



Sveučilište u Zagrebu  
Stomatološki fakultet

Anja Sesar

**USPOREDBA  
ROTACIJSKE I  
RECIPROČNE TEHNIKE  
INSTRUMENTACIJE U  
UKLANJANJU  
BAKTERIJA IZ  
KORIJENSKOGA KANALA  
ZUBA S KRONIČNIM  
APIKALNIM  
PARODONTITISOM**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2024.



Sveučilište u Zagrebu  
Stomatološki fakultet

Anja Sesar

**USPOREDBA  
ROTACIJSKE I  
RECIPROČNE TEHNIKE  
INSTRUMENTACIJE U  
UKLANJANJU  
BAKTERIJA IZ  
KORIJENSKOGA KANALA  
ZUBA S KRONIČNIM  
APIKALNIM  
PARODONTITISOM**

DOKTORSKI RAD

Mentori:

Izv. prof. dr. sc. Ivona Bago, dr. med. dent.

Prof. dr. sc. Ana Budimir, dr. med.

Zagreb, 2024.



University of Zagreb  
School of Dental Medicine

Anja Sesar

**COMPARISON OF  
ROTARY AND  
RECIPROCATING  
INSTRUMENTATION  
TECHNIQUE IN THE  
ERADICATION OF  
BACTERIA FROM THE  
ROOT CANAL OF TEETH  
WITH CHRONICAL  
APICAL PERIODONTITIS**

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisors:

Associate Professor Ivona Bago, PhD

Professor Ana Budimir, PhD

Zagreb, 2024.

Rad je ostvaren na Zavodu za endodonciju i restaurativnu stomatologiju Stomatološkog fakulteta i na Kliničkom zavodu za kliničku i molekularnu mikrobiologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Rad je proveden i financiran u sklopu projekta Hrvatske zaklade za znanost „Kliničko i eksperimentalno istraživanje laserski aktiviranog fotoakustičnog strujanja i fotoaktivirane dezinfekcije u endodontskom liječenju“, voditeljice projekta izv. prof. dr. sc. Ivona Bago

**Lektor hrvatskog jezika:** Blanka Jakobović, profesor hrvatskog jezika i književnosti

**Lektor engleskog jezika:** Zvonka Ivković, profesor engleskog jezika i književnosti

**Sastav Povjerenstva za ocjenu doktorskog rada:**

1. prof. dr. sc. Ivica Anić, predsjednik
2. izv. prof. dr. sc. Eva Klarić, član
3. izv. prof. dr. sc. Zrinka Bošnjak, član

**Sastav Povjerenstva za obranu doktorskog rada:**

1. prof. dr. sc. Ivica Anić, predsjednik
2. izv. prof. dr. sc. Eva Klarić, član
3. izv. prof. dr. sc. Zrinka Bošnjak, član

**Datum obrane rada:** 10.10.2024.

Rad sadrži: 94 stranice

5 tablica

13 slika

1 CD

Rad je vlastito autorsko djelo koje je u potpunosti samostalno napisano uz naznaku izvora drugih autora i dokumenata korištenih u radu. Osim ako nije drukčije navedeno, sve ilustracije (tablice, slike i dr.) u radu su izvorni doprinosi autora poslijediplomskog doktorskog rada. Autor je odgovoran za pribavljanje dopuštenja za korištenje ilustracija koje nisu njegov izvorni

doprinos, kao i za sve eventualne posljedice koje mogu nastati zbog nedopuštenog preuzimanja ilustracija odnosno propusta u navođenju njihovog podrijetla.

## **Zahvala**

Velika hvala mentorici izv.prof.dr.sc. Ivoni Bago na podršci, angažmanu, pomoći, prijateljskim i stručnim savjetima u izradi doktorskog rada.

Zahvaljujem mentorici prof.dr.sc. Ani Budmir na konstruktivnim savjetima i velikoj pomoći.

Hvala dragoj gospođi Jani Škarecki na velikom trudu, savjetima i pomoći za mikrobiološki dio istraživanja.

Neizmjernu zahvalnost dugujem svojim voljenima Mariu, Šimunu i Divi. Vi ste moj vječni kompas, neiscrpna inspiracija, istinska utjeha.

Roditeljima i baki veliko hvala na bezuvjetnoj podršci i neizmjernoj ljubavi.

Hvala obitelji, svim prijateljima i kolegama koji su bili tu za mene i uz mene.

Najveća hvala Njemu, početku i kraju, uvijek i na svemu. Samo On zna.

## Sažetak

### USPOREDBA ROTACIJSKE I RECIPROČNE TEHNIKE INSTRUMENTACIJE U UKLANJANJU BAKTERIJA IZ KORIJENSKOGA KANALA ZUBA S KRONIČNIM APIKALNIM PARODONTITISOM

Svrha doktorskog rada bila je identificirati bakterijske vrste u nekrotičnim kanalima zuba s upalnim periapikalnim procesom, te ispitati antimikrobnu učinkovitost rotacijske i recipročne tehnike instrumentacije kanala u eliminaciji bakterijskih vrsta iz nekrotičnih kanala zuba s kroničnim apikalnim parodontitisom. U istraživanju je sudjelovalo četrdeset pacijenata s nalazom nekrotičnih zuba s kroničnim apikalnim parodontitisom, koji su izabrani temeljem definiranih kriterija uključivanja i isključivanja. Sudionici istraživanja su raspoređeni u jednu od dvije skupine ovisno o tehnici instrumentacije korijenskog kanala: Grupa 1. Wave One Gold; Grupa 2. ProTaper Next. U obje skupine, kanali su tijekom instrumentacije isprani s 2,5 % otopinom natrij hipoklorita (NaOCl), a završni protokol ispiranja uključivao je: 3 ml NaOCl, 2 ml etilendiaminotetraoctena kiselina (EDTA) i 2 ml NaOCl. Kod svih pacijenata provedeno je jednopusjetno endodontsko liječenje zuba s punjenjem kanala tehnikom hladne lateralne kondenzacije i punilom temeljenim na epoksi smoli. Jedan stomatolog je proveo sva endodontska liječenja. Mikrobiološki uzorci iz korijenskog kanala prikupljeni su tehnikom papirnatog štapića tri puta: prije instrumentacije (uzorak 1), nakon kemo-mehaničke obrade (uzorak 2) i nakon završnog ispiranja korijenskog kanala (uzorak 3). Provedena je mikrobiološka analiza, identifikacija bakterija MALDI-TOF masenom spektrometrijom i brojanje kolonija metodom kulture. Za statističku analizu korišten je Wilcoxon test i hi-kvadrat test uz razinu značajnosti od 0.05. Prvi uzorak pokazao je prisutnost 49 aerobnih i anaerobnih bakterijskih vrsta kod pacijenata. Nakon kemo-mehaničke obrade korijenskih kanala Wave One Gold i ProTaper Next tehnikom, broj bakterija je značajno smanjen u obje grupe ( $p < 0,001$ ). Završni protokol ispiranja također je dodatno smanjio broj bakterijskih vrsta u obje grupe ( $p < 0,001$ ). ProTaper Next tehnika i Wave One Gold tehnika pokazale su sličnu učinkovitost u smanjenju broj bakterijakih kolonija ( $p > 0,05$ ). Obje tehnike instrumentacije bile su jednako učinkovite u uklanjanju bakterija iz korijenskih kanala.

**Ključne riječi:** Apikalni parodontitis, bakterije, endodontsko liječenje, rotacijska tehnika, recipročna tehnika

## Summary

### COMPARISON OF ROTARY AND RECIPROCATING INSTRUMENTATION TECHNIQUE IN THE ERADICATION OF BACTERIA FROM THE ROOT CANAL OF TEETH WITH CHRONICAL APICAL PERIODONTITIS

**Aim:** Identify bacterial species in necrotic root canals of teeth with chronic apical periodontitis, and to evaluate the antimicrobial effectiveness of rotary and reciprocating instrumentation techniques in the elimination of bacterial species from necrotic canals of teeth with chronic apical periodontitis.

**Materials and methods:** Forty patients with necrotic teeth with chronic apical periodontitis were selected for this study based on previously defined inclusion and exclusion criteria. After they had signed an informed consent, the participants were included in this clinical study and randomly assigned to one of two experimental groups depending on the root canal instrumentation technique used: Group 1. Wave One Gold technique; Group 2. ProTaper Next instrumentation technique. In both groups, root canals were irrigated with 2.5% sodium hypochlorite (NaOCl) solution during the instrumentation, and then the final irrigation protocol was applied in both groups: 3 ml NaOCl, 2 ml ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and 2 ml NaOCl. A single visit root canal treatment was performed by one doctor of dental medicine, who finished intracanal procedures by the cold lateral condensation technique using an epoxy resin based sealer and gutta-percha. Microbiological samples from the root canal were collected for three times using a paper point technique: before instrumentation (sample 1.), after chemo-mechanical treatment (sample 2.) and after the final irrigation protocol (sample 3.). Microbiological analysis was carried out by identification of bacteria using MALDI-TOF mass spectrometry and colony forming units (CFUs) counting by the culture method. The Wilcoxon and chi-quadrat test were used for statistical analysis with a significance level of 0.05.

**Results:** The first sample showed the presence of aerobic and anaerobic bacterial species in the patients. After chemo-mechanical treatment of root canals with Wave One Gold and ProTaper Next technique, the number of bacteria was significantly reduced in both groups ( $p < 0.001$ ). The final irrigation protocol also further reduced the number of bacterial species in both groups ( $p < 0.001$ ). The ProTaper Next technique and Wave One Gold technique were similarly successful in reducing the number of bacterial colonies ( $p > 0,05$ ).



**Conclusion:** Both root canal instrumentation techniques were effective in removing bacteria from the necrotic canals of teeth with chronic apical periodontitis.

**Keywords:** Apical periodontitis, bacteria, endodontic treatment, rotation instrumentation technique, reciprocating technique

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
1.1. Endodontska infekcija.....	3
1.1.1. Etiologija apikalnog parodontitisa.....	4
1.1.2. Razvoj i patogenost bakterijskog biofilma.....	9
1.1.3. Primarna endodontska infekcija.....	11
1.1.4. Perzistentna i sekundarna endodontska infekcija.....	11
1.2. Kemomehanička obrada endodontskog prostora.....	12
1.2.1. Ograničenje dosadašnjih protokola kemomehaničke obrade korijenskih kanala.....	13
1.2.2. Neuspjeh endodontskog liječenja zuba.....	14
1.2.2.1. Mikrobiološka etiologija neuspjeha endodontskog liječenja.....	15
1.2.2.2. Ishod endodontskog liječenja zuba.....	16
1.3. Mehanička obrada korijenskih kanala.....	17
1.3.1. Rotacijske tehnike obrade kanala.....	18
1.3.1.1. Razvoj rotacijskih tehnika.....	18
1.3.1.2. ProTaper Next tehnika mehaničke obrade korijenskih kanala.....	20
1.3.2. Recipročne tehnike obrade korijenskih kanala.....	21
1.3.2.1. Razvoj recipročnih tehnika obrade korijenskih kanala.....	21
1.3.2.2. Wave One Gold tehnika obrade korijenskih kanala.....	22
1.3.2.3. Dosadašnja istraživanja utjecaja rotacijskih i recipročnih tehnika obrade korijenskih kanala na uspjeh endodontskog liječenja.....	23
1.4. Kemijska obrada endodontskog prostora.....	25
1.4.1. Sredstva za ispiranje korijenskih kanala.....	25
1.4.2. Tehnike ispiranja korijenskih kanala.....	28
1.4.3. Završni protokol ispiranja korijenskog kanala.....	32
1.5. Mikrobiološke metode u dijagnostici endodontske infekcije.....	33
1.5.1. Metoda kulture.....	33
1.5.2. Masena spektrometrija.....	33
1.5.3. Lančana reakcija polimeraze.....	34
1.5.4. Identifikacija bakterija u dosadašnjim kliničkim istraživanjima.....	35

<b>2. CILJEVI I HIPOTEZE</b> .....	37
<b>3. ISPITANICI I POSTUPCI</b> .....	39
3.1. Odabir ispitanika za kliničko istraživanje.....	40
3.2. Klinički postupak endodontskog liječenja.....	41
3.3. Uzimanje mikrobioloških uzoraka iz korijenskih kanala.....	45
3.4. Mikrobiološka analiza uzoraka.....	45
3.4.1. Metoda kulture.....	45
3.4.2. MALDI-TOF identifikacija mikroorganizama.....	46
3.5. Statistička analiza.....	47
<b>4. REZULTATI</b> .....	48
<b>5. RASPRAVA</b> .....	56
<b>6. ZAKLJUČAK</b> .....	63
<b>7. LITERATURA</b> .....	65
<b>8. ŽIVOTOPIS</b> .....	92

## Popis skraćenica

<b>PMN</b>	polimorfonuklearni leukociti
<b>NK</b>	<i>engl. natural killer cells</i>
<b>IL</b>	interleukin
<b>TNF</b>	<i>engl. tumor necrosis factor</i>
<b>CSF</b>	čimbenici stimulacije kolonija
<b>PTN</b>	ProTaper Next
<b>MMP</b>	matriksna metaloproteinaza
<b>AAP</b>	akutni apikalni parodontitis
<b>NaOCl</b>	natrijev hipoklorit
<b>CHX</b>	<i>engl. chlorhexidine</i>
<b>EDTA</b>	etilendiamintetraoctena kiselina
<b>CBCT</b>	<i>engl. Cone Beam Computed Tomography</i>
<b>Ni-Ti</b>	nikal-titan
<b>CW</b>	<i>engl. clock wise</i>
<b>CCW</b>	<i>engl. counterclock wise</i>
<b>WOG</b>	WaveOne Gold
<b>UAI</b>	ultrazvučno aktivirano ispiranje
<b>SAF</b>	<i>engl. Self Adjusting File</i>
<b>MALDI-TOF MS</b>	<i>engl. matrix-assisted laser desorption-ionization time-of flight mass spectrometry</i>
<b>PCR</b>	<i>engl. polymerase chain reaction</i>
<b>rt PCR</b>	<i>engl. real time polymerase chain reaction</i>
<b>HCCA</b>	<i>engl. <math>\alpha</math>-cyano-4-hydroxycinnamic acid</i>



Apikalni parodontitis je upala periapikalnog parodontnog tkiva zuba uzrokovana mikroorganizmima u korijenskom kanalu. Karakterizira ga nespecifična bakterijska etiologija, visok stupanj različitosti mikroorganizama, stvaranje visokorezistentnih bakterijskih biofilmova kod dugotrajnih intrakanalnih infekcija. Cilj endodontskog liječenja je ukloniti mikroorganizme i iritanse iz korijenskog kanala zuba i suzbiti infekciju ili reinfekciju endodontskog prostora i periradikularnih tkiva. Dosadašnja istraživanja su pokazala da postoji direktna povezanost uspješnosti endodontskog liječenja s brojem bakterija u korijenskom kanalu neposredno prije samog punjenja (1). Niti jedan protokol obrade korijenskog kanala ne može sterilizirati korijenski kanal zuba pa je realan cilj maksimalno smanjenje broja mikroorganizama na vrijednosti kod kojih će započeti cijeljenje periapikalne lezije. Različite tehnike instrumentacije korijenskih kanala uklanjaju sličnu količinu inficiranog dentina, ali 35%-45% intrakanalnog zida ostaje neinstrumentirano (2). Niti jedna tehnika instrumentacije ne osigurava potpunu eradikaciju bakterija iz korijenskog kanala zuba neovisno o anatomiji korijenskog kanala. Nakon mehaničke obrade korijenskog kanala u kombinaciji s ispiranjem fiziološkom otopinom, 80 % korijenskih kanala i dalje imaju prisutne mikroorganizme, a nakon 48 sati (višeposjetna endodoncija), 95 % korijenskih kanala pokazuje prisutne bakterije (3).

Nakon rotacijskih i recipročnih tehnika instrumentacije, 50% korijenskih kanala i dalje ostaje inficirano (4). Uspješna instrumentacija korijenskog kanala podrazumijeva: postizanje stalnog koniciteta kanalnog sustava, zadržavanje originalnog kanalnog oblika i položaja apikalnog otvora, glatke intrakanalne zidove i formiranje apikalnog stopa (5).

## **1.1. Endodontska infekcija**

U usnoj šupljini čovjeka do sada je otkriveno više od 700 različitih vrsta mikroorganizama (bakterije, gljivice, spirohete, mikoplazme) (6). Bakterije su najrašireniji i dominantni mikroorganizmi u endodontskim infekcijama, ali su otkriveni virusi, gljivice i arachea (7).

Anatomska građa usne šupljine i oksidoredukcijski potencijal medija u kojem se razmnožavaju određuju njihovu lokalizaciju u ustima kao i sposobnost razmnožavanja. Caklina i cement štite zubnu pulpu i dentin od oralnih mikroorganizama u normalnim uvjetima, ali narušavanjem integriteta zaštitinih slojeva, pulpo-dentinski kompleks postaje izložen oralnim mikroorganizmima i riziku nastanka intrakanalne infekcije. Apikalni otvor i lateralni kanali predstavljaju put ulaska mikroorganizama iz korijenskog kanala u periradikularna tkiva te na taj način uzrokuju razvoj upalnih promjena. Rezultat patogenog djelovanja mikroorganizama i imunološkog odgovora domaćina su pulpne i periradikularne bolesti.

Dentinski tubulusi, izloženo pulpno tkivo, lateralni i akcesorni kanalići ili anahoreza predstavljaju glavni put ulaza mikroorganizama u zubnu pulpu. Zubna pulpa može biti direktno izložena mikroorganizmima zbog karijesa, abrazije, atricije, traume ili lomova restaurativnih materijala. Promjer dentinskih tubulusa uz caklinu i dentin je otprilike 0.9  $\mu\text{m}$ , a promjer većine oralnih bakterija iznosi (0,2-0.7  $\mu\text{m}$ ) (8). Reparatorni dentin ispod karijesne lezije, sklerozacija dentina, pomak dentinske tekućine i intrakanalno nakupljanje imunoglobulina ograničava prodor bakterija u zubnu pulpu (9). Zbog nedostatka zaštitinog mehanizma pulpo-dentinskog kompleksa prodor mikroorganizama kroz dentinske tubuluse znatno je brži u nekrotičnoj pulpi. Posljedica karijesa ili traume, izloženost je zubne pulpe usnoj šupljini te dolazi do razvoja upale i nekroze. Duboki paradontni džepovi također mogu oštetiti glavne krvne žile i dovesti do nastanka nekroze (10). Endodontske infekcije su mješovite, može biti prisutno više različitih vrsta aeroba, fakultativnih ili striktnih anaeroba (11). Endodontske infekcije prema anatomskom smještaju dijelimo na intraradikularne i ekstraradikularne. Intraradikularna infekcija nastaje kada mikroorganizmi koloniziraju korijenski kanal, dijelimo ju na primarnu, sekundarnu i perzistirajuću. Anaerobne, fakultativno anaerobne i mikroaerofilne vrste nalaze se u primarnoj intrakanalnoj infekciji (12). Mikroorganizmi se većinom nalaze u glavnom korijenskom kanalu, a manji broj prodire u dentinske tubuluse i lateralne kanaliće. Interakcije među mikroorganizmima, dostupna prehrana, tlak kisika i redoks potencijal čimbenici su koji utječu na sastav mikrobne zajednice u nekrotičnim korijenskim kanalima. U ranijim fazama infekcije prevladavaju fakultativne bakterije, a kasnije se razvija se anaerobna sredina u kojoj

dominiraju strikno anaerobne vrste. Naseljavanjem bakterija koje nisu bile prisutne u inicijalnoj kolonizaciji u endodontski prostor zuba nastaje sekundarna intrakanalna infekcija. Nastaje za vrijeme endodontskog liječenja, između dvije posjete ili nakon punjenja korijenskog kanala.

Do perzistentne intrakanalne infekcije dolazi kada mikroorganizmi uključeni u primarnu ili sekundarnu infekciju penetriraju dentinske tubulose i lateralne kanaliće gdje postanu izolirani od djelovanja antimikrobnih sredstava te na taj način rekoloniziraju površinu radikularnog dentina već liječenog korijenskog kanala. U 50-80% zubi s apikalnim parodontitisom otkriveni su mikroorganizmi u dentinskim tubulusima i lateralnim kanalićima (13). *Propionibacterium endodontalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinomyces israeli*, *Porphyromonas gingivalis* i *Enterococcus faecalis* infiltriraju dentinske tubulose nakon 21 dan (14).

Ekstraradikalarna infekcija nastaje kao rezultat intraradikalne infekcije gdje bakterije invadiraju u upalno promjenjeno periradikalno tkivo. Za ekstradikalnu infekciju karakteristične su anaerobne bakterije: *Actinomyces*, *Propionibacterium propionicum*, *Treponema*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema forsythia*, *Prevotella*, *Fusobacterium nucleatum* (15).

### **1.1.1. Etologija apikalnog parodontitisa**

Apikalni parodontitis karakterizira upala periapikalnog tkiva nastala kao posljedica polimikrobne infekcije unutar korijenskog kanala. Obično je to nastavak endodontske infekcije. U početku je pulpa inficirana i nekrotična autogenom oralnom mikroflorom. Endodontsko okruženje pruža selektivno stanište za uspostavljanje mješovite, pretežito anaerobne, mikroflore. Polimikrobnu zajednicu u korijenskom kanalu karakteriziraju biološka i patogena svojstva, a to su kemotaksija, antigenost, mitogena aktivnost, enzimatsko djelovanje i aktivacija stanica domaćina. Bakterije invadiraju korijenski kanal, stanice domaćina aktiviraju niz obrambenih mehanizama koji se sastoje od međustaničnih glasnika, antitijela i efektorskih molekula. Bakterije nailaze na obrambene stanice organizma, dolazi do uništenja periapikalnog tkiva što rezultira stvaranjem različitih kategorija apikalnog parodontitisa. Unatoč snažnoj obrambenoj aktivnosti organizma, tijelo nije u stanju uništiti bakterije dobro ukorijenjene unutar nekrotičnog korijenskog kanala. Liječenje apikalnog parodontitisa podrazumijeva uklanjanje infekcije iz korijenskog kanala i sprječavanje ponovne reinfekcije, odnosno hermetičko brtvljenje korijenskog kanala. Prisutnost nekoliko različitih vrsta bakterija u nekrotičnoj zubnoj pulpi dokazana je prije više od jednog stoljeća (16). Također je utvrđeno veliko značenje obligatnih anaeroba u endodontskim infekcijama (17). Sundqvist i suradnici



pronašli su u 18 od 19 inficiranih korijenskih kanala s intaktnom zubnom krunom mješovitu bakterijsku floru koja se sastojala pretežito od striktnih anaeroba (18). U nizu patobioloških studija određeni su uvjeti pod kojima se razvija i uspostavlja endodontska flora te biološka svojstva i endodontski uvjeti koji mogu pogodovati flori korijenskog kanala da postane patogena (19). Najčešći izvori infekcije zubne pulpe su karijes, klinički postupci te trauma zuba. Nekoliko studija pokazuje kako su bakterije izolirane iz zuba s nekrotičnom pulpom i klinički intaktnom krunom zuba (20-22). Zubi se mogu činiti klinički netaknutima, ali mikro pukotine tvrdih zubnih tkiva omogućuju ulaz bakterijama. Infekcija pulpe nastaje kao posljedica prodora bakterija iz gingivnog sulkusa ili parodontnih džepova, kroz dentinske tubuluse ili putem anahoreze. U mikrobnjoj flori korijenskog kanala zubi s intaktnom krunom zuba i nekrotičnom pulpom te zahvaćenim periapeksom, dominiraju anaerobi: *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Eubacterium* i *Peptostreptococcus* (23-25). Svaka bakterija koja zahvati korijenski kanal može izazvati periapeksnu upalu. Apikalni parodontitis posljedica je djelovanja između mikroorganizama unutar korijenskog kanala i obrane domaćina koji uključuje stanice, intracelularne medijatore, metabolite, efektorske molekule i humoralna antitijela (26). Stanice obrambenog sustava koje sudjeluju u periapeksnoj upali su polimorfonuklearni leukociti (PMN), limfociti, plazma stanice i monociti/makrofagi. Stashenko i sur. (27) dokazali su važnost PMN-a i monocita u apikalnom parodontitisu. Interakcija PMN-a s mikroorganizmima od posebne je važnosti u napredovanju parodontitisa. Iako su PMN zaštitne stanice, one uzrokuju ozbiljna oštećenja tkiva domaćina. Njihove citoplazmatske granule sadrže nekoliko enzima koji, nakon otpuštanja, razgrađuju strukturne elemente tkivnih stanica i izvanstaničnog matriksa (28,29). Budući da su PMN stanice kratkog životnog vijeka, umiru u velikom broju na mjestu akutne upale. Stoga su nakupljanje i masivna smrt neutrofila glavni uzrok razgradnje tkiva u akutnoj fazi apikalnog parodontitisa. Između tri vrste limfocita, T-limfocita, B-limfocita i stanice ubojice (engl. natural killer cells) (NK stanice) koje imaju glavnu ulogu u upalnim procesima, samo su T i B limfociti važni za nastanak apikalnog parodontitisa. Glavni zadatak NK stanica je nadzor i uništavanje virusom inficiranih i neoplastičnih stanica. Stanice nastaju iz koštane srži, morfološki su identične, ali njihov razvojni proces i diferencijacija nisu isti. Limfociti T nastaju u koštanoj srži, putuju u timus gdje prolaze diferencijaciju i selekciju, nakon čega napuštaju timus i odlaze u perifernu cirkulaciju i limfoidna tkiva. Stoga razlikujemo CD4+ (pomagačke) stanice koje surađuju s B stanicama, a njihov zadatak je regulirati imunski odgovor i izlučivanje citokina. Stanice s direktnim toksičnim i supresivnim djelovanjem na ostale stanice su CD8+ (citotoksične) stanice. CD4+ stanice možemo podijeliti na Th1 i Th2 stanice. Th1 stanice stvaraju IL-2 i gama interferon (IFN-gama) i sudjeluju u kontroli staničnih

elemenata imunosnog sustava. Th2 stanice luče IL-4, IL-5, IL-6 i IL-10 koji su zaduženi za kontrolu humoralnog imunosnog odgovora. Uloga limfocita B je diferencijacija u plazma stanice koje su odgovorne za lučenje antitijela (30). Makrofazi su glavne diferencijalne stanice monoklonskog fagocitnog sustava, aktiviraju ih mikroorganizmi, njihovi produkti, kemijski medijatori ili strane čestice. Među različitim molekularnim medijatorima, koje izlučuju makrofazi, od posebne važnosti u apikalnom parodontitisu su citokini IL-1, TNF- $\alpha$  (*engl. tumor necrosis factor- $\alpha$* ), interferoni i čimbenici rasta. Oni također doprinose serumskim komponentama i metabolitima, kao što su prostaglandini i leukotrieni, koji su važni u upalama. Osteoklastična destrukcija kosti i tvrdih zubnih tkiva glavni je patološki događaj apikalnog parodontitisa. Proosteoklasti migriraju krvlju kao monociti u periradikalna tkiva i pričvršćuju se na površinu kosti. Oni ostaju u stanju mirovanja dok im osteoblasti ne signaliziraju da je vrijeme za proliferaciju. Nekoliko stanica kćeri stapaju se u višejezgrene osteoklaste koji se šire po ozlijeđenoj i izloženoj površini kosti. Citoplazmatska granica osteoklasta okrenuta prema koštanoj površini postaje naborana kao rezultat višestrukog savijanja plazma membrane. Resorpcija kosti odvija se ispod naboranog ruba koji se naziva subosteoklastični resorpcijski odjeljak. Na periferiji se nalazi citoplazmatska „čista zona“ visoko specijalizirano područje koje regulira biokemijske aktivnosti uključene u razgradnju kosti. Oko 30-50% svih lezija apikalnog parodontitisa sadrži proliferirajući epitel (31). Tijekom periapikalne upale, vjeruje se da su ostatci stimulirani citokinima i faktorima rasta, podliježu diobi i proliferaciji, procesu koji se obično opisuje kao „upalna hiperplazija“. Ove stanice sudjeluju u patogenezi radikularnih cista služeći kao izvor epitela. Međutim, stanice cilijarnog epitela također se nalaze u periapikalnim lezijama, osobito u lezijama koje zahvaćaju maksilarne molare. Pretpostavlja se da je epitel maksilarnog sinusa izvor tih stanica (32). Nekoliko citokina, eikosanoida, efektorskih molekula i antitijela uključeno je u patogenezu i progresiju apikalnog parodontitisa. Protuupalni i kemotaktični citokini uključuju interleukine IL-1, IL-6, IL-8 i faktore tumorske nekroze TNF (33). Sistemske učinci IL-1 identični su onima opaženim kod toksičnog šoka. Lokalni učinci uključuju pojačanu adheziju leukocita na stijenke nedotela, stimulaciju limfocita, potenciranje neutrofila, aktivaciju proizvodnje prostaglandina i proteolitičkih enzima, pojačanu resorpciju kosti i inhibiciju stvaranja kosti. IL-1 $\beta$  je dominantan oblik koji se nalazi u ljudskim periapikalnim lezijama i njihovim eksudatima (34-36). IL-6 proizvode i limfoide i nelimfoidne stanice pod utjecajem IL-1, TNF- $\alpha$  i IFN- $\gamma$ . On smanjuje proizvodnju i suzbija neke od učinaka IL-1. IL-6 je dokazan u periapikalnim lezijama i u upaljenim parodontnim tkivima (37-38).

IL-8 pripada kemotaktičnim citokinima koje proizvode monociti/makrofagi i fibroblasti pod utjecajem IL-1 $\beta$  i TNF- $\alpha$ . Masivna infiltracija neutrofila karakteristična je za akutnu fazu apikalnog parodontitisa, za koju je važan IL-8. TNF ima izravan citotoksični i općenito oslabljujući učinak kod kroničnih bolesti. TNF- $\alpha$  i TNF- $\beta$  imaju brojne sistemske i lokalne učinke slične onima IL-1. Prisutnost TNF- $\alpha$  zabilježena je kod korijenskih kanala zubi s apikalnim parodontitisom (36). IFN pripadaju skupini citokina. Dijelimo ih na IFN-alfa, IFN-beta i IFN-gama proteine. Uloga IFN-alfa i IFN-beta je proizvodnja makrofaga i B-limfocita, za razliku od IFN-gama čija je uloga proizvodnja virusnih stanica i T-limfocita (30). CSF su citokini čija je uloga regulacija proliferacije i diferencijacije hematopoetskih stanica. Ovi čimbenici stimuliraju proliferaciju PMN-a i prekursora osteoklasta u koštanoj srži. Stvaraju ih osteoblasti te na taj način sudjeluju u međusobnoj interakciji osteoblasta i osteoklasta u procesu resorpcije kosti (30). Faktori rasta su proteini koji reguliraju rast i diferencijaciju nehematopoetskih stanica. Od TGF-alfa i TGF-beta stanica, TGF-beta stanice bitne su u apikalnom parodontitisu zbog značajne uloge u nastanku upalnog odgovora domaćina. Stvaraju ih trombociti te sudjeluju u aktivaciji makrofaga, proliferaciji fibroblasta, sintezi vezivnog tkiva, angiogenezi, cijeljenju te smanjenju brojnih funkcija T-limfocita (30). Eikozanoidi (C20 molekule) su derivati arahidonske kiseline koja je oslobođena iz fosfolipida stanične membrane djelovanjem fosfolipaze A2 te dalje prerađena uz katalitičko djelovanje lipooksigenaza u LT, odnosno ciklooksigenaze (COX) u PG (30). Prostaglandini i leukotrieni dvije su glavne skupine eikozanoida uključenih u upalu. Prostaglandini PGE2 i PGI2 aktiviraju osteoklaste. U akutnom apikalnom parodontitisu izlučivanjem PGE2, iz makrofaga na podražaj bakterija dolazi do značajne resorpcije kosti. COX-1 ima bitnu ulogu u stvaranju PGE2 na fiziološkoj razini te za zaštitu želučane sluznice i zgrušavanje trombocita. U akutnom apikalnom parodontitisu nalazimo vrlo visoku razinu PGE2 (39). Proinflamatornim citokinima (IL-1, TNF) COX-1 se ne aktivira te COX-2 ne povećava razinu PGE2 u upali. Inhibitori sinteze PGE2 koji koče djelovanje COX-2 i COX-1 jesu nesteroidni antiupalni lijekovi, NSAIL. Oni djeluju na smanjenje upalnog procesa i apikalne resorpcije kosti (40). Leukotrien LTB4, snažan kemotaktički agens za PMN, uzrokuje njihovu adheziju na stijenku endotela. U simptomatskom apikalnom parodontitisu LTB4 i LTC4 nalaze se u velikim koncentracijama (41). U najranijoj fazi patohistoloških promjena apikalnog parodontitisa dolazi do destrukcije ekstracelularnog matriksa koja nastaje zbog enzimima koje luče efektorske molekule. Osteoklastični put, fagocitotički put, put ovisan o plazminogenu i put reguliran matriksnom metaloproteinazom MMP glavni su putevi degradacije (30). Plazma stanice stvaraju antitijela. Imunoglobulini su

nađeni u ekstracelularnim tkivima apikalnog parodontitisa (i to pretežno IgG). Zbog bakterijskog LPS-a njihova koncentracija u apikalnom parodontitisu može biti niska jer se taj endotoksin ponaša kao antigen ili mitogen. Primarni apikalni parodontitis uzrokovan je mikroorganizmima koji se nalaze u korijenskom kanalu ili invadiraju iz korijenskog kanala u periapikalna tkiva. Upala također može biti izazvana traumom, ozljedom zbog puknuća instrumenta, iritacijom irigacijskim sredstvima ili endodontskim materijalima, od kojih svaki može izazvati intenzivan odgovor organizma kratkog trajanja. Dolazi do pojave kliničkih simptoma kao što su bol te osjetljivost zuba na pritisak. Takve se početne simptomatske lezije nazivaju akutni apikalni parodontitis (AAP). Odgovor tkiva ograničen je na parodontni ligament i spongiozu. Pokreće se tipičnim neurovaskularnim odgovorom upale, što dovodi do hiperemije, vaskularnog odgovora, edema parodontnog ligamenta i ekstravazacije neutrofila. Budući da cjelovitost kosti, cementa i dentina još nije poremećena, periapikalne promjene radiografski u ovom stadiju se ne mogu detektirati. Ako neefektivni iritansi izazovu upalu, lezija se može povući, a struktura apikalnog parodonta se može obnoviti (43). Ukoliko dođe do infekcije, neutrofili otpuštaju leukotriene i prostaglandine. Aktivacijom osteoklasta već za nekoliko dana na rendgenskoj snimci je vidljiv gubitak kosti, ali samo u periapikalnom području, iako je već dobar dio okolne kosti u području periapeksa resorbiran. U akutnoj fazi upale veliki broj PMN biva uništen te pritom otpuštajući enzime zapravo sprječava daljnje širenje infekcije. Makrofazi naseljavaju periapeks u kasnoj fazi akutne upale, proizvodeći proinflamatorne (IL-1, IL-6 i TNF-alfa) i kemotaktičke (IL-8) citokine. Citokini pojačavaju lokalni vaskularni odgovor, osteoklastičnu resorpciju kosti i razaraju ekstracelularno tkivo. Pojačan akutni upalni odgovor kasnije rezultat je djelovanja kompleksa antigen - antitijelo. Daljnjim napredovanjem akutnog apikalnog procesa, ovisno o interakciji između obrane i mikroorganizama, može doći do spontanog cijeljenja (ako odmah eliminiramo iritanse), pojačanja i progresije infekcije na kost što dovodi do nastanka akutnog apikalnog apscesa, kroničnog apscesa (fistule, sinus trakta) ili proces postaje kroničan (30). Ukoliko su u endodontskom prostoru mikrobnii iritansi i dalje prisutni dolazi do promjene lezije kojom dominiraju neutrofili u leziju bogatu makrofagima, limfocitima i plazma stanicama, inkapsuliranu u kolageno vezivno tkivo te dolazi do nastanka kroničnog apikalnog parodontitisa. Klinički znakovi kroničnog apikalnog parodontitisa su asimptomatski jer je odnos između uzročnika i obrane domaćina uravnotežen. Limfociti daljnjim razvojem upale bivaju potaknuti proinflamatornim citokinima (IL-1, IL-6, TNF-alfa) koje proizvode makrofazi. Aktivirani T-limfociti proizvode različite citokine koji sudjeluju u regulaciji proinflamatornih citokina te ujedno dovode do supresije osteoklastične aktivnosti i smanjene resorpcije kosti.

Kronične lezije mogu dugo vremena biti bez simptoma, mirovati, bez vidljivih većih radioloških promjena (30). Bakterije obično naseljavaju područje apikalnog foramena. Ukoliko dođe do narušavanja ravnoteže koja biva pogodovana invazijom mikroba u periapikalno područje, ona postaje akutna s već ponavljajućim simptomima (sekundarni ili egzacerbirajući akutni paradontitis ili feniks apsces). Posljedično tome mikroorganizmi mogu biti nađeni ekstraradikularno tijekom akutnih egzacerbirajućih epizoda s mogućnošću brzog širenja radiolucentne lezije koja uzrokuje apikalnu resorpciju kosti (30). Patohistološki sastoji se od granulomatoznog tkiva s infiltriranim stanicama, fibroblastima i čvrstom fibroznom kapsulom. Proliferacijom epitelnih stanica stvara se nepravilna epitelna masa unutar koje se nalazi kapsulirano vaskularno i infiltrativno vezivno tkivo (30). Periapikalne ciste nastaju kao posljedica kroničnog apikalnog paradontitisa, no ne razvija se svaka kronična lezija u cistu. Nair i sur. (44) pokazali su da pojavnost cista među lezijama apikalnog paradontitisa varira od 6 do 55 %. Postoje dvije različite kategorije radikularnih cista, one koje sadrže šupljine potpuno zatvorene epitelnom ovojnicom te se nazivaju prave periapikalne ciste i one koje sadrže šupljine obložene epitelom koje su otvorene prema korijenskim kanalima te se nazivaju periapikalne „pocket“ ciste. Radiološki ne postoji način razlikovanja prave od „pocket“ ciste (30). Prava cistu čine cistične šupljine, epitelnog cističnog zida, ekstraepitelnog tkiva i kapsule građene od kolagena. Unutar nje nalazimo nekrotično tkivo i poneke kolesterolske nakupine te eritrocite. Lezija prave periapikalne ciste ne ovisi o prisutnosti ili odsutnosti infekcije u korijenskom kanalu, malo je vjerojatno da se može izliječiti konzervativnim putem, stoga je pristup liječenju prave ciste kirurški (cistektomija) ukoliko nakon konzervativnog liječenja ne vidimo radiološko cijeljenje kosti (45). Periapikalna pocket cista nastaje kao odgovor na bakterijsku invaziju, posljedično čime dolazi do nakupljanja PMN-a oko područja apikalnog foramena.

### **1.1.2. Razvoj i patogenost bakterijskog biofilma**

Dinamične zajednice mikroorganizama koje se nalaze unutar oblikovanog matriksa, a čvrsto su vezani za podlogu nazivaju se biofilmovima. Mikroorganizmi unutar biofilmova imaju sposobnost samoorganizacije i međuovisnog suživota, otporni su na okolišne čimbenike, komunikacije unutar jedne vrste ili između različitih vrsta. Ekstracelularni polisaharidni matriks štiti bakterije od raznih stresova ih okoliša kao što su promjene pH, osmotske promjene, UV zračenje i djelovanje antimikrobnih sredstava (46-47). „Quorum sensing“ je način komunikacije mikroorganizama unutar biofilma signalnim molekulama koje reguliraju ekspresiju specifičnih gena te tako razvijaju rezistenciju na antibiotike, preživljavaju u uvjetima

visokog pH ili nedostatka hrane (48). Nekrotična pulpa unutar korijenskog kanala pruža bakterijama anaerobnu okolinu bogatu hranom i zaštitu od imunološkog sustava zbog izostanka mikrocirkulacije. Takvi uvjeti omogućuju bakterijama funkcioniranje poput planktonskih stanica ili kao agregati i koagregati adheziju na stijenke korijenskog kanala stvarajući višeslojne biofilmove (49). Nakon prve invazije fakultativnih anaeroba u pulpu započinje formiranje biofilma u korijenskom kanalu. Kao rezultat metabolizma fakultativnih bakterija, nakon nekoliko dana ili tjedana, dolazi do formiranja anaerobne sredine s malim redoks potencijalom i manjkom hranjivih tvari gdje prevladavaju striktni anaerobi. Takni proteinski sloj stvara se na stijenakama radikularnog dentina u prvoj fazi formiranja biofilma. Čimbenici koji utječu na dolazak primarnih kolonizatora na proteinski sloj su lokalni pH, temperatura, hrana, vrsta bakterije, površinski naboj, tijek tekućine i stadij rasta bakterija. Primarni kolonizatori te njihovo nespecifično vezanje privlače sekundarne kolonizatore te nastaju prve mikrokolonije u obliku tornjeva s lateralnim i vertikalnim rastom (50). Interakcija među bakterijama ostvaruje se u obliku koadhezije i koagregacije za vrijeme formiranja biofilma. Koadhezija je prepoznavanje mikroorganizama koji je već pričvršćen na podlogu, a koagregacija je prepoznavanje genetski različitih mikroorganizama i njihovo oblikovanje u skupine. Ako se pojedini mikroorganizmi odvoje od biofilma i postanu planktonske stanice zbog hidrolizeekstracelularnog polisaharidnog matriksa mogu uzrokovati perzistirajuće infekcije (51). Endodontski biofilm može biti prema mjestu na kojem nastaje intrakanalni, ekstraradikularni i periapikalni. Na dentinskim stijenakama korijenskog kanala stvara se intrakanalni biofilm, a čine ga nakupine koka, filamentoznih bakterija i spiroheta u obliku palisada. Na površini korijena zuba uz apikalni otvor inficiranog korijenskog kanala nastaje ekstraradikularni biofilm. Povezan je s asimptomatskim apikalnim parodontitisom i kroničnim apikalnim apscesom. Najčešće bakterije su *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* i *Tannerella forsythia*. Unatoč kvalitetno provedenom endodontskom tretmanu, ekstraradikularni biofilm može kalcificirati i odgoditi cijeljenje (52). U periapikalnoj regiji zuba s inficiranim korijenskim kanalom nastaje periapikalni biofilm koji može i ne mora ovisiti o infekciji korijenskih kanala. Bakterije najčešće prisutne u periapikalnom biofilmu su *Actinomyces species* i *Propionobacterium propionicum* (53).

### **1.1.3. Primarna endodontska infekcija**

Primarna endodontska infekcija uzrokovana je mikroorganizmima koji inicijalno naseljavaju i koloniziraju nekrotičnu zubnu pulpu, to je polimikrobna infekcija u kojoj dominiraju anaerobne bakterijske vrste (54). Istraživanja su pokazala prisutnost 3-6, a nekad i do 12 bakterijskih vrsta u kanalima s primarnom endodontskom infekcijom (55-57). Obzirom na ograničenja mikrobioloških metoda u vidu nemogućnosti izolacije pojedinih bakterijskih vrsta, istraživanja su pokazala da broj različitih vrsta mikroorganizama u korijenskom kanalu s primarnom infekcijom doseže 10-30 pa čak i do 50 vrsta (58). Broj mikroorganizama doseže od  $10^2$  do  $10^7$  po korijenskom kanalu (59). U početku unutar korijenskog kanala dominiraju fakultativni anaerobi, a kasnije kada se stvore anaerobni uvjeti nalazimo striktno anaerobe (60). Specifični mikroorganizmi koji dominiraju u primarnoj bakterijskoj infekciji su bakterijske vrste roda *Prevotella* (*Prevotella denticola*, *Prevotella nigrescens*, *Prevotella multissacharivorax*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella tannarae*, *Prevotella baroniae*), *Porphyromonas* (*Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*), *Fusobacterium* (*Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium periodonticum*), *Parvimonas micra*, *Streptococcus* spp. (*Streptococcus anginosus*, *Streptococcus mitis* i *Streptococcus sanguinis*) *Enterococcus faecalis*, *Tannerella forsythia*- parodontni patogen koji može uzrokovati endodontske infekcije, *Dialister* vrste (*Dialister pneumosintes* i *Dialister invisus*), *Treponema* (*Treponema denticola*, *Treponema sokranskii*, *Treponema parvum*, *Treponema maltophilum* i *Treponema lecithinolyticum*) (61-64). Uzročnici parodontnih bolesti su i endodontski mikroorganizmi, s tim da je izuzetak *Actinomyces actinomycetemcomitans*, uzročnik juvenilnog parodontitisa, vrlo rijetko se nalazi unutar korijenskog kanala zuba (65). Kvasci, virusi i arhebakterije imaju također ulogu u nastanku primarne endodontske infekcije (64).

### **1.1.4. Perzistentna i sekundarna endodontska infekcija**

Bakterijske vrste koje su prisutne u korijenskom kanalu i nakon kemomehaničke obrade uzrokuju perzistentnu endodontsku infekciju. Čimbenici koji pridonose nastanku perzistentne endodontske infekcije uključuju ekstraradikularne infekcije, intraradikularne infekcije, ciste ili strana tijela u području periapeksa zuba (66). Mikroorganizmi imaju sposobnost prilagodbe promijenjenim uvjetima unutar korijenskog kanala i nakon punjenja, što je virulencija mikroorganizama veća, potreban je manji broj za ponovni razvoj infekcije. Imuni odgovor

domaćina isto utječe na razvoj infekcije (67). Bakterije u obliku organiziranih biofilmova preživljavaju unutar korijenskog kanala duboko ukorjenjene unutar dentinskih tubulusa i teško dostupnih dijelova te su na taj način zaštićene od mehaničke obrade i djelovanja irigacijskih sredstava (68). *Enterococcus faecalis* i *Candida albicans* najčešće su izolirani mikroorganizmi iz zuba s perzistentnom infekcijom (69). Prema Siqueiri i suradnicima, *Enterococcus faecalis* pronađen je u perzistentnim infekcijama u 45,8-79,5 % , a *Candida albicans* u gotovo 37 % slučajeva (70). Mikroorganizmi koji se nisu nalazili u primarnoj infekciji, a tijekom endodontskog zahvata su kolonizirali korijenski kanal ili su dospjeli u korijenski kanal između dvije posjete ili nakon završetka zahvata uzrokuju sekundarnu bakterijsku infekciju (71). Neadekvatna izolacija radnog polja, zubni kamenac, karijes, kontaminirani endodontski instrumenti ili intrakanalni irigansi te razidualni biofilmovi glavni su razlog kolonizacije mikroorganizama (71). Kolonizacija mikroorganizama za vrijeme višeposjetnog endodontskog liječenja posljedica je propuštanja ili puknuća privremenog ispuna. Mikroorganizmi prodiru u dentinske tubuluse i lateralne kanale te na taj način rekoloniziraju kanal zuba koji je napunjen te posljedično dolazi do prelaska iz sekundarne u perzistentnu endodontsku infekciju.

## **1.2. Kemomehanička obrada endodontskog prostora**

Cilj mehaničke obrade korijenskog kanala je ručnim ili strojnim endodontskim instrumentima oblikovati i pripremiti korijenski kanal za konačno punjenje, a podrazumijeva postupak čišćenja, širenja te oblikovanja korijenskog kanala. Uspješna instrumentacija korijenskog kanala implicira kanalni sustav stalnog koniciteta, glatke kanalne stijenke, zadržavanje izvornog oblika korijenskog kanala i položaja apeksnog otvora te apikalni stop (72). Složena anatomija endodontskog prostora nam često ograničava postupke kemomehaničke obrade korijenskih kanala. Istraživanja su pokazala da nakon mehaničke instrumentacije u 80% korijenskih kanala nalazimo prisutnost mikroorganizama (73). Obzirom da je mehanička instrumentacija nedostatna za uklanjanje mikroorganizama iz korijenskog kanala, kao dodatak potrebna su kemijska sredstva kao irigansi korijenskih kanala. Mehanička obrada i irigacija neizostavni su dio endodontskog zahvata, međusobno se nadopunjuju te ih zajednički nazivamo kemomehanička obrada korijenskih kanala. Idealne karakteristike irigacijskih sredstava podrazumijevaju netoksičnost, trebaju pokrivati široki spektar djelovanja, otapati ili prevenirati zaostali sloj, inaktivirati bakterijske endotoksine, otapati nekrotično tkivo (74). Irigacijska sredstva koja najčešće danas koristimo su: natrijev hipoklorit (NaOCl), klorheksidin (CHX), kombinirani preparati i kelatori (74). NaOCl predstavlja zlatni standard među irigacijskim



sredstvima, karakterizira ga dobra antimikrobna učinkovitost kao i sposobnost otapanja nekrotičnog tkiva (75). Dostupan je u koncentraciji od 0,5-5,25%. Kaustično i toksično djelovanje nedostatak su NaOCl-a (76). CHX je antiseptik iz skupine polibisgvanida, a koristi se koncentracija od 2 % u endodontskom liječenju. Obzirom da nema učinak u otapanju nekrotičnog tkiva te slabije utječe na gram negativne bakterije ne može zamijeniti NaOCl iako se preporučuje kao sredstvo završnog ispiranja korijenskog kanala (77). Obzirom da NaOCl tijekom endodontskog zahvata ne može otopiti anorganske ostatke dentina, sredstva izbora su kelatori etilendiamintetraoctena kiselina (EDTA) i limunska kiselina (78). Na tržištu su dostupni i kombinirani preparati QMiX (Dentsply Tulsa Dental Specialities, Tulsa, OK, SAD) i MTAD (Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, OK, SAD). MTAD je kombinacija detrgenta, limunske kiseline i tetraciklina s dobrim antimikrobnim djelovanjem, upotrebljava se na kraju instrumentacije za otapanje zaostatnog sloja (79). QMIX je kombinacija detrgenta, CHX-a i EDTA, upotrebljava se kod završnog ispiranja korijenskog kanala. Kemomehaničkom obradom iz korijenskog kanala se uspješno eliminiraju obligatni anaerobi dok fakultativni mikroorganizmi pokazuju otpornost i sposobnost preživljavanja kemomehaničke obrade (80).

### **1.2.1. Ograničenje kemomehaničke obrade korijenskih kanala**

Cilj mehaničke obrade korijenskih kanala je uklanjanje inficiranog i nekrotičnog pulpnoga tkiva te pravilno oblikovnje, čišćenje i širenje korijenskih kanala. Instrumentacija korijenskih kanala može se provoditi ručnim ili strojnim instrumentima, a uključuje različite tehnike. Svaka tehnika instrumentacije kanala ima svoje prednosti, ali i ograničenja kao što su nastanak zaostatnog sloja i dentinskog debrisa i slabljenje same strukture korijena koja može dovesti do ijtrogene perforacije, rizika od nastanka vertikalne frakture i transpozicije apeksa (81). Istraživanja su pokazala da 10-50% površine korijenskog kanala, ovisno o tehnici instrumentacije, ostaje neobrađeno (81-82). Ukoliko površina korijenskog kanala ostane neinstrumentirana, podrazumijeva i zaostali bakterijski biofilm i dentinski debris, dolazi do nastanka ili perzistiranja periapikalne patologije. Apikalni dio korijenskog kanala predstavlja najveći problem jer u tijeku instrumentacije bakterijski biofilm i dentinski debris odlaze iz koronarnog dijela u apikalni dio (81). Ispiranje korijenskih kanala nadopuna je mehaničkoj obradi te joj je cilj otapanje pulpnog tkiva i antibakterijsko djelovanje. Irigacijska sredstva dopiru do teško dostupnih mjesta unutar endodontskog prostora, uklanjaju organsko i anorgansko tkivo koje nije bilo moguće ukloniti mehaničkom instrumentacijom (83). Kemijsko djelovanje (uklanjanje zaostatnog sloja, dentinskog debrisa, otapanje organskog i anorganskog dijela), mehaničko

djelovanje (lubrikacija korijenskog kanala) i biološki učinci (uklanjanje biofilma, inaktivacija endotoksina) nužni su za postizanje učinkovite eradikacije mikroorganizama (84). Najveći je izazov irigacijskih sredstava dosegnuti teško dostupna mjesta unutar složenog sustava korijenskog kanala (latralne i akcesorne kanaliće, suženja i apikalne delte) (85). Irigacija korijenskih kanala iglom i špricom, odnosno konvencionalno ispiranje ima ograničenja u vidu dopiranja irigacijskog sredstva samo 1-2 mm od vrha igle, a ako se igla pak gurne dublje unutar korijenskog kanala može doći do ostećenja periradikularnih tkiva (86).

### **1.2.2. Neuspjeh endodontskog liječenja zuba**

Endodontsko liječenje je prilično predvidljivo te prema istraživanju Songa i suradnika (87) postotak uspješnosti iznosi između 86-96 %. Neuspjeh endodontskog liječenja u nekim je istraživanjima definiran kao ponovna pojava kliničkih simptoma uz prisutnost periapikalne radiolucencije (88). Evaluacija endodontski liječenog zuba podrazumijeva kliničku i radiografsku procjenu kako bi se liječenje smatralo uspješnim. Brojni čimbenici su uključeni u neuspjeh endodontskog liječenja. Uobičajeni faktori koji se mogu pripisati endodontskom neuspjehu su: prisutnost bakterija (unutar i izvan korijenskog kanala), neadekvatno punjenje korijenskih kanala, prepunjenje korijenskih kanala, neodgovarajuće koronarno brtvljenje, neliječeni (nepronađeni) korijenski kanali, iatrogene proceduralne pogreške (neadekvatna izrada pristupnog kaviteta), komplikacije instrumentacije (perforacije, separirani endodontski instrumenti). Cilj endodontskog liječenja je temeljito čišćenje korijenskih kanala od inficiranog pulpnog tkiva kako bi se kanal mogao pripremiti i oblikovati za punjenje, čime se sprječava ili smanjuje bilo kakva šansa za ponovnu infekciju. Međutim, neuspjeh nastaje kada endodontsko liječenje nije u skladu sa standardnim kliničkim načelima (89). Jedan od glavnih uzroka endodontskog neuspjeha je perzistentna bakterijska infekcija (90). Uloga bakterija u periradikularnoj infekciji dobro je opisana u literaturi, endodontski tretman će imati veće šanse za neuspjeh ako mikroorganizmi perzistiraju u korijenskom kanalu za vrijeme obturacije (91). Bakterije se nalaze u područjima korijenskog kanala kao što su istmusi, dentinski tubuli i ramifikacije te tako mogu izbjeći učinkovitost dezinfekcijskih sredstava (92). Istraživanjem koje su proveli Lin i suradnici (93) na 236 slučajeva neuspješnog endodontskog liječenja, pronašli su korelaciju između prisutnosti bakterijske infekcije u korijenskim kanalima i periradikularnog prosvjetljenja. Vjerojatnije je da će liječenje biti neuspješno kod zuba s periradikularnim prosvjetljenjem prije liječenja, nego kod zuba koji ne pokazuju radiografske

promjene (94). Osim pravilnog čišćenja i dezinfekcije korijenskih kanala, kvalitetna obturacija od velike je važnosti za uspjeh endodontskog liječenja. Istraživanje, koje je provedeno na 1001 endodontski liječenih zuba, pokazalo je da je kvalitetna obturacija bila najvažniji čimbenik za uspjeh endodontskog liječenja (95). Hoen i Pink (96) u svojem su istraživanju pokazali da je u 65% slučajeva uzrok endodontskog neuspjeha nekvalitetno punjenje korijenskih kanala, dok je 42% zuba imalo kanale koji su ostali neinstrumentirani. Nakon završenog punjenja korijenskog kanala, neophodno je dobro koronarno brtvljenje kako bi se spriječio ulazak bilo kakvih mikroorganizama prisutnih u usnoj šupljini (97). Swanson i Madison (98) su u svojem istraživanju naglasili da koronarno propuštanje treba smatrati mogućim čimbenikom koji može rezultirati endodontskim neuspjehom. Endodontski instrumenti, bilo ručni ili strojni, skloni su pucanju u korijenskom kanalu kada se ne poštuju pravila izrade pristupnog kaviteta ili ne slijede upute za upotrebu strojnih instrumenata (99). Većina istraživanja o učinku separiranih instrumenata pokazala je minimalan utjecaj na stopu uspješnosti endodontskog liječenja (88, 100-101). Dezinfekcija i punjenje korijenskog kanala na dijelu distalno od separirnog instrumenta postaje otežana što može dovesti do prisutnosti trajne infekcije u tom području (100-103).

#### **1.2.2.1. Mikrobiološka etiologija neuspjeha endodontskog liječenja**

U više od 80 % slučajeva, intraradikalni mikroorganizmi su uzrok neuspjeha endodontskog liječenja (104). Zaostale bakterije u korijenskom kanalu nakon endodontskog postupka posljedica su otpornosti na antimikrobne postupke kao i postupke kemomehaničke obrade, ili je infekcija korijenskog kanala posljedica kolonizacije kroz neadekvatnu koronarnu restauraciju. Gram-negativni anaerobni štapići dominiraju u neliječenom korijenskom kanalu gdje je česta miješana infekcija (104). Gram-pozitivne bakterijske vrste čine mikrobiologiju korijenskog kanala kod zuba kojima je potrebna revizija (104). *Propionibacterium*, *E. faecalis*, streptococci, lactobacilli, *Micromonas micros*, gram-pozitivne bakterije koje se ubrajaju u najotpornije mikroorganizme jer se prilagođavaju težim uvjetima okoline te su na taj način sposobne preživjeti kemomehaničku obradu (105). Njihova prisutnost u korijenskom kanalu u trenutku punjenja pridonosi značajno smanjenoj uspješnosti cijeljenja periapikalnih tkiva na 68 % (106). Prevalencija *E. faecalis* kod punjenih zubi s periapikalnom lezijom iznosi 30-90 % (107). Neke vrste kandidate otporne su na intrakanalne medikamente (108). *Candida spp.* česta je kod perzistentnih infekcija te je pronađena u 3-18% ispitanih slučajeva (109). Mikroflora

neuspješnih endodontskih punjenja često je teška za suzbiti te predstavlja rizični faktor za infekciju i neuspješnu reviziju punjenja korijenskih kanala.

### **1.2.2.2. Ishod endodontskog liječenja zuba**

Kriteriji uspješnosti endodontskog liječenja su kriteriji biološkoga i terapijskog karaktera. Za neuspješno endodontsko liječenje odgovorni su mikrobn, odnosno nemikrobn čimbenici (110). U mikrobn čimbenike ubrajamo bakterije koje su odgovorne za nastanak perzistentne infekcije, a nemikrobn faktore čine zubi s lošom prognozom, pogreške prilikom endodontskog tretmana ili postendodontske opskrbe te nepravilna dijagnoza. Ulogu u ishodu samog endodontskog liječenja imaju dob i spol pacijenta te vrsta zuba i njegova pozicija (111). Postoje tri razine na kojoj možemo promatrati ishod endodontskog liječenja zuba, a to su klinička, histološka i radiološka (112). Izostanak bolova, otekline, negativan perkutorni i palpatorni nalaz, izostanak patološke pomičnosti zuba, izostanak sinus trakta i održanu funkciju zuba ubrajamo u kliničke parametre potrebne za procjenu ishoda endodontskog liječenja. Navedeni klinički parametri nisu dovoljni kako bi se procijenila uspješnost endodontskog liječenja te je potreban rendgenski nalaz. Rendgenski nalaz procjenjuje endodontsko liječenje kao uspješno, neuspješno ili s upitnim ishodom. Razdoblje praćenja endodontski liječenog zuba podrazumijeva period od 6 mjeseci do 4 godine te ukoliko unutar navedenog razdoblja nema povećanja periapikane lezije ili dođe do cijeljenja, smatra se da je liječenje uspješno (113). Provedene studije pokazuju izravan odnos između loše kvalitete punjenja i promjena u periapeksu, odnosno veliku pojavnost periapikalnih lezija s neadekvatnim punjenjem korijenskih kanala (114). Ako izostanu simptomi, a periapikalno prosvjetljenje se nije smanjilo, smatra se da do cijeljenja dolazi ožiljkastim tkivom (115-116). Prilikom procjene cijeljenja ožiljkastim tkivom treba biti oprezan i provoditi redovite rendgenske kontrole. Iako dio autora smatra da ukoliko ne dođe do cijeljenja unutar godine dana bez povećanja lezije, treba pristupiti reviziji punjenja (112). Rendgenska snimka zuba je dvodimenziionalan prikaz te postoji mogućnost preklapanja anatomskih struktura s periapeksom te rendgenska snimka može biti krivo očitana (116). Popularizacijom CBCT-a (engl. Cone Beam Computed Tomography) u dentalnoj medicini, upotrebljava se kao sredstvo procjene ishoda endodontskog liječenja. Daje detaljniji prikaz koštanih struktura. Istraživanje Patela i suradnika pokazalo je da je stopa kod procjene zaraštavanja periapikalne lezije na temelju periapikalnih snimki iznosila 87 %, dok je kod identičnih slučajeva procjena CBCT-om iznosila 62.5% (117). Histološku procjenu nije

moгуće koristiti za procjenu ishoda endodontskog liječenja jer zahtijeva invazivan operacijski pristup te je takva procjena moguća samo na pokusnim životinjama.



**Slika 1.** Neuspješno endodontsko liječenje gornjeg očnjaka: vidljivo je neadekvatno punjenje korijenskog kanala, radiološki znakovi gubitka kosti

### **1.3. Mehanička obrada korijenskih kanala**

Jedna od glavnih faza endodontskog liječenja je mehanička instrumentacija korijenskog kanala. Može se provoditi ručnim ili strojnim tehnikama. Svrha mehaničke instrumentacije je ukloniti nekrotično pulpno tkivo, proširiti i oblikovati korijenski kanal te ga pripremiti za punjenje (118). Cilj oblikovanja je postići koničan oblik korijenskog kanala te sačuvati okolno zubno tkivo. Oblikovanje apikalnog stopa, izrada sustava korijenskih kanala stalnog koniciteta, glatke stijenke korijenskih kanala, zadržavanje izvornog oblika i položaja apikalnog otvora ubrajaju se u čimbenike uspješne instrumentacije (72). Složena anatomija endodontskog prostora (istmusi, lateralni i akcesorni kanali, ramifikacije) ograničava eliminaciju mikroorganizama iz sustava korijenskih kanala (119). Istraživanja su pokazala da nakon mehaničke instrumentacije

80 % korijenskih kanala pokazuje prisutnost mikroorganizama (120). Rocas i suradnici dokazali su postojanje bakterija kod 45% ručno i 35% strojno instrumentiranih jednokorijenskih zubi (122).

### **1.3.1. Rotacijske tehnike obrade kanala**

Prvi sustav za strojnu obradu korijenskih kanala 1889. g. razvio je W.H. Rollins. Sustav je obuhvaćao posebne instrumente koji su koristili pokret rotacije za 360 stupnjeva brzinom od oko 100 okretaja u minuti (122). Glavna karakteristika rotacijskih sustava je pokret rotacije od 360 stupnjeva unutar korijenskog kanala. Koristi se manja brzina okretaja kako bi se spriječio zamor materijala i lom. Rotirajući endodontski instrumenti mogu imati rezni ili nerezni vrh, s tim da su instrumenti reznog vrha puno agresivniji te se koriste za probijanje kalcificiranih korijenskih kanala. Konicitet je još jedna značajka instrumenta. Razlikujemo instrumente sa stalnim konicitetom duž radnog dijela, ali s različitim promjerom vrška instrumenta te instrumenti promjenjivog koniciteta koji varira od 0.04 do 0.012 (123). Promjenjivi konicitet instrumenta smanjuje trenje i potreban je manji okretni moment za rotaciju. Kut nagiba je karakteristika koja utječe na reznju učinkovitost instrumenta. Instrumenti s pozitivnim kutom nagiba su učinkovitiji, no ako je taj kut previše pozitivan može doći do loma instrumenta. Veliki broj dostupnih instrumenata dolazi s negativnim ili neutralnim kutom nagiba. Radijalna površina je još jedna bitna karakteristika instrumenta, prolazi aksijalno od središnje osi, između žljebova, do samog reznog ruba. Ako je površina manja, otpornost na naprezanje instrumenta je manje (124). Na učinkovitost rotacijskih instrumenata utječe i varijabilni spiralni kut, kut koji rezni bridovi zatvaraju s dužinskom osi instrumenta. Što je spiralni kut veći, učinkovitost uklanjanja dentinskih ostataka iz korijenskog kanala je bolja (124).

#### **1.3.1.1. Razvoj rotacijskih tehnika**

Savijanjem opruge iz ručnih satova, a kasnije i savijanjem žice iz klavira, Edward Maynard izradio je prvi ručni endodontski instrument od nehrđajućeg čelika u 19. st. (125). Williams H. Rollins 1889. počinje koristiti endodontske instrumente koji su se rotirali za 360°, a tada se i pojavljuje prvi kolječnik za strojnu obradu korijenskih kanala. Broj okretaja je bio ograničen kako bi se izbjegao lom instrumenta unutar korijenskog kanala (125). Oltramare prvi je opisao

1892. strojne tehnike instrumentacije, koristio je endodontske instrumenete pravokutnog presjeka koje su bile namijenjene za kolječnik. Navedeni instrumenti pasivno su se umetali u korijenski kanal do vrha korijena i tek tu su se pokretali. Tada počinje razvoj i unapređivanje strojnih tehnika. „Endocursor“ je prvi motor za strojnu endodonciju, kombinira rotacijski pokret i vertikalne kretnje, razvila ga je 1925. tvrtka W&H (Burmoos, Austrija) (126). 1988. su napravljeni prvi instrumenti od ninal-titana (Ni-Ti) (127). Upotreba Ni-Ti instrumenata smanjila je učestalost pogrešaka koje su se javljale zbog lošijih fizikalnih svojstava instrumenata od nehrđajućeg čelika. Kasnije se Ni-Ti legura upotrebljava za izradu strojnih instrumenata te se rotacijske tehnike ponovo vraćaju u primjenu. Devedesetih godina prošlog stoljeća pojavila se prva generacija rotacijskih Ni-Ti sustava. Pasivni rezni bridovi, puna radijalna površina te jednolik koncitet od 4% do 6% čine glavna obilježja instrumenta. Primjer prve generacije je ProFile (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Švicarska), dobro je oblikovao korijenske kanale, bio je brz i učinkovit (128). Druga generacija rotacijskih sustava pojavljuje se 2001. Karakteristika tih sustava je aktivni rezni brid te je potrebno manje instrumenata za oblikovanje korijenskog kanala. Predstavci druge generacije su Mtwo (VDW, München, Njemačka), ProTaper Universal (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Švicarska), K3 (SybronEndo, Orange, SAD) i Hero Shaper (MicroMega). Iako su dobro oblikovali korijenske kanale, dolazilo je do transportacije korijenskih kanala kao i do lomova instrumenta (129). Treća generacija rotacijskih Ni-Ti sustava pojavljuje se 2007. Ni-Ti leguru zamjenjuju instrumenti drugačijih metalurških svojstava te su napravljeni od M, R ili CM-žice. Karakterizira ih veća otpornost na lom (130). Predstavci treće generacije su Hyflex CM (Coltene-Whaledent, Allstetten, Švicarska), K3 XF Files (SybronEndo), ProFile GTX Series (Dentsply Tulsa, SAD) i Vortex Blue (Dentsply Tulsa, SAD). Temelj instrumentacije četvrte generacije je recipročna teorija te instrumentacija jednim instrumentom. Predstavci su OneShape (MicroMega, Bensancon, Francuska), WaveOne (Dentsply Maillefer, Ballaiguer, Švicarska), Reciproc (VDW, München, Njemačka), OneShape (MicroMega, Bensancon, Francuska) i Self Adjusting File (ReDent-Nova Ltd, Ra'anana, Izrael). Petu generaciju čine instrumenti temeljeni na rotirajućim pokretima te „offset“ dizajn, to znači da žica nije centrirana na os rotacije, na taj se način stvara mehanički val pokreta što povećava učinkovitost rezanja, uklanjanje debris i lom instrumenta unutar korijenskog kanala. Predstavci pete generacije su Revo-S (MicroMega, Bensancon, Francuska), HyFlex EDM (Coltene), ProTaper Next (Dentsply Tulsa Dental Specialties, Tulsa, OK) i OneShape (MicroMega) (131).

### **1.3.1.2. ProTaper Next tehnika obrade kanala**

ProTaper Next (PTN) rotacijska je tehnika instrumentacije korijenskih kanala. Naslijedila je ProTaper Universal te se ubraja u jednu od najčešće korištenih strojnih tehnika. Jedna od glavnih karakteristika instrumenta je „swaggering effect“ odnosno zmijoliki pokret. Pravokutni poprečni presjek instrumenta pomaknut je s obzirom na rotacijsku os, a instrument je izrađen M-Wire tehnologijom, naprednim procesom termičke obrade, na taj se način povećava fleksibilnost i otpornost na ciklički zamor. Instrument ima puno više prostora za rezanje dentina te se na taj način povećava učinkovitost rezanja, manje je opterećenje tijekom instrumentacije, veća fleksibilnost kao i otpornost na lom te bolji osjećaj same instrumentacije (132). Instrument je centriran u kanalu te je na taj način očuvana izvorna anatomija korijenskog kanala (132-133). Spiralni oblik instrumenta ponaša se poput opruge, višak sile sakuplja i kasnije ga koristi za oblikovanje korijenskog kanala. Glavna odlika instrumenta je različit konicitet radnog dijela te pravokutni poprečni presjek koji omogućuje da instrument u toku rada dodiruje stijenke korijenskog kanala u samo dvije točke. Ekscentrični stupanj rotacije rezultira poboljšanom obradom i instrumentacijom korijenskog kanala (133). U kliničkom radu ovakva konstrukcija instrumenta smanjuje urezivanje vrha instrumenta u stijenke korijenskog kanala, povećava se rezni prostor i odlaganje detritusa. PTN sustav čini pet instrumenata: X1 (17/04), X2 (25/06), X3 (30/05), X4 (40/05), X5 (50/06), a dužine instrumenta mogu biti 21 mm, 25 mm i 31 mm).



**Slika 2.** Pro Taper Next instrumenti (Dentsply Sirona)



### **1.3.2. Recipročne tehnike obrade kanala**

Ograničavajući čimbenik rotacijskih tehnika je visok modul elastičnosti čelika, a posljedica je zapinjanje instrumenta u korijenskom kanalu kao i učestale separacije instrumenta (134). Složena morfologija korijenskih kanala ograničavajući je čimbenik za postojeće strojne tehnike, te se radi povećanja sigurnosti i uspjeha endodontskog zahvata pojavila potreba za razvojem strojnih sustava s drugačijom kinematikom. Recipročne tehnike karakterizira pokret u smjeru suprotnom od smjera kretanja kazaljke na satu (*engl. counterclockwise, CCW*), naziva se recipročni pokret pri kojem dolazi do rezanja dentina. Instrument se oslobađa pokretom u smjeru kazaljke na satu (*engl. clockwise, CW*). Za potpunu rotaciju od 360° potrebno je nekoliko recipročnih kretnji ovisno o kutu rotacije. Cilj joj je smanjiti silu, odnosno stres na endodontski instrument. Stupnjevi okretaja u CCW i CW smjeru ovise o vrsti instrumenta i proizvođaču, a informacija se nalazi u endo motoru koji ga pokreće (135). Primjenjivanje sile prilikom instrumentacije nije dozvoljeno jer može doći do separacije instrumenta unutar korijenskog kanala. Recipročna kretnja povećava otpornost na ciklički zamor te je vijek trajnosti instrumenta produžen u uspoređi s rotacijskom kretnjom (136).

#### **1.3.2.1. Razvoj recipročnih tehnika obrade kanala**

Godine 1964. prvi puta je predstavljena recipročna kretnja pojavom sustava Giromatic (MicroMega), a karakterizirala ga je potpuna recipročna kretnja CW 90° i CCW 90°. Prema istraživanjima klinički rezultati nakon upotrebe Giromatica nisu bili značajni te su pokazivali više pogrešaka u uspoređbi s ručnim tehnikama instrumentacije (137). Nakon toga su predstavljeni kolječnici Dynatrak sistem (Dentsply DeTrey, Konstanz, Njemačka) i Intro-Endo 3LD (KaVo, Biberach, Njemačka), omogućavali su između 3000-6000 reciprocacija po minuti. Iste godine predstavljena je i Micro Mega 1500 Sonic Air Endo System (136). 1895. godine Roane i suradnici opisali su „balanced-force“ tehniku ručne instrumentacije za zakrivljene kanale, temelji se na recipročnoj kretnji gdje su CW i CCW kutevi različiti. Navedena tehnika predstavlja osnovu za razvoj daljnjih recipročnih sustava (138). Kontinuiranim razvojem Ni-Ti legura pojavljuju se instrumenti većeg koniciteta od 0,04, a njihova upotreba smanjuje komplikacije prilikom instrumentacije korijenskih kanala te recipročni sustavi ponovo ulaze u primjenu. Ghassan Yared je 2008. godine uveo recipročnu tehniku obrade korijenskog kanala s jednim instrumentom (*eng. Single-file*). Upotrebljavao je instrument primarno namijenjen za

rotacijsku kretnju ProTaper F2 (Dentsply Tulsa Dental Specialties) u recipročnoj kretnji za instrumentaciju korijenskog kanala. Single-file tehnika predstavlja veliki uspjeh endodontskog zahvata kada više nije bilo potrebno koristiti više instrumenata različitih veličina obzirom da je bio dovoljan samo jedan instrument (139). Tvrtka Dentsply International 2008. godine u suradnji s osam renomiranih kliničara prisvojila je single-file tehniku u cilju razvoja efikasnih i sigurnih sustava za instrumentaciju korijenskih kanala (140). Nakon toga su se 2010. i 2011. razvili Reciproc (VDW) i WaveOne (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Švicarska), a nakon toga posebnom tehnikom toplinske obrade, koja ima utjecaj na molekularnu strukturu Ni-Ti legure, uslijedile su nove generacije instrumenata Wave One Gold (Dentsply Sirona, Salzburg, Austrija) i Reciproc Blue (VDW, München, Njemačka). Navedeni instrumenti nemaju memoriju oblika i pokazuju veću fleksibilnost i otpornost na cikličko opterećenje (141). S ciljem smanjenja nedostataka i isticanja prednosti recipročnih tehnika, dolazi do nastanka adaptivne tehnike instrumentacije Twisted File Adaptive (TFA, Kerr Endodontics, SAD). Navedena tehnika koristi modificiranu kretnju koja se sastoji od potpune rotacije ( $600^\circ$  CW u režućem smjeru) i djelomičnu recipročnu kretnju ( $370^\circ$  CW u režućem smjeru i  $50^\circ$  CCW u nerežućem smjeru). Takve kretnje možemo nazvati i hibridnim kretnjama.

### **1.3.2.2 Wave One Gold tehnika obrade kanala**

Wave One Gold (WOG) (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Švicarska) razlikuje se uvelike od svog prethodnika Wave One tehnike. Iđentičan je pokret unutar korijenskog kanala, ali je razlika u leguri, poprečnom presjeku, veličini i geometriji. Završna faza izrade instrumenata temelji se na termičkoj obradi gdje se instrumenti zagrijavaju, a zatim lagano hlade. Dolazi do modifikacije temperature fazne transformacije, što pozitivno utječe na tehničke karakteristike sustava. Termičku obradu karakterizira zlatna boja, povećava se snaga i fleksibilnost u radu u uspoređbi s prethodnim sustavom Wave One (142). Instrument ima smanjenu memoriju oblika zbog legure od koje je izrađen u uspoređbi s konvencionalnim NiTi instrumentima kao i onima izrađenim od M-žice. Jedna od prednosti instrumenta je preoblikovanje prije ulaska u zavijene korijenske kanale te omogućavanje lakše instrumentacije. WOG sistem karakterizira nerežući vrh na poprečnom presjeku s dva rezna brida pod kutem od  $85^\circ$  koji su u kontaktu s dentinskim zidom u jednoj ili dvije točke tijekom instrumentacije kanala. Na taj je način ostvarena bolja rezna učinkovitost, a oko samog instrumenta omogućen veći prostor za izbacivanje debrisa te smanjenje mogućnosti uglavljanja instrumenta unutar korijenskog kanala (143). WOG sustav

je dostupan u četiri veličine i tri dužine (21, 25 i 31 mm), obilježen je ISO standardiziranim prstenovima različitih boja: mala (žuta boja) – 20/07, primarna (crvena boja) – 25/07, srednja (zeleno boja) – 35/06, velika (bijela boja) – 45/05.



**Slika 3.** Wave One Gold (Dentsply, Sirona) instrumenti

### **1.3.2.3. Dosadašnja istraživanja utjecaja rotacijskih i recipročnih tehnika na uspjeh endodontskog liječenja**

Kriteriji uspješnog endodontskog liječenja su ukloniti inficirani dentin i ljevasto oblikovati korijenski kanal. Istraživanje Shena i suradnika pokazalo je da je učinkovitost rezanja dentina kod recipročnih i rotacijskih tehnika puno veća ukoliko je kanal vlažan, a ne suh (144). Na učinkovitost rezanja dentina također utječu i metalurška svojstva materijala i poprečni presjek instrumenta. Istraživanja su pokazala da ProTaper Gold (Dentsply Sirona) ima dvostruko veću učinkovitost rezanja dentina u usporedbi s Protaper Universalom (Dentsply Sirona) obzirom na žicu od koje su građeni instrumenti (145). U istraživanju Plotina i suradnika u kojem su ispitivali reznju učinkovitost dva recipročna sustava, pokazano je da je Reciproc (VDW) sustav bio puno učinkovitiji u rezanju dentina od Wave One (Dentsply) sustava obzirom na poprečni presjek instrumenta (146). Separacija instrumenta unutar korijenskog kanala prilikom instrumentacije predstavlja veliki problem obzirom na ishod endodontskog liječenja. Torzijsko naprezanje i ciklički zamor dva su mehanizma putem kojih dolazi do loma instrumenta unutar korijenskog kanala. Recipročna kretnja u usporedbi s rotacijskom kretnjom sadrži drugi, oslobađajući pokret u suprotnom smjeru, a cilj mu je smanjenje sile na reznim bridovima. Lee

i suradnici u svojem istaživanju dobili su slične rezultate između recipročnih i rotirajućih tehnika obzirom na ciklički zamor (147). Prema Caparu i suradnicima instrumenti s asimetrično postavljenim reznim bridovima imaju veću otpornost od onih koji imaju centriranu masu i os rotacije (148). Zakrivljenost korijenskog kanala utječe na ishod endodontskog liječenja, više zakrivljeni korijenski kanali smanjuju životni vijek instrumenta. Pravilan oblik trepanacijskog otvora i pravocrtni pristup korijenskom kanalu, uz iskustvo kliničara može smanjiti rizik od separacije instrumenta unutar korijenskog kanala. Rotacijske tehnike prilikom instrumentacije i rezanja dentina tvore ciklički i torzijski zamor, dok recipročne tehnike pokazuju veću otpornost na torziju zbog drugog, oslobađajućeg pokreta (149). Prema istraživanju Kim i suradnika, recipročni instrumenti pokazali su veću otpornost na torzijski zamor od rotacijskih tehnika instrumentacije (150). Obzirom na oblikovanje korijenskog kanala, istraživanja su pokazala da recipročne tehnike instrumentacije zbog kinematike, poprečnog presjeka i tehnologije M-žice osiguravaju adekvatno oblikovanje korijenskog kanala uz minimalne pogreške (151). Saber i suradnici uspoređivali su rotacijske sustave s recipročnim te su se rotacijski sustavi pokazali inferiornijima u odnosu na recipročne sustave (152). Za vrijeme instrumentacije korijenskih kanala može doći do proguravanja dentinskog debrisa, mikroorganizama, ostataka pulpe i irigacijskih sredstava kroz apikalni otvor što može uzrokovati komplikacije u vidu bolova kao i oteženog cijeljenja. Istraživanja su pokazala da niti jednom tehnikom instrumentacije korijenskog kanala nije moguće izbjeći proguravanje dentinskog debrisa prema apeksu (153, 154). Bürklein i suradnici pokazali su da rotacijske tehnike proguravaju manje dentinskog debrisa preko apeksa u usporedbi s recipročnim tehnikama instrumentacije (155). Navedeno objašnjavamo činjenicom da recipročne tehnike imaju veću reznju učinkovitost u kraćem vremenu, a recipročni pokret ide u prilog apikalnom guranju debrisa (156). Druga su istraživanja pokazala da je proguravanje dentinskog debrisa manje kod recipročnih tehnika (157), dok prema De-Deusu nema značajnih razlika između rotacijskih i recipročnih tehnika s obzirom na proguravanje debrisa prema apikalno (158). Strojne tehnike instrumentacije uspješnije su u uklanjanju mikroorganizama iz korijenskog kanala u usporedbi s ručnim tehnikama instrumentacije (159), dok su rotacijske i recipročne tehnike pokazale sličnu antimikrobnu učinkovitost (160).

#### **1.4. Kemijska obrada endodontskog prostora**

Za uspješno endodontsko liječenje, osim mehaničke instrumentacije korijenskih kanala, nužni su postupci ispiranja. Irigacijska sredstva u endodontskom liječenju sa svojim antimikrobnim svojstvima ključna su za smanjanje broja mikroorganizama unutar korijenskog kanala. Neovisno o tehnici instrumentacije, složena anatomija endodontskog prostora često ograničava mehaničku obradu, a sve bakterije koje zaostanu unutar korijenskog kanala mogu dovesti do neuspjeha endodontskog liječenja. Ispiranje korijenskih kanala različitim irigacijskim sredstvima važan je dio instrumentacije te zajedno s mehaničkom obradom čini jedinstvenu cjelinu endodontskog liječenja. Važne funkcije ispiranja, ovisno o upotrebi irigacijskih sredstava su: kemijska dezinfekcija, otapanje organ skih i anorganskih tkiva, lubrikacija, antimikrobno djelovanje, eliminacija biofilma, bolja rezna učinkovitost instrumenta te smanjanje trenja između instrumenta i dentina (161). Istraživanja su pokazala da složena anatomija endodontskog prostora onemogućava potpuno čišćenje korijenskog kanala pa 35 % dentniskog zida ostaje prekriveno bakterijama (162). Intrakanalna anatomija korijenskog kanala predstavlja izazov mehaničke obrade, stoga je jedini način da se dosegnu ta područja irigacija. Apikalni dio korijenskoga kanala zbog svoga položaja zahtjevan je za instrumentaciju zbog mogućnosti proguravanja tkiva i debrisa, ali i irigacijskih sredstava u periapeks. Kombinirana upotreba različitih irigacijskih sredstava u određenom redosljedu i vremenskom trajanju dovodi do uspjeha endodontskog liječenja (163).

##### **1.4.1. Sredstva za ispiranje**

Obzirom da mehanička obrada korijenskih kanala nije dostatna za eliminaciju infekcije, kao nadopuna se koriste kemijska sredstva za ispiranje korijenskih kanala. U idealnim okolnostima sredstvo za ispiranje trebalo bi imati široki spektar djelovanja uz visoku učinkovitost na bakterijske vrste organizirane u biofilmove, inaktivirati bakterijske endotoksine, otapati nekrotičnu pulpu, otapati zaostatni sloj ili prevenirati njegov nastanak, netoksičnost prema parodontnim tkivima i nemati potencijal uzrokovanja anafilaktičke reakcije (164). Najčešće korištena sredstva za irigaciju korijenskih kanala su: natrijev hipoklorit (NaOCl), kloheksidin (CHX), kelatori i kombinirani preparati (164).

*Natrijev hipoklorit*

NaOCl se smatra zlatnim standardom za ispiranje korijenskih kanala. Karakterizira ga dobra antimikrobna učinkovitost te sposobnost otapanja nekrotičnog tkiva (165). Dobro djeluje protiv spora, kvasaca, vegetativnih bakterijskih oblika, virusa i protozoa (166). Ionizira u vodi na natrijeve ( $\text{Na}^+$ ) i hipoklorne ione ( $\text{OCl}^-$ ), koji su u ravnoteži s hipoklornom kiselinom (HOCl) odgovornom za antimikrobno djelovanje u uvjetima pH 4-7. NaOCl se najčešće koristi kao nepuferirana otopina (pH 11) u različitim koncentracijama (od 0,6% do 6%) ili s bikarbonatnim puferom (pH 9), kao 0,5% ili 1% otopina (167). Upotreba najoptimalnije koncentracije kao i vrijeme djelovanja NaOCl-a još uvijek nije jasno definirana. In vitro istraživanja su pokazala bolju antimikrobnu učinkovitost većih koncentracija NaOCl-a unutar nekoliko sekundi, dok su in vivo istraživanja pokazala da je cjeloukupna antimikrobna učinkovitost NaOCl-a značajno lošija bez razlika u učinku između različitih koncentracija (168), a navedeno se može opravdati činjenicom postojanja preostalog upalnog eksudata, prisutnosti pulpnog tkiva i kolagena unutar korijenskih kanala koji neutraliziraju djelovanje NaOCl-a. Upotreba NaOCl-a bitna je za uklanjanje zaostatnog sloja, a njegova sposobnost se očituje u otapanju organskog materijala i zbog toga se koristi tijekom čitave kemomehaničke obrade korijenskih kanala. Nedostatak mu je toksično, odnosno kaustično djelovanje (169).

*Klorheksidin diglukonat*

Potentni antiseptik iz skupine polibisgvanida (164). CHX je pozitivno nabijena hidrofobna i lipofilna molekula, u interakciji s bakterijama djelovanje se očituje preko negativno nabijenih fosfolipida i polisaharida te na taj način razara integritet citoplazmatske membrane (170). Visoke koncentracije CHX-a uzrokuju koagulaciju unutarstaničnih organela (171). Obzirom na široki antimikrobni spektar djelovanja, djeluje na gram pozitivne i negativne bakterije, ima veliku primjenu u svim granama dentalne medicine (172). Ima dugotrajno antimikrobno djelovanje, obzirom da se veže na meka i tvrda zubna tkiva usne šupljine (173). CHX u malim koncentracijama od 0,2 % djeluje bakteriostatski, a u koncentracijama od 2 % djeluje baktericidno (174). Prilikom endodontskog liječenja koristi se u koncentraciji od 0,2-2% kao irigacijsko sredstvo ili kao intrakanalni međuposjetni medikamentni uložak. Učinkovit je protiv *Candidie albicans*, ali puno slabije od NaOCl-a (175, 176). Sposobnost CHX-a se očituje u uklanjanju bakterija koje su prodrle i do 500  $\mu\text{m}$  unutar dentinskih tubulusa (177). CHX je

pokazao značajno antimikrobno djelovanje na *Actinomyces israelii*, *Staphylococcus aureus* kroz pet sekundi, a na *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis* i *Prevotella intermedia* kroz petnaest sekundi (178-179). Miješanjem CHX-a i NaOCl-a nastaje smeđi talog, parakloranalin, koji može imati mutageni potencijal i boji zube (180). CHX nema mogućnost otapanja organskog tkiva i ima minimalan učinak na bakterijski biofilm.

#### *Etilendiaminotetraoctena kiselina*

U svrhu otapanja anorganskih ostataka dentina koji formiraju zaostatni sloj tijekom instrumentacije korijenskih kanala koriste se demineralizirajući agensi, odnosno kelatori (181). Najčešće korišteni kelatori su etilendiaminotetraoctena kiselina (EDTA) i limunska kiselina. EDTA otapa anorganski materijal vezanjem za kalcijeve ione (182). Demineralizira dentin do dubine 20-30  $\mu\text{m}$  djelujući unutar pet minuta. Za vrijeme mehaničke instrumentacije koristi se i kao lubrikans, ali i kod uskih obliteriranih korijenskih kanala. Najčešće rabljena koncentracija EDTA za vrijeme mehaničke instrumentacije je 17 % (pH). Upotrebljava se i na kraju mehaničke instrumentacije te se ostavlja unutar korijenskog kanala 1-3 min (183). Za vrijeme ispiranja korijenskog kanala EDTA može inhibirati djelovanje NaOCl-a (184). Iako ne djeluje antibakterijski, može uzrokovati degradaciju staničnog zida gram negativnih bakterija uklanjanjem dvovalentnih kationa ( $\text{Mg}^{2+}$  i  $\text{Ca}^{2+}$ ) i povećati permeabilnost stanične membrane (185).

#### *Limunska kiselina*

Limunska kiselina se upotrebljava za uklanjanje zaostatnog sloja u kombinaciji sa NaOCl-om, a u koncentracijama 10-50 % otapa anorganski materijal (186).

*Kombinirani preparati*

Velika površinska napetost jedan je od glavnih problema sredstava za ispiranje jer otežava prodor u teško dostupna područja korijenskog kanala. Obzirom na navedeno u upotrebi su se pojavili kombinirani preparati s aktivnom tvari koja smanjuje površinsku napetost i povećava vlažnost sredstava za ispiranje (187). Na tržištu su danas dostupni kombinirani preparati MTAD (Dentsply Sirona, SAD) i QMiX 2in1 (Dentsply Sirona, SAD). MTAD predstavlja kombinaciju tetraciklina, limunske kisline i detergenta. Upotrebljava se na kraju kemo-mehaničke instrumentacije u svrhu otapanja anorganskog dijela zaostatnog sloja, ali ima i antimikrobno djelovanje (188). Starija istraživanja pokazuju zadovoljavajući antimikrobni učinak MTAD-a, dok novija istraživanja pokazuju jedanku ili veću učinkovitost kombinacije EDTA/NaOCl od NaOCl/MTAD-a (189). Obojenje zuba tetraciklinom i razvoj bakterijske rezistencije na antibiotik predstavlja potencijalni problem MTAD-a (190). QMiX je kombinacija EDTA, klorheksidina i detergenta. Ima antimikrobno djelovanje te uklanja zaostatni sloj. QMiX i 17% EDTA imaju jednaku sposobnost uklanjanja zaostatnog sloja (191).

#### **1.4.2. Tehnike ispiranja korijenskih kanala**

*Konvencionalno ispiranje iglom i špricom*

Najčešće rabljena tehnika ispiranja u endodontskom liječenju je tehnika upotrebe igle i šprice. Irgans se nalazi unutar šprice, a u korijenski kanal se unosi pomoću igle. Danas su na tržištu dostupne igle i šprice različitih veličina i oblika. Volumen šprice može biti od jednog do pet mililitara. Najčešće rabljeni promjer igle od 30G (0,31 mm) i 31G (0,25 mm) s jednim otvorom na vrhu, a poželjno je da ima i postranične otvore sa zatvorenim vrhom jer se na taj način sprječava protruzija sredstava u periapeks. Dobra kontrola položaja igle i količina irigacijskog sredstva čine prednosti konvencionalnog ispiranja. Međutim, slabo djelovanje irigacijskog sredstva u apikalnom djelu korijenskog kanala gdje zaostaje velika količina debrisa i bakterijskog biofilma predstavljaju nedostatak ove tehnike (192).



*Aktivno ručno ispiranje*

Aktivno ručno ispiranje podrazumijeva da se irigacijsko sredstvo unutar korijenskog kanala aktivira ručno, vertikalnim pomacima gutaperke unutar korijenskog kanala. Na taj način dolazi do aktivne izmjene irigacijskog sredstva unutar korijenskog kanala te veće izmjene intrakanalnog tlaka što omogućava dublje prodiranje irigansa u dentinske tubuluse i teže dostupna mjesta endodontskog prostora. Preporuča se postpak provoditi unutar jedne minute kao dio završnog ispiranja korijenskog kanala (192).

*Zvučno aktivirano ispiranje*

Zvučno aktivirano ispiranje tehnika je irigacije korijenskog kanala gdje se irigans aktivira zvučnom energijom na frekvenciji od 20-20 000 Hz gdje dolazi do velike izmjene tlakova i nastanka hidrodinamskog učinka. Mikrostrujanja i udarni valovi koji nastaju omogućuju bolji prodor irigacijskog sredstva u složenom intakanalnom sustavu, uklanjanje zaostatnog sloja i lomljenje bakterijskih biofilmova. Uređaji za zvučno aktivirano ispiranje koji postoje danas na tržištu su EndoActivator (DentsplySirona, New York, SAD) i EDDY(VDW, München, Njemačka).

EndoActivator uređaj je za zvučnu aktivaciju sredstva za ispiranje unutar korijenskog kanala. Prilikom prijenosa zvučne energije dolazi do titranja polimernog nastavka te se na taj način aktivira sredstvo za ispiranje i dolazi do stvaranja hidrodinamskog učinka (193). Polimerni nastavci dolaze u tri različite veličine i boje: žuti 20/02, crveni 25/04 i plavi 30/06. Prilikom rada uređaja nastavci se pomiču vertikalnim kretnjama (gore-dolje) te se postavljaju dva milimetra od radne dužine. Sustav može ostvariti tri brzine, 10 000, 6 000 i 2 000 ciklusa u minuti (cpm). Za uklanjanje bakterijskog biofilma najbolji učinak je pokazala najveća brzina (122). Prema Ruddle-u način uporabe zasniva se na aktivaciji završnog ispiranja EDTA-om tijekom 60 sekundi, a nakon toga aktivacija NaOCl-a tijekom 30 sekundi. EndoActivator se koristi i za uklanjanje i postavljanje kalcij hidroksida i mineral trioksid agregata (MTA) unutar korijenskog kanala (193).

EDDY je uređaj za zvučnu aktivaciju sredstva za ispiranje, nastavci osciliraju frekvencijom do 6 000 Hz te su dostupni u univerzalnoj veličini. Temelj pokreta poliamidnog nastavka je oscilirajuća kretanja koja pokreće kavitaciju i akustično strujanje te dolazi do povećanja učinkovitosti čišćenja endodontskog prostora (194). Prema istraživanjima značajno bolje rezultate ostvario je EDDY u usporedbi s EndoActivatorom, dok prema nekim istraživanjima redukcija koju ostvaruje EndoActivator je gotovo identična konvencionalnom ispiranju iglom i špricom (195).

#### *Ultrazvučno aktivirano ispiranje*

Ultrazvučno aktivirano ispiranje (UAI) zasniva se na prijenosu ultrazvučne energije glatkog nastavka (25-32 kHz) ili titrajućeg instrumenta na irigacijsko sredstvo unutar korijenskog kanala što za posljedicu ima stvaranje ultrazvučnih valova, kavitacija i zvučna strujanja (196). Posljedica nastanka kavitacije su mjehurići koji osciliraju u ultrazvučnim valovima, porastom energije, rastu i mjehurići, postaju nestabilni i na kraju kolabiraju. Dolazi do implozije koja proizvodi udarne valove 25 do 30 tisuća u minuti, dosežu se temperature od 5000 °C, a valovi generirani implozijom putuju brzinom većom od 800 km/H, a to se naziva akustičnim strujanjem (192). Za vrijeme UAI-a bitno je osigurati slobodno titranje nastavka unutar korijenskog kanala jer će protivnome mikrostrujanja biti manja (196). Prolazne i stabilne kavitacije mogu nastati tijekom UAI-a. Kada nastavak dotiče zid korijenskog kanala nastaju stabilne kavitacije koje su posljedica linearne pulsacije mjeruhića zraka. Kao posljedica visokih energetske pulsacije pri slobodnoj vibraciji nastavka unutar korijenskog kanala ili kao posljedica laganog doticaja stijenke korijenskog kanala nastaju prolazne kavitacije (197). Dokazano je da kavitacije mogu razlomiti i mehanički ukloniti biofilm (198). UAI se može koristiti na kraju kemomehaničke obrade korijenskih kanala u kombinaciji sa NaOCl-om (199). Za vrijeme UAI-a koriste se nastavci veličine 15 ili 20 prema ISO standardu, amogu biti različito dizajnirani poput k-filea, r-filea ili spredera (192).

### *RinsEndo*

RinsEndo (Dürr Dental, Bittigheim-Bissingen, Germany) je sustav za aktivno ispiranje korijenskih kanala, osnova mu je hidrodinamski tlak te potiskivanje i povlačenje tekućine. Irigans titra frekvencijom od 1,6 Hz unutar sistema, a 65 µl izbacuje se u korijenski kanal preko kanile. Nakon toga ista količina tekućine i zrak se povlače iz korijenskog kanala, miješaju s novom količinom tekućine te se ponovo izbacuju u korijenski kanal. Izmjena ciklusa je 100 puta u minuti. Za vrijeme rada kanila se postavlja u korijenski kanal dok ne dođe u kontakt s dentinom (200).

### *Endo Vac sustav*

Endo Vac sustav (Kerr Dental, Detroit, Michigan, SAD) temelji se na negativnom tlaku, tekućina pasivno dolazi do apiklane trećine korijenskog kanala te je potom povlači van iz kanala. Čine ga glavni nastavak s iglom veličine 20 G s jedne strane, a s druge strane spaja se na špricu s tekućinom za ispiranje te se na taj način iriganas dostavlja unutar pulpne komorice. Drugi nastavak spojen je na sukciju dentalnog stolca i skuplja višak irigansa u pulpnoj komori. Za apikalnu trećinu korijenskog kanala postoji mikro i makro kanila putem koje se irigans dostavlja u korijenski kanal, a temelji se na negativnom tlaku.

### *Sustav kontinuirane instrumentacije i ispiranja*

Self Adjusting File sustav (SAF) (ReDent Nova, Berlin, Njemačka) je uređaj koji u isto vrijeme instrumentira i ispire korijenski kanal. Instrument izgleda kao prazna cijev, a zidovi su izrađeni od Ni-Ti mreže, vrh instrumenta je asimetrično položen. Instrument je lako savitljiv i kompresivan te se može smjestiti unutar vrlo uskog korijenskog kanala, ne može se rotirati, a temeljni pomaci su minimalni pomaci unutra-van. Instrument se montira na RDT glavu kolječnika. Prednost SAF-a se očituje u učinkovitom čišćenju ovalnih korijenskih kanala (192).

### **1.4.3. Završni protokol ispiranja korijenskog kanala**

Za vrijeme instrumentacije korijenskih kanala NaOCl je i dalje prvi izbor među dostupnim irigacijskim sredstvima. Treba ga koristiti tijekom cijele kemo-mehaničke obrade kako bi se eliminirali mikroorganizmi, uništio baterijski biofilm, uklonili ostatci pulpnog tkiva te za lubrikaciju endodontskih instrumenata (201). Obzirom na složenu anatomiju endodontskog prostora i vrijeme instrumentacije korijenskih kanala, preporuča se kontinuirano korištenje NaOCl-a kao primarnog irigacijskog sredstva kako bi NaOCl djelovao unutar glavnog korijenskog kanala te difundirao u teško dostupna područja gdje je protok ograničen. Konvencionalno ispiranje iglom i špicom postavljenom blizu radne dužine čini se najisplativijom irigacijskom metodom. Potrebne su velike količine NaOCl-a kako bi se nadoknadila potrošnja slobodnog dostupnog klora prilikom reakcije s organskom tvari. Iako postoji potreba za uklanjanjem ostataka tvrdog tkiva, naizmjenična upotreba NaOCl-a i jakih kelatora tijekom instrumentacije je kontraindicirana (202-204). Umjesto toga, korijenski kanal treba isprati kelatorom kao što je EDTA nakon instrumentacije kako bi se uklonili ostatci tvrdog tkiva, anorganske komponente zaostatnog sloja i poremetila matrica bakterijskog biofilma. Unatoč tome, ovaj korak se ne treba smatrati posljednjim korakom završnog ispiranja. NaOCl se mora ponovno unijeti u korijenski kanal kako bi se isprao sav preostali kelator te omogućilo prodiranje NaOCl-a u neinstrumentirana područja i dentinske tubule radi djelovanja na preostali bakterijski biofilm. Dakle, jedan od završnih protokola ispiranja korijenskih kanala, podrazumijeva ispiranje korijenskih kanala NaOCl-om tijekom 30 sekundi, zatim primjena EDTA tijekom 60 sekundi i na kraju primjena NaOCl-a tijekom 30 sekundi. Trenutačni dostupni dokazi ne podupiru upotrebu CHX-a ili bilo kojeg drugog irigacijskog sredstva osim NaOCl-a za završno ispiranje. Glavni argument protiv završnog ispiranja NaOCl-om nakon upotrebe EDTA-om ja da NaOCl djeluje na eksponirani kolagen i uzrokuje eroziju na stijenci korijenskog kanala (205). Međutim, klinički značaj takve erozije ostaje nejasan. Do sada nema dokaza da se povećava rizik od loma, ne treba ga miješati s promjenama elasticiteta, snagom i mikro tvrdoćom. Ako se aktivacija sredstva za ispiranje smatra potrebnom, povremena ultrazvučna aktivacija irigacijskog sredstva čini se najrazumnijim izborom i treba je primijeniti u ovom koraku. Ovaj protokol ispiranja mogao bi se pojednostaviti zamjenom NaOCl-a i EDTA mješavinom NaOCl-a i slabog kelatora kao što je HEDP, koji se može koristiti za vrijeme cijele kemo-mehaničke obrade (203-204). Međutim, klinički dokazi o takvom pristupu još uvijek su ograničeni.

## **1.5. Mikrobiološke tehnike u dijagnostici endodontske infekcije**

### **1.5.1 Metoda kulture**

Metoda kulture postupak je koji se temelji na kultivaciji i izolaciji mikroorganizama na selektivnim krutim ili tekućim, neselektivnim, umjetnim podlogama i njihove identifikacije na temelju morfoloških i biokemijskih obilježja. Najčešće rabljena neselektivna podloga za izolaciju mikroorganizama je krvni agar. Selektivne podloge sadrže određene kemijske tvari koje omogućuju rast jedne bakterijske vrste, a inhibiraju rast drugih vrsta. Veličina i oblik kolonija, boja i miris, rast na selektivnim ili obogaćenim podlogama morfološka su obilježja koja pomažu razvrstavanju bakterija u pojedine skupine. Za određivanje biokemijskih obilježja testira se sposobnost fermentacije, aerobne razgradnje šećera, enzimski potencijal. Niska specifičnost i osjetljivost predstavljaju nedostatak metode kulture. Kao posljedica nepoznavanja specifičnih čimbenika rasta pojedinih bakterija, one neće rasti na određenim podlogama, a to može biti razlog lažno negativnih rezultata. Transport uzoraka tijekom kojeg se gubi utjecaj okolišnih faktora na rast i sustav komunikacije („quorum sensing“) između mikroorganizama predstavlja mogući problem metode kulture (206).

### **1.5.2. Masena spektrometrija**

MALDI-TOF MS je proteomička tehnologija te se temelji na spektrometriji masa (matrix-assisted laser desorption-ionization time-of flight mass spectrometry). Moguće je provoditi identifikaciju na uzgojenim mikroorganizmima, a istražene su i mogućnosti za identifikaciju mikroorganizama direktno u kliničkim uzorcima. U usporedbi s tradicionalnim mikrobiološkim metodama, MALDI-TOF MS može identificirati bakterije i gljive unutar nekoliko minuta direktno s uzgojne ploče. Na ovaj način smanjuju se troškovi obrade uzorka i vrijeme trajanja dijagnostičke pretrage. Istraživanja su pokazala da je upotrebom MALDI-TOF MS za identifikaciju bakterija iz kliničkih uzoraka bilo moguće točno identificirati 84,1% od 1660 testiranih uzoraka. Ovom tehnikom moguće je determinirati proteomičke profile bakterija i gljiva, njihove faktore virulencije i markere antimikrobne rezistencije (207). MALDI-TOF MS dio je standardne opreme brojnih europskih laboratorija te pruža efikasnu, cijenom povoljnu, brzu identifikaciju bakterijskih i gljivičnih uzoraka. Primjena MALDI-TOFA MS omogućuje obradu velikog broja uzoraka, a za identifikaciju i klasifikaciju mikroorganizama zahtijeva

softver da bi se omogućila usporedba nepoznatih proteina s referantnim molekularnim masama. Ribosomski proteini se koriste kao referentne molekularne mase jer ih ima najviše u stanicima. Veliki broj istraživanja pokazao je uspješnost u detekciji širokog spektra bakterija upotrebom MALDI-TOF MS, uključujući gram pozitivne koke i štapiće, fermentativne i nefermentativne gram-negativne štapiće i anaerobe.

### **1.5.3. Lančana reakcija polimeraze**

Lančana reakcija polimeraze (*engl. Polymerase Chain Reaction, PCR*) polimerazna lančana reakcija, metoda je identifikacije mikroorganizama na temelju prepoznavanja sekvenci DNK traženog mikroorganizma. Relativno kratki dio DNA umnožava se u veliki broj identičnih kopija. Ciljani dio DNA molekule koju se želi umnožiti određuje se kratkim oligonukleotidnim sekvencama-primerima. Primeri su pokretači serije reakcija pomoću enzima DNA polimeraze, koja na kalupu jednog lanca DNA sintetizira novi, komplementarni lanac, pri čemu veličina sintetiziranog dijela DNA molekule odgovara dužini koju omeđuju izabrani primeri.

Osnovni parametri svih PCR protokola su:

1. inicijalna denaturacija DNA koja traje od 3 do 5 minuta na temperaturi od 94 °C -razdvajaju se udruženi lanci DNA koji služe kao kalupi za amplifikaciju;
2. hibridizacija primera na komplementarne odjeljke DNA - u tom procesu će temperatura biti snižena na prosječno 55 °C da bi se oligonukleotidni primeri vezali na komplementarne razdvojene lance DNA;
3. sinteza komplementarnog lanca na temperaturi od 72 °C.

Osjetljivost PCR metode je od deset do sto puta veća u identifikaciji mikroorganizama od ostalih mikrobioloških tehnika, a jedna od prednosti je mogućnost izolacije mikroorganizama koji se teško kultiviraju ili ih je nemoguće transportirati u laboratorij (208). Često se koristi u otkrivanju uzročnika endodontskih infekcija različite simptomatologije (209). Danas postoje brojne modifikacije PCR-a. Real-time PCR je postupak koji se temelji na standardnom PCR-u. Ovom metodom moguće je dobiti i kvantitativne mikrobiološke rezultate. Dobro izolirana

DNA, optimalno izabrani primeri za reakciju i optimizirani svi stupnjevi PCR reakcije neophodni su za odvijanje rtPCR-a. Multiplex PCR identificira nekoliko različitih vrsta u uzorku, a broad-range PCR pruža informacije o identitetu svih vrsta u analiziranom uzorku.

#### **1.5.4. Identifikacija bakterija u dosadašnjim kliničkim istraživanjima**

Broj živućih i kultivabilnih bakterija u uzorku može se odrediti nasađivanjem na agar ploče i brojanjem formiranih kolonija metodom kulture. Treba naglasiti da se ovom metodom kvantificiraju samo žive bakterije koje imaju sposobnost dijeljenja i stvaranja kolonija u mediju (210). Veliki udio bakterija prisutnih u intrakanalnim infekcijama su žive, ali se ne mogu kultivirati, što znači da su metabolički aktivne i virulentne, mogu inicirati stvaranje biofilma, ali nemaju sposobnost rasta u medijima (211). Kao rezultat toga, nasađivanjem uzorka metodom kulture iz bakterijskih biofilmova, koji uključuju žive nekultivabilne bakterije, procijent će se raznolikost i ukupan broj bakterija. Molekularne metode se rabe za identifikaciju i karakterizaciju mikroorganizama koje je teško izolirati na hranjivim podlogama, temelje se na detekciji nukleinskih kiselina iz mikroorganizama. Rt PCR predložen je kao alternativa metodi kulture u istraživanjima antibakterijske učinkovitosti (212). Ova metoda je osjetljivija u usporedbi s metodom kulture i može detektirati mikroorganizme neovisno o njihovoj fazi rasta. Rt PCR može detektirati slobodnu izvanstaničnu DNA i DNA iz mrtvih stanica (214, 215). Neka su istraživanja pokazala da je poluživot slobodne DNA u inficiranom korijenskom kanalu vrlo kratak zbog djelovanja DNaza i stoga ima samo mali učinak na kvantifikaciju bakterija pomoću rtPCR (215). Neki autori su kritizirali dezinfekcijski protokol i sterilnost operativnog polja u brojnim istraživanjima jer su se bazirali na metodi kulture, a ne na molekularnim metodama PCR-u i rtPCR-u (216). Kako bi služile svojoj svrsi, kontrole sterilnosti moraju se analizirati na isti način kao i eksperimentalni uzorci u studiji. Također, treba naglasiti da molekularne metode općenito podliježu istim ograničenjima uzorkovanja kao i metode temeljene na kulturi. PCR reverzna transkriptaza još je jedna molekularna metoda koja se rabi za kvantifikaciju bakterija nakon različitih protokola ispiranja. Ova metoda temelji se na detekciji bakterijske RNA i daje pouzdanije informacije o sposobnosti preživljavanja bakterija u uzorku u usporedbi s rtPCR-om zato što RNA ima kraći životni vijek od DNA i brzo se razgrađuje nakon stanične smrti (217). Međutim, RNA je puno teže izolirati i sačuvati (218). Noviji razvoj molekularnih metoda je sekvencioniranje sljedeće generacije (NGS), poznato kao sekvencioniranje visoke propusnosti (219). Temelji se na PCR amplifikaciji

sekvencioniranju gena 16s RNA što omogućuje analizu taksonomskog sastava mikrobioloških ekosustava. Metoda je vrlo osjetljiva. Ne može odrediti sposobnost preživljavanja bakterija, ali može detektirati slobodnu DNA i DNA koja potječe iz mrtvih stanica (220). Cijena ove metode je još uvijek previsoka, a potrebna oprema nije široko dostupna. Iako se NGS uglavnom koristio za otkrivanje mikroorganizama prisutnih u intrakanalnim infekcijama (221-222), isto se tako koristio u istraživanjima koja su ispitivala učinkovitost kemo-mehaničke instrumentacije na bakterijsku raznolikost (219-223). Omjer rRNA/DNA izračunat iz NGS podataka korišten je za procjenu udjela aktivnih bakterija u uzorku prije i nakon instrumentacije (224). Prema tome, NGS se koristi za analizu učinkovitosti irigacijskog sredstva na sastav i preživljavanje bakterijskih biofilmova.





Ciljevi doktorskog rada su:

1. Odrediti *in vivo* antimikrobni učinak rotacijske ProTaper Next i recipročne Wave One Gold tehnike instrumentacije tijekom kemo-mehaničke obrade kanala zuba s kroničnim apikalnim parodontitisom metodom kulture i MALDI-TOF tehnikom.
2. Usporediti *in vivo* antimikrobni učinak rotacijske ProTaper Next i recipročne Wave One Gold tehnike instrumentacije tijekom kemo-mehaničke obrade kanala zuba s kroničnim apikalnim parodontitisom metodom kulture i MALDI-TOF tehnikom.
3. Identificirati vrste i broj različitih vrsta mikroorganizama u korijenskom kanalu zuba s kroničnim apikalnim parodontitisom metodom kulture i MALDI-TOF tehnikom.
4. Odrediti antimikrobni učinak završnog protokola dezinfekcije nakon rotacijske i recipročne tehnike kemo-mehaničke obrade korijenskog kanala kod pacijenata s kroničnim apikalnim parodontitisom.

Radne hipoteze istraživanja su:

1. Bit će razlike u antimikrobnom učinku rotacijske ProTaper Next i recipročne Wave One Gold tehnike instrumentacije tijekom kemo-mehaničke obrade kanala zuba s kroničnim apikalnim parodontitisom metodom kulture i MALDI-TOF tehnikom.
2. Završni protokol dezinfekcije utjecat će na završni broj bakterija nakon kemo-mehaničke obrade kanala rotacijskom i recipročnom tehnikom kemo-mehaničke obrade korijenskog kanala kod pacijenata s kroničnim apikalnim parodontitisom.



### **3.1. Odabir ispitanika za kliničko istraživanje**

Kliničko istraživanje je odobreno od Etičkog odbora Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na XV. redovnoj sjednici (Broj: 05-PA-15-2/2017).

Kliničko istraživanje je provedeno u periodu od 2017. do 2021. na Zavodu za endodonciju i restaurativnu dentalnu medicinu Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Za određivanje broja ispitanika po skupinama napravljena je *power* analiza, koristeći Wilcoxonov test uz očekivanu redukciju broja bakterija od 95% (uz očekivanu standardnu devijaciju koja je 50% manja od prosječnog broja bakterija), razinu značajnosti  $\alpha=0,05$  i snagom testa od 95%, u istraživanje je potrebno uključiti najmanje 6 ispitanika po skupini.

Ispitanici za ovo kliničko istraživanje izabrani su iz skupine pacijenata koji su upućeni na Zavod za endodonciju i restaurativnu dentalnu medicinu od strane primarnog stomatologa radi endodontskog liječenja jednokanalnog zuba s dijagnozom nekroze. U istraživanje su uključeni pacijenti prema kriterijima uključivanja i isključivanja. Kriteriji uključivanja bili su: jednokorijenski i jednokanalni zubi s intaktnom pulpnom komoricom, intaktna kruna zuba (nema koronarnog propuštanja) bez prethodnog endodontskog liječenja, nekroza pulpe potvrđena je testom osjetljivosti (test na hladno) te kliničkim i radiološkim dokazima asimptomatskog apikalnog parodontitisa. U istraživanje nisu uključeni ispitanici koji su imali zube s velikim karijesnim lezijama, zube s frakturom krune ili korijena, prethodno endodontski liječeni zubi, pacijenti koji su posljednja tri mjeseca bili na antibiotskoj terapiji, simptomatski zubi i pacijenti sa parodontnim džepovima dubljima od 4 mm.

Svaki pacijent, koji je uključen u istraživanje, trebao je potpisati informirani pristanak kojim je potvrdio dobrovoljno sudjelovanje u istraživanju. Svaki ispitanik mogao je odustati od sudjelovanja u istraživanju tijekom cijelog protokola istraživanja. Istraživanje je postavljeno prema pravilima Helsinške deklaracije.

U istraživanje je uključeno 40 pacijenata (25 žena, 15 muškaraca). Kod svakog pacijenta endodontski je liječen samo jedan zub.

### **3.2. Klinički postupak endodontskog liječenja**

Kod svih pacijenata provedeno je jednoposjetno endodontsko liječenje.

Nakon uključivanja u istraživanje, pacijenti su metodom slučajnog odabira „*the wheel decide program*“ ([www.wheeldecide.com](http://www.wheeldecide.com)) raspoređeni u dvije skupine ovisno o tehnici mehaničke obrade korijenskog kanala:

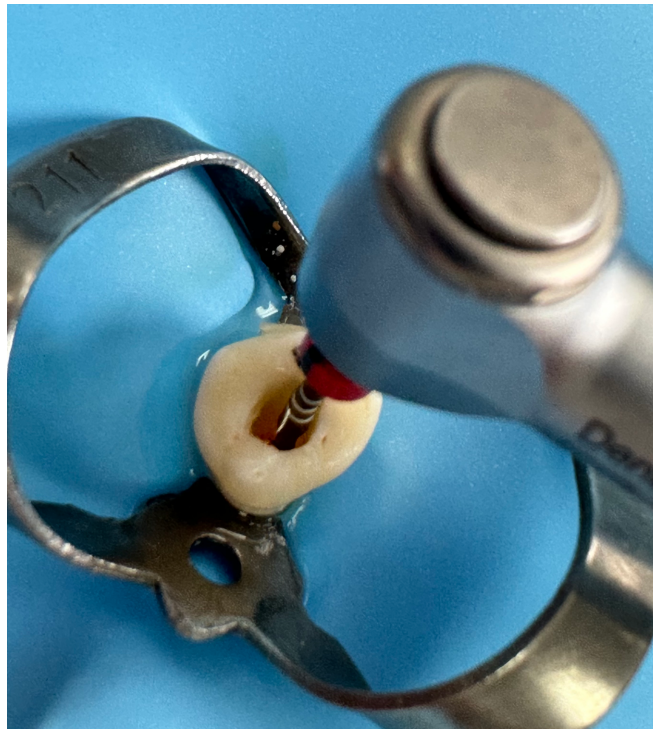
Skupina 1. Recipročna Wave One Gold tehnika instrumentacije (Dentsply, Sirona, Švicarska)

Skupina 2. Rotacijska ProTaper Next tehnika instrumentacije (Dentsply, Sirona, Švicarska).

Kod svih pacijenata je provedeno jednostruko slijepo istraživanje, što znači da pacijent nije znao kojoj eksperimentalnoj skupini pripada. Klinički postupak kod svih ispitanika je bio standardiziran te je uključivao anesteziju (Articain 4% with adrenalinom 1:100000, 1 ampula, Ubistesin<sup>TM</sup> forte, 3M ESPE, Njemačka), izolaciju zuba koferdamom te trepanaciju sterilnim dijamantrnim svrdlom. Aseptične mjere uključivale su dva protokola dezinfekcije operativnog polja s 6% vodikovim peroksidom, 2% jod, 6% vodikov peroksid i nakon toga 2,5% NaOCl. Opisani dezinfekcijski protokol primijenjen je prije i poslije završne obrade pristupnog kaviteta. Otopina 5% natrij tiosulfata korištena je za inaktivaciju ostatka joda i NaOCl-a. Nakon trepanacije, radna duljina kanala je izmjerena inicijalnim K-file instrumentom, odnosno instrumentom koji zapinje u apikalnom otvoru. Radna duljina je određena na apikalnom otvoru (vrijednost 0 na endometru).

Skupina 1. Wave One Gold tehnika instrumentacije

Za instrumentaciju korijenskih kanala korišten je WOG instrument primarni (crveni) 25/07 dužine 25 mm. Tijekom instrumentacije korišteni su pokreti „in and out pecking motions“ uz kontinuirano ispiranje korijenskog kanala 3% NaOCl-om. Prohodnost apikalnog otvora provjerila se proširivačem broj #10 (proizvođač, grad, država). Korišten je endo motor (WaveOne, Maillefer Dentsply, Švicarska) s postavkom recipročne kretnje. Prisutnost čistih dentinskih strugotina, prozirnog irigansa i čvrstih glatkih stijenki bili su pokazatelji odgovarajućeg čišćenja korijenskih kanala. Dodatno, apeksno čišćenje je potvrđeno kada su čisti dentinski ostaci bili prisutni na vrhu instrumenta.



**Slika 4.** Instrumentacija kanala Wave One Gold tehnikom (Dentsply Sirona)



**Slika 5.** Wave one Gold instrument (Dentsply, Sirona), primarni instrument 25/07

Skupina 2. ProTaper Next tehnika instrumentacije

Za instrumentaciju korijenskih kanala korišteni su PTN instrumenti X1 (17/04) te X2 (25/06) dužine 25 mm kod svih pacijenata, korišten je endo motor WaveOne (Maillefer Dentsply, Švicarska) uz postavke: brzina okretaja 300 rpm, i snaga okretaja 2,7 N/cm<sup>2</sup>. Prisutnost čistih dentinskih strugotina, prozirnog irigansa i čvrstih glatkih stijenki bili su pokazatelji odgovarajućeg čišćenja korijenskih kanala. Dodatno, apeksno čišćenje je potvrđeno kada su čisti dentinski ostaci bili prisutni na vrhu instrumenta.



**Slika 6.** Instrumentacija kanala Pro Taper Next tehnikom (Dentsply Sirona)



**Slika 7.** Instrumentacija kanala Pro Taper Next tehnikom (Dentsply Sirona)



**Slika 8.** Pro Taper Next instrumenti (Dentsply, Sirona), X1 17/04, X2 25/06

Kemijska obrada korijenskih kanala bila je standardizirana za sve pacijente i uključivala je 10 ml 2.5 % NaOCl-a tijekom mehaničke obrade korijenskih kanala. Završni protokol ispiranja uključivao je: 5 ml 2.5 % NaOCl-a tijekom 30 s, 2 ml 15% EDTA tijekom 60 s te 5 ml 2.5% NaOCl-a tijekom 30 s. Kod svih pacijenata provedeno je jednoposjetno endodontsko liječenje zuba. U obje skupine korijenski kanali su punjeni tehnikom hladne lateralne kondenzacije s gutaperka štapićima i punilom temeljenim na epoksi smoli (AH Plus, Dentsply De Tery, SAD). Zub se privremeno zatvorio staklenim ionomerom (Fuji IX; GC Corporation, Tokyo, Japan), a pacijent je upućen na izradu kontrolne rentgenske snimke.



**Slika 9.** Završno ispiranje korijenskih kanala



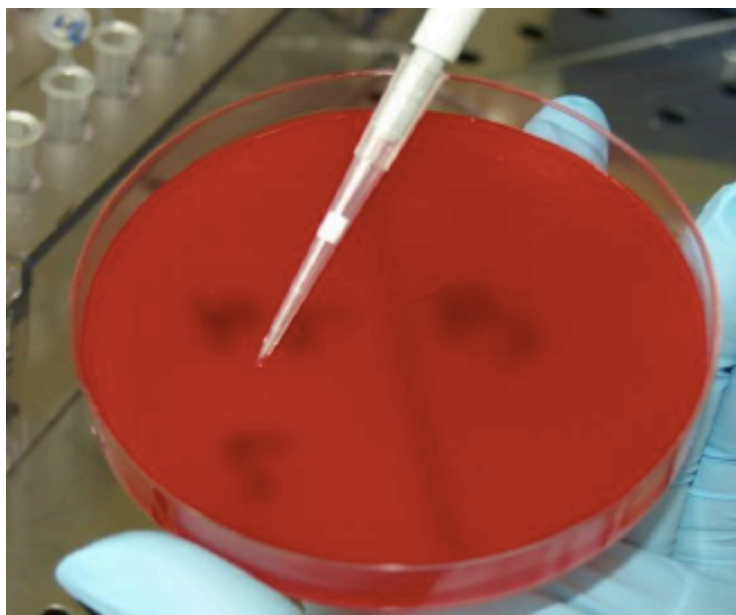
### **3.3. Uzimanje mikrobioloških uzoraka iz korijenskog kanala**

Mikrobiološki uzorci prikupljeni su iz korijenskog kanala zuba na početku, nakon trepanacije zuba (Uzorak 1), nakon kemo-mehaničke obrade kanala (Uzorak 2) i nakon završnog protokola ispiranja (Uzorak 3). U svakoj fazi prikupljena su dva mikrobiološka uzorka ručnim sterilnim papirnatim štapićem (Dentsply, Sirona) br. 15 prema ISO standardu. Sterilna fiziološka otopina aplicirana je unutar kaviteta bez prelijevanja te je raspoređena unutar korijenskog kanala malim endodontskim instrumentom, K-file (Dentsply, Sirona) br. 15 prema ISO standardu. Zidovi korijenskog kanala nježno su obrađeni kako bi se fiziološka otopina ravnomjerno rasporedila po kanalu. Sterilni papirnati štapić apliciran je u korijenski kanal 1 mm kraće od radiološkog apeksa, temeljeno na rentgenskim snimkama, tako da upije tekućinu u kanalu. Svaki papirnati štapić ostavljen je unutar korijenskog kanala jednu minutu. Štapići su pohranjeni u ependorf epruvetu koja sadrži tioglikolat (Merck, Darmstadt, Germany) i inkubirani su 14 dana na 37 °C za metodu kulture (225). Unutar dva sata od uzimanja mikrobiološki uzorci transportirani su na Zavod za mikrobiologiju KBC-a Zagreb. Kontrola steriliteta provedena je uzimanjem uzoraka pristupnog kaviteta sa sterilnim papirnatim štapićem. Za uključivanje zubi u istraživanje navedeni kontrolni primjeri morali su biti negativni za metodu kulture i MALDI-TOF tehniku. U skladu s navedenim, nekoliko zubi isključeno je iz istraživanja.

### **3.4. Mikrobiološka analiza uzoraka**

#### **3.4.1. Metoda kulture**

Uzorci su se serijski razrjeđivali (1:2 zatim 1:10) te su se nasadili na Columbia agar i krvni agar. Inokulacija na podloge provodila se standardnim mikrobiološkim metodama nakon čega su se podloge inkubirale u aerobnim uvjetima (krvni agar) i anaerobnim uvjetima (Columbia agar). Nakon inkubacije koja je trajala 48 sati za aerobe i 72-96 sati za anaerobe na temperaturi od 35-37 °C, očitavao se vizualno porast mikroorganizama, njihov broj i provodila se identifikacija. Konačna identifikacija provela se MALDI-TOF tehnikom.



**Slika 10.** Nasadivanje uzoraka na krvne ploče

### **3.4.2. MALDI-TOF identifikacija mikroorganizama**

Identifikacija mikroorganizama radila se MALDI-TOF uređajem. Nakon inkubacije na pločicu s točno određenim mjestima nanese su bakterije u vrlo tankom sloju i matrix (pufer) bez kojeg identifikacija ne bi bila moguća. Matrix otopina koja se koristila je  $\alpha$ -cyano-4-hydroxycinnamic kiselina, koncentrat (HCCA matrix portioned), svježa otopina. Potrebno je prekriti svaku poziciju na pločici s 1  $\mu$ l otopine matrixa. Uzorak je osušen na sobnoj temperaturi, nakon čega je bio vidljiv homogeni pripravak. Potrebno je bilo provjeriti da nema curenja matrixa iz jedne pozicije u drugu. Uzorak je na taj način bio spreman za identifikaciju, odnosno umetanje pločice u MALDI-TOF maseni spektrometar. Na početku procesa identifikacije, nastaju pikovi, izgledaju kao graf, koje MALDI-TOF uspoređuje sa svojom bazom podataka. Identifikacija svake bakterije odredila se vrlo brzo, mjerila se u sekundama. Za bakterije koje nisu odmah identificirane, postupak se ponovio.

### **3.5. Statistička analiza**

Za statističku analizu rezultata korišten je Wilcoxon test. Sve P vrijednosti manje od 0,05 smatrane su značajnima. Za usporedbu pojavnosti pojedinih bakterijskih vrsta između skupina korišten je hi-kvadrat test. Za statističku analizu, korišten je program SPSS (version 29.0; IBM, Armonk, NY).



Anja Sesar, disertacija

U Tablici 1. prikazane su bakterijske vrste otkrivene u inicijalnom uzorku kod svih pacijenata u obje skupina.

U Tablici 2. prikazana je pojavnost zaostalih bakterijskih vrsta nakon kemo-mehaničke obrade kanala (uzorak 2.) i nakon završnog protokola ispiranja (uzorak 3. ) u svakoj eksperimentalnoj skupini, skupini 1. (ProTaper Next) i skupini 2. (Wave One Gold).

Nije bilo statistički značajne razlike u pojavnosti bakterijskih vrsta između skupina nakon kemo-mehaničke obrade kanala ( $p=0,405$ ) i nakon završnog protokola ispiranja kanala ( $p=0,364$ ).

**Tablica 1.** Bakterijske vrste otkrivene u prvom uzorku kod svih pacijenata

		Nakon otvaranja zuba
		%
Naziv bakterije	Streptococcus oralis	9.8%
	Actinomyces oris	6.5%
	Streptococcus sanguinis	5.7%
	Lactobacillus rhamnosus	4.1%
	Neisseria mucosa	4.1%
	Parvimonas micra	4.1%
	Rothia dentocariosa	4.1%
	Streptococcus anginosus	4.1%
	Streptococcus gordonii	4.1%
	Prevotella oralis	3.3%
	Streptococcus cristatus	3.3%
	Streptococcus intermedius	3.3%
	Streptococcus mitis	3.3%
	Fusobacterium nucleatum	2.4%
	Micrococcus luteus	2.4%
	Neisseria flavescens	2.4%
	Streptococcus mutans	2.4%
	Enterococcus faecalis	1.6%
	Haemophilus parainfluenzae	1.6%
	Prevotella buccae	1.6%
	Staphylococcus epidermidis	1.6%
	Streptococcus constelatus	1.6%
	Veillonela parvula	1.6%
	Acinetobacter schindleri	0.8%
	Actinomyces meyeri	0.8%
	Aggregatibacter aphrophilus	0.8%
	Atinomyces naeslundii	0.8%
	Atopobium parvulum	0.8%
	Bacillus muralis	0.8%
	Bifidiobacterium dentium	0.8%
	Cutibacterium acnes	0.8%
	Fusobacterium naviforme	0.8%
	Gemella morbillorum	0.8%
	Lactobacillus kalixensis	0.8%
	Porphyromonas endodontalis	0.8%
	Porphyromonas gingivalis	0.8%
	Prevotella dentalis	0.8%
	Prevotella intermedia	0.8%
	Prevotella denticola	0.8%
	Prevotella intermedia	0.8%
Prevotella nigrescens	0.8%	
Prevotella veroralis	0.8%	
Rhizobium radiobacter	0.8%	
Rothia aerea	0.8%	
Slackia exigua	0.8%	
Staphylococcus haemolyticus	0.8%	
Staphylococcus hominis	0.8%	
Streptococcus pneumoniae	0.8%	
Streptococcus salivarius	0.8%	

**Tablica 2.** Pojavnost bakterijskih vrste u uzorku 2. (nakon kemo-mehaničke obrade kanala) i uzorku 3. (nakon završnog ispiranja korijenskih kanala) u skupini 1.(ProTaper Next) i skupini 2. (Wave One Gold)

		Uzorak							
		Nakon instrumentacije kanala				Nakon završnog ispiranja kanala			
		Grupa		Grupa		Grupa		Grupa	
		ProTaperNext	WaveOne Gold	ProTaperNext	WaveOne Gold	ProTaperNext	WaveOne Gold	ProTaperNext	WaveOne Gold
		N	%	N	%	N	%	N	%
Naziv bakterije	Acidaminococcus intestini	0	0,0%	1	4,2%	0	0,0%	0	0,0%
	Actinomyces odontolyticus	0	0,0%	1	4,2%	0	0,0%	1	7,1%
	Actinomyces oris	5	12,2%	1	4,2%	5	16,7%	0	0,0%
	Bacillus muralis	1	2,4%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
	Capnocytophaga ochracea	0	0,0%	1	4,2%	1	3,3%	0	0,0%
	Dialister pneumonisin	0	0,0%	0	0,0%	1	3,3%	0	0,0%
	Enterococcus faecalis	1	2,4%	0	0,0%	1	3,3%	0	0,0%
	Fusobacterium canifelinum	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	1	7,1%
	Fusobacterium naviforme	0	0,0%	0	0,0%	1	3,3%	0	0,0%
	Fusobacterium nucleatum	1	2,4%	1	4,2%	2	6,7%	0	0,0%
	Haemophilus parainfluenzae	0	0,0%	0	0,0%	1	3,3%	0	0,0%
	Lactobacillus rhamnosus	0	0,0%	3	12,5%	0	0,0%	0	0,0%
	Micrococcus luteus	2	4,9%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
	Neisseria mucosa	2	4,9%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
	Parvimonas micra	2	4,9%	1	4,2%	1	3,3%	0	0,0%
	Porphyromonas gingivalis	1	2,4%	0	0,0%	1	3,3%	0	0,0%
	Prevotella intermedia	1	2,4%	0	0,0%	1	3,3%	0	0,0%
	Prevotella denticola	0	0,0%	1	4,2%	0	0,0%	0	0,0%
	Prevotella nigrescens	1	2,4%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
	Prevotella oralis	0	0,0%	3	12,5%	0	0,0%	2	14,3%
	Rothia aeria	2	4,9%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
	Rothia dentocariosa	0	0,0%	0	0,0%	1	3,3%	0	0,0%
	Selenomonas infelix	0	0,0%	0	0,0%	1	3,3%	0	0,0%
	Staphylococcus epidermidis	1	2,4%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
	Staphylococcus haemolyticus	1	2,4%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
	Staphylococcus hominis	1	2,4%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
	Streptococcus anginosus	1	2,4%	1	4,2%	0	0,0%	1	7,1%
	Streptococcus constelatus	2	4,9%	0	0,0%	2	6,7%	0	0,0%
	Streptococcus gordonii	2	4,9%	2	8,3%	2	6,7%	2	14,3%
	Streptococcus intermedius	2	4,9%	1	4,2%	0	0,0%	1	7,1%
	Streptococcus mitis	1	2,4%	1	4,2%	1	3,3%	1	7,1%
	Streptococcus mutans	1	2,4%	0	0,0%	1	3,3%	0	0,0%
	Streptococcus oralis	4	9,8%	2	8,3%	3	10,0%	1	7,1%
	Streptococcus pneumoniae	1	2,4%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
Streptococcus salivarius	1	2,4%	0	0,0%	1	3,3%	0	0,0%	
Streptococcus sanguinis	2	4,9%	3	12,5%	2	6,7%	3	21,4%	
Veillonela parvula	2	4,9%	1	4,2%	1	3,3%	1	7,1%	

Tablica 3. pokazuje vrijednosti broja kolonija (CFUs) u svakoj od faza endodontskog liječenja i stupanj smanjenja broja kolonija nakon svake faze, u obje skupine.

Tablica 3. Broj kolonija (CFUs) u svakoj od faza endodontskog liječenja i stupanj smanjenja broja kolonija nakon svake faze, u obje skupine.

Broj poraslih kolonija (CFUs)	Početni uzorak (nakon trepanacije)	Nakon kemo-mehaničke obrade		Nakon završnog ispiranja		P <sup>2</sup>	P
	Median (IQR) <sup>1</sup>	Median (IQR) <sup>1</sup>	Stupanj smanjenja (%) <sup>2</sup>	Median (IQR)	Stupanj smanjenja (%) <sup>2</sup>		
ProTaper Next	3000 (600 - 10000)	1000 (100 - 1000)	66.7	100 (1 - 100)	96.7	<0.001	<0.001
WaveOne Gold	3000 (50 - 14500)	1000 (20 - 1400)	66.2	105 (50 - 500)	96.5	<0.001	<0.001
<b>P vrijednost (između grupa)</b>	0.461	0.907		0.074			

<sup>1</sup> IQR: interkvartilni raspon

<sup>2</sup> Usporedba s vrijednostima početnog uzorka

<sup>3</sup> Usporedba završnog protokola ispiranja prema vrijednostima kemo-mehaničke obrade



Statistička analiza nije pokazala značajnu razliku u odnosu na zastupljenost aerobnih i anaerobnih bakterija između pojedinih uzoraka ( $p=0,580$ ).

**Tablica 4.** Postotak aerobnih i anaerobnih bakterijskih vrsta nakon otvaranja zuba, nakon instrumentacije kanala i nakon završnog protokola ispiranja u obje skupine zajedno.

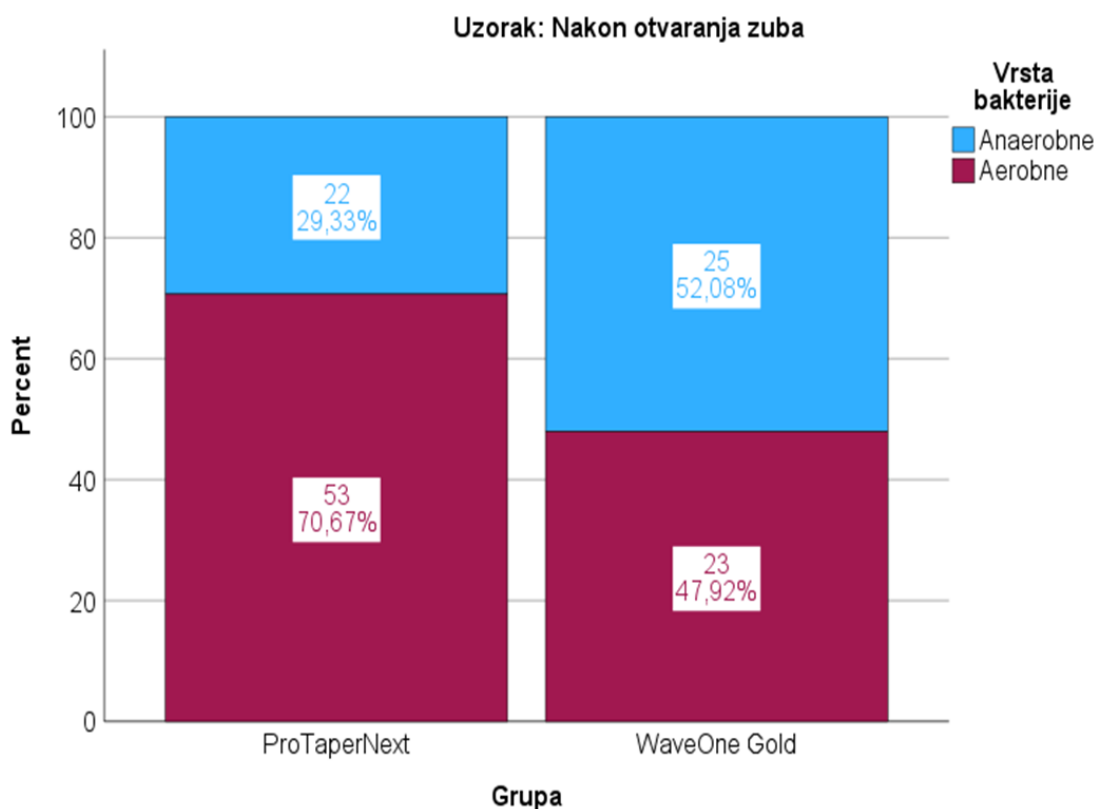
		Uzorak		
		Nakon otvaranja zuba	Nakon instrumentacije kanala	Nakon završnog ispiranja kanala
		%	%	%
Vrsta	Anaerobne	38,2%	44,6%	45,5%
bakterije	Aerobne	61,8%	55,4%	54,5%

Intergrupna analiza pokazala je značajno veći postotak anaerobnih bakterija u inicijalnom uzorku u skupini Wave One Gold u usporedbi sa skupinom ProTaper Next ( $p=0,011$ ). U ostalim fazama liječenja (nakon kemo-mehaničke obrade kanala i nakon završnog protokola ispiranja) nije bilo značajne razlike u zastupljenosti anaerobnih ili aerobnih vrsta između skupina ( $p=0,880$ ,  $p=0,124$ ) (Slike 11, 12, 13).

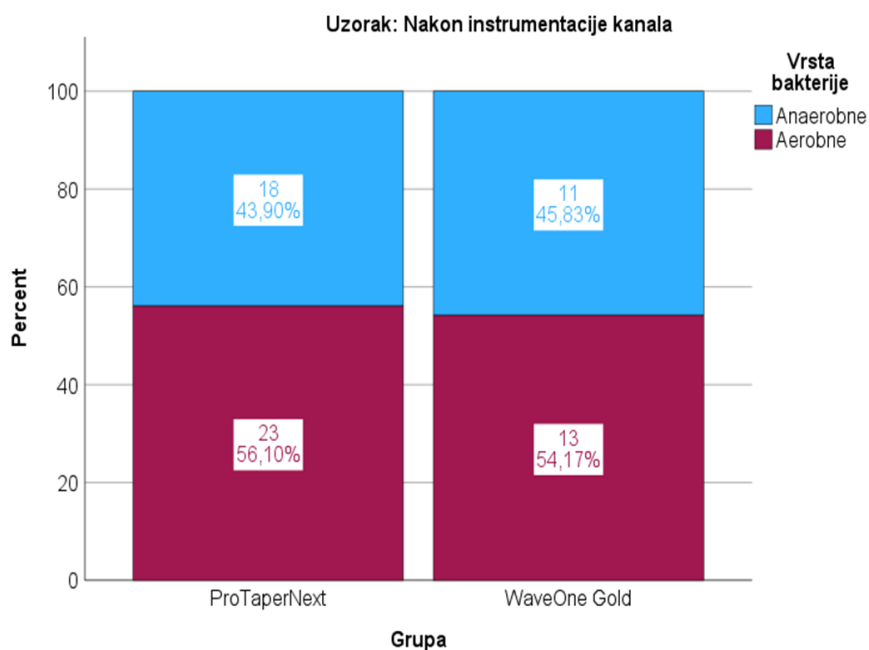
Tablica 5. pokazuje pojavnost aerobnih i anaerobnih bakterijskih vrsta u svakoj od skupina nakon otvaranja zuba (inicijalno) nakon kemo-mehaničke obrade i nakon završnog protokola ispiranja kanala.

**Tablica 5.** pojavnost aerobnih i anaerobnih bakterijskih vrsta u svakoj od skupina nakon otvaranja zuba (inicijalno) nakon kemo-mehaničke obrade i nakon završnog protokola ispiranja kanala.

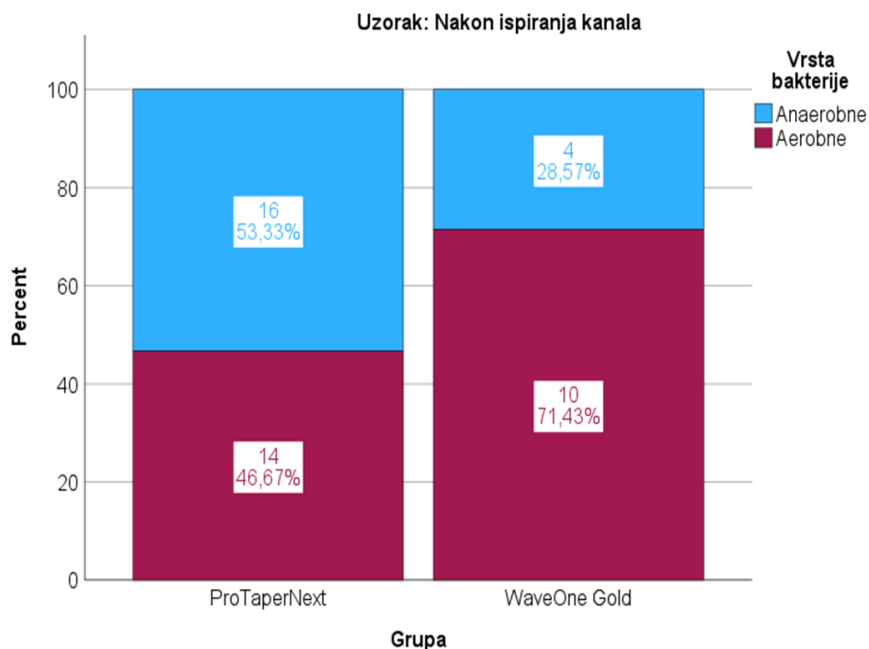
		Uzorak											
		Nakon otvaranja zuba				Nakon instrumentacije kanala				Nakon završnog ispiranja kanala			
		Grupa		Grupa		Grupa		Grupa		Grupa		Grupa	
		ProTaperNext	WaveOne Gold	ProTaperNext	WaveOne Gold	ProTaperNext	WaveOne Gold	ProTaperNext	WaveOne Gold	ProTaperNext	WaveOne Gold	ProTaperNext	WaveOne Gold
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Vrsta bakterije	Anaerobne	22	29,3%	25	52,1%	18	43,9%	11	45,8%	16	53,3%	4	28,6%
	Aerobne	53	70,7%	23	47,9%	23	56,1%	13	54,2%	14	46,7%	10	71,4%



**Slika 11.** Prisutnost aerobnih i anaerobnih bakterijskih vrsta u inicijalnom uzorku nakon otvaranja zuba u skupini ProTaper Next i Wave One Gold



**Slika 12.** Prisutnost aerobnih i anaerobnih bakterijskih vrsta u uzorku 2. nakon kemo-mehaničke obrade kanala u skupini ProTaper Next i Wave One Gold



**Slika 13.** Prisutnost aerobnih i anaerobnih bakterijskih vrsta u uzorku 3. nakon završnog ispiranja kanala u skupini ProTaper Next i Wave One Gold



Mehanička obrada korijenskog kanala predstavlja jednu od najvažnijih faza endodontskog liječenja koja osim oblikovanja endodontskog prostora trebala osigurati kvalitetnu dezinfekciju i čišćenje korijenskih kanala (2). Smatra se da za adekvatno čišćenje korijenskog kanala, promjer apikalnog otvora treba biti najmanje tri veličine veći od inicijalne veličine apikalnog otvora (225). Nova saznanja o kontroli intrakanalne infekcije pokazuju da je uloga mehaničke obrade isključivo oblikovanje korijenskog kanala kako bi se olakšao prodor irigansa i dezinficijensa u sve dijelove endodontskog prostora, i kasnije kvalitetno punjenje i brtvljenje takvog prostora (226). Međutim, mehanička i kemijska obrada korijenskog kanala su usko povezane faze endodontskog liječenja u kojem i jedna i druga imaju jednaku važnost u kontroli intrakanalne infekcije (227). Glavna svrha mehaničkog širenja korijenskog kanala je omogućiti duboki prodor sredstva za ispiranje unutar malog volumena korijenskog kanala (227). Na protok tekućine unutar korijenskog kanala utječu viskoznost sredstva za ispiranje, gustoća irigansa, duljinu i brzina ispiranja (228). Za mehaničko oblikovanje korijenskih kanala koriste se različiti ručni i strojni instrumenti različitih reznih karakteristika, promjera i materijala od kojih su izgrađeni, različite veličine i promjera (229). Dosad su objavljena brojna laboratorijska istraživanja o mehaničkim svojstvima endodontskih instrumenata (230). Međutim, kada je riječ o kliničkim istraživanjima, učinkovitost endodontskih instrumenata analizirana je u dosad objavljena tri prospektivna istraživanja (231-234). U navedenim istraživanjima (232-233), bolju učinkovitost pokazali su NiTi instrumenti (ručni ili rotacijski) u usporedbi s ručnim instrumentima od nehrđajućeg čelika.

Cilj ovog doktorskog rada bila je ispitati antimikrobnu učinkovitost rotacijske (ProTaper Next) i recipročne (Wave One Gold) tehnike instrumentacije u jednoposjetnom endodontskom liječenju nekrotičnih jednokanalnih zuba kod pacijenata s kroničnim apikalnim parodontitisom. Rezultati ovog kliničkog istraživanja pokazali su sličnu učinkovitost ProTaper Next i Wave One Gold tehnike instrumentacije u smanjenju broja bakterijskih kolonija iz korijenskog kanala tijekom jednoposjetne endodontcije. Bitno je naglasiti da je volumen irigansa (NaOCl) bio standardiziran u obje skupine. Dosad je objavljen veliki broj istraživanja usporedbe rotacijske i recipročne tehnike obrade korijenskog kanala. U kliničkom istraživanju Xavier i sur. (235), analizirana je učinkovitost recipročnog sustava s jednim instrumentom (Reciproc, Wave One) i rotacijskog sustava (ProTaper, Mtwo) u uklanjanju endotoksina i bakterija kod primarne endodontske infekcije. U istraživanje je sudjelovalo 48 pacijenata s primarnom endodontskom infekcijom. Mikrobiološki uzorci su uzeti prije i nakon kemo-mehaničke obrade. Rezultati istraživanja pokazali su da su i recipročni i rotacijski sustavi slične učinkovitosti u smanjenju

endotoksina i bakterija kod pacijenta s primarnim apikalnim parodontitisom. Međutim, otkiveno je da ni recipročna tehnika, niti rotacijske tehnika nije osigurala kompletno uklanjanje bakterija iz korijenskih kanala. U navedenom istraživanju analizom kulture otkrivena je prisutnost bakterija u svim početnim uzorcima s brojem CFU po kanalu u vrijednosti od  $1.1 \times 10^3$  do  $6.1 \times 10^7$  što je usporedivo s prethodnim istraživanjima (236-239). U ovom doktorskom radu, broj bakterija je također analizirana metodom kulture te su inicijalne vrijednosti bile  $3 \times 10^3$  (median) do maksimalnih vrijednosti  $2 \times 10^6$  (median), što je u skladu s prethodnim istraživanjima (235). Prednosti recipročne tehnike obrade kanala je u mogućnosti mehaničke obrade kanala jednim instrumentom uz značajno kraće vrijeme kemo-mehaničke obrade. U ovom doktorskom radu korišten je Wave One Gold instrument, koji je dobiven od M-wire Ni-Ti legure uz posebnu termo-mehaničku obradu instrumenta kojim je postignuta veća fleksibilnost instrumenta i otpornost na lomove i cilkički zamor (240-241). Također, vrijeme kemo-mehaničke obrade kanala nije bila standardizirana u obje skupine. Međutim, bitno je naglasiti da su obje ispitivane tehnike instrumentacije uzrokovale visoki stupanj smanjenja broja bakterija, ProTaper Next  $1 \times 10^3$  (median) nakon kemo-mehaničke obrade kanala, a Wave One Gold  $1 \times 10^3$ . Međutim, u niti jednoj skupini nije postignuta kompletna eradikacija bakterija iz korijenskog kanala kod niti jednog pacijenta. Machado i sur. (242) uspoređivali su *in vitro* antimikrobnu učinkovitost recipročnih i rotacijskih sustava metodom kulture te su objavili smanjenje broja bakterija veće od 94 %, bez obzira na testirane sustave. Alves i sur. (243) pokazali su u *in vitro* istraživanjem, uz korištenje PCR-a ili metode kulture, vrlo značajno smanjenje bakterija nakon recipročne tehnike instrumentacije. Bez obzira na odabranu tehniku instrumentacije, rezultati u ovom doktorskom radu pokazali su da su bakterije još uvijek otkrivene u većini analiziranih korijenskih kanala nakon kemo-mehaničke obrade kanala. U kliničkom istraživanju Cavalli et al. (244), uspoređivane su tri različite tehnike instrumentacije, rotacijska (Mtwo), recipročna (Reciproc) i hibridna tehnika (Genius). Sva tri sustava pokazala su slično antimikrobno djelovanje. Analiza kulture pokazala je prisutnost mikroorganizama u 93.33% početnih uzoraka. Što se tiče instrumentacijskih sustava u navedenom istraživanju, rotacijska tehnika je uzrokovala smanjene razine endotoksina, a slijede ju hibridna i recipročna tehnika. U ovom doktorskom radu, nije bilo razlike u učinkovitosti uklanjanja aerobnih i anaerobnih vrsta između ProTaper Next i Wave One Gold tehnike instrumentacije. Već je dokazano da je za učinkovitost NaOCl-a bitno, osim koncentracije, vrijeme kontakta irigansa s bakterijama unutar kanala (245). NaOCl ostaje primarni irigans izbora i treba ga koristiti tijekom cijele kemo-mehaničke obrade kako bi se eliminirali mikroorganizmi, uništio bakterijski biofilm, uklonili ostatci pulpnog tkiva kao i organske komponente te osigurala

lubrikacija instrumenta u korijenskom kanalu (226, 246, 247). Još uvijek ne postoji konsenzus o optimalnoj koncentraciji NaOCl-a s predloženim vrijednostima u rasponu od 0.5%-8.25% (248-251). U ovom kliničkom istraživanju korištena je 2,5% koncentracija NaOCl-a. Klinička istraživanja provedena do sada nisu otkrila značajnu razliku u antimikrobnom učinku ili cijeljenju apikalnog parodontitisa između različitih koncentracija NaOCl-a (252-253). Obzirom na anatomsku složenost sustava korijenskih kanala, preporučuje se kontinuirana upotreba NaOCl-a kao primarnog sredstva za ispiranje kako bi se dosegnula udaljena i teško dostupna područja korijenskih kanala gdje je protok sredstva za ispiranje ograničen. Potrebno je koristiti velike količine NaOCl-a kako bi se nadoknadila brza potrošnja slobodnog dostupnog klora u reakcijama s organskom tvari. Rezultati ovog istraživanja pokazali su da završni protokol ispiranja ima značajnu ulogu u smanjenju broja mikroorganizama. Prednost završnog protokola ispiranja u endodontskom liječenju potvrđuju i rezultati drugih istraživanja (245). U ovom istraživanju je korištena konvencionalna tehnika špricom i iglom koja je prihvatljiva tehnika za jednostavnu anatomiju korijenskih kanala što su potvrdili i rezultati drugih istraživanja (254-257).

U kliničkom istraživanju Rodrigues i sur. (258), analizirana je antimikrobna učinkovitost dva sustava instrumentacije (Self-Adjusting File i Twisted File Adaptive) u korijenskim kanalima s apikalnim parodontitisom. U istraživanju je uključeno 48 zubi s jednim korijenom i jednim kanalom s apikalnim parodontitisom nakon endodontskog liječenja. Oba instrumentacijska sustava bila su jednako učinkovita u značajnom smanjenju broja intrakanalnih bakterija (258). Prosječna ukupna redukcija bakterija bila je 83.7% za SAF, 94,8% za TFA i 96.9% za TFA+PUI. Nije primijećena značajna razlika između skupina. U navedenom istraživanju, kao i u ovom doktorskom radu, volumen irigansa (NaOCl) je bio standardiziran u obje skupine. Međutim, također je naglašeno da vrijeme djelovanja NaOCl-a je još jedan čimbenik koji potencijalno može utjecati na rezultate, a *in vitro* studije su pokazale da je uočeno značajno veće smanjenje broja bakterija nakon dužeg izlaganja NaOCl-u (259-260). Međutim, i u ovom doktorskom radu, vrijeme je bilo nemoguće standardizirati je je sustav Wave One Gold koristio jedan instrument, a sustav ProTaper Next dva instrumenta (X1 i X2). U kliničkom istraživanju Rocas i sur. (121), istraživana je antibakterijska učinkovitost dvije tehnike instrumentacije, ručnih Ni-Ti instrumenta i rotacijske Ni-Ti sustava u jednokanalnim zubima s kroničnim apikalnim parodontitisom. Rotacijski NiTi instrumenti rezultirali su znatno manjim brojem qPCR pozitivnih slučajeva 60% od ručnih instrumenata 90%. Međutim, nije

bilo značajne razlike u smanjenju bakterija u inficiranim kanalima nakon instrumentacije pomoću ručnih ili rotirajućih instrumenata.

U istraživanju Rocas i sur. (121), autori su uspoređivali antibakterijsku učinkovitost dvije tehnike instrumentacije, ručne Ni-Ti instrumente, a druga tehnika rotacijske Ni-Ti instrumente u jednokanalnim zubima s kroničnim apikalnim parodontitisom. Mikrobiološke metode korištene u istraživanju su bile metoda kulture i real time PCR. Bakterije su otkrivene u svim uzorcima objema metodama. Analizom kulture otkrivena prisutnost bakterija 45% nakon ručne i rotacijske tehnike. Rotacijski NiTi instrumenti rezultirali su znatno manjim brojem qPCR pozitivnih slučajeva 60% od ručnih instrumenata 90%. Nije bilo značajne razlike u smanjenju bakterija u inficiranim kanalima nakon instrumentacije pomoću ručnih ili rotirajućih instrumenata. Intragrupna kvantitativna analiza otkrila je da su obje instrumentacijske tehnike bile vrlo učinkovite u smanjenju intrakanalnih razina bakterija. Prosječni postotak smanjenja broja bakterija u skupini ručnih NiTi instrumenata bio je 95.2% (medijan 99.6 %) dok je u skupini rotacijskih bio 98.3% (medijan 99.7%).

Rezultati ovog doktorskog rada su u skladu s gotovo svim istraživanjima na tu temu koja pokazuju da je kemo-mehanička obrada od iznimne važnosti za smanjenje infekcije unutar korijenskog kanala (261-264). Međutim, ovo istraživanje također podupire prethodna istraživanja koja pokazuju da veliki broj slučajeva još uvijek sadrži detektabilne bakterije koje zaostaju nakon instrumentacije i ispiranja. Učestalost pozitivnih slučajeva za obje skupine nakon instrumentacije/ispiranja unutar je raspona koji pokazuje većina kliničkih studija na tu temu (262-269). Budući da će optimalan ishod liječenja korijenskog kanala ovisiti o maksimalnoj redukciji bakterija do razina koja omogućava cijeljenje periapikalnog tkiva (1).

Rezultati doktorskog rada pokazali su značajno smanjenje intrakanalnih bakterija nakon završnog protokola ispiranja u obje skupine. Navedeni rezultati upućuju na važnost završnog protokola ispiranja kanala. Korišteni protokol ispiranja uključivao je ispiranje kanala 2.5% NaOCL, 15% EDTA i završno ispiranje s 2.5% NaOCl-om. Korišteni završni protokol ispiranja kanala korišten je i u drugim sličnim kliničkim istraživanjima te je kao takav potvrđen kao standardni protokol u endodontskom liječenju (245). Ucan i sur. (245) u svom kliničkom istraživanju uspoređivali su cijeljenje jednokorijenskih zubi s apikalnim parodontitisom nakon završnog protokola ispiranja QMix-om i NaOCl-om, a rezultati su pokazali da nije bilo statistički značajne razlike u cijeljenju tkiva između upotrebe QMix-a i NaOCl-a (referenca Internet Mac). Trenutačni dokazi ne podupiru upotrebu CHX-a ili bilo kojeg drugog sredstva



za ispiranje umjesto NaOCl-a za završno ispiranje. Glavni argument protiv konačnog ispiranja NaOCl-om nakon EDTA je taj da NaOCl destruiira dentinski kolagen i uzrokuje eroziju na stijenci korijenskog kanala (205). Međutim, klinički značaj takve erozije ostaje nejasan (245).

Molekularna MALDI-TOF analiza je u ovom doktorskom radu otkrila ukupno 49 bakterijskih vrsta u korijenskim kanalima. Prosječno je u svakom kanalu otkriveno 3-5 bakterijskih vrsta. Najčešća vrsta je bila iz skupine *Streptococcus*. Identifikacija mikroorganizama česta je tema istraživanja u endodontskoj literaturi. Najčešće je identifikacija rađena sa rt PCR-om. Istraživanja koja su koristila metodu kulture i metode molekularne mikrobiologije pokazala su da primarne intraradikularne infekcije karakterizira mješovita bakterijska flora s visokom prevalencijom i dominacijom obligatnih anaerobnih bakterijskih vrsta (270). Najčešće otkrivene bakterijske vrste varirale su od istraživanja do istraživanja. Međutim, skupina od 20 do 30 identificiranih bakterijskih vrsta pojavljuje se u gotovo svakom istraživanju primarnih infekcija što je u skladu s rezultatima ovog dokorskog rada. Bakterijske vrste otkrivene u provedenim istraživanjima uključivale su nekoliko gram negativnih bakterija (*Fusobacterium nucleatum*, *Dialister* species, *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella* species, *Tannerella forsythia* and *Treponema* species) i gram pozitivne bakterije (*Parvimonas micra*, *Filifactor alocis*, *Pseudoramibacter alactolyticus*, *Olsenella uli*, *Actinomyces* species, *Streptococcus* species, *Propionibacterium* species and *Cutibacterium acnes*) (271-276). Otkrivene bakterijske vrste u skladu su s rezultatima ovog dokorskog rada. Unatoč širini bakterijske raznolikosti kod primarnog apikalnog parodontitisa, postoji još nekoliko nekultiviranih bakterijskih vrsta, kako je utvrđeno molekularnim metodama neovisno o metodi kulture (277) te postoji potreba za uzgojem takvih bakterijskih vrsta kako bi se procijenila njihova patogena svojstva i antimikrobna osjetljivost. Prema dostupnim provedenim istraživanjima prosječan broj bakterijskih vrsta po kanalu kreće se od 10 do 30 (276,278,279), međutim neke studije sugeriraju da ti brojevi mogu dosegnuti prosjek od gotovo 100 pa čak i više bakterijskih vrsta po korijenskom kanalu (280, 275). Dokazano je da su broj bakterija i broj bakterijskih vrsta razmjerno povezane s veličinom lezije apikalnog parodontitisa (279). To se može objasniti činjenicom da velike lezije vjerovatno predstavljaju dugotrajne infektivne procese u velikoj većini slučajeva. U kliničkom istraživanju koje su proveli autori Rôças i Siqueira (281) na temu identifikacije bakterija iz korijenskog kanala s apikalnim parodontitisom molekularnom rt PCR metodom otkrili su prisutnost bakterija u svim uzorcima uzetim prije endodontskog tretmana, a najzastupljenija bakterijska vrsta je bila iz roda *Streptococcus* što je u skladu s rezultatima ovog dokorskog rada.

U ovom istraživanju ispitivana je antimikrobna učinkovitost dvije tehnike mehaničke obrade korijenskog kanala sa standardiziranim protokolima kemijske obrade korijenskog kanala. Iako je riječ o ispitivanju sekundarnog ishoda endodontskog liječenja zuba, a to je antimikrobna učinkovitost, buduća istraživanja se trebaju usredotočiti na klinička istraživanja s ciljem analize utjecaja faktora endodontskog liječenja na primarni ishod, a to je cijeljenje endodontskog liječenja zuba (245).

Ova kliničko istraživanje ima nekoliko ograničenja. Prvo, tehnika uzorkovanja pomoću papirnatih štapića može prikupiti samo bakterije prisutne u glavnom korijenskom kanalu i na intrakanalnim stijenkama, isključujući složene dijelove intrakanalnog sustava kao što su istmus i lateralni kanali. Stoga ne može u potpunosti predstavljati stvarnu kliničku situaciju. Drugo, kvantifikacija bakterija u korijenskom kanalu provedena je samo metodom kulture, koja ima nisku osjetljivost i ne može otkriti bakterije koje se ne mogu uzgajati. Molekularne metode omogućile bi preciznije brojanje bakterija; međutim, mogu dati lažno pozitivne rezultate. MALDI-TOF analiza otkrila je nekoliko vrsta bakterija koje nisu rasle na krvnim pločama. Nadalje, vrijeme kemo-mehaničke obrade nije se moglo standardizirati; stoga zaključak ove studije treba tumačiti s oprezom jer ne daje točnu antimikrobnu učinkovitost PTN-a i WOG-a, već radije kemo-mehaničke instrumentacije korijenskog kanala, gdje NaOCl irigacija igra važnu ulogu. Također, treba napomenuti da je ovo istraživanje analiziralo sekundarni cilj endodontskog liječenja, a to je smanjenje bakterija. Buduće studije trebale bi se usredotočiti na primarni cilj endodontskog liječenja, a to je cijeljenje periapikalnih lezija.



1. Obje testirane tehnike instrumentacije korijenskih kanala, rotacijska ProTaper Next i recipročna Wave One Gold pokazale su, u sklopu kemo-mehaničke obrade korijenskih kanala, visoku antimikrobnu učinkovitost u uklanjanju bakterija iz nekrotičnih korijenskih kanala zubi s kroničnim apikalnim parodontitisom.
2. Rotacijska ProTaper Next tehnika u kombinaciji s NaOCl-om i recipročna Wave One Gold tehnika u kombinaciji s NaOCl-om pokazale su slično antimikrobno djelovanje u uklanjanju bakterija iz korijenskog kanala tijekom jednoposjetne endodoncije.
3. Nije bilo značajne razlike u zastupljenosti anaerobnih i aerobnih bakterijskih vrsta zaostalih u korijenskim kanalima nakon kemo-mehaničke obrade kanala rotacijskom ProTaper Next i recipročnom Wave One Gold tehnikom instrumentacije.
4. Završni protokol ispiranja nakon rotacijske ProTaper Next i recipročne Wave One Gold kemo-mehaničke obrade korijenskog kanala rezultirao je značajnim i sličnim smanjenjem broja bakterija u korijenskim kanalima zuba s kroničnim apikalnim parodontitisom.



1. Siqueira JF Jr, Rocas IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod.* 2008;34:1291-301.
2. Ingle Ji, Zeldow BJ. An evaluation of mechanical instrumentation and the negative culture in endodontic therapy. *J Am Dent Assoc.* 1958;57:471-6.
3. Siqueira JF Jr, Alves FR, Versiani MA, et al. Correlative bacteriologic and micro-computed tomographic analysis of mandibular molar mesial canals prepared by self-adjusting file, reciproc and twisted file systems. *J Endod.* 2013; 39:1044-50.
4. Cavalli D, Toia CC, Orozco EI, et al. Effectiveness in the removal of endotoxins and microbiological profile in primary endodontic infections using 3 different instrumentation systems: A randomized clinical study. *J Endod.* 2017;43:1237-45.
5. Hülsmann M, Peters OA, Dummer P. Mechanical preparation of root canals: shaping goals, techniques and means. *Endod Topics.* 2005;10:30-76.
6. Paster BJ, Olsen I, Aas JA, Dewhirst FE. The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other sites. *Periodontol 2000.* 2006;42:80-7.
7. Siqueira JF Jr, Rocas IN. Present status and future directions: Microbiology of endodontic infections. *Int Endod J.* 2022;55:512-30.
8. Love RM, Jenkinson HF. Invasion of Dentinal Tubules by Oral Bacteria. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002;13(2):171-83.
9. Hahn CL, Overton B. The effects of immunoglobulins on the convective permeability of human dentine in vitro. *Arch Oral Biol.* 1997;42:835-43.
10. Mombelli A. Microbial colonization of the periodontal pocket and its significance for periodontal therapy. *Periodontol 2000.* 2018;76(1):85-96.
11. Jacinto RC, Gomes BP, Shah HN, Ferraz CC, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Quantification of endotoxins in necrotic root canals from symptomatic and asymptomatic teeth. *J Med Microbiol.* 2005;54:777-83.
12. Matsuo T, Shirakami T, Ozaki K, Nakanishi T, Yumoto H, Ebisu S. An immunohistological study of the localization of bacteria invading root pulpal walls of teeth with periapical lesions. *J Endod.* 2003;29:194–200.

13. Peters LB, Wesselink PR, Moorer WR. Penetration of bacteria in bovine root dentine in vitro. *Int Endod J.* 2000;33:28–36.
14. Siqueira JF Jr, De Uzeda M, Fonesca ME. A scanning electron microscopic evaluation of in vitro dentinal tubules penetration by selected anaerobic bacteria. *J Endod.* 1996;22:308-10.
15. Gatti JJ, Dobeck JM, Smith C, White RR, Socransky SS, Skobe Z. Bacteria of asymptomatic periradicular endodontic lesions identified by DNA-DNA hybridization. *Endod Dent Taumatol.* 2000;16:197-204.
16. Miller WD. *The micro-organisms of the human mouth.* Philadelphia: White Dental Mfg. Co;1980.
17. Möller ÅJR, Fabricius L, Dahlén G, Öhman AE, Heyden G. Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scand J Dent Res.* 1981;89(6):475-84.
18. Sundqvist G, Reuterving CO. Isolation of *Actinomyces israelii* from periapical lesion. *J Endod.* 1980;6(6):602-6.
19. Fabricius L. *Oral bacteria and apical periodontitis. An experimental study in monkeys (dissertation).* 1982;Göteborg, Sweden: University of Göteborg.
20. Brown LR Jr, Rudolph CE Jr. Isolation and identification of microorganisms from unexposed canals of pulp-involved teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1957;10:1094-99.
21. Chirnside IM. *A bacteriological and histological study of traumatised teeth.* *NZ Dent J.* 1957;53:176-91.
22. Macdonald JB, Hare GC, Wood AWS. The bacteriologic status of the pulp chambers in intact teeth found to be non-vital following trauma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1957; 10(3):318-22.
23. Byström A, Sundqvist G. Bacteriological evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res.* 1981;89(4):321-28.

24. Haapasalo M. Bacteroides spp in dental root canal infections. Endod Dent Traumatol. 1989;5(1):1-10.
25. Shah HN, Collins MD. Proposal for classification of Bacteroides asaccharolyticus, Bacteroides gingivalis, and Bacteroides endodontalis in a new genus, Porphyromonas. Int J Syst Bacteriol. 1988; 38:128-31.
26. Nair PNR. Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. Periodontol 2000. 1997;13:121-48.
27. Stashenko P, Wang CY, Riley E, Wu Y, Ostroff G, Niederman R. Reduction of infection-stimulated periapical bone resorption by the biological response modifier PGG glucan. J Dent Res. 1995;74(1):323-30.
28. Nagase H, Barrett AJ, Woessner JF Jr. Nomenclature and glossary of the matrix metalloproteinases. Matrix Suppl. 1992;1:421-4.
29. Sahah R, Raison T, Dhoom SM. Neutrophil priming: Implications in periodontal disease. J Indian Soc Periodontol. 2017;21(3):180-85.
30. Cohen S, Hargreaves K.M. Pathobiology of Primary Apical Periodontitis. In: Pathways of the Pulp. 9th ed. St Louis, Missouri: Mosby Inc; 2006. p. 541-79.
31. Nair PNR, Pajarola G, Schroeder HE. Types and incidence of human periapical lesions obtained with extracted teeth. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1996; 81(1):93-102.
32. Nair PNR, Pajarola G, Luder HU. Ciliated epithelium lined radicular cysts. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2002;94(4):485-93.
33. Thomson AW, Lotze MT. The cytokine handbook. 4. izd. London: Academic Press; 2023.
34. Barkhordar RA, Hussain MZ, Hayashi C. Detection of interleukin-1 beta in human periapical lesions. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1992;73(3):334-6.
35. Lim CG, Torabinejad M, Kettering J, Linkhardt TA, Finkelman RD. Interleukin 1 in symptomatic and asymptomatic human periradicular lesions. J Endod. 1994;20(5):225-7.



36. Ataoglu T, Üngör M, Serpek B, Haliloglu S, Ataoglu H, Ari H. Interleukin-1 and tumour necrosis factor-levels in periapical exudates. *Int Endod J.* 2002;35(2):181-5.
37. De Sá AR, Pimenta FJGS, Dutra WO, Gomez RS. Immunolocalization of interleukin 4, interleukin 6, and lym- photoxin in dental granuloma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003;96(3):356-60.
38. Yamazaki K, Nakajima T, Gemmell E, Polak B, Seymour GJ, Hara K. IL-4 and IL-6-producing cells in human periodontal dis- ease tissue. *J Oral Pathol Med.* 1994; 23(8):347-53.
39. McConnell G. The histopathology of dental granulomas. *J Natl Dent Assoc.* 1921;8(5):390-8.
40. Torabinejad M. The role of immunological reactions in apical cyst formation and the fate of the epithelial cells after root canal therapy: a theory. *Int J Oral Surg.* 1983; 12(1):14-22.
41. Torabinejad M, Clagett J, Engel D. A cat model for evaluation of mechanism of bone resorption: induction of bone loss by stimulated immune complexes and inhibition by indometacin. *Calcif Tissue Int.* 1979;29(1):207-14.
42. Ørstavik D. *Essential endodontology: Prevention and Treatment of Apical Periodontitis* Oxford: Blackwell; 2019
43. Andreasen FM. Transient apical breakdown and its relation to color and sensibility changes after luxation injuries to teeth. *Endod Dent Traumatol.* 1986; 2(1):9-19.
44. Nair PNR. New perspectives on radicular cysts: do they heal? *Int Endod J.* 1998; 31(3):155-60.
45. Nair PNR. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004;15(6):348-81.
46. Davey ME, O'Tool GA. Microbial biofilms: From ecology to molecular genetics. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2000;64:847-867.

47. Flemming HC. EPS-Then and Now. *Microorganisms* 2016;18(4):41.
48. Lillicrap A, Macken A, Wennberg AC, Grung M, Rundberget JT, Fredriksen L. et al. Environmental fate and effects of novel quorum sensing inhibitors that can control biofilm formation. *Chemosphere*. 2016;164:52–8.
49. Siqueira JF Jr, Rôcas IN, Lopes HP. Patterns of microbial colonization in primary root canal infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002;93:74-8.
50. Costerton J, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilm: A common cause of persistent infections. *Science*. 1999;284:1318-22.
51. Debeer D, Stoodley P, Roe F, Lewandowski Z. Effects of biofilm structures on oxygen distribution and mass transport. *Biotechnol Bioeng*. 1994;11:1131-8.
52. Harn WM, Chen YH, Yuan K, Chung CH, Huang PH. Calculus like deposit at apex of tooth with refractory apical periodontitis. *Endod Dent Traumatol*. 1998;14:237-40.
53. Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, et al. Microorganisms from root canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Int Endod J*. 2003;36:1-11.
54. Figdor D. Microbial aetiology of endodontic treatment failure and pathogenic properties of selected species. *Aust Endod J*. 2004;30(1):11-4.
55. Lopez Marcos JF. Aetiology, classification and pathogenesis of pulp and periapical disease. *Med Oral Ptol Oral Cir Bucal*. 2004;9:52-7.
56. Peters LB, Wesselink PR, van Winkelhoff AJ. Combinations of bacterial species in endodontic infections. *Int Endod J*. 2002;35(8):698-702.
57. Abbott PV, YU C. A clinical classification of the status of the pulp and root canal system. *Aust Dent J*. 2007;52(1):17-31.
58. Siqueira JF, Jr., Rocas IN. Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: Part 2--Redefining the endodontic microbiota. *J Endod*. 2005;31(7):488-9

59. Kantz WE, Henry CA. Isolation and classification of anaerobic bacteria from intact pulp chambers of non-vital teeth in man. *Arch Oral Biol.* 1974;19(1):91-6.
60. Fabricius L, Dahlen G, Ohman AE, Moller AJ. Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure. *Scand J Dent Res.* 1982;90(2):134-44.
61. Narayanan LL, Vaishnavi C. Endodontic microbiology. *J Conserv Dent.* 2010;13(4):2339.
62. Conrads G, Gharbia SE, Gulabivala K, Lampert F, Shah HN. The use of a 16s rDNA directed PCR for the detection of endodontopathogenic bacteria. *J Endod.* 1997;23(7):433-8.
63. Conrads G, Gharbia SE, Gulabivala K, Lampert F, Shah HN. The use of a 16s rDNA directed PCR for the detection of endodontopathogenic bacteria. *J Endod.* 1997;23(7):433-8.
64. Dahle U, Titterud Sundle P, Tronstad L. Treponemas and endodontic infections. *Endod Topics.* 2003;6:160-70.
65. Rupf S, Kannengiesser S, Merte K, Pfister W, Sigusch B, Eschrich K. Comparison of profiles of key periodontal pathogens in periodontium and endodontium. *Endod Dent Traumatol.* 2000;16(6):269-75.
66. Jhajharia K, Parolia A, Vikram Shetty K, Lata Kiran M. Biofilm in endodontics: A review. *J Int Soc Prev Community Dent.* 2015;5(1):1-12.
67. Siqueira JF, Jr., Rocas IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod.* 2008;34(11):1291-301 e3.
68. Siqueira JF, Jr., de Uzeda M. Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. *J Endod.* 1996;22(12):674-6.
69. Love RM. Enterococcus faecalis- a mechanism for its role in endodontic failure. *Int Endod J.* 2001;34(5):399-405.
70. Siqueira JF Jr, Rôcas 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.

71. Ricucci D, Loghin S, Siqueira JF Jr. Correlation between clinical and histologic pulp diagnoses. *J Endod.* 2014;40(12):1932-9.
72. Hulsmann M, Peters O, Dummer P. Mechanical preparation of root canals: shaping goals, techniques and means. *Endod Topics.* 2005;10:30-76.
73. Ingle JI, Zeldow BJ. An evaluation of mechanical instrumentation and the negative culture in endodontic therapy. *J Am Dent Assoc.* 1958;57(4):471-6.
74. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod.* 2006;32(5):389-98.
75. Senia ES, Marshall FJ, Rosen S. The solvent action of sodium hypochlorite on pulp tissue of extracted teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1971;31(1):96-103.
76. Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-Garcia M, Baca P. Enterococcus faecalis biofilms eradication by root canal irrigants. *J Endod.* 2009;35(5):711-4.
77. Hennessey TS. Some antibacterial properties of chlorhexidine. *J Periodontal Res.* 1973;12:61-7.
78. Zehnder M, Schmidlin P, Sener B, Waltimo T. Chelation in root canal therapy reconsidered. *J Endod.* 2005;31(11):817-20.
79. Torabinejad M, Khademi AA, Babagoli J, Cho Y, Johnson WB, Bozhilov K, et al. A new solution for the removal of the smear layer. *J Endod.* 2003;29(3):170-5.
80. Chavez De Paz LE, Dahlen G, Molander A, Moller A, Bergenholtz G. Bacteria recovered from teeth with apical periodontitis after antimicrobial endodontic treatment. *Int Endod J.* 2003;36(7):500-8.
81. Tabrizizadeh M, Shareghi A. The effect of preparation size on efficacy of smear layer removal; a scanning electron microscopic study. *Iran Endod J.* 2015;10(3):169-73.
82. Peters OA, Laib A, Göhring TN, et al. Changes in root canal geometry after preparation assessed by high-resolution computed tomography. *J Endod* 2001; 27(1):1–6.
83. Kandaswamy D, Venkateshbabu N. Root canal irrigants. *J Conserv Dent.* 2010;13(4):256–64.

84. Prada I, Micó-Muñoz P, Giner-Lluesma T, Micó-Martínez P, Muwaquet-Rodríguez S, Albero-Montegudo A. Update of the therapeutic planning of irrigation and intracanal medication in root canal treatment. A literature review. *J Clin Exp Dent*. 2019;11(2):185-93.
85. Peters OA, Laib A, Göhring TN, Barbakow F. Changes in root canal geometry after preparation assessed by high-resolution computed tomography. *J Endod*. 2001;27(1):1–6.
86. Čolić I, Bago Jurič I. Laserski aktivirano ispiranje korijenskih kanala zuba. Sonda : list studenata Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. 2014;15:43-4.
87. Song M, Kim HC, Lee W, Kim E. Analysis of the cause of failure in nonsurgical endodontic treatment by microscopic inspection during endodontic microsurgery. *J Endod*. 2011;37:1516–9.
88. Ashley M, Harris I. The assessment of the endodontically treated tooth. *Dent Update*. 2001;28:247–52.
89. Siqueira JF., Jr Aetiology of root canal treatment failure: Why well-treated teeth can fail. *Int Endod J*. 2001;34:1–10.
90. Endo MS, Ferraz CC, Zaia AA, Almeida JF, Gomes BP. Quantitative and qualitative analysis of microorganisms in root-filled teeth with persistent infection: Monitoring of the endodontic retreatment. *Eur J Dent*. 2013;7:302–9.
91. Sjögren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J*. 1997;30:297–306.
92. Lin LM, Pascon EA, Skribner J, Gängler P, Langeland K. Clinical, radiographic, and histologic study of endodontic treatment failures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1991;71:603–11.
93. Lin LM, Skribner JE, Gaengler P. Factors associated with endodontic treatment failures. *J Endod*. 1992;18:625–7.
94. Engström B, Lundberg M. The correlation between positive culture and the prognosis of root canal therapy after pulpectomy. *Odontol Revy*. 1965;16:193–203.

95. Tronstad L, Asbjørnsen K, Døving L, Pedersen I, Eriksen HM. Influence of coronal restorations on the periapical health of endodontically treated teeth. *Endod Dent Traumatol.* 2000;16:218–21.
96. Hoen MM, Pink FE. Contemporary endodontic retreatments: An analysis based on clinical treatment findings. *J Endod.* 2002;28:834–6.
97. Bayram HM, Celikten B, Bayram E, Bozkurt A. Fluid flow evaluation of coronal microleakage intraorifice barrier materials in endodontically treated teeth. *Eur J Dent.* 2013;7:359–62.
98. Swanson K, Madison S. An evaluation of coronal microleakage in endodontically treated teeth. Part I. Time periods. *J Endod.* 1987;13:56–9.
99. Ray HA, Trope M. Periapical status of endodontically treated teeth in relation to the technical quality of the root filling and the coronal restoration. *Int Endod J.* 1995;28:12–8.
100. Simon S, Machtou P, Tomson P, Adams N, Lumley P. Influence of fractured instruments on the success rate of endodontic treatment. *Dent Update.* 2008;35:172–4. 176, 178-9.
101. Kerekes K, Tronstad L. Long-term results of endodontic treatment performed with a standardized technique. *J Endod.* 1979;5:83–90.
102. Crump MC, Natkin E. Relationship of broken root canal instruments to endodontic case prognosis: A clinical investigation. *J Am Dent Assoc.* 1970;80:1341–7.
103. Wolcott J, Ishley D, Kennedy W, Johnson S, Minnich S, Meyers J. A 5 yr clinical investigation of second mesiobuccal canals in endodontically treated and retreated maxillary molars. *J Endod.* 2005;31:262–4.
104. Sundqvist G. Associations between microbial species in dental root canal infections. *Oral Microbiol Immunol.* 1992;7(5):257-62.
105. Chu FC, Leung WK, Tsang PC, i sur. Identification of cultivable microorganisms from root canals with apical periodontitis following two-visit endodontic treatment with antibiotics/steroid or calcium hydroxide dressings. *J Endod.* 2006;32:17-23.
106. Sjögren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G. Influence of the infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 1997;30:297-32.

107. Rôcas IN, Siqueira JF Jr, Santos KR. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod.* 2004;30:315-20.
108. Nair PNR, Sjögren U, Krey G, Kahnberg KE, Sundqvist G. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. *J Endod.* 1990;16(12):580-8.
109. Egan MW, Spratt DA, Ng YL, et al. Prevalence of yeasts in saliva and root canals of teeth associated with apical periodontitis. *Int Endod J.* 2002;35:321-9.
110. Siqueira JF, Jr. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. *Int End J.* 2001;34(1):1-10.
111. Nair PN. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *Int Endod J.* 2006;39(4):249-81.
112. Torabinejad M, Walton W. *Endodontics Principles and Practice.* Philadelphia: Saunders; 2008.
113. Quality guidelines for endodontic treatment: consensus report of the European Society of Endodontology. *Int Endod J.* 2006;39(12):921-30.
114. Dugas NN, Lawrence HP, Teplitzky PE, Pharoah MJ, Friedman S. Periapical health and treatment quality assessment of root-filled teeth in two Canadian populations. *Int Endod J.* 2003;36(3):181-92.
115. Orstavik D. Radiological aspects of apical periodontitis. *Endod Topics.* 2002;1:3-25.
116. Whites C, Pharoah M. *Oral Radiology.* 8th Edition, Los Angeles: Mosby; 2014.
117. Patel S, Wilson R, Dawood A, Foschi F, Mannocci F. The detection of periapical pathosis using digital periapical radiography and cone beam computed tomography - part 2: a 1-year post-treatment follow-up. *Int Endod J.* 2012;45(8):711-23.
118. Schilder H. Cleaning and shaping the root canal. *Dent Clin N Am.* 1974;18(2):269-96.

119. Siqueira JF, Jr., Lima KC, Magalhaes FA, Lopes HP, de Uzeda M. Mechanical reduction of the bacterial population in the root canal by three instrumentation techniques. *J Endod.* 1999;25(5):332-5.
120. Peters OA. Current challenges and concepts in the preparation of root canal systems: a review. *J Endod.* 2004;30(8):559-67.
121. Rôças IN, Lima KC, Siqueira JF Jr. Reduction in bacterial counts in infected root canals after rotary or hand nickel-titanium instrumentation--a clinical study. *Int Endod J.* 2013;46(7):681-7.
122. Milas VB. History. In: Cohen R. Burns R, editors. *Pathways of the pulp.* 4th ed. St. Louis: C.V.Mosby; 1987:619-34.
123. Hulsmann M, Schade M, Schafer's F. A comparative study of root canal preparation using Profile 0.04 and Light Speed NiTi instruments. *Int Endod J.* 2001;34:538-46.
124. Schafer E, Tepel J. Relationship between design features of endodontic instruments and their properties. Part III. Resistance to bending and fracture. *J Endod.* 2001;27:299-303.
125. Hulsmann M, Peters OA, Dummer PMH. Mechanical preparation of root canals: shaping goals, techniques and means. *Endod Top.* 2005;10(1):30-76.
126. Grande NM, Ahmed HMA, Cohen S, Bukiet F, Plotino G. Current assessment of reciprocation in endodontic preparation: a comprehensive review—part I: Historic perspectives and current applications. *J Endod.* 2015;41(11):1778-83.
127. Çapar ID, Arslan H. A review of instrumentation kinematics of engine-driven nickel-titanium instruments. *Int Endod J.* 2017;49(2):119-35.
128. Bryant ST, Dummer PMH, Pitoni C, Bourba M, Moghal S. Shaping ability of .04 and .06 taper ProFile rotary nickel-titanium instruments in simulated root canals. *Int Endod J.* 1999;32(3):155-64.
129. Shen Y, Coil JM, Zhou H, Zheng Y, Haapasalo M. HyFlex nickel-titanium rotary instruments after clinical use: metallurgical properties. *Int Endod J.* 2013;46(8):720-9.



130. Shen Y, Coil JM, Zhou H, Zheng Y, Haapasalo M. HyFlex nickel-titanium rotary instruments after clinical use: metallurgical properties. *Int Endod J.* 2013;46(8):720–9.
131. Kuzekanani M. Nickel–titanium rotary instruments: Development of the single-file systems. *J Int Soc Prev Community Dent.* 2018;8(5):386.
132. Ruddle CJ: The protaper endodontic system: geometries, features and guidelines for use, *Dent Today.* 2001;20:60-7.
133. Ruddle CJ, Machtou P, West JD. The shaping movement: fifth-generation technology. *DentToday.* 2013;32(4):96-9.
134. Hilaly Eid GE, Wanees Amin SA. Changes in diameter, cross-sectional area, and extent of canal-wall touching on using 3 instrumentation techniques in long-oval canals. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology.* 2011;112(5):688–95.
135. Varela-Patiño P, Ibañez-Párraga A, Rivas-Mundiña B, Cantatore G, Otero XL et al. Alternating versus Continuous Rotation: A Comparative Study of the Effect on Instrument Life. *J of Endod.* 2010;36(1):157–159.
136. Prichard J. Rotation or reciprocation: a contemporary look at NiTi instruments *Br Dent J.* 2012;212:345–6.
137. Grande NM, Ahmed HMA, Cohen S, Bukiet F, Plotino G. Current assessment of reciprocation in endodontic preparation: a comprehensive review—part I: Historic perspectives and current applications. *J Endod.* 2015;41(11):1778–83.
138. Roane J, Sabala C, Duncansonjr M. The “balanced force” concept for instrumentation of curved canals. *J Endod.* 1985;11(5):203–11.
139. Gavini G, Santos M dos, Caldeira CL, Machado ME de L, Freire LG, Iglecias EF, et al. Nickel–titanium instruments in endodontics: a concise review of the state of the art. *Braz Oral Res.* 2018;32(1):44–65.
140. Webber J. Shaping canals with confidence : WaveOne GOLD single-file reciprocating system. *Root.* 2015;1:34-40.

141. Alcalde MP, Duarte MAH, Bramante CM, i sur. Cyclic fatigue and torsional strength of three different thermally treated reciprocating nickel-titanium instruments. *Clin Oral Investig*. 2018;22:1865-71.
142. Webber J. Shaping canals with confidence: WaveOne Gold single-file reciprocating system. *Roots*. 2015;1:34-40.
143. Topçuoğlu HS, Düzgün S, Aktı A, Topçuoğlu G. Laboratory comparison of cyclic fatigue resistance of WaveOne Gold, Reciproc and WaveOne files in canals with a double curvature. *Int Endod J*. 2017;50:713–7.
144. Shen Y, Haapasalo M. Three-dimensional Analysis of cutting behavior of nickel- titanium rotary instruments by microcomputed tomography. *J Endod*. 2008;34(5):606– 10.
145. Deari S, Zehnder M, Al-Jadaa A. Effect of dentine cutting efficiency on the lateral force created by torque-controlled rotary instruments. *Int Endod J*. 2020;53(8):1153– 61.
146. Plotino G, Giansiracusa Rubini A, Grande NM, Testarelli L, Gambarini G. Cutting efficiency of Reciproc and WaveOne reciprocating instruments. *J Endod*. 2014;40(8):1228–30.
147. Lee W, Hwang Y, You S, Kim H. Effect of reciprocation usage of nickel-titanium rotary files on the cyclic fatigue resistance. *Aust Endod J*. 2013;39(3):146–50.
148. Capar ID, Ertas H, Arslan H. Comparison of cyclic fatigue resistance of novel nickel-titanium rotary instruments. *Aust Endod J*. 2015;41(1):24–8.
149. Grande NM, Ahmed HMA, Cohen S, Bukiet F, Plotino G. Current assessment of reciprocation in endodontic preparation: a comprehensive review—part I: Historic perspectives and current applications. *J Endod*. 2015;41(11):1778–83.
150. Kim H-C, Kwak S-W, Cheung GS-P, Ko D-H, Chung S-M, Lee W. Cyclic fatigue and torsional resistance of two new nickel-titanium instruments used in reciprocation motion: Reciproc versus WaveOne. *J Endod*. 2012;38(4):541–4.

151. Plotino G, Ahmed HMA, Grande NM, Cohen S, Bukiet F. Current assessment of reciprocation in endodontic preparation: a comprehensive review—part II: Properties and effectiveness. *J Endod.* 2015;41(12):1939–50.
152. Saber SEDM, Nagy MM, Schäfer E. Comparative evaluation of the shaping ability of WaveOne, Reciproc and OneShape single-file systems in severely curved root canals of extracted teeth. *Int Endod J.* 2015;48(1):109–14.
153. Saber SEDM, Nagy MM, Schäfer E. Comparative evaluation of the shaping ability of WaveOne, Reciproc and OneShape single-file systems in severely curved root canals of extracted teeth. *Int Endod J.* 2015;48(1):109–14.
154. Lu Y, Wang R, Zhang L, Li HL, Zheng QH, Zhou XD, et al. Apically extruded debris and irrigant with two Ni-Ti systems and hand files when removing root fillings: a laboratory study. *Int Endod J.* 2013;46(12):1125–30
155. Bürklein S, Schäfer E. Apically extruded debris with reciprocating single-file and full-sequence rotary instrumentation systems. *J Endod.* 2012;38(6):850–2.
156. Tinoco JMB, De-Deus G, Tinoco EMB, Saavedra F, Fidel RAS, Sassone LM. Apical extrusion of bacteria when using reciprocating single-file and rotary multifele instrumentation systems. *Int Endod J.* 2014;47(6):560–6.
157. Üstün Y, Çanakçı BC, Dinçer AN, Er O, Düzgün S. Evaluation of apically extruded debris associated with several Ni-Ti systems. *Int Endod J.* 2015;48(7):701–4.
158. De-Deus G, Neves A, Silva EJ, Mendonça TA, Lourenço C, Calixto C, et al. Apically extruded dentin debris by reciprocating single-file and multi-file rotary system. *Clin Oral Investig.* 2015;19(2):357–61.
159. Krokidis A, Bonfanti C, Cerutti A, Barabanti N, Zinelis S, Panopoulos P. Comparative analysis of SAF, Protaper Next and BT-Race in eliminating *Enterococcus faecalis* from long oval canals: An ex vivo study. *Aust Endod J.* 2017;43(3):110–4.
160. Nabeshima CK, Caballero-Flores H, Cai S, Aranguren J, Borges Britto ML, de Lima Machado ME. Bacterial removal promoted by 2 single-file systems: Wave One and One Shape. *J Endod.* 2014;40(12):1995–8.

161. Violich DR, Chandler NP. The smear layer in endodontics - a review. *Int Endod J*. 2010;43(1):2–15.
162. Paque´ F, Balmer M, Attin T, Peters OA. Preparation of oval-shaped root canals in mandibular molars using nickel-titanium rotary instrumentation: a micro-computed tomography study. *J Endod*. 2010;36:703–7.
163. Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Dent Clin North Amer*. 2010;54:291–312.
164. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod*. 2006;32(5):389-98.
165. Grossman L, Oliet S, Del Rio C. Preparation of the root canal: equipment and technique for cleaning, shaping and irrigation. Philadelphia: Lea &Febiger; 1988.
166. Rutala WA, Weber DJ. Uses of inorganic hypochlorite (bleach) in health-care facilities. *Clin Microbiol Rev*. 1997;10(4):597-610.
167. McDonnell G, Russell D. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev* 1999;12:147–79.
168. Siqueira JF Jr, Rocas IN, Santos SR, Lima KC, Magalhaes FA, de Uzeda M. Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals. *J Endod*. 2002;28:181–4.
169. Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-Garcia M, Baca P. *Enterococcus faecalis* biofilms eradication by root canal irrigants. *J Endod*. 2009;35(5):711-4.
170. Athanassiadis B, Abbott PV, Walsh LJ. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. *Austral Dent J*. 2007;52:64-82.
171. McDonnell G, Russell D. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev*. 1999;12:147–79.
172. Russell AD, Day MJ. Antibacterial activity of chlorhexidine. *J Hosp Infect*. 1993;25:229–38.

173. Gomes BPFA, Souza SFC, Ferraz CCR, i sur. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. *Int Endod J.* 2003;36:267-75.
174. Sen BH, Safavi KE, Spangberg LS. Antifungal effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine in root canals. *J Endod.* 1999;25:235-8.
175. Mohammadi Z, Abbott PV. The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *Int Endod J.* 2009;42:288-302.
176. Basson NL, Tait CM. Effectiveness of three root canal medicaments to eliminate *Actinomyces israeli* from infected dentinal tubules in vitro. *South Afric Dent J.* 2001;56:499-501.
177. Sen BH, Safavi KE, Spangberg LS. Antifungal effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine in root canals. *J Endod.* 1999;25:235-8.
178. Basson NL, Tait CM. Effectiveness of three root canal medicaments to eliminate *Actinomyces israeli* from infected dentinal tubules in vitro. *South Afric Dent J.* 2001;56:499-501.
179. Vianna ME, Gomes BP, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza-Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004;97:79-84.
180. Basrani BR, Manek S, Sodhi RN, i sur. Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. *J Endod.* 2007;33:966-9.
181. Lester KS, Boyde A. Scanning electron microscopy of instrumented, irrigated and filled root canals. *Br Dent J.* 1977;143(11):359-67.
182. Czonstkowsky M, Wilson EG, Holstein FA. The smear layer in endodontics. *Dent Clin North Am.* 1990;34:13-25.
183. Hottel TL, El-Refai NY, Jones JJ. A comparison of the effects of three chelating agents on the root canals of extracted human teeth, *J Endod.* 1999;25:716-7.

184. Zehnder M, Schmidlin P, Sener B, i sur. Chelation in root canal therapy reconsidered. *J Endod* 2005;31:817–20.
185. Czonstkowsky M, Wilson EG, Holstein FA. The smear layer in endodontics. *Dent Clin North Am.* 1990;34:13–25.
186. Wayman BE, Kopp WM, Pinero GJ, Lazzari EP. Citric and lactic acids as root canal irrigants in vitro. *J Endod.* 1979;5:258–65.
187. Giardiano L, Ambu E, Becce C, Rimondini L, Morra M. Surface tension comparison of four common root canal irrigants and two new irrigants containing antibiotic. *J Endod.* 2006;32:1091-3.
188. Torabinejad M, Khademi AA, Babagoli J, Cho Y, Johnson WB, Bozhilov K, Kim J, Shabahang S. A new solution for the removal of the smear layer. *J Endod.* 2003;29:170- 5.
189. Baumgartner JC, Johal S, Marshall JG. Comparison of the antimicrobial efficacy of 1.3% NaOCl/BioPure MTAD to 5.25% NaOCl/15% EDTA for root canal irrigation. *J Endod.* 2007;33:48–51.
190. Tay FR, Mazzoni A, Pashley DH, et al. Potential iatrogenic tetracycline staining of endodontically treated teeth via NaOCl/MTAD irrigation: a preliminary report. *J Endod.* 2006;32:354–8.
191. Stojicic S, Shen Y, Qian W, Johnson B, Haapasalo M. Antibacterial and smear layer removal ability of a novel irrigant, QMiX. *Int Endod J.* 2012;45:363-71.
192. Basrani B. Endodontic irrigation: Chemical disinfection of the root canal system. London: Springer; 2015. 316 p.
193. Ruddle CJ. Endodontic disinfection-tsunami irrigation. *Endod Practice.* 2008;2:7-15.
194. Schafer Urban K, Donnermeyer D, Schäfer E, Bürklein S. Canal cleanliness using different irrigation activation systems: a SEM evaluation. *Clin Oral Investig.* 2017;21(9):2681- 7.
195. Swimberghe RCD, Buyse R, Meire MA, De Moor RJG. Efficacy of different irrigation technique in simulated curved root canals. *Lasers Med Sci.* 2021;36(6):1317-22.

196. Ahmad M, Pitt Ford TR, Crum LA. Ultrasonic debridment of root canals: acoustic streaming and its possible role. *J Endod.* 1987;14:490-9.
197. Roy RA, Ahmad M, Crum LA. Physical mechanisms governing the hydrodynamic response of an oscillating ultrasonic file. *Int Endod J.* 1994;27:197-207.
198. Ohl CD, Arora M, Ikin R, et al. Sonoporation from jetting cavitation bubbles. *Biophysic J.* 2006;91:272-8.
199. Van der Sluis LWM, Gambarini G, Wu MK, Wesselink PR. The influence of volume, type of irrigant and flushing method on removing artificially placed dentine debris from the apical root canal during passive ultrasonic irrigation. *Int Endod J.* 2006;39:472-7.
200. Hauser V, Braun A, Frentzen M. Penetration depth of a dye marker into dentine using a novel hydrodynamic system (RinsEndo). *Int Endod J.* 2007;40:644-52.
201. Gulabivala K, Patel B, Evans G, Ng YL. Effects of mechanical and chemical procedures on root canal surfaces. *EndodonticTopics.* 2005;10:103–22.
202. Grawehr M, Sener B, Waltimo T, Zehnder M. Interactions of ethylenediaminetetraacetic acid with sodium hypochlorite in aqueous solutions. *Int Endod J.* 2003;36(6):411– 15.
203. Wright PP, Cooper C, Kahler B, Walsh LJ. From an assessment of multiple chelators, clodronate has potential for use in continuous chelation. *Int Endod J.* 2020;53(1):122– 134.
204. Zehnder M, Schmidlin P, Sener B, Waltimo T. Chelation in root canal therapy reconsidered. *J Endod.* 2005;31(11): 817– 20.
205. Haapasalo M, Qian W, Shen Y. Irrigation: beyond the smear layer. *Endodontic Topics.* 2012;27(1):35– 53.
206. Fredricks DN, Relman DA. Application of polymerase chain reaction to the diagnosis of infectious diseases. *Clin Infect Dis.* 1999;29:475-8.
207. Dingle TC, Butler Wu SM. Maldi-tof mass spectrometry for microorganism identification. *Clin Lab Med.* 2013;33(3):589-609.

208. Siqueira JF Jr, Rôcas IN. Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: Part 1--current molecular technologies for microbiological diagnosis. *J Endod.* 2005;31:411-23.
209. Siqueira JF Jr, Rôcas IN. Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: Part 2-Redefining the endodontic microbiota. *J Endod.* 2005;31:488-98.
210. Azeredo J, Azevedo NF, Briandet R, Cerca N, Coenye T, Costa AR, et al. Critical review on biofilm methods. *Crit Rev Microbiol.* 2017;43(3):313–51.
211. Li L, Mendis N, Trigui H, Oliver JD, Faucher SP. The importance of the viable but non-culturable state in human bacterial pathogens. *Front Microbiol.* 2014;5:258.
212. Blome B, Braun A, Sobarzo V, Jepsen S. Molecular identification and quantification of bacteria from endodontic infections using real-time polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol.* 2008; 23(5):384–90.
213. Brundin M, Figdor D, Johansson A, Sjögren U. Preservation of bacterial DNA by human dentin. *J Endod.* 2014; 40(2):241–5.
214. Brundin M, Figdor D, Sundqvist G, Sjögren U. Preservation of *Fusobacterium nucleatum* and *Peptostreptococcus anaerobius* DNA after loss of cell viability. *Int Endod J.* 2015;48(1):37–45.
215. Siqueira JF Jr. On the issue of uncultivated bacteria and dead cell detection by molecular methods: reply to Dr. Nair's commentary. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;105(1):8–10.
216. Figdor D, Brundin M. Contamination controls for analysis of root canal samples by molecular methods: an overlooked and unsolved problem. *J Endod.* 2016;42(7):1003-8.
217. Kempell KE, Cox CJ, Hurle M, Wong A, Wilkie S, Zanders ED et al. Reverse transcriptase-PCR analysis of bacterial rRNA for detection and characterization of bacterial species in arthritis synovial tissue. *Infect Immun.* 2000;68(10):6012–26.
218. Kawane K, Motani K, Nagata S. DNA degradation and its defects. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2014; 6(6):a016394.



219. İriboz E, Arıcan Öztürk B, Kolukırmık M, Karacan I, Sazak Öveçođlu H. Detection of the unknown components of the oral microflora of teeth with periapical radiolucencies in a Turkish population using next-generation sequencing techniques. *Int Endod J.* 2018;51(12):1349–57.
220. Keskin C, Demiryürek EÖ, Onuk EE. Pyrosequencing analysis of cryogenically ground samples from primary and secondary/persistent endodontic infections. *J Endod.* 2017;43(8), 1309–16.
221. Sánchez Sanhueza G, Bello Toledo H, González Rocha G, Gonçalves AT, Valenzuela V, Gallardo Escárate C. Metagenomic study of bacterial microbiota in persistent endodontic infections using next-generation sequencing. *Int Endod J.* 2018;51(12):1336–48.
222. Gomes BP, Berber VB, Kokaras AS, Chen T, Paster BJ. Microbiomes of endodontic-periodontal lesions before and after chemomechanical preparation. *J Endod.* 2015; 41(12):1975–84.
223. Nardello LCL, Amado PPP, Franco DC, Cazares RXR, Nogales CG, Mayer et al. Next-Generation Sequencing to assess potentially active bacteria in endodontic infections. *J Endod.* 2020; 46(8):1105–112.
224. Rôças IN, Lima KC, Siqueira, JF. Reduction in bacterial counts in infected root canals after rotary or hand nickel-titanium instrumentation—a clinical study. *Int Endod J.* 2013;46(7):681-7.
225. Grossman LI. (1970) Chapter 12: Preparation of the root canal. In: *Endodontic practice*, 7th edition. Philadelphia: Lea & Febiger; 1970. 216 p.
226. Gulabivala K, Patel B, Evans G, Ng YL. Effects of mechanical and chemical procedures on root canal surfaces. *Endodontic Topics.* 2005;10(1), 103–22.
227. Boutsioukis C, Arias Moliz MT. Present status and future directions-irrigants and irrigation methods. *Int Endod J.* 2022;55(3):588-612.
228. Gulabivala K, Ng YL, Gilbertson M, Eames I. The fluid mechanics of root canal irrigation. *Physio Meas.* 2010;31(12):49-84.

229. Schilder H. Cleaning and shaping the root canal. *Dentl Clin North Am.* 1974;18(2):269–96.
230. Hülsmann M, Peters OA, Dummer PM. Mechanical preparation of root canals: shaping goals, techniques and means. *Endodontic Topics.* 2005;10(1):30–76.
231. Koch M, Wolf E, Tegelberg A, Petersson K. Effect of education intervention on the quality and long-term outcomes of root canal treatment in general practice. *Int Endod J.* 2014;48(7):680–89.
232. Ng YL, Mann V, Gulabivala K. A prospective study of the factors affecting outcomes of non-surgical root canal treatment: part 2: tooth survival. *Int Endod J.* 2011;44(7):610–25.
233. Ng YL, Mann V, Gulabivala K. A prospective study of the factors affecting outcomes of nonsurgical root canal treatment: part 1: periapical health. *Int Endod J.* 2011;44(7):583–609.
234. Pettiette MT, Delano EO, Trope M. Evaluation of success rate of endodontic treatment performed by students with stainless-steel K-files and nickel-titanium hand files. *J Endod.* 2001;27(2):124–27.
235. Martinho FC, Goes APM, Fernandes AMM, Ferreira NS, Endo MS, Freitas LF et al. Clinical comparison of the effectiveness of single-file reciprocating systems and rotary systems for removal of endotoxins and cultivable bacteria from primarily infected root canals. *J Endod.* 2014;40(5):625-9.
236. Xavier AC, Martinho FC, Chung A, et al. One-visit versus two-visit root canal treatment: effectiveness in the removal of endotoxins and cultivable bacteria. *J Endod* 2013;39:959–64.
237. Martinho FC, Gomes BP. Quantification of endotoxins and cultivable bacteria in root canal infection before and after chemomechanical preparation with 2.5% sodium hypochlorite. *J Endod* 2008;34:268–72.
238. Vianna ME, Horz HP, Conrads G, Zaia AA, Souza Filho FJ, Gomes BPF. Effect of root canal procedures on endotoxins and endodontic pathogens. *Oral Microbiol Immunol* 2007;22:411–8.

239. Siqueira JF Jr, Guimaraes Pinto T, Rocas IN. Effects of chemomechanical preparation with 2.5% sodium hypochlorite and intracanal medication with calcium hydroxide on cultivable bacteria in infected root canals. *J Endod* 2007;33:800–5.
240. Gutmann JL, Gao Y. Alteration in the inherent metallic and surface properties of nickel-titanium root canal instruments to enhance performance, durability and safety: a focused review. *Int Endod J* 2012;45:113–28.
241. Al-Hadlaq SM, Aljarbou FA, Al-Thumairy RI. Evaluation of cyclic flexural fatigue of M-wire nickel-titanium rotary instruments. *J Endod* 2010;36:305–7.
242. Machado ME, Sapia LA, Cai S, Martins GHR, Nabeshima CK. Comparison of two rotary systems in root canal preparation regarding disinfection. *J Endod* 2010;36:1238–40.
243. Alves FR, Rocas IN, Almeida BM, Neves MAS, Zoffoli JF, Siqueira F Jr. Quantitative molecular and culture analyses of bacterial elimination in oval-shaped root canals by a single-file instrumentation technique. *Int Endod J* 2012;45:871–7.
244. Cavalli D, Toia Cestari C, Orozco Flores Isai E, Khoury Duarte R, Golulart da Rosa Cardoso F, Alves Correa M et al. Effectiveness in the Removal of Endotoxins and Microbiological Profile in Primary Endodontic Infections Using 3 Different Instrumentation Systems: A Randomized Clinical Study. *J Endod.* 2017;43(8):1237-45.
245. Boutsoukis C, Arias Moliz MT. Present status and future directions – irrigants and irrigation methods. *Int Endod J.* 2022.;55(3):588-612.
246. Van der Sluis LWM, Vogels MPJM, Verhaagen B, Macedo R, Wesselink P. Study on the influence of refreshment/activation cycles and irrigants on mechanical cleaning efficiency during ultrasonic activation of the irrigant. *J Endod.* 2010;36(4)737-40.
247. Zehnder, M. Root canal irrigants. *J Endod.* 32;(5):389–98.
248. Cullen JK, Wealleans JA, Kirkpatrick TC, Yaccino JM. The effect of 8.25% sodium hypochlorite on dental pulp dissolution and dentin flexural strength and modulus. *J Endod.* 2015;41(6):920–24.

249. Demenech LS, De Freitas JV, Tomazinho FSF, Baratto Filho F, Gabardo MCL. Postoperative pain after endodontic treatment under irrigation with 8.25% sodium hypochlorite and other solutions: a randomized clinical trial. *J Endod.* 2021;47(5):696–704.
250. Gazzaneo I, Vieira GCS, Pérez AR, Alves FRF, Gonçalves LS, Mdala I. et al. Root canal disinfection by single and multiple instrument systems: effects of sodium hypochlorite volume, concentration, and retention time. *J Endod.* 2019; 45(6):736-41.
251. Stojicic S, Zivkovic S, Qian W, Zhang H, Haapasalo, M. Tissue dissolution by sodium hypochlorite: effect of concentration, temperature, agitation, and surfactant. *J Endod.* 2010;36(9):1558–62.
252. Ulin C, Magunacelaya Barria M, Dahlén G, Kvist T. Immediate clinical and microbiological evaluation of the effectiveness of 0.5% versus 3% sodium hypochlorite in root canal treatment: A quasi-randomized controlled trial. *Int Endod J.* 2020;53(5):591-603.
253. Verma N, Sangwan P, Tewari S, Duhan J. Effect of different concentrations of sodium hypochlorite on outcome of primary root canal treatment: a randomized controlled trial. *J Endod.* 2019; 45(4): 357–63.
254. Dutner J, Mines P, Anderson A. Irrigation trends among American Association of Endodontists members: a web-based survey. *J Endod.* 2012;38(1):37-40.
255. De Gregorio C, Arias A, Navarrete N, Cisneros R, Cohenca N. Differences in disinfection protocols for root canal treatments between general dentists and endodontists: A Web-based survey. *J Am Dent Assoc.* 2015;146(7):536–43.
256. Savani GM, Sabbah W, Sedgley CM, Whitten B. Current trends in endodontic treatment by general dental practitioners: report of a United States national survey. *J Endod.* 2014;40(5): 618–24.
257. Willershausen I, Wolf TG, Schmidtman I, Berger C, Ehlers V, Willershausen B et al. Survey of root canal irrigating solutions used in dental practices within Germany. *Int Endod J.* 2015;48(7):654–60.

258. Rodrigues RCV, Antunes HS, Neves MAS, Siqueira JF Jr, Rocas IN. Infection Control in Retreatment Cases: In Vivo Antibacterial Effects of 2 Instrumentation Systems. *J Endod.* 2015;41(10):1600-5.
259. Alves FR, Almeida BM, Neves MA, Rocas IN, Siqueira JF Jr. Time-dependent antibacterial effects of the self-adjusting file used with two sodium hypochlorite concentrations. *J Endod* 2011; 37(10):1451-5.
260. Retamozo B, Shabahang S, Johnson N, Aprecio RM, Torabinejad M. Minimum contact time and concentration of sodium hypochlorite required to eliminate *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2010;36(3):520-3.
261. Sjogren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 1997;30(5):297-306.
262. Shuping GB, Ørstavik D, Sigurdsson A, Trope M. Reduction of intracanal bacteria using nickel-titanium rotary instrumentation and various medications. *J Endod.* 2000;26(12):751-5.
263. Siqueira JF Jr, Alves FR, Almeida BM, Machado de Oliveira JC, Rocas IN. Ability of chemomechanical preparation with either rotary instruments or self-adjusting file to disinfect oval-shaped root canals. *J Endod.* 2010;36(11):1860-5.
264. Rocas IN, Siqueira JF Jr. Characterization of microbiota of root canal-treated teeth with posttreatment disease. *J Clin Microbiol.* 2012;50(5):1721-4.
265. Waltimo T, Trope M, Haapasalo M, Ørstavik D. Clinical efficacy of treatment procedures in endodontic infection control and one year follow-up of periapical healing. *J Endod.* 2005;31(12):863-6.
266. Manzur A, Gonzalez AM, Pozos A, Silva Herzog D, Friedman S. Bacterial quantification in teeth with apical periodontitis related to instrumentation and different intracanal medications: a randomized clinical trial. *J Endod.* 2007;33(2):114-8.
267. Paquette L, Legner M, Fillery ED, Friedman S. Antibacterial efficacy of chlorhexidine gluconate intracanal medication in vivo. *J Endod.* 2007. 33(7):788-95.

268. Siqueira JF Jr, Rocas IN, Paiva SS, Guimaraes Pinto T, Magalhas KM, Lima KC. Bacteriologic investigation of the effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine during the endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod.* 2007;104(1):122–30.
269. 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(8):1315–8.
270. Siqueira JF Jr, Rôças IN. Diversity of endodontic microbiota revisited. *J Dent Res.* 2009;88(11):969-81.
271. Baumgartner JC, Watkins BJ, Bae KS, Xia, T. Association of black-pigmented bacteria with endodontic infections. *J Endod.* 1999;25(6):413-5.
272. Fouad AF, Barry J, Caimano M, Clawson M, Zhu Q, Carver R et al. PCR-Based Identification of Bacteria Associated with Endodontic Infections. *J Clin Microbiol.* 2002;40(9):3223-31.
273. Gomes BP, Lilley JD, Drucker DB. Clinical significance of dental root canal microflora. *J Dent.* 24(1-2):47–55.
274. Haapasalo M, Ranta H, Ranta K, Shah H. Black-pigmented *Bacteroides* spp. in human apical periodontitis. *Infect Immun.* 1986;53(1):149-53.
275. Keskin C, Demiryurek EO, Onuk EE. Pyrosequencing Analysis of Cryogenically Ground Samples from Primary and Secondary/Persistent Endodontic Infections. *J Endod.* 2017;43(8):1309-16.
276. Munson MA, Pitt Ford T, Chong B, Weightman A, Wade WG. Molecular and cultural analysis of the microflora associated with endodontic infections. *J Dent Res.* 2002;81(11):761-6.
277. Siqueira JF Jr, Rôças IN. Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: Part 2--Redefining the endodontic microbiota. *J Endod.* 2005;31(7):488-98.

278. Ribeiro AC, Matarazzo F, Favari M, Zezell DM, Mayer MP. Exploring bacterial diversity of endodontic microbiota by cloning and sequencing 16S rRNA. *J Endod.* 2011;37(7):922-6.

279. Rôças IN, Siqueira JF Jr. Root canal microbiota of teeth with chronic apical periodontitis. *J Clin Microbiol.* 2008;46(11):3599-606.

280. Hong BY, Lee TK, Lim SM, Chang SW, Park J, Han SH et al. Microbial analysis in primary and persistent endodontic infections by using pyrosequencing. *Comparative Study.* 2013;39(9):1136-40.

281. Rocas IN, Siqueira JF Jr. Identification of bacteria enduring endodontic treatment procedures by a combined reverse transcriptase-polymerase chain reaction and reverse-capture checkerboard approach. *J Endod.* 2010;36(1):45-52.





## Anja Sesar, disertacija

**Anja Sesar** rođena je 1.8.1987. godine u Slavonskom Brodu. Osnovnu školu i Klasičnu gimnaziju „Fra Marijana Lanosovića“ završila je u Slavonskom Brodu. Na Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisala se 2006. godine, gdje je i diplomirala 2012. godine. Tijekom studija bila je aktivna u Udruzi studenata dentalne medicine i Sportskoj udruzi studentata Stomatološkog fakulteta. Dobitnica je Rektorove nagrade 2012. godine. Od prosinca 2012. do ožujka 2016. godine zaposlena je u Privatnoj ordinaciji dentalne medicine kada prelazi u Stomatološku polikliniku Zagreb. Godine 2016. započela je specijalizaciju iz Endodoncije i restaurativne stomatologije u KBC Zagreb pod mentorstvom prof.dr.sc. Ivice Anića, a specijalista endodoncije i restaurativne stomatologije postaje 2020. godine. Poslijediplomski doktorski studij na Stomatološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu upisuje 2016. godine pod mentorstvom izv.prof.dr.sc. Ivone Bago i prof.dr.sc. Ane Budimir. Tajnica je Hrvatskog endodontskog društva. Članica je Europskog endodontskog društva (ESE) te Hrvatske komore dentalne medicine. Autorica je nekoliko znanstvenih radova u domaćim i međunarodnim časopisima. Aktivni je sudionik na domaćim i međunarodnim kongresima. Od 2020. godine suradnik je na projektu HRZZ-a br. 5303. Na 9. Međunarodnom kongresu Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu nagrađena je 1. nagradom za najbolju oralnu prezentaciju. Služi se engleskim i njemačkim jezikom.

### Objavljeni radovi:

\*Sesar A, Budimir A, Anić I, Kapetanović Petričević G, Bago I. Antibacterial Efficacy of Rotary and Reciprocating Instrumentation Techniques. *Acta Stomatol Croat.* 2024;58(3):245-54. (IF 1.4, Q2 prema WoS i Scopusu)

\* 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 Mar;37:102631. (IF 3.3 , Q3 prema WoS i Scopusu)

\* Kranjčić A, Mikuš A, Peršić S, Vojvodić D. Factors Affecting Oral Health-Related Quality of Life Among Elderly Croatian Patients. *Acta Stomatol Croat.* 2014;48(3):174-82. (IF 1.4, Q2 prema WoS i Scopusu)

\* Kranjčić J, Mikuš A, Mehulić K, Vojvodić D. Knowledge and awareness od dental implants among elderly people in Croatia. *J Prosthodont.* 2015;24(1):37-42. (IF 4.0 , Q3 prema WoS i Scopusu)

## Kongresi

\* Sesar A, Budimir A, Anić I, Bago I. Comparison of Wave One Gold and Pro Taper Next techniques in the eradication of bacteria from root canals of teeth with chronic apical periodontitis-a clinical study. ESE congress Vienna 2019., međunarodna poster prezentacija

\* Balić M, Milovanović D, Bago I, Plotino G, Sesar A, Anić I. Surface wear and cyclic fatigue novel rotary NiTi instruments:3D noncontact optical profilometry analysis. ESE congress Budapest 2022., međunarodna poster prezentacija

\*Sesar A, Budimir A, Šegović S, Pavelić B, Bago I. Clinical evaluation of the efficacy of the final irrigation protocol in the eradication of bacterial species in teeth with chronic apical periodontitis. ESE congress Helsinki 2023., međunarodna oralna prezentacija

\*Sesar A, Budimir A, Bago I. Kliničko ispitivanje antimikrobne učinkovitosti dvije tehnike obrade nekrotičnih korijenskih kanala. 9. Međunarodni kongres Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu 2023., međunarodna oralna prezentacija

\*Sesar A, Sabolović D, Rinčić N. Zub ili implantat:mijenjanje loše prognoze:prikaz slučaja. 8. Hrvatski parodontološki dani, Rovinj 2022., međunarodna poster prezentacija

\* Sesar A. Endodontsko liječenje kod pacijenata na bisfosfonatnoj terapiji. Godišnji kongres Hrvatskog endodontskog društva, Zagreb 2018., oralna prezentacija

\*Sesar A. Cijeljenje periapikalnih tkiva kod prethodnog postojanja kroničnog periapikalnog procesa, Godišnji kongres Hrvatskog endodontskog društva, Zagreb 2017., oralna prezentacija