiche positive delle diverse metodiche descritte. Ad esempio, ci sono siringhe con ago sonico a pressione positiva e sistemi in cui l'aspirazione intracanalare avviene tramite cannule che vibrano a frequenze soniche e ultrasoniche, e così via.

Con l'eccezione del sistema RinsEndo (Dürr Dental, Bietigheim, Germania), che è stato oggetto di alcune ricerche [112, 113], attualmente per molte di queste metodiche mancano dati sufficienti per formulare opinioni supportate da evidenze scientifiche valide.

### **Fotoattivazione**

L'utilizzo del laser in endodonzia è stato proposto nel corso degli anni per migliorare il livello di detersione e disinfezione dello spazio endodontico [114]. Tuttavia, sono emerse alcune limitazioni, tra cui la difficoltà di far agire il raggio laser lungo tutta la superficie canalare, a causa dell'emissione unidirezionale del laser [115], e la possibilità di alterare la struttura superficiale delle pareti canalari mediante un eccessivo surriscaldamento [116, 117].

Esistono diverse tipologie di laser e metodiche di attivazione degli irriganti. Tra queste, le principali sono l'irrigazione laser attivata (LAI, Laser Activated Irrigation) e la tecnica PIPS (Photon Induced Photoacoustic Streaming).

L'irrigazione laser attivata (LAI) è stata introdotta recentemente come metodo efficace per l'attivazione delle soluzioni irriganti [118, 119]. Il meccanismo di azione si basa sulla creazione di microcavitazione e successiva implosione, causata dal rapido assorbimento dell'energia del laser [120]. Questa metodica si è dimostrata efficace nella rimozione dello smear layer, ma può comportare il rischio di estrusione dell'irrigante oltre apice [119]. La tecnica agisce creando turbolenza, ricambio e shear stress, aumentando inoltre sia la temperatura che il tasso di reazione di NaClO. Dopo l'attivazione laser, NaClO mantiene un tasso di reazione più elevato per circa 5 minuti [88]. Sebbene questa tecnica sembri molto promettente, presenta alcuni limiti legati all'alto costo delle apparecchiature e ai rischi di

estrusione apicale dell'irrigante.

Difetti simili sono riscontrabili anche nella tecnica PIPS, descritta da DiVito nel 2009.

Questa tecnica utilizza un laser Er

a potenza subablattiva con modalità pulsata, cioè con un'emissione di luce intermittente e non continua. Grazie a uno speciale disegno della punta, si creano onde fotoacustiche all'interno dell'irrigante, estremamente efficaci nella rimozione dei detriti e dello smear layer.

Esistono inoltre tecniche di attivazione tramite luce di soluzioni irriganti che contengono un recettore specifico (di solito un colorante) per una determinata lunghezza d'onda. Da un lato, questa metodica è efficace come azione antibatterica [121] e virtualmente non tossica [122, 123], ma dall'altro richiede un'eliminazione completa del colorante introdotto, rendendo il processo più complesso.

### **1.13 - OTTURAZIONE TRIDIMENSIONALE DEL SISTEMA DEI CANALI RADICOLARI**

È universalmente riconosciuto che la completa sterilizzazione di un canale radicolare infetto sia molto difficile, se non impossibile, da raggiungere, così come la completa rimozione di tutti i residui pulpari. I microrganismi rimangono quindi isolati all'interno del sistema dei canali radicolari, magari all'interno di tubuli dentinali infetti più in profondità rispetto al livello della parete dentinale sagomata. Di conseguenza, non possono essere raggiunti dall'attività fagocitaria delle difese dell'organismo, mentre la presenza di residui pulpari necrotici, insieme all'essudato che si accumula, può fungere da "pabulum" e contribuire al mantenimento della loro vitalità.

Tuttavia, se il sistema dei canali radicolari verrà completamente otturato nelle sue tre dimensioni, tutti gli eventuali microrganismi residui rimarranno intrappolati all'interno dei tubuli dentinali, tra il cemento radicolare da una parte e il materiale da otturazione dall'altra, senza alcuna possibilità di sopravvivenza.

È quindi essenziale che il sistema canalare venga ben sigillato nelle sue tre dimensioni, per proteggere il dente dal rischio di infiltrazione apicale causata da batteri rimasti in porzioni non riempite (otturazioni corte), e dal rischio di infiltrazione coronale in caso di perdita del sigillo coronale e reinfezione dell'intero sistema.

Schilder ha sottolineato l'importanza, in endodonzia, dell'eliminazione degli irritanti dal sistema dei canali radicolari, attraverso detersione, sagomatura, disinfezione meccanica e otturazione totale dell'endodonto. "In ultima analisi", afferma Schilder, "è il sigillo del complesso sistema dei canali radicolari e il suo isolamento dal legamento parodontale e

dall'osso che garantisce la salute dell'apparato di sostegno del dente contro le tossine e i prodotti metabolici di disfacimento di origine endodontica".

"Lo scopo ultimo dell'endodonzia è quindi eliminare completamente il sistema dei canali radicolari, come se si estraesse il dente".

#### **1.14 - BIBLIOGRAFIA**

- [1] American association of endodontists; "quality assurance guidelines" 1987
- [2] Marsh PD. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology* 2003;149:279-294
- [3] Kantz WE, Henry CA. Isolation and classification of anaerobic bacteria from intact pulp chambers of non-vital teeth in man. *Archs Oral Biol* 1974;19:91-96
- [4] Wittgow WC, Jr., Sabiston CB, Jr. Microorganisms from pulpal chambers of intact teeth with necrotic pulps. *J Endod* 1975;1:168-171
- [5] Sundqvist G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994;78:522- 530
- [6] Siqueira JF Jr, Rôças IN. Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: part 2 – Redefining the endodontic microbiota. *J Endod* 2005;31:488-498
- [7] Carlsson J. Microbiology of plaque associated periodontal disease. In: Lindhe J, ed. *Textbook of clinical periodontology*. Copenhagen: Munksgaard, 1990:129-152
- [8] Sundqvist G. Associations between microbial species in dental root canal infections. *Oral Microbiol Immunol* 1992;7:257-262
- [9] Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. *J Endod* 1992;18:427-430
- [10] Gomes BP, Drucker DB, Lilley JD. Positive and negative associations between bacterial species in dental root canals. *Microbios* 1994;80:231-243
- [11] Lana MA, Ribeiro-Sobrinho AP, Stehling R, et al. Microorganisms isolated from root canals presenting necrotic pulp and their drug susceptibility in vitro. *Oral Microbiol Immunol* 2001;16:100-105
- [12] Peters LB, Wesselink PR, van Winkelhoff AJ. Combinations of bacterial species in endodontic infections. *Int Endod J* 2002;35:698-702
- [13] Nair PNR. Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. *J Endod* 1987;13:29-39
- [14] Costerton JW, Stewart PS. Biofilms and device-related infections. In: Nataro JP, Blaser MJ, Cunningham-Rundles S, eds. *Persistent bacterial infections*. Washington, DC: ASM Press, 2000:423-439

- [15] Costerton W, Veeh R, Shirtliff M, Pasmore M, Post C, Ehrlich G. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections. *J Clin Invest* 2003;112:1466- 1477
- [16] Abdullah M, Ng YL, Gulabivala K, Moles DR, Spratt DA. Susceptibilities of two *Enterococcus faecalis* phenotypes to root canal medications. *J Endod* 2005;31:30-36
- [17] Nair PNR. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *Int Endod J* 2006;39:249-81
- [18] Molander A, Reit C, Dahlén G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 1998;31:1-7
- [19] Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;85:86-93
- [20] Möller ÅJR. Microbiological examination of root canals and periapical tissues of human teeth. Methodological studies. *Odontol Tidsk* 1966;74:Suppl: 1-380
- [21] Peciuliene V, Balciuniene I, Eriksen HM, Haapasalo M. Isolation of *Enterococcus faecalis* in previously root-filled canals in a Lithuanian population. *J Endod* 2000;26:593-595
- [22] Hancock HH, Sigurdsson A, Trope M, Moiseiwitsch J. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001;91:579-586
- [23] Peciuliene V, Reynaud AH, Balciuniene I, Haapasalo M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. *Int Endod J* 2001;34:429-434
- [24] Siqueira JF, Jr., Rôças IN. Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004;97:85-94
- [25] Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, Sousa EL, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Int Endod J* 2003;36:1-11
- [26] Cheung GS, Ho MW. Microbial flora of root canal-treated teeth associated with asymptomatic periapical radiolucent lesions. *Oral Microbiol Immunol* 2001;16:332-337
- [27] Nataro JP, Blaser MJ, Cunningham-Rundles S. Persistent bacterial infections: commensalism gone awry or adaptive niche? In: Nataro JP, Blaser MJ, Cunningham-Rundles S, eds. *Persistent bacterial infections*. Washington, DC: ASM Press, 2000: 3-10
- [28] Figdor D. Microbial aetiology of endodontic treatment failure and pathogenic properties of selected species. Umeå University Odontological Dissertations No. 79. Umeå: Umeå

University, Sweden, 2002. PhD thesis

- [29] Brown JR, von Lichtenberg F. Experimental actinomycosis in mice. *Arch Path* 1970;90:391-402
- [30] Figdor D, Sjögren U, Sörlin S, Sundqvist G, Nair PNR. Pathogenicity of *Actinomyces israelii* and *Arachnia propionica*: experimental infection in guinea pigs and phagocytosis and intracellular killing by human polymorphonuclear leukocytes in vitro. *Oral Microbiol Immunol* 1992;7:129-136
- [31] Sumita M, Hoshino E, Iwaku M. Experimental actinomycosis in mice induced by alginate gel particles containing *Actinomyces israelii*. *Endod Dent Traumatol* 1998;14:137-143
- [32] Giard JC, Hartke A, Flahaut S, Benachour A, Boutibonnes P, Auffray Y. Starvation-induced multiresistance in *Enterococcus faecalis* JH2-2. *Curr Microbiol* 1996;32:264-271
- [33] Wendt C, Wiesenthal B, Dietz E, Ruden H. Survival of vancomycin-resistant and vancomycin-susceptible enterococci on dry surfaces. *J Clin Microbiol* 1998;36:3734-3736
- [34] Figdor D, Davies JK, Sundqvist G. Starvation survival, growth and recovery of *Enterococcus faecalis* in human serum. *Oral Microbiol Immunol* 2003;18:234-239
- [35] Sedgley CM, Lennan SL, Appelbe OK. Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals ex vivo. *Int Endod J* 2005;38:735- 742
- [36] Jansen H-J. The periodontal microflora as a protein-dependent anaerobic degradation system. Nijmegen: University of Nijmegen, The Netherlands, 1996
- [37] Love RM. *Enterococcus faecalis*—a mechanism for its role in endodontic failure. *Int Endo J* 2001;34:399-405
- [38] Hubble TS, Hatton JF, Nallapareddy SR, Murray BE, Gillespie MJ. Influence of *Enterococcus faecalis* proteases and the collagen-binding protein, Ace, on adhesion to dentin. *Oral Microbiol Immunol* 2003;18:121-126
- [39] Ingle JJ, Newton CW, West JD et al. Obturation of the radicular space. In: Ingle JJ, Bakland LK, editors. *Endodontics*. 5Th ed. Hamilton, Ontario: BC Decker; 2002. p. 571-668
- [40] Venturi M, Prati C, Capelli G et al. A preliminary analysis of the morphology of lateral canals after root canal filling using a tooth-clearing technique. *Int Endod J* 2003; 36:54-63
- [41] Wu Mk, Wesselink PR. Endodontic leakage studies reconsidered. Part I. Methodology, application and relevance. *Int Endod J* 1993; 26:37-43
- [42] Dummer PM, McGinn JH, Rees DG. The position and topography of the apical canal constriction and apical foramen. *Int Endod J* 1984; 17:192-8
- [43] Nekoofar MH, Ghandi MM, Hayes SJ, Dummer PMH. The fundamental operating principles of electronic root canal length measurement devices. *Int Endod J* 2006; 39:595-

- [44] Ricucci D, Langeland K. Apical limit of root canal instrumentation and obturation, part 2. A histological study. *Int Endod J* 1998; 31:394-409
- [45] Schilder H. Filling the root canal in three dimensions. *Dent Clin North Am* 1967; 11:723-44
- [46] American Association of Endodontists. Glossary of terms used in endodontics. 4th ed. Chicago (IL): American Association Endodontists; 1984. p.10
- [47] Mayne JR, Shapiro S, Abramson II. An evaluation of standardized gutta-percha points. I. Reliability and validity of standardization. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1971; 31:250-7
- [48] Goldberg F, Gurfinkel J, Spielberg C. Microscopic study of standardized gutta-percha points. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1979; 47:275-6
- [49] Venturi M, Di Lenarda R, Breschi L. An ex vivo comparison of three different gutta-percha cones when compacted at different temperatures: rheological considerations in relation to the filling of lateral canals. *Int Endod J* 2006; 39:648-56
- [50] Tagger M, Greenberg B, Sela G. Interaction between sealers and gutta-percha cones. *J Endod* 2003; 29:835-7
- [51] Morfis AS. Vertical root fractures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990; 69:631-5
- [52] Hatton JF, Ferrillo PJ Jr, Wagner G, Stewart GP. The effect of condensation pressure on the apical seal. *J Endod* 1988; 14:305-8
- [53] Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod* 2006; 32:389-98
- [54] Radcliffe CE, Potouridou L, Qureshi R et al. Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 2004; 37:438-46
- [55] Haapasalo HK, Siren EK, Waltimo TM et al. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. *Int Endod J* 2000; 33:126-31
- [56] Haapasalo M, Qian W, Portenier I et al. Effects of dentin on the antimicrobial properties of endodontic medicaments. *J Endod* 2007; 33:917-25
- [57] Clegg MS, Vertucci FJ, Walker C et al. The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentin biofilms in vitro. *J Endod* 2006; 32:434-7
- [58] Sirtes G, Waltimo T, Schaetzle M et al. The effects of temperature on sodium hypochlorite short-term stability, pulp dissolution capacity, and antimicrobial efficacy. *J Endod* 2005; 31:669-71
- [59] Jeanson MJ, White RR. A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25%

- sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. *J Endod* 1994; 20:276-8
- [60] Naenni N, Thoma K, Zehnder M. Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. *J Endod* 2004; 30:785-7
- [61] Zehnder M, Schmidlin P, Sener B et al. Chelation in root canal therapy reconsidered. *J Endod* 2005; 31:817-20
- [62] Niu W, Yoshioka T, Kobayashi C et al. A scanning electron microscopic study of dentinal erosion by final irrigation with EDTA and NaOCl solutions. *Int Endod J* 2002; 35:934-9
- [63] Machado-Silveiro LF, Gonzalez-Lopez S, Gonzalez-Rodriguez MP. Decalcification of root canal dentine by citric acid, EDTA and sodium citrate. *Int Endod J* 2004; 37:365-9
- [64] Solovyeva AM, Dummer PM. Cleaning effectiveness of root canal irrigation with electrochemically activated anolyte and catholyte solutions: a pilot study. *Int Endod J* 2000; 26:6-10
- [65] Peters OA, Barbakow F. Effects of irrigation on debris and smear layer on canal walls prepared by two rotary techniques: a scanning electron microscopic study. *J Endod* 2000; 26:6-10
- [66] Foschi F, Nucci C, Montebugnoli L et al. SEM evaluation of canal wall dentine following use of Mtwo and ProTaper NiTi rotary instruments. *Int Endod J* 2004; 37:832-9
- [67] Boutsoukis C, Lambrianidis T, Kastrinakis E. Irrigant flow within a prepared root canal using various flow rates: a Computational Fluid Dynamics study. *Int Endod J* 2009;42:144-55
- [68] Salzgeber RM, Brilliant JD. An in vivo evaluation of the penetration of an irrigating solution in root canals. *J Endod* 1977; 3:394-8
- [69] Boutsoukis C, Verhaagen B, Versluis M et al. Evaluation of irrigant flow in the root canal using different needle types by an unsteady computational fluid dynamics model. *J Endod* 2010; 36:875-9
- [70] Machtou P. Irrigation investigation in endodontics. Paris: Paris VII University; 1980
- [71] Caron G. Cleaning efficiency of the apical millimeters of curved canals using three different modalities of irrigant activation: an SEM study. Paris: Paris VII University; 2007
- [72] Gu LS, Kim JR, Ling J et al. Review of contemporary irrigant agitation techniques and devices. *J Endod* 2009; 35:791-804
- [73] Richman R. the use of ultrasonics in root canal therapy and root resection. *Med Dent J* 1957; 12:12-8
- [74] Martin H, Cunningham WT, Norris JP et al. Ultrasonic versus hand filling of dentin: a quantitative study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1980; 49:79-81

- [75] Ahmad M, Pitt Ford TJ, Crum LA. Ultrasonic debridement of root canals: acoustic streaming and its possible role. *J Endod* 1987; 13:490-9
- [76] Krell KV, Johnson RJ. Irrigation patterns of ultrasonic endodontic files. Part II. Diamond-coated files. *J Endod* 1988; 14:535-7
- [77] Krell KV, Johnson RJ, Madison S. Irrigation patterns during ultrasonic canal instrumentation. Part I. K-type files. *J Endod* 1988; 14:65-8
- [78] Baumgartner JC, Cuenin PR. Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigation. *J Endod* 1992; 18:605-12
- [79] Martin H, Cunningham WT, Norris JP. A quantitative comparison of the ability of diamond and K-type files to remove dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1980; 50:566-8
- [80] Weller RN, Brady JM, Bernier WE. Efficacy of ultrasonic cleaning. *J Endod* 1980; 6:740-3
- [81] Teplitsky PE, Chenail BL, Mack B et al. Endodontic irrigation – a comparison of endosonic and syringe delivery systems. *Int Endod J* 1987; 20:233-41
- [82] Jensen SA, Walker TL, Hutter JW et al. Comparison of the cleaning efficacy of passive sonic activation and passive ultrasonic activation after hand instrumentation in molar root canals. *J Endod* 1999; 25:735-8
- [83] Lee SJ, Wu MK, Wesselink PR. The effectiveness of syringe irrigation and ultrasonics to remove debris from simulated irregularities within prepared root canal walls. *Int Endod J* 2004; 37:672-8
- [84] Paragliola R, Franco V, Fabiani C et al. Final rinse optimization: influence of different agitation protocols. *J Endod* 2010;36:282-5
- [85] Ahmad M. Measurements of temperature generated by ultrasonic file in vitro. *Endod Dent Traumatol* 1990;6:230-1
- [86] Al-Jadaa A, Paqué F, Attin T et al. Necrotic pulp tissue dissolution by passive ultrasonic irrigation in simulated accessory canals impact of canal location and angulation. *Int Endod J* 2009;42:59-65
- [87] Zeltner M, Peters OA, Paqué F. Temperature changes during ultrasonic irrigation with different inserts and modes of activation. *J Endod* 2009;35:573-7
- [88] Macedo BG, Wesselink PR, Zacchero F et al. Reaction rate of NaOCl in contact with bovine dentine: effect of activation, exposure time, concentration and pH. *Int Endod J* 2010;43:1108-15
- [89] Cunningham WT, Martin H, Pelleu GB Jr et al. A comparison of antimicrobial effectiveness of endosonic and hand root canal therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*

1982;54:238-41

[90] Sjogren U, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of ultrasonic root canal instrumentation. *Oral*

*Surg Oral Med Pathol* 1987;63:366-70

[91] Abbott PV, Heijkoop PS, Cardaci SC et al. An SEM study of the effects of different irrigation sequences and ultrasonics. *Int Endod J* 1991;24:308-16

[92] Briseno BM, Wirth R, Hamm G et al. Efficacy of different irrigation methods and concentrations of root canal irrigation solutions of bacteria in the root canal. *Endod Dent Traumatol* 1992;8:6-11

[93] Huque J, Kota K, Yamaga M et al. Bacterial eradication from root dentine by ultrasonic irrigation with sodium hypochlorite. *Int Endod J* 1998;31:242-50

[94] Mayer BE, Peters OA, Barbakow F. Effects of rotary instruments and ultrasonic irrigation on debris and smear layer scores: a scanning electron microscopic study. *Int Endod J* 2002;35:582-9

[95] Moorer WR, Wesselink PR. Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite. *Int Endod J* 1982;215:187-96

[96] Cheung GS, Stock CJ. In vitro cleaning ability of root canal irrigants with and without endosonics. *Int Endod J* 1982;26:334-43

[97] Van der Sluis LW, Verslius M, Wu MK et al. Passive ultrasonic irrigation of the root canal: a review of the literature. *Int Endod J* 2007;40:415-26

[98] Nusstein J. Ultrasonic dental device. Washington DC: U.S. Patent: 2005, pp. 6,948,935

[99] Gutarts R, Nusstein J, Reader A et al. In vivo debridement efficacy of ultrasonic irrigation following hand-rotary instrumentation in human mandibular molars. *J Endod* 2005;31:166-70

[100] Burleson A, Nusstein J, Reader A et al. The in vivo evaluation of hand/rotary/ultrasound instrumentation in necrotic, human mandibular molars. *J Endod* 2007;33:782-7

[101] Carver K, Nusstein, Reader A et al. In vivo antibacterial efficacy of ultrasound after hand and rotary instrumentation in human mandibular molars. *J Endod* 2007;33:1038-43

[102] Tronstad L, Barnett F, Schwartzben L et al. Effectiveness and safety of a sonic vibratory endodontic instrument. *Endod Dent Traumatol* 1985;1:69-76

[103] Pitt WG. Removal of oral biofilm by sonic phenomena. *Am J Dent* 2005;18:345-52

[104] Stamos DE, Sadeghi EM, Haasch GC et al. An in vitro comparison study to quantitate the debridement ability of hand, sonic, and ultrasonic instrumentation. *J Endod* 1987;13:434-

40

- [105] Sabins RA, Johnson JD, Hellstein JW. A comparison of the cleaning efficacy of short-term sonic and ultrasonic passive irrigation after hand instrumentation in molar root canals. *J Endod* 2003;29:674-8
- [106] Jiang LM, Verhaagen B, Versluis M et al. Evaluation of a sonic device designed to activate irrigant in the root canal. *J Endod* 2010;36:143-6
- [107] Lussi A, Nussbächer U, Grosrey J. A novel noninstrumented technique for cleansing the root canal system. *J Endod* 1993;19:549-53
- [108] Fukumoto Y, Kikuchi I, Yoshioka T et al. An ex vivo evaluation of a new root canal irrigation technique with intracanal aspiration. *Int Endod J* 2006;39:93-9
- [109] Nielsen BA, Craig Baumgartner J. Comparison of the EndoVac system to needle irrigation of root canals. *J Endod* 2007;33:611-5
- [110] Susin L, Liu Y, Yoon JC et al. Canal and isthmus debridement efficacies of two irrigant agitation techniques in a closed system. *Int Endod J* 2010;43:1077-90
- [111] Hockett JL, Dommisch JK, Johnson JD et al. Antimicrobial efficacy of two irrigation techniques in tapered and nontapered canal preparations: an in vitro study. *J Endod* 2008;34:1374-7
- [112] Hauser V, Braun A, Frentsen M. Penetration depth of a dye marker into dentine using a novel hydrodynamic system (RinsEndo). *Int Endod J* 2007;40:644-52
- [113] McGill S, Gulabivala K, Mordan N et al. The efficacy of dynamic irrigation using a commercially available system (RinsEndo) determined by removal of a collagen “bio-molecular film” from an ex vivo model. *Int Endod J* 2008;41:602-8
- [114] Kimura Y, Wilder-Smith P, Matsumoto K. Lasers in endodontics: a review. *Int Endod J* 2000;33:173-85
- [115] De Moor RJ, Meire M, Goharkhay K et al. Efficacy of ultrasonic versus laser-activated irrigation to remove artificially placed dentin debris plugs. *J Endod* 2010;36:1580-3
- [116] Yamazaki R, Goya C, Yu DG et al. Effects of erbium, chromium: YSGG laser irradiation on root canal walls: a scanning electron microscopic and thermographic study. *J Endod* 2001;27:9-12
- [117] Kimura Y, Yonaga K, Yokoyama K et al. Root surface temperature increase during Er:YAG laser irradiation of root canals. *J Endod* 2002;28:76-8
- [118] George R, Meyers IA, Walsh LJ. Laser activation of endodontic irrigants with improved conical laser fiber tips for removing smear layer in the apical third of the root canal. *J Endod* 2008;34:1524-7
- [119] George R, Walsh LJ. Apical extrusion of root canal irrigants when using Er:YAG and Er,Cr:YSGG lasers with optical fibers: an in vitro dye study. *J Endod* 2008; 34:706-8

- [120] Blanken J, Verdaasdonk R. Cavitation as a working mechanism of the Er, Cr:YSGG laser in endodontics: a visualization study. J Oral Laser Appl 2007; 7:97-106
- [121] Fimple JL, Fontana CR, Foschi F et al. Photodynamic treatment of endodontic polymicrobial infection in vitro. J Endod 2008; 34:728-34
- [122] George S, Kishen A. Advanced noninvasive light-activated disinfection: assesment of citotoxicity on fibroblast versus antimicrobial activity against Enterococcus faecalis. J Endod 2007; 33:599-602
- [123] Pagonis TC, Chen J, Fontana CR et al. Nanoparticle-based endodontic antimicrobial photodynamic therapy. J Endod 2010; 36:322-8

## 2. FISICA DEI LASER

### 2.1 - CENNI STORICI

L. A. S. E. R. è l'acronimo di *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*, vale a dire amplificazione della luce mediante l'emissione stimolata di radiazione.

La storia dello sviluppo del laser inizia dagli studi di M. Planck, relativi alla fisica del corpo nero (1901), e da quelli teorici di A. Einstein (1916), sull'emissione stimolata delle radiazioni (studi compresi nella sua teoria quantistica dell'emissione e dell'assorbimento, per la quale ricevette il premio Nobel nel 1917).

Già nel 1954, Townes, Gordon e Zeiger (della Columbia University, New York) e, indipendentemente, Basov e Prokhorov (del Lebedev Institute, Mosca) riuscirono a realizzare i primi amplificatori per microonde basati sul processo di emissione stimolata, chiamati MASER (Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation). Ciò che permise ai due gruppi di far prevalere l'emissione stimolata sull'assorbimento fu la cosiddetta "inversione di popolazione", ovvero la preparazione delle molecole in modo che fossero quasi tutte in uno stato eccitato anziché nello stato fondamentale. Il mezzo attivo utilizzato dai due gruppi per creare l'inversione di popolazione fu l'ammoniaca: le poche molecole eccitate venivano estratte elettrostaticamente da un fascio molecolare e accumulate all'interno di una cavità risonante. In questo modo, una diseccitazione spontanea emetteva radiazione che induceva la diseccitazione stimolata delle molecole vicine, innescando un processo a valanga che portava rapidamente alla diseccitazione globale del mezzo, con l'emissione di un intenso lampo di microonde praticamente monocromatiche.

Una caratteristica distintiva della radiazione prodotta era la coerenza: infatti, il processo di

emissione stimolata garantiva una relazione ben definita tra la fase della luce stimolante e quella emessa (i fotoni erano esattamente in fase). Dopo la diseccitazione, l'ammoniaca si trovava nello stato fondamentale, e quindi cessava la condizione indispensabile per avere l'emissione stimolata. In questo modo, non era possibile ottenere radiazione continua, ma solo impulsi. Per queste ricerche, Basov, Prokhorov e Townes ricevettero il Premio Nobel per la Fisica nel 1964.

Naturalmente, era desiderabile ottenere un'emissione continua di microonde: serviva un sistema in grado di mantenere l'inversione di popolazione nel tempo, con un mezzo che avesse molti livelli eccitati accessibili e un meccanismo che li ripopolasse continuamente. Makov, Kikuchi, Lambe e Terhune presentarono un maser a stato solido che generava radiazione continua. Grazie all'idea di Bloembergen (Physical Review, 1956), era possibile ripopolare continuamente gli stati elettronici eccitati, ottenendo così radiazione continua.

La prima idea di un LASER, ovvero di un maser in grado di operare nella regione visibile dello spettro elettromagnetico (la parola laser è infatti un acronimo simile a maser, dove Microwave è sostituito da Light), fu pubblicata nel 1958 sulla rivista americana Physical Review, in un articolo firmato da Townes e Schawlow. Tuttavia, la costruzione di un laser funzionante non fu immediata. Solo nel 1960, Theodor Maiman dei Laboratori di Ricerca della Hughes Corporation (USA) riuscì a realizzare il primo laser. Si trattava di un laser impulsato ottenuto sfruttando un cilindro di rubino posto tra due specchi. Il pompaggio era di tipo ottico e veniva realizzato mediante un intenso flash luminoso generato con una lampada a scarica di forma elicoidale posta attorno alla barra di rubino. Come nei primi maser, la diseccitazione per emissione spontanea di un fotone innescava il processo di emissione stimolata e la conseguente generazione di un impulso luminoso, ulteriormente amplificato dalla risonanza ottica tra i due specchi.

Il primo laser in grado di produrre un'emissione continua di luce (anziché singoli impulsi) fu realizzato verso la fine del 1960 da Ali Javan, William Bennet e Donald Herriot. I tre ricercatori dei Laboratori Bell (USA) svilupparono un dispositivo che utilizzava una miscela di due gas nobili, Elio e Neon, come mezzo attivo (da qui il nome laser HeNe). Il funzionamento era radicalmente diverso rispetto al dispositivo di Maiman, in quanto l'eccitazione del mezzo attivo avveniva mediante una scarica elettrica anziché un lampo luminoso. Il processo sfruttava il trasferimento risonante di eccitazione, basato su urti tra molecole di tipo diverso. I livelli eccitati subivano poi la diseccitazione per emissione stimolata, generando così radiazione coerente attraverso il decadimento su livelli energetici inferiori.

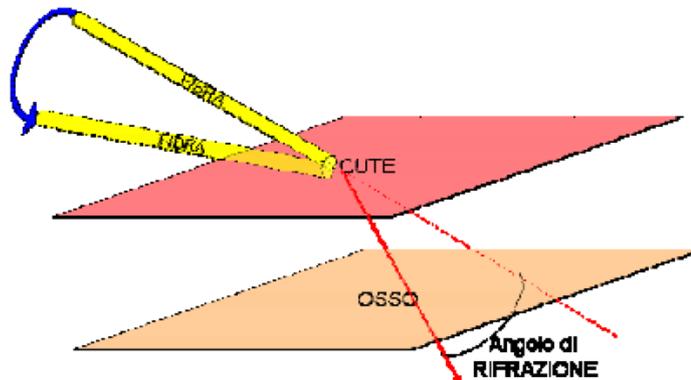
Dopo il laser a gas, una svolta significativa fu rappresentata dai dispositivi a semiconduttore,

presentati nel 1962 da quattro gruppi indipendenti guidati da Hall (General Electric Research Development Center, Schenectady, New York), Nathan (IBM Research Laboratory, Yorktown Heights, New York), Holonyak (General Electric, Syracuse, New York) e Rediker (MIT Lincoln Laboratory, Lexington, Massachusetts). Questi dispositivi erano basati su giunzioni p-n (strato p: eccedenza di lacune; strato n: eccesso di elettroni) all'arseniuro di gallio, che generavano radiazione coerente nell'infrarosso quando percorse da correnti elevate. Il funzionamento di questi dispositivi (diodi laser), essendo sostanzialmente dei diodi, era radicalmente diverso dagli altri laser, sebbene fosse sempre basato sul processo descritto da Einstein. In condizioni normali, gli elettroni del mezzo si trovano quasi tutti nella banda di valenza, mentre la banda di conduzione è quasi vuota; in queste condizioni, il materiale è un cattivo conduttore. Tuttavia, sottoponendo il materiale a un'intensa eccitazione elettrica, è possibile innescare la produzione di coppie lacuna-elettrone, con molti elettroni che salgono nella banda di conduzione, svuotando la banda di valenza, fenomeno che rappresenta proprio un'inversione di popolazione. A questo punto, alcuni elettroni ricadono spontaneamente nella banda di valenza, emettendo quanti di energia pari al salto energetico tra le bande. Tale radiazione stimola la diseccitazione di altri elettroni, innescando una valanga di diseccitazione stimolata che produce radiazione coerente. Questi laser a semiconduttore sono più compatti e consumano meno rispetto ai modelli a gas, ma non possono raggiungere le stesse potenze. Sin dal 1962, il laser iniziò ad essere utilizzato in oculistica per fotocoagulare le retinopatie. Nel 1971, Weichmann e Johnson eseguirono la prima applicazione del laser in endodonzia utilizzando un laser a CO<sub>2</sub> per realizzare un sigillo apicale radicolare. Nel 1972, Weichmann iniziò gli studi sull'impiego del laser al Neodimio (Nd) in odontoiatria.

## **2.2 - PRINCIPI DI FUNZIONAMENTO**

Il principio di funzionamento dell'apparecchiatura laser consiste nel produrre un fascio collimato di fotoni (luce) estremamente omogeneo in lunghezza d'onda, con una potenza perfettamente controllabile, generato attraverso l'amplificazione di un input di fotoni che stimolano ulteriori emissioni. I laser sono classificati, e trovano applicazione, sulla base della lunghezza d'onda del raggio di fotoni emesso, che spesso non è visibile all'occhio umano. L'applicazione medica sfrutta la capacità dei vari tessuti biologici di assorbire in modo selettivo diverse lunghezze d'onda, subendo così azioni specifiche. Le strutture biologiche che assorbono l'energia del fascio laser in modo selettivo possono essere distrutte, lasciando intatti i tessuti circostanti. In generale, i raggi con lunghezza d'onda nello spettro della luce

visibile vengono assorbiti dai pigmenti presenti nell'emoglobina e nella melanina, mentre quelli con lunghezza d'onda maggiore (infrarosso) vengono assorbiti dall'acqua e dai cristalli di idrossiapatite, la frazione mineralizzata dell'osso.



La rapidissima evaporazione dell'acqua, presente in ogni tipo di tessuto, dai tessuti molli alla dentina e allo smalto, è ciò che provoca la distruzione del tessuto irradiato. I vantaggi e le prestazioni del laser dipendono strettamente dalle interazioni tra le proprietà fisiche dei tessuti e le caratteristiche della lunghezza d'onda del fascio di luce emesso dal laser.

L'azione del laser è di tipo fototermico, cioè l'energia luminosa si converte in calore secondo meccanismi differenti, provocando effetti distinti sull'acqua contenuta nei vari tessuti, sui pigmenti come la melanina e l'emoglobina, e sull'idrossiapatite. Tuttavia, bisogna ricordare che questi meccanismi, sebbene seguano processi distinti, spesso si combinano tra loro, con la prevalenza di uno sugli altri. Ignorare queste interazioni può portare a risultati molto diversi da quelli desiderati dall'operatore e, talvolta, a effetti spiacevoli per il paziente.

Di conseguenza, un solo tipo di laser non può operare in modo ottimale sia sui tessuti duri che su quelli molli. Alcuni sistemi laser possono lavorare su entrambi i tipi di tessuti, mentre altri sono limitati ai tessuti molli, e altri ancora si presentano come "bivalenti", ma con una predisposizione marcata per determinate prestazioni.

È quindi fondamentale capire che il termine "laser" indica un gruppo di strumenti che possono essere molto diversi tra loro, principalmente per la lunghezza d'onda del fascio di luce emesso, ma anche per le potenze che possono fornire e i vari accessori che consentono di realizzare prestazioni specifiche.

### **2.3 - PRINCIPI FISICI DI FUNZIONAMENTO DELL'APPARECCHIO LASER**

Il modello nucleare dell'atomo di Bohr (1913), indica che ogni atomo si può ritenere costituito da un nucleo attorno al quale ruota un certo numero di elettroni, occupanti delle

orbite caratteristiche in funzione del livello energetico posseduto dall'atomo. Quando gli elettroni occupano le orbite più vicine al nucleo, l'atomo si trova al suo "stato fondamentale". Quando gli elettroni occupano orbite di diametro maggiore, per una qualunque assunzione energetica, l'atomo si trova in uno "stato eccitato".

L'incremento dell'orbita si produce perché aumenta l'energia cinetica di rotazione degli elettroni. È sempre possibile per gli elettroni tornare su orbite più interne semplicemente riducendo l'energia posseduta (emissione fotonica). Pertanto, si possono produrre spontaneamente i fenomeni di:

- *Assorbimento*: quando una radiazione elettromagnetica, incidente sull'atomo allo stato fondamentale, lo porta al livello eccitato cedendogli energia.
- *Emissione*: quando l'atomo passa dal livello eccitato a quello fondamentale, tramite emissione d'energia dall'atomo verso l'esterno, sotto la forma di radiazione elettromagnetica.

La teoria quantistica suggerisce che l'energia emessa o assorbita durante i passaggi, chiamati transizioni, è suddivisa in aggregati di dosi indivisibili detti quanti e, nel caso della luce, fotoni. Il fotone ha una natura ondulatoria, per cui viene emesso con una lunghezza d'onda che dipende dalla sua energia, determinata dalla differenza tra il livello raggiunto dallo stato "eccitato" e quello "fondamentale" dell'atomo emettitore.

Oltre ai meccanismi spontanei descritti, è possibile produrre un altro fenomeno: l'emissione indotta o stimolata. Questo fenomeno si verifica negli atomi eccitati che vengono colpiti da fotoni con un contenuto energetico pari alla differenza tra i livelli energetici disponibili nell'atomo stesso. In questo caso, l'atomo emette un fotone e si riduce al livello energetico inferiore. Il fotone iniziale, dopo la collisione, continua il suo cammino e ripete il fenomeno a ogni successiva collisione, generando ulteriori fotoni con lunghezze d'onda e fase identiche a quelle del fotone incidente.

In pratica, la radiazione incidente, colpendo un atomo eccitato, invece di essere semplicemente assorbita, induce un processo di emissione di un nuovo fotone.

Il principio di funzionamento del L.A.S.E.R. si basa proprio sul fenomeno dell'emissione di energia, stimolata da fotoni, da parte degli atomi eccitati. L'eccitazione dell'atomo si ottiene facendogli assorbire un fotone di frequenza, che lo porta dallo stato fondamentale ad un livello energetico superiore:  $E = \nu \cdot h$  ( $h$  è la costante di Planck).

Tale stato è però instabile e l'atomo tende a tornare allo stato fondamentale, tramite l'emissione spontanea di un fotone il cui contenuto di energia è pari a quella necessaria per

raggiungere lo stato eccitato.

La conseguenza del ripetersi di tale evento è la creazione di un fascio intensificato (amplificato) di fotoni, con identica lunghezza d'onda e oscillazioni perfettamente concordi. Questo fascio di luce viene definito coerente, mentre il meccanismo che lo genera prende il nome di emissione stimolata. Il procedimento è applicabile a tutte le forme di radiazioni elettromagnetiche, semplicemente sostituendo ai fotoni dei quanti di energia con diversa lunghezza d'onda.

L'aspetto operativo fondamentale per produrre un'amplificazione è la necessità di avere sostanze con un'abbondanza di atomi in stati energetici elevati, mentre nelle normali condizioni di equilibrio termico prevalgono invece gli atomi nello stato fondamentale. In natura, infatti, il fenomeno dell'assorbimento dei fotoni è più comune rispetto all'emissione stimolata.

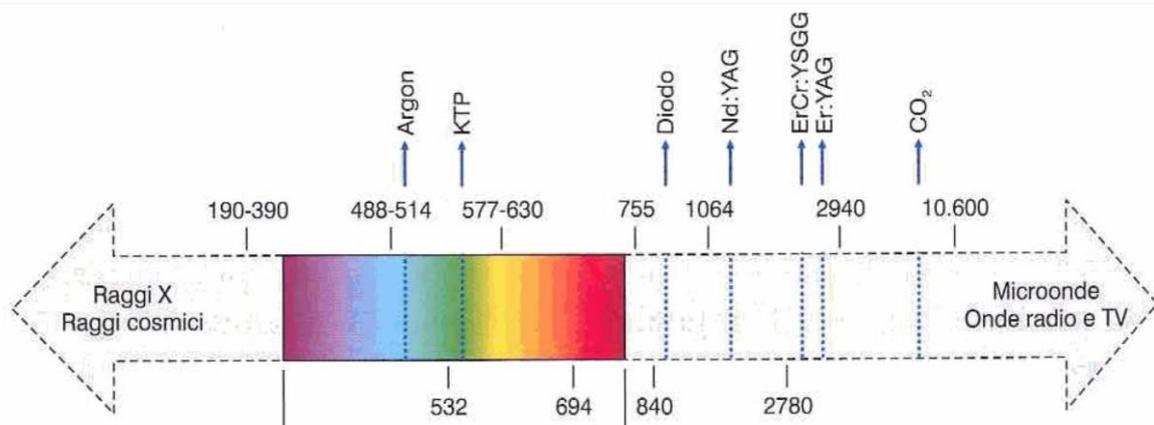
Per questo motivo, è necessario procedere con l'inversione della popolazione, che consiste nel rendere prevalenti gli stati energetici elevati rispetto a quelli fondamentali. Questo processo viene realizzato selezionando opportune sostanze bersaglio e portandole a livelli energetici superiori mediante radiazioni eccitatrici, un procedimento noto come "pompaggio". L'inversione della popolazione crea una situazione estremamente instabile, e nel caso in cui il pompaggio venga interrotto, si ristabilisce immediatamente l'equilibrio termodinamico, riportando gli atomi vicini allo stato fondamentale.

Una volta effettuata l'inversione di popolazione, ogni fotone incidente sul materiale genera un secondo fotone. Quando una parte di questi fotoni viene reinserita nel ciclo, il guadagno risultante è elevatissimo, e da un piccolo segnale iniziale si ottiene un'uscita molto amplificata. La retroazione dei fotoni avviene all'interno della "cavità risonante" del laser, costituita da un contenitore con pareti riflettenti e da una piccola apertura per l'estrazione mirata dei fotoni. La geometria e le dimensioni della cavità, nota come interferometro di Fabry-Perot, sono fondamentali: le onde riflesse devono sommarsi in fase con l'onda incidente, e il lato della cavità deve essere un multiplo esatto della lunghezza d'onda ( $\lambda$ ) della radiazione.

Da quanto detto, è evidente che il laser trasforma l'energia di alimentazione in una forma specifica di radiazione elettromagnetica coerente, che non è necessariamente limitata allo spettro visibile.

Lo spettro dei colori visibili all'occhio umano, dal viola al rosso, comprende lunghezze d'onda che vanno dai 400 ai 700 nm. Lunghezze d'onda inferiori ai 400 nm danno origine alla parte dello spettro chiamata "ultravioletto", che si trova oltre i colori percepibili

dall'occhio umano e comprende le radiazioni ionizzanti (raggi X) e i raggi cosmici. Oltre il campo del visibile (lunghezze d'onda superiori ai 700 nm) si trova l'area degli "infrarossi", che si estende fino alle microonde e alle onde utilizzate per le telecomunicazioni, ovvero radiazioni non ionizzanti.



Riassumendo si può affermare che l'unico parametro che differenzia le radiazioni elettromagnetiche è la loro lunghezza d'onda; la distinzione in classi specifiche è condotta principalmente in base al settore delle loro utilizzazioni.

## **2.4 - PARAMETRI CHE CARATTERIZZANO E DESCRIVONO LE ONDE ELETTROMAGNETICHE**

La lunghezza d'onda è definita come lo spazio percorso dall'onda nella direzione della propagazione nel tempo necessario a compiere una completa pulsazione (in altre parole, lo spazio che intercorre tra due massimi). Le onde che oscillano più lentamente sono quelle a maggior lunghezza d'onda e viceversa. L'unità di misura di  $\lambda$  è il metro, ma spesso conviene utilizzare i suoi sottomultipli come il "micron" ( $\mu\text{m}$ ), ed il "nanometro" (nm).

Energia → È comunemente la capacità di compiere un lavoro. L'unità di misura è il Joule.

Frequenza → Indica il numero delle ripetizioni (oscillazioni) nell'unità di tempo (secondo), sviluppate dalla forma d'onda in esame; tale grandezza ha come unità di misura l'Hertz (Hz) ed è indicata con il simbolo  $\nu$ .

Intensità → Indica il rapporto tra la potenza emessa e l'area che riceve energia. Viene calcolata con la formula  $\text{W}/\text{cm}^2$ . L'intensità può variare secondo la superficie.

Potenza → Secondo la definizione classica della fisica (lavoro fatto nell'unità di tempo), esprime la quantità d'energia trasferita nell'unità di tempo (secondo) dalla radiazione elettromagnetica; la sua unità di misura è il Watt (W). Ricordando che l'energia si misura in Joule (J), ne segue che 1 W rappresenta il trasferimento di 1 J per secondo.

Fluenza → Termine assai diffuso anche se “densità d'energia” è certamente preferibile, che vuole esprimere il concetto di trasferimento dell'energia sull'unità d'area (1 cm<sup>2</sup>) investita dalla radiazione. L'unità di misura sarà quindi lo J/cm<sup>2</sup>.

Velocità → Rappresenta lo spazio percorso dall'onda nel tempo di un secondo (indipendentemente dalla frequenza dell'onda V è sempre eguale alla velocità di: 300.000 km/s).

## **2.5 – PROPRIETA' FONDAMENTALI DELLA LUCE LASER**

Coerenza → Trasmissione dell'energia su un'unica lunghezza d'onda (o frequenza) con perfetta concordanza di fase tra tutte le onde emesse.

Collimazione o direzione → È conseguenza della propagazione del raggio laser in un'unica direzione, con piccolissimo raggio di divergenza (detta larghezza del fascio laser).

Pulsazione → Le radiazioni del laser possono essere emesse costituendo un fascio costante nel tempo oppure modulate secondo impulsi alternati da pause.

Durata variabile dell'impulso → Ottenuta mediante la modulazione del raggio eseguita con particolari tecniche. Per conoscere la caratteristica della pulsazione occorre definire la *durata dell'impulso* (dell'ordine dei microsecondi o meno), cioè la frazione di tempo in cui si emette energia, e la *frequenza di ripetizione dell'impulso* (espressa in Herz) intesa come numero delle volte che, in 1 sec, si produce l'emissione pulsata. Si fa riflettere sul fatto che la semplice conoscenza della pulsazione non consente (attraverso il periodo) di definire la durata dell'impulso, che occorre invece definire in maniera specifica.

Monocromaticità → Poiché la luce laser è trasmessa su un'unica caratteristica lunghezza d'onda, nel caso sia stimolata nello spettro del visibile avrà una ben definita qualità cromatica e non potrà essere scomposta nell'attraversamento di prismi ottici. L'espressione

è utilizzata anche nel caso di lunghezza d'onda non appartenente al visibile (il termine equivalente è monofrequenza).

Come già precedentemente detto, l'unico parametro che differenzia le radiazioni elettromagnetiche è rappresentato dalla lunghezza d'onda: la distinzione in classi specifiche è condotta principalmente in base al settore di utilizzo.

Nel caso dell'emissione pulsata, la potenza media nell'unità di tempo (in Watt), si dovrà calcolare come il prodotto dell'energia totale veicolata in un singolo impulso (in Joule) moltiplicata per la frequenza d'emissione (in Hertz). Si può anche definire una potenza di picco, dividendo l'energia dell'impulso per la durata temporale dell'impulso stesso. Nei laser pulsati è molto importante la durata dell'impulso perché è inversamente proporzionale alla potenza di picco.

L'uso del laser pulsato è associato alla necessità di evitare il pericolo del danno termico, reso possibile dalla generazione di elevate temperature da parte del laser stesso e fonte di rischio nella pratica clinica.

Il laser produce il suo effetto sulle cellule dei tessuti biologici quando l'energia emessa è assorbita dall'acqua contenuta nei tessuti stessi.

Il rilascio dell'energia determina l'istantanea vaporizzazione dell'acqua all'interno delle cellule, generando vapore in pressione capace di distruggere le strutture ormai disidratate. Contemporaneamente avviene anche la trasmissione di calore attorno alla zona direttamente irradiata, per il meccanismo della conduttività termica del tessuto (ad esempio lo smalto irradiato può raggiungere temperature comprese tra 200°-1000° C).

Di conseguenza, dovendo trasferire una certa quantità di energia ai tessuti in lavoro, in contemporanea viene trasferita ai tessuti circostanti una certa ed indesiderata quantità di calore, che è funzione diretta della durata temporale della somministrazione di lavoro.

Si può minimizzare tale l'effetto termico impiegando un laser capace di emettere impulsi di breve durata e di elevata potenza di picco; più dannoso sarebbe il ricorso a impulsi di bassa potenza e di lunga durata per somministrare la stessa quantità d'energia, come ampiamente dimostrato dalla ricerca.

## **2.6 – ELEMENTI COSTITUTIVI DEI SISTEMI LASER**

L'architettura di un sistema laser fa riferimento ad un numero modesto di elementi fondamentali:

- mezzo attivo
- cavità di risonanza (o cavità di risonanza ottica)

- sistema di pompaggio (sorgente d'energia)

Il MEZZO ATTIVO è il materiale, ossia il complesso di atomi/molecole che, portato dallo stato fondamentale a quello eccitato, produce l'emissione di energia. Lo stato di aggregazione fisica di tale materiale è utilizzato come termine di distinzione per la denominazione dei differenti tipi di laser commerciali: in funzione della natura del mezzo attivo impiegato si distinguono *laser allo stato solido*, *liquido* e *gassoso*, nonché *a semiconduttori* e *ad elettroni liberi*.

Laser allo stato solido → Il supporto del mezzo attivo è costituito da barrette di vetro, o da monocristalli puri, che sono drogati con atomi di elementi attivi (in generale metalli di transizione delle terre rare: Neodimio, Erblio, Cromo, Olmio, Titanio, cioè i veri emettitori della luce laser). Esempi tipici di laser appartenenti a tale categoria sono:

- *Rubino* → (quello storico di Maiman), a luce rossa con  $\lambda = 694,3$  nm
- *Neodimio-YAG* → barretta di granato d'Ittrio e Alluminio drogato al Neodimio, caratterizzato da  $\lambda = 1064$  nm (appartenente allo spettro dell'infrarosso  $\lambda > 700$  nm)
- *Erblio-YAG* → barretta di granato d'Ittrio e Alluminio drogato all'Erblio, caratterizzato da  $\lambda = 2940$  nm (appartiene allo spettro dell'infrarosso).

Il pompaggio è di tipo ottico, mediante lampada a largo spettro.

Possono essere raggiunte potenze di emissione molto elevate, specialmente ricorrendo alla tecnica pulsata, però i rendimenti si mantengono molto bassi (non superando mai il 10%).

Laser allo stato liquido → Concettualmente si differenzia dal precedente solamente perché il supporto degli elementi attivi è costituito da un liquido e non da un solido.

Come mezzo attivo vengono utilizzati un colorante organico disciolto in acqua od alcool, (i più comuni sono Rodamina 6G, Curarina e Xantene), oppure derivati di terre rare. Agendo sul livello di diluizione del colorante è possibile ottenere una vasta banda di lunghezze d'onda; questo attribuisce gran flessibilità a tale famiglia di laser.

Il pompaggio è di tipo ottico: lampada o raggio Laser.

Questo tipo di laser è caratterizzato da emissione su banda larga e sviluppa potenza limitata; la sua efficienza non giunge allo 0,1%.

Laser allo stato gassoso → Il mezzo attivo può essere costituito da un singolo gas come da una miscela. Le soluzioni costruttive più comuni ricorrono a miscele d'Elio e Neon (He-Ne) (valori di  $\lambda = 3390; 1152$  e  $632,8$  nm, dall'infrarosso al rosso visibile), in cui l'elemento

attivo è il Ne, al quale gli atomi dell'He trasferiscono l'energia che hanno assorbito subendo scariche elettriche; oppure ad Anidride Carbonica ed Argon (CO<sub>2</sub>-Ar), oppure ancora ad Anidride Carbonica (specie laser attiva) con Azoto ed Elio. Si ricorre a contenitori cavi, che fungono da serbatoi per le miscele gassose, dotati agli estremi di elettrodi utilizzati per generare le scariche elettriche con cui sono eccitati gli atomi del gas. Il vantaggio dei laser a gas è quello di poter operare in continuità per lunghi periodi.

Laser a semiconduttori o a Diodi → Il mezzo attivo consiste in strati di materiale semiconduttore di differente natura (simili a quelli impiegati nei transistori); tra i più utilizzati si ricorda il Gallio-Arsenico, “drogato” con atomi d'Alluminio.

I semiconduttori sono delle strutture che presentano al loro interno zone a differenti livelli energetici, dette “bande”; la banda di valenza (banda riempita) ha il livello energetico più elevato e la banda di conduzione (banda vuota) uno inferiore e per l'agitazione termica degli elettroni possono passare dalla banda di valenza a quella di conduzione. Il passaggio provoca delle lacune (mancanza di cariche elettriche) nella banda di valenza, che si comportano come portatori di cariche positive.

Il meccanismo tipico del laser, assorbimento ed emissioni di fotoni, è quindi realizzato nel diodo con l'interazione elettrone-lacuna e l'emissione è appunto funzione della presenza di un numero elevato di elettroni nella banda di conduzione e di un numero elevato di lacune nella banda di valenza.

I laser a semiconduttori o a diodi raggiungono rendimenti elevati (efficienza media del 65%) e sono quelli dalle dimensioni più ridotte, ma non possono fornire potenze elevate.

Quest'ultima caratteristica, sebbene limitativa in molte applicazioni industriali, non è assolutamente pregiudizievole per l'uso in campo medico.

La CAVITÀ DI RISONANZA OTTICA, di cui si è già accennato, realizza l'amplificazione del segnale.

Questo avviene grazie a due specchi parabolici, di cui uno, a riflessione totale (100%), ha il compito di selezionare i fotoni che si dirigono nella stessa direzione, ed un secondo, a riflessione parziale (95%), consente l'emissione del raggio laser attraverso una feritoia sottilissima. La riflessione parziale del secondo specchio crea una cavità ottica risonante e i raggi riflessi amplificano i raggi emessi dalla sorgente laser. Affinché i raggi risultino in concordanza di fase, è indispensabile che la distanza tra i due specchi sia un multiplo esatto della lunghezza d'onda dell'emissione dei fotoni.

La presenza della camera ottica attribuisce al raggio laser le proprietà della coerenza spaziale

e della collimazione, descritte precedentemente. Grazie a queste due ultime proprietà, la radianza di una sorgente laser è sempre elevata anche se la potenza radiante è modesta (un laser He-Ne di potenza pari 0.001 W ha una radianza 100 volte superiore a quella della superficie del globo solare).

La SORGENTE DI ENERGIA ha il compito di eccitare gli atomi del mezzo attivo aumentandone il livello d'energia, stimolandoli fino a creare un sistema metastabile per il verificarsi dell'inversione di popolazione, prima descritta.

Tra le sorgenti d'energia d'uso più comune vanno ricordate:

- *Lampade flash allo Xenon*: particolarmente utilizzate nel laser allo stato solido e liquido. Consentono l'emissione su banda continua di frequenze che possono essere selezionate introducendo nella cavità ottica un reticolo di diffrazione. Per questo vengono anche detti anche "laser accordabili"
- *Scariche elettriche ad alto voltaggio, ottenute tra elettrodi*: sono tipiche del laser a gas. Nel laser He-Ne la scarica elettrica produce la ionizzazione dell'Elio che, per fenomeni di collisione tra le particelle, trasferisce l'eccitazione al Neon. Il principio di provocare l'eccitazione indiretta, attraverso la ionizzazione primaria dell'Elio, è utilizzato anche per ottenere il raggio laser partendo da diversi vapori metallici. L'effetto più potente, tramite l'eccitazione diretta con scariche elettriche, si ottiene nel laser a CO<sub>2</sub>
- *Sistema "gas-dinamico"*: applicabile solo ai laser a gas, consiste in una combustione dei gas seguita da un'espansione dei prodotti di combustione fino a velocità supersonica
- *Sistema "chimico"*: applicabile sempre solo al laser a gas, prevede reazioni chimiche tra le varie miscele gassose
- *Altro laser, o serie di più laser impiegati in cascata.*

## **2.7 – MODALITA' DI EMISSIONE DELLA LUCE LASER**

Le modalità di emissione della luce laser sono assai varie e si differenziano in base all'utilizzo a cui è destinato l'apparecchio stesso.

Nell'odontoiatria sono impiegate praticamente tutte le forme d'emissione, comprendendo quella "continua", "pulsata" e "superpulsata".

### Modalità continua

Trova la massima diffusione nelle applicazioni chirurgiche, distinguendosi per la capacità di fornire un'emissione laser continua e costante. Questa modalità d'emissione è ampiamente

utilizzata nei laser a semiconduttore. Tale tipo di emissione permette di realizzare nella pratica un vero e proprio bisturi ottico che, se manovrato da operatori esperti, è in grado di eseguire tutti gli interventi tipici della piccola chirurgia delle mucose orali, garantendo al paziente la massima sensazione di comfort.

### Modalità pulsata e superpulsata

Entrambe le modalità, tipiche del laser allo stato solido (Nd:YAG; Er:YAG) e gassoso CO<sub>2</sub>, sono costituite da sequenze d'impulsi di brevissima durata: millisecondi nella modalità pulsata fino a nanosecondi in quella superpulsata potendo raggiungere picchi d'energia emessa molto elevati ogni singolo impulso.

La durata così breve dell'impulso consente di eseguire piccoli interventi di chirurgia spesso senza l'anestesia; questo perché le pulsazioni del laser (che costituiscono degli stimoli) sono di durata inferiore ai tempi necessari per lo sviluppo della percezione da parte dei recettori nervosi sensoriali.

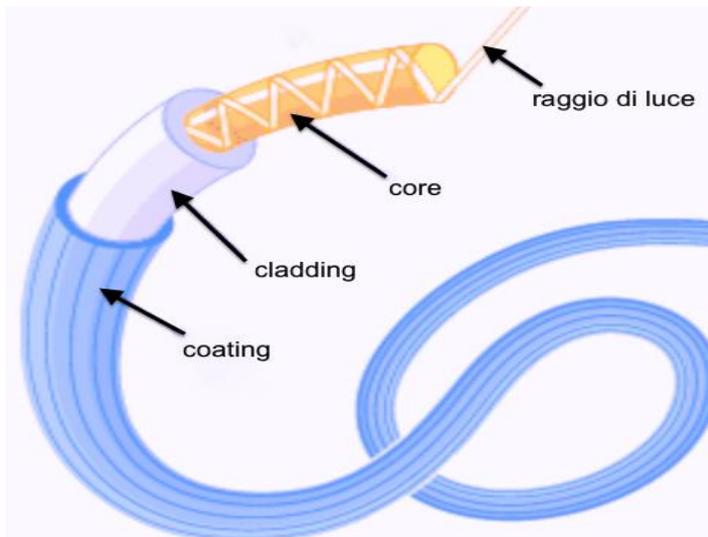
## **2.8 – SISTEMI DI CONDUZIONE DELLA LUCE LASER**

Dopo la sua generazione, la luce laser deve essere condotta dall'esterno dell'apparecchio fino al punto di utilizzo pratico. Questo compito può essere svolto tramite diverse tecniche, tra cui le fibre ottiche (utilizzate soprattutto nei laser a diodi e Nd), le fibre cave e i bracci articolati.

Per quanto riguarda le applicazioni del laser in odontoiatria, è importante notare che lo sviluppo dei sistemi di conduzione delle radiazioni è stato altrettanto rilevante quanto quello dei sistemi di generazione. Basti pensare alle problematiche legate al raggiungimento, in totale sicurezza, dei siti più difficili da trattare nella pratica operativa. Senza lo sviluppo di queste tecnologie, l'utilizzo del laser all'interno del cavo orale sarebbe stato impossibile.

### Fibre ottiche

La singola fibra ottica è composta da un'anima (core) in materiale dielettrico con un indice di rifrazione estremamente elevato, che le conferisce grande flessibilità. L'anima è rivestita da una guaina (cladding) in materiale refrattario con un indice di rifrazione inferiore, al fine di minimizzare la dispersione della luce laser all'interno del conduttore. Infine, esiste un terzo strato esterno (coating), realizzato in vari materiali plastici, che ha il compito di proteggere la fibra ottica vera e propria, creando una barriera contro eventuali danni, principalmente di natura meccanica, provenienti dall'esterno.



*Fibra ottica (modificata da Encyclopedia Britannica 2006)*

Il raggio di luce che penetra nell'anima, quando l'angolo d'incidenza rispetto all'asse del conduttore non è superiore ad un definito valore critico, è totalmente riflesso dalla superficie di separazione creata dall'interfaccia tra anima e guaina di rivestimento. Il fenomeno avviene con rendimenti elevatissimi, quindi con perdite energetiche molto modeste, durante tutta la trasmissione.

La curvatura assunta dalle fibre lungo i percorsi tortuosi non impedisce la trasmissione della luce, viceversa influisce sul valore dell'angolo d'incidenza e quindi sul rendimento complessivo della trasmissione di energia. In ogni caso per mantenere il rendimento elevato è sufficiente realizzare le curve con ampi raggi. La luce riflessa sull'interfaccia anima-guaina di rivestimento (core-clad) penetra all'interno del rivestimento, per una profondità pari a mezza lunghezza d'onda della luce trasmessa, e questo condiziona la geometria della guaina (non potendo lo spessore essere inferiore a tale dimensione). Ne segue che, per data lunghezza d'onda trasmessa, si deve mantenere costante lo spessore del rivestimento al variare della sezione dell'anima (e quindi della fibra ottica in genere). Di fatto la riduzione della sezione dell'anima porta ad un minor trasporto di luce, ma a conduttori più flessibili.

Il diametro delle fibre ottiche, impiegate nei laser di utilizzo in odontoiatria, è generalmente compreso nell'intervallo dimensionale di  $200\div 600\ \mu\text{m}$ . Riducendo il diametro della fibra può aumentare la fluenza (energia per unità di superficie), ma nel frattempo aumenta anche la fragilità della fibra.

La lunghezza di una fibra ottica è variabile e compresa nell'intervallo di  $1,5\div 4\ \text{m}$ , permettendo così ogni soluzione di ergonomia soddisfacente e consentendo un sufficiente allontanamento della fonte luminosa dal sito dove si deve intervenire con la luce laser. Le

fibre ottiche possono ridursi a semplici terminali, chiamati tip, delle dimensioni simili a quelle delle frese da turbina, come per esempio nel laser Er:Yag.

## **2.9 – REGOLE PRATICHE PER L'UTILIZZO**

L'efficienza di un qualunque sistema laser dipende in modo imprescindibile dalla qualità del mezzo di trasporto della radiazione generata dal laser stesso.

Questo costringe a rispettare una serie di regole pratiche d'utilizzo del sistema di fibre ottiche per raggiungere i risultati desiderati.

### Controllo dello spot

Si deve verificare che lo spot della luce laser sia di forma perfettamente circolare e d'intensità uniforme, utilizzando il colore della luce guida (generalmente un *led* di colore rosso della lunghezza d'onda di 632,8nm, laser He-Ne e potenza non superiore a 5mW) che serve a indirizzare il fascio laser invisibile (infrarosso) sul bersaglio desiderato.

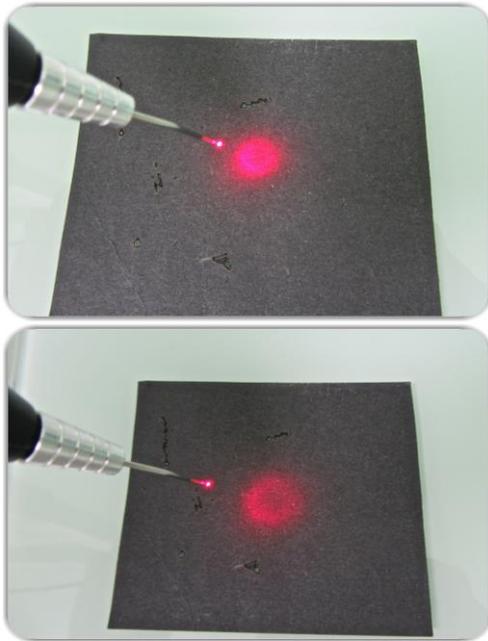
Qualità e regolarità dello spot sono indici strettamente correlati al fatto che la fibra non disperda l'energia inviandola in direzioni indesiderate.

Una fibra ottica tagliata correttamente emana una luce guida pressoché rotonda. Per il taglio delle fibre sono utilizzati particolari strumenti come forbici con inserti di ceramica e taglierini d'acciaio.



### Attivazione

L'attivazione della fibra permette una maggiore efficienza di taglio e concentrazione della potenza. Si ottiene azionando la fibra per 1 secondo su di una superficie colorata congruente alla lunghezza d'onda utilizzata (per esempio, le cartine da articolazione blu scuro o un cartoncino nero).



#### Pulitura

Il terminale deve essere sempre accuratamente pulito, non solo alla fine dell'uso, ma anche durante l'esecuzione di ogni intervento, al fine di garantire la massima accuratezza possibile del taglio.

#### Controllo dello strumentario

L'uso e il maneggio dello strumentario devono essere impostati nel rispetto della massima cura e cautela, al fine d'evitare danneggiamenti accidentali della fibra ottica. Le conseguenze che ne derivano sono alterazioni nella conduzione della luce (distorsioni e rifrazioni anomale), a cui si associano perdite di potenza e d'azione terapeutica dello strumento.

## 3. INTERAZIONE LASER- TESSUTO

Il meccanismo veramente condizionante è costituito dalle *proprietà ottiche del bersaglio rapportate alla lunghezza d'onda del raggio incidente*; perciò, il raggio laser può essere soggetto, in gradi differenti, a fenomeni di *assorbimento, riflessione, diffusione, rifrazione e*

*trasmissione.*

### Assorbimento

È il fenomeno associato all'operatività e all'efficacia terapeutica del raggio laser, poiché definisce l'entità degli effetti termici trasferiti nei tessuti "irradiati".

### Riflessione

Il tessuto bersaglio, "illuminato" dal laser, può riflettere una parte del raggio incidente. Quando il fenomeno è modesto si parla di riflessione parziale; diversamente, quando è presente una mancanza di affinità fra il raggio e la superficie bersaglio, si può quasi giungere ad una totale dispersione dell'energia incidente per fenomeni di riflessione. Al fine di proteggere operatore, paziente ed assistente dalla riflessione accidentale del raggio, (per esempio quando si è in prossimità di restauri metallici), è sempre obbligatorio l'uso di specifici occhiali di protezione.

### Rifrazione

Tale fenomeno avviene quando un raggio attraversa due mezzi fisici a densità differente e determina una dispersione dell'energia luminosa all'interno delle masse irradiate; in tal modo si ottiene una diminuzione dell'attività energetica con conseguente limitazione dell'effetto termico locale. Anche se in termini fisici questo effetto può essere di entità trascurabile, è consigliata l'inclinazione della fibra affinché il raggio incidente sia più parallelo possibile al tessuto bersaglio per evitare che l'effetto del raggio rifratto vada a surriscaldare i tessuti sottostanti sensibili (come il tessuto osseo).

### Diffusione

Rappresenta un effetto sempre presente anche se non ricercato perché non controllabile. In alcuni casi la diffusione dell'energia all'interno dei tessuti può essere utile per ottenere un'emostasi locale. La concentrazione energetica è dovuta in particolar modo alla presenza di cromofori endogeni, quali i vasi sanguigni contenenti emoglobina e i granuli di melanina.

### Trasmissione

Quando si realizza tale fenomeno non si può avere un effetto chirurgico sul tessuto superficiale attraversato ma l'azione viene trasferita in zone più profonde. L'effetto profondo può essere graduato dal livello della lesione dei tessuti fino ad un'azione terapeutica, senza coinvolgimento dei tessuti superficiali. Il fenomeno descritto diviene prezioso per agire "al

di là” di quei tessuti che è utile mantenere integri.

### **3.1 - EFFETTI BIOLOGICI DEI LASER**

Quando si tratta di tessuti biologici, l'energia del laser viene assorbita dai tessuti e trasformata in calore. A seconda dei vari parametri, l'energia può causare riscaldamento, coagulazione, rimozione o incisione del tessuto attraverso la sua vaporizzazione. Questi parametri includono: la lunghezza d'onda della luce emessa, la potenza, la modalità di emissione del laser, la durata dell'impulso, il rapporto energia/impulso, la densità dell'energia, il tempo di esposizione, il picco di potenza dell'impulso, l'angolo della punta sulla superficie e le proprietà ottiche del tessuto.

Nella pratica odontoiatrica sono essenzialmente impiegati i laser che operano utilizzando i tipici effetti di tipo chirurgico: *fototermico*, *fotoplasmatico/fotodistruttivo* e *fotochimico*.

#### *Effetto fototermico*

L'energia della radiazione elettromagnetica è repentinamente trasformata in calore, il quale provoca incremento locale della temperatura, fino alla necrosi cellulare e al fenomeno della vaporizzazione tessutale.

| Temperatura in C° | Effetto         | Caratteristiche               |
|-------------------|-----------------|-------------------------------|
| 40°-42°           | Ipertermia      | Reversibile                   |
| 45°-50°:          | Edema           | Denaturazione degli enzimi    |
| 70°-80°           | Coagulazione    | Coagulazione irreversibile    |
| 90°-100°          | Vaporizzazione  | Ebollizione, necrosi          |
| 300°              | Carbonizzazione | Essiccamento, carbonizzazione |
| 500°              | Incandescenza   | Vaporizzazione dei solidi     |

#### *Effetto fotoplasmatico/fotodistruttivo*

La struttura intima di tessuti è distrutta da un'onda d'urto (impulsi della durata di nanosecondi o anche meno), dovuta alla generazione di campi elettromagnetici di intensità tale da spezzare i legami elettrici intercellulari.

#### *Effetto fotochimico*

In questo contesto, i fotoni agiscono come reagenti chimici e, una volta assorbiti dai diversi tipi di cromofori, innescano una reazione stechiometrica che eccita specifiche molecole,

come emoglobina o melanina. A seconda della natura delle molecole coinvolte, si producono effetti differenti. Il risultato finale può essere sintetizzato in un'ablazione dei tessuti, causata dalla rottura diretta dei legami intercellulari attraverso la ionizzazione di atomi e molecole. Se analizziamo più nel dettaglio i tessuti che compongono il parodonto, le loro proprietà ottiche variano in base a fattori come pigmentazione, contenuto di acqua e di minerali. L'osso è un esempio di tessuto composito: è costituito per il 67% da minerali inorganici e per il 33% da collagene e proteine. Al contrario, la gengiva è formata da tessuto connettivo con diversa densità di fibre collagene immerse in una matrice extracellulare e contiene un alto livello di acqua (70%); inoltre, spesso presenta pigmentazione melanica.

Ogni lunghezza d'onda della luce laser viene assorbita in modo diverso dai vari componenti. Per esempio, il laser a CO<sub>2</sub> ( $\lambda$  10.600 nm) ha un elevato coefficiente di assorbimento nell'acqua, rendendolo particolarmente adatto per la chirurgia dei tessuti molli. Tuttavia, al momento non esistono solide evidenze scientifiche per un uso clinico efficace sui tessuti mineralizzati.

I laser Nd:YAG ( $\lambda$  1,064 nm) e a Diodi ( $\lambda$  compresa tra 800 e 950 nm) presentano un coefficiente di assorbimento nell'acqua inferiore rispetto al Laser a CO<sub>2</sub> ma contemporaneamente è elevato l'assorbimento nei tessuti pigmentati.

Nei laser Er,Cr:YSGG e Er:YAG, (rispettivamente di  $\lambda$  2,780 nm e  $\lambda$  2,904 nm), l'assorbimento è elevato sia nell'acqua che nell'idrossiapatite.

Riassumendo, i vantaggi e le buone prestazioni ottenibili con il laser sono funzioni strettamente dipendenti dalle interazioni tra le proprietà fisiche dei tessuti e le caratteristiche della lunghezza d'onda del fascio di luce emesso dal laser.

Ne segue che un solo tipo di laser non può lavorare in modo ideale sia sui tessuti duri, sia su quelli molli.

Data la diversità delle lunghezze d'onda disponibili, il clinico dovrebbe per prima cosa determinare gli obiettivi clinici del trattamento, e poi scegliere la tecnologia migliore per arrivare a tali scopi.

| LASER PIU' UTILIZZATI IN ODONTOIATRIA |   |                       |            |
|---------------------------------------|---|-----------------------|------------|
| TIPO                                  | MEZZO ATTIVO  | LUNGHEZZA D'ONDA (nm) | SPETTRO    |
| <b>LASER ALLO STATO SOLIDO</b>        |   |                       |            |
| Nd: YAG                               | barra di granato d'ittrio e alluminio drogata all'erbio             | 1064                  | Infrarosso |
| Er:YAG                                | barra di granato d'ittrio e alluminio drogata al neodimio           | 1940                  | Infrarosso |
| ErCr:YSGG                             | barra di granato d'ittrio, scandio e gallio drogata all'erbio cromo | 2780                  | Infrarosso |
| <b>LASER ALLO STATO GASSOSO</b>       |   |                       |            |
| CO <sub>2</sub>                       | anidride carbonica  | 10.600                | Infrarosso |
| <b>LASER A SEMICONDUITTORE</b>        |   |                       |            |
| Diodi                                 | gallio-arsenico drogato all'alluminio                               | 810/980               | Infrarosso |

### **3.2 - BIBLIOGRAFIA**

Barone M, Benedicenti S, Crippa. Laser a diodi in odontoiatria. Milano: Edi.Ermes, 2008

Benedicenti A. Manuale di laserterapia del cavo orale. Rimini: Maggioli, 1982

Harbison JP, Nahory R.E. Lasers - Harnessing the Atom's Light. New York: W.H. Freeman Company, 1997

Maiman TH. Stimulated optical radiation in ruby. Nature 1960; 187: 4493-494

Moritz A. Oral laser application. Berlin: Quintessence Verlags-GmbH, 2006, 258-277

Vasta A. I laser terapeutici. Roma: Marrapese, 1998

Zingoni E, Tognazzi F, Zingoni A. Fisica bio-medica. Bologna: Zanichelli, 1998

Renson CE. Lasers in dentistry. Dent Update, 1989 Nov, 16:9, 371-2

Sulewski JG. Historical survey of laser dentistry. Dent Clin North Am. 2000 Oct;44(4):717-

52 Gáspár L. Laser in contemporary dentistry. Fogorv Sz, 1992 Nov, 85:11, 343-53

Clarkson DM. Lasers in dentistry. Dent Update, 1992 Apr, 19:3, 115-6, 118

# 4. LASER IN ODONTOIATRIA

A partire dalle ricerche di Maiman, la tecnologia laser ha trovato un'ampia applicazione nel campo medico. La gestione accurata delle caratteristiche e dei parametri che regolano

l'emissione della luce ha reso il laser il gold standard per molte terapie. Grazie alla combinazione tra lunghezza d'onda, impulso e potenza, il laser può produrre effetti ablativi di varia profondità, nonché effetti fotochimici, fototermici e fotobiomodulanti, a seconda del tessuto bersaglio irradiato.

In odontoiatria, l'uso del laser varia in base ai protocolli di trattamento. Questa tecnologia permette ai professionisti di operare sia sui tessuti molli che su quelli duri, decontaminando le aree trattate ed effettuando ablazioni selettive mantenendo un approccio minimamente invasivo. Nella conservativa e nella chirurgia ossea, il laser a erbio è particolarmente indicato, poiché la sua selettività consente interventi atraumatici e senza contatto. Per la chirurgia del tessuto molle, invece, il laser a diodo è il più utilizzato. Questo laser sfrutta la selettività con la molecola di emoglobina per eseguire operazioni a taglio esangue, beneficiando anche delle proprietà biostimolanti della luce laser.

Grazie a queste caratteristiche, la possibilità di operare con uno strumento indolore e dai chiari vantaggi clinici e operativi è sempre più richiesta. In quest'ottica, la tecnologia laser si integra perfettamente nella pratica quotidiana come supporto alla terapia tradizionale, garantendo migliori risultati medici e facilitando la gestione post-operatoria del paziente.

#### **4.1 - LASER A DIODO**

##### APPLICAZIONI IN ENDODONZIA

- Decontaminazione canalare: l'obiettivo del trattamento endodontico consiste nel rimuovere completamente il tessuto infetto, affinché il canale radicolare preparato sia il più possibile privo di batteri. L'effetto battericida del laser è efficace nel canale radicolare, nel delta apicale e nei tubuli dentinali fino a 500 micron di profondità, favorendo la guarigione di lesioni periapicali in tempi assai più brevi rispetto ai trattamenti convenzionali.
- Incisione della polpa:
  - Pulpectomia: la pulpectomia è un intervento da praticare nel caso il tessuto pulpare sia compromesso in maniera irreversibile. Nel trattamento convenzionale si ha l'asportazione pulpare e l'alesatura dei canali. Si può allora effettuare la chiusura dei canali con guttaperca. Si termina l'intervento otturando la cavità d'accesso. Con il laser invece, si eseguono la decontaminazione del canale per tutta la sua lunghezza, l'emostasi delle fibre pulpari residue dei canali laterali e principali e si aumenta la durezza delle pareti canalari. Rispetto alle metodologie tradizionali si riscontrano pareti canalari più pulite, senza residui organici; si ottiene un miglior sigillo dopo l'otturazione canalare.

- *Pulpotomia*: si tratta di una pulpectomia parziale con l'exeresi della sola polpa camerale. Il paziente riferisce sensibilità al caldo, al freddo e al dolce. Il dolore, inoltre, si accentua in posizione supina e qualche volta è impossibile per il paziente individuare il dente affetto. Tale situazione può evolvere con la morte della polpa e infine con un granuloma o ascesso. L'asportazione della polpa con una terapia canalare laser assistita risulta essere meno dolorosa e definitiva: i batteri vengono eliminati e in alcuni casi non è neppure necessario una terapia farmacologica coadiuvante. Il suo sicuro effetto emostatico permette di ottenere in tempi rapidi un buon prosciugamento della camera pulpare.
- *Apicectomia*: l'apicectomia è indicata per quei casi in cui c'è ostruzione del canale, naturale o artificiale (uno strumento canalare o un perno non rimovibile). In presenza di un granuloma e di un canale non pervio (non raggiungibile dagli strumenti canalari), si ricorre a questo intervento che comunque è invasivo e debilitante per il paziente (il dente perde lunghezza e durata). L'intervento di apicectomia si effettua per il trattamento delle complicanze di un dente a polpa necrotica, ascessi e granulomi, ma solo nel caso in cui il trattamento o il trattamento o il ritrattamento endodontico (ortogrado) non sia praticabile. Consiste nella rimozione chirurgica dell'apice radicolare di un dente e dei tessuti molli circostanti affetti da condizioni patologiche. In presenza di un granuloma dentale è necessario intervenire perché l'affezione non può andare incontro a guarigione né spontanea, né in seguito a terapia farmacologica. Essendoci alla base un processo infettivo risulta quindi consigliabile utilizzare il laser per le sue proprietà battericide.

### APPLICAZIONI IN PARODONTOLOGIA

Negli ultimi dieci anni, l'applicazione del laser a diodo nella parodontologia e nei protocolli di igiene orale è stata ampiamente studiata. I risultati hanno dimostrato che questa tecnica, utilizzata in combinazione con gli strumenti tradizionali, migliora significativamente il successo delle terapie. La parodontite, una malattia causata da infezioni o infiammazioni del parodonto, colpisce tre persone su cinque e, una volta instaurata, difficilmente regredisce spontaneamente. Solo l'intervento di un dentista specializzato può controllare e favorire la remissione della malattia. L'obiettivo principale è raggiungere una condizione di salute gengivale ottimale, riparare l'osso alveolare e ripristinare la forma e la funzione della mucosa.

La causa più comune della parodontite cronica negli adulti sono i batteri anaerobici gram-negativi. Il trattamento inizia con la pulizia delle superfici radicolari, rimuovendo

concrezioni e cemento infetto, per consentire un riattacco del tessuto connettivale privo di infiammazione. Anche in questa fase, il laser svolge un ruolo fondamentale nel facilitare la rimozione delle concrezioni, poiché indebolisce il legame tra il tartaro e la radice attraverso un effetto fotochimico.

- Analgesia laser: nella cura parodontale è sempre consigliato un primo passaggio con il laser per sfruttarne gli effetti analgesici; il laser, infatti, inverte la pompa sodio-potassio della membrana cellulare per 30 minuti. In tal modo sarà possibile operare con altri strumenti senza recare fastidio al paziente.
- Decontaminazione tasca: Grazie al suo potente effetto decontaminante, il laser a diodo permette una decontaminazione rapida ed efficace della tasca gengivale. Il trattamento laser parodontale è minimamente invasivo e ben tollerato dai pazienti. Normalmente, il solco gengivale ha una profondità di circa 2-3 mm. Se la placca batterica che si accumula nel solco non viene rimossa, provoca infiammazione e la distruzione dell'attacco gengivale, che si difende migrando verso il basso. Questo approfondimento crea una tasca parodontale, una formazione patologica in cui la placca si arricchisce di batteri anaerobici, che sopravvivono in assenza di ossigeno e danneggiano le strutture di supporto della radice del dente. L'uso del laser rende più facile e meno invasiva l'operazione di pulizia della tasca gengivale per il paziente. Il trattamento consiste nell'irradiare la zona da decontaminare, eliminando i batteri e i germi annidati nella tasca e riducendo l'infiammazione dell'area trattata, il tutto senza necessità di anestesia. Sono necessarie generalmente 3-5 sedute per ottenere una decontaminazione completa e la chiusura della tasca, grazie all'effetto biostimolante del laser. Data la bassa potenza necessaria, questo trattamento può essere eseguito anche da igienisti dentali professionisti.
- Biostimolazione gengiva: l'altro effetto fondamentale del laser è il suo potere biostimolante. Defocalizzando il fascio laser con gli opportuni puntali, è possibile somministrare a tessuti sottoposti a chirurgia una quantità di energia tale da stimolare i processi metabolici con conseguente rigenerazione tissutale.
- Recessione gengivale: nel caso di recessione gengivale il doppio effetto decontaminante e biostimolante porterà i tessuti molli a riacquistare la loro forma fisiologica, nel quadro di una terapia di igiene completa.

#### APPLICAZIONI IN CHIRURGIA

In ambito chirurgico, il laser è del tutto comparabile al bisturi tradizionale, ma offre caratteristiche uniche come l'emostasi, la decontaminazione del sito operatorio, la biostimolazione e l'analgia. Con una buona padronanza delle sue caratteristiche, il laser può essere impiegato in numerose applicazioni, consentendo di operare in un campo privo di sangue e garantendo un'eccellente visibilità. L'effetto emostatico è particolarmente efficace e non danneggia i tessuti circostanti.

La lunghezza d'onda di 980 nm del laser a diodo viene facilmente assorbita da sostanze scure come l'emoglobina e la melanina, oltre che dall'acqua presente nei tessuti, conferendo al laser un'elevata capacità di taglio.

Il laser, rispetto alla lama fredda del bisturi offre dei vantaggi indiscutibili:

- il bisturi incide in maniera precisa, ma non possiede la proprietà battericida o coagulante del laser;
- rispetto l'elettrobisturi è evidente la mancata fascicolazione del tessuto muscolare, che crea retrazione tissutale;
- il risultato di un intervento effettuato con il laser è prevedibile, infatti, in guarigione non si verifica ritenzione tissutale;
- l'azione antisettica e biostimolante del laser riduce l'uso di farmaci postoperatori e riduce notevolmente i tempi di guarigione.

Le caratteristiche distintive del laser a diodo applicato alla chirurgia sono:

- la precisione nel taglio dei tessuti molli senza che vengano alterati in alcun modo le situazioni ossee;
- la capacità di coagulazione lascia il campo operatorio "esangue" anche in pazienti affetti da problematiche di coagulazione o sottoposti a terapia anticoagulante;
- minor necessità di anestetici;
- minor traumaticità sia per i tessuti trattati che per quelli circostanti;
- minor dolore post-operatorio;
- minor edema post-operatorio;
- assenza di trazione dei tessuti in fase di guarigione;
- migliore estetica dei tessuti in fase post-operatoria;
- guarigione migliore per seconda intenzione;
- minor uso di trattamenti farmacologici post-operatori.

Grazie alla mancanza di ritenzione del tessuto in fase di guarigione, il laser diventa indispensabile per le operazioni di "rimodellamento" del tessuto molle orale, dove sia

obbligatorio l'intervento chirurgico per riposizionare correttamente o asportare parti del tessuto.

- Tessuto granulomatoso, fibrotico e normale: non tutti i tipi di tessuto molle sono uguali, per questo è stato sviluppato un sofisticato sistema di modulazione degli impulsi laser TOP (Tissue Optimized Pulse). Sono stati creati dei protocolli specifici per tessuti molli con aspetto granulomatoso, fibrotico o normale: la potenza complessiva e la durata dell'impulso vengono modulati in modo tale da permettere di agire selettivamente, dando al tessuto il corretto tempo di rilassamento termico (tempo necessario ai tessuti di smaltire il calore in eccesso). Ogni tipo di tessuto infatti interagisce diversamente a contatto con il laser, data la diversa quantità emoglobina e melanina presente. Ad esempio, un tessuto fibrotico quindi scarsamente vascolarizzato richiederà più energia per la vaporizzazione, ma somministrando l'energia con impulsi brevissimi sarà possibile evitare la formazione di necrosi, grazie al corretto tempo di rilassamento termico tra un impulso e l'altro.
- Coagulazione: le proprietà emostatiche del laser permettono di utilizzare questa tecnologia per controllare emorragie intra/postoperatorie. Una delle proprietà del laser a diodi è quella di indurre un'immediata cicatrizzazione evitando l'insorgere di piccole emorragie che invece si verificano impiegando le tecniche tradizionali. In questi casi si procede con la pulizia della ferita e la rimozione dell'eccesso di sangue, seguito da una serie di passaggi con il laser a diretto contatto della ferita. Questa procedura può essere utile in qualsiasi intervento dove risulti necessaria la pulizia del campo visivo e dove il processo naturale di coagulazione sia lento o insufficiente.
- Ascesso: l'ascesso è un processo suppurativo che si sviluppa intorno al dente, secondo la localizzazione. Si distingue in ascesso periapicale (pus intorno all'apice radicolare) ed ascesso parodontale (pus all'interno dei tessuti parodontali). Incidere un ascesso significa creare una fistola artificiale per far defluire il materiale purulento. A confronto con le tecniche tradizionali di drenaggio di un ascesso, l'utilizzo del laser a diodo permette un intervento decisamente meno doloroso per il paziente. Diminuendo l'energia, o utilizzando un anestetico topico, è possibile controllare l'insorgenza di dolore nel corso dell'operazione. Il sanguinamento è minimo, per cui si può inserire un drenaggio senza compressione. Il problema di ristagno dovuto da garze per tamponare l'emorragia viene dunque eliminato. Il raggio laser con il suo potere antisettico evita il manifestarsi di infezioni post-operatorie.
- Solco preimpronta: il rilevamento dell'impronta è un momento tecnico di estrema importanza che fa parte dell'iter procedurale che porterà alla realizzazione di un manufatto

protesico congruo, duraturo nel tempo e funzionale. Le impronte devono rispecchiare perfettamente la situazione tissutale e dentale del cavo orale del paziente.

Nell'ambito protesico il laser viene utilizzato per il taglio, il rimodellamento dei tessuti gengivali e mucose, senza che venga interessato dai trattamenti il tessuto osseo di sostegno degli elementi sia naturali che implantari, e per le sue proprietà emostatiche.

- *Gengivectomia*: per gengivectomia s'intende l'asportazione chirurgica del tessuto gengivale fatta a livello dell'attacco epiteliale per la creazione di una nuova gengiva marginale. Questa procedura è utilizzata per eliminare le tasche gengivali o parodontali, per accedere ed effettuare interventi chirurgici ai tessuti parodontali altrimenti irraggiungibili, o per raggiungere l'interno della tasca per facilitare la rimozione del tartaro. Con il laser si limitano i traumi al paziente poiché si favorisce la cicatrizzazione durante la vaporizzazione del tessuto, non vi è sanguinamento. L'anestesia non è sempre necessaria: qualora il paziente avverta dolore è possibile applicare un gel anestetico topico, oltre al trattamento di analgesia laser prima dell'intervento.
- *Frenulotomia*: il frenulo è un fascio di tessuto muscolare e fibroso rivestito da mucosa che si estende dalla mucosa alveolare alla linea di giunzione muco-gengivale (frenulo vestibolare) e dalla faccia ventrale della lingua al pavimento della bocca (frenulo linguale). Eseguire un intervento di frenulotomia significa praticare una rimozione parziale del frenulo o il suo riposizionamento. Questo intervento si esegue per facilitare la stabilità delle posizioni dentali o per alleviare la trazione esercitata verso il basso sulla lingua (frenulo linguale) da un frenulo corto linguale. Solitamente questo intervento viene eseguito su pazienti molto giovani e, proprio per questo, utilizzare il laser è la scelta più idonea. Il paziente che si sottopone all'intervento non sente dolore, ma se si desidera maggiore sicurezza si può applicare un gel anestetico sulla superficie del frenulo. Il tessuto irradiato viene vaporizzato all'istante mentre il campo operatorio è libero dal sangue (questo aspetto migliora anche la collaborazione dello stesso paziente). Il recupero post-operatorio è semplice e veloce senza l'applicazione di punti di sutura.
- *Granuloma*: il granuloma è l'esito di un'infezione e conseguente morte della polpa presente nel dente. Consiste in una massa di tessuto infetto (definito granulomatoso) di qualche millimetro di diametro, dalla forma tondeggiante, visibile radiograficamente all'apice della radice spesso asintomatica ma talvolta dolente alla masticazione. Il granuloma apicale è un'infezione batterica localizzata nella mandibola o nel mascellare superiore. Questa infezione nelle radiografie si presenta come una area radiotrasparente. Generalmente la causa di questo processo è dovuta ad una carie del dente che non viene curata in tempo, per cui i batteri continuano indisturbati il loro cammino verso la polpa del dente. Una volta

arrivati alla polpa danno luogo alla cosiddetta pulpite, che nella forma acuta può portare ad un ascesso (di solito determinando il caratteristico gonfiore) oppure può cronicizzare determinando il granuloma. I granulomi sono responsabili d'infezioni focali e di ascessi dentali. Chiaramente questa infezione batterica cronica determina una risposta immunitaria da parte dell'organismo senza che questo però riesca a vincere l'infezione, in quanto i batteri si trovano indisturbati all'interno della radice del dente e da lì fuoriescono continuamente nell'osso attraverso l'apice del dente. Per decontaminare la zona, il laser è lo strumento più indicato: la pulisce eliminando i batteri che risiedono nella parte interna del dente.

- Fibroma: utilizzare il laser come strumento di taglio permette la rimozione e l'asportazione di parti di tessuto e quindi anche di neoformazioni, sia di natura benigna che maligna. A seconda del tipo di intervento può essere richiesto una successiva gengivoplastica.
- Fibroma: i fibromi sono presenti principalmente nella zona del piano buccale e devono essere asportati se aumentano di dimensione o recano disturbo al paziente. Viene eseguito un intervento di escissione con laser 980 nm a basse potenze.
- Epulide: l'epulide è un tumore reattivo del parodonto scatenato da stimoli infiammatori dovuti a una scarsa igiene orale. La terapia consiste nell'eliminazione dello stimolo infiammatorio, seguito dall'escissione del tumore.
- Iperplasia: questa operazione chirurgica è spesso associata ad interventi di gengivectomia: si asporta il tessuto in eccesso senza sanguinamento e si rimodella il tessuto gengivale perché si ricostruisca la corretta morfologia dell'apparato parodontale. Con il laser a diodi e in presenza di un'ampiezza biologica sufficiente, è possibile modellare il profilo gengivale in modo che risulti perfettamente nella norma, con conseguente miglioramento estetico e facilitazione dell'igiene domiciliare.
- Fistola: è un'anormale apertura del tessuto gengivale attraverso la quale drena un ascesso periapicale. L'operazione si esegue tramite la tecnica di coagulazione intraluminale. Si irradia il condotto ed inizia un processo di coagulazione prima interna e poi esterna.

### APPLICAZIONI IN IMPLANTOLOGIA

L'implantologia beneficia di alcune applicazioni laser soprattutto in merito alla risoluzione di casi di perimucosite o perimplantite. I laser a diodi rappresentano al momento, uno strumento idoneo per la seconda fase chirurgica o di rientro e per il trattamento delle perimucositi e delle perimplantiti in combinazione con le tecniche di rigenerazione guidata.

- Scopertura impianti: Nell'implantologia si utilizzano spesso sistemi implantari a due fasi. Durante la seconda fase chirurgica, è importante valutare se sia necessario ricorrere a interventi estesi di plastica del lembo per aumentare la mucosa cheratinizzata. In questo

contesto, il laser può essere impiegato con successo per eseguire una disepitelizzazione minimamente invasiva o per il rimodellamento dei tessuti molli. Nelle aree meno rilevanti dal punto di vista estetico, gli impianti vengono esposti solitamente utilizzando il laser a diodi. Il vantaggio rispetto al bisturi tradizionale è l'assenza di sanguinamento, oltre alla possibilità di localizzare la vite di copertura attraverso una piccola incisione, che può essere ampliata secondo necessità dopo l'esatta localizzazione.

Questa tecnica è applicabile anche nella regione degli incisivi, a condizione che vi sia uno spessore sufficiente di gengiva aderente. Se si opta per un intervento esclusivamente con il laser, è possibile prendere l'impronta durante questa seconda fase, poiché i tessuti molli rimangono pressoché inalterati e la contrazione post-operatoria è minima.

- *Perimplantiti*: le perimplantiti sono processi infiammatori dei tessuti molli e duri che determinano rapidamente la perdita progressiva del supporto osseo, associata sempre a sanguinamento (sintomo assente nelle perdite ossee da sovraccarico) e spesso a suppurazione. Sono caratterizzate dalla perdita ossea progressiva a livello implantare che si verifica ad osteointegrazione avvenuta e che supera i limiti di riassorbimento osseo considerati normali per gli impianti; le perimplantiti sono la maggiore causa di perdita degli impianti stessi. La causa principale di questa infiammazione è la presenza di batteri; la placca batterica colonizza la superficie delle fixture e determina la sofferenza, l'infiammazione e il graduale riassorbimento dei tessuti. Le sue dimostrate capacità di non alterare la superficie degli impianti, la peculiarità di decontaminare profondamente, di far regredire il processo infiammatorio e quella di favorire ed accelerare il processo di guarigione (effetto biostimolante), rendono il dispositivo laser uno strumento quasi indispensabile.

### APPLICAZIONI IN TERAPIA

La terapia è uno dei settori in cui il laser occupa un posto di grande importanza ed efficacia, sfruttando le sue proprietà antinfiammatorie e antidolorifiche. La terapia laser a bassa intensità è comunemente conosciuta in ambito clinico con i termini LLLT (Low Level Laser Therapy) o LILT (Low Intensity Laser Therapy), poiché viene effettuata con potenze medie basse, che variano da alcune decine di mW a circa 1 W, come indicato nella maggior parte della letteratura scientifica.

È stato dimostrato sperimentalmente che l'applicazione di queste dosi di energia da parte di laser operanti nello spettro degli infrarossi porta a un incremento dell'ATP, che a sua volta provoca un aumento del metabolismo cellulare e della sintesi di collagene nei fibroblasti.

Inoltre, si osservano stimolazioni nella formazione di DNA e RNA, effetti locali sul sistema immunitario, neoangiogenesi, un'attività leucocitaria aumentata e neurostimolazione, oltre ad altri effetti biologici.

- Herpes labialis: l'herpes labiale è una malattia virale causata generalmente dal virus herpes simplex 1. Nello stadio embrionale si manifesta un senso di fastidio e di prurito seguito dalla formazione di vescicolette sierose nella zona delle labbra. Allo stadio terminale si crea una crosticina (solitamente dopo alcuni giorni) che indica la fase di cicatrizzazione della ferita. Utilizzare il laser per la sua capacità decontaminanti e stimolanti dei tessuti accelera la guarigione nel paziente e diminuisce il fastidio che questa patologia crea. È particolarmente importante iniziare il trattamento durante la fase dei prodromi o al primo apparire delle lesioni. La vescicola viene irradiata per alcuni minuti senza che sia necessario somministrare alcun anestetico. Dopo 24 ore, il controllo mostra una formazione di un'escara secca. Il risanamento completo della lesione si attesta dopo tre giorni circa dall'inizio della terapia.
- Afta: l'afta è una lesione bianca o grigiastra, rotondeggiante e circondata da un alone rossastro le cui dimensioni possono variare da uno a dieci millimetri. Compaiono in genere sulla mucosa gengivale o buccale. Frequentemente questa erosione della mucosa orale tende ad evolversi, per infiammazione, diventando una piccola ulcera biancastra che procura dolore e bruciore soprattutto quando si mangiano cibi caldi, piccanti, salati o acidi. I tempi di guarigione spontanea sono di circa 10/15 giorni. Con il trattamento laser diminuiamo l'infiammazione e il dolore del paziente e acceleriamo il processo di guarigione che avviene dopo circa 4 giorni. Il laser può essere usato anche a contatto con la lesione purché questo sia leggero e di breve durata. In caso di necessità si può ripetere il trattamento dopo 48 ore.
- Cheilite angolare: la cheilite è un'infiammazione che solitamente si localizza agli angoli delle labbra. Alcune delle sue cause sono: somministrazione di farmaci antibiotici, stress, allergia e candidosi. Si manifesta con intenso prurito, desquamazione delle labbra, creazione di piccoli taglietti doloranti e fastidiosi e formazione di crosticine purulente. Il trattamento laser consiste nell'irradiare la zona interessata da cheilite cercando di colpire anche le zone immediatamente limitrofe in questo modo si distruggono i batteri che rimangono latenti sotto la superficie. Per un miglioramento definitivo si suggerisce la ripetizione del trattamento ogni 3 giorni per due settimane.
- Ipersensibilità: il problema della sensibilità dei denti è molto comune. Solitamente si cura con l'applicazione di agenti desensibilizzanti, sia professionali che domestici, in grado di occludere o sigillare i tubuli dentinali. Gel a base di fluoruro di sodio, NaF è il prodotto più comune, il cui meccanismo si basa sulla precipitazione di fluoruro di calcio insolubile

all'interno dei tubuli. Poiché il materiale precipitato non aderisce direttamente ai tubuli, con il passare del tempo l'effetto benefico svanisce a causa dell'ambiente aggressivo del cavo orale. È stato dimostrato in molti studi clinici che l'uso combinato di gel al fluoruro e irraggiamento laser procura maggiori benefici e prolunga nel tempo l'effetto desensibilizzante: l'energia emessa dal laser provoca un effetto di “melting” o fusione della componente inorganica della dentina, sigillando le aperture dei tubuli, e coagula i fluidi al loro interno.

- Terapia ATM: il termine ATM indica il sistema dell'articolazione temporo-mandibolare; in questo sistema di muscoli, legamenti e nervi combinati assieme, ci permette di masticare, parlare, respirare e inghiottire. I disturbi in questa zona provocano forti dolori che spesso procurano difficoltà della masticazione, dolori facciali, flessioni anormali del collo e del cranio. Queste sindromi vengono trattate farmacologicamente con antinfiammatori o antidolorifici. Il trattamento con il laser riduce la sensazione di dolore provocando sollievo immediato al paziente.
- Biostimolazione - Manipolo onda piana: l'effetto della biostimolazione si ottiene utilizzando un fascio luminoso non focalizzato a bassa densità di energia; in tal modo l'energia luminosa viene assorbita dai tessuti, stimolando i processi metabolici e inducendo la rigenerazione tissutale. Tali effetti sono indotti dall'azione termica e fotochimica dell'energia luminosa laser. La terapia di biostimolazione si effettua irradiando la zona interessata con la luce laser a bassissima intensità (milliwatt) con manipoli o puntali idonei. A basse potenze non si verificano alterazioni macroscopiche all'interno o in prossimità del tessuto, ma si procura sollievo al paziente dolorante desensibilizzando la zona sofferente e producendo un calore generalizzato. Molti studi attestano la guarigione più efficiente di ferite cutanee, l'aumento di vascolarizzazione locale e il rimedio al dolore.
- Analgesia laser: l'effetto analgesico e antinfiammatorio del laser può essere sfruttato per effettuare una terapia antalgica non farmacologica nelle aree dolenti del cavo orale, procurando sollievo al paziente in poche sedute.

#### APPLICAZIONI IN COSMETICA

- Sbiancamento: lo sbiancamento dentale con il laser è il mezzo più rapido ed efficace per ottenere denti bianchi. L'azione sbiancante è indotta da un processo di ossidazione. Un gel contenente H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, (perossido di idrogeno), viene steso sulla superficie di ogni dente e attivato dalla luce laser tramite un apposito manipolo che defocalizza il raggio. Grazie a questa attivazione il perossido innesca il rilascio di ossigeno che opera la scissione dei doppi legami dei pigmenti presenti nei denti, decolorandoli. L'uso del laser per "attivare" il perossido di

idrogeno velocizza radicalmente i tempi di applicazione, limitando la seduta dello sbiancamento a circa 30 min. A protezione delle gengive si applicano dighe fotopolimerizzabili che hanno il compito di impedire al perossido di idrogeno, disposto sugli elementi dentali della parte vestibolare, di andare a diretto contatto con la gengiva evitando così la sua infiammazione.

- *Gummy Smile*: l'eccesso di tessuto gengivale, detto spesso gummy smile, è un altro importante intervento di natura prettamente estetica. Con il laser è possibile modellare il profilo gengivale in modo che risulti perfettamente nella norma, con conseguente miglioramento estetico, senza dolore e sanguinamento.
- *Emangioma*: gli emangiomi sono spesso fastidiosi e antiestetici, tendono facilmente ad assumere dimensioni molto grandi. Quando presenti attorno al cavo orale (guance, lingua, labbro) possono rappresentare un problema anche funzionale quando interferiscono con la masticazione potendo essere traumatizzati dai denti e sanguinare copiosamente. Le comuni proposte terapeutiche si basano su interventi chirurgici invasivi che provocano emorragie e richiedono punti di sutura. Bastano pochi minuti di irraggiamento laser per provocare la fotocoagulazione dei globuli rossi. La lesione diventerà biancastra e guarirà completamente nel giro di qualche settimana.
- *Depigmentazione*: con il laser è possibile effettuare la rimozione di macchie sulle gengive insorte naturalmente o causate dalla presenza di amalgama o altre sostanze pigmentate. L'effetto ablativo e coagulante del laser consente la rimozione delle macchie senza provocare eccessivo dolore o sanguinamento.

#### APPLICAZIONI IN CONSERVATIVA

Il laser trova utilità nella sigillatura dei solchi, poiché effettua una decontaminazione delle superfici occlusali nella fase di preparazione della sigillatura, aumentandone l'efficacia e la durata nel tempo. Analogamente, prima di chiudere una cavità con i compositi è opportuno un passaggio con il laser per una pulizia accurata e decontaminazione efficace.

### 4.2 - LASER AD ERBIO

#### DENTE

- *Rimozione carie; preparazione cavità I-V; rimozione dentina*

L'elevata potenza di picco del consente di lavorare altrettanto velocemente, ma con numerosi vantaggi rispetto alla comune turbina in conservativa. Non solo l'assenza di vibrazioni e di contatto risultano più tollerabili ai pazienti: il taglio con il laser evita la formazione di fratture

che indebolisco la struttura del dente. Inoltre, poiché il tessuto carioso contiene più acqua della dentina (25% rispetto al 20%), è possibile agire selettivamente nella rimozione dosando opportunamente l'energia, senza causare danni alle cellule pulpari. Secondo i principi dell'Odontoiatria Minimamente Invasiva è necessario rimuovere lo strato di dentina infetta e contemporaneamente conservare lo strato di quella affetta poiché conserva ancora la potenzialità di remineralizzarsi. La massima conservazione dei tessuti è un fattore particolarmente importante quando si tratta di denti decidui, aventi uno spessore inferiore, o denti permanenti da poco erotti su cui non è ancora depositata la dentina secondaria. Una fresa generalmente ha un diametro maggiore di 1,5 mm mentre il manipolo del laser ad erbio può lavorare su una superficie inferiore al millimetro: questo consente una maggiore precisione e conservazione dei tessuti adiacenti. Inoltre, la capacità battericida del laser consente di decontaminare lo strato di dentina affetta, riducendo il rischio di future complicazioni. Il laser ad erbio è anche in grado di rimuovere materiale di riempimento preesistente proprio grazie alla selettività.

- Rimozione smalto; mordenzatura; sigillatura dei solchi; ricostruzioni

Rispetto ai metodi tradizionali di mordenzatura che prevedono l'uso di acidi, il laser permette di preparare lo smalto in modo ottimale e controllabile per interventi di odontoiatria estetica quali la preparazione di faccette (veneers), l'applicazione di brackets, nella sigillatura dei solchi o ricostruzioni. La sua utilità in ortodonzia è evidente soprattutto se il paziente è pediatrico o scarsamente collaborante: il laser ad erbio consente non solo di applicare i brackets su denti scarsamente erotti o trattenuti, come spesso avviene in presenza di ipertrofia e iperplasia gengivale legata all'uso di farmaci ed aggravata da una scarsa igiene orale, ma anche di trattare il tessuto gengivale che circonda i canini ritenuti, asportare il tessuto ridondante che viene creato dalla chiusura degli spazi interdentali, creare opercoli a livello dei secondi molari, rimuovere del tessuto ipertrofico causato da scarsa igiene orale e per il trattamento delle lesioni aftose causate dai dispositivi ortodontici.

- Desensibilizzazione, sigillatura dei solchi senza mordenzatura e compositi, erosione dentale

I pazienti che soffrono di sensibilità dentinale solitamente hanno un numero maggiore di tubuli dentinali aperti e di maggiore diametro. Rispetto al solo trattamento al fluoro, la combinazione con l'irraggiamento laser risulta estremamente efficace nel trattamento della sensibilità dei colletti e monconi. Osservando al SEM la superficie dentinale trattata con il laser a distanza di quattro e sei mesi, è possibile osservare i tubuli dentinali ancora sigillati poiché l'energia opportunamente dosata del laser favorisce la remineralizzazione dentale e la chiusura dei canalicoli. Di indubbia utilità risulta anche per effettuare una sigillatura dei solchi senza alcuna mordenzatura e uso di compositi, grazie alla capacità del laser ad erbio

di vetrificare la cavità della pavimentazione dentinale. Nel caso di erosione dentale dopo un passaggio con il laser ad erbio i denti risulteranno più resistenti all'attacco acido.

- Endodonzia, direct pulp capping

In endodonzia il laser ad erbio si rivela un prezioso alleato per la detersione dello smear layer dalle pareti dentinali, nella rimozione del biofilm batterico e nella decontaminazione canalare grazie all'effetto fotoacustico generato dal laser in modalità onda quadra. L'elevata potenza di picco e l'affinità del laser ad erbio per l'acqua creano questo fenomeno nella soluzione irrigante. Il laser provoca un'onda acustica all'interno della soluzione, che si propaga tridimensionalmente all'interno dei canali radicolari, anche i più inaccessibili. L'effetto termico è trascurabile ma la pulizia e la decontaminazione risultano estremamente efficaci.

### TESSUTO OSSEO

- Chirurgia ossea; rialzo di seno; split crest preparazione sito implantare; apicectomia

Il laser ad erbio si presenta come uno strumento di avanguardia indispensabile nell'esecuzione di interventi complessi che coinvolgono l'osso quali preparazione del sito implantare, rialzo del seno e split crest. Il laser ad Erbio può intervenire sui tessuti duri del cavo orale in modo semplice e con minor trauma creando un lembo di accesso gengivale ed un taglio osseo in modo rapido e preciso con margini della breccia ossea più accurati rispetto a quelli ottenuti tramite strumenti rotanti. Il laser ha proprietà battericide e mantiene invariata la temperatura del tessuto bersaglio grazie allo spray d'acqua ed all'istantanea vaporizzazione dell'acqua contenuta nei tessuti. Questo meccanismo garantisce il rispetto delle proprietà biologiche dell'osso residuo, senza creazione di necrosi o denaturazione della matrice proteica.

### TESSUTO MOLLE

La chirurgia dei tessuti molli con il laser ad erbio risulta particolarmente indicata non solo per la velocità e la precisione del taglio; la capacità di controllare il sanguinamento permette un'ottima visibilità del campo operatorio e velocizza i tempi di guarigione post-operatori.

- Gengivectomia, gengivoplastica, allungamento corona, curettage, opercolectomia, scopertura impianti

Il laser ad erbio viene usato per incidere la gengiva per scopi di ricostruzione, cosmetica, parodontali o altro. L'ablazione progressiva strato dopo strato dei tessuti porta ad una maggiore velocità di guarigione con minor dolore: spesso non è necessaria l'anestesia grazie

alla tecnologia pulsata, la superficialità d'azione, e lo scarso effetto termico del laser ad erbio. Nel caso di un intervento preprotetico quale l'allungamento di corona, con il laser è possibile vaporizzare il lembo e asportare perfettamente tutta la parte attorno all'osso senza intaccare l'osso stesso. Nella maggior parte dei casi non occorre l'anestesia e, nell'utilizzo, si consiglia di partire con basse potenze per poi alzarle gradualmente a seconda della necessità. L'opercolectomia consiste nell'asportazione di una porzione di gengiva che si trova generalmente su di un dente del giudizio in eruzione. Tradizionalmente si utilizza il bisturi ma, con il laser, oltre a ridurre il gonfiore post-operatorio, si opera con minor dolore del paziente. Allo stesso modo per la scopertura di impianti il laser risulterà uno strumento di indubbia utilità. La mancanza di interazione tra la lunghezza d'onda di 2940nm e la superficie implantare e l'assenza di incremento termico, permettono l'uso del laser ad erbio in prossimità dell'impianto consentendo sia la decontaminazione che il trattamento dei tessuti perimplantari in totale sicurezza.

- Chirurgia, rimozione fibroma, frenulotomia, rimozione lesioni orali, vestiboloplastica

Il frenulo è un fascio di tessuto muscolare e fibroso rivestito da mucosa che si estende dalla mucosa alveolare alla linea di giunzione muco-gengivale (frenulo vestibolare) e dalla faccia ventrale della lingua al pavimento della bocca (frenulo linguale). Eseguire un intervento di frenulotomia significa praticare una rimozione parziale del frenulo o il suo riposizionamento. Solitamente questo intervento viene eseguito su pazienti molto giovani e, proprio per questo, utilizzare il laser è la scelta più idonea. Il paziente che si sottopone all'intervento non sente dolore, ma se si desidera maggiore sicurezza si può applicare un gel anestetico sulla superficie del frenulo. Il tessuto irradiato viene vaporizzato all'istante mentre il campo operatorio è libero dal sangue (questo aspetto migliora anche la collaborazione dello stesso paziente). Il recupero post-operatorio è semplice e veloce senza l'applicazione di punti di sutura.

- Lesioni erpetiche

Il laser ad erbio si rivela molto utile anche per la cura delle lesioni erpetiche. Dopo pochi secondi di irraggiamento il dolore scompare e la guarigione della lesione diventa rapida grazie all'effetto decontaminante sulla superficie trattata.

- Rimozione macchie amalgama, depigmentazione

L'eccessiva pigmentazione delle gengive, naturalmente presente o indotta dalla presenza di materiali quali vecchie otturazioni, può essere notevolmente migliorata con l'ausilio del laser ad erbio. I melanociti residuali e altri pigmenti presenti nella gengiva vengono eliminati dal laser tramite ablazione e la gengiva guarisce velocemente.

### **4.3 – BIBLIOGRAFIA**

Doctor Smile, Lambda S.P.A.

## **5. NORME DI SICUREZZA**

### **5.1 - NORME GENERALI**

1. L'impiego di Laser Chirurgici è consentito ai soli operatori qualificati, che abbiano ricevuto una formazione specifica in merito alla Sicurezza Laser e alla particolare applicazione clinica.
2. Il personale medico autorizzato all'impiego del Laser, nonché il personale autorizzato ad assistere durante l'intervento, deve essere registrato in un apposito registro.
3. Il personale autorizzato, presente nell'Ambulatorio – classificato Zona Laser Controllata durante l'uso del Laser – deve:
  - essere al corrente della natura dei rischi connessi,
  - avere familiarità con le istruzioni di funzionamento fornite dal costruttore,
  - assicurarsi che siano rispettate le condizioni per la propria sicurezza.
4. L'Operatore del Laser (il medico) deve assicurarsi che il personale sia perfettamente addestrato per uno svolgimento sicuro dei propri compiti ed è responsabile per la sicurezza di eventuali visitatori presenti.
5. Quando il Laser è in funzione il personale presente in Sala deve essere ridotto al minimo necessario e deve indossare gli occhiali di protezione prescritti (ad eccezione del solo operatore quando utilizza un microscopio già opportunamente filtrato) e vestiario in cotone pesante o, in alternativa, in materiale ignifugo.
6. Il Laser non deve essere messo in funzione se non quando diretto verso la zona del paziente da trattare, o verso un assorbitore di fascio, o un misuratore di potenza.
7. Gli strumenti chirurgici utilizzati nei trattamenti laser devono avere un trattamento superficiale antiriflesso (es. strumenti anodizzati neri o satinati).
8. L'utilizzo di gas nella chirurgia laser in cavità corporee chiuse può condurre a rischio di embolia nel paziente. Il rischio può essere ridotto utilizzando diossido di carbonio o in alternativa un fluido.
9. Nella Zona Laser Controllata e in particolare in prossimità del campo operatorio – prima dell'impiego del laser – è necessario provvedere a che le superfici riflettenti eventualmente

presenti (per es. carrelli di servizio in acciaio o vassoio del riunito), che potrebbero accidentalmente intercettare il fascio laser generando riflessioni pericolose, siano opportunamente ricoperte con teli in cotone pesante.

10. Non si devono utilizzare contemporaneamente più sistemi laser nella stessa Sala.
11. In caso di sospetto guasto o malfunzionamento del Laser, sospendere l'utilizzo dell'apparecchiatura e avvisare l'Addetto Sicurezza Laser e/o il Servizio Di Prevenzione e Protezione.
12. In caso di infortunio e/o incidente, rivolgersi al Pronto Soccorso ed avvisare il Medico Competente ed il Servizio di Prevenzione e Protezione.

## **5.2 – PROCEDURA OPERATIVA**

1. Prima dell'impiego del Laser effettuare i seguenti interventi/controlli ambientali al fine di predisporre le condizioni di sicurezza minime necessarie:
  - a) ricoprire le strutture riflettenti con teli in cotone pesante;
  - b) chiudere la porta di accesso all'Ambulatorio;
  - c) verificare che non siano utilizzati materiali (es. disinfettanti) o gas medicali infiammabili,
  - d) verificare che si stiano disponibili strumenti chirurgici con trattamento superficiale antiriflesso (es. strumenti anodizzati neri);
  - e) predisporre una soluzione di acqua sterile (es. soluzione salina) per irrorare ed estinguere prontamente eventuali focolai nel campo operatorio;
  - f) se l'intervento lo richiede, predisporre l'impiego del sistema di estrazione dei fumi prodotti dalla vaporizzazione del tessuto;
  - g) provvedere a indossare gli occhiali di protezione prescritti e a proteggere gli occhi del paziente (utilizzando occhiali protettivi idonei o in alternativa spugne o garze bagnate).
  - h) se disponibile, attivare la segnalazione luminosa installata sull'ingresso della Zona Laser Controllata (segnale di avvertimento di laser in funzione).
2. Dopo aver verificato la corretta installazione di tutti i dispositivi ausiliari collegati al laser, girare il comando a chiave in posizione "ON" ed eseguire sull'apparecchio laser la procedura di test raccomandata dal costruttore verificandone il corretto funzionamento.
3. Prima di ogni intervento laser, controllare accuratamente l'integrità della fibra e delle sue connessioni. Maneggiare con cura le fibre ottiche evitando di piegarle o attorcigliarle eccessivamente.
4. Prima di ogni intervento laser, controllare accuratamente l'integrità della fibra, del manipolo/puntale e delle sue connessioni.

5. Impostare i parametri di funzionamento del laser (potenza, etc.) idonei all'applicazione, avvisare gli operatori presenti in Sala che il trattamento sta per iniziare, e quindi procedere all'attivazione del fascio laser utilizzando il comando a pedale.
6. Per una breve pausa nel trattamento premere il pulsante di attesa "Stand-By" per disattivare il comando a pedale e prevenire eventuali emissioni accidentali.
7. Quando non utilizzato, il laser deve essere protetto da un uso non autorizzato. Pertanto, è necessario chiudere l'interruttore a chiave per bloccarne il funzionamento, riponendo la stessa in un luogo sicuro.
8. Rispettare le procedure di sterilizzazione, taglio, accoppiamento e corretto utilizzo delle fibre ottiche impiegate, conformemente a quanto indicato nel manuale d'uso del rispettivo Laser che deve essere sempre disponibile per la consultazione.

## 6. LASER IN ENDODONZIA

La tecnologia laser è stata introdotta nei primi anni Sessanta, e dal 1970 si è cominciato a studiare la possibilità di decontaminare i canali radicolari grazie a energie altamente concentrate. Tuttavia, è stata l'introduzione di fibre ottiche sottili e flessibili a rendere possibile una penetrazione efficace della luce nel terzo apicale.

Diversi laser hanno dimostrato di essere efficaci nel ridurre significativamente la carica batterica nei canali infetti, con importanti studi che hanno convalidato questi risultati in vitro.

I laser a diodi (con lunghezze d'onda da 810 nm a 980 nm) e il laser Nd

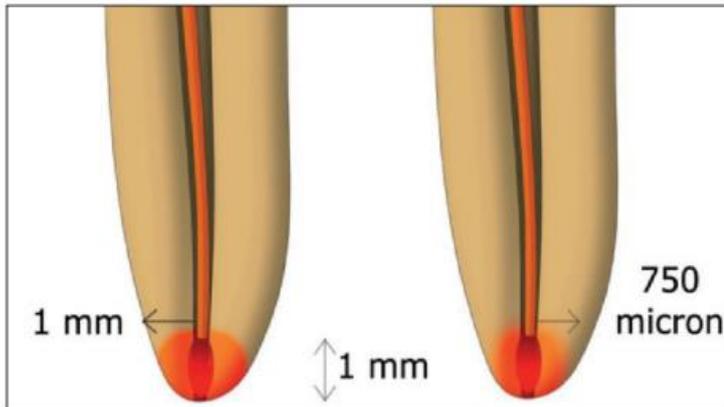
(1064 nm), che operano nella regione del "near infrared" dello spettro elettromagnetico, interagiscono principalmente con i tessuti molli. Il laser Nd

ha una penetrazione più profonda (fino a 4-5 mm), mentre i laser a diodi operano più superficialmente (fino a 3 mm). La luce di questi laser viene assorbita selettivamente dall'emoglobina, dall'ossiemoglobina e dalla melanina.

Attualmente, in endodonzia, questi laser rappresentano il miglior sistema di decontaminazione grazie alla loro capacità di penetrare in profondità all'interno dei tubuli dentinali, raggiungendo fino a 750 micron per i laser a diodi e fino a 1 mm per il laser Nd. Questa efficacia è dovuta anche all'affinità di queste lunghezze d'onda con i batteri, che vengono distrutti attraverso un effetto fototermico.

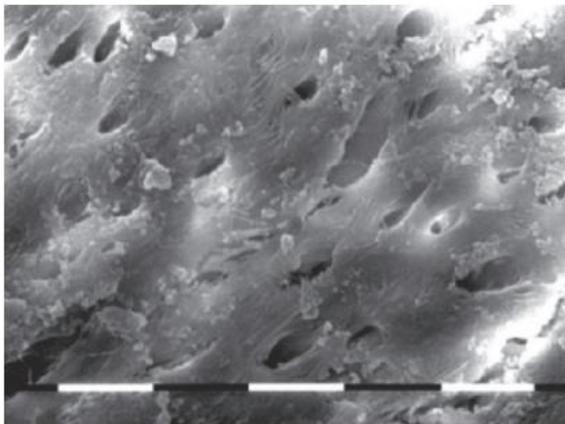
Schoop et al. nel 2004 hanno dimostrato su modello sperimentale come i laser diffondano la

propria energia in profondità nella parete dentinale, dimostrandosi fisicamente più efficaci dei tradizionali sistemi irriganti chimici nel decontaminare le pareti dentinali in profondità<sup>11</sup>. Il laser Nd:YAG (1064 nm) ha mostrato una riduzione batterica dell' 85% a 1 mm, mentre il laser a diodi 810 nm del 63% a 750 micron e inferiore per il diodo 980 nm.

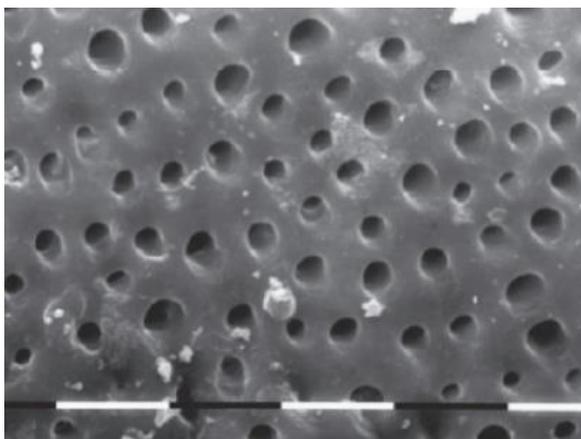


*Differenti penetrazioni in dentina di laser Nd:YAG e diodi 810-980 nm.*

Questa spiccata e differente penetrazione è dovuta alla scarsa e diversa affinità di queste lunghezze d'onda per i tessuti duri e per la tipica capacità di diffusione non uniforme che permette alla luce di raggiungere e distruggere per effetto termico i batteri anche in profondità.



*Immagine al SEM di dentina radicolare trattata con laser a diodi 810 nm utilizzato con potenza 2,5 W in modalità pulsata 50/50 10 msec (4 cicli x 5 sec) con irrigazione di EDTA.*



*Immagine al SEM di dentina radicolare trattata con laser a diodi 810 nm utilizzato con potenza 2,5 W in modalità pulsata 50/50 10 msec (4 cicli x 5 sec) alternando irrigazione con ipoclorito sodio 5.5.% e 17% EDTA.*

Molti altri studi microbiologici hanno confermato la forte azione battericida dei laser a diodi e Nd:YAG, con decontaminazione fino al 100% della carica batterica nel canale principale<sup>13-16</sup>.

Uno studio in vitro di Benedicenti et al. ha riportato come l'utilizzo di un laser a diodi 810 nm associato all'uso di irriganti chimici chelanti come acido citrico ed EDTA porti a una riduzione pressoché assoluta della carica batterica (99,9%) di *Enterococcus Faecalis* dal sistema endodontico<sup>17</sup>.

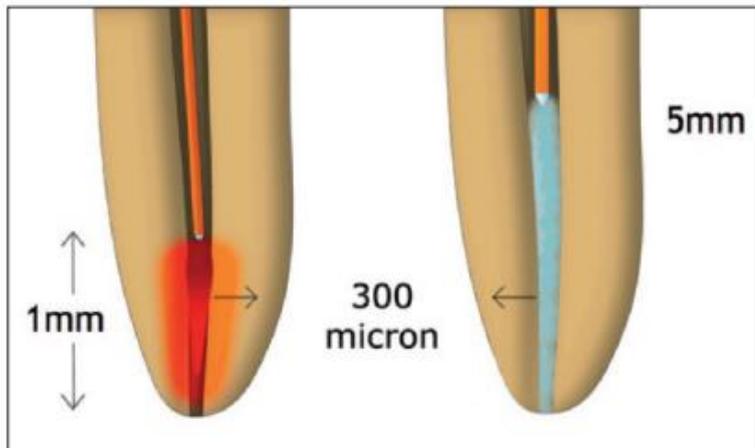
I laser Erbium (2780 nm e 2940 nm) appartengono alla regione del “*medium infrared*”, la loro luce è prevalentemente assorbita superficialmente nel tessuto molle tra 100 e 300 micron e fino a 300-400 micron nelle pareti dentinali<sup>11,18</sup>; il cromoforo bersaglio è l'acqua, per questo il loro utilizzo in odontoiatria è esteso dai tessuti molli a quelli duri, per il contenuto in acqua di mucosa, gengiva dentina e tessuto cariato che vengono vaporizzati per effetto termico.

Quando utilizzati in soluzione acquosa, l'esplosione delle molecole d'acqua genera anche un certo grado di effetto fotomeccanico che partecipa al processo ablativo e di detersione<sup>19-21</sup>.

Laser a Erbium con impulsi di durata molto corta (inferiore a 150 microsecondi) permettono con l'utilizzo di energie molto basse (meno di 50 mJ) il raggiungimento di potenze di picco assai elevate. L'utilizzo di energia minimamente ablativa riduce gli indesiderati effetti termici a vantaggio di fenomeni di esplosione delle molecole d'acqua (cromoforo bersaglio), con successiva produzione di effetti fotomeccanici e fotoacustici (*shock wave*) delle soluzioni irriganti introdotte nel lume canalare, sulle pareti dentinali. Questi effetti sono risultati estremamente efficaci nell'azione di detersione dello smear layer dalle pareti dentinali, nella rimozione del biofilm batterico e nella decontaminazione canalare<sup>22-25</sup>.

La decontaminazione tridimensionale del sistema endodontico eseguita con i laser Erbium non è ancora comparabile a quella dei laser *near infrared*. L'energia termica sviluppata da questi laser è infatti assorbita prevalentemente in superficie (elevata affinità per i tessuti dentali ricchi d'acqua), dove esercitano il più elevato potere battericida su *E. Coli*, Gram- ed

E. Faecalis Gram+; a 1,5 W Moritz et al. (1999) hanno ottenuto un'eradicazione quasi totale, del 99,64% di questi batteri<sup>26</sup>; questi sistemi non sono però in grado di esercitare effetto battericida in profondità nei canali laterali, raggiungendo i 300 micron di profondità, nello spessore della parete radicolare<sup>11</sup>.



*Differenti applicazioni di punte endodontiche tradizionali per laser a erbio e nuove punte PIPS.*

Ulteriori studi (2007) hanno investigato l'efficacia dell'Er, Cr:YSGG laser nella decontaminazione di canali tradizionalmente preparati; utilizzando bassa potenza (0,5 W 10 Hz 50 mJ con 20% air/water spray) non si è ottenuta l'eradicazione completa dei batteri<sup>23</sup>, mentre i risultati migliori per Er:YAG si sono ottenuti con una riduzione del 77% a 1 W e del 96% a 1,5W<sup>15</sup>.

Un nuovo filone di ricerca (2006) ha investigato l'efficacia del laser Erbium nella rimozione del biofilm batterico a livello apicale<sup>28</sup> e un recente studio in vitro (2008) ha ulteriormente validato la capacità del laser Er:YAG di rimuovere un biofilm endodontico formato da numerose specie batteriche (Actinomyces Naeslundii, Enterococcus Faecalis, Lactobacillus Casei, Propionibacterium Acnes, Fusobacterium Nucleatum, Porphyromonas Gingivalis, Prevotella Nigrescens), con considerevole riduzione delle cellule batteriche e disgregazione del biofilm, a eccezione di quello formato da L. Casei<sup>29</sup>.

I laser Erbium hanno utilizzato punte “end firing”, cioè con emissione frontale alla parte terminale della punta, e hanno dimostrato una scarsa penetrazione laterale nella parete dentinale. Nuove punte a emissione radiale sono state proposte nel 2007 per il laser Er, Cr:YSGG. Gordon et al.<sup>30</sup> e Schoop et al.<sup>31,32</sup> hanno studiato gli effetti morfologici e decontaminanti di questo nuovo sistema. I primi hanno utilizzato una punta da 200 micron a emissione radiale, a 20 Hz con spray aria/acqua (34% e 28%) e a secco, a 10 mJ e 20 mJ, 20 Hz (0,2 W e 0,4 W rispettivamente); i tempi di irradiazione erano variabili da 15 secondi sino a 2 minuti.

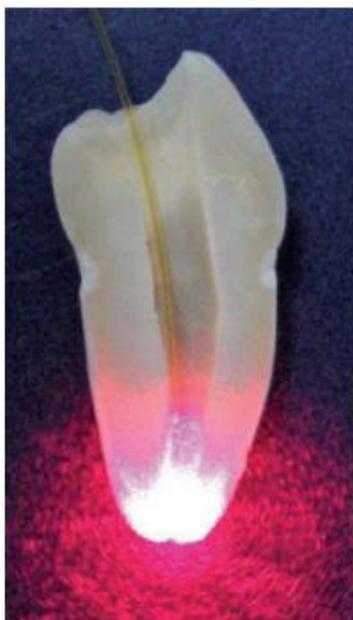
Il massimo potere battericida si è ottenuto alla massima potenza (0,4 W), con il tempo di esposizione più lungo e nella modalità senz'acqua, con un'eradicazione del 99,71% mediante effetto battericida; il minimo tempo di irradiazione di 15 s alla potenza più bassa (0,2 W) ha ottenuto il 94,7%<sup>30</sup>. I secondi hanno utilizzato una punta da 300 micron di diametro a due differenti parametri di emissione, 1W e 1,5 W, 20 Hz, irradiando 5 volte per 5 secondi con un tempo di raffreddamento di 20 secondi ogni passaggio. Il livello di decontaminazione ottenuto è stato significamente elevato senza importanti differenze tra 1 W e 1,5 W, con rialzo termico contenuto tra 2,7° C e 3,2° C<sup>31</sup>. Lo stesso gruppo di Vienna ha studiato anche i parametri 0,6 W e 0,9 W che producevano un rialzo termico molto contenuto rispettivamente di 1,3° C e 1,6° C, mantenendo un elevato effetto battericida su E. Coli ed E. Faecalis<sup>32</sup>.

L'effetto termico dei laser, utilizzato per l'effetto battericida, deve essere controllato per evitare danni sulle pareti dentinali: l'irradiazione a parametri corretti produce, infatti, oltre alla vaporizzazione dello smear layer (solo i *medium infrared laser*) e della struttura organica dentinale (fibre collagene) anche aspetti di fusione superficiale più o meno marcati a seconda della lunghezza d'onda (*near e medium infrared laser*). I soli laser Erbium producono anche fenomeni ablativi superficiali della dentina, più prevalenti nelle aree intertubulari più ricche in acqua che in quelle peritubulari più mineralizzate. I danni termici quando si utilizzano parametri o modalità di utilizzo scorretti, si manifestano con estese aree di fusione (*melting*), di ricristallizzazione della matrice minerale (*bubble*), con microfratture superficiali con segni di carbonizzazione radicolare interna ed esterna.

### **Decontaminazione con near infrared laser**

La decontaminazione canalare laser-assistita, realizzata con laser near infrared, richiede che i canali vengano preparati secondo il metodo tradizionale, utilizzando strumenti ISO 25/30. Questa lunghezza d'onda non ha affinità né capacità ablativa sui tessuti duri. L'irradiazione viene eseguita come passaggio finale per decontaminare il sistema endodontico prima dell'otturazione.

La fibra ottica, con un diametro di 200 micron e precedentemente attivata su una superficie scura, viene inserita a 1 mm dalla lunghezza di lavoro. Durante l'irradiazione, si utilizza un movimento elicoidale in direzione apico-coronale per un periodo di 5-10 secondi, prestando attenzione a non sostare all'apice per più di 1 secondo.



*Fibra del laser a diodi 810 nm nel canale radicolare.*

I parametri di utilizzo del laser a diodi 810 nm sono: 2,5 W di potenza in modalità pulsata con 10 ms di azione e 10 ms di pausa. Per il diodo 980 nm le potenze vanno ridotte a 1,5 W di potenza e 15 Hz di frequenza. Dopo aver eseguito per 3 volte la decontaminazione con il canale “a bagno” di ipoclorito, si irriga con acido citrico al 10% o EDTA al 17% e si esegue nuovamente la decontaminazione laser. Al lavaggio di ipoclorito ne segue un'ulteriore di ipoclorito e un successivo passaggio per tre volte con laser alla potenza e secondo i tempi precedentemente descritti.

### **Decontaminazione con medium infrared laser**

Considerata la scarsa efficienza nella preparazione e sagomatura canalare, anche l'utilizzo dei laser Erbium per la decontaminazione in endodonzia prevede una preparazione canalare eseguita con tecnica tradizionale, con canali preparati all'apice con strumenti ISO 25-30; il passaggio finale con il laser è reso possibile grazie all'utilizzo di punte lunghe e sottili (200 e 320 micron), disponibili per alcune apparecchiature Erbium, in grado di raggiungere facilmente la lunghezza di lavoro (1 mm dall'apice). Anche in questo caso la tecnica tradizionale prevede un movimento elicoidale di retrazione della punta (in 5-10 secondi), da ripetersi 3-4 volte a seconda dei protocolli, alternando l'irradiazione all'irrigazione con i comuni prodotti chimici, eseguendo la procedura in un canale bagnato (ipoclorito di sodio e/o EDTA); lo spray integrato va mantenuto chiuso.

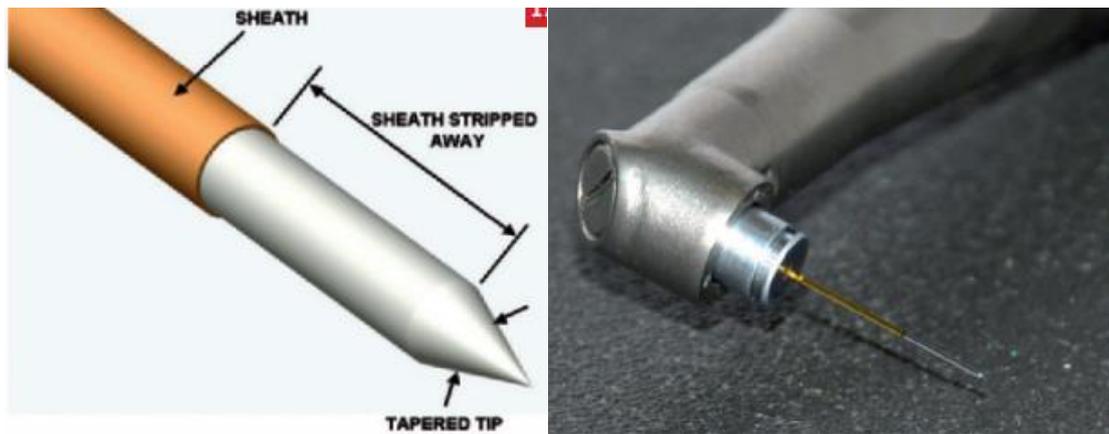
I parametri oggi accettati e utilizzati per laser Er:YAG sono: potenza 1,125 W, energia 75 mJ e frequenza 15 Hz mentre per i laser Er, Cr:YSGG sono: potenza 1,5 W, energia 75 mJ,

frequenza 20 Hz.

Recentemente è stato introdotto per i laser Er:YAG una nuova metodica che è quella presentata in questa tesi. La tecnica Photon Initiated Photoacoustic Streaming (PIPS) prevede l'utilizzo del laser Erbium (Fidelis III AT/HT-Lightwalker ST-E/AT Fotona, Lubiana, Slovenia) e della sua interazione con le soluzioni irriganti (17% EDTA o 5,5% NaOCl). La tecnica si propone con un meccanismo diverso rispetto ai precedenti; essa sfrutta esclusivamente i fenomeni fotoacustici e fotomeccanici che risultano dall'utilizzo di energia minimamente ablativa di 20 mJ a 15 Hz, con impulsi di soli 50 microsecondi.

A fronte di una potenza media di soli 0,3 W, ogni impulso interagisce con le molecole d'acqua con una potenza di picco di 400 W, in grado di creare esplosione e successivo “*shock waves*” con formazione di un forte flusso di fluidi all'interno del canale, senza generare gli indesiderati effetti termici; questi, misurati con termocoppie sulla superficie radicolare, sono risultati essere 1,2°C e 1,5°C rispettivamente a 20 e 40 secondi. Questa sistematica, per la minima energia applicata e la ridotta potenza sviluppata può essere considerata più una tecnica di irrigazione canalare che una procedura d'irradiazione laser.

Gli effetti fisici (fototermici) indesiderati vengono ridotti o annullati, mentre sono implementati gli effetti chimici (decontaminante e/o detergente) propri dei vari irriganti utilizzati che vengono spinti nel sistema endodontico tridimensionalmente, con maggiore efficacia. Altro considerevole vantaggio deriva dall'inserimento della tip in camera pulpare all'imbocco canalare, senza avere problemi nell'inserimento delle punte a 5 mm o a 1 mm dall'apice come previsto per le altre tecniche. Vengono utilizzate punte di nuovo disegno di 12 millimetri di lunghezza, di 300-400 micron di diametro, con terminale “*radial firing*”; i 4 mm finali sono liberati dalla pellicola di rivestimento in modo tale da permettere una maggior emissione laterale di energia, rispetto a quella frontale; questa modalità di emissione porta a un miglior utilizzo dell'energia laser che a soglia minimamente ablativa eroga una potenza di picco molto elevata per ogni singolo pulse (400 W), producendo così “*shock wave*” sugli irriganti, con un effetto fotoacustico e fotomeccanico importante sulla parete dentinale<sup>25</sup>. La tecnica PIPS utilizza i seguenti parametri: energia 20 mJ, 15 pps, con impulso di 50 microsecondi e la specifica punta da 400 micron (lunga 14 mm) a emissione laterale, privata della guaina esterna negli ultimi 4 mm (*tapered and stripped tip*).



*Punte endodontiche per tecnica PIPS.*

Il protocollo prevede un'irrigazione/irradiazione con ipoclorito di sodio al 5,5% con tecnica PIPS, per 20 secondi, dopo ogni strumentazione canalare e passaggio finale con irrigazione/irradiazione con EDTA al 17% per 20 secondi prima dell'otturazione.

Il continuo miglioramento delle tecnologie sta portando a un'evoluzione dell'interazione laser con il tessuto bersaglio, a interazione laser-irrigante -tessuto (come in questa tecnica) con diminuzione degli effetti fisici indesiderati (termici) e aumentata perfusione ed efficacia degli effetti chimici (decontaminanti e chelanti) degli irriganti canalari.

## **6.1 - BIBLIOGRAFIA**

1. Moritz A, Schoop U, Kluger W, Jakolitsch S, Sperr W. Laser in endodontology. Journal of Oral Laser Applications 2001;2:87-97.
2. Ricucci D, Siqueira JF Jr. Fate of the tissue in lateral canals and apical ramifications in response to pathologic conditions and treatment procedures. J Endod 2010 Jan;36(1):1-15.
3. Nagaoka S et al. Bacterial invasion into dentinal tubules of human vital and non vital teeth. J Endod 1995;21:70-73.
4. Ramachandran PN. Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. J Endod 1987;13:29-39.
5. Shovelton DS. The presence and distribution of microorganisms within non vital teeth. Br Dent J 1964;117:101-107.
6. Meryon SD et al. Penetration of dentine by three oral bacteria in vitro and their associated cytotoxicity. Int Endo J 1990;23:196-202.
7. Berutti E et al. Penetration ability of different irrigants into dentinal tubules. J Endod 1997;23:725-727.

8. Ghoddusi J, Rohani A, Rashed T, Ghaziani P, Akbari M. An evaluation of microbial leakage after using MTAD as a final irrigation. *JOE* 2007;vol 33,2:173-6.
9. Maiman TH. Stimulated optical radiation in ruby. *Nature* 1960;187:4493-494.
10. Weichmman JA. Laser use in endodontics. *Oral Surgery* 1972;31:416-20.
11. Schoop U, Kluger W, Moritz A, Nedjelik N, Georgopoulos A, Sperr W. Bactericidal effect of different laser systems in the deep layers of dentin. *Lasers Surg Med* 2004;35(2):111-6.
12. Moritz A. *Oral Laser Application*. Berlin: Quintessence Verlags-GmbH, 2006, 258-277.
13. Moritz A, Gutknecht N, Goharkhay K, Schoop U, Wernisch J, Sperr W. In vitro irradiation of infected root canals with a diode laser: results of microbiologic, infrared spectrometric, and stain penetration examinations. *Quintessence Int* 1997, Mar;28(3):205-9.
14. Schoop U, Kluger W, Dervisbegovic S, Goharkhay K, Wernisch J, Georgopoulos A, Sperr W, Moritz A. Innovative wavelengths in endodontic treatment. *Lasers Surg Med* 2006 Jul;38(6):624-30.
15. Wang QQ, Zhang CF, Yin XZ. Evaluation of the bactericidal effect of Er,Cr:YSGG, and Nd:YAG lasers in experimentally infected root canals. *J Endod* 2007 Jul;33(7):830-2. Epub 2007 May 7.
16. de Souza EB, Cai S, Simionato MR, Lage-Marques JL. High-power diode laser in the disinfection in depth of the root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008 Jul;106(1):e68-72.
17. Benedicenti S, Cassanelli C, Signore A, Ravera G, Angiero F. Decontamination of root canals with the gallium-aluminum-arsenide laser: an in vitro study. *Photomed Laser Surg* 2008 Aug;26(4):367-70.
18. Hibst R, Stock K, Gall R, Keller U. Controlled tooth surface heating and sterilization by Er:YAG laser radiation. *Proc. SPIE*; vol. 2922:119-1261.
19. RizoIU IM, DeShazer GL. New laser-matter interaction concept to enhance hard tissue cutting efficiency. *Laser Tissue*. San Josè, California: Interaction V, Vol. 2134A, 309-317, 1994.
20. Meister J, Franzen R, Forner K, Grebe H, Stanzel S, Lampert F, Apel C. Influence of the water content in dental enamel and dentin on ablation with erbium YAG and erbium YSGG lasers. *J Biomed Opt* 2006 May-Jun;11(3):34030.
21. Chen Z, Bogaerts A, Vertes A. Phase explosion in atmospheric pressure infrared laser ablation from water-rich targets. *App Phys Letters* 2006;89,041503:1-3.

22. De Moor RJ, Meire M, Goharkhay K, Moritz A, Vanobbergen J. Efficacy of ultrasonic versus laser-activated irrigation to remove artificially placed dentin debris plugs. *J Endod* 2010 Sep;36(9):1580-3.
23. de Groot SD, Verhaagen B, Versluis M, Wu MK, Wesselink PR, van der Sluis LW. Laser activated irrigation within root canals: cleaning efficacy and flow visualization. *Int Endod J* 2009 Dec;42(12):1077-83.
24. Hmud R, Kahler WA, George R, Walsh LJ. Cavitation effects in aqueous endodontic irrigants generated by near-infrared lasers. *J Endod* 2010 Feb;36(2):275-8. Epub 2009 Dec 4.
25. DiVito E, Peters OA, Olivi G. Effectiveness of the Erbium:YAG laser and new design radial and stripped tips in removing the smear layer after root canal instrumentation. *Lasers Med Sci* 2010 Dec 1.
26. Moritz A, Schoop U, Goharkhay K, Jakolitsch S, Kluger W, Wernisch J, Sperr W. The bactericidal effect of Nd:YAG, Ho:YAG, and Er:YAG laser irradiation in the root canal: an in vitro comparison. *J Clin Laser Med Surg* 1999;17(4):161-4.
27. Eldeniz AU, Ozer F, Hadimli HH, Erganis O. Bactericidal efficacy of Er,Cr:YSGG laser irradiation against *Enterococcus faecalis* compared with NaOCl irrigation: an ex vivo pilot study. *Int Endod J* 2007 Feb;40(2):112-9.
28. Araki AT, Ibraki Y, Kawakami T, Lage-Marques JL. Er:Yag laser irradiation of the microbiological apical biofilm. *Braz Dent J* 2006;17(4):296-9.
29. Noiri Y, Katsumoto T, Azakami H, Ebisu S. Effects of Er:YAG laser irradiation on biofilm-forming bacteria associated with endodontic pathogens in vitro. *J Endod* 2008 Jul;34(7):826-9. Epub 2008 May 22.
30. Gordon W, Atabakhsh VA, Meza F, Doms A, Nissan R, RizoIU I, Stevens RH. The antimicrobial efficacy of the erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet laser with radial emitting tips on root canal dentin walls infected with *Enterococcus faecalis*. *J Am Dent Assoc* 2007 Jul;138(7):992-1002.
31. Schoop U, Goharkhay K, Klimscha J, Zagler M, Wernisch J, Georgopoulos A, Sperr W, Moritz A. The use of the erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet laser in endodontic treatment: the results of an in vitro study. *J Am Dent Assoc* 2007 Jul;138(7):949-55.
32. Schoop U, Barylyak A, Goharkhay K, Beer F, Wernisch J, Georgopoulos A, Sperr W, Moritz A. The impact of an erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet laser with radial-firing tips on endodontic treatment. *Lasers Med Sci* 2007 Nov 20 [Epub ahead of print].

33. Sjogren U et al. Factors affecting the long term results of endodontics treatment. J Endodon 1990; 16:498-504.
34. Kerekes K, Tronstad L. Long term results of endodontic treatment performed with a standardized technique. J Endod 1979; 5:83-90.
35. Kreisler M et al. Efficacy of NaOCl/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> irrigation and GaAlAs laser decontamination of root canals in vitro. Lasers in surgery and Medicine 2003; 32:189-196.

# 7. REVISIONE DELLA LETTERATURA

## 7.1 - METODOLOGIA DI RICERCA DELLA LETTERATURA

**Abbiamo preso tre articoli per la nostra ricerca:**

**Articolo 1: Effetto del Photon-induced Photoacoustic Streaming e della tecnica Shock-wave Enhanced Emission Photoacoustic Streaming sulla rimozione dello strato di smear dopo la preparazione del canale radicolare nei canali radicolari curvi**

### **Introduzione**

Le infezioni batteriche e altre infezioni microbiche nel sistema del canale radicolare sono i principali fattori patogeni delle malattie della polpa dentale e delle lesioni periapicali. Il trattamento del canale radicolare (RCT) è il metodo più efficace e comunemente utilizzato per trattare queste malattie. Il principio del RCT è rimuovere le sostanze infettive nel sistema del canale radicolare e sigillare ermeticamente il canale radicolare per evitare la reinfezione da parte di microrganismi, guarendo così la malattia. I passaggi principali del RCT comprendono l'apertura della camera pulpare, la preparazione del canale radicolare e l'otturazione del canale radicolare. La preparazione del canale radicolare consiste nella modellazione e pulizia del canale. La curvatura nei canali radicolari introduce una complessità per l'uso degli strumenti, e c'è un aumento del rischio che alcune aree superficiali del canale radicolare rimangano non preparate e non pulite se il canale è curvo. Pertanto, si è raggiunto un consenso sul fatto che la curvatura dei canali radicolari aumenta la difficoltà del RCT.

Lo strato di detriti è una struttura amorfa che si produce e aderisce tenacemente alle pareti del canale radicolare durante la modellazione del canale radicolare. Lo strato di detriti potrebbe coprire la superficie dei tubuli dentinali, bloccando la diffusione degli irriganti, della medicazione intracanalare e dei sigillanti del canale radicolare. Di conseguenza, lo strato di detriti influirebbe sulla rimozione delle sostanze infettive durante la preparazione del canale radicolare, riducendo l'aderenza tra i materiali di otturazione del canale radicolare e la parete del canale, il che potrebbe eventualmente influire sulla prognosi del RCT, o addirittura portare al fallimento del trattamento.

Un obiettivo fondamentale della pulizia del canale radicolare è rimuovere lo strato di detriti dal sistema del canale radicolare. Gli irriganti comunemente utilizzati includono ipoclorito di sodio (NaClO), acido etilendiamminotetraacetico (EDTA), clorexidina (CHX) e soluzione fisiologica. Gli studi hanno suggerito che l'alternanza tra EDTA e NaClO con tecniche di pulizia adeguate potrebbe rimuovere efficacemente lo strato di detriti.

Il laser è una tecnica introdotta in odontoiatria negli ultimi anni per la sua sicurezza ed efficacia. Attualmente, alcuni tipi di laser sono stati utilizzati in clinica, come: laser Er: YAG, laser Nd: YAG, laser Er, Cr: YSGG, laser a diodi. Tra questi, il laser Er: YAG è uno dei più comunemente utilizzati nel trattamento delle malattie della polpa dentale e periapicali, ed è stato impiegato per la rimozione minima della polpa dentale, la pulizia del canale radicolare e la disinfezione della cavità ossea nella microchirurgia endodontica. Gli studi hanno rilevato che, quando utilizzato per la pulizia del canale radicolare, il laser Er: YAG può aumentare l'efficienza della pulizia.

Il flusso fotoacustico indotto da fotoni (PIPS) è una modalità particolare del laser Er: YAG. PIPS ha una durata dell'impulso più breve rispetto all'Er: YAG normale, il che significa che PIPS può produrre picchi di potenza più elevati a parità di energia. Utilizza un laser Er: YAG a 2940 nm con una punta di fibra spogliata e conica per pulsare livelli di energia estremamente bassi e trasferire energia nell'irrigante con solo un leggero aumento della temperatura del dente. Genera picchi di potenza e onde d'urto intense nell'acqua con un effetto termico minimo, utilizzando bassi livelli di energia (10 o 20 mJ) e brevi durate dell'impulso (50 msec). Alcuni studi hanno esaminato la capacità di rimozione dello strato di detriti con questo metodo di irrigazione e hanno ottenuto conclusioni diverse.

Recentemente, è stata sviluppata una nuova tecnica chiamata shock-wave enhanced emission photoacoustic streaming (SWEEPS), che è stata applicata in clinica. SWEEPS sostituisce un

impulso laser breve (50 msec) del PIPS con due micro-impulsi laser ultracorti (25 msec), con un tempo di ritardo ottimale (generalmente tra 300 e 600 msec) tra di loro. Il primo micro-impulso genera la bolla principale, e il secondo micro-impulso (che si verifica prima del collasso spontaneo della bolla principale) aumenta la pressione per accelerare il collasso della bolla principale. L'amplificazione delle onde di pressione da parte di SWEEPS è stata maggiore rispetto alla procedura di irrigazione standard PIPS. L'efficacia di SWEEPS nella rimozione dello strato di detriti deve essere ulteriormente studiata.

Questo studio ha lo scopo di valutare l'efficacia della rimozione dello strato di detriti dei metodi di irrigazione attivati dal laser e confrontarli con le tecniche di irrigazione tradizionali nei canali radicolari curvi. Speriamo di fornire suggerimenti per la pianificazione del trattamento di irrigazione del canale radicolare in clinica.

### **Materiali e metodi:**

#### **Selezione del campione:**

I terzi molari umani estratti sono stati conservati in acqua distillata con l'1% di timolo e successivamente radiografati utilizzando un sistema digitale (Sopro Acteon, Mérignac, Francia) sia nelle direzioni mesiodistale che buccolinguale. Sono stati inclusi i terzi molari con almeno un canale radicolare indipendente. Sono stati esclusi quei denti che presentavano carie, riassorbimenti, fratture o una storia di trattamenti dentali. La curvatura del canale radicolare è stata valutata secondo il metodo di valutazione di Schneider. Infine, in questo studio sono stati inclusi 50 denti con un canale radicolare leggermente curvo ( $20^\circ < \text{curvatura} < 40^\circ$ ). Dopo la pulizia con ablatore ultrasonico e il risciacquo con acqua distillata, i denti sono stati conservati in una soluzione di timolo allo 0,05% per prevenire la crescita batterica.

#### **Preparazione del canale radicolare**

È stata utilizzata una preparazione tradizionale della cavità di accesso. Gli orifizi dei canali sono stati localizzati esplorando con una lima K di dimensione 10 (Dentsply Sirona, Ballaigues, Svizzera). La lunghezza di lavoro (WL) è stata determinata come la lunghezza di pervietà meno 1 mm. Per la preparazione del canale radicolare, è stato preparato un percorso di scorrimento con lime K manuali di dimensione 10 e conicità 0,02 fino alla dimensione 15 e conicità 0,02 (Dentsply Sirona). La regione apicale di ciascuna radice è stata coperta esternamente con resina fluida fotopolimerizzabile (3M, St. Paul, MND, USA) per creare un sistema di canale radicolare chiuso al fine di ottenere un effetto di "blocco di

vapore". I canali radicolari sono stati strumentati con strumenti rotanti in nichel-titanio (sistema S3, Sani, Shanghai, Cina) secondo le raccomandazioni del produttore fino alla dimensione 35, conicità 0,04. Durante il cambio delle lime, i canali sono stati irrigati con 1 ml di NaClO all'1% (Longly Biotechnology, Wuhan, Cina).

## **Irrigazione**

## **finale**

Le soluzioni di irrigazione finale erano 1% NaClO, soluzione fisiologica e 17% EDTA. I denti sono stati divisi in cinque gruppi in base alle diverse tecniche di pulizia: (I) attivazione dinamica manuale (MDA), (II) irrigazione attivata ultrasonicamente (UAI), (III) irrigazione attivata sonicamente (SAI), (IV) PIPS, (V) SWEEPS. Cinquanta denti con canali radicolari curvi sono stati assegnati in modo casuale e uniforme ai cinque gruppi sopra menzionati. Il protocollo per l'irrigazione finale è stato stabilito come segue:

1. NaClO all'1% (5 mL, 1 min), attivazione per 30 secondi, fase di riposo 30 secondi, attivazione per 30 secondi.
2. Soluzione fisiologica (5 mL), attivazione per 1 minuto.
3. EDTA (5 mL, 1 min), attivazione per 30 secondi, fase di riposo 30 secondi, attivazione per 30 secondi.
4. Soluzione fisiologica (5 mL), attivazione per 1 minuto.

I passaggi operativi di ciascuna tecnica di pulizia sono stati i seguenti: (I) **MDA**: è stata utilizzata una cannula da 31-G con taglio laterale e estremità aperta (NaviTip, Ultradent, South Jordan, UT, USA). La punta è stata inserita fino a 1 mm dalla WL e movimentata avanti e indietro con un'ampiezza di 2-3 mm. L'irrigazione è stata completata con un movimento manuale su e giù della cannula all'interno del canale radicolare.

(II) **UAI**: è stata inserita nel canale radicolare una punta ultrasonica di dimensione 15 e conicità 0,02 (Irrisafe, Satelec Acteon, Mérignac, Francia) entro 2 mm dalla WL. Gli irriganti sono stati introdotti nella cavità di accesso con una cannula da 27-G durante l'attivazione. Il dispositivo ad ultrasuoni era impostato a potenza 5 (Suprasson P5, Satelec Acteon).

(III) **SAI**: una punta di irrigazione endodonticaonica (punta in poliammide, VDW, Monaco, Germania) è stata inserita nel canale radicolare entro 2 mm dalla WL e attivata con una frequenza di 6000 Hz e un'ampiezza di 160 µm utilizzando uno scaler ad aria (KaVo Sonicflex; KaVo, Biberach, Germania). Gli irriganti sono stati introdotti nella cavità di accesso con una cannula da 27-G durante l'attivazione.

(IV) **PIPS**: secondo le raccomandazioni del produttore, è stato utilizzato un laser Er: YAG con lunghezza d'onda di 2940 nm, equipaggiato con un manipolo H14 (LightWalker AT, Fotona, Lubiana, Slovenia). I parametri del laser erano 0,3 W, 15 Hz, 20 mJ, modalità SSP, aria/acqua disattivati. La lunghezza dell'impulso era di 50  $\mu$ m. Una punta di fibra conica lunga 9 mm e con diametro di 600  $\mu$ m (PIPS 600/9, Fotona) è stata inserita nella camera pulpare e tenuta stazionaria per eseguire l'attivazione.

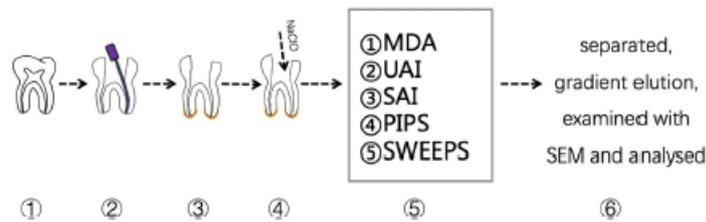
(V) **SWEEPS**: è stata utilizzata una modalità speciale di laser Er: YAG SWEEPS automatizzata e una punta speciale in fibra (SWEEPS 600, Fotona) a una lunghezza d'onda di 2940 nm (Fotona). I parametri del laser erano 0,3 W, 15 Hz, 20 mJ, modalità SWEEPS, aria/acqua disattivati. La punta SWEEPS è stata inserita nella camera pulpare per eseguire l'attivazione.

I canali radicolari sono stati asciugati utilizzando una cannula di aspirazione e punte di carta. Tutte le procedure sono state eseguite da un unico operatore.

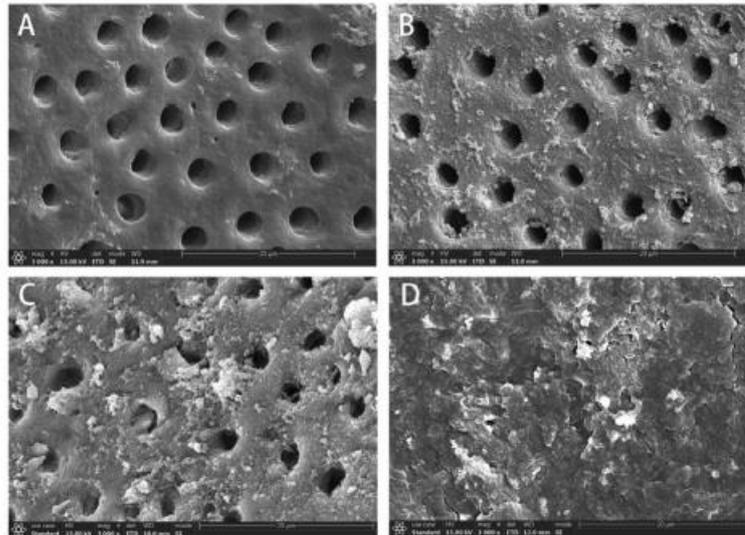
#### **Misurazioni ed analisi al microscopio elettronico a scansione (SEM)**

Dopo le procedure sopra descritte, i denti sono stati separati in due parti lungo l'asse longitudinale, seguiti dall'eluzione con gradiente di etanolo e dalla metallizzazione con oro/palladio. I campioni sono stati esaminati con SEM (Oxford Instruments, Londra, UK) in modalità alto vuoto (10-20 kV, distanza di lavoro di 5,0 mm). Un operatore, che non era a conoscenza del gruppo sperimentale, ha selezionato casualmente un'area per scattare foto rispettivamente dal terzo coronale, centrale e apicale del canale radicolare di ciascun campione con un ingrandimento di 3000x. Le immagini sono state registrate digitalmente in formato TIFF senza perdita di qualità.

Le immagini sono state analizzate in modo cieco da due esaminatori precedentemente calibrati. L'affidabilità intra- ed inter-esaminatore è stata verificata (test di Kappa). La pulizia è stata quantificata utilizzando un sistema di punteggio a 4 punti adattato da Gambarini e Laszkiewicz e Kato et al. Punteggio 1: tubuli dentinali aperti senza detriti; Punteggio 2: tubuli dentinali aperti con detriti che coprono meno del 50% dell'area; Punteggio 3: tubuli dentinali aperti con detriti che coprono più del 50% dell'area; e Punteggio 4: tubuli dentinali coperti da detriti al 100% dell'area esaminata.



**Figure 1** ① open the pulp chamber; ② localize the canal orifices and measure the work length; ③ cover the apical region and mark the root canal chosen to do the irrigation; ④ root canal preparation; ⑤ root canal irrigation; ⑥ separate the teeth into two parts, ethanol gradient elution, and sputter-coated with gold/palladium, examine with SEM and analyse the images.



**Figure 2** A (Score 1):opened dentinal tubules without debris; B (Score 2):opened dentinal tubules with debris covering less than 50% of the area; C (Score 3):opened dentinal tubules with debris covering more than 50% of the area; D (Score 4):dentinal tubules covered by debris in 100% of the examined area.

## Risultati

I risultati SEM riguardanti lo strato di fango rimasto sulla parete del canale radicolare sono mostrati in Fig. 3. La distribuzione dei punteggi relativi allo strato di fango nei cinque gruppi è riportata in Fig. 4. Nel terzo coronale e centrale del canale radicolare, i punteggi dello strato di fango nei cinque gruppi erano per lo più al punteggio 2. Nel terzo apicale del canale radicolare, i punteggi dello strato di fango erano prevalentemente punteggio 3 nei gruppi MDA, UAI e SAI, mentre nei gruppi PIPS e SWEEPS erano prevalentemente punteggio 2.

Per quanto riguarda il terzo coronale del canale radicolare, i punteggi dello strato di fango nei cinque gruppi non mostravano differenze significative tra loro ( $P > 0,05$ ), il che indicava che l'efficienza di pulizia delle cinque tecniche era simile in questa parte.

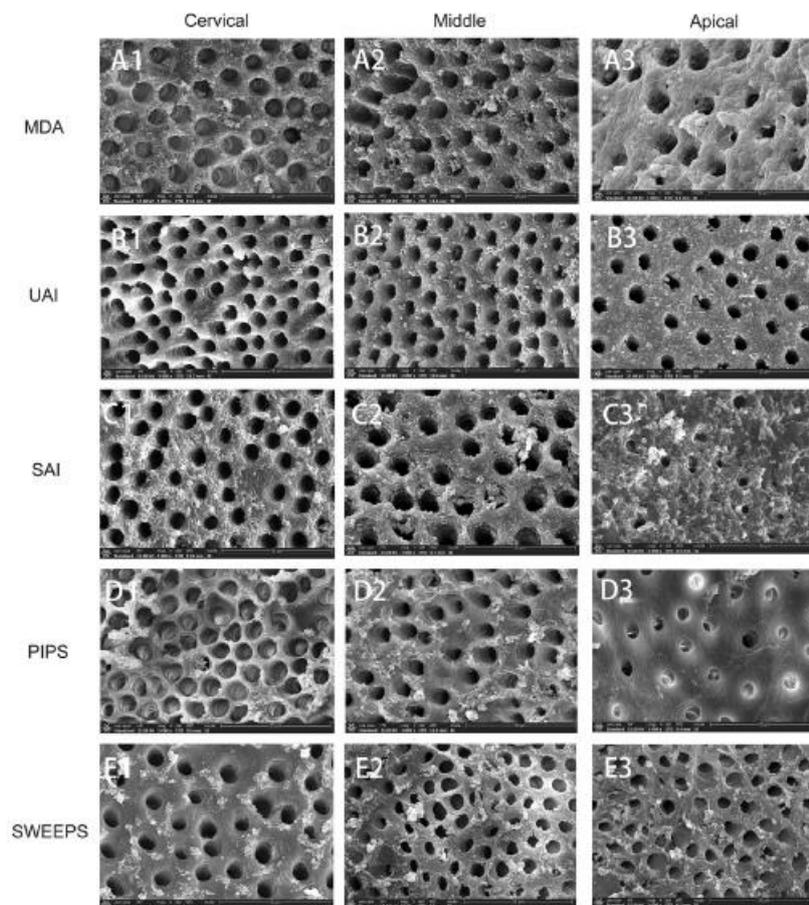
Per il terzo centrale del canale radicolare, il punteggio dello strato di fango del gruppo MDA era più alto rispetto agli altri gruppi. Tuttavia, una differenza significativa esisteva solo tra SWEEPS e MDA ( $P < 0,05$ ).

Per il terzo apicale del canale radicolare, i punteggi dei gruppi SWEEPS e PIPS erano inferiori rispetto ai gruppi SAI e MDA, con differenze significative ( $P < 0,05$ ). I punteggi indicavano che SWEEPS e PIPS avevano dimostrato una maggiore efficienza di pulizia dello strato di fango nel terzo apicale del canale radicolare rispetto a MDA e SAI.

In tutte le parti dei canali radicolari, non c'erano differenze significative tra SWEEPS e PIPS ( $P > 0,05$ ).

I risultati hanno mostrato che nessuno dei canali radicolari era completamente libero dallo strato di fango, indipendentemente dal metodo di attivazione dell'irrigante utilizzato (Tabella 1).

Nel confronto tra le diverse parti di ciascun canale radicolare, nei gruppi PIPS e SWEEPS non vi erano differenze significative tra il terzo coronale, centrale e apicale del canale radicolare ( $P > 0,05$ ). Negli altri tre gruppi, i punteggi nella parte coronale erano inferiori rispetto a quelli nella parte apicale, con differenze significative ( $P < 0,05$ ) (Tabella 2).



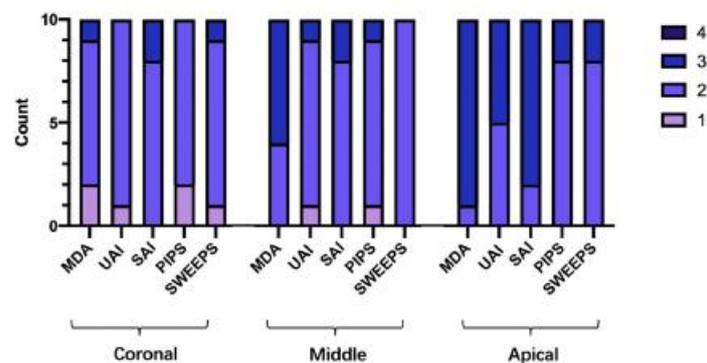
**Figure 3** Coronal (1), middle (2) and apical (3) third of the five curved root canal groups (A–E). All images were recorded at 3000 times. Scale bars indicate 20  $\mu$ m. MDA, manual dynamic activation. UAI, ultrasonic activated irrigation. SAI, sonically activated irrigation. PIPS, photon-induced photoacoustic streaming. SWEEPS, shock-wave enhanced emission photoacoustic streaming.

## Discussione

Eick et al. furono i primi a riportare la presenza dello strato di fango nel 1970, utilizzando una microsonda elettronica con SEM.<sup>18</sup> Questo strato contiene batteri, prodotti derivati dai batteri e tessuti necrotici.<sup>19</sup> Inoltre, lo strato di fango potrebbe agire come substrato per i batteri, consentendo una penetrazione più profonda nei tubuli dentinali.<sup>20</sup> Pertanto, è fondamentale rimuovere lo strato di fango durante la pulizia del canale radicolare. L'EDTA e il NaClO possono rimuovere efficacemente le componenti inorganiche e organiche dello strato di fango.<sup>8,21</sup> La combinazione dei due ha mostrato un buon effetto nel rimuovere lo strato di fango.<sup>22-24</sup> L'efficienza degli irriganti è strettamente correlata anche alle tecniche e ai metodi di irrigazione; per questo motivo, lo scopo di questo studio era confrontare l'efficienza di rimozione dello strato di fango di cinque tecniche di attivazione degli irriganti nella pulizia del canale radicolare.

La curvatura del canale e il diametro apicale influenzano l'efficacia della pulizia del canale radicolare. L'irrigazione è significativamente meno efficace nei canali curvi con un piccolo diametro apicale rispetto a quelli con un diametro apicale più grande.<sup>25</sup> Elnaghy et al. hanno

studiato l'efficacia di diverse tecniche di attivazione sistemi nei canali radicolari curvi. Hanno affermato che la rimozione dei detriti mediante SAI era significativamente più efficace nella regione coronale rispetto alla parte apicale.<sup>26</sup> Rödiger et al. hanno scoperto che, nei canali radicolari curvi, l'attivazione di NaClO e EDTA con UAI portava a una rimozione significativamente più efficace dello strato di fango nel terzo coronale del canale radicolare rispetto all'assenza di agitazione.<sup>27</sup> L'efficacia delle tecniche di irrigazione nei canali con curvature moderate o severe necessita di ulteriori indagini.<sup>28</sup> Inoltre, l'efficacia dell'irrigazione delle nuove tecniche introdotte, PIPS e SWEEPS, nei canali radicolari curvi non era ancora conosciuta.



**Figure 4** The distribution of scores for the smear layer according to the experimental groups. MDA, manual dynamic activation. UAI, ultrasonically activated irrigation. SAI, sonically activated irrigation. PIPS, photon-induced photoacoustic streaming. SWEEPS, shock-wave enhanced emission photoacoustic streaming.

Le tecniche di attivazione dell'irrigazione comunemente utilizzate includono aghi a doppio portafiltra e siringhe manuali, la tecnica di irrigazione attivata ultrasonicamente e quella attivata sonicamente. Quando l'ago di irrigazione viene inserito in un canale a fondo chiuso, si crea uno spazio sotto la soluzione durante l'irrigazione a causa della cattura d'aria. Questo fenomeno è chiamato vapour lock,<sup>29</sup> che potrebbe ridurre l'efficienza nella rimozione dello strato di fango.<sup>30</sup> Le irrigazioni attivate ultrasonicamente (UAI) e sonicamente (SAI) vengono utilizzate per alleviare il vapour lock.<sup>31,32</sup> La punta di lavoro ultrasonica genera un flusso micro acustico attraverso vibrazioni ad alta frequenza (>25 kHz). Il flusso micro acustico potrebbe alleviare il vapour lock, trasportare gli irriganti nelle aree complesse del canale radicolare, aumentare lo stress di taglio sulla parete dentale e produrre un effetto di pulizia meccanica sulla parete del canale radicolare per rimuovere lo strato di fango.<sup>33,34</sup> I dispositivi sonici funzionano in modo simile, ma utilizzano generalmente punte flessibili e operano a frequenze più basse.<sup>35</sup> Gli studi hanno mostrato che nessuno di questi metodi tradizionali era in grado di rimuovere completamente lo strato di fango, quindi sono state sviluppate e ricercate alcune nuove tecniche.

**Table 1** Mean rank scores, median of scores (in parentheses), and the results of the same root-thirds between the 5 groups.

|        | Coronal    | Middle                  | Apical                   |
|--------|------------|-------------------------|--------------------------|
| MDA    | 24.1 (2.0) | 35.9 (3.0) <sup>a</sup> | 35.0 (3.0) <sup>ab</sup> |
| UAI    | 24.2 (2.0) | 21.9 (2.0)              | 25.0 (2.5)               |
| SAI    | 30.9 (2.0) | 26.3 (2.0)              | 32.5 (3.0) <sup>cd</sup> |
| PIPS   | 21.9 (2.0) | 21.9 (2.0)              | 17.5 (2.0) <sup>bd</sup> |
| SWEEPS | 26.4 (2.0) | 21.5 (2.0) <sup>a</sup> | 17.5 (2.0) <sup>ac</sup> |

The same lower case letter superscripts indicate significant difference (Dunnet-T test,  $P < 0.05$ ) among groups within a root-third. MDA, manual dynamic activation. UAI, ultrasonically activated irrigation. SAI, sonically activated irrigation. PIPS, photon-induced photoacoustic streaming. SWEEPS, shock-wave enhanced emission photoacoustic streaming.

**Table 2** Mean rank scores, median of scores (in parentheses), and the results after the statistical analysis using Kruskal-Wallis test and Dunnet-T Test by intra group comparison in the 5 groups.

|        | Coronal                 | Middle                  | Apical                   |
|--------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| MDA    | 8.5 (2.0) <sup>ac</sup> | 16.9 (3.0) <sup>c</sup> | 21.1 (3.0) <sup>a</sup>  |
| UAI    | 12.3 (2.0) <sup>a</sup> | 13.7 (2.0)              | 20.5 (2.5) <sup>a</sup>  |
| SAI    | 12.5 (2.0) <sup>a</sup> | 12.5 (2.0) <sup>b</sup> | 21.5 (3.0) <sup>ab</sup> |
| PIPS   | 12.8 (2.0)              | 15.5 (2.0)              | 18.2 (2.0)               |
| SWEEPS | 14.6 (2.0)              | 14.5 (2.0)              | 17.4 (2.0)               |

The same lower case letter superscripts indicate significant difference (Dunnet-T test,  $P < 0.05$ ) within a group among root-thirds. MDA, manual dynamic activation. UAI, ultrasonically activated irrigation. SAI, sonically activated irrigation. PIPS, photon-induced photoacoustic streaming. SWEEPS, shock-wave enhanced emission photoacoustic streaming.

Il laser Er è un laser a infrarossi con una lunghezza d'onda di 2,94 mm, simile al valore di assorbimento massimo dell'acqua (2,95 mm).<sup>36</sup> Inserendo una fibra laser con punta conica nella cavità pulpare, l'assorbimento dell'energia laser induce onde d'urto nell'irrigante e aumenta l'efficienza di pulizia.<sup>37</sup> PIPS, in quanto modalità speciale di Er, genera picchi di potenza e onde d'urto intensive nell'acqua con un effetto termico minimo, utilizzando livelli di energia bassi (10 o 20 mJ) e una lunghezza di impulso breve (50 msec).<sup>12</sup> Con 20 mJ/0.3w, PIPS potrebbe rimuovere efficacemente lo strato di fango senza danneggiare il tessuto dentale.<sup>13</sup> Gordon et al.<sup>15</sup> hanno scoperto che, rispetto ai metodi tradizionali con siringa e ago manuali Irrigazione PIPS potrebbe pulire in modo più efficace la parete del canale radicolare e ottenere tubuli dentinali più aperti. Tuttavia, alcuni studi non hanno trovato differenze tra PIPS e le tecniche manuali. Stamatina ha esaminato l'effetto dell'irrigazione di PIPS e non ha trovato alcuna differenza significativa rispetto all'irrigazione manuale con siringa.

SWEEPS è una tecnica innovativa che posiziona una fibra laser nell'accesso del cavo riempito di irriganti ed emette una luce laser pulsata nel fluido. SWEEPS è stata sviluppata principalmente per migliorare l'efficacia di pulizia e disinfezione della procedura PIPS. Il funzionamento di SWEEPS è simile a PIPS, ma il modo di azione è diverso, poiché SWEEPS

eroga coppie di impulsi nel liquido. L'amplificazione delle onde di pressione utilizzando SWEEPS era più significativa rispetto alla procedura di irrigazione PIPS standard, che emetteva un singolo impulso di Er .Galler et al. hanno scoperto che PIPS aveva la massima profondità di penetrazione degli irriganti, mentre SWEEPS non mostrava benefici nemmeno rispetto a MDA. Quindi, l'efficienza della rimozione dello strato di smalto di PIPS e SWEEPS necessita di ulteriori studi.

In questo studio, non c'era alcuna differenza significativa tra i cinque metodi nella terza coronale del canale radicolare. In quest'area, il canale radicolare era dritto e ampio dopo la modellazione, quindi gli irriganti potevano contattare completamente la parete del canale radicolare senza influenzare il vapour lock. Mayer et al. hanno anche trovato che solo la terza coronale del canale radicolare veniva pulita quando irrigata con ultrasonico, senza differenze in altre aree.

Nella terza centrale del canale radicolare, SWEEPS ha mostrato la migliore capacità di rimozione degli strati di smalto, mentre gli altri quattro gruppi erano simili tra loro. Gordon et al. hanno scoperto che PIPS poteva pulire in modo più efficace le pareti del canale radicolare e ottenere tubuli dentinali più aperti in un canale radicolare dritto rispetto all'irrigazione manuale con siringa. Wang et al. hanno raggiunto la stessa conclusione. In questo studio, PIPS non ha mostrato differenze significative con i gruppi MDA, UAI e SAI. Tuttavia, abbiamo scoperto che SWEEPS ha migliorato significativamente l'efficienza dell'irrigazione. Ciò suggerisce che SWEEPS potrebbe avere una migliore capacità di rimozione degli strati di smalto rispetto alle altre quattro tecniche di pulizia.

Nella terza apicale del canale radicolare, PIPS e SWEEPS hanno mostrato la migliore efficienza di rimozione degli strati di smalto, e non c'era alcuna differenza significativa tra PIPS e SWEEPS. Per il gruppo MDA, la curvatura potrebbe influenzare il posizionamento della punta e impedire il contatto completo tra gli irriganti e la parete del canale radicolare. Per quanto riguarda i gruppi UAI e SAI, un contatto maggiore della punta con le pareti del canale radicolare potrebbe comportare effetti di cavitazione nulli e ridurre l'efficienza di rimozione dello strato di smalto. Tember et al. hanno anche trovato che una punta ultrasonica posizionata a meno di 1 mm del forame apicale non mostrava un'efficacia superiore nella rimozione dello strato di smalto rispetto all'irrigazione tradizionale. Tuttavia, nei gruppi PIPS e SWEEPS, la punta della fibra era posizionata nella cavità pulpare e rimaneva statica; il posizionamento della punta non era influenzato dalla curvatura del canale radicolare, quindi l'impulso laser prodotto alla punta della fibra laser non sarebbe stato influenzato.

Basandosi sui risultati, possiamo inferire che gli irriganti possono essere attivati e agire sulla parte apicale del canale radicolare curvo. Harry et al. hanno anche concluso che, rispetto a UAI, l'attivazione laser potrebbe rimuovere più efficacemente il vapour lock dalla terza apicale del canale radicolare. Per queste ragioni, l'efficienza di rimozione dello strato di smalto di PIPS e SWEEPS potrebbe essere la maggiore nella terza apicale del canale radicolare.

Non c'era alcuna differenza significativa tra le tre parti del canale radicolare nei gruppi PIPS e SWEEPS in ciascun canale radicolare. Al contrario, l'efficienza di rimozione era maggiore nella parte coronale rispetto alla parte apicale, con differenze significative nei gruppi MDA, UAI e SAI. In questi gruppi, la curvatura potrebbe bloccare il posizionamento della punta; lo strumento attivato contatta la terza apicale della parete del canale radicolare e non può produrre cavitazione o microstreaming acustico, riducendo così l'efficienza di rimozione. Tuttavia, il posizionamento della punta nei gruppi laser non era influenzato dalla curvatura del canale radicolare, quindi la potenza e l'intensità dell'onda d'urto non erano influenzate. Quindi, eccetto per i due gruppi di irrigazione attivata da laser, l'efficienza di rimozione dello strato di smalto era migliore nella terza coronale che nella terza apicale nei gruppi manuali, UAI e SAI. Ma se può produrre il collasso di bolle della stessa intensità in tutte le posizioni dei canali radicolari curvi rimane da verificare ulteriormente.

PIPS e SWEEPS hanno mostrato una rimozione superiore dello strato di smalto nella terza apicale del canale radicolare curvo rispetto alle altre strategie di irrigazione. Tuttavia, lo strato di smalto non può ancora essere rimosso completamente. Con la continua diffusione dei laser, potrebbero avere una migliore prospettiva di applicazione nella pulizia dei canali radicolari grazie alla loro eccellente capacità di rimozione dello strato di smalto e alla semplice operazione rispetto ai metodi esistenti.

## **Articolo 2: L'efficacia antibatterica del Photon-initiated Photoacoustic Streaming in canali radicolari con diametri o conicità differenti**

**Background:** Negli ultimi anni è stato proposto il concetto di endodonzia minimamente invasiva, che può essere descritto come la prevenzione o il trattamento delle malattie preservando più tessuto dentale possibile e causando danni minimi. Durante la preparazione del canale radicolare, è stato raccomandato l'uso di strumenti con una conicità minore per preservare più tessuto dentale e migliorare il tasso di conservazione dei denti interessati. Il Photon-induced Photoacoustic Streaming (PIPS) è una nuova tecnologia di irrigazione

attivata dal laser, ora ampiamente utilizzata nei trattamenti endodontici. L'obiettivo di questo articolo era valutare l'effetto battericida del PIPS con NaOCl nei canali radicolari con larghezze o conicità differenti.

## **Metodi:**

### **Selezione dei campioni**

Lo studio è stato approvato dal comitato etico della Scuola e dell'Ospedale di Stomatologia dell'Università Medica di Guangzhou. Uno studio precedente [12] è stato utilizzato per identificare una dimensione dell'effetto di 0,50 necessaria per calcolare la dimensione totale del campione per questo studio. L'errore di tipo  $\alpha = 0,05$  e la potenza  $(1 - \beta) = 0,80$  sono stati anch'essi considerati (famiglia di test F, ANOVA, G\*Power per Windows). Dovrebbero essere utilizzati almeno 10 denti per gruppo. Tre gruppi erano gruppi di controllo positivi. Pertanto, sono stati selezionati un totale di 23 molari superiori di primo estrazione con tre radici dentali indipendenti e senza carie radicolari visibili, crepe o riassorbimento radicolare sotto microscopio dentale (Zumax, Suzhou, Cina). I denti sono stati estratti da una popolazione cinese, puliti ultrasonicamente e conservati in una soluzione salina sterile per non più di 48 ore.

### **Preparazione del canale radicolare**

Prima del trattamento, una parte della corona è stata rimossa utilizzando frese diamantate ad alta velocità in modo da mantenere una lunghezza di lavoro di 19 mm in ciascun campione. Il forame apicale è stato sigillato con Beautifil Flow Plus F00 (SHOFC, Giappone). La camera pulpare è stata aperta ed esaminata sotto un microscopio per determinare l'orifizio del canale radicolare. I canali radicolari mesiobuccale (MB), distobuccale (DB) e palatale (P) sono stati preparati rispettivamente a #10/.02, #25/.02 e #25/.06. Nel gruppo #10/.02, il canale radicolare MB è stato preparato utilizzando un K-file #10/.02 (Dentsply, Svizzera). È stato dimensionato alla lunghezza di lavoro e è stata utilizzata un'azione reciproca fino a che non si adattasse liberamente nel canale. Nel gruppo #25/.02, il canale radicolare DB è stato preparato utilizzando un K-file #25/.02. È stato utilizzato un K-file #10/.02, seguito da un K-file #15/.02, un K-file #20/.02 e un K-file #25/.02 fino a che non si adattasse liberamente nel canale. Nel gruppo #25/.06, il canale radicolare P è stato preparato utilizzando strumenti rotanti MTWO (VDW, Monaco di Baviera, Germania) e Un motore elettrico (VDW). I seguenti strumenti sono stati utilizzati: #10/.04, #15/.05, #20/.06 e #25/.06. Lo strumento è

stato utilizzato fino alla lunghezza totale dei canali (tecnica di lunghezza singola) con un movimento delicato di entrata e uscita fino a raggiungere la lunghezza di lavoro.

Ogni file è stato utilizzato per ingrandire un solo canale. Tutte le preparazioni del canale radicolare sono state completate da un unico operatore.

### **Inoculazione batterica dei canali radicolari**

*Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) è stato coltivato in brodo di infusione di cervello e cuore (BHI) (Hopebio, Qingdao, Cina). Colonies singole sono state inoculate con 5 mL di BHI in una camera aerobica per 24 ore a 37 °C. È stata preparata una sospensione di  $5 \times 10^8$  CFU/mL, equivalente a 0,5 McFarland. Successivamente, sono stati aggiunti 200 µL della sospensione batterica ai sistemi dei canali radicolari. I campioni sono stati incubati per 4 settimane a 37 °C, e la sospensione batterica è stata rinfrescata ogni 24 ore. Dopo l'incubazione, i canali radicolari sono stati lavati con 1 mL di acqua distillata. Tre denti infetti sono stati selezionati casualmente per il gruppo di controllo e non sono stati trattati. I restanti 20 denti sono stati divisi in due gruppi. Punti di carta sterili sono stati inseriti nel sistema del canale radicolare e lasciati nel canale per 1 minuto per raccogliere batteri planctonici. I campioni da ciascun canale sono stati raccolti utilizzando tubi Eppendorf separati (campione S0). Prima dell'irrigazione dei canali radicolari, tre campioni infetti sono stati selezionati casualmente per misurare il valore di ATP e la percentuale di batteri morti utilizzando il kit di saggio ATP e il CLSM, rispettivamente.

### **Irrigazione del canale radicolare**

L'irrigazione con ago convenzionale (CNI) è stata eseguita per 10 campioni. La punta dell'ago ventrale conico da 30 gauge è stata posizionata 3 mm sotto l'orifizio del canale radicolare nel gruppo #10/.02 e alla lunghezza di lavoro nei gruppi #25/.02 e #25/.06. Nessuna punta era a contatto con la parete del canale radicolare. I canali radicolari sono stati irrigati per 60 secondi con 3 mL di NaOCl al 2%.

Il PIPS è stato eseguito per 10 campioni. La punta di irrigazione è rimasta ferma nella camera pulpare ed è stata attivata per i cicli descritti sopra, assicurandosi che il canale e la camera pulpare rimanessero passivamente riempiti con la soluzione irrigante durante l'irrigazione. L'irrigante è stato attivato da un laser Er YAG a 2.940 nm (AT Fidelis; Fotona, Lubiana, Slovenia) dotato di un manipolo (R14-PIPS, Fotona) con una punta in quarzo di 400 µm di diametro (XPulse 400/14, Fotona). La punta è stata applicata a 0,3 W, 15 Hz e 20 mJ per

impulso, come raccomandato dal produttore, senza spray d'acqua/aria [13]. La punta in fibra è stata posizionata nella camera pulpale. L'irrigazione nei canali radicolari è stata attivata per 30 secondi con 3 mL di NaOCl al 2%.

Dopo CNI o PIPS, tutti i campioni sono stati irrigati con 1 mL di acqua distillata per rimuovere la soluzione irrigante residua dal canale radicolare. Successivamente, punti di carta sterili e tubi Eppendorf sono stati utilizzati per raccogliere i campioni S1. I processi sopra descritti sono stati completati da un operatore esperto del dipartimento di polpa dentale. Ogni file è stato utilizzato per preparare un sistema di canale radicolare.

### **Analisi del kit di saggio ATP**

L'ATP nel sistema del canale radicolare è stato misurato come precedentemente riportato [14] utilizzando un kit di saggio ATP (Beyotime, Cina, S0026) secondo le istruzioni del produttore. Ogni campione di batteri è stato raccolto tramite il posizionamento sequenziale di punti di carta sterili nel canale radicolare prima dell'irrigazione (S0) e dopo l'irrigazione (S1). I punti di carta sono stati posizionati nel canale radicolare per 1 minuto per ottenere un campione di batteri e poi trasferiti in un tubo Eppendorf da 1,5 mL contenente 200 µL di tampone di lisi con 0,025 g di sfere di vetro (D3350-01, Omega Biotek Inc., America) e centrifugati a 12.000 g/min per 5 minuti a 4 °C per raccogliere il sovrantante. È stata quindi preparata una soluzione di rilevamento dell'ATP. La soluzione di rilevamento dell'ATP (20 µL) e 80 µL di soluzione diluita sono state mescolate in un tubo di rilevamento e incubate a temperatura ambiente per 5 minuti. Successivamente, sono stati aggiunti 20 µL del campione alla soluzione di rilevamento dell'ATP e quantificati utilizzando un rilevatore di fluorescenza dell'ATP (Lux-T020, Cina).

### **Analisi CLSM**

L'analisi CLSM è stata eseguita per distinguere batteri vitali e non vitali sulle pareti del canale radicolare e nei tubuli dentinali. Scanature longitudinali sono state incise sulle superfici radicolari con frese diamantate ad alta velocità senza entrare nelle parti interne dei canali radicolari. Successivamente, è stato utilizzato un scalpello per dividere il dente in due pezzi che sono stati posizionati in tubi da 1 mL. Una metà della superficie radicolare è stata esposta ai reagenti di un kit di vitalità batterica LIVE/DEAD BacLight (L7012, Life, USA) per 15 minuti, secondo le istruzioni del produttore. I terzi apicale, medio e coronale sono stati stabiliti contrassegnando le radici a 0–3, 3–6 e 6–9 mm dal forame apicale. Un CLSM

(Carl Zeiss, Germania) è stato utilizzato per rilevare la presenza di biofilm verdi (vivi) o biofilm rossi (morti) sulle pareti del canale radicolare e nei tubuli dentinali con un obiettivo 20 ×. Le immagini del biofilm di ciascuna area di scansione sono state acquisite con un passo di 10 µm e un'area totale di 100 µm è stata scansionata, risultando in 10 strati. Il software Zen Black (Carl Zeiss, Germania) è stato utilizzato per eseguire la ricostruzione 3D di ciascun strato.

### **Analisi SEM**

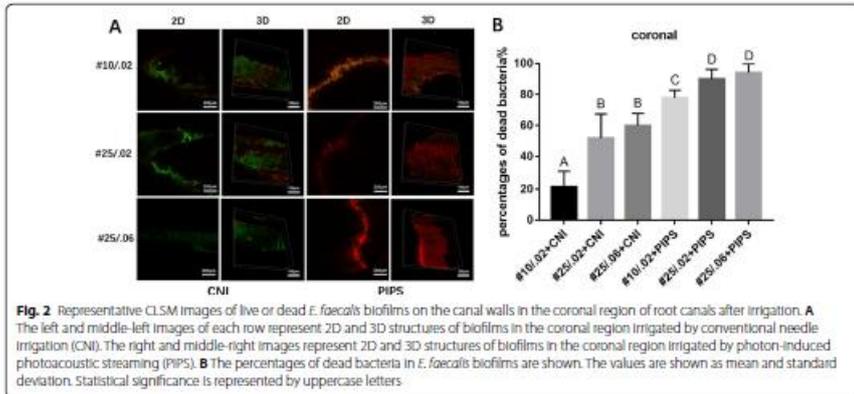
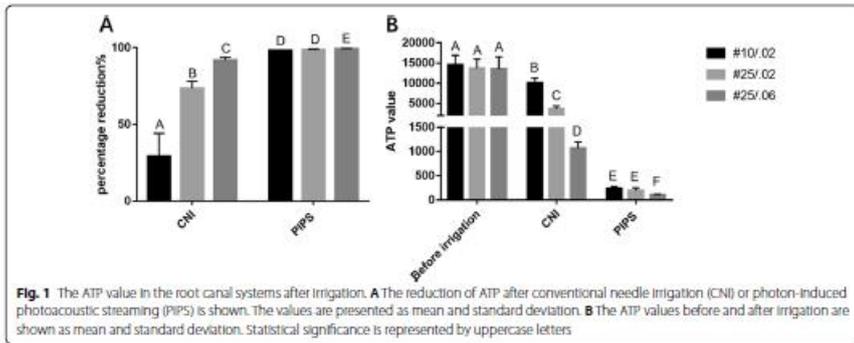
L'analisi SEM è stata eseguita per determinare la presenza di infezione batterica nelle sezioni trasversali del canale e la penetrazione batterica all'interno dei tubuli dentinali. La metà restante della superficie radicolare che non è stata sottoposta ad analisi CLSM È stata fissa in glutaraldeide al 2,5% per 24 ore, disidratata in una serie ascendente di acetonitrile (50%, 70%, 80%, 90% e 100% due volte per 20 minuti ciascuna), asciugata a temperatura ambiente, ricoperta di platino tramite sputtering (Ion Sputter E-1045; Hitachi) e osservata mediante SEM (S-4800; Hitachi).

### **Analisi statistica:**

Tutte le analisi statistiche sono state effettuate utilizzando il software statistico SPSS versione 17.0 (IBM SPSS Inc, Chicago, IL, USA). È stata valutata la normalità della distribuzione dei dati. I dati normalmente distribuiti sono presentati come media e deviazioni standard (SD) e confrontati utilizzando un'analisi della varianza unidirezionale (ANOVA). La significatività statistica è stata impostata a  $P < 0,05$ .

### **Risultati:**

Prima dell'irrigazione del canale radicolare, il valore ATP e la percentuale di batteri morti non erano statisticamente differenti tra i gruppi ( $P > 0,05$ ). Il valore ATP mediano per l'intero canale è mostrato nella Fig. 1, e le percentuali mediane di batteri morti nelle regioni coronale, media e apicale sono mostrate nelle Fig. 2, 3 e 4, rispettivamente. Le immagini SEM rappresentative dei terzi coronale, medio e apicale di tutti i gruppi dopo l'irrigazione con CNI o PIPS sono presentate nelle Fig. 5 e 6, rispettivamente.



### Analisi ATP:

In entrambi i gruppi CNI e PIPS, si è osservata una riduzione del valore ATP dopo l'irrigazione, anche se PIPS Dopo PIPS, l'ATP è stato ridotto del 98,36% ± 0,21% nei canali radicolari di dimensione #10/.02, del 98,56% ± 0,43% nei canali radicolari di dimensione #25/.02 e del 99,18% ± 0,25% nei canali radicolari di dimensione #25/.06. La riduzione dell'ATP nei canali radicolari di dimensione #10/.02 è stata significativamente maggiore dopo PIPS rispetto a CNI (91,79% ± 1,85%) (P < 0,05).

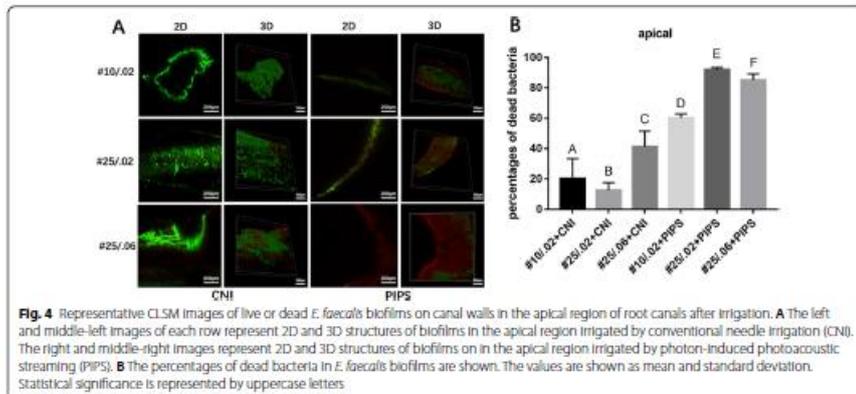
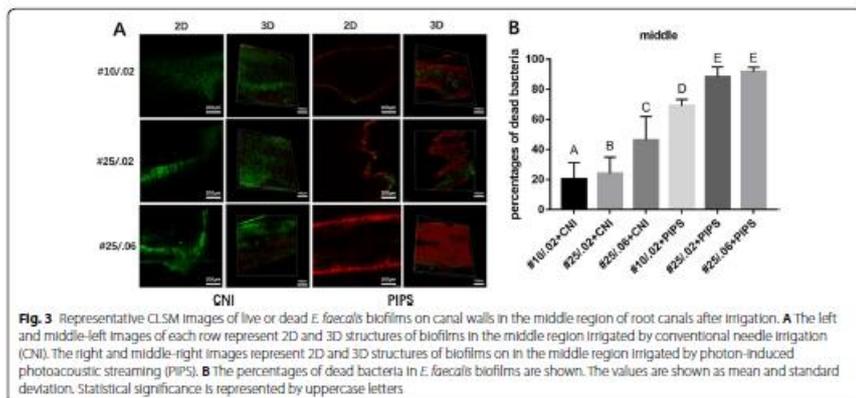
### Analisi CLSM

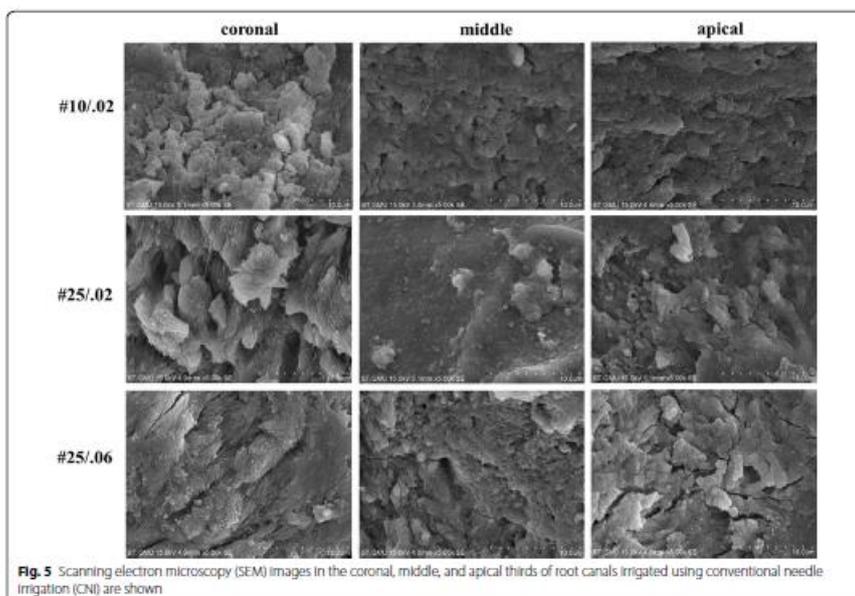
Nel gruppo CNI, la percentuale di batteri intracanalari morti era più alta nei canali radicolari di dimensione #10/.02, seguiti da #25/.02 e #25/.06 (P < 0,05). Nel gruppo PIPS, i canali radicolari di dimensione #25/.02 presentavano una percentuale significativamente più alta di batteri morti rispetto ai canali radicolari di dimensione #10/.02 in tutte e tre le regioni (P < 0,05). I canali radicolari di dimensione #25/.02 avevano una percentuale significativamente più alta di batteri morti rispetto ai canali radicolari di dimensione #25/.06 (P < 0,05) nella regione apicale, ma non sono state osservate differenze significative tra queste dimensioni nelle regioni coronal e medie.

La percentuale di batteri morti era significativamente più alta nei canali radicolari #10/.02 che hanno subito PIPS Rispetto ai canali radicolari #25/.06 che hanno subito CNI in tutte e tre le regioni ( $P < 0,05$ ).

### Microscopia elettronica a scansione:

Sono stati osservati tubuli dentinali aperti nel sistema canalare attivato da PIPS nella regione coronal. Uno strato di fango e detriti sono stati osservati sul dentina radicolare nelle altre regioni.





## Discussione

MIE ha recentemente attirato l'attenzione dei clinici. Come parte vitale del MIE, la conservazione del tessuto duro dentale è considerata un metodo pratico per aumentare il successo a lungo termine dei denti trattati endodonticamente [15]. Pertanto, la disinfezione è particolarmente importante durante la preparazione meccanico-chimica dei canali radicolari.

I batteri all'interno dei biofilm sono da dieci a mille volte più resistenti agli agenti antimicrobici e agli antibiotici rispetto ai batteri planctonici (liberi) e sono anche in grado di eludere efficacemente il sistema immunitario [16]. Questo studio ex vivo ha utilizzato un modello di biofilm monospecie di *E. faecalis*, un microorganismo gram-positivo comunemente rilevato in infezioni endodontiche persistenti asintomatiche. Questo microorganismo esiste nel biofilm del canale radicolare come batteri planctonici [17]. I batteri planctonici possono aderire alla parete del canale radicolare per formare un biofilm, e il biofilm può anche distaccarsi per formare batteri planctonici [18]. I biofilm sono definiti come strutture altamente organizzate costituite da batteri racchiusi in una matrice extracellulare auto-prodotta attaccata a una superficie [19].

I nostri risultati suggeriscono che PIPS ha un effetto battericida maggiore rispetto a CNI per i batteri planctonici e i batteri all'interno dei biofilm nei sistemi canalari dopo l'irrigazione. Questo è coerente con i risultati di studi precedenti [20, 21]. Do e Gaudin [22] hanno condotto una revisione di 59 studi relativi a PIPS e hanno determinato che 18 studi trattavano

la disinfezione dei canali. Due terzi di questi studi (11/18) hanno concluso che PIPS è efficace nell'uccidere i batteri, significativamente più di CNI. I maggiori effetti battericidi possono essere attribuiti all'energia laser utilizzata in PIPS, che presenta la massima assorbimento da parte dell'acqua e dell'idrossiapatite di qualsiasi laser, risultando in una fluidità tridimensionale all'interno del canale radicolare [23]. L'attivazione laser è stata ottenuta tramite cavitazione, dove si formavano bolle di vapore che si espandevano e collassavano alla punta della fibra [10]. Queste grandi bolle ellittiche implodono dopo 100-200  $\mu$ s, inducendo l'effetto di cavitazione secondaria per rimuovere i batteri planctonici e i biofilm nei sistemi canalari [24].

Il volume del canale radicolare dopo la preparazione in #25/.06 era significativamente più grande rispetto a #10/.02 e #25/.02. Maggiore era il volume del terreno di coltura, maggiore era la crescita batterica. *E. faecalis* poteva formare un modello di biofilm stabile nei canali radicolari dopo 21 giorni di coltura [25]. Tre radici indipendenti potevano garantire che non ci fossero rami comunicanti in ciascun canale radicolare, che potrebbero influenzare la cultura batterica e l'effetto di lavaggio, ma la stessa condizione di coltura poteva garantire la coerenza dei biofilm formati in ciascun canale radicolare dopo 21 giorni di coltura. Prima dell'irrigazione del canale radicolare, il valore ATP e la percentuale di batteri morti non presentavano differenze statisticamente significative tra i gruppi ( $P > 0.05$ ).

Dopo CNI, le percentuali di batteri intracanalari morti erano più alte nei canali radicolari #10/.02, seguiti da #25/.02 e #25/.06. Ciò può essere dovuto al fatto che quando si utilizza CNI + 1% NaOCl, maggiore è il volume del canale radicolare, maggiore è la soluzione di irrigazione nel canale radicolare, il che è più favorevole al ricambio della soluzione di irrigazione e a un miglior effetto di sterilizzazione. I nostri risultati sono coerenti con quelli di studi precedenti [26, 27]. Una maggiore penetrazione dell'irrigante è desiderabile, poiché alcuni esperimenti ex vivo hanno dimostrato che CNI consente solo l'infiltrazione di NaOCl fino a 250  $\mu$ m nella dentina radicolare [28]. Pertanto, un gran numero di batteri verdi vivi è stato osservato al CLSM.

Nel gruppo PIPS, quando il taper era 0.02, i canali radicolari di dimensione #25 avevano una percentuale più alta di batteri morti rispetto ai canali radicolari di dimensione #10 in tutte e tre le regioni. L'ATP nei canali radicolari #10/.02 e #25/.02 è stato ridotto di oltre il 98%. Questi risultati suggeriscono che l'allargamento della larghezza del canale radicolare da #10

a #25 migliora l'effetto battericida di PIPS nel canale radicolare quando si utilizza lo stesso taper.

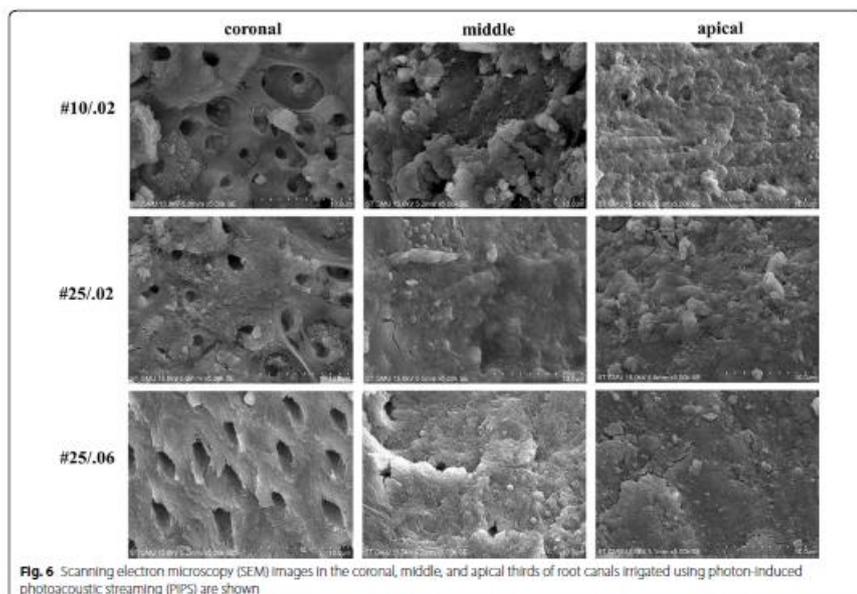
Studi precedenti hanno riportato che gli strumenti a grande taper hanno un miglior effetto di detersione sulle regioni coronale e intermedia dei canali radicolari [29, 30]. In questo studio, quando la larghezza del canale radicolare era #25, non c'erano differenze significative tra i canali radicolari con taper di 0.02 e quelli con taper di 0.06 nelle regioni coronale e intermedia quando si utilizzava PIPS. Nella regione apicale, i canali radicolari #25/.02 avevano una percentuale significativamente più alta di batteri morti rispetto ai canali radicolari #25/.06 dopo PIPS. Questi risultati indicano che l'allargamento del taper dei canali radicolari non ha avuto un effetto positivo sulla rimozione dei biofilm con PIPS con NaOCl al 2%. Peeters e Mooduto [31] hanno riportato che l'uso di una punta laser PIPS nella regione coronale dei canali radicolari può spingere la soluzione irrigante fino alla fine del canale senza effetti avversi sui tessuti apicali. Pertanto, PIPS potrebbe raggiungere un miglior effetto di pulizia senza allargare il taper apicale o danneggiare il tessuto periapicale, il che è clinicamente importante.

In tutte e tre le regioni, i canali radicolari #10/.02 che hanno subito PIPS avevano una percentuale significativamente più alta di batteri morti rispetto ai canali radicolari #25/.06 che hanno subito CNF. Questi risultati indicano che PIPS ha un miglior effetto battericida rispetto a CNF nei canali radicolari con un taper più piccolo e una larghezza più ridotta. Ciò può essere dovuto al fatto che PIPS ha migliorato la velocità di sostituzione della soluzione di irrigazione, il che potrebbe sterilizzare efficacemente il canale radicolare anche se il volume era piccolo nel sistema del canale radicolare. Cheng et al. [32] hanno riportato che l'efficacia della disinfezione di PIPS con NaOCl nei canali radicolari di dimensione #15 era simile a quella di CNF con NaOCl nei canali radicolari di dimensione #40 ( $P > 0.05$ ). In altre parole, la stessa efficacia di disinfezione è stata raggiunta con PIPS utilizzando una larghezza molto più piccola rispetto a CNF. La preparazione dei canali radicolari con un taper e una larghezza più piccoli può essere utile per prevenire la perdita eccessiva di tessuti dentali e conservare l'integrità strutturale dei denti trattati endodonticamente, e potrebbe essere una procedura promettente per MIE [33–36]. Pertanto, l'ipotesi nulla è stata respinta.

La percentuale più alta di batteri morti nel gruppo PIPS era nella regione coronale, seguita dalla regione intermedia e dalla regione apicale. Le immagini SEM hanno rivelato tubuli dentali aperti nelle regioni coronali dei sistemi di canali radicolari che hanno subito PIPS. Uno strato di detriti e residui è stato osservato sulla dentina radicolare nelle altre regioni.

Ciò può essere dovuto al fatto che non abbiamo aggiunto acido etilendiamminotetraacetico (EDTA) per rimuovere lo strato di detriti durante la preparazione del canale radicolare. Nel gruppo PIPS, i tubuli dentinali coronali sono stati osservati aperti, indicando che PIPS è stato in grado di rimuovere il biofilm batterico e lo strato di detriti. Jiang et al. [37] hanno riportato che la punta PIPS è posizionata solo nella regione coronale del campione, e la sua onda d'urto fotoacustica può indebolirsi con la distanza fino alla regione apicale; pertanto, l'efficacia di PIPS nella rimozione dei biofilm batterici dalle regioni apicali è inferiore rispetto a quella della regione coronale. I nostri risultati sono coerenti con questi studi precedenti.

La limitazione di questo studio è che l'uso di *E. faecalis* da solo per la valutazione semplificherà eccessivamente il modello di biofilm, e ci sono grandi differenze tra biofilm monoespecifici e multi-especifici. Nonostante le discrepanze nella metodologia utilizzata negli studi precedenti, la maggior parte dei risultati indica che PIPS è un metodo battericida efficace durante la preparazione del canale radicolare. I risultati del nostro studio indicano chiaramente che PIPS ha migliorato significativamente l'azione antimicrobica contro i batteri planctonici e i biofilm di *E. faecalis* in vitro. PIPS, che funziona inserendo la punta laser nella terza coronale del canale, è stato più efficace di CNJ per sistemi di canali radicolari più piccoli in questo studio. Questi risultati indicano che PIPS potrebbe essere un'applicazione laser altamente promettente in endodonzia.



## **Conclusione:**

L'aumento della larghezza del canale radicolare migliora l'effetto battericida di PIPS quando si utilizza lo stesso taper. L'aumento del taper non ha avuto un effetto positivo sull'efficacia antibatterica di PIPS nei canali radicolari #25. PIPS ha avuto un maggiore effetto battericida nei canali radicolari con un taper e una larghezza più piccoli. PIPS ha pulito efficacemente lo strato di detriti e ha aperto i tubuli dentinali nella regione coronale dei canali radicolari.

## **Articolo 3: Efficacia in vitro dell'irrigazione attivata da laser Er rispetto all'irrigazione ultrasonica passiva e all'irrigazione alimentata a ultrasuoni per il trattamento di biofilm multispecie in scanalature artificiali e tubuli dentinali: uno studio SEM e CLSM.**

### **Metodi:**

Questo studio è stato condotto secondo le linee guida PRILE 2021 (Preferred Reporting Items for Laboratory Studies in Endodontology) [26]. Il diagramma di flusso del trial PRILE 2021 è mostrato nella Fig. 1. Questo studio è stato approvato dal Comitato Etico dell'Ospedale Stomatologico di Tianjin (Certificato: PH2021-B-001). Tutti i partecipanti hanno fornito un consenso informato firmato, autorizzando l'uso dei loro premolari estratti per scopi di ricerca. Se i soggetti avevano meno di 16 anni, il consenso informato è stato ottenuto dai loro genitori o tutori legali. Gli autori assicurano che tutte le procedure sono state condotte in conformità con le linee guida e le normative pertinenti.

### **Calcolo della dimensione del campione:**

In questo studio, sono stati sviluppati e valutati due tipi di modelli di biofilm utilizzando due metodi, ciascuno richiedente calcoli separati della dimensione del campione basati sui dati del nostro studio pilota utilizzando il software G\*Power v. 3.1.9.7 (Università Heinrich Heine, Düsseldorf, Germania). I calcoli che garantivano una potenza del 90% e un errore di tipo I del 5%, con dimensioni dell'effetto di 0,7 e 0,98, indicavano un minimo di 9 e 5 campioni per gruppo, rispettivamente. Le dimensioni finali del campione sono state aumentate a 10 per un test e 6 per l'altro per gruppo.

## **Selezione e preparazione dei denti:**

Sono stati raccolti novanta premolari umani integri, privi di carie, a radice singola, ciascuno lungo almeno 19 mm, con apice chiuso e curvatura del canale  $< 10^\circ$  (metodo di Schneider), estratti per scopi ortodontici. I denti con difetti di riassorbimento, crepe o fratture visibili o precedenti trattamenti endodontici sono stati esclusi. Il calcare e i detriti sono stati rimossi dai denti utilizzando un scaler manuale. I denti sono stati conservati a 4°C in una soluzione di NaOCl allo 0,01% fino all'uso. La Fig. 2 mostra il diagramma di flusso della selezione dei soggetti idonei e della conduzione del trial. Cinquantacinque denti sono stati selezionati casualmente per sviluppare un modello di canale radicolare infetto da biofilm multiespecie con un solco apicale artificiale (Modello 1). I restanti trentacinque denti sono stati utilizzati per sviluppare un modello di tubuli dentinali infetti da biofilm multiespecie (Modello 2).

Seguendo un protocollo precedentemente descritto [11], i denti sono stati accessibili e le cuspidi di riferimento sono state ridotte fino a portare ogni dente a 19 mm di lunghezza. La lunghezza di lavoro (WL) è stata fissata a 18 mm, determinata inserendo un K-file manuale #10 fino a essere 1 mm corto dell'orifizio apicale. Per standardizzare la geometria apicale iniziale e preparare per la contaminazione batterica, i canali sono stati strumenti utilizzando strumenti rotanti in NiTi ProTaper S1 e S2 (Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, OK, USA), assicurandosi che i detriti dentinali fossero visibili nella porzione apicale di 4 mm della lima S2.

Ogni dente è stato quindi suddiviso longitudinalmente in due metà uguali. Due solchi sono stati creati lungo l'asse lungo su entrambe le superfici buccale e linguale del dente utilizzando un disco di diamante sotto raffreddamento ad acqua, assicurando che non ci fosse penetrazione del sistema del canale radicolare. I denti sono stati successivamente divisi in due metà utilizzando una lama da rasoio fine e un martello. Sotto un microscopio operativo, le metà del dente sono state esaminate e solo i denti le cui metà potevano essere completamente riunite sono stati inclusi nello studio. Le metà divise di ogni dente sono state riassemblate e fissate con una palla di cera di 5 mm di diametro sopra la punta della radice. Metà del dente diviso e della palla di cera sono stati prima incorporati in una pietra dentale ad alta resistenza, seguiti da un ulteriore versamento di pietra dentale che copriva l'altra metà, con uno strato sottile di separatore in mezzo. Una volta che la pietra si era indurita, il dente e la palla di cera sono stati rimossi e il modello è stato lucidato e rifinito. I blocchi personalizzati risultanti avevano una cavità apicale lasciata dalla palla di cera, simulando lesioni periapicali all'interno dell'osso alveolare.

Per le metà del dente designate per il Modello 1, un solco standardizzato di 3 mm di lunghezza, 0,2 mm di larghezza e 0,8 mm di profondità è stato tagliato in ogni parete del canale utilizzando un piccolo disco di diamante. Il solco iniziava 2 mm dall'apice, simulando una fessura profonda e stretta. Quattro notches sono state create a intervalli di 2, 3, 4 e 5 mm dall'apice su ciascun lato, servendo come punti di riferimento per identificare i terzi apicale, intermedio e coronale del solco apicale dopo la rimozione del biofilm.

Per eliminare lo strato di detriti e disinfettare i campioni, tutte le metà del dente diviso sono state risciacquate sequenzialmente con NaOCl al 5,25% per 3 min, acqua distillata per 30 s, EDTA al 17% per 3 min e poi acqua distillata due volte per 30 s ciascuna.

### **Crescita del Biofilm**

Per coltivare il biofilm, è stata raccolta placca dentale sopra-gengivale e sotto-gengivale dagli spazi interdentali dei molari di un donatore adulto sano (BPE 0–1) utilizzando stuzzicadenti sterilizzati. La placca raccolta è stata quindi mescolata in un brodo di infusione di cervello e cuore (BHI) (Becton Dickinson, MD, USA).

### **Modello1**

La sospensione di placca batterica è stata regolata a una densità ottica (OD) di 0,10 a 405 nm utilizzando un lettore di microtitolazione (SPARK; Tecan, Mannedorf, Svizzera). Questa sospensione è stata quindi diluita di 10 volte con BHI fresco. Le metà dei denti divisi sono state collocate nei pozzetti di una piastra di coltura cellulare a 12 pozzetti contenente la sospensione diluita. Queste metà di dente sono state incubate in una sospensione di BHI-batteri in un ambiente anaerobico (Bactron300; SHEL LAB, Cornelius, OR, USA) a 37°C per 4 settimane. Il mezzo è stato sostituito con brodo BHI fresco una volta a settimana.

### **Modello2**

La sospensione di placca batterica è stata regolata a un OD di 0,25 (a 405 nm) utilizzando un lettore di microtitolazione e è stata incubata anaerobicamente a 37 °C per 2 giorni fino a quando l'OD non ha raggiunto circa 1. La sospensione di BHI-batteri è stata quindi diluita di 10 volte. La metà di ciascun dente è stata posta in un tubo Eppendorf sterile da 1,5 mL contenente la sospensione di BHI-batteri diluita. I tubi sono stati centrifugati tre volte a 3.500 × g per 5 minuti. Dopo ogni centrifugazione è stata aggiunta una soluzione batterica fresca. Dopo la centrifugazione, tutti i tubi sono stati incubati a 37 °C in brodo BHI in aria per 24 ore per facilitare il recupero batterico. Questo è stato seguito da un'incubazione anaerobica

a 37 °C per 4 settimane. Il mezzo è stato sostituito con brodo BHI fresco una volta a settimana.

### PRILE 2021 Flowchart

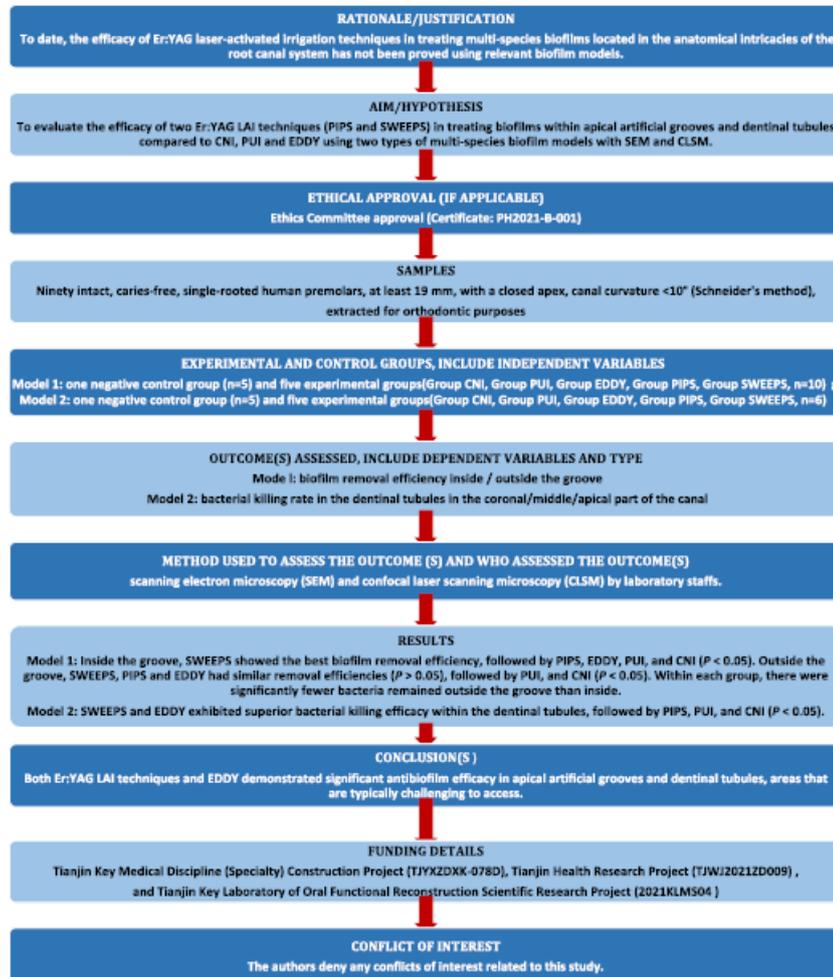


Fig. 1 PRILE 2021 flowchart

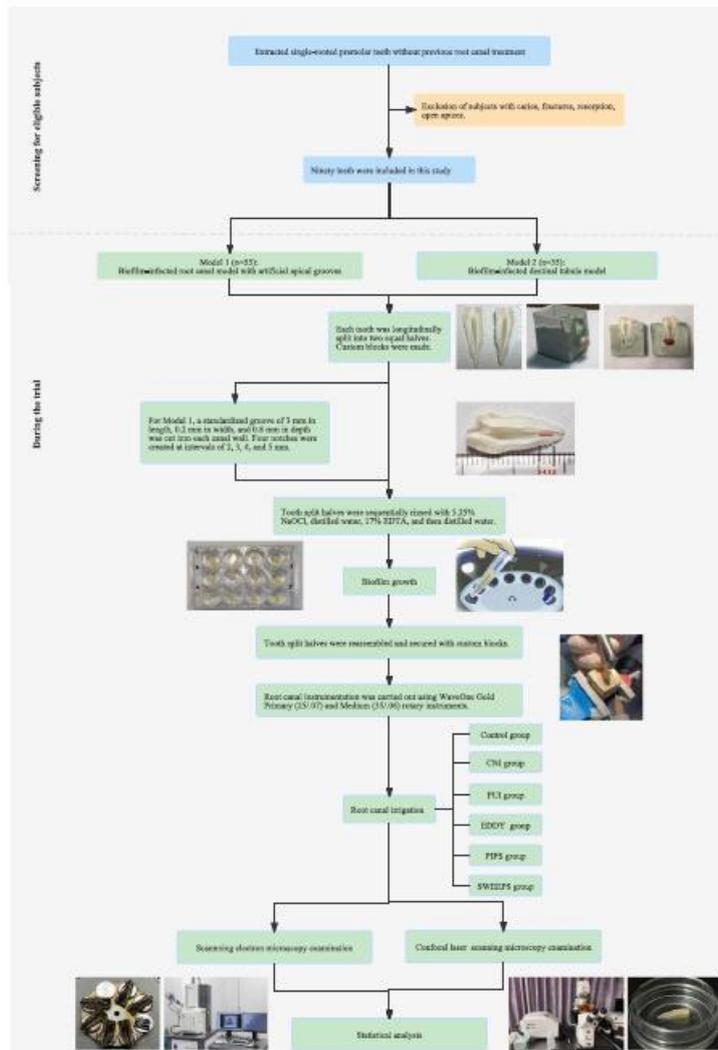


Fig. 2 The flow diagram on the selection of eligible subjects and the conduction of the trial

## Strumentazione e Irrigazione del Canale Radicolare

Dopo 4 settimane di incubazione, i campioni di prova sono stati risciacquati con acqua sterile per 1 minuto e asciugati all'aria, quindi le metà divise sono state riassemblate. Per prevenire perdite di irrigante e batteri lungo l'area di contatto, è stata stesa una pellicola sigillante (Parafilm M Laboratory Film; Bemis Company, Inc., Neenah, WI, USA) e utilizzata per avvolgere saldamente i denti. Dopo l'imballaggio, i denti sono stati posti nei rispettivi blocchi personalizzati.

La preparazione del canale radicolare è stata eseguita utilizzando WaveOne Gold Primary (25/0,07) e Medium (35/0,06) (Dentsply Sirona, Charlotte, NC, USA). Il canale è stato risciacquato con 1 mL di NaOCl al 3% prima di ogni strumento e 4 mL dopo il secondo strumento. Un totale di 6 mL di NaOCl è stato utilizzato per canale.

I campioni del Modello 1 e del Modello 2 sono stati suddivisi casualmente in un gruppo di controllo (n = 5) e cinque gruppi sperimentali (n = 10 per il Modello 1 e n = 6 per il Modello 2), rispettivamente. Sebbene la WL e la geometria apicale dei denti fossero standardizzate, la geometria del canale (ad es., larghezza) dei campioni variava ancora. Pertanto, i campioni sono stati inizialmente accoppiati in base alla geometria del canale e poi assegnati tramite un semplice lancio di moneta. Questo è stato un processo cieco per quanto riguarda l'operatore.

Proprio prima delle procedure di irrigazione/agitatore sperimentali, tutti i canali sono stati irrigati con ulteriori 1 mL di NaOCl al 3%.

Gruppo CNI: Il canale è stato lavato con un flusso continuo di 6 mL di NaOCl al 3% per 90 s utilizzando una siringa e un ago a 31 G con uscita laterale (NaviTip Double Sideport; Ultradent, South Jordan, UT, USA). L'ago è stato posizionato 1 mm corto della WL e utilizzato con un delicato movimento su e giù.

Gruppo PUI: 6 mL di NaOCl al 3% sono stati continuamente forniti nella cavità d'accesso e agitati passivamente utilizzando un dispositivo ultrasonico (P5 Newtron; Acteon Satelec, Francia) dotato di un tip endodontico K25 (25/0,02, Acteon Satelec). Il dispositivo è stato impostato a un livello di potenza di 4, e l'agitazione è stata eseguita per 90 s con il tip posizionato 1 mm corto della WL.

Gruppo EDDY: Un tip EDDY (20/0,02) (VDW, Monaco di Baviera, Germania) è stato inserito in una posizione 1 mm corta della WL. Con la fornitura continua di 6 mL di NaOCl al 3% nella cavità d'accesso, il tip è stato azionato da un scalare ad aria (Proxeo, W&H, Bürmoos, Austria) a una frequenza di 6.000 Hz e mosso su e giù per una lunghezza di 4 mm.

Gruppo PIPS: È stato utilizzato un laser Er con una lunghezza d'onda di 2.940 nm (Lightwalker; Fotona, Lubiana, Slovenia) abbinato a un manipolo (H14, Fotona) che teneva un tip a fibra conica (PIPS 600/9) per attivare l'irrigante. Il tip è stato posizionato all'ingresso del canale e operato con le impostazioni raccomandate (modalità SSP, 20 mJ, 15 Hz, 0,3 W, 0/0 aria/acqua). Mentre il tip rimaneva fermo, l'irrigante (2 mL di NaOCl al 3%) è stato attivato e continuamente aggiunto per 30 s. Questo ciclo è stato ripetuto un totale di tre volte, con una pausa di 30 s tra ogni intervallo.

Gruppo SWEEPS: Lo stesso laser Er a 2.940 nm (Lightwalker, Fotona) e il manipolo H14 sono stati utilizzati. Un tip in fibra specializzato (SWEEPS 600/10) è stato attivato

utilizzando la modalità AutoSWEEPS (20 mJ, 15 Hz, 0,6 W, 0/0 aria/acqua). La procedura di irrigazione utilizzata è stata identica a quella utilizzata per il Gruppo PIPS.

In tutti i gruppi, l'irrigazione finale è stata eseguita utilizzando 2 mL di acqua sterilizzata per 30 s, seguita da 4 mL di EDTA al 17% per 2 minuti.

### **Valutazione della Microscopia Elettronica a Scansione (Modello 1)**

Tutti i campioni del Modello 1 sono stati trattati come segue: i denti sono stati smontati e le metà divise sono state fissate in glutaraldeide al 2,5% per 24 ore, disidratate in una serie graduata di soluzioni alcoliche, essiccate in punto critico, rivestite di oro ed esaminate tramite microscopia elettronica a scansione Microscopia Elettronica a Scansione (SEM)

Tutti i campioni del Modello 1 sono stati elaborati come segue: i denti sono stati smontati e le metà divise sono state fissate in glutaraldeide al 2,5% per 24 ore, disidratate in una serie graduale di soluzioni alcoliche, essiccate in punto critico, ricoperte di oro e esaminate mediante microscopia elettronica a scansione (SUPRA 55VP; Carl Zeiss, Oberkochen, Germania). Per evitare bias nell'acquisizione delle immagini, è stato utilizzato un campionamento casuale stratificato come descritto in precedenza [11]. In breve, la posizione di campionamento è stata predeterminata all'interno della scanalatura (terzo apicale, medio o coronale) a bassa ingrandimento, e poi è stato utilizzato un ingrandimento maggiore ( $1.000\times$ ) per ottenere 3 aree campione (aree al centro e aree adiacenti su ciascun lato), e le 3 aree campione sono state ingrandite a  $2.000\times$  ciascuna per la valutazione. Sono state registrate ulteriori 3 immagini a  $2.000\times$  ingrandimento all'esterno della scanalatura nelle aree adiacenti alle precedenti 3 aree campione all'interno della scanalatura. Per ciascun campione (1 metà divisa), è stata acquisita una totale di 18 immagini SEM standardizzate a  $2.000\times$  provenienti da tutti i terzi all'interno e all'esterno della scanalatura.

Milleottocento immagini SEM a  $2.000\times$  provenienti da 50 denti trattati sono state codificate casualmente e valutate separatamente da 2 esaminatori indipendenti. La percentuale di batteri biofilm residui è stata misurata utilizzando il software Image-Pro Plus 6.0 (Media Cybernetics, Bethesda, MD). La riproducibilità interosservatore e intraosservatore è stata misurata utilizzando il coefficiente kappa pesato.

### **Valutazione con Microscopia Confocale a Scansione Laser (Modello 2)**

Dopo aver completato i processi di strumentazione e irrigazione, i denti sono stati smontati e decoronati al livello della giunzione cemento-smalto. Le metà radicolari sono state quindi risciacquate in acqua sterile per 1 minuto. Successivamente, ciascuna metà è stata divisa longitudinalmente attraverso il canale radicolare in due metà, come descritto in precedenza, per esporre la superficie fresca dei tubuli dentinali per l'esame CLSM. Era cruciale mantenere un raffreddamento costante ad acqua durante il taglio delle scanalature con il disco diamantato per prevenire la generazione di calore, che potrebbe uccidere i batteri. Tutti i campioni sono stati quindi colorati utilizzando il LIVE/DEAD BacLight Bacterial Viability Kit (L7012; Molecular Probes, Eugene, OR, USA) per 30 minuti. Dopo la colorazione, i campioni sono stati risciacquati tre volte con soluzione tampone fosfato per 1 minuto ciascuna.

È stato utilizzato un microscopio confocale Zeiss (LSM800; Carl Zeiss, Oberkochen, Germania), e le lunghezze d'onda di eccitazione/emissione sono state impostate a 480/500 nm per SYTO 9 e 490/635 nm per ioduro di propidio. Tre posizioni casuali da ciascun terzo (apicale, medio e coronale) sono state scansionate, con un totale di 9 immagini per campione o 36 immagini per dente. Per ogni scansione, sono state acquisite cinquanta fette con uno spessore di 2  $\mu$ m. Queste scansioni sono state compilate utilizzando il software ZEN 2.6 (edizione blu) a una risoluzione di  $512 \times 512$  pixel.

Milleottanta immagini CLSM da 30 denti trattati sono state codificate casualmente e valutate separatamente da 2 esaminatori indipendenti. È stato utilizzato il software Imaris 9.8.2 (Bitplane, Inc., St. Paul, MN, USA) per facilitare la ricostruzione tridimensionale delle scansioni e per calcolare il rapporto di volume della fluorescenza rossa rispetto alla fluorescenza rossa-verde combinata; questo rapporto rappresenta la percentuale di batteri morti rispetto al totale dei batteri morti e vivi. La riproducibilità interosservatore e intraosservatore è stata misurata anche utilizzando il coefficiente kappa pesato.

### **Analisi Statistiche**

È stata utilizzata l'analisi della varianza unidirezionale e confronti multipli post hoc per confrontare la percentuale di area coperta da batteri all'interno e all'esterno della scanalatura tra i diversi gruppi di irrigazione e le diverse aree all'interno di un singolo gruppo (Modello 1) e il rapporto di volume della fluorescenza rossa rispetto alla fluorescenza rossa-verde combinata tra i diversi gruppi di trattamento e le diverse posizioni all'interno di 1 gruppo

(Modello 2). Tutte le analisi statistiche sono state effettuate con il software SPSS Statistics 27.0 per Windows (IBM Corp., NY, USA), e il livello di significatività è stato fissato al 5%.

## **Risultati**

La riproducibilità interosservatore e intraosservatore sono state rispettivamente di 0,91 e 0,95.

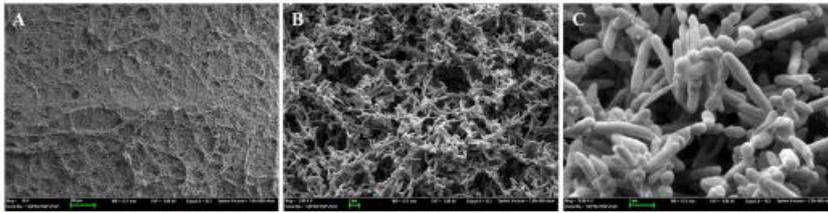
### **Efficienza di rimozione del biofilm all'interno e all'esterno della scanalatura (Modello 1)**

Tutti i controlli hanno mostrato una crescita robusta e costante di biofilm multispecie nel canale durante l'osservazione SEM dopo 4 settimane di incubazione. Le immagini SEM rappresentative dei controlli sono mostrate nella Fig. 3, e le aree all'interno e all'esterno della scanalatura dopo il trattamento utilizzando diverse tecniche di irrigazione sono mostrate nella Fig. 4. La percentuale media di biofilm residuo all'interno e all'esterno della scanalatura in ciascun gruppo di trattamento è dettagliata nella Tabella 1.

All'interno della scanalatura, SWEEPS ha mostrato la maggiore efficienza di rimozione del biofilm, seguita da PIPS, EDDY, PUI e CNI ( $P < 0,05$ ). All'esterno della scanalatura, SWEEPS, PIPS e EDDY hanno mostrato efficienze di rimozione simili ( $P > 0,05$ ), seguite da PUI e CNI ( $P < 0,05$ ). In tutti i gruppi, sono rimasti significativamente meno batteri all'esterno della scanalatura rispetto all'interno della scanalatura ( $P < 0,05$ ). All'interno di ciascun gruppo, non sono state trovate differenze statistiche tra i terzi apicale, medio e coronale, sia all'interno che all'esterno della scanalatura ( $P > 0,05$ ).

### **Efficienza di uccisione dei batteri nei tubuli dentinali (Modello 2)**

Dopo 4 settimane di incubazione, un'infezione omogenea e densa proveniente dal lato del canale ha raggiunto quasi tutta la lunghezza dei tubuli dentinali fino alla giunzione dentino-cementale in tutti i campioni. La percentuale media più alta di batteri morti è stata osservata nei gruppi SWEEPS (60,56%) e EDDY (58,83%) ( $P > 0,05$ ) seguito dai gruppi PIPS (50,45%), PUI (45,71%) e CNI (37,30%) ( $P < 0,05$ ) (Fig. 5). All'interno di ciascun gruppo, non sono state osservate differenze statistiche tra le tre regioni ( $P > 0,05$ ). La Fig. 6 mostra immagini CLSM rappresentative delle regioni coronal, medio e apicale di ciascun gruppo, inclusi il gruppo di controllo e i cinque gruppi sperimentali.



**Fig. 3** SEM images showing robust growth of multi-species biofilm covering the canal after 4-week incubation in Model 1. **A** 50× magnification, **B** 2,000× magnification, **C** 10,000× magnification

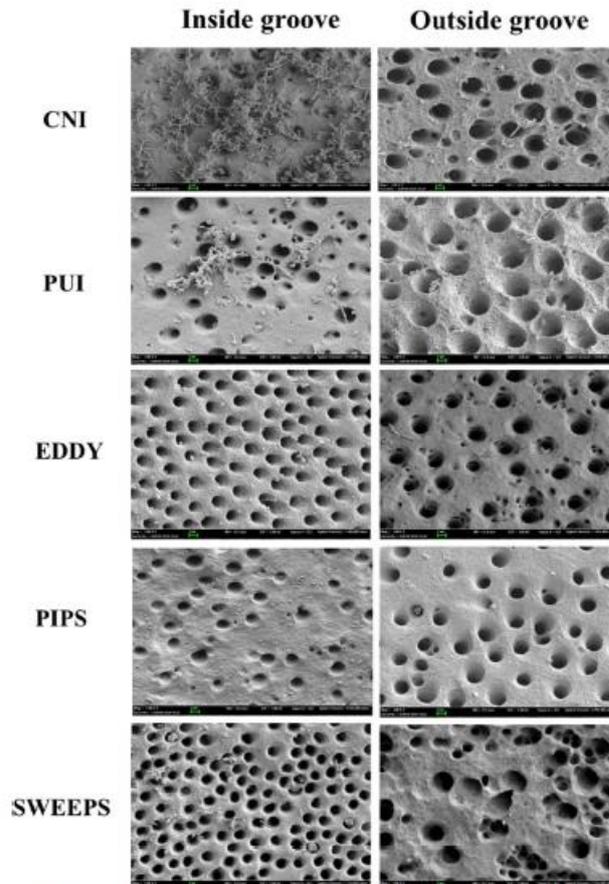
## Discussione

Nello studio attuale, sono stati sviluppati due tipi di modelli di biofilm multispecie utilizzando denti estratti a radice singola per investigare l'efficacia di 5 tecniche di irrigazione (PIPS, SWEEPS, CNI, PUI ed EDDY) nella rimozione dei biofilm da artificiali scanalature apicali e nell'uccisione dei batteri all'interno dei tubuli dentinali. I due modelli sono stati progettati per simulare la complessità dell'anatomia del canale radicolare e per mimare i biofilm naturali nel sistema del canale radicolare. Il primo modello di biofilm multispecie con una scanalatura apicale artificiale (Modello 1) è stato utilizzato nel nostro studio precedente [11], e l'unica differenza è che nel presente studio è stata utilizzata una pellicola sigillante per avvolgere strettamente i denti per fornire una tenuta adeguata tra le due metà del modello; altrimenti, gli irriganti e i batteri potrebbero fuoriuscire lungo l'area di contatto. A nostra conoscenza, il secondo modello di biofilm multispecie (Modello 2) è il primo a far crescere biofilm multispecie nei tubuli dentinali utilizzando denti interi anziché blocchi di dentina. Il suo principale vantaggio rispetto ai modelli di blocchi di dentina è che coinvolgono la geometria del canale radicolare e possono quindi essere utilizzati per valutare l'efficacia delle procedure antimicrobiche come l'irrigazione. Inoltre, la creazione di una scanalatura profonda e stretta nel canale principale del Modello 1 e nei tubuli dentinali nel Modello 2 facilita il confronto dell'efficacia antibiofilm di vari metodi di irrigazione sia in aree facilmente accessibili (all'esterno della scanalatura) sia in aree difficili da raggiungere (all'interno della scanalatura e all'interno dei tubuli dentinali) all'interno di un unico studio.

Sia la SEM che la CLSM sono metodi comunemente utilizzati per confermare la presenza di un biofilm e valutare l'efficacia della rimozione del biofilm. La SEM consente la visualizzazione delle strutture morfologiche dei biofilm, della loro quantità e distribuzione sulla superficie della dentina e negli strati più profondi della dentina [13]. Anche se limitata a un'analisi bidimensionale e semiquantitativa, la SEM è spesso preferita rispetto ad altre tecniche microscopiche a causa della sua alta risoluzione e ingrandimento elevato [2]. Tuttavia, i passaggi di preparazione del campione possono influenzare la morfologia

originale del biofilm e possono causare il distacco del biofilm dalla superficie. Inoltre, è importante notare che la vitalità delle cellule microbiche non può essere valutata utilizzando la SEM [2]. La CLSM è un metodo non invasivo molto utile per studiare i biofilm in situ, valutandone la struttura e la distribuzione senza causare distruzione significativa [27]. I coloranti per la vitalità utilizzati in combinazione con la CLSM consentono di determinare il profilo di vitalità dei batteri del biofilm nel canale radicolare. Ciò consente un'analisi semiquantitativa, permettendo la valutazione sia della rimozione del biofilm che della vitalità microbica [2]. Nella maggior parte dei casi, non esiste un metodo o un modello ideale che funzioni perfettamente in tutte le circostanze e fornisca tutte le risposte. Pertanto, potrebbe essere necessario utilizzare una combinazione di due o più metodi complementari, e i loro punti di forza e di debolezza devono essere considerati nell'interpretazione dei risultati [25]. Di conseguenza, nel presente studio, sono stati stabiliti due tipi di modelli di biofilm radicolare multispecie in combinazione con due metodi di valutazione, SEM e CLSM, con l'obiettivo di ottenere risultati più significativi.

Negli ultimi anni, sono stati condotti molti studi sulle prestazioni delle tecniche di irrigazione endodontica con Er LAI. Tuttavia, non è ancora stato raggiunto un consenso riguardo all'efficacia antibiofilm delle tecniche Er LAI (ad esempio, PIPS e SWEEPS) rispetto all'irrigazione attivata ad ultrasuoni (ad esempio, PUI) [13, 28]. Sebbene alcuni studi abbiano dimostrato la superiorità delle tecniche Er LAI [6, 10, 29, 30], altri hanno trovato non è stata trovata alcuna differenza significativa [31, 32]. Nel nostro studio, le tecniche Er LAI hanno mostrato risultati antibiofilm migliori rispetto a CNI e PUI sia nel Modello 1 che nel Modello 2, specialmente nelle aree difficili da raggiungere. Di conseguenza, l'ipotesi nulla del presente studio è stata respinta. L'aumentata efficacia delle tecniche Er LAI potrebbe essere attribuita al loro meccanismo d'azione distintivo [33–35]. Esse utilizzano l'emissione fotoacustica potenziata da onde d'urto, che induce un rapido movimento del fluido all'interno del canale radicolare. Questo movimento dinamico del fluido garantisce una rimozione completa dei biofilm batterici, anche dalle regioni più intricate del sistema canalare, come le alette e i tubuli dentinali. Inoltre, le tecniche Er LAI aumentano la penetrazione e l'efficacia degli irriganti soluzioni all'interno dei tubuli dentinali [33–35]. È importante sottolineare che tecniche come CNI, PUI ed EDDY richiedono l'inserimento e l'attivazione delle loro punte vicino alle aree difficili da raggiungere all'interno del canale. Al contrario, LAI opera in modo diverso; la sua efficacia si ottiene con la punta del laser posizionata all'ingresso del canale, rendendo il suo impatto remoto e non dipendente dal posizionamento preciso della punta all'interno del canale [6].



**Fig. 4** Representative SEM images showing areas inside and outside the groove after irrigation with CNI, PUI, EDDY, PIPS, SWEEPS (2,000× magnification)

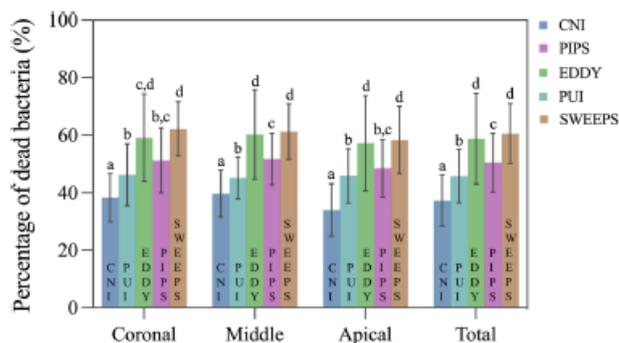
L'efficacia di EDDY rispetto a PUI per la rimozione del biofilm è stata oggetto di dibattito. Alcuni studi hanno suggerito che EDDY sia più efficace nel mirare ai microrganismi rispetto a PUI [36, 37], mentre altre ricerche non hanno riscontrato differenze significative tra i due metodi [6, 12]. Nel nostro studio, EDDY ha dimostrato una capacità superiore di ridurre l'abbondanza del biofilm batterico rispetto a PUI in entrambi i modelli sperimentali. Diversi fattori potrebbero spiegare questa osservazione. Nonostante la frequenza di oscillazione più bassa di EDDY rispetto a PUI, la sua ampiezza di spostamento di 350  $\mu\text{m}$  è significativamente maggiore rispetto ai 75  $\mu\text{m}$  di PUI [6]. Riprese ad alta velocità a 100.000 fotogrammi al secondo hanno rivelato che la punta di EDDY esegue movimenti orbitali tridimensionali, a differenza dell'oscillazione prevalentemente unidimensionale del file ultrasonico e del flusso di fluidi [6, 14]. Il movimento della punta di EDDY genera dinamiche fluidiche oscillanti all'interno del canale radicolare, inducendo potenzialmente uno stress di taglio contro le pareti del canale, caratterizzato da alte velocità ed energie [37]. Inoltre, il movimento verticale della punta di EDDY potrebbe migliorare le dinamiche fluidiche, a differenza della posizione stazionaria del file ultrasonico. L'apice chiuso e l'ingresso aperto del sistema del canale radicolare probabilmente contribuiscono a un flusso

direzionale sovrapposto [37]. I risultati di questo studio suggeriscono che EDDY è particolarmente efficace nella rimozione dei batteri del biofilm da luoghi difficili, come le fessure e i tubuli dentinali. Le discrepanze tra i risultati del presente studio e studi precedenti possono essere attribuite a differenze nel design metodologico, comprese le variazioni nell'anatomia del canale radicolare, il tipo di batteri o biofilm incubati, la durata dell'incubazione batterica, il protocollo di strumentazione, la soluzione irrigante utilizzata e parametri del metodo di irrigazione. I set sperimentali di questo studio, che prevedevano la coltivazione di biofilm multispecie maturi in aree apicali non strumentate e all'interno dei tubuli dentinali, hanno presentato sfide maggiori rispetto a quelle tipicamente riscontrate in altri studi. Nel Modello 1, tutte e cinque le tecniche di irrigazione hanno dimostrato una riduzione efficace del biofilm nello spazio del canale principale (fuori dalla fessura), con SWEEPS, PIPS ed EDDY che hanno raggiunto i tassi di rimozione del biofilm più alti e quasi identici, rispettivamente del 99,56%, 99,46% e 99,46%. Questo è stato seguito da vicino da PUI con il 99,12% e da CNI con il 98,34%. Le lievi differenze tra le tecniche nell'area facilmente accessibile di questo studio potrebbero far luce sui risultati discordanti osservati nelle ricerche precedenti.

**Table 1** Average percentages of bacteria remaining inside and outside the groove after irrigation with CNI, PUI, EDDY, PIPS and SWEEPS (Mean ± Standard Deviation)

| Group  | Inside groove |            |            |                         | Outside groove |           |           |                        |
|--------|---------------|------------|------------|-------------------------|----------------|-----------|-----------|------------------------|
|        | Apical        | Middle     | Coronal    | Total <sup>a</sup>      | Apical         | Middle    | Coronal   | Total <sup>b</sup>     |
| CNI    | 21.19±9.55    | 18.14±8.25 | 18.18±9.97 | 19.17±9.35 <sup>e</sup> | 1.48±1.08      | 1.76±1.10 | 1.75±1.11 | 1.66±1.10 <sup>e</sup> |
| PUI    | 4.64±2.40     | 4.12±2.35  | 5.10±2.70  | 4.62±2.51 <sup>d</sup>  | 0.79±0.35      | 0.98±0.45 | 0.88±0.37 | 0.88±0.40 <sup>d</sup> |
| EDDY   | 2.57±2.02     | 1.93±1.82  | 2.01±2.32  | 2.17±2.07 <sup>e</sup>  | 0.54±0.39      | 0.52±0.40 | 0.55±0.43 | 0.54±0.41 <sup>b</sup> |
| PIPS   | 1.22±0.77     | 1.11±0.70  | 1.02±0.55  | 1.12±0.68 <sup>f</sup>  | 0.57±0.38      | 0.54±0.58 | 0.53±0.53 | 0.54±0.50 <sup>b</sup> |
| SWEEPS | 0.85±0.40     | 0.82±0.39  | 0.75±0.37  | 0.81±0.39 <sup>g</sup>  | 0.50±0.29      | 0.41±0.22 | 0.42±0.24 | 0.44±0.25 <sup>b</sup> |

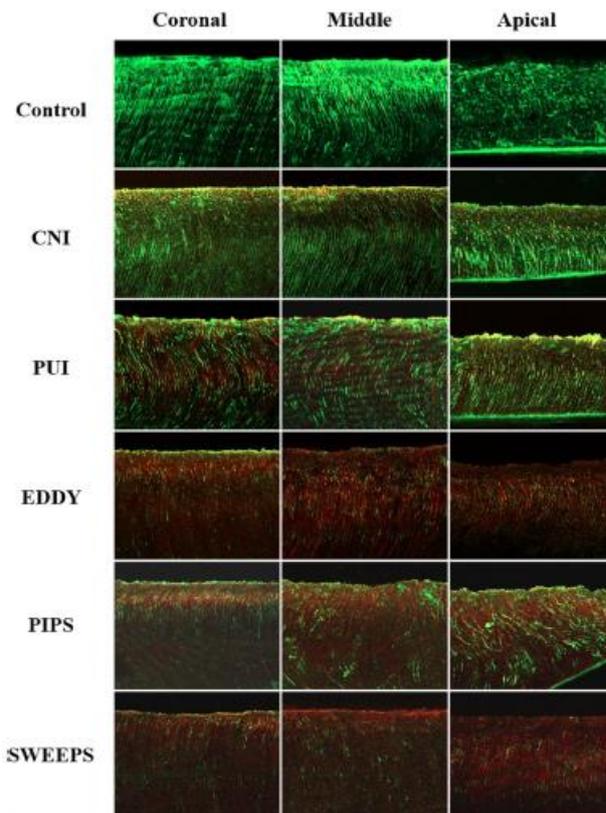
Lowercase letters indicate statistically significant differences between groups ( $P < .05$ )



**Fig. 5** The percentage of dead bacterial in the dentinal tubules after irrigation with CNI, PUI, EDDY, PIPS and SWEEPS. Different lowercase letters indicate significant differences among various irrigation techniques within the same third of the roots ( $P < 0.05$ )

Nel nostro studio, il gruppo SWEEPS ha superato il gruppo PIPS nel trattamento di biofilm multispecie all'interno dei canali radicolari apicali e nei tubuli dentinali. Questo studio è il primo a confrontare PIPS e SWEEPS in termini di trattamento di biofilm multispecie in aree

non strumentate e nei tubuli dentinali. Pertanto, i nostri risultati non potrebbero essere rispetto a quelli di altri rapporti. PIPS e SWEEPS sono entrambe tecniche di irrigazione attivata da laser Er utilizzate in endodonzia per la pulizia e disinfezione dei canali radicolari. SWEEPS è una tecnica di irrigazione attivata da laser Er più recente introdotta per migliorare l'efficacia della pulizia e della disinfezione di PIPS. Mentre PIPS si basa su un singolo impulso laser per riscaldare gli irriganti, creando bolle di vapore che producono un effetto di cavitazione per la pulizia, SWEEPS avanza questo metodo impiegando due impulsi laser consecutivi [19, 38]. Il secondo impulso in SWEEPS è temporizzato per coincidere con la fase finale del collasso della bolla iniziale, accelerando il suo collasso ed emettendo onde d'urto [19, 38]. Queste onde d'urto migliorano l'efficacia della pulizia, specialmente nei canali radicolari stretti, rendendo SWEEPS una tecnica più ottimizzata rispetto a PIPS [19, 38].



**Fig. 6** Representative CLSM Images of live (green) and dead (red) bacterial cells in the dentinal tubules in the coronal, middle and apical thirds of the roots after irrigation with CNI, PUI, EDDY, PIPS and SWEEP; as well as the controls

**Parametri dei metodi di irrigazione.** Le configurazioni sperimentali in questo studio, che prevedevano la coltivazione di biofilm multispecie maturi in aree apicali non strumentate e all'interno dei tubuli dentinali, presentavano sfide maggiori rispetto a quelle tipicamente riscontrate in altri studi. Nel Modello 1, tutte e cinque le tecniche di irrigazione hanno

dimostrato un'efficace riduzione del biofilm nello spazio del canale principale (fuori dalla scanalatura), con SWEEPS, PIPS e EDDY che hanno raggiunto tassi di rimozione del biofilm molto simili e elevati, rispettivamente del 99,56%, 99,46% e 99,46%. Questo è stato seguito da PUI con il 99,12% e CNI con il 98,34%. Le lievi differenze tra le tecniche nell'area facilmente accessibile in questo studio potrebbero fare luce sui risultati disparati osservati in precedenti ricerche. Nel nostro studio, il gruppo SWEEPS ha superato il gruppo PIPS nel trattamento di biofilm multispecie all'interno dei canali radicolari apicali e dei tubuli dentinali. Questo studio è il primo a confrontare PIPS e SWEEPS in termini di trattamento di biofilm multispecie in aree non strumentate e nei tubuli dentinali. Pertanto, i nostri risultati non possono essere confrontati con quelli di altri rapporti. PIPS e SWEEPS sono entrambe tecniche LAI Er utilizzate in endodonzia per la pulizia e la disinfezione dei canali radicolari. SWEEPS è una tecnica LAI Er più recente introdotta per migliorare l'efficacia di pulizia e disinfezione di PIPS. Mentre PIPS si basa su un singolo impulso laser per riscaldare gli irriganti, creando bolle di vapore che producono un effetto di cavitazione per la pulizia, SWEEPS avanza questo metodo impiegando due impulsi laser consecutivi. Il secondo impulso in SWEEPS è temporizzato per coincidere con la fase finale del collasso della bolla iniziale, accelerando il suo collasso ed emettendo onde d'urto. Queste onde d'urto migliorano l'efficacia della pulizia, specialmente nei canali radicolari stretti, rendendo SWEEPS una tecnica più ottimizzata rispetto a PIPS.

In questo studio, le tecniche LAI Er , SWEEPS e PIPS, insieme a EDDY, hanno mostrato un'ottima efficacia nella rimozione del biofilm e nella morte dei batteri in aree difficili da raggiungere, come all'interno della scanalatura e dei tubuli dentinali. Un'indagine recente ha valutato l'efficacia di SWEEPS, EDDY e CNI nell'eliminazione di biofilm simili a idrogeli dagli istmi, esaminando l'impatto della morfologia dell'istmo sull'efficacia del debridement e i meccanismi fisici sottostanti all'attivazione di SWEEPS ed EDDY in queste aree. Questa ricerca può fornire spunti sull'efficacia delle tecniche LAI Er e di EDDY nell'affrontare biofilm situati in posizioni difficili. L'imaging ad alta velocità ha rivelato che EDDY generava vortici e cavitazione stabile all'interno dell'istmo, mentre SWEEPS induceva cavitazione transitoria e flusso orizzontale pulsato. Negli istmi chiusi, SWEEPS ha raggiunto una maggiore velocità massima delle particelle e una rimozione del biofilm più efficiente rispetto a EDDY. Gli istmi chiusi, in particolare quelli corti e stretti (0,15 mm di larghezza), assomigliano alle scanalature esaminate nella nostra ricerca. È interessante notare che, rispetto a PIPS, EDDY ha mostrato una capacità ridotta di rimuovere biofilm da scanalature artificiali apicali. Tuttavia, EDDY ha dimostrato una superiore efficacia nell'uccidere batteri

all'interno dei tubuli dentinali. Questa disparità potrebbe essere attribuita ai meccanismi di irrigazione distintivi. EDDY utilizza una punta in polimero flessibile che si muove in un pattern tridimensionale con oscillazioni ad alta ampiezza. Questa oscillazione induce fenomeni idrodinamici, come cavitazione e microstreaming. Questi effetti migliorano la penetrazione di NaOCl nei tubuli dentinali. D'altra parte, PIPS utilizza energia laser per attivare gli irriganti all'interno del canale radicolare. Quando il laser viene attivato, si generano onde fotoacustiche rapide, portando alla formazione di minuscole bolle di vapore. L'espansione e il collasso successivi di queste bolle esercitano potenti forze di flusso, spingendo NaOCl in tutto il sistema del canale. Questo meccanismo consente a PIPS di accedere e pulire aree del sistema canalare che sono tipicamente difficili da raggiungere; quindi, PIPS è particolarmente efficace nella rimozione di biofilm da scanalature artificiali. Sebbene un gran numero di studi in vitro si sia concentrato sul confronto delle prestazioni delle tecniche LAI Er con altri metodi nell'irrigazione endodontica, ci sono pochi rapporti clinici sugli effetti delle tecniche LAI Er sul dolore postoperatorio dopo il trattamento canalare (RCT) e sulla percentuale di successo dell'RCT. Uno studio clinico randomizzato di Dagher et al. ha riportato che PIPS era efficace quanto CNI in relazione al dolore postoperatorio. Inoltre, uno studio clinico randomizzato di Erkan et al. ha rivelato che PIPS e SWEEPS hanno portato a punteggi e livelli di dolore postoperatorio più bassi rispetto ad altri sistemi di attivazione, inclusi EDDY, PUI e attivazione dinamica manuale. È interessante notare che un altro studio clinico randomizzato di Mandras et al. ha valutato l'effetto di PIPS, rispetto a CNI, sulla riduzione del conteggio batterico nel sistema canalare e sulla qualità della vita del paziente postoperatorio (QoL) dopo l'RCT. I risultati di questo studio hanno indicato che PIPS era più efficace nella riduzione dei conteggi batterici e ha raggiunto indicatori di QoL migliori nei giorni immediatamente successivi all'RCT, inclusa la riduzione del dolore massimo, delle difficoltà alimentari e delle sfide nel compiere le funzioni quotidiane. A nostra conoscenza, esiste solo un trial controllato randomizzato pubblicato che valuta l'effetto di CNI, PUI e LAI sulla percentuale di successo clinica e radiografica dell'RCT. In questo studio, PUI e LAI hanno raggiunto percentuali di successo simili ma maggiori rispetto a CNI nel follow-up di 12 mesi. È notevole che questo studio abbia valutato solo l'effetto della LAI sull'esito a breve termine dell'RCT.

Questo studio di laboratorio ha diverse limitazioni. L'infezione dei campioni del Modello 2 era simile a quella del modello di blocco dentinale, in cui i batteri sono stati forzati all'interno dei tubuli dentinali mediante centrifugazione per produrre un'infezione profonda più standardizzata. Questo metodo di contaminazione differisce dal modo in cui i canali

radicolari sono infettati in vivo e il processo di centrifugazione potrebbe avere un impatto negativo sui batteri. Nei nostri esperimenti pilota, alcuni campioni di controllo non trattati sono stati colorati con il kit di colorazione Gram rapida fluorescente MycoLight™ per investigare la composizione batterica che alla fine invade e cresce nei tubuli dentinali. Le immagini CLSM hanno confermato la profonda penetrazione e l'alta infezione di batteri sia gram-positivi che gram-negativi. Tuttavia, le specie esatte di batteri coinvolti rimangono sconosciute. Un'altra limitazione è che i denti utilizzati per stabilire i modelli di biofilm erano fondamentalmente denti giovani (estratti per scopi ortodontici) per evitare la dentina sclerotica; pertanto, i risultati potrebbero non essere adatti per un'estrapolazione diretta ai canali radicolari umani più vecchi a causa dell'alta possibilità di dentina sclerotica nell'apice radicolare. Inoltre, durante l'analisi CLSM, è stato osservato che le immagini associate ai gruppi SWEEPS, PIPS ed EDDY mostravano costantemente una luminosità significativamente inferiore, indicativa di una ridotta intensità di fluorescenza. Ciò suggerisce che le tre tecniche di irrigazione sono state efficaci non solo nell'eradicare i batteri ma anche nel dislocarli dai tubuli dentinali. Sfortunatamente, non è ancora stata identificata un'efficace metodo per valutare quantitativamente questa rimozione. Nonostante queste sfide, il Modello 2 introduce un nuovo approccio per valutare l'efficacia dei trattamenti antimicrobici.

### **Conclusione:**

All'interno delle limitazioni di questo studio in vitro, sia le tecniche LAI Er che EDDY hanno dimostrato un'elevata efficacia nella rimozione di biofilm da scanalature artificiali apicali e nell'uccisione di batteri colonizzati nei tubuli dentinali, aree che sono tipicamente difficili da raggiungere. Ulteriori studi preclinici di alta qualità e trial clinici con campioni di dimensioni maggiori sono necessari per valutare l'efficacia delle tecniche LAI Er per il successo a lungo termine dell'RCT.

## **7.2 - BIBLIOGRAFIA**

\*In vitro efficacy of Er:YAG laser-activated irrigation versus passive ultrasonic irrigation and sonic-powered irrigation for treating multispecies biofilms in artificial grooves and dentinal tubules: an SEM and CLSM study. Pingping Bao, He Liu, Lan Yang, Lulu Zhang, Liwei Yang, Nannan Xiao, Jing Shen, Jiayin Deng and Ya Shen. (2024) 24:261

[doi:10.1186/s12903-024-04042-x](https://doi.org/10.1186/s12903-024-04042-x)

1. Bordea IR, Hanna R, Chiniforush N, Grădinaru E, Campian RS, Sirbu A, Amaroli A, Benedicenti S. Evaluation of the outcome of various laser therapy applications in root canal disinfection: a systematic review. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2020;29:101611.
2. Swimberghe RCD, Coenye T, De Moor RJG, Meire MA. Biofilm model systems for root canal disinfection: a literature review. *Int Endod J.* 2019;52(5):604-28.
3. Svensater G, Bergenholtz G. Biofilms in endodontic infections. *Endod Top.* 2004;9(1):27-36.
4. Nair PN, Henry S, Cano V, Vera J. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after “one-visit” endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005;99(2):231-52.
5. Nair PNR. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004;15(6):348-81.
6. Swimberghe RCD, De Clercq A, De Moor RJG, Meire MA. Efficacy of sonically, ultrasonically and laser-activated irrigation in removing a biofilm- mimicking hydrogel from an isthmus model. *Int Endod J.* 2019;52(4):515-23.
7. Haapasalo M, Shen Y, Wang Z, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Br Dent J.* 2014;216(6):299-303.
8. Boutsoukis C, Arias-Moliz MT. Present status and future directions – irrigants and irrigation methods. *Int Endod J.* 2022;55(Suppl 3):588-612.
9. Liu H, Nio S, Shen Y. Sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis* biofilm in dentinal tubules: effect of concentration, temperature, and exposure time. *Odontology.* 2023;30. <https://doi.org/10.1007/s10266-023-00850-9>.
10. Kumar K, Teoh YY, Walsh LJ. Root canal cleaning in roots with complex canals using agitated irrigation fluids. *Aust Endod J.* 2023;49(1):56-65.
11. Bao P, Shen Y, Lin J, Haapasalo M. In vitro efficacy of XP-endo Finisher with 2 different protocols on biofilm removal from apical root canals. *J Endod.* 2017;43(2):321-5.
12. Al-Zuhair H, Su Z, Liu H, Wang Z, Haapasalo M, Hieawy A, Gao Y, Shen Y. Antimicrobial effects of agitational irrigation on single- and multi-species biofilms in dentin canals. *Odontology.* 2023;111(1):49-56.
13. Josic U, Mazzitelli C, Maravic T, Fidler A, Breschi L, Mazzoni A. Biofilm in endodontics: In vitro cultivation possibilities, sonic-, ultrasonic- and laser-assisted removal techniques and evaluation of the cleaning efficacy. *Polymers (Basel).* 2022;14(7):1334.

14. Chu X, Feng S, Zhou W, Xu S, Zeng X. Cleaning efficacy of EDDY versus ultrasonically-activated irrigation in root canals: a systematic review and meta-analysis. *BMC Oral Health*. 2023;23(1):155.
15. Liu H, Shen Y, Haapasalo M. Effectiveness of six irrigation techniques with sodium hypochlorite in tissue dissolution. *Cureus*. 2023;15(5):e39208.
16. Yang Q, Liu MW, Zhu LX, Peng B. Micro-CT study on the removal of accumulated hard-tissue debris from the root canal system of mandibular molars when using a novel laser-activated irrigation approach. *Int Endod J*. 2020;53(4):529-38.
17. DiVito E, Peters OA, Olivi G. Effectiveness of the erbium:YAG laser and new design radial and stripped tips in removing the smear layer after root canal instrumentation. *Lasers Med Sci*. 2012;27(2):273-80.
18. Bago I, Batelja-Vuletić L, Tarle A, Sesar A, Anić I. Novel laser activated photoacoustic streaming for removing pulp remnants from round root canals after single file reciprocating instrumentation. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2022;37:102631.
19. Mancini M, Cerroni L, Palopoli P, Olivi G, Olivi M, Buoni C, Cianconi L. FESEM evaluation of smear layer removal from conservatively shaped canals: laser activated irrigation (PIPS and SWEEPS) compared to sonic and passive ultrasonic activation-an ex vivo study. *BMC Oral Health*. 2021;21(1):81.
20. Vatanpour M, Toursavadkouhi S, Sajjad S. Comparison of three irrigation methods: SWEEPS, ultrasonic, and traditional irrigation, in smear layer and debris removal abilities in the root canal, beyond the fractured instrument. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2022;37:102707.
21. Ensafi F, Fazlyab M, Chiniforush N, Akhavan H. Comparative effects of SWEEPS technique and antimicrobial photodynamic therapy by using curcumin and nano-curcumin on *Enterococcus faecalis* biofilm in root canal treatment. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2022;40:103130.
22. Lei L, Wang F, Wang Y, Li Y, Huang X. Laser activated irrigation with SWEEPS modality reduces concentration of sodium hypochlorite in root canal irrigation. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2022;39:102873.
23. Wen C, Yan L, Kong Y, Zhao J, Li Y, Jiang Q. The antibacterial efficacy of photon-initiated photoacoustic streaming in root canals with different diameters or tapers. *BMC Oral Health*. 2021;21(1):542.
24. Robberecht L, Delattre J, Meire M. Isthmus morphology influences debridement efficacy of activated irrigation: a laboratory study involving biofilm mimicking hydrogel removal and high-speed imaging. *Int Endod J*. 2023;56(1):118-27.

- 25 Boutsoukis C, Arias-Moliz MT, Chávez de Paz LE. A critical analysis of research methods and experimental models to study irrigants and irrigation systems. *Int Endod J.* 2022;55(Suppl 2):295–329.
26. Nagendrababu V, Murray PE, Ordinola-Zapata R, Peters OA, Rôças IN, Siqueira JF Jr, Priya E, Jayaraman J, J Pulikkotil S, Camilleri J, Boutsoukis C, Rossi-Fedele G, Dummer PMH. PRILE 2021 guidelines for reporting laboratory studies in Endodontology: a consensus-based development. *Int Endod J.* 2021;54(9):1482–90.
27. Shen Y, Qian W, Chung C, Olsen I, Haapasalo M. Evaluation of the effect of two chlorhexidine preparations on biofilm bacteria in vitro: a three-dimensional quantitative analysis. *J Endod.* 2009;35(7):981–5.
28. Badami V, Akarapu S, Kethineni H, Mittapalli SP, Bala KR, Fatima SF. Efficacy of laser-activated irrigation versus ultrasonic-activated irrigation: a systematic review. *Cureus.* 2023;15(3):e36352.
29. Ordinola-Zapata R, Bramante CM, Aprecio RM, Handysides R, Jaramillo DE. Biofilm removal by 6% sodium hypochlorite activated by different irrigation techniques. *Int Endod J.* 2014;47(7):659–66.
30. Neelakantan P, Cheng CQ, Mohanraj R, Sriraman P, Subbarao C, Sharma S. Antibiofilm activity of three irrigation protocols activated by ultrasonic, diode laser or Er:YAG laser in vitro. *Int Endod J.* 2015;48(6):602–10.
31. Seghayer I, Lee AHC, Cheung GSP, Zhang C. Effect of passive ultrasonic irrigation, Er, Cr:YSGG laser, and photon-induced photoacoustic streaming against enterococcus faecalis biofilms in the apical third of root canals. *Bioengineering (Basel).* 2023;10(4):490.
32. Akdere SK, Aydin ZU, Erdönmez D. Antimicrobial effectiveness of different irrigation activation techniques on teeth with artificial internal root resorption and contaminated with *Enterococcus faecalis*: a confocal laser scanning, microscopy analysis. *Lasers Med Sci.* 2023;38(1):89.
33. Galler KM, Grubmüller V, Schlichting R, Widbiller M, Eidt A, Schuller C, Wölflick M, Hiller KA, Buchalla W. Penetration depth of irrigants into root dentine after sonic, ultrasonic and photoacoustic activation. *Int Endod J.* 2019;52(8):1210–7.
34. Kosarieh E, Bolhari B, Sanjari Pirayvatlou S, Kharazifard MJ, Sattari Khavas S, Jafarnia S, Saberi S. Effect of Er:YAG laser irradiation using SWEEPS and PIPS technique on dye penetration depth after root canal preparation. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2021;33:102136.
35. Akcay M, Arslan H, Mese M, Durmus N, Capar ID. Effect of photon-initiated photoacoustic streaming, passive ultrasonic, and sonic irrigation techniques on dentinal

tubule penetration of irrigation solution: a confocal microscopic study. *Clin Oral Investig.* 2017;21(7):2205–12.

36. Hoedke D, Kaulika N, Dommisch H, Schlafer S, Shemesh H, Bitter K. Reduction of dual-species biofilm after sonic- or ultrasonic-activated irrigation protocols: a laboratory study. *Int Endod J.* 2021;54(12):2219–28.

37. Neuhaus KW, Liebi M, Stauffacher S, Eick S, Lussi A. Antibacterial efficacy of a new sonic irrigation device for root canal disinfection. *J Endod.* 2016;42(12):1799–803.

38. Lukač N, Jezeršek M. Amplification of pressure waves in laser-assisted endodontics with synchronized delivery of Er:YAG laser pulses. *Lasers Med Sci.* 2018;33(4):823–33.

39. Yargici VH, Kaptan RF. Evaluation of debris removal efficacy of conventional syringe, Irrisafe, XP-endo Finisher file, and photon-induced photoacoustic-streaming methods in teeth with artificial internal resorption using two different methodologies. *Photobiomodul Photomed Laser Surg.* 2022;40(1):25–32.

40. Dagher J, El Feghali R, Parker S, Benedicenti S, Zogheib C. Postoperative quality of life following conventional endodontic intracanal irrigation compared with laser-activated irrigation: a randomized clinical study. *Photobiomodul Photomed Laser Surg.* 2019;37(4):248–53.

41. Erkan E, Gündoğar M, Uslu G, Özyürek T. Postoperative pain after SWEEPS, PIPS, sonic and ultrasonic-assisted irrigation activation techniques: a randomized clinical trial. *Odontology.* 2022;110(4):786–94.

42. Mandras N, Pasqualini D, Roana J, Tullio V, Banche G, Gianello E, Bonino F, Cuffini AM, Berutti E, Alovisi M. Influence of photon-induced photoacoustic streaming (PIPS) on root canal disinfection and post-operative pain: A randomized clinical trial. *J Clin Med.* 2020;9(12):3915.

43. Verma A, Yadav RK, Tikku AP, Chandra A, Verma P, Bharti R, Shakya VK. A randomized controlled trial of endodontic treatment using ultrasonic irrigation and laser activated irrigation to evaluate healing in chronic apical periodontitis. *J Clin Exp Dent.* 2020;12(9):e821–9.

44. Ma J, Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. A new noninvasive model to study the effectiveness of dentin disinfection by using confocal laser scanning microscopy. *J Endod.* 2011;37(10):1380–5.

\*The antibacterial efficacy of photon-initiated photoacoustic streaming in root canals with different diameters or tapers. Cheng Wen, Liang Yan, Yuanyuan Kong, Jian Zhao, Yang Li and Qianzhou Jiang. (2021) 21:542 doi:10.1186/s12903-021-01903-7

1. Peters OA. Current challenges and concepts in the preparation of root canal systems: a review. *J Endod.* 2004;30(8):559-67.
2. Siqueira J, Pérez A, Marceliano-Alves M, Provenzano J, Silva S, Pires F, Vieira G, Rôças I, Alves F. What happens to unprepared root canal walls: a correlative analysis using micro-computed tomography and histology/ scanning electron microscopy. *Int Endod J.* 2018;51(5):501-8.
3. Schilder H. Cleaning and shaping the root canal. *Dent Clin N Am.* 1974;18(2):269-96.
4. Shemesh H, Bier C, Wu M, Tanomaru-Filho M, Wesselink P. The effects of canal preparation and filling on the incidence of dentinal defects. *Int Endod J.* 2009;42(3):208-13.
5. Silva E, Pinto K, Ferreira C, Belladonna F, De-Deus G, Dummer P, Versiani M. Current status on minimal access cavity preparations: a critical analysis and a proposal for a universal nomenclature. *Int Endod J.* 2020;53(12):1618-35.
6. White J, Eakle W. Rationale and treatment approach in minimally invasive dentistry. *J Am Dent Assoc.* 1939;2000:13S-19S.
7. Yuan K, Niu C, Xie Q, Jiang W, Gao L, Huang Z, Ma R. Comparative evaluation of the impact of minimally invasive preparation vs. conventional straight-line preparation on tooth biomechanics: a finite element analysis. *Eur J Oral Sci.* 2016;124(6):591-6.
8. Plotino G, Özyürek T, Grande N, Gündoğar M. Influence of size and taper of basic root canal preparation on root canal cleanliness: a scanning electron microscopy study. *Int Endod J.* 2019;52(3):343-51.
9. Vieira G, Pérez A, Alves F, Provenzano J, Mdala I, Siqueira J, Rôças I. Impact of contracted endodontic cavities on root canal disinfection and shaping. *J Endod.* 2020;46(5):655-61.
10. Galler K, Grubmüller V, Schlichting R, Widbiller M, Eidt A, Schuller C, Wölflick M, Hiller K, Buchalla W. Penetration depth of irrigants into root dentine after sonic, ultrasonic and photoacoustic activation. *Int Endod J.* 2019;52(8):1210-7.
11. Wen C, Kong Y, Zhao J, Li Y, Yu M, Zeng S, Shi Z, Jiang Q. Efficacy of the photon-initiated photoacoustic streaming combined with different solutions on *Enterococcus faecalis* in the root canals. *Microsc Res Tech.* 2020;83(6):647-57.
12. Wen C, Kong Y, Zhao J, Li Y, Shen Y, Yang X, Jiang Q. Effectiveness of photon-initiated photoacoustic streaming in root canal models with different diameters or tapers. *BMC Oral Health.* 2021;21(1):307.

13. Arslan H, Akcay M, Ertas H, Capar I, Saygili G, Mese M. Effect of PIPS technique at different power settings on irrigating solution extrusion. *Laser Med Sci.* 2015;30(6):1641-5.
14. Xiao F, Lv J, Liang YB, Chen YH, Tu YB, Guan RC, Li L, Xie YB. The expression of glucose transporters and mitochondrial division and fusion proteins in rats exposed to hypoxic preconditioning to attenuate propofol neurotoxicity. *Int J Neurosci.* 2020;130(2):161-9.
15. Wolters WJ, Duncan HF, Tomson PL, Karim IE, McKenna G, Dorri M, Stangvaltaite L, van der Sluis LWM. Minimally invasive endodontics: a new diagnostic system for assessing pulpitis and subsequent treatment needs. *Int Endod J.* 2017;50(9):825-9.
16. Rosen E, Tsisis I, Elbahary S, Storzi N, Kolodkin-Gal I. *Enterococcus faecalis* eradication of biofilms on human dentin. *Front Microbiol.* 2016;7:2055.
17. Silva Garcez A, Nunez SC, Lage-Marques JL, Jorge AO, Ribeiro MS. Efficiency of NaOCl and laser-assisted photosensitization on the reduction of *Enterococcus faecalis* in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;102(4):e93-98.
18. Vertucci FJ. Root canal anatomy of the human permanent teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1984;58(5):589-99.
19. Iqbal K, Ohl S, Khoo B, Neo J, Fawzy A. Effect of high-intensity focused ultrasound on *Enterococcus faecalis* planktonic suspensions and biofilms. *Ultrasound Med Biol.* 2013;39(5):825-33.
20. Hage W, De Moor RJG, Hajj D, Sfeir G, Sarkis DK, Zogheib C. Impact of different irrigant agitation methods on bacterial elimination from infected root canals. *Dent J (Basel).* 2019;7(3):64.
21. Olivi G, DiVito E, Peters O, Kaitsas V, Angiero F, Signore A, Benedicenti S. Disinfection efficacy of photon-induced photoacoustic streaming on root canals infected with *Enterococcus faecalis*: an ex vivo study. *J Am Dent Assoc.* 2014;145(8):843-8.
22. Do Q, Gaudin A. The efficiency of the Er: YAG laser and photoninduced photoacoustic streaming (PIPS) as an activation method in endodontic irrigation: a literature review. *J Lasers Med Sci.* 2020;11(3):316-34.
23. DiVito E, Peters O, Olivi G. Effectiveness of the erbium:YAG laser and new design radial and stripped tips in removing the smear layer after root canal instrumentation. *Laser Med Sci.* 2012;27(2):273-80.

24. De Moor RJ, Blanken J, Meire M, Verdaasdonk R. Laser induced explosive vapor and cavitation resulting in effective irrigation of the root canal. Part 2: evaluation of the efficacy. *Lasers Surg Med.* 2009;41(7):520-3.
25. Swimberghe R, Coenye T, De Moor R, Meire M. Biofilm model systems for root canal disinfection: a literature review. *Int Endod J.* 2019;52(5):604-28.
26. Boutsoukis C, Gogos C, Verhaagen B, Versluis M, Kastrinakis E, Van der Sluis L. The effect of apical preparation size on irrigant flow in root canals evaluated using an unsteady computational fluid dynamics model. *Int Endod J.* 2010;43(10):874-81.
27. Card S, Sigurdsson A, Orstavik D, Trope M. The effectiveness of increased apical enlargement in reducing intracanal bacteria. *J Endod.* 2002;28(11):779-83.
28. Faria G, Viola K, Coaguila-Llerena H, Oliveira L, Leonardo R, Aranda-García A, Guerreiro-Tanomaru J. Penetration of sodium hypochlorite into root canal dentine: effect of surfactants, gel form and passive ultrasonic irrigation. *Int Endod J.* 2019;52(3):385-92.
29. Celik D, Taşdemir T, Er K. Comparison of influence of different manufacturing methods on the cleaning efficiency of rotary nickel-titanium files. *Microsc Res Tech.* 2013;76(3):231-6.
30. Maitin N, Arunagiri D, Brave D, Maitin S, Kaushik S, Roy S. An ex vivo comparative analysis on shaping ability of four NiTi rotary endodontic instruments using spiral computed tomography. *J Conserv Dent: JCD.* 2013;16(3):219-23.
31. Peeters HH, Mooduto L. Radiographic examination of apical extrusion of root canal irrigants during cavitation induced by Er, Cr:YSGG laser irradiation: an in vivo study. *Clin Oral Investig.* 2013;17(9):2105-12.
32. Cheng X, Tian T, Tian Y, Xiang D, Qiu J, Liu X, Yu Q. Erbium: yttrium aluminum garnet laser-activated sodium hypochlorite irrigation: a promising procedure for minimally invasive endodontics. *Photomed Laser Surg.* 2017;35(12):695-701.
33. Blanken J, De Moor RJ, Meire M, Verdaasdonk R. Laser induced explosive vapor and cavitation resulting in effective irrigation of the root canal. Part 1: a visualization study. *Lasers Surg Med.* 2009;41(7):514-9.
34. de Groot SD, Verhaagen B, Versluis M, Wu MK, Wesselink PR, van der Sluis LW. Laser-activated irrigation within root canals: cleaning efficacy and flow visualization. *Int Endod J.* 2009;42(12):1077-83.
35. Gluskin A, Peters C, Peters O. Minimally invasive endodontics: challenging prevailing paradigms. *Br Dent J.* 2014;216(6):347-53.

36. Matsumoto H, Yoshimine Y, Akamine A. Visualization of irrigant flow and cavitation induced by Er:YAG laser within a root canal model. *J Endod*. 2011;37(6):839-43.

37. Jiang S, Zou T, Li DX, Chang JWW, Huang XJ, Zhang CF. Effectiveness of sonic, ultrasonic, and photon-induced photoacoustic streaming activation of NaOCl on filling material removal following retreatment in oval canal anatomy. *Photomed Laser Surg*. 2016;34(1):3-10.

\*Effect of photon-induced photoacoustic streaming and shock-wave enhanced emission photoacoustic streaming technique on the removal of the smear layer after root canal preparation in curved root canals. Jiaru Tong , Liu Liu , Jing Du , Yuan Gao,Dongzhe Song, Dingming Huang. 18 (2023) 157e164

1. Siqueira Junior JF, Rocas IDN, Marceliano-Alves MF, Perez AR, Ricucci D. Unprepared root canal surface areas: causes, clinical implications, and therapeutic strategies. *Braz Oral Res* 2018;32(1):e65.

2. Roane JB, Sabala CL, Duncanson MG. The "balanced force" concept for instrumentation of curved canals. *J Endod* 1985;11:203e11.

3. Mader CL, Baumgartner JC, Peters DD. Scanning electron microscopic investigation of the smeared layer on root canal walls. *J Endod* 1984;10:477e83.

4. Foster KH, Kulild JC, Weller RN. Effect of smear layer removal on the diffusion of calcium hydroxide through radicular dentin. *J Endod* 1993;19:136e40.

5. Jezersek M, Jereb T, Lukac N, Tenyi A, Lukac M, Fidler A. Evaluation of apical extrusion during novel Er:YAG laseractivated irrigation modality. *Photobiomodul Photomed Laser Surg* 2019;37:544e50

6. Kadic S, Baraba A, Miletic I, et al. Influence of different laserassisted retrograde cavity preparation techniques on bond strength of bioceramic-based material to root dentine. *Laser Med Sci* 2020;35:173e9.

7. Violich DR, Chandler NP. The smear layer in endodontics – a review. *Int Endod J* 2010;43:2e15.

8. Baumgartner JC, Ibay AC. The chemical reactions of irrigants used for root canal debridement. *J Endod* 1987;13:47e51.

9. Wang M, Ma L, Li Q, Yang W. Efficacy of Er:YAG laser-assisted direct pulp capping in permanent teeth with cariously exposed pulp: a pilot study. *Aust Endod J* 2020;46:351e7.

10. Macedo RG, Wesselink PR, Zaccheo F, Fanali D, Van Der Sluis LW. Reaction rate of NaOCl in contact with bovine dentine: effect of activation, exposure time, concentration and pH. *Int Endod J* 2010;43:1108e15.

11. Lloyd A, Uhles JP, Clement DJ, Garcia-Godoy F. Elimination of intracanal tissue and debris through a novel laser-activated system assessed using high-resolution micro-computed tomography: a pilot study. *J Endod* 2014;40:584e7.
12. Yang Q, Liu MW, Zhu LX, Peng B. Micro-CT study on the removal of accumulated hard-tissue debris from the root canal system of mandibular molars when using a novel laser-activated irrigation approach. *Int Endod J* 2020;53:529e38.
13. DiVito E, Peters OA, Olivi G. Effectiveness of the erbium:YAG laser and new design radial and stripped tips in removing the smear layer after root canal instrumentation. *Laser Med Sci* 2012;27:273e80.
14. Passalidou S, Calberson F, De Bruyne M, De Moor R, Meire MA. Debris removal from the mesial root canal system of mandibular molars with laser-activated irrigation. *J Endod* 2018;44: 1697e701.
15. Gordon W, Atabakhsh VA, Meza F, et al. The antimicrobial efficacy of the erbium, chromium:yttrium-scandium-galliumgarnet laser with radial emitting tips on root canal dentin walls infected with *Enterococcus faecalis*. *J Am Dent Assoc* 2007;138:992e1002.
16. 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;35:422e7.
17. Kato AS, Cunha RS, da Silveira Bueno CE, Pelegri RA, Fontana CE, de Martin AS. Investigation of the efficacy of passive ultrasonic irrigation versus irrigation with reciprocating activation: an environmental scanning electron microscopic study. *J Endod* 2016;42:659e63.
18. Eick JD, Wilko RA, Anderson CH, Sorensen SE. Scanning electron microscopy of cut tooth surfaces and identification of debris by use of the electron microprobe. *J Dent Res* 1970;49: 1359e68.
19. Yamada RS, Armas A, Goldman M, Lin PS. A scanning electron microscopic comparison of a high volume final flush with several irrigating solutions: part 3. *J Endod* 1983;9:137e42.
20. George S, Kishen A, Song KP. The role of environmental changes on monospecies biofilm formation on root canal wall by *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2005;31:867e72.
21. Schmidt TF, Teixeira CS, Felipe MC, Felipe WT, Pashley DH, Bortoluzzi EA. Effect of ultrasonic activation of irrigants on smear layer removal. *J Endod* 2015;41:1359e63.
22. Teixeira CS, Felipe MC, Felipe WT. The effect of application time of EDTA and NaOCl on intracanal smear layer removal: an SEM analysis. *Int Endod J* 2005;38:285e90.
23. Kuah HG, Lui JN, Tseng PS, Chen NN. The effect of EDTA with and without ultrasonics on removal of the smear layer. *J Endod* 2009;35:393e6.

24. Lui JN, Kuah HG, Chen NN. Effect of EDTA with and without surfactants or ultrasonics on removal of smear layer. *J Endod* 2007;33:472e5.
25. Nguy D, Sedgley C. The influence of canal curvature on the mechanical efficacy of root canal irrigation in vitro using realtime imaging of bioluminescent bacteria. *J Endod* 2006;32:1077e80.
26. Elnaghy AM, Mandorah A, Elsaka SE. Effectiveness of XP-endo Finisher, EndoActivator, and File agitation on debris and smear layer removal in curved root canals: a comparative study. *Odontology* 2017;105:178e83.
27. Rodig T, Dollmann S, Konietschke F, Drebenstedt S, Hulsmann M. Effectiveness of different irrigant agitation techniques on debris and smear layer removal in curved root canals: a scanning electron microscopy study. *J Endod* 2010;36:1983e7.
28. Neelakantan P, Ounsi HF, Devaraj S, Cheung GSP, Grandini S. Effectiveness of irrigation strategies on the removal of the smear layer from root canal dentin. *Odontology* 2019;107:142e9.
29. Peeters HH, Gutknecht N. Efficacy of laser-driven irrigation versus ultrasonic in removing an airlock from the apical third of a narrow root canal. *Aust Endod J* 2014;40:47e53.
30. Leoni GB, Versiani MA, Silva-Sousa YT, Bruniera JF, Pecora JD, Sousa-Neto MD. Ex vivo evaluation of four final irrigation protocols on the removal of hard-tissue debris from the mesial root canal system of mandibular first molars. *Int Endod J* 2017;50:398e406.
31. Macedo RG, Verhaagen B, Fernandez RD, et al. Sonochemical and high-speed optical characterization of cavitation generated by an ultrasonically oscillating dental file in root canal models. *Ultrason Sonochem* 2014;21:324e35.
32. Huffaker SK, Safavi K, Spangberg LS, Kaufman B. Influence of a passive sonic irrigation system on the elimination of bacteria from root canal systems: a clinical study. *J Endod* 2010;36:1315e8.
33. Jiang LM, Verhaagen B, Versluis M, Langedijk J, Wesselink P, van der Sluis LW. The influence of the ultrasonic intensity on the cleaning efficacy of passive ultrasonic irrigation. *J Endod* 2011;37:688e92.
34. Bryce G, MacBeth N, Gulabivala K, Ng YL. The efficacy of supplementary sonic irrigation using the EndoActivator system determined by removal of a collagen film from an ex vivo model. *Int Endod J* 2018;51:489e97.
35. Galler KM, Grubmuller V, Schlichting R, et al. Penetration depth of irrigants into root dentine after sonic, ultrasonic and photoacoustic activation. *Int Endod J* 2019;52:1210e7.

36. Do QL, Gaudin A. The efficiency of the Er: YAG laser and photon-induced photoacoustic streaming (PIPS) as an activation method in endodontic irrigation: a literature Review. *Laser Med Sci* 2020;11:316e34.
37. George R, Meyers IA, Walsh LJ. Laser activation of endodontic irrigants with improved conical laser fiber tips for removing smear layer in the apical third of the root canal. *J Endod* 2008; 34:1524e7.
38. Lukac N, Jezersek M. Amplification of pressure waves in laser-assisted endodontics with synchronized delivery of Er:YAG laser pulses. *Laser Med Sci* 2018;33:823e33.
39. Mayer BE, Peters OA, Barbakow F. Effects of rotary instruments and ultrasonic irrigation on debris and smear layer scores: a scanning electron microscopic study. *Int Endod J* 2002;35: 582e9.
40. Wang X, Cheng X, Liu B, Liu X, Yu Q, He W. Effect of laser-activated irrigations on smear layer removal from the root canal wall. *Photomed Laser Surg* 2017;35:688e94.
41. Ahmad M, Pitt Ford TR, Crum LA, Walton AJ. Ultrasonic debridement of root canals: acoustic cavitation and its relevance. *Int Endod J* 1988;42:391e8.

# **MATERIALI E**

# **METODI**

## **Selezione dei campioni**

Sono stati utilizzati ottantasei denti monoradicolarati, comprendenti incisivi, canini e premolari mascellari, nonché canini e premolari mandibolari. La superficie radicolare esterna dei denti estratti per motivi parodontali è stata accuratamente pulita con curette per

rimuovere tartaro e tessuti molli parodontali. I denti sono stati poi conservati in soluzione fisiologica a 4 °C fino al momento dell'utilizzo..

### **Preparazione del canale radicolare**

La cavità d'accesso è stata preparata utilizzando frese diamantate coniche montate su un manipolo ad alta velocità, dotato di raffreddamento ad acqua. Successivamente, è stata rifinita con un dispositivo ad ultrasuoni -START X no. 1 e 3 (Dentsply, Germania) sotto il controllo di un microscopio (Zeiss, Germania). È stato eseguito il glide-path fino alla lunghezza di lavoro utilizzando un file C-PILOT ISO 10 (VDW) in acciaio inossidabile.

I canali radicolari sono stati preparati con il sistema RECIPROC R25, mentre la preparazione apicale è stata completata manualmente con K-Reamers ISO 30/06 (VDW). Durante la preparazione, è stata effettuata un'abbondante irrigazione con NaOCl al 3%, seguita da un lavaggio finale con acqua distillata sterile.

### **Infezione batterica del canale radicolare**

Tre denti sono stati selezionati casualmente come gruppo di controllo negativo, risultando non infettati (Tabella 1). I canali radicolari dei rimanenti 83 denti sono stati asciugati utilizzando coni di carta sterili e i loro forami apicali sono stati sigillati con un sistema adesivo a due fasi, FL-Bond II, e il composito Beautiful Flow Plus F00 (SHOFU INC., Giappone). Per prevenire l'infiltrazione batterica lateralmente e apicalmente, l'intera superficie esterna della radice di ciascun dente è stata isolata con due strati di smalto per unghie.

È stata utilizzata una coltura pura di *E. faecalis* vancomicina-resistente, proveniente da un'unica colonia e coltivata in brodo per infusione cervello-cuore. I canali radicolari sono stati inoculati con 10 µL di una sospensione batterica, corrispondente a circa  $5 \times 10^8$  unità formanti colonie (CFU) per millilitro, utilizzando una micropipetta. I campioni sono stati incubati singolarmente in provette per quattro settimane a 37 °C, con una sospensione batterica fresca fornita ogni 24 ore.

Al termine dell'incubazione, sono stati prelevati 10 µL di liquido di sospensione dal canale radicolare utilizzando la micropipetta e diluiti in serie in 0,9 mL di soluzione fisiologica. Per enumerare i batteri, sono state distribuite aliquote di 0,1 µL delle diluizioni appropriate su piastre di agar Columbia integrate con vancomicina (40 mg per litro). L'incubazione è durata 24 ore a 37 °C in un'atmosfera con il 5% di anidride carbonica. Il limite di rilevamento per la crescita batterica era approssimativamente di 102 CFU/mL nel fluido di campionamento. Tre dei 83 denti infetti sono stati selezionati casualmente come gruppo di controllo positivo

e non sono stati trattati. Gli altri 80 denti sono stati suddivisi in 9 gruppi (Tabella 1).

### **Disinfezione canalare**

La disinfezione è stata eseguita utilizzando il laser LAIs.1. con diverse impostazioni di potenza e concentrazioni di NaOCl (Tabella 1). Sono stati impiegati due laser Erbium YAG (Er: YAG) a 2.940 nm, seguendo un protocollo PIPS modificato. Una punta PIPS brevettata (600/9) è stata posizionata all'interno della camera pulpare e mantenuta in posizione. Durante l'attivazione del laser, la punta è stata immersa in un irrigante, applicato continuamente tramite una siringa (ago 27G luer lock con doppio sfiato laterale). La disinfezione PIPS è stata effettuata utilizzando due diverse impostazioni di potenza, mentre acqua e aria sul sistema laser erano disattivati. I dettagli del trattamento sono riportati nella Tabella 1.

Il protocollo di irrigazione modificato prevedeva i seguenti passaggi: (I) 3 mL di NaOCl, attivazione PIPS per 30 secondi, seguito da un tempo di riposo di 60 secondi; (II) 3 mL di EDTA (acido etilendiamminotetraacetico) al 17%, attivazione PIPS per 30 secondi, riposo di 60 secondi; (III) 2 cicli di 3 mL di NaOCl, attivazione PIPS per 30 secondi, con un riposo di 60 secondi tra ogni ciclo; (IV) 3 mL di acqua sterile, attivazione PIPS per 30 secondi.

Per garantire la massima efficacia del campionamento, i campioni sono stati sigillati con Parafilm e agitati per 10 secondi utilizzando un MSE Clinomixer. Successivamente, è stata introdotta una soluzione di Ringer sterile nel canale radicolare e sono state ottenute aliquote di 10 µL dalla soluzione del canale radicolare di ciascun campione, per eseguire immediatamente la conta batterica.

### **Valutazione di un'ulteriore crescita batterica**

Dopo l'irrigazione e la conta batterica, tutti i campioni sono stati incubati per 48 ore a 37 ° C e in atmosfera con il 5% di anidride carbonica. Successivamente, sono state ottenute aliquote da 10 µL di soluzione come prima ed è stata eseguita una nuova conta batterica.

### **Microscopia elettronica a scansione (SEM)**

Le analisi SEM sono state utilizzate per determinare la presenza di infezione batterica nelle sezioni trasversali del canale e la penetrazione batterica all'interno dei tubuli dentinali. Per la preparazione del campione, i canali radicolari sono stati asciugati per 24 ore a 21 ° C, sezionati longitudinalmente utilizzando un disco di carbonio senza acqua nebulizzata per formare la linea guida, e divisi in due metà con un martelletto. Dopo l'asciugatura per 24 ore a 21 ° C, sono stati rivestiti a spruzzo con l'oro. Utilizzando il SEM (Vega3\_TESCAN) è stata esaminata l'intera area del canale radicolare (1–8 mm dall'apice) in ciascun campione.

### **Analisi statistica**

La conta batterica in CFU è stata misurata utilizzando calcoli logaritmici per adeguarsi alla distribuzione normale. Sono state eseguite analisi statistiche utilizzando il software SPSS (v.14.0 per Windows). È stato utilizzato il test unidirezionale ANOVA per misure ripetute per verificare le differenze statistiche nelle variabili normalmente distribuite. I test di Sheffe a posteriori sono stati utilizzati quando sono stati confrontati due o più punti di dati medi. I dati sono stati riassunti come media, a seconda della variabile. Un p-value (bilaterale) di 0,05 è stato considerato statisticamente significativo.

Tabella 1: Elenco dei denti analizzati e delle condizioni di trattamento

| Gruppo campione              | Numero di denti | Infezione (S/N) | Trattamento (S/N) | Energia Laser (mJ) | Media potenza (W) | NaOCl (%) | Tipo di laser* |
|------------------------------|-----------------|-----------------|-------------------|--------------------|-------------------|-----------|----------------|
| <b>Denti infetti</b>         |                 |                 |                   |                    |                   |           |                |
| A                            | 6               | SI              | SI                | 20                 | 0,30              | 5         | Laser 1        |
| B                            | 8               | SI              | SI                | 20                 | 0,30              | 3         | Laser 1        |
| C                            | 6               | SI              | SI                | 20                 | 0,30              | 1         | Laser 1        |
| D                            | 10              | SI              | SI                | 20                 | 0,30              | 5         | Laser 2        |
| E                            | 10              | SI              | SI                | 20                 | 0,30              | 3         | Laser 2        |
| F                            | 10              | SI              | SI                | 20                 | 0,30              | 1         | Laser 2        |
| G                            | 10              | SI              | SI                | 10                 | 0,15              | 5         | Laser 2        |
| H                            | 10              | SI              | SI                | 10                 | 0,15              | 3         | Laser 2        |
| I                            | 10              | SI              | SI                | 10                 | 0,15              | 1         | Laser 2        |
| Gruppo di controllo positivo | 3               | SI              | NO                | -                  | -                 | -         | -              |
| Gruppo di controllo negativo | 3               | NO              | NO                | -                  | -                 | -         | -              |
| Somma                        | 86              | -               | -                 | -                  | -                 | -         | -              |

\*Sono stati utilizzati due modelli di laser: Laser 1 (AT Fidelis), in cui l'energia può essere ridotta sino a 20mJ; e Laser 2 (Light Walker), dove l'energia può essere ridotta fino a 10 mJ. In tutti i casi la frequenza è stata impostata su 15 Hz e la durata dell'impulso su 50 µsec

Tabella 2: Risultati medi di CFU/ml per 9 gruppi sperimentali

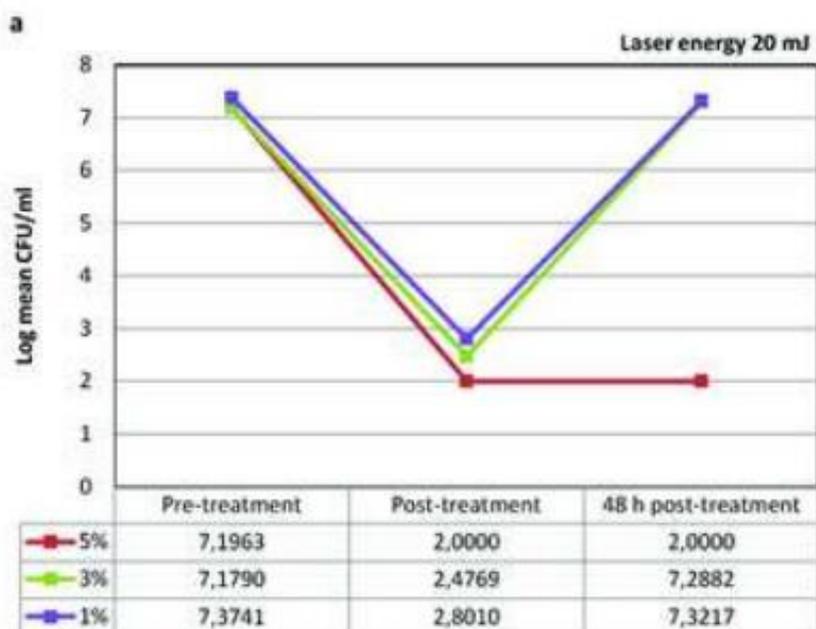
| Gruppo campione | Numero di denti | Energia Laser (mJ) | NaOCl (%) | Unità formanti colonie (CFU)/mL |                     |                            | Prima e dopo | p-value |
|-----------------|-----------------|--------------------|-----------|---------------------------------|---------------------|----------------------------|--------------|---------|
|                 |                 |                    |           | Pre-trattamento                 | Post-trattamento    | 48 ore dopo il trattamento |              |         |
| A               | 6               | 20                 | 5         | $1,9 \times 10^7$               | $< 1,0 \times 10^2$ | $< 1,0 \times 10^2$        | 0,0012       | 0,0012  |
| B               | 8               | 20                 | 3         | $1,9 \times 10^7$               | $9,0 \times 10^2$   | $2,9 \times 10^7$          | 0,0000       | 0,7004  |
| C               | 6               | 20                 | 1         | $4,0 \times 10^7$               | $4,0 \times 10^3$   | $4,4 \times 10^7$          | 0,0011       | 0,8760  |
| D               | 10              | 20                 | 5         | $1,3 \times 10^7$               | $< 1,0 \times 10^2$ | $< 1,0 \times 10^2$        | 0,0000       | 0,0000  |
| E               | 10              | 20                 | 3         | $1,2 \times 10^7$               | $< 1,0 \times 10^2$ | $1,3 \times 10^7$          | 0,0000       | 0,9149  |
| F               | 10              | 20                 | 1         | $1,4 \times 10^7$               | $< 1,0 \times 10^2$ | $1,0 \times 10^7$          | 0,0001       | 0,3657  |
| G               | 10              | 10                 | 5         | $1,3 \times 10^7$               | $< 1,0 \times 10^2$ | $< 1,0 \times 10^2$        | 0,0000       | 0,0000  |
| H               | 10              | 10                 | 3         | $2,7 \times 10^7$               | $< 1,0 \times 10^2$ | $1,3 \times 10^7$          | 0,0123       | 0,1851  |
| I               | 10              | 10                 | 1         | $1,8 \times 10^7$               | $< 1,0 \times 10^2$ | $9,0 \times 10^6$          | 0,0002       | 0,0924  |

# RISULTATI

## Risultati dell'analisi statistica

L'analisi della varianza è stata utilizzata per valutare l'efficacia della decontaminazione del canale radicolare dopo il trattamento con diverse concentrazioni di NaOCl e diverse impostazioni di potenza, seguendo il protocollo PIPS modificato. Le misurazioni sono state effettuate prima, immediatamente dopo e 48 ore dopo il trattamento (Tabella 2).

Sono state riscontrate differenze statisticamente significative nelle conte batteriche (p-value inferiore a 0,05) prima e subito dopo il trattamento per tutti i gruppi campionati, indipendentemente dalla concentrazione di NaOCl e dall'energia laser applicata. Tuttavia, solo nei gruppi A, D e G, in cui è stato utilizzato NaOCl al 5%, è stata osservata una differenza statisticamente significativa tra le misurazioni effettuate prima e 48 ore dopo il trattamento. Nei gruppi trattati con NaOCl all'1% e al 3%, si è registrata una ricrescita batterica 48 ore dopo la procedura, indipendentemente dalla potenza laser applicata. Un'analisi a posteriori ha confermato che la decontaminazione risulta efficace e duratura esclusivamente con l'uso di NaOCl al 5% (Figura 1).



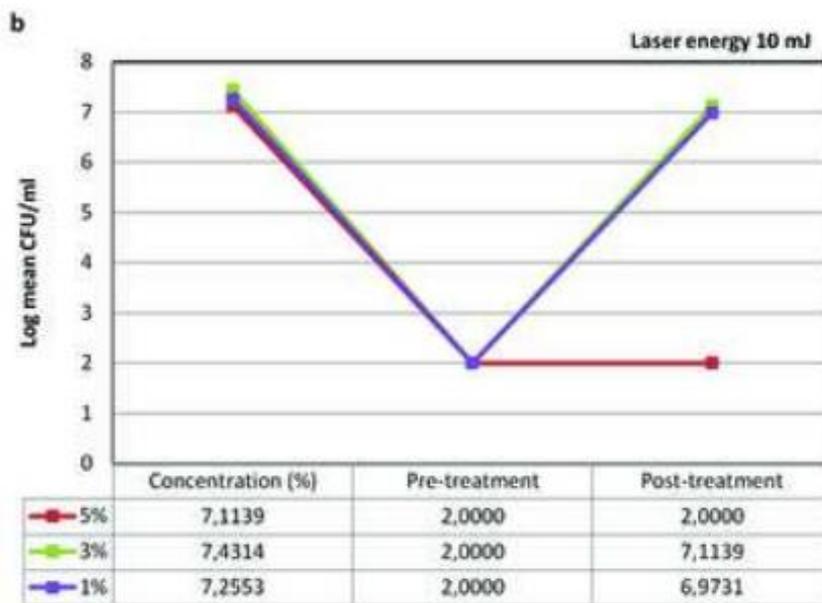


Figura 1 (a-b). Variazione della procedura di decontaminazione con il tempo, a diverse impostazioni di potenza laser e diverse concentrazioni di NaOCl, utilizzate durante la procedura di irrigazione PIPS modificata.

### **Risultati della microscopia elettronica a scansione**

Con l'esame al SEM, è stata esaminata l'area da 1 a 8 mm dall'apice. Nei campioni di controllo negativi, sono stati osservati resti di detriti, fango dentinale senza batteri e alcuni tubuli dentinali aperti (Figura 2a). I campioni del controllo positivo hanno mostrato uno spesso biofilm di *E. faecalis*. I tubuli dentinali erano occlusi da fango dentinale (Figura 2b) e numerosi batteri *E. faecalis* colonizzavano i tubuli dentinali (Figura 2c). Dopo l'uso di NaOCl e EDTA al 17%, il fango dentinale, i detriti e i batteri erano assenti e i tubuli dentinali aperti erano esposti. I risultati del trattamento con diverse concentrazioni di NaOCl sono mostrati nella Figura 2. La decontaminazione è stata efficace solo con l'uso di NaOCl al 5 %.

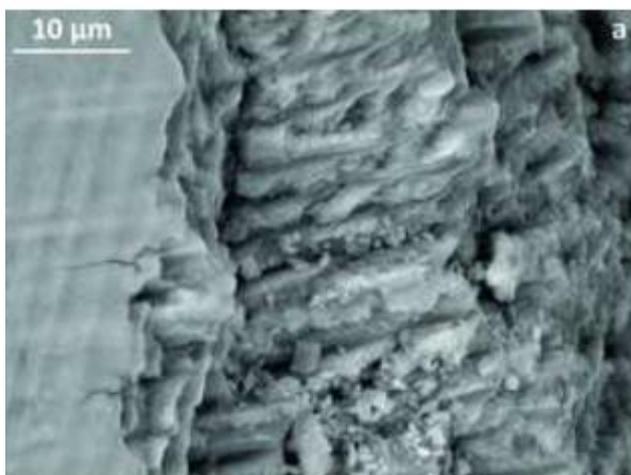
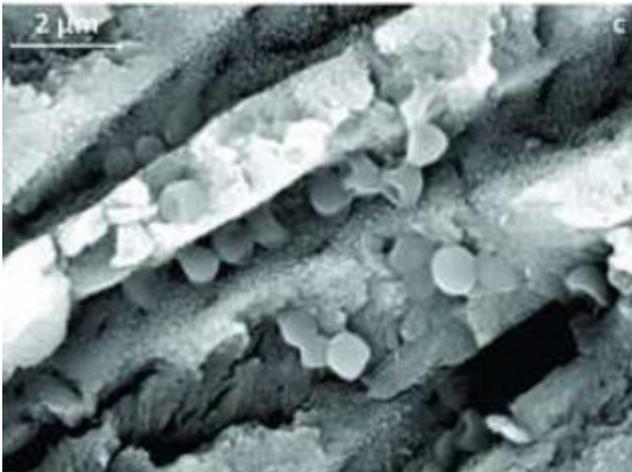


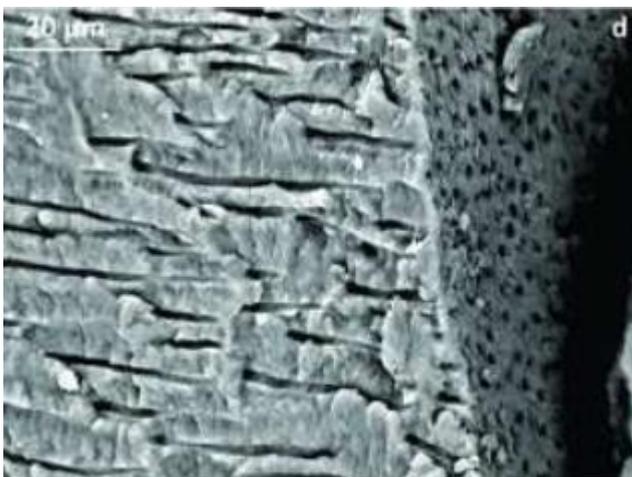
Figura 2a. Immagine al SEM: il gruppo di controllo negativo dopo 3 giorni di sterilizzazione con NaOCl al 5% mostra detriti, fango dentinale e alcuni tubuli dentinali aperti senza batteri (ingrandimento 5.110×).



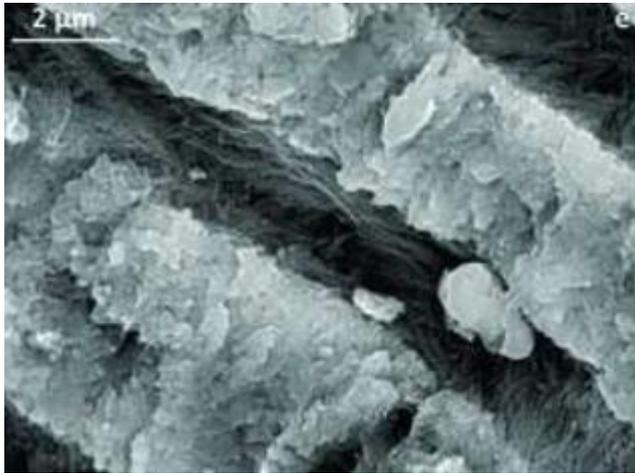
*Figura 2b. Immagine al SEM: gruppo positivo dopo 4 settimane di incubazione con E. faecalis. Fango dentinale che occlude i tubuli dentinali, infettati dai batteri (ingrandimento 7.920×).*



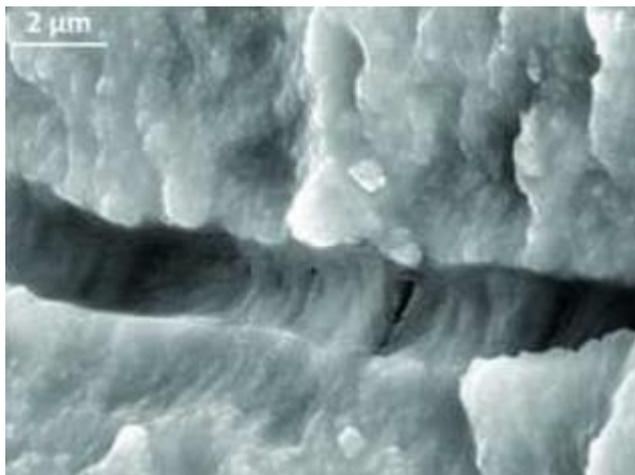
*Figura 2c. Immagine al SEM: alta concentrazione di E. faecalis che colonizza le pareti dentinali dei tubuli (ingrandimento 24.400×).*



*Figura 2d. Immagine al SEM: trattamento con EDTA al 17 % e NaOCl al 1 %. Sono presenti tubuli dentinali aperti e puliti con pochi resti di detriti (ingrandimento 2.400×).*



*Figura 2e. Immagine al SEM: trattamento con EDTA al 17% e NaOCl al 3%. L'alto ingrandimento mostra chiaramente i tubuli dentinali con fibre di collagene senza batteri (ingrandimento 22.800×).*



*Figura 2f. Immagine al SEM: trattamento con EDTA al 17 % e NaOCl al 5 %. Sezione longitudinale lungo un tubulo dentinale pulito e privo di batteri (ingrandimento 20.900×).*

# DISCUSSIONE

I denti utilizzati nell'esperimento sono stati incubati con *Enterococcus faecalis*, il batterio isolato più comunemente associato al fallimento del trattamento endodontico. Il tempo di incubazione, un fattore cruciale per lo sviluppo del biofilm, è stato fissato a quattro settimane. Nelle prime ore, i batteri sono principalmente in forma planctonica. Durante le prime due settimane, i batteri del biofilm mostrano sensibilità a irriganti come NaOCl (1%), clorexidina (CHX; 2%) e iodio (0,2/0,4%), ma dopo tre settimane diventano molto resistenti a questi agenti.

Nella terapia endodontica, la combinazione di irriganti a base di NaOCl e EDTA è la più comunemente utilizzata, in quanto entrambi indeboliscono la dentina attraverso la dissoluzione dei suoi componenti organici e inorganici. È stato osservato che il modulo elastico e la resistenza alla flessione della dentina dipendono dalla concentrazione di NaOCl e dal tempo di esposizione. Ad esempio, il 5% di NaOCl a 37 °C può ridurre la resistenza alla metà in un'ora, mentre il 3% di NaOCl mostra una riduzione significativa solo dopo due ore. Durante la preparazione del canale, è stato utilizzato il 3% di NaOCl, con il tempo di strumentazione e irrigazione che si allunga per denti con più di un canale radicolare.

Per quanto riguarda l'irrigazione finale, si è notata una differenza statisticamente significativa nella riduzione di *E. faecalis* tramite la tecnica PIPS, con risultati migliori ottenuti solo utilizzando NaOCl al 5%. La sequenza classica di irrigazione finale per la tecnica PIPS è la seguente:

1. **3x NaOCl** (irrigante principale),
2. **Ciclo di acqua distillata**,
3. **EDTA** (per la chelazione e la rimozione dei detriti).

Ogni ciclo attivo di agitazione/attivazione viene eseguito per 30 secondi, seguito da una fase di riposo di 30 secondi, per consentire all'irrigante di reagire efficacemente.

Questa sequenza è stata identificata come la più efficace per garantire una disinfezione completa e un'efficace rimozione dei residui batterici dal canale radicolare.

- I. NaOCl al 5,25% durante la strumentazione,
- II. EDTA al 17% durante l'irrigazione finale e di nuovo 5,25% NaOCl (27-29).

Quando l'ultimo irrigante della sequenza è l'EDTA, il collagene viene esposto sulla superficie del lume canalare (28, 30). L'E. faecalis rimasto all'interno dei tubuli dentinali si lega successivamente al collagene e causa il fallimento del trattamento endodontico (31, 32). In questo studio, è stata dimostrata l'efficacia di una sequenza modificata di irriganti durante il lavaggio finale e la fase di riposo è stata prolungata a un minuto. Dopo 1 minuto di irrigazione con EDTA al 17%, il fango dentinale è stato completamente rimosso, i tubuli dentinali si sono aperti e si è osservato solo un effetto leggermente erosivo dell'EDTA nella zona dentinale peritubulare e intertubulare (33). Il tempo totale di esposizione di 6 minuti, durante l'uso sequenziale di EDTA e NaOCl, è troppo breve per influenzare le proprietà meccaniche della dentina (34). L'applicazione di EDTA prima di NaOCl consente la pulizia della superficie dentinale e l'apertura dei tubuli dentinali come evidenziato dalle immagini al SEM. Pertanto, la penetrazione di NaOCl nei tubuli dentinali e la distruzione di E. faecalis è più probabile.

L'acqua è il componente principale di NaOCl e dell'EDTA e il principale cromoforo per il laser a lunghezza d'onda di 2.940 nm (35). L'effetto battericida di PIPS con attivazione continua di NaOCl si basa su diversi effetti:

- I. aumento della velocità di reazione del NaOCl (36);
- II. flusso tridimensionale del fluido con una migliore penetrazione dell'irrigante nei tubuli dentinali (37, 38);
- III. fenomeni di onda d'urto che causano la lisi cellulare e la rottura meccanica dei detriti e del fango dentinale (39). L'effetto termico primario dell'energia laser assorbita dall'acqua porta al surriscaldamento dell'irrigante fino al punto di ebollizione e alla formazione di bolle di vapore. Le dimensioni e il ciclo di vita delle bolle (esplosione e successiva implosione) dipendono dall'energia applicata (40, 41). L'energia della bolla è proporzionale al volume della bolla alla sua dimensione massima e viene convertita in energia meccanica del mezzo liquido (42, 43). L'energia del collasso della bolla (implosione) si concentra in breve tempo in un piccolo volume, causando la cavitazione (44).

L'espulsione dell'irrigante attraverso il forame apicale durante l'irrigazione del canale radicolare con NaOCl, può causare complicazioni, poiché il NaOCl è tossico per i tessuti vitali (45). L'estrusione dell'irrigante avviene a causa dell'alta pressione in combinazione con ampi forami apicali.

I risultati dimostrano che la riduzione dei batteri nel canale radicolare durante l'irrigazione con PIPS era uguale quando si utilizzano 10 o 20 mJ, con NaOCl al 5%.

# CONCLUSIONI

Sulla base dei risultati ottenuti e del confronto con la letteratura pubblicata, vengono tratte le seguenti conclusioni:

1. Durante la strumentazione si raccomanda l'irrigazione con NaOCl al 3% per evitare l'indebolimento della dentina e l'erosione superficiale delle superfici dentinali.
2. Per aumentare l'efficacia del trattamento, si propone di modificare la sequenza di irrigazione finale del protocollo PIPS:
  - I. EDTA al 17% per la rimozione della parte mineralizzata del fango dentinale e per l'apertura dei tubuli dentinali per l'irrigante;
  - II. 3 x di NaOCl al 5% per la riduzione dei microrganismi nei tubuli dentinali e la denaturazione del collagene, che è importante per il legame batterico, compreso *E. faecalis*;
  - III. acqua distillata per l'inattivazione dell'ossigeno prima dell'otturazione, per evitare l'interazione chimica del cemento con l'ossigeno.
3. Per aumentare la sicurezza del trattamento, l'energia del laser è stata ridotta da 20 a 10 mJ, senza diminuire l'efficacia del trattamento PIPS per la riduzione di *E. faecalis*.

## BIBLIOGRAFIA

1. Costerton JV, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, M L-SH. Microbial Biofilms. Annual Review of Microbiology. 1995;49(1):711-45.
2. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections. Science. 1999;284(5418):1318-22.

3. Gilbert P, Das J, Foley I. Biofilm susceptibility to antimicrobials. *Advances in dental research*. 1997;11(1):160-7.
4. Hall-Stoodley L, Stoodley P. Evolving concepts in biofilm infections. *Cellular microbiology*. 2009;11(7):1034-43.
5. Hoiby N, Bjarnsholt T, Givskov M, Molin S, Ciofu O. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *International journal of antimicrobial agents*. 2010;35(4):322-32.
6. Stewart PS. Biophysics of biofilm infection. *Pathogens and disease*. 2014;70(3):212-8.
7. Lewis K. Riddle of biofilm resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2001;45(4):999-1007.
8. Peters OA. Current Challenges and Concepts in the Preparation of Root Canal Systems: A Review. *Journal of endodontics*. 2004;30(8):559-67.
9. Liu R, Kaiwar A, Shemesh H, Wesselink PR, Hou B, Wu M-K. Incidence of Apical Root Cracks and Apical Dentinal Detachments after Canal Preparation with Hand and Rotary Files at Different Instrumentation Lengths. *Journal of endodontics*. 2013;39(1):129-32.
10. Paqué F, Laib A, Gautschi H, Zehnder M. Hard-Tissue Debris Accumulation Analysis by High-Resolution Computed Tomography Scans. *Journal of endodontics*. 2009;35(7):1044-7.
11. Şen BH, Wesselink PR, Türkün M. The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. *International Endodontic Journal*. 1995;28(3):141-8.
12. Akkayan B. An in vitro study evaluating the effect of ferrule length on fracture resistance of endodontically treated teeth restored with fiber-reinforced and zirconia dowel systems. *The Journal of prosthetic dentistry*. 2004;92(2):155-62.
13. Kutesa-Mutebi A, Osman YI. Effect of the ferrule on fracture resistance of teeth restored with prefabricated posts and composite cores. *African Health Sciences*. 2004;4(2):131-5.
14. Stankiewicz NR, Wilson PR. The ferrule effect: a literature review. *International Endodontic Journal*. 2002;35(7):575-81.
15. Tan PLB, Aquilino SA, Gratton DG, Stanford CM, Tan SC, Johnson WT, et al. In vitro fracture resistance of endodontically treated central incisors with varying ferrule heights and configurations. *Journal of Prosthetic Dentistry*. 2005;93(4):331-6.
16. Lin S, Liu Q, Peng Q, Lin M, Zhan Z, Zhang X. The ablation threshold of Er:YAG laser and Er,Cr:YSGG laser in dental dentin. *Scientific Research and Essays*. 2010;5(16):2128-35.
17. Majaron B, Lukac M, Sustercic D, Funduk N, Skaleric U. Threshold and efficiency analysis in Er:YAG laser ablation of hard dental tissue. *SPIE Proceedings - Lasers and Optics in Dentistry: Ablation Techniques* 1996;2922:233-42.

18. Arslan H, Capar ID, Saygili G, Gok T, Akcay M. Effect of photon-initiated photoacoustic streaming on removal of apically placed dentinal debris. *International Endodontic Journal*. 2014;47(11):1072-7.
19. DiVito E, Lloyd A. ER:YAG laser for 3-dimensional debridement of canal systems: use of photon-induced photoacoustic streaming. *Dentistry today*. 2012;31(11):122, 4-7.
20. Olivi G, DiVito E, Peters O, Kaitsas V, Angiero F, Signore A, et al. Disinfection efficacy of photon-induced photoacoustic streaming on root canals infected with *Enterococcus faecalis*. *The Journal of the American Dental Association*. 2014;145(8):843-8.
21. Kayaoglu G, Orstavik D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. *Critical reviews in oral biology and medicine : an official publication of the American Association of Oral Biologists*. 2004;15(5):308-20.
22. Meire MA, De Prijck K, Coenye T, Nelis HJ, De Moor RJG. Effectiveness of different laser systems to kill *Enterococcus faecalis* in aqueous suspension and in an infected tooth model. *International Endodontic Journal*. 2009;42(4):351-9.
23. Noetzel J, Nonhoff J, Bitter K, Wagner J, Neumann K, Kielbassa AM. Efficacy of calcium hydroxide, Er:YAG laser or gaseous ozone against *Enterococcus faecalis* in root canals. *American journal of dentistry*. 2009;22(1):14-8.
24. Stojicic S, Shen Y, Haapasalo M. Effect of the source of biofilm bacteria, level of biofilm maturation, and type of disinfecting agent on the susceptibility of biofilm bacteria to antibacterial agents. *Journal of endodontics*. 2013;39(4):473-7.
25. Marending M, Luder HU, Brunner TJ, Knecht S, Stark WJ, Zehnder M. Effect of sodium hypochlorite on human root dentine – mechanical, chemical and structural evaluation. *International Endodontic Journal*. 2007;40(10):786-93.
26. Sim TPC, Knowles JC, Ng YL, Shelton J, Gulabivala K. Effect of sodium hypochlorite on mechanical properties of dentine and tooth surface strain. *International Endodontic Journal*. 2001;34(2):120-32.
27. Baumgartner JC, Mader CL. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. *Journal of endodontics*. 1987;13(4):147-57.
28. Goldman M, Goldman LB, Cavaleri R, Bogis J, Sun Lin P. The efficacy of several endodontic irrigating solutions: a scanning electron microscopic study: part 2. *Journal of endodontics*. 1982;8(11):487-92.
29. Yamada RS, Armas A, Goldman M, Lin PS. A scanning electron microscopic comparison of a high volume final flush with several irrigating solutions: Part 3. *Journal of endodontics*. 1983;9(4):137-42.

30. 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(11):934-9.
31. Hubble TS, Hatton JF, Nallapareddy SR, Murray BE, Gillespie MJ. Influence of *Enterococcus faecalis* proteases and the collagen-binding protein, Ace, on adhesion to dentin. *Oral microbiology and immunology*. 2003;18(2):121-6.
32. Love RM. *Enterococcus faecalis* – a mechanism for its role in endodontic failure. *International Endodontic Journal*. 2001;34(5):399-405.
33. Çalt S, Serper A. Time-Dependent Effects of EDTA on Dentin Structures. *Journal of endodontics*. 2002;28(1):17-9.
34. Marending M, Paqué F, Fischer J, Zehnder M. Impact of Irrigant Sequence on Mechanical Properties of Human Root Dentin. *Journal of endodontics*. 2007;33(11):1325-8.
35. Meire MA, Poelman D, De Moor RJ. Optical properties of root canal irrigants in the 300-3,000-nm wavelength region. *Lasers in medical science*. 2014;29(5):1557-62.
36. Macedo RG, Wesselink PR, Zaccheo F, Fanali D, Van Der Sluis LW. Reaction rate of NaOCl in contact with bovine dentine: effect of activation, exposure time, concentration and pH. *Int Endod J*. 2010;43(12):1108-15.
37. Jaramillo DE, Aprecio RM, Angelov N, DiVito E, McClammy TV. Efficiency of photon induced photoacoustic streaming (PIPS) on root canals infected with *Enterococcus faecalis*: a pilot study. *Endodontic Practice*. 2012;5(3):28-32.
38. Zehnder M. Root canal irrigants. *Journal of endodontics*. 2006;32(5):389-98.
39. Pedullà E, Genovese C, Campagna E, Tempera G, Rapisarda E. Decontamination efficacy of photon-initiated photoacoustic streaming (PIPS) of irrigants using low-energy laser settings: an ex vivo study. *International Endodontic Journal*. 2012;45(9):865-70.
40. Blanken J, De Moor RJ, Meire M, Verdaasdonk R. Laser induced explosive vapor and cavitation resulting in effective irrigation of the root canal. Part 1: a visualization study. *Lasers in surgery and medicine*. 2009;41(7):514-9.
41. De Groot SD, Verhaagen B, Versluis M, Wu MK, Wesselink PR, Van Der Sluis LWM. Laser-activated irrigation within root canals: cleaning efficacy and flow visualization. *International Endodontic Journal*. 2009;42(12):1077-83.
42. Gregorcic P, Jamsek M, Lukac M, Jezersek M. Synchronized delivery of Er:YAG-laser-pulse energy during oscillations of vapor bubbles *Journal of the Laser and Health Academy*. 2014;2014(1):14-9.

43. Gregorcic P, Jezersek M, Mozina J. Optodynamic energy-conversion efficiency during an Er:YAG-laser-pulse delivery into a liquid through different fiber-tip geometries. *J Biomed Opt.* 2012;17(7):075006.
44. Blanken JW, Verdaasdonk RM. Cavitation as a working mechanism of the Er,Cr:YSGG laser in endodontics: a visualization study. *J Oral Laser Appl.* 2007;7:97-706.
45. Pashley EL, Birdsong NL, Bowman K, Pashley DH. Cytotoxic effects of NaOCl on vital tissue. *Journal of endodontics.* 1985;11(12):525-8.

# RINGRAZIAMENTI

*Ringrazio, innanzitutto, il Professor Stefano Benedicenti, mio relatore, per avermi dato la possibilità di realizzare la mia tesi di laurea e per avermi seguito in questo percorso.*

*Un ringraziamento speciale a tutta la mia famiglia, in particolare a mia madre Marzieh, mio fratello Sajjad e mia sorella Sareh per avermi incoraggiato e spronato continuamente in questi anni, trasmettendomi la serenità necessaria per andare avanti.*

*Ringrazio la mia fidanzata Fatemeh per aver sognato con me questo momento, accompagnandomi al raggiungimento di tale obiettivo. Grazie per il supporto e la fiducia trasmessa in questi anni.*

*ringrazio i miei amici e compagni di studio per aver reso divertente e stimolante il tempo trascorso durante questo lungo percorso di studi.*

*E alla fine dedico questa tesi a mio padre Ebrahim.*

*Resta in pace papa.*