

Eksperimentalno ispitivanje učinkovitosti laserski aktiviranoga fotoakustičnoga strujanja u endodontskom liječenju

Kapetanović Petričević, Gabrijela

Doctoral thesis / Disertacija

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Dental Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:127:547425>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial 4.0 International](#)/[Imenovanje-Nekomercijalno 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-26**



Repository / Repozitorij:

[University of Zagreb School of Dental Medicine Repository](#)





Sveučilište u Zagrebu

Stomatološki fakultet

Gabrijela Kapetanović Petričević

**EKSPERIMENTALNO ISPITIVANJE
UČINKOVITOSTI LASERSKI
AKTIVIRANOGA FOTOAKUSTIČNOGA
STRUJANJA U ENDODONTSKOM
LIJEČENJU**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2023.



Sveučilište u Zagrebu

Stomatološki fakultet

Gabrijela Kapetanović Petričević

**EKSPERIMENTALNO ISPITIVANJE
UČINKOVITOSTI LASERSKI
AKTIVIRANOGA FOTOAKUSTIČNOGA
STRUJANJA U ENDODONTSKOM
LIJEČENJU**

DOKTORSKI RAD

Mentorica: izv. prof. dr. sc. Ivona Bago

Zagreb, 2023.



University of Zagreb

School of Dental Medicine

Gabrijela Kapetanović Petričević

**EXPERIMENTAL STUDY OF LASER
ACTIVATED PHOTOACOUSTIC
STREAMING IN ROOT CANAL
TREATMENT**

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisor:

Associate Professor Ivona Bago, PhD

Zagreb, 2023.

Rad je ostvaren na Zavodu za endodonciju i restaurativnu stomatologiju Stomatološkog fakulteta, na Katedri za mjerenje i kontrolu Fakulteta strojarstva i brodogradnje Sveučilišta u Zagrebu i na Institutu Ruđer Bošković.

Istraživanje je provedeno u okviru projekta Hrvatske zaklade za znanost br. 5303 pod nazivom "Kliničko i eksperimentalno istraživanje laserski aktiviranog fotoakustičnog strujanja i fotoaktivirane dezinfekcije u endodontskom liječenju" voditeljice izv. prof. dr. sc. Ivone Bago.

Lektor hrvatskog jezika: Iva Popovački Kramarić, prof. hrvatskog i engleskog jezika i književnosti

Lektor engleskog jezika: Iva Popovački Kramarić, prof. hrvatskog i engleskog jezika i književnosti

Sastav Povjerenstva za ocjenu doktorskog rada:

1. prof. dr. sc. Ivica Anić, predsjednik
2. prof. dr. dc. Sanja Šegović, član
3. dr. sc. Mario Rakić, znanstveni suradnik, član

Sastav Povjerenstva za obranu doktorskog rada:

1. prof. dr. sc. Ivica Anić, predsjednik
2. prof. dr. dc. Sanja Šegović, član
3. dr. sc. Mario Rakić, znanstveni suradnik, član

Datum obrane rada: 8.12.2023.

Rad sadrži: 147 stranica

3 tablice

58 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

Veliko hvala mojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Ivoni Bago na ukazanom povjerenju za sudjelovanje na projektu Hrvatske zaklade za znanost.

Hvala joj što me nesebično uvela u svijet znanosti i svojim savjetima učila, motivirala i hrabrila na ovom putovanju.

Neizmjernu zahvalu dugujem svojoj obitelji: sinu, suprugu, bratu i roditeljima koji su podnijeli dio žrtve tijekom obaveza mog doktorskog studija i realizacije ovog rada, stoga je ovaj rad nastao zbog njih i za njih.

Najveću zahvalu dugujem svojoj majci na svoj brizi, ljubavi, bezuvjetnoj i nesebičnoj podršci i davanju cijele sebe za obitelj. Hvala Ti što si mi pokazala put.

SAŽETAK

Eksperimentalno ispitivanje učinkovitosti laserski aktiviranoga fotoakustičnoga strujanja u endodontskom liječenju

Svrha doktorskog rada bila je ispitati učinkovitost nove tehnike Er:YAG laserski aktiviranog fotoakustičnog strujanja (SWEEPS - *Shock Wave Enhanced Emission Photoacoustic Streaming*) u pojedinim fazama endodontskog liječenja, i usporediti ju s dosadašnjim programom Er:YAG laserski aktiviranog ispiranja (LAI), SSP (*Super Short Pulse*), ultrazvučnim aktivacijskim ispiranjem (UAI) i konvencionalnim pasivnim ispiranjem iglom i špricom (KI). U prvom dijelu doktorskog rada, analizirana je učinkovitost SWEEPS tehnike u uklanjanju ostataka punila iz zavijenih okruglih korijenskih kanala humanih izvađenih molara nakon konvencionalnog postupka revizije, a u drugom istraživanju, analizirana je učinkovitost SWEEPS tehnike u reviziji ovalnih korijenskih kanala punjenih biokeramičkim punilom. Dodatno je ispitana učinkovitost SWEEPS tehnike s ravnim i radijalnim laserskim nastavkom. Učinkovitost revizije analizirana je na mikro-CT snimkama napravljenim nakon punjenja kanala, nakon kemo-mehaničke obrade kanala, i nakon završnog protokola ispiranja navedenim tehnikama (SWEEPS, SSP, UAI, KI). Antimikrobna učinkovitost SWEEPS tehnike ispitana je na zrelom biofilmu *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) uzgojenom na dentinskim pločicama te je uspoređena sa SSP, UAI i KI tehnikama ispiranja. Rezultati su dobiveni metodom kulture, a kvalitativno su prikazani konfokalnom laserskom mikroskopijom (engl. *confocal laser microscopy*, *CFLM*) i preglednom elektronskom mikroskopijom (engl. *scanning electron microscopy*, *SEM*). Dobiveni rezultati analizirani su statističkim Kolmogorov–Smirnovljevim, Kruskal-Wallisovim, Wilcoxonovim, Mann Whitney U i dvostranim t-testom uz razinu značajnosti od 0.05. Rezultati istraživanja pokazali su da su sve testirane tehnike ispiranja jednako učinkovite u uklanjanju materijala za punjenje tijekom revizije ($p < 0,001$). Tehnika LAI/SSP bila je učinkovitija od skupine SWEEPS/ravni nastavak ($p = 0,032$). Nije bilo značajne razlike između ostalih skupina ($p > 0,05$). U ovalnim korijenskim kanalima, sve tehnike bile su jednako učinkovite u uklanjanju ostataka punila nakon kemo-mehaničke obrade kanala ($p > 0,05$). SWEEPS tehnika pokazala je visoku učinkovitost u eradikaciji *E. faecalis* biofilma kao i UAI ($p < 0,001$). KI je bilo najmanje učinkovito ($p = 0,553$). SWEEPS tehnika pokazala je visoku učinkovitost uklanjanja ostataka punila nakon revizije zavijenih i ovalnih kanala, posebice s radijalnim nastavkom, te u eradikaciji biofilma *E. faecalis*-a.

Ključne riječi: SWEEPS, SSP, UAI, revizija endodontskog liječenja, *E. faecalis* biofilm

SUMMARY

Experimental Study of Laser Activated Photoacoustic Streaming in Root Canal Treatment

Aim: The aim of the doctoral thesis was to examine, *ex vivo*, the effectiveness of a novel laser-activated photoacoustic streaming technique, SWEEPS (*Shock Wave Enhanced Emission Photoacoustic Streaming*), in root canal retreatment and against bacterial biofilm, and to compare it with Er:YAG laser activated SSP modality (LAI/SSP), ultrasonically activated irrigation (UAI) and conventional syringe needle irrigation (SNI) techniques. Additionally, the effectiveness of the SWEEPS was evaluated by using two different laser tips: flat and radial.

Material and methods: In the first part of the doctoral thesis, the SWEEPS technique was evaluated in the removal of root canal filling remnants from severely curved root canals after a conventional root canal retreatment. The study sample consisted of 40 severely curved root canals of extracted human upper molars. The canals were instrumented and filled with an epoxy resin-based sealer and gutta-percha using a continuous wave vertical compaction and a warm injection back-filling. Root canal retreatment was performed using ProTaper Universal Retreatment files without solvent; instead, only sodium hypochlorite (NaOCl) was used. Following the preparation, all samples were randomly divided into four groups (n = 10) according to the irrigation technique: UAI, LAI/SSP, SWEEPS/flat-tip, and SWEEPS/radial-tip, using 6 ml of 3 % NaOCl for an activation time of 90 seconds, divided into 3 cycles of 30 seconds. All tested samples were subjected to three micro-CT scans: after the root canal filling, after the root canal retreatment, and after the final irrigation in order to calculate the volume of the filling material in root canals. In the second part of the study, the retreatment efficacy of the SWEEPS was evaluated in oval root canals filled with a bioceramic based sealer. Total of 42 extracted human mandibular molars with oval distal root canals were included in the study. The samples were prepared up to size 40/0.06 and filled with a bioceramic sealer in combination with a single cone obturation technique. The canals were retreated using Reciproc Blue RB40 files and 3 % sodium hypochlorite solution, without solvent as well. The samples were then randomly divided into three groups (n = 14): SWEEPS/radial tip, UAI, SNI; and final irrigation protocols were performed. Micro-CT scans were performed at every stage of the root canal retreatment as in the first part of the study. Evaluation of the antimicrobial effectiveness of SWEEPS technique was conducted against mature *Enterococcus faecalis* (*E.faecalis*) biofilm grown on dentine discs for 14 days, after which the samples were randomly assigned to the

tested groups with control samples in each group: SWEEPS/radial tip, UAI, SNI. Each group consisted of positive control samples, samples for serial dilution and a culture method, and samples for a qualitative analysis using confocal laser microscopy (CFLM) and scanning electron microscopy (SEM). Each sample was irrigated using 3 % NaOCl for 90 seconds divided into 3 cycles of 30 seconds. Residual NaOCl was inactivated by sodium thiosulfate and gently irrigated with sterile saline. The samples were then serially diluted and the colony forming units' (CFU) number was counted by using the culture method. The results of the studies were analyzed using statistical tests: Kolmogorov–Smirnov test, Kruskal-Wallis test, Wilcoxon test, Mann Whitney U and double sided t-test with the level of significance set at 0.05.

Results: All tested irrigation protocols successfully eliminated root canal filling remnants from curved root canals after conventional root canal retreatment ($p < 0.001$). LAI/SSP group showed higher reduction rate than SWEEPS/flat-tip group ($p=0.032$). There were no significant differences between other groups ($p > 0.05$). In oval root canals filled with bioceramic sealer, SWEEPS showed similar retreatment efficacy as UAI and SSP ($p < 0.05$). Regarding antimicrobial efficacy, the SWEEPS and UAI showed as equally effective in eliminating the *E.faecalis* biofilm ($p < 0.001$), in contrast to SNI which did not present sufficient effectiveness ($p = 0.553$).

Conclusion: The results of the doctoral thesis showed that the SWEEPS is highly effective irrigation technique that successfully removed remnants of epoxy-resin and bioceramic sealers from round curved and oval root canals. SWEEPS modality used with a radial laser tip showed slightly better performance than a flat laser tip. LAI/SSP group showed slightly better effectiveness in removing root canal filling material remnants from severely curved root canals than the other tested techniques.

Key words: SWEEPS, SSP, UAI, endodontic retreatment, *E.faecalis* biofilm

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1 Uloga infekcije u neuspjehu endodontskog liječenja	3
1.2 Vrste endodontskih infekcija	3
1.3. Razvoj endodontske infekcije	6
1.3.1 Kolonizacija i primarna infekcija	6
1.3.2 Razvoj endodontskog biofilma	7
1.3.3 <i>Enterococcus faecalis</i> u endodontskoj infekciji	9
1.3.3.1 <i>Specifičnosti Enterococcus faecalis</i> u razvoju rezistencije	10
1.4 Ograničenja kemomehaničke obrade endodontskog prostora u kontroli endodontske infekcije	12
1.4.1. Složena anatomija endodontskog prostora	12
1.4.2. Ograničenja mehaničke obrade korijenskog kanala	13
1.4.3. Ograničenja kemijske obrade endodontskog prostora	14
1.4.4. Nepotpuno punjenje korijenskog kanala	14
1.5. Kemijska obrada endodontskog prostora	15
1.5.1 Sredstva za ispiranje endodontskog prostora	16
1.5.1.1 <i>Natrijev hipoklorit</i>	16
1.5.1.2 <i>Klorheksidin diglukonat</i>	17
1.5.1.3 <i>Etilendiaminotetraoctena kiselina</i>	18
1.5.1.4 <i>Limunska kiselina</i>	18
1.5.1.5 <i>Kombinirana sredstva za ispiranje</i>	19
1.5.2. Tehnike ispiranja endodontskog prostora	20
1.5.2.1. <i>Konvencionalno pasivno ispiranje iglom i špricom</i>	20
1.5.2.2. <i>Aktivacijske tehnike ispiranja endodontskog prostora</i>	20
1.5.2.2.1. <i>Aktivno ručno ispiranje (engl. manual dynamic activation)</i>	20

1.5.2.2.2.	<i>Zvučno aktivirano ispiranje</i>	21
1.5.2.2.3.	<i>Ultrazvučno aktivirano ispiranje</i>	22
1.5.2.2.4.	<i>RinsEndo</i>	23
1.5.2.2.5.	<i>Endo Vac sustav</i>	23
1.5.2.2.6.	<i>Sustav kontinuirane instrumentacije i ispiranja</i>	23
1.5.2.2.7.	<i>Instrument XP-endo Finisher</i>	24
1.6.	Primjena lasera u endodontskom liječenju zuba	25
1.6.1.	Nd:YAG laser	25
1.6.2.	Diodni laseri	26
1.6.3.	Erbij laseri	27
1.6.3.1.	<i>Primjena erbij lasera u dezinfekciji endodontskog prostora</i>	27
1.6.3.2.	<i>Mehanizam djelovanja erbij lasera u korijenskom kanalu</i>	29
1.7.	Laserski aktivirano ispiranje korijenskih kanala	30
1.7.1.	Foton inicirajuće fotoakustično strujanje	30
1.7.2.	SWEEPS laserski aktivirano ispiranje korijenskih kanala	32
1.7.2.1.	<i>Erbij laserski nastavci za SWEEPS tehniku</i>	33
1.8.	Revizija endodontskog liječenja	35
1.8.1.	Učinkovitost revizije endodontskog liječenja	35
1.8.2.	Materijali za punjenje korijenskog kanala i njihovo uklanjanje iz kanala	36
1.8.2.1.	<i>Gutaperka</i>	37
1.8.2.2.	<i>Punila temeljena na smolama: sastav i svojstva</i>	38
1.9.	Mikro-kompjuterizirana tomografija u endodontskim istraživanjima	41
1.9.1.	Primjena mikro-kompjuterizirane tomografije u endodontskim istraživanjima	41
1.10.	Mikrobiološke metode u endodontskim istraživanjima	43
1.10.1.	Lančana reakcija polimerazom	43
1.10.2.	Metoda kulture	43
1.11.	Mikroskopske metode analize uzoraka	44

1.11.1. Pretražna elektronska mikroskopija.....	44
1.11.2. Konfokalna laserska mikroskopija	45
2. CILJEVI I HIPOTEZE	46
2.1. Svrha i ciljevi.....	47
2.2. Hipoteze	48
3. MATERIJALI I POSTUPCI.....	49
3.1. Istraživanje 1. Ispitivanje učinkovitosti SWEEPS tehnike u uklanjanju ostataka punila iz zavijenih korijenskih kanala nakon konvencionalnog postupka revizije	50
3.1.1. Odabir uzoraka za istraživanje	50
3.1.2. Instrumentacija i punjenje korijenskih kanala	50
3.1.3. Revizija korijenskog kanala	53
3.1.4. Eksperimentalni protokoli ispiranja.....	54
3.1.5. Mikro-CT analiza	59
3.1.6. Statistička analiza	61
3.2. Istraživanje 2. Ispitivanje učinkovitosti SWEEPS tehnike u uklanjanju ostataka punila nakon konvencionalnog postupka revizije ovalnih korijenskih kanala.....	62
3.2.1. Odabir uzoraka za istraživanje	62
3.2.2. Instrumentacija i punjenje korijenskih kanala	62
3.2.3. Revizija korijenskih kanala	65
3.2.4. Eksperimentalni završni protokol ispiranja	66
3.2.5. Mikro-CT analiza	68
3.2.6. Statistička analiza	69
3.3. Istraživanje 3. Ispitivanje antimikrobne učinkovitosti SWEEPS tehnike u uklanjanju bakterijskog biofilma sa dentinskih pločica	70
3.3.1. Odabir i priprema uzoraka	70
3.3.2. Kreiranje <i>Enterococcus faecalis</i> biofilma	72
3.3.3. Tretiranje uzoraka s uzgojenim biofilmom <i>E. Faecalis</i>	73

3.3.3.1.	<i>Ekperimentalni protokoli ispiranja</i>	73
3.3.4.	Mikrobiološka analiza metodom kulture.....	76
3.3.5.	SEM analiza.....	77
3.3.6.	Analiza uzoraka na konfokalnom laserskom mikroskopu.....	79
3.3.7.	Statistička analiza	80
4.	REZULTATI	81
4.1.	Istraživanje 1. Ispitivanje učinkovitosti SWEEPS tehnike u uklanjanju ostataka punila iz zavijenih korijenskih kanala nakon konvencionalnog postupka revizije	82
4.2.	Istraživanje 2. Ispitivanje učinkovitosti SWEEPS tehnike u uklanjanju ostataka punila nakon konvencionalnog postupka revizije ovalnih korijenskih kanala.....	86
4.3.	Istraživanje 3. Ispitivanje antimikrobne učinkovitosti SWEEPS tehnike u uklanjanju bakterijskog biofilma <i>Enterococcus faecalis</i> sa dentinskih izbrusaka ...	89
4.3.1.	Rezultati kvantitativne metode kulture.....	89
4.3.2.	Rezultati SEM analize	94
4.3.3.	Rezultati CFLM analize.....	98
5.	RASPRAVA	103
6.	ZAKLJUČAK	112
7.	LITERATURA	114
8.	ŽIVOTOPIS	141

Popis kratica

ANOVA	analiza varijance (eng. <i>analysis of variance</i>)
CBCT eng.	<i>Cone beam computed tomography</i>
CFLM	eng. <i>confocal laser microscopy</i> , konfokalna laserska mikroskopija
CFU	eng. <i>colony forming unit</i> , broj kolonija
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
EDTA	etilendiamintetraoctena kiselina
FWHM	<i>full width at half maximum</i>
H₂O₂	vodikov peroksid
KI	konvencionalno ispiranje
kk	korijenski kanal
LAI	laserski aktivirano ispiranje
LPS	lipopolisaharidi
Mikro-CT	Mikro-kompjuterizirana tomografija
NaOCl	natrijev hipoklorit
PIPS	eng. <i>photon induced photoacoustic streaming</i> , foton inicirajuće fotoakustično strujanje
PTN	ProTaper Next
RD	radna duljina
SEM	eng. <i>scanning electron microscopy</i> , pretražna elektronska mikroskopija
SSP	eng. <i>Super short pulse</i>
SWEEPS	eng. <i>Shock Wave Enhanced Emission Photoacoustic Streaming</i>
UAI	ultrazvučno aktivirano ispiranje

1. UVOD

Endodontsko liječenje podrazumijeva obradu složene anatomije endodontskog prostora, a standardna obrada korijenskih kanala uključuje mehaničku instrumentaciju ručnim ili strojnim instrumentima te kemijsku obradu sredstvima za ispiranje (1), a potom i adekvatnu obturaciju, koronarno i apikalno brtvljenje. Glavni cilj endodontskog liječenja je ukloniti mikroorganizme koji uzrokuju endodontsku infekciju (2). Mehaničkom obradom se, osim čišćenja korijenskog kanala, osigurava njegovo širenje i oblikovanje kako bi kemijska obrada bila što uspješnija u otapanju pulpnog tkiva i antibakterijskom djelovanju (3,4).

Endodontsko liječenje neophodno je nakon ozljede pulpe i progredirajućeg upalnog odgovora koje, kao i bilo koje drugo vezivno tkivo u organizmu, na ozljedu reagira upalom. Iako postoje brojni uzroci ozljede pulpnog tkiva, karijes je najčešći. Kako se karijesna lezija približava pulpi, tako se magnituda upalnog odgovora povećava do točke kada postaje ireverzibilna, a slijedi je nekroza, infekcija pulpnog tkiva te progresija u periapikalno tkivo. (5). Proces je to koji počinje od lokalne upalne reakcije u dijelu pulpnog tkiva, a potpuna nekroza tog tkiva rezultat je postupne akumulacije pojedinačnih lokalnih nekroza unutar pulpe koje kroz period vremena progrediraju apikalno. Ireverzibilni upalni odgovor pulpnog tkiva na ozljedu u bilo kojoj od faza rezultira endodontskim liječenjem kao terapijom.

Glavni cilj endodontskog liječenja je maksimalno moguće ukloniti mikroorganizme koji uzrokuju endodontsku infekciju (2), tj. terapijom korijenskih kanala isključiti mogućnost da je endodontski prostor zuba izvor izloženosti organizma patogenim mikroorganizmima, bilo lokalno ili sistemski (6) te tako omogućiti organizmu proces cijeljenja upalnog procesa.

1.1 Uloga infekcije u neuspjehu endodontskog liječenja

Svrha endodontskog liječenja su prevencija periapikalnog procesa ako ga prije endodontskog liječenja nije bilo i stvaranje uvjeta za početak cijeljenja prisutnog apikalnog parodontitisa. Uspjeh, odnosno, neuspjeh endodontskog liječenja zuba definira se kroz radiološke i kliničke znakove i simptome. Prisutnost radiolucencije, sinus trakta, oticanja ili bolova upućuje na pojavu perzistentne upalne bolesti ili ponovni razvoj apikalnog parodontitisa (5).

Prema dosadašnjoj literaturi, uspjeh primarnog endodontskog liječenja kreće se između 80 i 95 % (7). Kakashi i sur. (8) dokazali su da isključivo kanali inficirani bakterijama mogu razviti periradikularne lezije. Ukoliko je periradikularna lezija prisutna prije endodontskog liječenja, prognoza uspješnosti smanjuje se za 10 – 20 % . Eradikacija, ili barem najviša moguća redukcija broja bakterija iz endodontskog prostora zuba, ključna je za uspjeh endodontskog liječenja. Uspjeh revizije značajno je niži i, prema literaturi, kreće se između 62 i 80 % (9, 10). Razlog je dugotrajna intrakanalna infekcija karakterizirana visokom virulentnošću i otpornošću mikroorganizama na dezinficijense (7).

1.2 Vrste endodontskih infekcija

Prema anatomskom smještaju, endodontske infekcije mogu se svrstati u intraradikularne i ekstraradikularne. Intraradikularne infekcije uzrokuju mikroorganizmi koji koloniziraju korijenski kanal. Ovisno o vremenu naseljavanja endodontskog prostora, mogu se podijeliti u primarne, sekundarne i perzistentne infekcije. Neuspjeh svakog pojedinog tipa karakteriziraju mikrobiološke razlike. (11)

Kod perzistentnih endodontskih infekcija, otporne bakterijske vrste preživljavaju kemomehaničku obradu kanala, a kasnije i relativno duga razdoblja izolacije kada su im jedini izvori hrane ostaci tkiva i mrtve stanice. Sposobnost preživljavanja u nepovoljnim uvjetima veoma je važna za bakterije jer tako kompenziraju razdoblja manjka hranjivih tvari. Međutim, mikroorganizmi koji prežive ovakva razdoblja bez hrane, ne uzrokuju uvijek neuspjeh endodontskog liječenja, već samo ako su njihovi toksini, a posebno njihovi endotoksini, patogeni te dosežu dovoljan broj bakterijskih stanica i pristup periradikularnim tkivima kako bi izazvale ili produžile periradikularne lezije. Te su bakterije najčešće prisutne u planktonskom obliku ili se nalaze unutar biofilma. (7)

Treba napomenuti da, osim bakterijskim vrstama, endodontski prostor može biti inficiran gljivama, i to *Candidom spp.* *Candida albicans* pronađena je u gotovo 37 % posto slučajeva zuba s periapikalnom lezijom (12, 13, 14, 15), dok Kumar i sur.(16) potvrđuju da broj CFU ovih gljiva ne pada ni nakon revizije endodontskog liječenja.

Bakterija *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) najčešća je u perzistentnim infekcijama u oko 45,8 do 79,5 % slučajeva (14,17). Međutim, čak je i u istraživanjima, u kojima ne zauzima najviši postotak, još uvijek prisutna u 12 do 30 % slučajeva (18, 19, 20, 21).

Sunde i sur.(22) i Nobrega i sur. (23) pronašli su *Treponemu* u visokom postotku slučajeva (17 – 30 %) perzistentnih infekcija. Visoko su otporne zbog proizvodnje proteolitičkih enzima, prodiru u tkiva zbog velike pokretljivosti, inhibiraju funkciju neutrofila i polimorfonuklearnih leukocita te posjeduju lipopolisaharide (LPS) i oslobađaju endotoksine koji pogoršavaju upalni odgovor i oštećenje tkiva (24).

Sekundarna intrakanalna infekcija je naseljavanje mikroorganizmima koji nisu bili prisutni u inicijalnoj kolonizaciji u endodontski prostor zuba. Može nastati tijekom endodontskog liječenja, između dvije posjete ili nakon punjenja korijenskog kanala.

Sekundarne infekcije intrakanalnog sistema nastaju nakon primarnog endodontskog liječenja, a potječu od ijtrogenog unošenja mikroorganizama ili perkolacije, odnosno mikrocuranjem koronarno ili apikalno. Prema Sedgleyju i sur. (25) , prisutnost *E. faecalis* u primarnim infekcijama iznosi 67,5 %, a u sekundarnim 89,6 %.

Mogućnost ijtrogene infekcije postaje prilično važna ukoliko se radi o primarnom endodontskom liječenju neinficiranog endodontskog prostora bez prisutne periradikularne lezije, primjerice kod vitalne ekstirpacije iz protetskih razloga ili sterilne nekroze. Zahran i sur. (26) dokazali su prisutnost bakterijskih vrsta unutar korijenskih kanala koje su normalno prisutne na koži i zaključili da postoji visoka incidencija ijtrogenih infekcija.

Otprilike u 6 % endodontskih infekcija, bakterijski se biofilm razvija i izvan korijenskog kanala te govorimo o ekstraradikularnim infekcijama (27). Česta bakterija kod ekstraradikularnih infekcija je *Propionibacterium acnes* (21, 28) koja može preživjeti u granulacijskom tkivu prisutnom izvan kanala i adherirati i koagregirati u ekstraradikularnim područjima. Rocàs i sur. (20) izolirali su ovu bakteriju u 52 % slučajeva te, prema učestalosti, slijedi odmah nakon *E. faecalis*. Još jedna bakterijska vrsta koju autori spominju kao čestog uzročnika ekstraradikularne infekcije je *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*). Noguchi i sur. (29) izolirali su *P. gingivalis* u 28,7 % slučajeva, a najčešće je primijećena u područjima

koja su u bliskom kontaktu s vanjskom površinom korijena te se smatra pionirskom bakterijom u kolonizaciji ekstraradikularnog područja. Sunde i sur. (22) primijetili su mehanizam preživljavanja ove bakterije, a to je sinergijska interakcija za dijeljenje hranjivih tvari, čimbenika virulencije i zaštitnih mehanizama protiv obrane domaćina.

Ekstraradikalna infekcija može biti ovisna ili neovisna o intraradikalnoj infekciji, što značajno utječe na ishod endodontskog liječenja. Najčešći oblik neovisne ekstraradikalne infekcije je apikalna aktinomikoza, koja se može ukloniti samo endodontskim kirurškim zahvatom (30).

1.3. Razvoj endodontske infekcije

U objavljenoj literaturi navodi se više od 500 bakterijskih vrsta izoliranih iz endodontskog prostora tijekom infekcije. Međutim, najčešće je izolirano 20 do 30 vrsta koje se smatraju središnjim mikrobiomom (31). Gram-pozitivne bakterije najotpornije su vrste bakterija na kemomehaničku obradu korijenskog kanala i imaju izraženiju sposobnost prilagodbe zatečenim uvjetima okoline. Najzastupljenije takve vrste u endodontskoj infekciji su *Streptococci*, *Lactobacilli*, *E. faecalis*, *Propionibacterium*, *Micromonas micros* (32, 33). Ukoliko su prisutne u endodontskom prostoru u trenutku punjenja kanala, uspjeh cijeljenja periapikalne lezije značajno je manji i iznosi oko 68 % (34). Iako endodontsku infekciju uzrokuje multibakterijski biofilm, različite mikrobiološke vrste prevladavaju u primarnoj i sekundarnoj infekciji, odnosno nakon neuspjeha endodontskog liječenja.

1.3.1 Kolonizacija i primarna infekcija

Najbrojniji mikroorganizmi u endodontskim infekcijama su bakterije, ali otkrivene su i gljive, virusi i *archaea* (35). Mikroorganizmi iz korijenskog kanala mogu naseliti periradikularna tkiva kroz apikalni otvor ili lateralne kanale i uzrokovati razvoj upalnih promjena. Pulpne i periradikularne endodontske bolesti rezultat su patogenog djelovanja mikroorganizama i odgovora imunološkog sustava domaćina.

Promjer dentinskih tubulusa uz caklinu i dentin iznosi otprilike 0,9 μm , što odgovara promjeru većine vrsta oralnih bakterija (0,2 – 0,7 μm) (36). Prodor bakterija kroz dentinske tubuluse razlikuje se kod vitalnih i avitalnih zuba (37). Prodor bakterija u dentinske tubuluse brži je u nekrotičnoj pulpi zbog nepostojanja zaštitnog mehanizma pulpno-dentinskog kompleksa (pomak dentinske tekućine prema van, sklerozacija dentina, stvaranje reparatornog dentina) (38). Ako je pulpa izložena usnoj šupljini tijekom vremena će se neizbježno inficirati uz razvoj upale i nekroze. Nadalje, sadržaj dubokih paradontnih džepova koji dosežu apikalni otvor može oštetiti glavne krve žile pulpe i dovesti do razvoja nekroze (39).

Primarnu intrakanalnu infekciju karakteriziraju anaerobne, fakultativno anaerobne i neke mikroaerofilne vrste (40-42), 102 do 107 bakterija po kanalu (43). Većina invadira glavni korijenski kanal, a manji broj bakterija lokaliziran je u lateralnim kanalima i dentinskim tubulusima. Na sastav mikrobne zajednice u nekrotičnom korijenskom kanalu utječu i ekološki čimbenici: tlak kisika i redoks potencijal, dostupni nutrijenti, ali i bakterijske interakcije. Zbog

toga u najranijim fazama infekcije dominiraju fakultativne bakterije (44), a potom se razvijaju anaerobni uvjeti koji rezultiraju niskim redoks potencijalom i rastom striktno anaerobnih vrsta. Tijekom razvoja infekcije, veći broj mikroorganizama prodire dublje u dentinske tubuluse i akcesorne/lateralne kanale gdje su zaštićeni od djelovanja antimikrobnih sredstava i odakle mogu rekolonizirati površinu radikularnog dentina već liječenog i napunjenog korijenskog kanala, uzrokujući perzistirajuću ili rekurentnu intraradikularnu infekciju. Mikroorganizmi u akcesornoj anatomiji endodontskog prostora otkriveni su u 50 do 80 % zuba s apikalnim parodontitisom (45, 46).

1.3.2 Razvoj endodontskog biofilma

Čimbenikom virulencije pojedine bakterijske vrste jest upravo sposobnost formiranja biofilma, a biofilm na površini zuba može tvoriti 300 i više slojeva stanica (47). Biofilmovi su dinamične zajednice bakterija (mikrokolonije, 15% volumena) koje žive unutar oblikovanog matriksa ili glikokaliksa (85% volumena) i čvrsto su vezane za podlogu, međusobno su odvojene vodenim kanalima (48, 49). Mikroorganizmi u biofilmovima, u odnosu na planktonske stanice, imaju sposobnost samoorganizacije i međuovisnog suživota te otpornost na okolišne čimbenike i komunikaciju unutar jedne vrste ili između različitih vrsta. Ekstracelularni polisaharidni matriks štiti bakterije od UV zračenja, promjene pH, osmotske promjene, prolaza toksina i antimikrobnih sredstava (50,51). Bakterije unutar biofilma mogu međusobno komunicirati (*quorum sensing*) signalnim molekulama koje reguliraju ekspresiju specifičnih gena. Na taj način mogu razviti rezistenciju na antibiotike, preživjeti u uvjetima visokog pH ili manjka hrane (52). Formiranje biofilma u korijenskom kanalu najvjerojatnije započinje nakon prvog naseljavanja fakultativnih anaeroba u pulpu. Nakon nekoliko dana ili tjedana, kao rezultat metabolizma fakultativnih bakterija, razvija se anaerobna sredina s niskim redoks potencijalom i manjkom nutritivnih čimbenika u kojoj prevladava populacija striktnih anaeroba. U prvoj fazi razvoja biofilma, stvara se tanki proteinski sloj na stijenkama radikularnog dentina (53). Naseljavanje primarnih kolonizatora na proteinskom sloju ovisi o lokalnim uvjetima (pH, temperatura, nutrijenti, površinski naboj). Rast primarnih kolonizatora i njihovo nespecifično vezanje privlači sekundarne kolonizatore te se stvaraju prve mikrokolonije u obliku tornjeva s lateralnim i vertikalnim rastom (54, 55). Tijekom razvoja biofilma postoji interakcija između bakterija u obliku koadhezije i koagregacije. Koadhezija je rezultat prepoznavanja mikroorganizma koji je već pričvršćen za podlogu i planktonskog

mikroorganizma. Prepoznavanja genetski različitih mikroorganizama u suspenziji i njihova udruživanja u nakupine jest koagregacija (56). Pojedini mikroorganizmi se mogu, zbog lokalne hidrolize ekstracelularnog polisaharidnog matriksa, odvojiti od biofilma i postati planktonske stanice. Takve stanice mogu uzrokovati perzistirajuće infekcije (57). Iz biofilma se mogu odvojiti i dijelovi mikrokolonija koji na novome mjestu mogu stvoriti novu populaciju mikroorganizama i biofilm.

Intraradikularni biofilm na dentinskim stijenkama korijenskog kanala čine nakupine koka, filamentoznih bakterija i spiroheta u obliku palisada (58). Ekstraradikularni biofilm nastaje na površini korijena zuba (cement) uz apeksni otvor inficiranog korijenskog kanala (33). Najčešće bakterije su *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannellera forsythia*. Ekstraradikularni biofilm povezan je s asimptomatskim periapikalnim parodontitisom i kroničnim apikalnim apscesom. Ekstraradikularni biofilm može se kalcificirati i odgoditi periapikalno cijeljenje unatoč kvalitetno provedenom endodontskom liječenju korijenskih kanala (59). Bakterije u ovom biofilmu veoma su otporne na imunološki sustav domaćina (60) i stvaraju perzistirajuće periapikalne lezije. Najčešće je riječ o *Actinomyces species* i *Propionobacterium propionicum* (61).

Gram-pozitivnih mikroorganizama prevladavaju u ranijim fazama stvaranja biofilma koji potom prolazi proces maturacije kada prevladavaju gram-negativne bakterije (62). Što je biofilm stariji, teže ga je destabilizirati i eliminirati. Ne postoji konsenzus o kritičnoj starosti biofilma koja bi predstavljala prelazak biofilma iz nezrelog u zreli. Naime, biofilm star četiri dana ima prosječnu debljinu 34 μm , a nakon šest dana doseže debljinu od 52 μm (63). Istraživanja imunofluorescentnim konfokalnim mikroskopom zaključuju kako je tek biofilm starosti 21 dan zreo (64). Gunther i sur. (65) nezrelim biofilmom smatraju biofilm 2-6 dana starosti, a zreli biofilm starosti 15 dana.

1.3.3 *Enterococcus faecalis* u endodontskoj infekciji

E. faecalis je fakultativni anaerob, gram-negativna bakterija sferičnog ili ovoidnog oblika koja perzistira u paru ili kratkim lancima (Slika 1), a na hranjivoj podlozi formira kremasto bijele kolonije. *E. faecalis* čini 80 do 90 % svih infekcija uzrokovanih enterokokima. Preživljava 30 minuta na 60 °C i pH 9,6 (66). Fermentira ugljikohidrate do mliječne kiseline, a u nepovoljnim uvjetima i manjku nutrijenata veličina *E. faecalis* smanjuje do najniže vrijednosti, a koja omogućuje preživljavanje, pritom se organizirajući u parove (Slika 2). Također, razvijaju otpornost na toplinu i dezinficijense: vodikov peroksid i natrijev hipoklorit (H₂O₂, NaOCl) (66). *E. Faecalis* stvara monobiofilmove, proizvode superoksida oštećujući tkivo domaćina i djelujući kemotaktično na neutrofile, a opstaju u uvjetima visokog pH bez interakcije s drugim mikroorganizmima (50).

E. faecalis se smatra dominantnim mikroorganizmom u sekundarnim endodontskim infekcijama, a često je prisutan u supurativnim infekcijama kao što su kronične periapikalne upale. Williams i sur. (67) otkrili su *E. faecalis* u usnoj šupljini 21,8 % ispitanika, dok su Smith i sur. (68) bakteriju izolirali u pet do 20 % ispitanika neovisno o starosti, spolu, oralnoj higijeni ili antibiotskoj terapiji. Prevalencija *E. faecalis* u primarnom apikalnom parodontitisu je niska i iznosi 7,5 % (69) dok je viša u korijenskim kanalima zuba s postojećim kroničnim apikalnim parodontitisom i u već endodontski liječenih zuba s perzistirajućom infekcijom periapikalno (70). Molander i sur. (12) otkrili su *E. faecalis* u 68 % revidiranih korijenskih kanala. Hancock i sur. (71) otkrili su bakteriju u 61 % zuba s perzistirajućom apikalnom lezijom nakon endodontskog liječenja. Rezultati novijih istraživanja koja koriste molekularne tehnike identifikacije bakterija, navode još višu prevalenciju *E. faecalis* (77 %) u korijenskim kanalima punjenih zuba s perzistirajućom periapikalnom lezijom (71). Štoviše, *E. faecalis* u mješovitim infekcijama uzrokuje najveće apikalne lezije (6,8 mm), u usporedbi sa značajno manjim lezijama u infekcijama bez *E. faecalis* (4,3 mm) (71).

1.3.3.1. Specifičnosti *Enterococcus faecalis* u razvoju rezistencije

Nekoliko je osnovnih karakteristika razvoja rezistencije *E. faecalis*-a:

- *E. faecalis* ima sposobnost opstajanja u korijenskom kanalu kao monoinfekcija bez sinergije s ostalim mikroorganizmima.

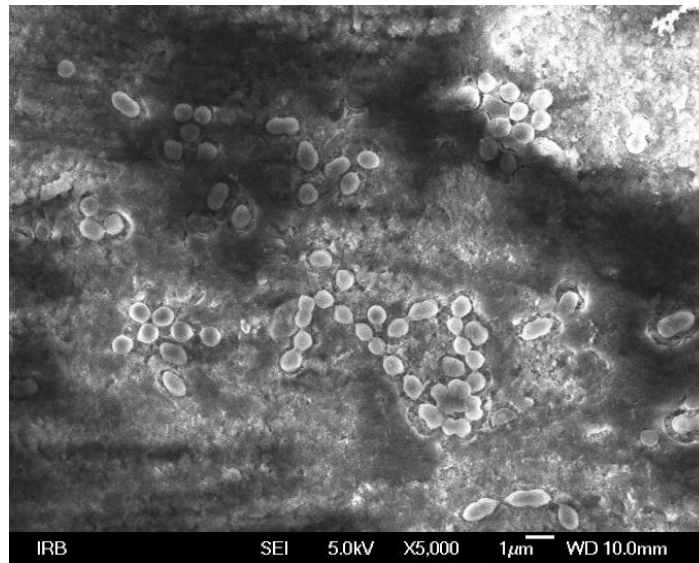
- Supstanca agregacije važan je čimbenik virulencije pomoću kojeg *E. faecalis* može prenositi ili primati genetski materijal od drugih vrsta i sojeva (npr. rezistencija na antibiotike i druga antimikrobna sredstva) (72). Supstanca agregacije olakšava bakteriji vezanje za intestinalne epitelne stanice i dublju invaziju u tkiva (73) te je štiti od polimorfonuklearnih leukocita (PMN) ili makrofaga (74).

- Preživljava u visokom pH zbog čega je otporan na intrakanalne uloške (primjerice kalcijev hidroksid ($\text{Ca}(\text{OH})_2$). Naime, smanjuje alkalične uvjete protonskom pumpom kojom upumpava vodikove ione i smanjuje pH u citoplazmi. U literaturi se navodi da je za eradikaciju *E. faecalis* potreban pH od 10,5 do 11 (75). Istraživanja (66, 52) su pokazala rezistenciju *E. faecalis* na kalcijev hidroksid, zbog čega je uporaba kalcijevog hidroksida u postupku revizije zuba s apikalnim parodontitisom upitna (12).

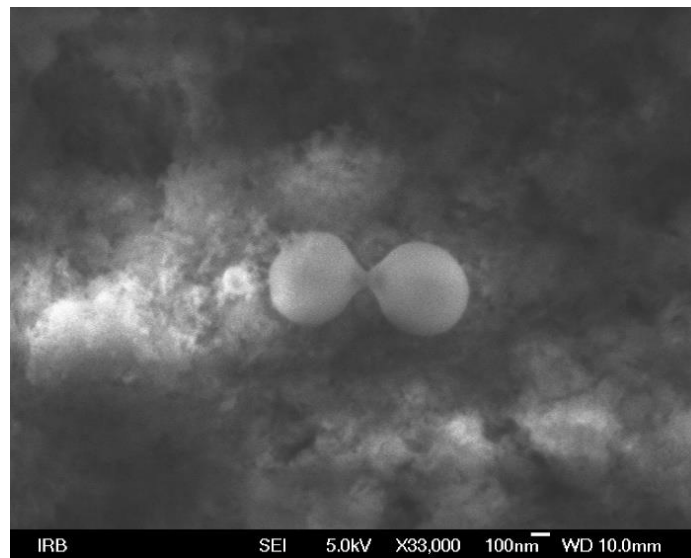
- Ima specifičnu sposobnost adhezije za hidroksiapatit cakline.

- Invadira dentinske tubuluse od 250 – 400 μm u dubinu (76), a veže se i za kolagen u dentinskim tubulusima pomoću vezujuće protein i serin protaze, što može biti izvor infekcije nakon brtvljenja korijenskog kanala (77, 78).

- Ima sposobnost stvaranja biofilma koji je tisuću puta otporniji na antitijela, fagocite i antimikrobna sredstva nego što su to planktonski oblici (79, 80). Tijekom stvaranja biofilma, bakterija otapa mineralni sastav dentina pri čemu se oslobađaju kalcij i fosfatni ioni. *E. faecalis* često stvara miješane biofilmove s *Bacteroides fragilis*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus intermedius*, *Staphylococcus aureus* te koagregira s *Fusobacterium nucleatum* (12, 80).



Slika 1. Pregledna elektronska mikroskopija kolonija i bakterijskih lanaca *E. faecalis*-a



Slika 2. Organizacija kolonija *E. faecalis* bakterije u parove tijekom nepovoljnih uvjeta i manjka nutrijenata

1.4 Ograničenja kemomehaničke obrade endodontskog prostora u kontroli endodontske infekcije

1.4.1. Složena anatomija endodontskog prostora

Endodontski prostor čini glavni korijenski kanal i lateralna anatomija: akcesorni i lateralni kanali i istmusi (81). Apikalna trećina glavnog korijenskog kanala varira od okruglog do blago ovalnog, dok su koronarna i srednja trećina najčešće izdužene u bukolingvalnom smjeru (82). Ovalni kanali i kanali C oblika predstavljaju izazov u adekvatnom čišćenju i dezinfekciji intrakanalnog sustava, što potvrđuju Siqueira i sur. (83) u svojoj opsežnoj studiji. Akcesorni kanali polaze od glavnog korijenskog kanala i komuniciraju s parodontnim ligamentom, a lateralni kanali su odvojeni od glavnog kanala u koronarnoj i srednjoj trećini pod pravim kutom. Predstavljaju potencijalni put širenja infekcije iz korijenskog kanala u područje periradikularnog tkiva (81, 84). Vertucci (85) je iskazao vrlo visoku pojavnost grananja u apikalnom dijelu kanala (73,5%) za razliku od srednje (11,4 %) i koronarne trećine (6,3 %). Istmus je horizontalna komunikacija između dva kanala, najčešće mezijalnih kanala donjih molara ili meziobukalnih kanala gornjih molara, a sadržava vitalno ili nekrotično pulpno tkivo ili ostatke materijala za punjenje (81, 86).

Korijenski kanali većinom posjeduju određenu zakrivljenost, posebice u vestibulo-oralnome smjeru, u apikalnoj regiji (86, 87), pojavljuje se i dvostruka "S" zakrivljenost. Zakrivljeni i uski korijenski kanali predstavljaju izazov ne samo kod mehaničke instrumentacije, već i kontrole infekcije (88) i uklanjanja ostataka punila u reviziji endodontskog liječenja. U novije vrijeme istraživanja su usredotočena na pronalazak učinkovitog rješenja za poboljšanje dezinfekcije korijenskih kanala složene anatomije. Galler i sur. (89) dokazali su prednost aktivacijskih tehnika i dublje prodiranje irigansa u ravnim kanalima. Međutim, u složenoj anatomiji zavijenih kanala, rezultati su oprečni ovisno o ispitivanim skupinama. Swimberghe i sur. (90) dokazali su neupitnu premoć aktivacijskih tehnika (78 – 99 %) u uklanjanju hidrogela nalik biofilmu iz zavijenih korijenskih kanala u usporedbi s konvencionalnim ispiranjem (7,3 %). Također, punilo iz izrazito zavijenih korijenskih kanala podjednako je učinkovito uklonjeno svim aktivacijskim metodama, s minimalnom prednošću laserski aktiviranih (91). Nadalje, u istome istraživanju nije pronađena značajna razlika između aktivacijskog i konvencionalnog ispiranja, dok Jiang i sur. (92) primjećuju bolju učinkovitost laserskih aktivacijskih tehnika pri uklanjanju punila iz ovalnih kanala.

1.4.2. Ograničenja mehaničke obrade korijenskog kanala

Endodontski tretman uključuje mehaničku instrumentaciju ručnim ili strojnim instrumentima te kemijsku obradu korijenskih kanala sredstvima za ispiranje i dezinfekciju (1). Mehaničkom obradom osigurava se čišćenje korijenskog kanala te oblikovanje korijenskog kanala, što potom olakšava ispiranje i punjenje. Kvalitetu mehaničkog oblikovanja kanala možemo kontrolirati prateći na RTG snimci duljinu, debljinu i rahlost punjenja. Međutim, iako je mehanička instrumentacija neizostavna i jedna je od ključnih faza endodontskog liječenja, ipak nakon mehaničke instrumentacije, ovisno o sistemu instrumentacije, 10 do 50 % površine kanala ostaje neobrađeno prema mikro-CT istraživanjima (93-97). Peters i sur. navode postotak neobrađene površine korijenskog kanala od čak 53 %. (95). Neobrađena površina korijenskog kanala ujedno znači i ostatke debrisa i biofilma te potencijalno posljedično stvaranje ili perzistiranje periapikalne patologije. Siqueira i sur. (93) zaključuju kako je najveći problem neobrađene površine dentina u apikalnom dijelu korijenskog kanala. Naime, debris i biofilm iz koronarnih dijelova neobrađene površine biva otplavljen tijekom endodontskog postupka, no zadržava se u apikalnoj regiji čak i u primarnom odsustvu biofilma, a sam debris može služiti kao supstrat za bakterijsku reinfekciju.

1.4.3. Ograničenja kemijske obrade endodontskog prostora

Širenje i oblikovanje korijenskog kanala osigurava učinkovitiju kemijsku obradu kanala, odnosno trodimenzionalno ispiranje, što je potrebno za otapanje pulpnog tkiva i antibakterijsko djelovanje (4, 98). Ispiranje je jedini način da se očiste dijelovi endodontskog prostora nedostupni mehaničkoj obradi (99). Učinkovitost čišćenja i dezinfekcije endodontskog prostora postoperativno se ne može kontrolirati na RTG snimci, iako znamo da uspjeh endodontskog liječenja uvelike ovisi upravo o toj fazi endodontskog liječenja. Kontrola kvalitete kemijske obrade korijenskih kanala složena je zbog utjecaja zaostatnog sloja (nakuplja se u dentinskim tubulusima, sprječava protok tekućina za ispiranje) (100), složene anatomije endodontskog prostora (akcesorna anatomija i dentinski tubulusi u koje bakterije prodiru do dubine 800 µm) (99) i ograničenja pasivnog ispiranja špricom i iglom (dopiranje irigansa samo 1 – 2 mm od vrha igle) (101). Sredstva za ispiranje djelovanjem u kanalu kemijski se inaktiviraju pa je potrebno osigurati stalan i dinamičan protok svježeg irigansa (102) u svrhu dosezanja svih dijelova endodontskog prostora, a kako bi se pritom održala učinkovita koncentracija irigansa i stvorio smični stres na stijenkama koji uklanja bakterijski biofilm. Naime, Hoedke i sur. (103) ispitivali su aktivacijske metode uklanjanja biofilma na 240 jednokanalnih ekstrahiranih zuba. Zvučna i ultrazvučna aktivacija pokazale su učinkovitost s razinom značajnosti < 0,001 unatoč veoma niskoj koncentraciji irigansa (1 %-tni natrijev hipoklorit, NaOCl). Zbog svega navedenog, potrebne su nove tehnike koje bi povećale učinkovitost kemijske obrade korijenskih kanala jer aktivacija irigansa povećava strujanje tekućine u intrakanalnom sustavu kanala čime je omogućen bolji protok i bolje djelovanje kemijske obrade (101, 102).

1.4.4. Nepotpuno punjenje korijenskog kanala

Neadekvatna obturacija korijenskog kanala podrazumijeva nedostatan apikalno i koronarno brtvljenje. S obzirom da kemomehanička obrada ne uklanja sve mikroorganizme iz anatomije intrakanalnog sustava, punjenje ima za cilj zatvoriti rezidualne patogene i ograničiti rekolonizaciju sprječavanjem prolaska hranjivih tvari iz koronarnog i apikalnog smjera (104). Dakle, adekvatno endodontsko liječenje podrazumijeva adekvatno apikalno brtvljenje, ali i koronarnu restauraciju s ciljem sprječavanja mikrocurenja. Vo i sur. (105) dokazali su da pet različitih smola za punjenje korijenskih kanala ima veće koronarno curenje od onog apikalnog sa *single cone* tehnikom punjenja. Također, Ng i sur. (106) u svojoj metaanalizi navode da je

stopa uspješnosti i preživljenja zuba koji imaju zadovoljavajuće koronarne restauracije viša od onih s nezadovoljavajućom koronarnom opskrbom.

1.5. Kemijska obrada endodontskog prostora

Ispiranje predstavlja ključni dio uspješnog liječenja korijenskog kanala. Nekoliko je važnih funkcija ispiranja u endodontskom liječenju koje se razlikuju ovisno o tome koja se tekućina za ispiranje rabi (100):

- smanjuje trenje između instrumenta i dentina
- poboljšava reznu učinkovitost instrumenta
- otapa organsko tkivo
- otapa anorganski materijal (debris)
- hladi zubno tkivo i instrument
- ima antimikrobno djelovanje i uklanja biofilm.

Već opisana složena anatomija endodontskog prostora onemogućuje potpuno čišćenje korijenskog kanala pa oko 35 % dentinskog zida još uvijek ostaje prekriveno bakterijskim biofilmom (107, 108). Zbog toga je uporaba antimikrobnih sredstava za ispiranje neophodan dio endodontskog liječenja zuba. Ispiranje je jedini način da se dosegnu područja intrakanalne anatomije korijenskog kanala nedostupna mehaničkoj obradi. Apikalni dio korijenskog kanala predstavlja poseban izazov zbog postavljanja pravog omjera između sigurnosti (potencijalna ekstruzija irigansa u periapikalno tkivo) i učinkovitosti. Ispiranje može spriječiti progurivanje tkiva i debrisa u periapeks te ekstruziju planktonskih mikroorganizama i biofilma (109).

Poželjna svojstva sredstva za ispiranje korijenskih kanala su: dobro ispiranje, lubrikacijsko djelovanje (smanjuje trenje instrumenta tijekom instrumentacije), otapanje anorganskog tkiva (dentin), sposobnost prodiranja u periferne dijelove kanala, otapanje organskog tkiva (kolagen dentina, pulpno tkivo, biofilm), antimikrobno djelovanje te izostanak kaustičnog ili citotoksičnog učinka. Trenutačno se ni jedna dostupna otopina za ispiranje ne može smatrati optimalnom (99).

U kliničkoj praksi uporaba kombinacije različitih irigansa u određenom redoslijedu i vremenskom trajanju pridonosi uspješnosti liječenja korijenskih kanala u najvećoj mogućoj mjeri (110).

1.5.1 Sredstva za ispiranje endodontskog prostora

1.5.1.1 Natrijev hipoklorit

Prema literaturi i znanstvenim istraživanjima, natrijev hipoklorit (NaOCl) najčešće je rabljeno sredstvo za ispiranje korijenskih kanala (111). Razlog tome je, između ostalog, što je jedini dostupni irigans koji otapa organsko tkivo (knjiga irrigation). Nadalje, učinkovito je proteolitičko sredstvo, ima širok antimikrobni spektar koji uključuje bakterije, bakteriofage, spore, gljivice i viruse (112). NaOCl u vodi ionizira na natrijeve (Na^+) i hipokloritne ione (OCl^-) koji su u ravnoteži s hipoklornom kiselinom (HOCl) odgovornom za antimikrobno djelovanje. NaOCl najčešće se koristi kao nepuferirana otopina (pH 11) u različitim koncentracijama (0,6 % – 6 %) ili s bikarbonatnim puferom (pH 9) kao 0,5 %-tna ili 1 %-tna otopina (113).

Njegovo djelovanje temelji se na nekoliko razina (111):

- Saponifikacija: razgrađuje masne kiseline i pretvara ih u soli (sapun) i glicerol (alkohol) smanjujući površinsku napetost preostale otopine.
- Neutralizacija: neutralizira aminokiseline, a kao nusprodukti nastaju voda i soli. Izlaskom hidroksilnih iona, smanjuje se pH.
- Nastanak hipoklorne kiseline: klorin otopljen u vodi, a u kontaktu s organskom matricom tvori hipoklornu kiselinu. To je slaba kiselina (HOCl) koja s ionima hipoklorita (OCl^-) dovodi do hidrolize i raspadanja aminokiselina.
- Otapanje: u reakciji s aminokiselinama, klorin iz NaOCl-a s proteinskom amino-skupinom (NH) tvori kloramin, a oslobađa se i voda kao nusprodukt. Kloramin utječe na stanični metabolizam bakterije jer je klorin snažan oksidant koji inhibira bakterijske enzime ireverzibilnom oksidacijom sulfhidrilne skupine (SH).
- Visoki pH.

NaOCl upotrebljava se u različitim koncentracijama. Dokazano je da je antimikrobno djelovanje NaOCl-a više povezano s volumenom, a manje s koncentracijom uporabljenog sredstva. NaOCl je u mogućnosti odstraniti biofilm i djelovati izravno na bakterije. Ipak, 3 – 6 %-tni NaOCl u potpunosti uklanja biofilm, dok 1 %-tni NaOCl utječe samo na disrupciju biofilma (114). S druge strane, učinkovitost otapanja organskog tkiva u izravnoj je vezi s koncentracijom NaOCl-a. Dubina prodiranja NaOCl-a u dentinske tubuluse ovisi o koncentraciji, vremenu ekspozicije i volumenu, a varira između 77 i 300 μm (115).

Iako je NaOCl još uvijek najpotentniji irigans u endodontskom liječenju, ima određene nedostatke i ograničenja: toksičnost, korozivnost, neučinkovitost u uklanjanju zaostatnog sloja, neugodan miris, moguće kaustično djelovanje na tkiva. Nadalje, može uzrokovati diskoloracije u kombinaciji s drugim irigansima, kao na primjer precipitat para-kloranilina u kontaktu s klorheksidinom. Kada se NaOCl koristi kao završni irigans, može utjecati na adheziju punila za dentin (116).

1.5.1.2. Klorheksidin diglukonat

Klorheksidin je pozitivno nabijena hidrofobna i lipofilna molekula. U interakciji s bakterijama djeluje preko negativno nabijenih fosfolipida i polisaharida na staničnoj membrani i razara integritet cioplazmatske membrane (117). U visokim koncentracijama uzrokuje koagulaciju unutarstaničnih organela (118). Klorheksidin glukonat se, zahvaljujući širokom antimikrobnom spektru djelovanja (119), rabi za dezinfekciju u svim granama dentalne medicine. Ima širok antimikrobni spektar djelovanja te djeluje na gram-pozitivne i negativne bakterije (119). Veže se na tvrda zubna i meka tkiva usne šupljine i ima dugotrajno antimikrobno djelovanje (120). U malim koncentracijama od 0,2 %, klorheksidin djeluje bakteriostatski, a u koncentracijama od 2 % djeluje baktericidno (121). U endodonciji se koristi u koncentraciji od 0,2 – 2 % kao sredstvo za ispiranje ili kao intrakanalni međuposjetni uložak. Učinkovit je protiv *Candida albicans* (122), ali značajno slabije od NaOCl-a (123). Uklanja bakterije koje su prodrle 500 µm unutar dentinskih tubulusa (121). Klorheksidin je pokazao značajno antimikrobno djelovanje na *Actinomyces israelii* (123), *Staphylococcus aureus* kroz pet sekundi, a na *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis* i *Prevotella intermedia* kroz 15 sekundi (124).

Miješanjem klorheksidina s NaOCl-om nastaje smeđi talog, parakloranilin, koji može imati mutageni potencijal i boji zube (125). Nedostaci klorheksidina su nemogućnost utapanja organske tvari, neučinkovitost na zaostatni sloj i minimalni učinak na bakterijski biofilm.

1.5.1.3. Etilendiaminotetraoctena kiselina

Etilendiaminotetraoctena kiselina (EDTA) je kelator, irigans koji uklanja intrakanalni zaostatni sloj otapajući anorganski materijal vežući se za kalcijeve ione. U vremenu djelovanja od pet minuta deminera dentin do dubine 20 – 30 μm . Osim toga, koristi se i kao lubrikacijsko sredstvo tijekom mehaničke instrumentacije te kod uskih obliteriranih korijenskih kanala. Najčešće upotrebljavana koncentracija je 17 % (pH 7) iako istraživanja ne pokazuju razliku u učinkovitosti pri višim i nižim koncentracijama (10 %, 5 % i 1 %). U sklopu završnog protokola ispiranja, EDTA se u korijenskom kanalu ostavlja jednu do tri minute. Interakcijom s NaOCl može inhibirati njegovo djelovanje. EDTA može uzrokovati oštećenje staničnog zida gram-negativnih bakterija uklanjanjem dvovalentnih kationa (Mg^{2+} i Ca^{2+}) i povećati propusnost stanične membrane. Ipak EDTA nema značajno antibakterijsko djelovanje. (126, 127)

1.5.1.4. Limunska kiselina

Limunska kiselina također se koristi za uklanjanje zaostatnog sloja. U koncentracijama od 10 do 50 %, otapa anorganski materijal. Limunska kiselina potentniji je kelator od EDTA-e te je stoga potreban oprez kod kombinacije limunske kiseline i NaOCl-a. Nakon što limunska kiselina ukloni anorganski sloj, ispiranje NaOCl-om može dovesti do prekomjernog otapanja kolagenih vlakana i oštećenja dentina. (111)

1.5.1.5. Kombinirana sredstva za ispiranje

Površinska napetost sredstava koja se koriste za irigaciju u endodonciji, otežava prodiranje u nepristupačna područja intrakanalne anatomije. Zbog toga su se na tržištu pojavili kombinirani preparati u kojima je dodana aktivna tvar koja smanjuje površinsku napetost i povećava vlažnost sredstava za ispiranje (111).

QMIX je kombinirani preparat za ispiranje korijenskih kanala koji je prisutan na tržištu od 2011 godine. Koristi se za završno ispiranje, nakon upotrebe NaOCl-a. QMiX je namijenjen za istovremeno uklanjanje zaostatnog sloja i antimikrobno djelovanje. QMiX sadrži analog klorheksidin glukonata, triklosan, i EDTA kao dekalificirajući agent. Stoga se preporučuje ispiranje fiziološkom otopinom nakon standardne kemomehaničke obrade, a tek potom QMIX otopina kako bi se izbjegla formacija PCA-e (smeđi precipitati kao rezultat interakcije CHX-a i NaOCl-a). Nakon QMiX-a na tržištu, istraživanja su pokazala da najveću antimikrobnu učinkovitost ima uporaba više postotnog NaOCl-a (2 – 6 %) i QMIX-a, dok zasebna uporaba pojedinih irigansa, kao i uporaba kombinacije QMIX-a s nižim postotkom NaOCl-a (1 %), ima lošiji učinak na bakterijski biofilm. (128, 129)

Torabinejad i Johnson kreirali su MTAD 2003. godine (90knjiga). MTAD se sastoji od vodene otopine 3 %-tnog doksiciklina, 4,25 %-tne limunske kiseline kao demineralizirajućeg agenta i 0,5 %-tnog polisorbat 80 deterdženta (Tween 80). MTAD sadrži 150mg/5ml tetraciklinskog antibiotika širokog spektra, doksiciklina. Za razliku od MTAD-a, Tetraclean je vrlo sličnog sastava, međutim, sadržaj doksiciklina je 50mg/5ml, a deterdžent je polipropilen glikol. Preporučuje se kao završni irigans nakon standardne kemomehaničke obrade korijenskog kanala. Ranija istraživanja pokazala su zadovoljavajući antimikrobni učinak MTAD-a (130). Ipak, novija istraživanja pokazuju jednaku ili veću učinkovitost kombinacije EDTA/NaOCl od NaOCl/MTAD-a (131, 132). Potencijalna problematika MTAD-a je razvoj bakterijske rezistencije na antibiotik i obojenje zuba tetraciklinom (133).

1.5.2. Tehnike ispiranja endodontskog prostora

1.5.2.1. Konvencionalno pasivno ispiranje iglom i špricom

Konvencionalno ispiranje još je uvijek najčešća tehnika ispiranja kod koje se koriste šprica i igla. Šprica napunjena irigansom, u kanal se unosi pomoću igle. I šprice i igle različitih su veličina i oblika: šprice volumena od jednog do pet ml zbog bolje kontrole. Igle moraju biti manjeg promjera, 30G (0,31 mm) i 31G (0,25 mm) i imaju jedan otvor na samom vrhu ili bočne otvore sa zatvorenim vrhom, što sprječava protiskivanje sredstva za ispiranje u periapikalno područje. Prednost konvencionalnog ispiranja je dobra kontrola položaja igle u korijenskom kanalu i količine sredstva za ispiranje koje se deponira. Međutim, nedostatak ove tehnike je slabo djelovanje sredstva za ispiranje u apikalnoj trećini korijenskog kanala, gdje zaostaje značajna količina debrisa i bakterijskog biofilma. Posljedica je to nedovoljne izmjene tekućine u korijenskom kanalu jer se irigans najčešće deponira maksimalno od jednog do dva mm od vrha igle, a irigans zbog velike površinske napetosti ne može dospjeti do apikalne trećine kanala (111).

1.5.2.2. Aktivacijske tehnike ispiranja endodontskog prostora

Sredstva za ispiranje inaktiviraju se interakcijom s biofilmom i dentinom te se u modernoj stomatologiji postavlja uvjet stalnog protoka svježeg irigansa koji će doskočiti u prethodnim poglavljima opisanim ograničenjima kemijske obrade kanala, poboljšati prodor irigansa, njegova kemijska svojstva i pomoći mehaničkom odlamanje bakterijskog biofilma. (102)

1.5.2.2.1. Aktivno ručno ispiranje (engl. manual dynamic activation)

Aktivno ručno ispiranje može se izvoditi uz uporabu ručnih endodontskih instrumenta (iglica) ili gutaperka štapića manjeg koniciteta od koniciteta kanala. Tijekom instrumentacije, ponavljano provjeravanje prohodnosti kanala pomaže razlomiti mjehuriće plina, tzv. *vapor lock effect*, i omogućava pomak svježeg irigansa u apikalnu trećinu kanala. Kratkim vertikalnim pomacima odabranog instrumenta ili gutaperka štapića za ručnu aktivaciju, irigans je aktivira, što je ključno za distribuciju i izmjenu irigansa unutar kanala. Preporučuje se provoditi ovaj postupak u trajanju od jedne minute u sklopu završnog ispiranja kanala. (111)

1.5.2.2.2. Zvučno aktivirano ispiranje

Zvučni uređaji za aktivaciju irigansa osciliraju na frekvenciji 20 – 20 000 Hz stvarajući u korijenskom kanalu velike izmjene tlakova i tzv. hidrodinamski učinak. Nastali udarni valovi i mikrostrujanja osiguravaju bolji prodor irigansa u složenom intrakanlnom sustavu, mehaničko lomljenje bakterijskih biofilмова i uklanjanje zaostatnog sloja. Na tržištu postoji nekoliko uređaja za zvučno aktivacijsko ispiranje. (111)

EndoActivator (DentsplySirona, New York, SAD) je uređaj za zvučno aktivacijsko ispiranje kojeg pokreće baterija. Osciliraju polimerni nastavci u tri moguće veličine: 15/.02, 25/.04, 35/.04. Nastavak se tijekom rada postavlja dva mm od radne duljine te se pomiče vertikalnim kretnjama (gore – dolje). Sustav može raditi pri tri brzine: 10 000, 6000 i 2000 ciklusa u minuti (cpm), a za uklanjanje biofilma najučinkovitijom se pokazala najveća brzina (134). Pregledna studija Susila i sur. (135) potvrdila je učinkovitost aktivacijskih metoda u čišćenju i dezinfekciji endodontskog prostora.

EDDY® (VDW, München, Njemačka) je uređaj za zvučnu aktivaciju irigansa kod kojeg nastavci osciliraju visokom frekvencijom do 6000 Hz. Nastavci su dostupni u univerzalnoj veličini. Vibracije se prenose na mekani poliamidni nastavak, koji se, zahvaljujući posebnim svojstvima materijala, pokreće u oscilirajućoj kretnji. Ovakav trodimenzionalni pokret pokreće kavitaciju i akustično strujanje koje povećava učinkovitost čišćenja endodontskog prostora (136).

Rezultati najnovijih istraživanja pokazuju značajno bolje rezultate nakon uporabe uređaja Eddy nego nakon Endoactivatora. Štoviše, pariraju čak i sofisticiranijim metodama aktivacije. Swimberghe i sur. (90) u svom ispitivanju iz 2021. godine pokazali su sličnu, veoma visoku učinkovitost uklanjanja hidrogela iz zavijenih kanala aktivacijom uređajem Eddy (redukcija 99,4 %) i LAI (96,8), dok aktivacija Endoactivatorom (redukcija 57,2 %) pokazuje rezultate gotovo istovjetne standardnom ispiranju iglom i špricom (redukcija 53,8 %) (88). Takve rezultate potvrdila su i druga novija istraživanja (137, 138.).

1.5.2.2.3. Ultrazvučno aktivirano ispiranje

Ultrazvučno aktivirano ispiranje (UAI) temelji se na prijenosu ultrazvučne energije titrajućeg instrumenta ili glatkog nastavka (25 – 32 kHz) na sredstvo za ispiranje u korijenskom kanalu (139). Kada se ultrazvučni val projicira u tekućinu, stvara se negativni tlak i uzrokuje pucanje tekućine, poznato kao kavitacijski učinak. Kavitacija stvara mjehuriće koji osciliraju u projiciranim ultrazvučnim valovima. Mjehurići daljnjim dotjecanjem energije rastu, postaju nestabilni i potom kolabiraju. Implozija proizvodi udarne valove 25 do 30 tisuća puta u minuti (25 – 30 kHz). Dosežu se temperature od 5000 °C, tlak od 500 atmosfera, a valovi generirani implozijom putuju brzinom većom od 800 km/h (engl. *500 mph*), što se naziva akustičnim strujanjem (111).

Tijekom UAI-a je potrebno osigurati slobodno titranje nastavka u korijenskom kanalu jer će u suprotnome zvučna mikrostrujanja biti manja (140). Postoje dva tipa kavitacija: stabilne kavitacije i prolazne kavitacije (141). Stabilne kavitacije su linearne pulsacije mjehurića zraka u ultrazvučnom polju male amplitude, a pojave se kada nastavak dotiče zid kanala. Prolazne kavitacije nastaju pod utjecajem visokih energetske pulsacije kada nastavak slobodno vibrira u kanalu ili lagano dotiče zid kanala (141).

UAI se može koristiti u sklopu završnog protokola ispiranja, najčešće u kombinaciji s NaOCl-om (142). Fizikalni mehanizam djelovanja na bakterijski biofilm u korijenskom kanalu još uvijek nije poznat, međutim, dokazano je da kavitacije mogu razlomiti i mehanički ukloniti biofilm (143). Koriste se nastavci veličine ISO 15 ili 20, a različitih su dizajna poput *k-filea*, *r-filea* ili *spredera*. Pokretanje tekućine i čišćenje ekstendira 3 mm od vrha nastavka pa je nastavak potrebno odmaknuti 3 mm od apikalnog otvora (111).

1.5.2.2.4. *RinsEndo*

RinsEndo (Dürr Dental, Bittigheim-Bissingen, Njemačka) jest sustav za aktivno ispiranje temeljen na hidrodinamskom tlaku, na principu potiskivanja i povlačenja tekućine. Irigans unutar sistema titra frekvencijom 1,6 Hz, a 65 µl tekućine izbacuje se u korijenski kanal preko kanile. Neposredno zatim, ista količina tekućine i zrak povlače se iz intrakanalnog sustava, miješaju se s novom količinom irigansa i ciklus se ponavlja. Ciklusi se izmjenjuju 100 puta u minuti. Kanila se postavlja u korijenski kanal dok ne dođe u kontakt s intrakanalnim dentinom. (127)

1.5.2.2.5. *Endo Vac sustav*

Sistemi negativnog tlaka pasivno dostavljaju tekućinu u apikalnu trećinu kanala te je potom povlače iz kanala. Endo Vac, *Sybronendo*, (Kerr Dental, Detroit, Michigan, SAD) sustav sastoji se od glavnog nastavka na kojem je igla veličine 20G s jedne strane, a s druge se strane spaja na špricu s irigansom te se preko nje irigans dostavlja u pulpnu komoricu. Drugi se nastavak spaja na sukciju stomatološke jedinice koja skuplja višak irigansa u pulpnoj komori. Makro i mikrokanila (za apikalnu trećinu) dostavljaju irigans u korijenski kanal metodom negativnog tlaka. Hockett i sur.(144) su dokazali superiornost ove metode u uklanjanju *E. faecalis* biofilma nad standardnim tehnikama ispiranja.

1.5.2.2.6. *Sustav kontinuirane instrumentacije i ispiranja*

Na tržištu postoji jedinstveni uređaj koji istovremeno instrumentira i ispire kanal. Riječ je o tzv. *Self Adjusting File* sustavu (SAF) (ReDent Nova, Berlin, Njemačka). Instrument je dizajniran kao prazna cijev čiji su zidovi izrađeni od nikal titanske mreže, a sam vrh je asimetrično položen. Instrument može mijenjati izgled jer je veoma fleksibilan i kompresivan pa tako instrument promjera 1,5 mm može biti smješten u kanal promjera samo 0,2 mm. Tako komprimiran instrument ne može se rotirati pa su pomaci unutra – van minimalni, amplitude 0,4 mm. Instrument se montira na poseban nastavak motora, odnosno RDT glavu kolječnika. Ako instrument nije u dodiru s intrakanalnim dentinom, prisutni su polagani pokreti rotacije. S obzirom na činjenicu da su, tijekom klasične mehaničke obrade kanala, instrumenti okruglog presjeka i na taj način oblikuju kanal, prednost SAF-a je što omogućava učinkovito čišćenje ovalnih kanala. (111)

1.5.2.2.7. Instrument XP-endo Finisher

Nedavno je predstavljen novi instrument, XP-endo Finisher R (FKG, La Chaux-de-Fonds, Švicarska) koji je dizajniran posebno za optimizaciju čišćenja tijekom revizije endodontskog liječenja. Iako nije primarno instrument za aktivirano ispiranje, najnovije studije pokazuju učinkovitost instrumenta upravo u tom koraku endodontskog liječenja. Ima neradni vrh veličine ISO 30, a inovativnost mu se temelji na novoj tehnologiji legure koja se širi na tjelesnoj temperaturi poprimajući oblik žlice u nekoliko apikalnih milimetara. U rotacijskoj je kretnji instrument komprimiran, a kao rezultat toga njegov se vrh izboči i ostruže stijenke kanala, a prema koronarno istiskuje zaostali materijal za punjenje nakon konvencionalnih tehnika instrumentacije. Štoviše, instrument osigurava kontinuiranu agitaciju sredstva za ispiranje. (145) Nedavna studija (Silva i sur.) (146) pokazuje da su instrumenti XP-endo Finisher R značajno uklonili ostatke materijala za punjenje iz endodontskog prostora. Instrument se unosi u kanal i tek potom aktivira (1000 o/min i 1 Ncm) uz polagane i nježne uzdužne pomake amplitude 7 – 8 mm do radne duljine u trajanju od 30 s. Instrument je pritisnut na stijenke intrakanalnog dentina, a postupak se ponavlja dva puta. De Deus (147) je iznio rezultate istraživanja u kojima Xp pokazuje bolje rezultate u uklanjanju ostataka punila nakon revizije, što objašnjava slitinom od koje je instrument načinjen. Nakon njegove ekspanzije unutar prostora kanala, ovaj instrument može svojim poluaktivnim vrhom abradirati stijenke dentina. Ovo mehaničko djelovanje omogućava vrhu instrumenta istrugivanje materijala sa stijenki kanala, čak i na nekim teško dostupnim područjima, a sastrugani se ostaci potom lako mogu ukloniti tijekom ispiranja kanala.

1.6. Primjena lasera u endodontskom liječenju zuba

U endodontskom liječenju koriste se Nd:YAG laser, diodni laser, argon laser, Er:YAG, Er:YSGG laser. Laserske zrake prodiru preko 1000 μm u dubinu dentinskih tubulusa, što doskače problemu naseljavanja bakterija u dentinskim tubulusima do 1100 μm u dubinu (148). Za usporedbu, sredstva za ispiranje bez aktivacije prodiru samo 100 μm u dentinske tubuluse (149). Baktericidno djelovanje određuju parametri lasera: valna duljina lasera, energija i gustoća snage te vrijeme ekspozicije, točnije, koriste se laseri čije valne duljine zračenja prodiru kroz dentinsko tkivo, odnosno kroz hidroksiapatit i vodu. Primjerice, za djelovanje na dentinu koriste se laseri čije zrake se apsorbiraju u dentinu (Nd:YAG), a za aktivaciju sredstva za ispiranje koriste se laseri čije zrake se apsorbiraju u vodi koja je glavna sastavnica sredstava za ispiranje i time se energija prenosi na sredstvo za ispiranje (Er:YAG) (127).

1.6.1. Nd:YAG laser

Laser Nd:YAG ima kruti aktivni medij, kristal itrij-aluminij-garnet s dodatkom neodimija. Njegova valna duljina (1064 nm) spada u infracrveni spektar elektromagnetskog zračenja i apsorbira se u melaninu i pigmentiranom tkivu. Zbog toga će se 95 % zračenja apsorbirati u tvrdom zubnom tkivu s karijesnom lezijom, a 60 % u mekom tkivu (150), dok će se u zdravom dentinu apsorbirati samo 30 % zračenja. Sredinom 1990-ih su Hardee i sur. (151) i Rooney i sur. (152) proveli istraživanja o antibakterijskom djelovanju lasera Nd:YAG dokazavši značajan antibakterijski potencijal lasera Nd:YAG u korijenskom kanalu. Moritz i sur. (153) dokazali su baktericidni učinak pulsnog lasera Nd:YAG (1 W, 1,5 W) u dubini dentina od 1 mm sa značajnom redukcijom broja bakterija akcesornoj anatomiji intrakanalnog sustava. Laser Nd:YAG ima visoko selektivno djeluje na gram-negativne bakterije, a porast temperature je kontroliran zbog malog postotka apsorbirane energije u dentinu. Međutim, u nekim istraživanjima antimikrobni učinak lasera Nd:YAG nije pokazao bolju učinkovitost od ispiranja NaOCl-om (154, 155).

1.6.2. Diodni laseri

Valna duljina lasera ovisi o tome koji je materijal rabljen kao poluvodič, a u medicinske svrhe koriste se diodni laseri u rasponu od 650 do 980 nm (156). Najčešći poluvodički materijal rabljen kao aktivni material je galijev arsenid (GaAs).

Fleksibilno optičko vlakno promjera 200 do 600 μm sredstvo je prijenosa laserske zrake do tretiranog područja emisijom PW (pulsni rad) ili CW (kontinuirani rad). Voda apsorbira valne duljine diodnog lasera, ali i druge kromofore, kao što su melanin i oksihemoglobin, što omogućava diodnom laseru što omogućuje uporabu ovog lasera u različitim područjima dentalne medicine. Valna duljina diodnog lasera prodire 750 μm unutar dentinskih tubulusa. Mikrobiološka istraživanja dokazala su potentno antibakterijsko djelovanje diodnog lasera u korijenskom kanalu. Antibakterijsko djelovanje diodnog lasera, kao i lasera Nd:YAG, temelji se na fototermalnom učinku (156, 157, 158). Gutknecht i sur. (159) postigli su 99,91 %-tnu redukciju bakterija nakon zračenja diodnim laserom.

Fotoaktivirana dezinfekcija (engl. *photoactivated disinfection*, PAD) ili antimikrobna fotodinamska terapija (engl. *antimicrobial photodynamic therapy*, aPDT) jest laserski inducirana fotokemijska dezinfekcija ili sterilizacija tvrdih i mekih tkiva koja se temelji na primjeni fotosenzitivnog sredstva koje se zatim ozračuje laserskim svjetlom određene snage uništavajući tako mikroorganizme. Laseri koji se koriste u PAD-u imaju valnu duljinu crvenog područja vidljivog spektra elektromagnetskog zračenja. To su galij-aluminij-arsenid-diodni laser ($\lambda = 633 - 635 \text{ nm}$ ili $\lambda = 660 - 670 \text{ nm}$) i helij-neonski laser ($\lambda = 632,8 \text{ nm}$). (160)

Na obojane bakterije (toluidin, metilensko modriilo) djeluje diodni laser odgovarajuće valne duljine prilikom čega nastaje pobuđeno stanje molekula kisika, singlet kisik, a koja velikom količinom energije uzrokuje oksidaciju proteina stanične membrane i DNA. (161, 162, 163).

1.6.3. Erbij laseri

Laser Er,Cr:YSGG (2790 nm) ima aktivni medij kristal itrij-skandij-galij-garnet s dodatkom erbija i kromija koji sudjeluju u nastanku laserske zrake. Aktivni medij lasera Er:YAG (2940 nm) jest itrij-aluminij-garnet s dodatkom erbija. Njihove valne duljine spadaju u infracrveni spektar elektromagnetskog zračenja. Dobro se apsorbiraju u vodi i hidroksilnim ionima hidroksiapatita zbog čega imaju površinsko djelovanje i baktericidni učinak zadržavaju do 300 – 400 µm u dentinskim tubulusima. Uspješno uklanjaju organsko tkivo i zaostatni sloj. (164) Posljednjih godina aktualno je ispitivanje najnovijih modaliteta lasera Er:YAG u aktivaciji sredstva za ispiranje unutar korijenskog kanala.

1.6.3.1. *Primjena erbij lasera u dezinfekciji endodontskog prostora*

Posljednjih godina sve se više ispituje uloga lasera u aktivaciji sredstva za ispiranje (LAI, engl. *laser-activated irrigation*), a potom i njihovo uvođenje u kliničku praksu. LAI spada u grupu neizravnog djelovanja, tj. aktivacije sredstva za ispiranje. Kako bi došlo do aktivacije, potrebno je osigurati da uporabljeni laser emitira zraku valne duljine koju sredstvo za ispiranje može apsorbirati. U tu svrhu koriste se erbij laseri (Slika 3) srednje infracrvenog spektra, valnih duljina 2940 i 2780 nm koje se jedine apsorbiraju u vodi kao glavnoj komponenti sredstava za irigaciju u endodonciji, natrijev hipoklorit (NaOCl) i etilendiaminotetraoctena kiselina (EDTA) (165).



Slika 3. Er:YAG laser pripremljen za dezinfekciju endodontskog prostora

1.6.3.2. *Mehanizam djelovanja erbij lasera u korijenskom kanalu*

Postoje dva osnovna principa djelovanja lasera u korijenskom kanalu: izravni utjecaj laserske zrake na zidove korijenskog kanala te neizravno djelovanje aktiviranjem fotoaktivne tvari ili sredstva za ispiranje (102). Laseri u korijenskom kanalu mogu imati različite učinke ovisno o postavljenim fizikalnim parametrima lasera (snaga, energija, frekvencija) i sredstvu koje se u kanalu aktivira (101, 102, 166):

1. Fototermički učinak erbij lasera u korijenskom kanalu nastaje izravnim djelovanjem lasera na dentinski zid korijenskog kanala (50 – 100 mJ). Na ovaj način djeluju diodni laseri i laseri Nd:YAG u korijenskom kanalu. Dezinfekcija kanala diodnim laserom i laserom Nd:YAG rezultat je isključivo termičkog djelovanja na bakterije.
2. Fotoakustični i fotomehanički učinak nastaje aktivacijom sredstva za ispiranje laserskom zrakom nižih subablativnih energija (50 – 100 mJ) i kratkim laserskim pulsovima. Smanjeni termalni učinak dobiva se aktivacijom sredstva za ispiranje laserskom zrakom nižih energija (20 – 50 mJ) i kratkim pulsovima.
3. Fotokemijski učinak nastaje prilikom aktivacije kemijskog sredstva (boje) niskim energijama lasera valnih duljina iz vidljivog spektra elektromagnetskog zračenja (660 nm). Tada govorimo o fotoaktiviranoj dezinfekciji (engl. *photo-activated disinfection*, PAD), odnosno fotodinamskoj terapiji (engl. *photodynamic therapy*, PDT).

1.7. Laserski aktivirano ispiranje korijenskih kanala

Djelovanje LAI-a je rezultat fototermičkog, fotomehaničkog i fotoakustičnog učinka erbij lasera (101). Apsorpcija energije laserske zrake erbij lasera (167, 168) aktivira sredstvo za ispiranje čiji je glavni sastojak voda. Naime, pulsno zračenje lasera emitirano u sredstvo za ispiranje unutar kanala, uzrokuje da tanak sloj (2 – 10 μm) tekućine neposredno uz lasersku zraku apsorbira fotone, pregrijava se i isparava (fotothermalni učinak). Tako u jednoj mikrosekundi unutar sredstva za ispiranje nastaju kavitacije (mjehurići pare visokog tlaka). Daljnji pulsevi laserske energije uzrokuju ekspanziju nastalog mjehurića. Širenje mjehurića omogućava daljnji prodor laserske zrake i isparavanje tekućine uz njegovu površinu. Nakon završetka laserskog pulsa počinje hlađenje mjehurića što uzrokuje kolaps mjehurića, imploziju. Dok mjehurići kolabiraju, oslobađa se energija u obliku tlačnih šok-valova (fotoakustični učinak). Nastali šok-valovi putuju zvučnom i ultrazvučnom brzinom. Takvo brzo strujanje uzrokuje smično naprezanje uz stijenku kanala i posljedično uklanjanje zaostatnog sloja i biofilma. Nakon kolapsa mjehurića, zbog naglih tlačnih promjena dolazi do stvaranja novog mjehurića, odnosno do tzv. sekundarnog kavitacijskog učinka, specifičnog za LAI (169, 170).

1.7.1. Foton inicirajuće fotoakustično strujanje

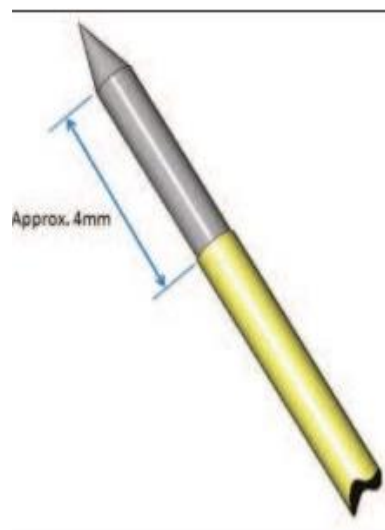
Ranije opisan općeniti princip djelovanja LAI-a rabi se i u tehnici foton inicirajućeg fotoakustičnog strujanja, (engl. *photon induced photoacoustic streaming*, PIPS) pomoću lasera Er:YAG. Međutim, za razliku od standardnog LAI-a, PIPS koristi jako male energije pulsa (oko 20 mJ) uzrokujući isključivo fotomehaničko i fotoakustično djelovanje bez značajnog termičkog djelovanja. Fiberoptički nastavak postavlja se u trepanacijski otvor zuba (Slika 4) na ulazu u korijenski kanal, a ne unutar kanala kao kod tradicionalnog LAI-a (102, 168). Time je laserska tehnika ispiranja pojednostavljena jer nije potrebno postavljanje laserskog nastavka blizu apikalnog foramena.

Parametri lasera koji se rabe u PIPS tehnici su: energija 20 mJ, frekvencija 15Hz, snaga 0,3 W i trajanje pulsa 50 μs . Ciklusi aktivacije traju 30 sekundi, s obveznom stankom između svakog ciklusa u trajanju od 30 sekundi i aspiracijom zaostalog potrošenog sredstva za ispiranje. Ciklus se može ponavljati dva do tri puta ovisno o kliničkom protokolu, pri čemu se depo irigansa neprestano obnavlja ušpricavanjem unutar pulpne komore / trepanacijskog otvora.

Za tehniku PIPS rabe se i posebni laserski nastavci, tzv. *stripped laser tips* (Slika 5).



Slika 4. Laserski nastavak postavljen unutar trepanacijskog otvora u svrhu aktivacije tekućine za ispiranje



Slika 5. Shematski prikaz radijalnog „*Stripped*“ laserskog nastavka
(Slika preuzeta iz 171)

1.7.2. SWEEPS laserski aktivirano ispiranje korijenskih kanala

Godine 2017. razvijena je SWEEPS (engl. *Shock Wave Enhanced Emission Photoacoustic Streaming*, emisija fotoakustičnog strujanja pojačana udarnim valovima) tehnika ispiranja kanala koja se temelji na *Adaptive Structured Pulse* (ASP) tehnologiji lasera Er:YAG.

Tehnika SWEEPS je modifikacija PIPS-a, u svrhu rješavanja problema ograničene učinkovitosti u uskim korijenskim kanalima (172, 173). Naime, unutar korijenskog kanala zbog trenja na zidovima kanala i uskog prostora koji otežava strujanje irigansa, usporava se i dinamika mjehurića nastalog u tekućini za irigaciju nakon apsorpcije laserskog pulsa. Očekivani kolaps nastalog mjehurića u takvim uvjetima nije dovoljno intenzivan da bi se implozijom mjehurića oslobodila energija i nastali učinkoviti udarni šok-valovi (172) koji potom prenose oslobođenu energiju na irigans u korijenskom kanalu. Modifikacija koja tehniku SWEEPS (engl. *Shock Wave Enhanced Emission Photoacoustic Streaming*) razlikuje od tehnike PIPS temelji se na pojačanju šok-valova emitiranjem dodatnog, sekundarnog pulsa prije kolapsa inicijalnog mjehurića. Dodatni puls emitira se s ciljem ubrzanja kolapsa inicijalnih i sekundarnih mjehurića, a kao rezultat nastaje velik broj šok-valova duž cijelog kanala i učinkovitije čišćenje endodontskog prostora (172). Naime, dodatni puls emitira se kad je inicijalni mjehurić u završnoj fazi kolabiranja. Rast novonastalog mjehurića povećava pritisak na inicijalni mjehurić ubrzavajući njegov kolaps, a posljedično i kolaps sekundarnog mjehurića, što zajednički rezultira emisijom primarnih i sekundarnih šok-valova (173). Oslobođanje energije i šok-valovi nastali iz primarnog mjehurića dovode do bržeg strujanja irigansa u kanalu i njegova dubljeg prodiranja unutar korijenskog kanala. Sekundarni pak mjehurići kolabiraju u neposrednoj blizini stijenki intrakanalnog dentina, a šok-valovi koji tako nastaju do površine dentina ne gube energiju i djeluju na stijenke u punoj brzini (174).

Trajanje oscilirajućeg razdoblja mjehurića i njegov kolaps ovise o promjeru prostora u kojem se dinamika mjehurića odvija (174). U endodonciji su to trepanacijski otvor i korijenski kanal, čija je dimenzija promjenjiv parametar ovisno samom zubu, anatomiji korijenskog kanala i tipu trepanacijskog otvora. Lukač i sur. (174) dokazali su postojanje negativne korelacije između promjera kanala i optimalnog separacijskog vremena između primarnog i sekundarnog pulsa. Naime, pokazali su kako u užim kanalima separacijsko vrijeme između dva pulsa treba biti veće, dok u kanalima većeg promjera, kako bi amplifikacija udarnih šok-valova bila učinkovita, ono mora biti niže (174). Zato se, tijekom emisije laserskog zračenja u AutoSWEEPS modalitetu, neprestano mijenja vremenski razmak između primarnog i

sekundarnog pulsa, a mijenja se od 300 do 650 μs u koracima od po deset mikrosekundi kako bi se unutar svake anatomije i promjera kanala osiguralo postojanje vremenskog raspona u kojem su vremenski razmaci između dva pulsa približni optimalnom (FWHM = 50 μs), a udarni šok-valovi dovoljno učinkoviti (172).

Učinak lasera dobiven tehnikom SWEEPS jest fototermalni, a koji posljedično dovodi do fotoakustičnog i fotomehaničkog učinka. Navedeni učinci dobivaju se uporabom laserskih zraka srednjih infracrvenih valnih duljina, no termički učinak smanjen je uporabom veoma kratkih pulsova (50 μs) i smanjenjem same energije laserske zrake na 20 mJ. Radi se o subablativnoj razini energije koja gotovo potpuno isključuje negativan termički i ablativni učinak laserske zrake na dentin (101, 169, 175). Snaga zrake je 0,6 W. Klinički protokol istovjetan je onom PIPS modaliteta.

Prema dosadašnjim istraživanjima, prednosti laserske, a potom i SWEEPS aktivacijske tehnike u kliničkom radu su:

- superiorna aktivacija kemijskog sredstva (176, 177)
- fizička disrupcija biofilma i destrukcija bakterijske stanice (178)
- redukcija bakterija i aktivacija NaOCl-a već prije same instrumentacije s obzirom na pozicioniranje fiberoptičkog nastavka u kavum te sprječavanja periapikalnog proguravanja pulpe i inficiranog sadržaja (175)
- bolji protok irigansa u uskim kanalima (175)
- istovremeni protok irigansa u više kanala, ponovno zahvaljujući pozicioniranju fiberoptičkog nastavka (175).

1.7.2.1. *Erbij laserski nastavci za SWEEPS tehniku*

Za tehniku SWEEPS na tržištu postoje dva dizajna laserskog nastavka koji se mogu koristiti, nastavak ravnog vrha (Slika 6) i radijalni nastavak (konični oblik na samom vrhu nastavka) (Slika 7). Razlika između ovih nastavaka je u načinu prijenosa energije i dinamici stvaranja mjehurića (179).

Vrh ravnog nastavka sekundarnim mjehurićem „tjera“ primarni mjehurić dublje u kanal, čime se potencijalno poboljšava učinak ispiranja dubljih dijelova unutar kanala. Ovaj je učinak manje izražen kada se rabi radijalni nastavak (180). Međutim, radijalni nastavak uzrokuje stvaranje višeg unutarnjeg tlaka na stijenkama dentina. No kod promjera ravnog nastavka jednakog ili manjeg od 400 μm , oba nastavka pokazuju sličan učinak (179).



Slika 6. Ravni laserski nastavak nastavak za Er:YAG laserski aktivirano ispiranje promjera 400 μm , duljine 12 mm (Fotona, Ljubljana, Slovenija)



Slika 7. Različit dizajn laserskih nastavaka za Er:YAG lasersku aktivaciju irigansa uz korištenje SWEEPS modaliteta (Fotona, Ljubljana, Slovenija): radijalni nastavak promjera 400 μm , duljine 12 mm; radijalni nastavak promjer promjera 600 μm , duljine 9mm.

1.8. Revizija endodontskog liječenja

Revizija endodontskog liječenja provodi se kod neuspješnog primarnog endodontskog liječenja. Revizija je indicirana u slučajevima neadekvatno punjenih korijenskih kanala s radiološkim nalazom perzistirajućeg periapikalnog procesa i kliničkim simptomima. Revizijom se, koliko je to najviše moguće, mehaničkom i kemijskom obradom uklanjaju materijal za punjenje i mikroorganizmi iz složene anatomije endodontskog prostora i pripremaju se korijenski kanali za ponovnu obturaciju (181).

1.8.1. Učinkovitost revizije endodontskog liječenja

Zanimanje za istraživanja o reviziji korijenskih kanala raste tijekom posljednjih desetljeća kako bi se poboljšala uspješnost njezine izvedbe. Revizija je opcija u slučajevima neuspješnog inicijalnog endodontskog liječenja. Protokol se sastoji od uklanjanja punjenja korijenskog kanala, protokola ispiranja i dezinfekcije te ponovnog punjenja endodontskog prostora (182). Prema kliničkim istraživanjima, uspješnost revizije je između 45 i 83 % (10, 106, 183) Jedan od problema postupka revizije je ograničeno i otežano uklanjanje materijala za punjenje korijenskog kanala, bez obzira na vrstu punila i rabljenu tehniku revizije (184). Neka istraživanja pokazuju da zaostali materijal za punjenje u zakrivljenim kanalima varira od 10 % u koronarnom do 90 % materijala u apikalnoj trećini korijenskog kanala bez značajne razlike među različitim tehnikama revizije (185, 186, 187). Srednji volumen preostalog materijala za punjenje veći je nakon punjenja tehnikom kondenzacije kontinuiranog vala nego nakon tehnike hladne lateralne kondenzacije (187). Ostaci punjenja korijenskog kanala mogu biti inficirani i mogu štiti bakterijski biofilm unutar složenog intrakanalnog područja, ograničavajući potpuno mehaničko čišćenje i smanjujući učinkovitost kemijske dezinfekcije (188), osobito u složenoj anatomiji zavijenih korijenskih kanala. Stoga su potrebne dodatne tehnike za poboljšanje čišćenja korijenskog kanala.

1.8.2. Materijali za punjenje korijenskog kanala i njihovo uklanjanje iz kanala

Materijal za punjenje služe za obturaciju glavnog korijenskog kanala (od koronarnog dijela do apikalnog otvor), a po mogućnosti i akcesorne i lateralne kanale kako bi se spriječila reinfekciju endodontskog prostora (189).

Materijal za punjenje trebao bi imati sljedeće karakteristike (7):

- jednostavno rukovanje
- brtvljenje apikalnog dijela korijenskog kanala i lateralnih kanala
- stabilnost volumena materijala nakon unošenja u korijenski kanal
- otpornost na vlagu
- baktericidno i bakteriostatsko djelovanje
- dobra vidljivost na rentgenu (radiokontrastnost)
- ne uzrokovati obojenja zubnih struktura
- ne bi smio uzrokovati iritaciju periapiksa
- sterilnost ili mogućnost sterilizacije
- mogućnost jednostavne revizije.

Zbog lakše manipulacije i unošenja u korijenski kanal, materijali za punjenje trebali bi imati mogućnost adhezije na stijenke intrakanalnog dentina te se polako stvrđjavati. Ni jedan materijal na tržištu ne zadovoljava u potpunosti svim navedenim kriterijima. Iako su se kroz povijest na tržištu pojavljivali različiti materijali za punjenje, danas se za punjenje korijenskih kanala najčešće rabi gutaperka obložena punilima temeljenima na smoli i biokeramici i bioaktivni materijali bez gutaperke kao nosača.

1.8.2.1. Gutaperka

Gutaperka je termoplastični materijal uveden u kliničku praksu prije 160 godina dobiven koagulacijom mliječnog soka egzotičnog drveta *Isonandra guttae*. Gutaperka je izomer kaučuka i postoji u dva kristalična oblika (α i β gutaperka) te amorfnom obliku (189, 134). Gutaperka u α -fazi koristi se pri suvremenim termoplastičnim postupcima punjenja korijenskih kanala dok su u β -fazi rafinirani kolčići gutaperke koji zagrijavanjem na temperaturu od 41 do 49 °C prelaze u α -fazu. Zagrijavanjem na temperaturu od 53 do 59 °C prelazi u amorfnu stanje. Gutaperka se uspješno otapa u kloroformu, eteru i eteričnim uljima (189).

Gutaperka štapić sastoji se od cinkovog oksida (65 – 75 %), same gutaperke (20 %) i veziva (vosak, smola), opakera (metalni sulfat), plastifikatora i pigmenata boje (7). Cinkov oksid može uzrokovati iritaciju periapikalnog tkiva (134). Prednosti gutaperke su relativno dobra prilagodba stijenama intrakanalnog dentina, lako rukovanje i jednostavno uklanjanje. Nedostaci su joj neadhezivnost i niska razina elastičnosti (189).

Prema dosadašnjim istraživanjima, materijal za punjenje još se uvijek ne može potpuno ukloniti iz korijenskih kanala (184.). Otapalo se spominje kao mogući uzrok komplikacija jer stvara film otopljene gutaperke na stijenama intrakanalnog dentina koji se teže uklanja. U preglednom radu Dotto i sur. (190), u koji je uključena 41 studija, ne nalaze korist u uporabi otapala. Horvath i sur.(191) i Boarium i sur. (192). zaključili su da uporaba eukaliptusa dovodi do većeg zaostajanja gutaperke i punila na stijenama korijenskog kanala i unutar dentinskih tubula, nego u kontrolnim skupinama koje su ispitivale svrdla Gates-Glidden u kombinaciji s hedstroemom (191) i rotacijske instrumente ProTaper Universal (192).

1.8.2.2. *Punila temeljena na smolama: sastav i svojstva*

Punila na bazi smole spadaju u meka punila koje se stvrdnjavaju u korijenskom kanalu. U punila temeljena na smolama ubrajaju se poliketonske, epoksi i kompozitne smole.

Najrašireniji materijal na tržištu koji je po sastavu epoksi smola je AH Plus, poboljšana verzija AH-26 *silver free* i AH26, uz brže vrijeme stvrdnjavanja i bolju radiokontrastnost, a temelji se na epoksi amin smoli (7). AH26 punilo bilo je toksično za vrijeme dugotrajnog stvrdnjavanja u kanalu (48 sati) zbog otpuštanja tragova formaldehida te je bojalo tvrda zubna tkiva zbog srebra u svom sastavu (7). AH plus punilo još je uvijek „zlatni standard“ u modernoj kliničkoj praksi s obzirom da i najnovija istraživanja pokazuju njegovu superiornost u važnim karakteristikama punila. Istraživanje Souza i sur. (193) pokazalo je da AH plus punilo još uvijek ima najveću radiokontrastnost i najmanju topljivost u usporedbi s AH Plus Biokeramikom i čistim biokeramičkim punilom.

1.8.2.3. *Biokeramička punila*

U literaturi postoji nekoliko podjela biokeramičkih materijala. Jafari i sur. (194) podijelili su biokeramičke materijale u dvije skupine:

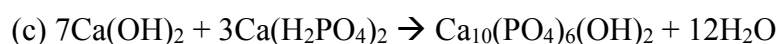
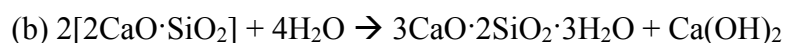
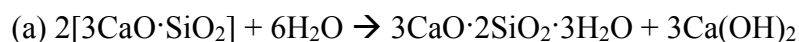
1. trikalcij fosfatna punila

2. trikalcij silikatna punila koja se temelje na MTA-u (engl. *mineral trioxide aggregate*, MTA) i punila koja se ne temelje na MTA-u.

Prednosti biokeramičkih materijala su biokompatibilnost, dobra fizikalno kemijska svojstva, visoki pH, odgovarajuća radioopaknost i otpuštanje iona kalcija u visokim koncentracijama, što rezultira formiranjem hidroksilapatita (195, 196, 197). Dimenzijski su stabilni i lagano ekspandiraju prilikom stvrdnjavanja (198, 199, 200). Netoksični su i kemijski stabilni u biološkom okruženju (198, 201). U slučaju kontakta s periapeksom, ne izaziva upalni odgovor, što je jedna od najistaknutijih prednosti (202).

Biokeramički materijali korišteni za punjenje korijenskih kanala sadrže cirkonijev dioksid, kalcijev silikat, kalcijev fosfat, kalcijev hidroksid i ostala punila. Ovakva biokeramika je hidrofilna je i može stvarati hidroksiapatit. Također, kemijski se veže za intrakanalni dentin (203). Važan čimbenik u stvrdnjavanju biokeramičkih materijala je vlaga (204). Voda ima odlučujuću ulogu u kontroli stupnja hidratacije i vremenu stvrdnjavanja koje iznosi četiri sata (205). U kontaktu s vlagom odvija se reakcija hidratacije kalcijevog silikata te se formiraju

kalcij silikatni hidrogel i kalcijev hidroksid (206). Kalcijev hidroksid reagira dalje s fosfatom i nastaje hidroksiapatit i voda (207). Voda dalje nastavlja reakcijski krug i ponovno reagira s kalcijevim silikatom te se ponovo stvara kalcij silikatni hidrogel i kalcijev hidroksid. Zbog tog svojstva, biokeramički materijali nazivaju se i bioaktivnim materijalima (208). Tri faze stvrdnjavanja biokeramičkog materijala kemijskim formulama prikazane su sljedeće: a) i b) reakcija hidratacije kalcijeva silikata; c) reakcija precipitacije kalcijeva fosfata (209, 210).



Kompresivna čvrstoća biokeramičkih punila vrlo je visoka (50 – 70 MPa), a zbog visokog pH (pH 12,9) djeluju antibakterijski 24 sata nakon aplikacije (202, 211).

Biokeramička punila mogu biti jednokomponentna i dvokomponentna. Dvokomponentno punilo priprema se miješanjem praha i tekućine. Na tržištu je najpoznatije dvokomponentno punilo BioRoot (BioRoot RCS; Septodont, Francuska) (Slika 8) u čijem je sastavu praška trikalcij silikat, cirkonijev oksid i povidon, a tekućina je vodena otopina kalcijevog klorida i polikarboksilata. Homogena pasta dobiva se miješanjem špatulom jedne mjerice praha i pet kapljica tekućine u trajanju od jedne minute.

Nakon pojave biokeramičkih materijala na tržištu, postojala je zabrinutost među kliničarima po pitanju njezinog uklanjanja tijekom postupka revizije. Međutim, najnovija istraživanja ukazuju na bolju mogućnost uklanjanja biokeramičkog punila od AH plus punila (212). Eymirli i sur. (213) ustanovili su da je gutaperka medij koji olakšava reviziju biokeramičkih punila. Ostala su istraživanja pokazala kako nije moguće u potpunosti ukloniti ostatke punila ni kod biokeramičkog punila ni kod punila temeljenih na smolama (6,12,27,30 rad ovalni).



Slika 8. BioRoot RCS dvokomponentno biokeramičko punilo za punjenje korijenskih kanala (BioRoot RCS; Septodont, Francuska)

1.9. Mikro-kompjuterizirana tomografija u endodontskim istraživanjima

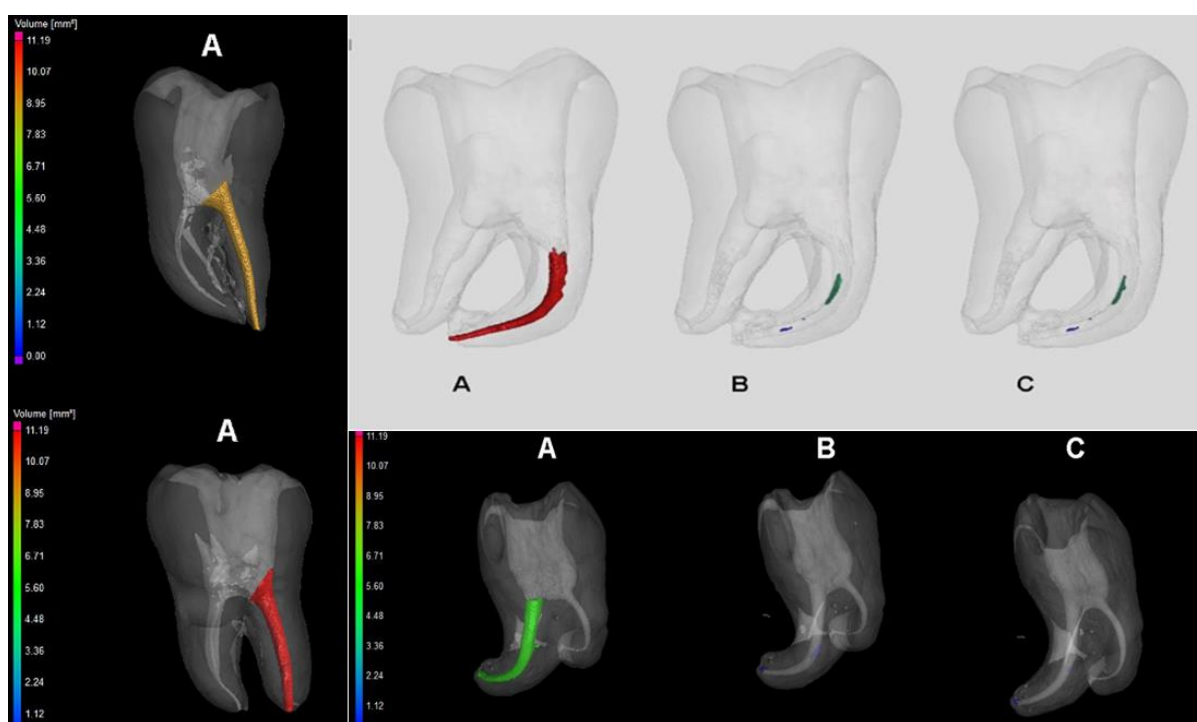
Mikro-kompjuterizirana tomografija (mikro-CT) precizna je metoda koja se u istraživanjima koristi od 1980. godine. Industrijski CT ima bolju prostornu rezoluciju u odnosu na tradicionalni CT, proizvodi voksele u rasponu od 5 do 50 μm , milijun puta manjeg volumena u odnosu na standardni CT, a objekti se mogu skenirati do 200 milimetara u promjeru. Međutim, mane mikro-CT-a su skupoća i neprimjenjivost u svakodnevnom kliničkom radu zbog jakog zračenja. (218, 219)

Mikro-CT skeneri snimaju niz 2D planarnih rendgenskih slika i rekonstruiraju podatke u 2D rezove poprečnog presjeka. Ti se rezovi mogu dalje obraditi u 3D modele, pa čak i ispisati kao 3D fizički objekti za analizu. S 2D rendgenskim sustavima vidi se kroz objekt, ali sa snagom 3D mikro-CT sustava vidi se unutrašnjost objekta i otkrivaju njegove unutarnje značajke (Slika 9). Pruža volumetrijske informacije o mikrostrukтури i riječ je o nedestruktivnom snimanju predmeta. Rendgenske zrake generiraju se u izvoru X-zraka, prenose kroz uzorak, a registrira ih detektor X-zraka kao 2D projekcijsku sliku. Uzorak se zatim rotira za djelić stupnja na rotacijskom postolju i snima se još jedna slika rendgenske projekcije. Ovaj se korak ponavlja okretanjem za 180 stupnjeva (ili ponekad za 360 stupnjeva, ovisno o vrsti uzorka). Niz slika rendgenske projekcije zatim se izračunava u slike poprečnog presjeka pomoću procesa računanja koji se naziva „rekonstrukcija“. Ti se isječci mogu analizirati, dalje obraditi u 3D modele, izraditi filmove, ispisati u 3D fizičke objekte itd. (220)

1.9.1. Primjena mikro-kompjuterizirane tomografije u endodontskim istraživanjima

Mikro-CT se intenzivno koristi u endodontskim istraživanjima za analizu površine intrakanalnog dentina, uklanjanje ostatka tkiva i materijala za punjenje unutar kanala, za anatomske nepravilnosti (istmusi) i analizu apikalnih transportacija zavijenih korijenskih kanala (221, 222). Rezultati istraživanja pokazuju da je mikro-CT pouzdana metoda u analizi zubnih struktura (223). Mikro-CT može prikazati presjeke zuba definiranjem debljine cakline, dentina i pulpne komore, a *imaging* softver može izraditi 3D rekonstrukcije volumetrijski prikaz analiziranih podataka (224). Presjeci se mogu rekonstruirati u bilo kojoj ravnini, a podaci prikazati kao dvodimenzionalne ili trodimenzionalne snimke koje se analiziraju i kvalitativno i kvantitativno (225, 226). Dobiveni mikro-CT podaci baza su daljnjih analiza endodontske anatomije, ispitivanja učinkovitosti kliničkih protokola te predstavljaju vrijedan matematički model strukture zuba.

Mikro-CT služi za ispitivanje obrade korijenskih kanala različitim sustavima instrumentacije te se njime može mjeriti količina obrađene površine, transportacija, centriranost instrumenta, stupanj izravnavanja zavijenih kanala (227). Mikro-CT-om može se mjeriti volumen punila, količina zaostalog materijala za punjenje nakon revizije, debljina kanala, (ne)obrađena površina (227-229). U najnovijim istraživanjima mikro-CT snimke pomoć su i u selekciji uzoraka izvađenih zuba čime se standardizira protokol istraživanja.



Slika 9. Todimenzionalne rekonstrukcije ekstrahiranih humanih molara u softveru mikro-CT uređaja.

1.10. Mikrobiološke metode u endodontskim istraživanjima

1.10.1. Lančana reakcija polimerazom

Lančana reakcija polimerazom (engl. *polymerase chain reaction*; PCR), PCR, je brzi enzimski postupak identifikacije mikroorganizama na temelju prepoznavanja sekvenci DNK traženog mikroorganizma. Male količine DNK amplificiraju se na količinu dovoljnu za analizu. Postupak je temeljen na ponavljanim ciklusima triju reakcija: denaturacije nukleinske kiseline (grijanje), spajanja (hibridizacije) primera te ekstenzije primera s DNK polimerazom koja dodaje nukleotide svakom primeru. U prvom stadiju PCR-a grijanje (100 °C) uzrokuje kidanje vodikovih veza između A-T i G-C i kao posljedicu odvajanje lanaca DNK. Snižavanjem temperature DNK sekvence (primeri) komplementarno se vežu na ciljane sekvence DNK. Treći stadij je sinteza komplementarnog lanca nove DNK pomoću DNK polimeraze. Osjetljivost ove metode je od deset do sto puta veća u identifikaciji mikroorganizama od ostalih mikrobioloških tehnika (230). Jedna od prednosti je i mogućnost izolacije mikroorganizama koji se teško kultiviraju ili ih je nemoguće transportirati u laboratorij (230). Često se koristi u otkrivanju uzročnika endodontskih infekcija različite simptomatologije (231). Danas postoje brojne modifikacije PCR-a. *Real-time* PCR metodom moguće je dobiti i kvantitativne mikrobiološke rezultate. Multiplex PCR identificira nekoliko različitih vrsta u uzorku, a *broad-range* PCR pruža informacije o identitetu svih vrsta u analiziranom uzorku (127).

1.10.2. Metoda kulture

Metoda kulture je postupak izolacije i kultivacije mikroorganizama na neselektivnim i selektivnim, krutim ili tekućim, umjetnim podlogama, i njene identifikacije na temelju biokemijskih i/ili morfoloških obilježja. Selektivne podloge sadrže određene kemijske tvari koje pogoduju rastu jedne vrste bakterije, a inhibiraju rast drugih vrsta. Morfološka obilježja koja pomažu u razvrstavanju bakterija u pojedine grupe su veličina i oblik kolonija, prisutnost boje i mirisa, rast na selektivnim ili obogaćenim podlogama. Za određivanje biokemijskih obilježja testira se sposobnost fermentacije, aerobna razgradnja šećera, enzimski potencijal. Nedostatak tehnike kultivacije mikroorganizama jest niska specifičnost i osjetljivost. Zbog nepoznavanja specifičnih čimbenika rasta pojedinih bakterija, one neće rasti na određenim podlogama, što može biti razlog lažno negativnih rezultata. (127) Moguć problem je i transport uzoraka tijekom kojeg se gubi utjecaj okolišnih čimbenika na rast i sustav komunikacije (*quorum sensing*) između mikroorganizama (232).

1.11. Mikroskopske metode analize uzoraka

1.11.1. Pretražna elektronska mikroskopija

Pretražni elektronski mikroskop (engl. *scanning electron microscopy*, SEM) je elektronski mikroskop koji proizvodi dvodimenzionalne slike uzorka skeniranjem njegove površine fokusiranim snopom elektrona. Elektroni stupaju u interakciju s atomima u uzorku i proizvode signal koji sadrži informacije o topografiji površine i sastavu uzorka. SEM metodom se detektiraju sekundarni elektroni koje emitiraju atomi pobuđeni snopom elektrona pomoću sekundarnog detektora elektrona. Broj sekundarnih elektrona koji se mogu detektirati, a posljedično i intenzitet signala, ovisi o topografiji uzorka. SEM može postići razlučivost veću od jednog nanometra. (233)

U konvencionalnom SEM-u, uzorci se promatraju u visokom vakuumu, niskom vakuumu ili u mokrim uvjetima, pod promjenjivim tlakom ili okolišnim SEM-om te u širokom rasponu od kriogenih do povišenih temperatura pomoću specijaliziranih instrumenata. Ovaj mikroskop ima široko pregledno polje i može proizvesti točne prikaze trodimenzionalnog oblika uzorka (234). SEM se koristi za kvalitativnu analizu površinske topografije uzorka (2355), međutim, dvodimenzionalne slike generirane SEM-om ne mogu osigurati kvantitativne podatke (236). Nadalje, priprema uzorka i promjene izazvane vakuumom mogu oduzimati mnogo vremena i uzrokovati morfološku netočnost (237). Kako bi se uopće dobila adekvatna kvaliteta snimki, potrebno je osigurati sljedeće uvjete: čvrsti uzorci koju mogu stati u mikroskopsku komoru, stabilnost uzorka u vakuumu. Tekući uzorci i materijali koji sadrže vodu ne ispituju se u konvencionalnom SEM-u, s obzirom da je uzorke prije analize potrebno dehidrirati. Materijale koji nisu vodljivi potrebno je prevući tankim vodljivim filmom, primjerice zlatom, platinom, paladijem (233).

1.11.2. Konfokalna laserska mikroskopija

Konfokalni laserski pretražni mikroskop (engl. *confocal laser scanning microscopy*, CLSM) svjetlosni je mikroskop kojim se analiziraju živi i neživi uzorci pomoću fluorescencije i u reflektiranome svjetlu. Uzorak se osvjetljava točku po točku, a emitirana ili reflektirana svjetlost detektira se tvoreći trodimenzionalnu sliku u memoriji digitalnog računala. Glavna prednost konfokalne mikroskopije u usporedbi s klasičnom svjetlosnom mikroskopijom jest mogućnost optičkog seciranja, tj. dobivanja oštre slike tankoga sloja pri snimanju debelog uzorka. Ovom metodom moguće je selektivno detektirati emitiranu fluorescenciju iz tankoga sloja precizno ograničenog u vertikalnom smjeru, dakle, po dubini uzorka. Od posebne je važnosti fluorescencijska konfokalna mikroskopija u kojoj se, u fiksiranom i obojenom mikrobiološkom uzorku, na temelju fluorescencije prepoznaju i razlikuju žive i mrtve stanice mikroorganizama. Crveno se boje mrtve, a zeleno fluoresciraju žive bakterije, pa se u istraživanjima rabi za evaluaciju učinkovitosti antimikrobnih sredstava. Na trodimenzionalnoj slici moguća je i analiza dubine penetracije dezinficijensa i mikroorganizama u dentinskim tubulusima. (238)

2. CILJEVI I HIPOTEZE

2.1. Svrha i ciljevi

Svrha doktorskog rada bila je ispitati *ex vivo* učinkovitost novog sistema Er:YAG laserski aktiviranog ispiranja, SWEEPS-a, u endodontskom liječenju zuba.

Primarni ciljevi doktorskog rada bili su:

1. Ispitati *ex vivo* učinkovitost tehnike SWEEPS u uklanjanju ostataka punila iz zavijenih korijenskih kanala nakon konvencionalnog postupka revizije i usporediti je s konvencionalnom tehnikom pasivnog ispiranja i ultrazvučnim ispiranjem (UI) (PUI; Er:YAG LAI).
2. Ispitati *ex vivo* učinkovitost tehnike SWEEPS u uklanjanju ostataka biokeramičkog punila iz ovalnih korijenskih kanala nakon konvencionalnog postupka revizija i usporediti je s konvencionalnom tehnikom pasivnog ispiranja i ultrazvučnim ispiranjem (UI).
3. Ispitati *ex vivo* antimikrobnu učinkovitost tehnike SWEEPS u eradikaciji biofilma *E. faecalis* i usporediti je s konvencionalnom tehnikom pasivnog ispiranja i ultrazvučnim ispiranjem (UI).

Sekundarni cilj doktorskog rada bio je usporediti učinkovitost tehnike SWEEPS s ravnim i koničnim laserskim nastavcima u uklanjanju ostataka punila nakon konvencionalnog postupka revizije zavijenih korijenskih kanala.

2.2. Hipoteze

Nulte hipoteze

1. Nema razlike između SWEEPS, Er:YAG LAI SSP (Super Short Pulse) i UAI u uklanjanju ostataka punila nakon konvencionalnog postupka revizije zavijenih korijenskih kanala.
2. Nema razlike između SWEEPS, Er:YAG LAI SSP (Super Short Pulse) i UAI u uklanjanju ostataka biokeramičkog punila nakon konvencionalnog postupka revizije ovalnih korijenskih kanala.
3. Nema razlike između SWEEPS aktivacijske tehnike ispiranja i ostalih ispitivanih skupina (konvencionalno ispiranje, PUI) u uklanjanju bakterijskog biofilma iz korijenskih kanala zuba.
4. Nema razlike u učinkovitosti SWEEPS tehnike s ravnim i koničnim laserskim nastavkom u reviziji zavijenih korijenskih kanala.

Radne hipoteze

1. SWEEPS aktivacijska tehnika ispiranja učinkovita je u uklanjanju ostataka punila nakon konvencionalnog postupka revizije zavijenih korijenskih kanala zuba i pokazuje veću učinkovitost od ostalih testiranih tehnika ispiranja (UAI, Er:YAG LAI SSP, KI).
2. SWEEPS aktivacijska tehnika ispiranja učinkovita je u uklanjanju ostataka punila nakon konvencionalnog postupka revizije ovalnih korijenskih kanala zuba te pokazuje veću učinkovitost od ostalih testiranih tehnika ispiranja (UAI, Er:YAG LAI SSP, KI).
3. SWEEPS aktivacijska tehnika ispiranja učinkovita je u uklanjanju bakterijskog biofilma *E. faecalis*-a i pokazuje veću učinkovitost od ostalih testiranih tehnika ispiranja (UAI, KI).
4. Postoji razlika u učinkovitosti SWEEPS tehnike primjenom ravnog i koničnog laserskog nastavka u uklanjanju ostataka punila nakon revizije zavijenih korijenskih kanala

3. MATERIJALI I POSTUPCI

3.1. Istraživanje 1. Ispitivanje učinkovitosti SWEEPS tehnike u uklanjanju ostataka punila iz zavijenih korijenskih kanala nakon konvencionalnog postupka revizije

3.1.1. Odabir uzoraka za istraživanje

Prije početka istraživanja, provedena je *power* analiza za koju je upotrijebljen *chi-square* test uz parametre $a = 0,05$ i $b = 0,95$ kako bi se odredio potreban broj uzoraka po skupinama. Izračun je pokazao da je potreban broj uzoraka po skupini 10.

U istraživanju je rabljeno 40 okruglih i jako zavijenih mezijalnih korijenskih kanala (Vertucci tip IV) iz ekstrahiranih humanih molara donje ili gornje čeljusti. Nakon vađenja, zubi su snimani CBCT-om (engl. *cone beam computed tomography*) (Cranex 3DX; Soredex, Tuusula, Finska) uz sljedeće parametre: vidno polje, 595 (5,0 mm) mm; ENDO, 85 μm ; 6,3 mA; 90 kV; 8,7 s; i 450,3 mGycm².

Zavijenost korijenskih kanala izmjerena je na CBCT snimkama prema tehnici koju je opisao Schneider. U istraživanje su uključeni uzorci korijenskih kanala sa zakrivljenosti između 25° i 40°.

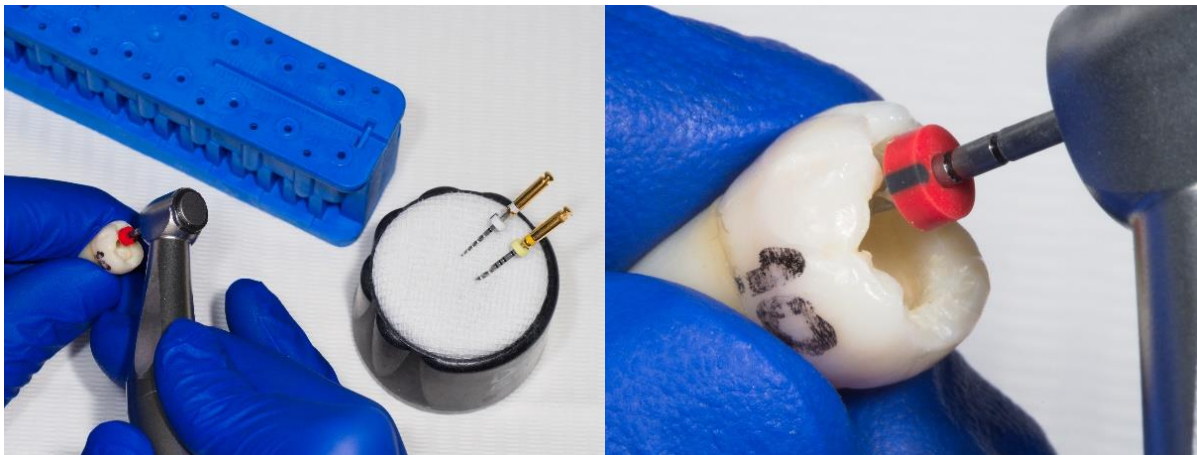
Odabrani uzorci raspoređeni su po skupinama vodeći računa o podjednakoj raspodjeli različito zakrivljenih korijenskih kanala po skupinama. Uzorci su pohranjeni u 0,1 %-tnoj otopini timola prije upotrebe.

3.1.2. Instrumentacija i punjenje korijenskih kanala

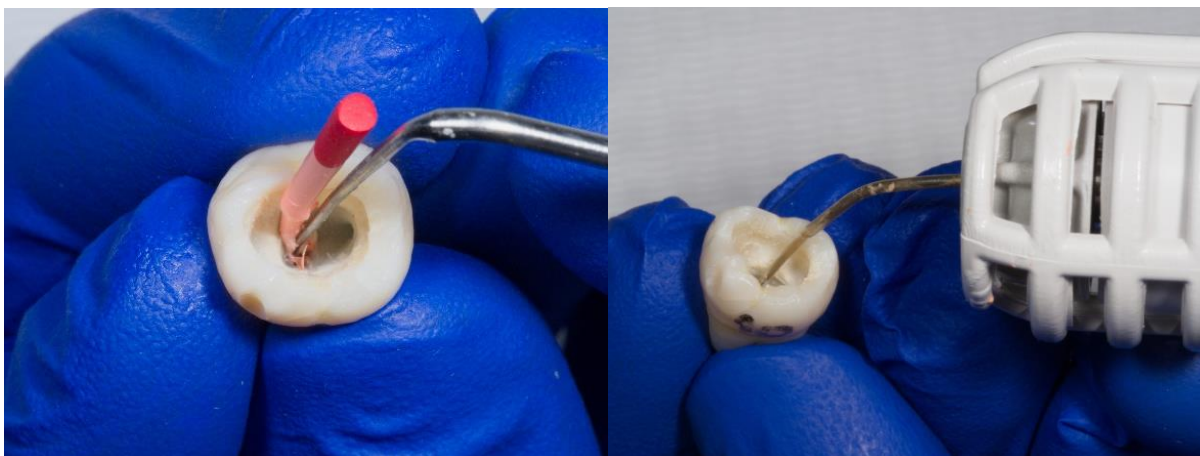
Prikupljeni uzorci trepanirani su konvencionalnim pristupom uz vodeno hlađenje dijamantrnim svrdlom br. 016 (Komet, Rock Hill, SC, SAD). Inicijalna prohodnost kanala potvrđena je umetanjem ručnog endodontskog instrumenta *K-file* veličine 10 (Dentsply Sirona, Ballaigues, Švicarska) i uočavanjem njegovog prolaska kroz apikalni foramen prije i poslije preparacije kanala. Samo su zubi s apikalnim foramenom početnih promjera većih od ISO veličine 10 i manji od ISO veličine 20 *K-file* ručnog instrumenta od nehrđajućeg čelika bili uključeni u istraživanje. Radne duljine (RD) određene su na 0,5 mm od vanjskog foramena. Apikalni otvori svih odabranih korijena zatvoreni su vrućim ljepilom, a zubi umetnuti u podlogu od polivinilsiloksan materijala (Exaflex putty, GC) u svrhu kreiranja zatvorenog sustava i ograničavanje protoka tekućine kroz apikalni foramen.

Korijenski kanali instrumentirani su rotacijskim sustavom ProTaper Next (PTN) (Dentsply Sirona, Ballaigues, Švicarska) u motoru VDW Reciproc Gold postavljenim u rotacijski način rada (300 o/min, 270 NCm). Kanali su instrumentirani do pune radne duljine instrumentima ProGlider, PTN X1 i X2 (veličina vrha 0,25, 0,06 konicitet) (Slika 10). Tijekom postupka instrumentacije upotrijebljeno je 10 ml 3 %-tnog natrijevog hipoklorita (NaOCl) za svaki kanal s iglom 31G i špricom (Steri Tips, DiaDent, Kanada).

Završno, prije postupka punjenja, kanali su isprani s 1 ml fiziološke otopine 30 sekundi (6) i osušeni sterilnim papirnatim štapićima PTN X2 (Dentsply Sirona, Ballaigues, Švicarska). Pripremljeni korijenski kanali napunjeni su punilom na bazi epoksi smole (AH Plus, Dentsply Sirona Endodontics, Ballaigues, Švicarska) i gutaperka štapićem PTN X2 koristeći tehniku tople vertikalne kondenzacije kontinuiranog vala u kombinaciji s injekcijskom tehnikom (BeeFill 2 in1; VDW, München, Njemačka) (18) (Slika 11). Punilo je uneseno u korijenski kanal pomoću instrumenta veličine 25 K do pune RD. Zatim je gutaperka štapić PTN X2 postavljen u kanal do pune radne duljine. Toplim nabijačem (engl. *plugger*) veličine 40 (200 °C) uklonjen je višak gutaperke do ulaza u korijenski kanal. Dio gutaperke u korijenskom kanalu uklonjen je prethodno odabranim i izmjerenim toplim nabijačem (engl. *plugger*) u jednom kontinuiranom pokretu (trajanje 3 s) do 5 mm od pune radne duljine te zatim kondenziran pomoću ručnog hladnog nabijača veličine 1 (Machtou plugger; VDW, München, Njemačka). Za punjenje oslobođenog dijela korijenskog kanala rabljena je injekcijska tehnika ubrizgavanja zagrijane gutaperke (180 °C) u tri koraka, a svaka je porcija gutaperke kondenzirana pomoću ručnih nabijača odgovarajuće veličine (veličine 2, 3 i 4). Nakon punjenja korijenskog kanala, pristupni kavitet zatvoren je privremenim restaurativnim materijalom (Cavition; GC, Tokio, Japan). Kvaliteta punjenja potvrđena je uporabom digitalne radiografije iz bukolingvalne i meziodistalne projekcije. Svi su uzorci bili čuvani na 37 °C i 100 % relativne vlažnosti dva tjedna.



Slika 10. Instrumentacija zavijenog kanala ProTaper Next rotacijskom tehnikom (Dentsply Sirona, Ballaigues, Švicarska)



Slika 11. Punjenje korijenskih kanala toplom vertikalnom kondenzacijom i injekcijskom tehnikom (BeeFill 2 in1; VDW, München, Njemačka).

3.1.3. Revizija korijenskog kanala

Postupak ponovnog liječenja proveden je uz uporabu rotacijskog instrumenta ProTaper Universal (D1, D2, D3) (Dentsply-Sirona, Ballaigues, Švicarska)(Slika 12) prema uputama proizvođača brzinom od 300 o/min i torzijskim opterećenjem od 2,5 N/cm². Instrument D1 rabljen je za uklanjanje materijala iz koronarnog dijela kanala, dok su za uklanjanje materijala u srednjoj i apikalnoj trećini kanala rabljeni instrumenti D2 i D3, a potom je učinjeno dodatno apikalno proširenje do RD instrumentom ProTaper Next X3 (veličina vrha 30; 0,06 konus), kao što je prethodno opisano, i s istim postavkama endodontskog motora. Svaki instrument rabljen je za instrumentaciju triju korijenskih kanala. U postupku revizije upotrijebljeno je ukupno 6 ml 2,5 %-tnog NaOCl-a po korijenskom kanalu. Otapalo nije korišteno. Korijenski su kanali zatim osušeni sterilnim papirnatim štapićima PTN X3 (Dentsply Sirona, Ballaigues, Švicarska). Revizija se smatrala završenom kada je svaki instrument dosegao radnu duljinu (WL) tri uzastopna puta.

Uzorci su potom nasumično podijeljeni u četiri skupine (n = 10/skupina) koje su podvrgnute sljedećim protokolima ispiranja.

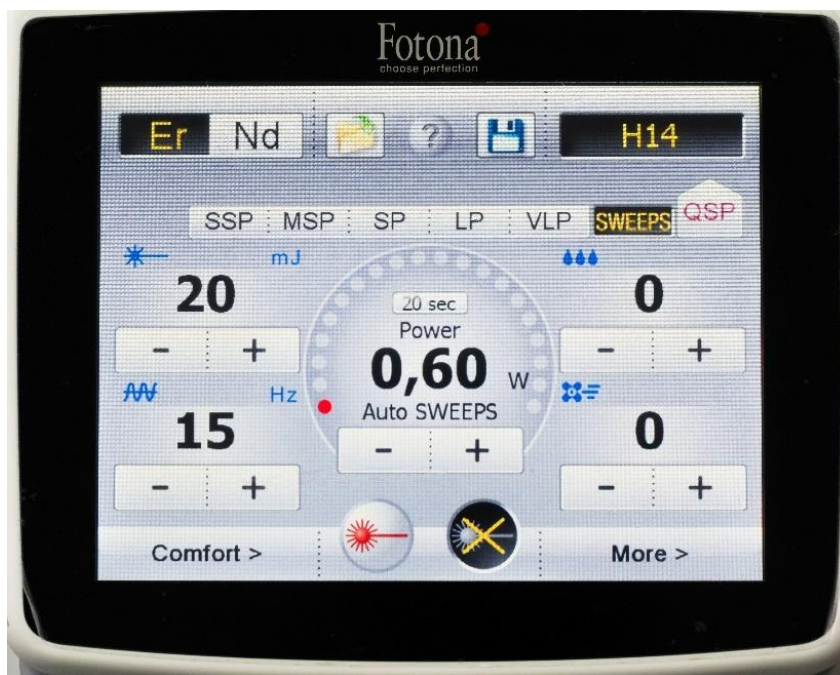


Slika 12. ProTaper Universal (Dentsply Sirona, Ballaigues, Švicarska) rotacijski instrumenti za reviziju punjenja

3.1.4. Eksperimentalni protokoli ispiranja

Skupina 1. SWEEPS (*Shock wave-enhanced emission photo-acoustic streaming*) s radijalnim 400 μm laserskim nastavkom (SWEEPS/radijalni nastavak)

U pristupni kavitet kontinuirano je ubrizgavano 6 ml 3 %-tnog NaOCl-a pomoću nepomično pozicionirane igle s postraničnim otvorom od 30G (Steri Tips, DiaDent, Kanada). Istovremeno, irigans je aktiviran laserom Er:YAG (LightWalker AT, Fotona, Ljubljana, Slovenija) prema sljedećim parametrima: način rada AutoSWEEPS; energija pulsa 20 mJ; frekvencija pulsa 15 Hz; snaga 0,60 W; vršna snaga 800 W (Slika 13). Radijalni nastavak (400 μm , 9 mm; Fotona, Ljubljana, Slovenija) postavljen je u pristupni kavitet tijekom aktivacije (3 ciklusa po 30 s) (Slika 14). Nakon svakog ciklusa višak irigansa aspiriran je iz pristupnog kaviteta i u novom je ciklusu nastavljeno dodavanje svježeg irigansa.



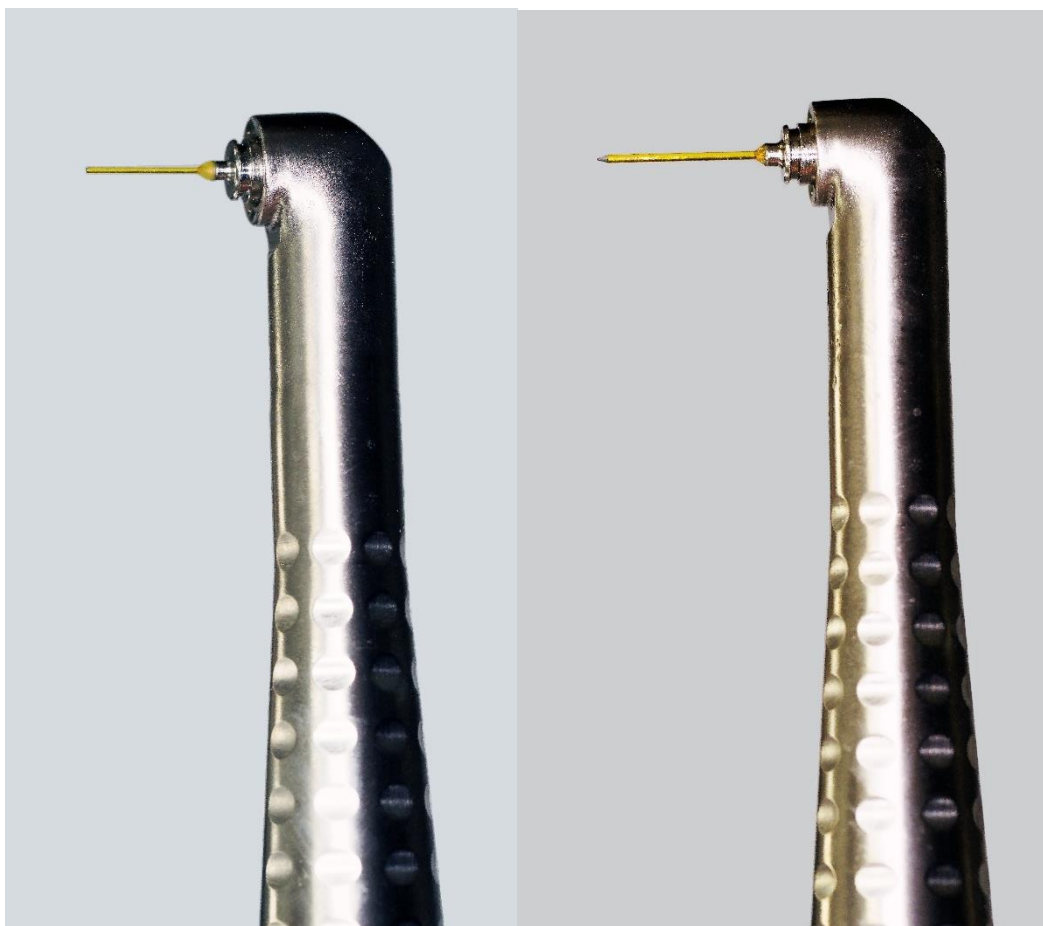
Slika 13. Postavke Auto SWEEPS modaliteta Er:YAG laserski aktiviranog ispiranja (Fotona, Ljubljana, Slovenija): energija pulsa 20 mJ; frekvencija pulsa 15 Hz; snaga 0,60 W; vršna snaga 800 W i postupak izvođenja ispiranja



Slika 14. SWEEPS tehnika na donjem molaru: laserski nastavak postavljen je u trepanacijski kavitet, a istovremeno se irigans injicira u kavitet

Skupina 2. SWEEPS modalitet, s ravnim 400 μm laserskim nastavak (SWEEPS/ravni nastavak)

Protokol ispiranja kanala bio je jednak protokolu opisanom u prethodnoj skupini SWEEPS/radijalni nastavak, osim što je u ovoj skupini korišten ravni. Osim vrste laserskog nastavka (nastavak ravnog vrha, paralelnih stijenki, laserski nastavak promjera 600 μm i duljine 9 mm) (Slika 15). svi su ostali parametri, dakle protokol ispiranja i parametri lasera, isti kao i oni opisani za SWEEPS u Skupini 2.



Slika 15. Ravni i radijalni laserski nastavak za SWEEPS tehniku Er:YAG laserski aktiviranog ispiranja (Fotona, LightWalker AET, Ljubljana, Slovenija)

Skupina 3. Er:YAG laserski aktivirano ispiranje modalitetom super kratkog pulsa (*Super Short Pulse*) (LAI/SSP)

Korijenski kanali ispirani su istim protokolom koji je opisan za Skupine 2 i 3, no parametri Er:YAG lasera su bili drugačiji: energija pulsa 20 mJ; frekvencija pulsa 15 Hz; trajanje pulsa 50 μ s; vršna snaga pulsa 400 W (Slika 16). Korišten je radijalni Er:YAG laserski nastavak (LightWalker AT, Fotona, Ljubljana, Slovenija) promjera 600 μ m, duljine 9 mm. Kanali su ispirani 3% NaOCl-om tijekom 90 s (tri ciklusa po 30 s), a vrh je nepomično postavljen u pristupni otvor u komori pulpe tijekom aktivacije.



Slika 16. Postavke Er:YAG lasera za *Super Short Pulse* (SSP) modalitet laserski aktiviranog ispiranja

Skupina 4. Ultrazvučno aktivirano ispiranje (UAI)

Šest mililitara 3 %-tnog NaOCl-a kontinuirano je ubrizgavano u pristupni kavitet pomoću 30G igle s postraničnim otvorom (Steri Tips, DiaDent, Kanada). Istovremeno, endodontski ultrazvučni nastavak (Irri S, 25/25, VDW) pričvršćen na endodontski ultrazvučni uređaj (VDW ULTRA, VDW, Njemačka) snage 20, postavljen je tri mm od RD i aktiviran 90 sekundi (u tri ciklusa po 30 s)(Slika 17). Na kraju svakog ciklusa, preostali irigans je aspiriran iz kanala pomoću iste 30G igle (Steri Tips, DiaDent, Kanada) i šprice.



Slika 17. Endodontski ultrazvučni uređaj (VDW ULTRA, VDW, München,Njemačka) i Irri S ultrazvučni nastavak (VDW, Njemačka).

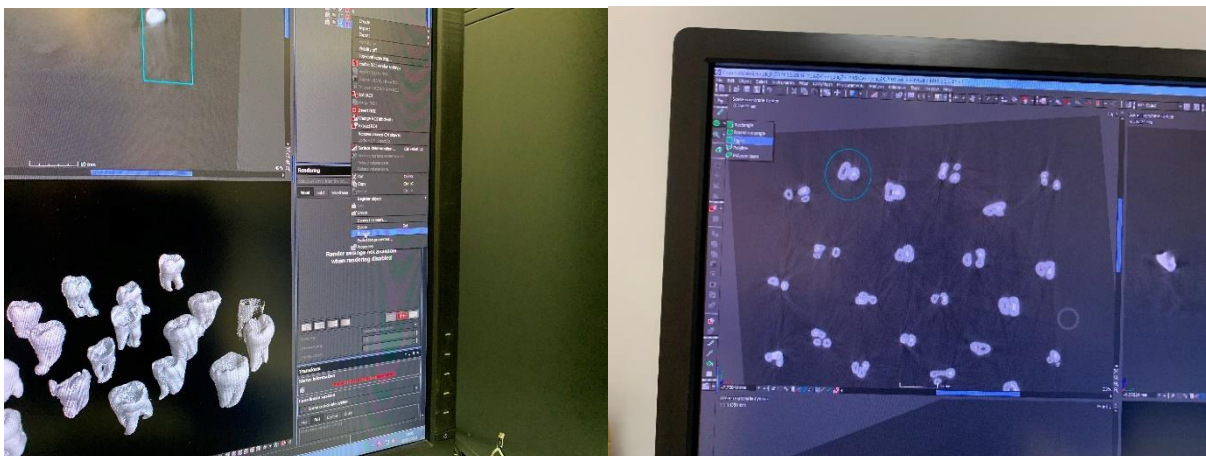
3.1.5. Mikro-CT analiza

Svi uzorci skenirani su tri puta mikro-CT uređajem (XT H 225; Nikon, Tokyo, Japan) (Slika 18): (1) nakon punjenja korijenskog kanala (Volumen I), (2) nakon revizije korijenskog kanala (Volumen II) i (3) nakon dodatnog eksperimentalnog protokola ispiranja (Volumen III).

Volumen materijala za punjenje mjereno je pomoću industrijskog mikro-CT (Nikon XT H 225) uređaja (Slika 19) sa žarišnom veličinom cilja od $0,7\ \mu\text{m}$ i 14-bitnim $400\ \text{mm} \times 300\ \text{mm}$ ravnim panel detektorom veličine piksela $127\ \mu\text{m}$. Uzorci su mjereni na $80\ \text{kV}$ i $60\ \mu\text{A}$ korištenjem 1600 projekcija na vrijeme ekspozicije 1s. Geometrijsko povećanje je bilo ≈ 100 , što je dalo strukturnu rezoluciju od $1,2\ \mu\text{m}$. Volumen gutaperke mjereno je uz iste parametre. Svi uzorci su skenirani na istoj poziciji s iste postavke zračenja (Slika 20). Tijekom analize materijal za punjenje tretiran je kao inkluzija u osnovnom materijalu (tvrdo zubno tkivo), moguće zbog veoma izraženih vrijednosti sivih tonova zuba i materijala za punjenje. Rezultati su izraženi kao postotak materijala za punjenje u osnovnom materijalu (tvrdo zubno tkivo) (16).



Slika 18. Industrijski mikro-CT (Nikon XT H 225) uređaj



Slika 19. Obrada rezultata i mjerenje volumena materijala za punjenje (inkluzija) u softveru mikro-CT uređaja



Slika 20. Dio uzoraka pripremljen za mikro-CT snimanje. Nakon svake eksperimentalne faze uzorci su vraćani u točno određene pozicije i potom snimani.

3.1.6. Statistička analiza

Na temelju Kolmogorov–Smirnovljevog testa, pretpostavka normalne distribucije ne može se odbaciti na razini značajnosti od 5 % za bilo koji od uzoraka. Volumen i relativno smanjenje volumena ispitani su pomoću dvostranog t-testa između različitih grupa kao i u međugrupnoj analizi. Jednostrani i dvostrani t-test uporabljen je za razmatranje analize unutar grupe. Statistička značajnost postavljena je na $p < 0,05$.

3.2. Istraživanje 2. Ispitivanje učinkovitosti SWEEPS tehnike u uklanjanju ostataka punila nakon konvencionalnog postupka revizije ovalnih korijenskih kanala

3.2.1. Odabir uzoraka za istraživanje

Power analiza izračunata je *chi-square* testom uz parametre $a = 0,05$ i $b = 0,95$ kako bi se utvrdio broj potrebnih uzoraka za svaku grupu u svrhu relevantnosti istraživanja. Izračun je pokazao da je potreban broj uzoraka po skupini 10. Odabrana su ukupno 42 ravna, ovalna distalna korijenska kanala, zakrivljenosti $< 5\%$ iz skupine ekstrahiranih humanih molara donje čeljusti pacijenata u dobi između 22 i 42 godine (28).

Ovalni korijenski kanali odabrani su temeljem CBCT snimki (Cranex 3DX; Soredex, Tuusula, Finska) koje su snimane uz sljedeće parametre: vidno polje 595 (5,0 mm) mm; ENDO 85 μm ; 6,3 mA; 90 kV; 8,7 s; 450,3 mGycm². Primjerenost kanala mjerena je prema kriterijima De Deus i sur. (14). Kriteriji isključenja bili su: prethodna obrada korijenskih kanala, intrakanalne kalcifikacije, karijes korijena, vanjska i/ili unutarnja resorpcija. Odabrani zubi pohranjeni su u 0,1 %-tnoj otopini timola na 4 °C prije upotrebe. Kriterij uključenja bio je apikalni promjer svih odabranih uzoraka koji odgovara ISO rasponu veličina 15 do 20 (potvrđeno instrumentom #15 K-file i #20 K-file).

3.2.2. Instrumentacija i punjenje korijenskih kanala

Jedan istraživač proveo je sve faze kemo-mehaničke obrade korijenskog kanala. Tradicionalni pristupni kaviteti s pravocrtnim pristupom korijenskim kanalima pripremljeni su uz uporabu vodeno hlađenog dijamantnog svrdla br. 016 (Komet, Rock Hill, SC, SAD). Potvrđena je prohodnost kanala rabeći instrument K-file ISO 15/20 (Dentsply Sirona Endodontics, Ballaigues, Švicarska), prema kriterijima uključivanja. Radna duljina (RD) određena je oduzimanjem 0,5 mm od duljine dobivene kada je instrument K-file bio vidljiv na apeksnom foramenu pomoću lupa od 4,5 \times povećanje. Apikalni foramen svih odabranih korijena zapečaćen je vrućim ljepilom i umetnut u polivinilsiloksan (Exaflex putty, GC, Tokyo, Japan) kako bi se kreirao zatvoreni sustav i spriječio protok tekućine za ispiranje kroz apikalni foramen (Slika 21). Korijenski kanali pripremljeni su pomoću rotacijskog sustava ProTaper Next (PTN) (Dentsply Sirona Endodontics, Ballaigues, Švicarska) do veličine 40/0,06 pomoću endodontskog motora VDW Reciproc Gold (VDW, München, Njemačka) postavljenog u rotacijski način rada (300 o/min, 270 Ncm). Tijekom instrumentacije ukupno 10 ml 3 %-tnog natrijevog hipoklorita (NaOCl) uporabljeno je za ispiranje korijenskih kanala pomoću igle 31G s postraničnim otvorom (SteriTips, DiaDent, Burnbay, BC, Kanada). Nakon instrumentacije

kanali su osušeni pomoću sterilnih papirnatih štapića PTN X4 (ProTapex Next, Dentsply Sirona Endodontics, Ballaigues, Švicarska).



Slika 21. Pripremljeni uzorci humanih izvađenih molara. Kreiran je zatvoreni sustav koji sprječava protok tekućine za ispiranje kroz apikalni foramen.

Korijenski kanali potom su napunjeni dvokomponentnim biokeramičkim sredstvom za punjenje (BioRoot RCS; Septodont, Saint-Maur-des-Fosses Francuska) i *single cone* tehnikom punjenja (Slika 22). BioRoot RCS pripremljen je prema preporukama proizvođača. Nakon toga je gutaperka PTN X4 umočena u punilo i polako umetnuta u kanal do RD. Višak gutaperka štapića u trepanacijskom otvoru odrezan je na ulazu u korijenski kanal i okomito kondenziran pomoću nabijača veličine 4 (Machtou plugger; VDW, München, Njemačka). Nakon punjenja korijenskog kanala, pristupni kavitet je privremeno zatvoren (Caviton; GC, Tokyo, Japan). Svi uzorci čuvani su na 37 °C i 100 % relativne vlažnosti dva tjedna.



Slika 22. Uzorci napunjeni tehnikom jedne gutaperke u kombinaciji s biokeramičkim punilom BioRoot RCS (Septodont, Saint-Maur-des-Fosses, Francuska)

3.2.3. Revizija korijenskih kanala

Uzorci su revidirani recipročnom tehnikom strojnim instrumentom Reciproc BlueRB40 (40/0,06) (VDW Dental, München, Njemačka) (Slika 23) u endodontskom motoru VDW Reciproc Gold u načinu rada *Reciprocation All*. Tijekom postupka ponovnog liječenja svaki je korijenski kanal ispran sa 6 ml 3 %-tne otopine NaOCl-a. Instrument je tijekom postupka revizije progredirao od koronarnog prema apikalnom uz pokrete unutra – van i s amplitudom približno 3 mm prema uputama proizvođača. Nakon tri takva pokreta, instrument je očišćen sterilnom gazom, a kanal ispran s 3 %-tnim NaOCl-om. Svaki instrument RB40 uporabljen je za reviziju triju uzoraka. Postupak se smatrao završenim kada je svaki instrument dosegao RD tri uzastopna puta. Korijenski su kanali zatim osušeni pomoću sterilnih papirnatih štapića (RECIPROC® Paper Points R40) (29), a uzorci nasumično raspoređeni u tri eksperimentalne skupine.



Slika 23. Reciproc® BlueRB40 (40/0,06) instrument (VDW Dental, München, Njemačka)

3.2.4. Eksperimentalni završni protokol ispiranja

Nakon postupka revizije, uzorci su nasumično podijeljeni u tri skupine (n = 14 svaka) prema eksperimentalnoj tehnici završnog ispiranja.

Skupina 1. SWEEPS®

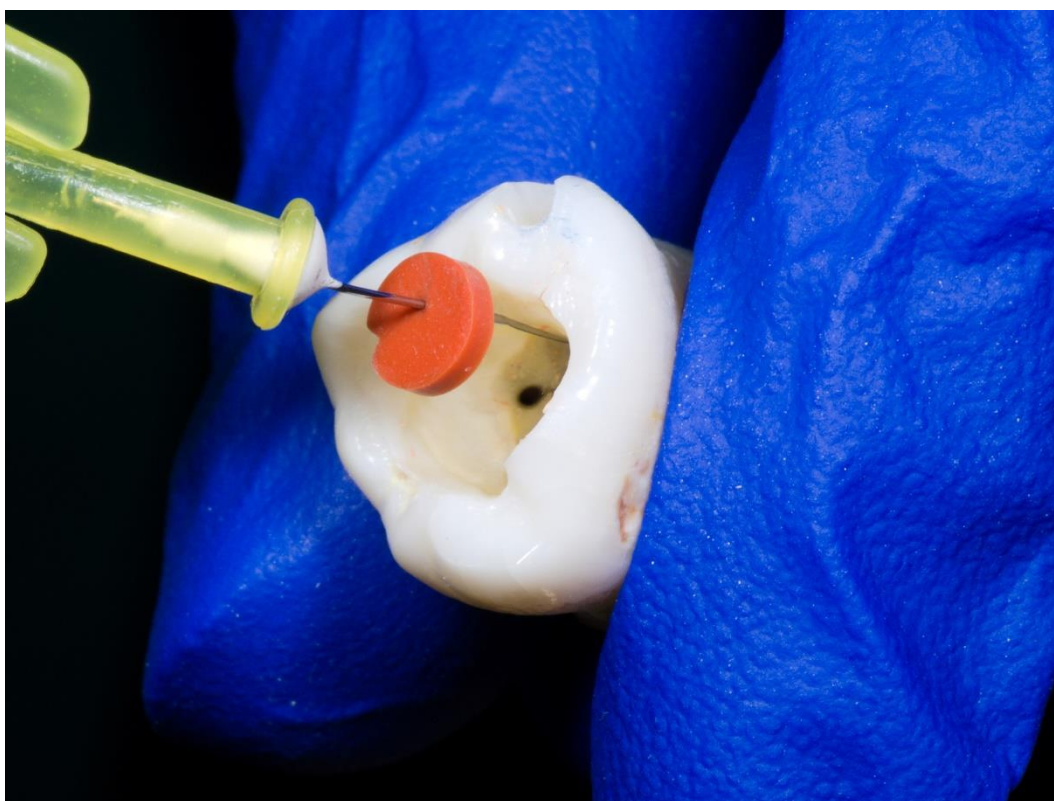
Korijenski kanali isprani su s ukupno 6 ml 3 %-tnog NaOCl-a. Sredstvo za ispiranje neprekidno je ubrizgavano špricom i iglom postraničnog otvora od 31G (SteriTips, DiaDent, Burnbay, BC, Kanada) nepomično postavljene u pristupnom kavitetu. Istovremeno je irigans aktiviran laserom Er:YAG (LightWalker AT, Fotona, Ljubljana, Slovenija) uporabom radijalnog nastavka promjera 600 µm, duljine 9 mm (Fotona, Ljubljana, Slovenija) tijekom 90 s podijeljeno u tri ciklusa od 30 s. Radijalni laserski vrh postavljen je nepomično u pristupni kavitet tijekom aktivacije. Parametri lasera bili su sljedeći: Auto SWEEPS način rada, energija pulsa 20 mJ, frekvencija pulsa 15 Hz, prosječna snaga 0,30 W, trajanje pulsa 25 µs te vršna snaga 800 W. Nakon svakog ciklusa aktivacije, preostali irigans aspiriran je iz kanala pomoću iste šprice i igle 31G (Steri Tips, DiaDent, Burnbay, BC, Kanada) [4].

Skupina 2. Ultrazvučno aktivirana ispiranje (UAI)

Uzorci su, kao i u prethodnoj skupini, isprani s ukupno 6 ml 3 %-tnog NaOCl-a. Irigans je dodan u korijenski kanal pomoću igle 31G s bočnom ventilacijom (Steri Tips, DiaDent, Burnbay, BC, Kanada) postavljene 1 mm prema RD, a zatim je kontinuirano dodavan u pristupni kavitet tijekom ciklusa aktivacije. Svaki uzorak je kontinuirano aktiviran endodontskim ultrazvučnim nastavkom (Irri S, 25/25, VDW) postavljenim u endodontski ultrazvučni uređaj (VDW ULTRA; VDW, München, Njemačka). Ultrazvučni nastavak postavljen je 3 mm od RD. Trajanje aktivacije iznosilo je 90 s podijeljenih u tri istovjetna ciklusa po 30 s. Nakon svakog ciklusa UAI, preostali irigans aspiriran je iz kanala pomoću šprice i igle 31G (Steri Tips, DiaDent, Burnbay, BC, Kanada).

Skupina 3. Konvencionalno ispiranje iglom i špricom (KI)

Igla 31G s postraničnim otvorom (Steri Tips, DiaDent, Burnbay, BC, Kanada) (Slika 24) rabljena je za ispiranje svakog korijenskog kanala i u ovoj skupini, ali bez aktivacijskog postupka. Ukupno 6 ml 3 %-tnog NaOCl-a aplicirano je u tri ciklusa po 30 s, ukupno 90 s. Igla je postavljena 1 mm od pune radne duljine. U svakom je ciklusu upotrijebljeno 2 ml otopine za ispiranje. Nakon što je svaki pojedini ciklus završen, preostali je irigans aspiriran pomoću igle i šprice iste veličine.



Slika 24. Konvencionalno ispiranje 31G iglom s postraničnim otvorom (Steri Tips, DiaDent, Burnbay, BC, Kanada)

3.2.5. Mikro-CT analiza

Svi uzorci skenirani su tri puta mikro-CT uređajem (XT H 225; Nikon, Tokyo, Japan): 1) nakon punjenja korijenskog kanala (Volumen I), 2) nakon revizije korijenskog kanala (Volumen II) i 3) nakon dodatnog eksperimentalnog protokola ispiranja (Volumen III) (Slika 25).

Volumen materijala za punjenje mjereno je pomoću industrijskog mikro-CT (Nikon XT H 225) uređaja sa žarišnom veličinom cilja $0,7 \mu\text{m}$ i 14-bitnim $400 \text{ mm} \times 300 \text{ mm}$ ravnim panel detektorom veličine piksela $127 \mu\text{m}$. Uzorci su mjereni na 80 kV i $60 \mu\text{A}$ korištenjem 1600 projekcija na vrijeme ekspozicije od 1s. Geometrijsko povećanje je bilo ≈ 100 , što je dalo strukturnu rezoluciju od $1,2 \mu\text{m}$. Volumen gutaperke mjereno je uz iste parametre. Svi uzorci su skenirani na istoj poziciji s iste postavke zračenja. Tijekom analize materijal za punjenje tretiran je kao inkluzija u osnovnom materijalu (tvrdo zubno tkivo), moguće zbog veoma izraženih vrijednosti sivih tonova zuba i materijala za punjenje. Rezultati su izraženi kao postotak materijala za punjenje u osnovnom materijalu (tvrdo zubno tkivo) (16).



Slika 25. Dio uzoraka izvađenih humanih zuba pripremljen za mikro-CT snimanje. Uzorci su za svako snimanje vraćani u točno određene pozicije kako bi točnost i usporedivost snimki bila što veća.

3.2.6. Statistička analiza

Smanjenje količine materijala za punjenje nakon svakog dijela protokola revizije analizirano je Kruskal-Wallisovim testom. Međugrupne analize provedene su Wilcoxonovim testom. Statistička značajnost postavljena je na $p < 0,05$. Sve statističke analize provedene su uporabom IBM SPSS Statistics for Windows verzija 23.0 (www.spss.com (pristupljeno 10. rujna 2022.)).

3.3. Istraživanje 3. Ispitivanje antimikrobne učinkovitosti SWEEPS tehnike u uklanjanju bakterijskog biofilma sa dentinskih pločica

3.3.1. Odabir i priprema uzoraka

Temeljem *power* analize (RM-ANOVA) razine značajnosti alfa = 0,05 te snage testa od 90 %, u istraživanje je bilo potrebno uključiti najmanje 11 uzoraka.

U istraživanju su upotrijebljeni izvađeni humani jednokorijenski i jednokanalni intaktni premolari koji nisu prethodno endodontski liječeni i nemaju karijesne lezije. Izrezivani su poprečni dentinski izbrusci iz srednje trećine korijenskog kanala tako da je uzorak fiksiran u akrilatne blokove te izrezan na dentinske pločice debljine 1 mm na Isomet pili (Isomet 1000, Buehler, Illinois, USA) (Slika 26) i obostrano poliran na uređaju koristeći polirne diskove triju različitih stupnjeva finoće (Presi France, P320, P1200). Dimenzije dentinskih diskova bile su približno iste, 5 x 5 mm.

Nakon pripreme uzoraka, isti su sterilizirani u vrućoj plazmi (Sterrad 100 NX, ASP, Schaffhausen, Švicarska).

Ukupno je na ovaj način pripremljeno 70 uzoraka, ukupno 17 po ispitivanoj skupini. U svakoj ispitivanoj skupini bilo je 13 uzoraka ($n = 13$) za kvantitativnu analizu te po dva uzorka za kvalitativnu analizu SEM i CFM mikroskopijom, ukupno 51 ispitivani uzorak. Kontrolni uzorci bili su raspoređeni po pet u skupini te po dvije za SEM i CFM mikroskopiju, ukupno 19 kontrolnih uzoraka.

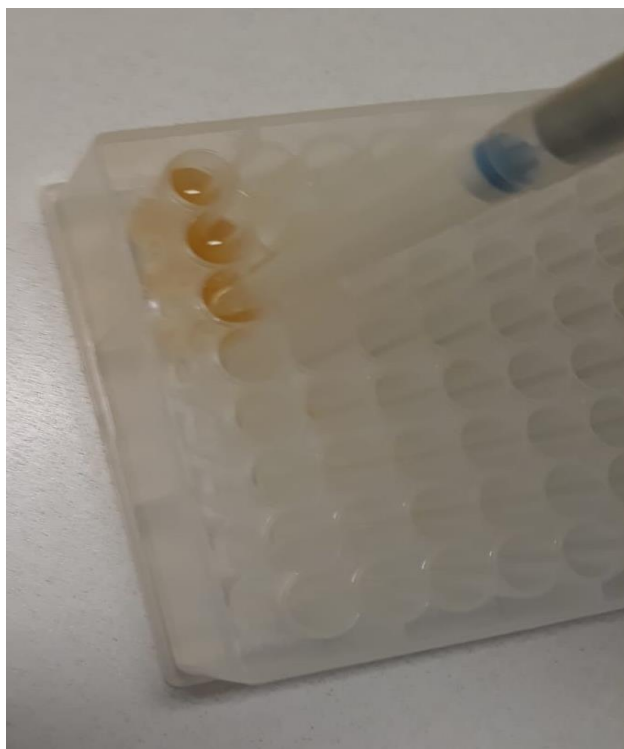


Slika 26. Rezanje dentinskih pločica debljine 1 mm na Isomet pili (Isomet 1000, Buehler, Illinois, USA)

3.3.2. Kreiranje *Enterococcus faecalis* biofilma

Za potrebe istraživanja korišten je tvornički soj *E. faecalis* (ATCC 29212, American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA). Pripremljena suspenzija bakterije *E. faecalis* (ATCC 29212) gustoće 0,5 McFarlanda (Densimat, BioMerieux, France) koristila se za stvaranje bakterijskog biofilma starog dva tjedna.

Sterilni dentinski diskovi postavljeni su u jažice volumena 1 ml u koje se zatim pipetom unosila hranjiva podloga, *brain hearth broth*. Svakih 48 h kroz 14 dana mijenjala se hranjiva podloga (Slika 27). U svakoj skupini rast bakterijskog biofilma potvrđen je na kontrolnim uzorcima kvantitativnom analizom (metoda kulture) i kvalitativnom analizom (SEM, CFM).



Slika 27. Uzgoj biofilma *E.faecalis* na dentinskim pločicama unutar sterilnih jažica volumena 1000 mikrolitara ispunjenih tekućom hranjivom podlogom. Izmjena hranjive podloge (*brain hearth broth*) svakih 48h/14 dana.

3.3.3. Tretiranje uzoraka s uzgojenim biofilmom *E. Faecalis*

Nakon kreiranja biofilma uzorci su nasumično raspoređeni u 4 skupine (n = 13).

Uzorci u kontrolnoj skupini nisu tretirani, a uzorci u eksperimentalnim skupinama tretirani su jednakim protokolom ispiranja za sve tri ispitivane metode.

3.3.3.1. Eksperimentalni protokoli ispiranja

Svaki uzorak umetnut je u jažice od 1 ml i podvrgnut protokolu ispiranja u trajanju od 90 s podijeljenim u 3 ciklusa po 30 sekundi 3 %-tnom otopinom NaOCl-a. Za svaki ciklus uzorak je premješten u novu jažicu sa svježim irigansom. Volumen irigansa u svakoj je jažici bio 500 µl. Nakon postupka ispiranja svaki uzorak uronjen je 30 sekundi u otopinu natrijeva tiosulfata u svrhu inaktivacije daljnjeg djelovanja NaOCl-a nakon prestanka eksperimentalnog protokola ispiranja. Posljednji korak podrazumijevao je blago ispiranje fiziološkom otopinom u vidu uranjanja dentinske pločice u jažicu sa sterilnom fiziološkom otopinom.

Skupina 1. SWEEPS (n = 13)

Po iznad opisanom eksperimentalnom protokolu ispiranja uzorci su tretirani laserom Er:YAG (LightWalker AT, Fotona, Ljubljana, Slovenija) koristeći radijalni nastavak promjera 600 µm, duljine 9 mm (Fotona, Ljubljana, Slovenija) tijekom 90 s podijeljenih u tri ciklusa od 30 s (Slika 28). Radijalni laserski vrh postavljen je nepomično na pristupni kavitet tijekom aktivacije. Parametri lasera bili su sljedeći: Auto SWEEPS način rada, energija pulsa 20 mJ, frekvencija pulsa 15 Hz, prosječna snaga 0,60 W, trajanje pulsa 25 µs te vršna snaga 800 W. Nakon svakog ciklusa aktivacije uzorak je prebačen u jažicu sa svježim irigansom. Završno je NaOCl inaktiviran natrijevim tiosulfatom, a uzorak ispran sterilnom fiziološkom otopinom kako je opisano.



Slika 28. Uzorak prije i nakon tretiranja SWEEPS® tehnikom

Skupina 2. UAI (n = 13)

Po gore opisanom zajedničkom eksperimentalnom protokolu, uzorci su aktivirani endodontskim ultrazvučnim nastavkom (Irri S, 25/25, VDW) postavljenim u endodontski ultrazvučni uređaj (VDW ULTRA; VDW, München, Njemačka) nepomično pozicioniranim unutar jažice i postavljen na snagu 20 (modalitet ispiranja)(Slika 29). Nakon svakog ciklusa uzorak je prebačen u jažicu sa svježim irigansom. Završno je NaOCl inaktiviran natrijevim tiosulfatom, a uzorak ispran sterilnom fiziološkom otopinom kako je opisano.



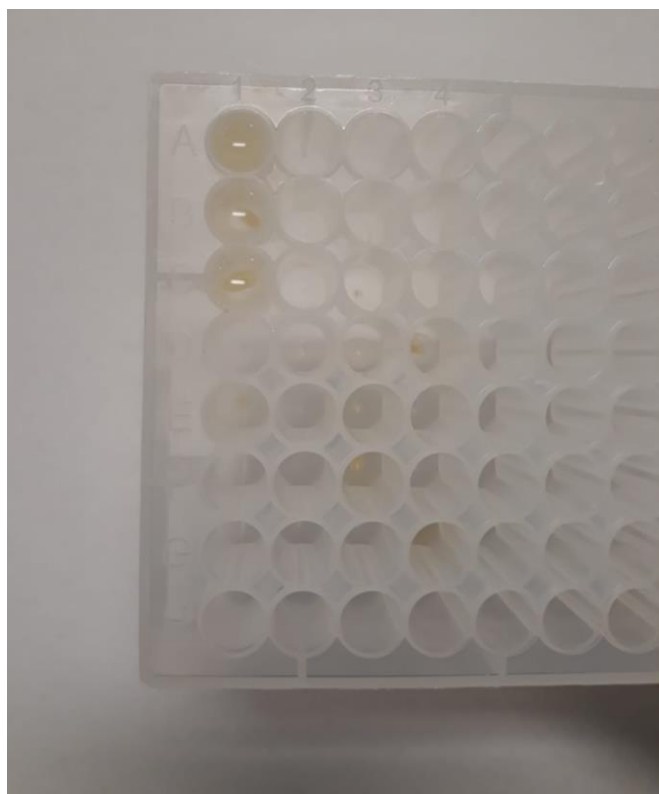
Slika 29. Ultrazvučno aktivirano ispiranje uzoraka dentinskih pločica s uzgojenim 14-dnevnim *E. faecalis* biofilmom

Skupina 3. Konvencionalno ispiranje iglom i špricom (KI, engl. *syringe needle irrigation*, SNI)

Po iznad opisanom eksperimentalnom protokolu uzorci su uranjeni u 3 ciklusa po 30 s u 3 jažice s 500 μ l 3 %-tnog NaOCl-a (Slika 30) koji je potom inaktiviran natrijevim tiosulfatom, a uzorak ispran fiziološkom otopinom.

Skupina 4. Kontrolna skupina (n = 15)

Uzorci bez tretmana. Po 5 uzoraka raspoređeno u svaku ispitivanu skupinu.



Slika 30. Konvencionalno ispiranje uzoraka dentinskih pločica uranjanjem u jažice ispunjenje NaOCl-om

3.3.4. Mikrobiološka analiza metodom kulture

Uzorci dentinskih diskova su vorteksirani (V-1 plus, Biosan, Riga, Latvija) u 500 μ l sterilne fiziološke otopine u trajanju od 30 sekundi na *touch modeu* kako bi se dobila suspenzija s prisutnim bakterijskim biofilmom (Slika 31) koja se potom nanosila na krvne agare mikropipetom u točnim razrjeđenjima. Razrjeđenja su spravljena u mikrotitarskim pločicama: 20 μ l pripremljenog mikrobiološkog uzorka je dodavano u jažice u kojima se nalazi 180 μ l Mueller-Hinton *brotha*. Nakon što su spravljena razrjeđenja, pipetom se nanosilo točno 10 μ l na svako polje na pločama krvnog agara počevši od najvećeg razrjeđenja prema najmanjem. Uzorci su inkubirani 24 h u komori na 37 °C. Nakon 24 h očitani su rezultati, izbrojane i izračunate bakterijske kolonije te određen broj poraslih kolonija (engl. *colony forming units*, CFU) prema stupnju razrjeđenja.



Slika 31. Vorteksiranje dentinskih diskova s ciljem dobivanja suspenzije s preostalim prisutnim bakterijskim biofilmom nakon eksperimentalnog ispiranja uzoraka

3.3.5. SEM analiza

Dio uzoraka, po dva iz svake skupine, pripremljen je za SEM kvalitativnu analizu. Uzorci su na način da su uzorci najprije fiksirani u formalinu. A potom osušeni u, a potom dehidrirani u rastućim koncentracijama alkohola. Uzorci su analizirani na Institutu Ruđer Bošković .

Uzorci za SEM analizu nakon fiksacije u formalinu pripremaju se dehidracijom u serijskim otopinama koncentracijama alkohola počevši od najniže prema najvišoj koncentraciji. Svaki uzorak u svakoj koncentraciji alkohola ostaje uronjen 20 min. Koristile su se sljedeće koncentracije alkohola: 55 %, 60 %, 75 %, 80 %, 95 % (Slika 32). Zatim se uzorci izlažu sušenju metodom sušenja u kritičnoj točki gdje se voda mijenja s CO₂ pod tlakom od 80 bara (Slika 33).

SEM analiza je provedena na FE-SEM uređaju (*Field Emission Scanning Electron Microscope*), model JSM-7000F (Jeol Ltd., Tokyo, Japan) na Institutu Ruđer Bošković (Slike 34, 35).



Slika 32. Dehidracija uzoraka u alkoholnim otopinama (do maksimalne 95 % otopine etanola)



Slika 33. Sušenje u kritičnoj točki pod visokim tlakom (80 bara)



Slika 34. Pregledni elektronski mikroskop (JEOL JSM-7000F)

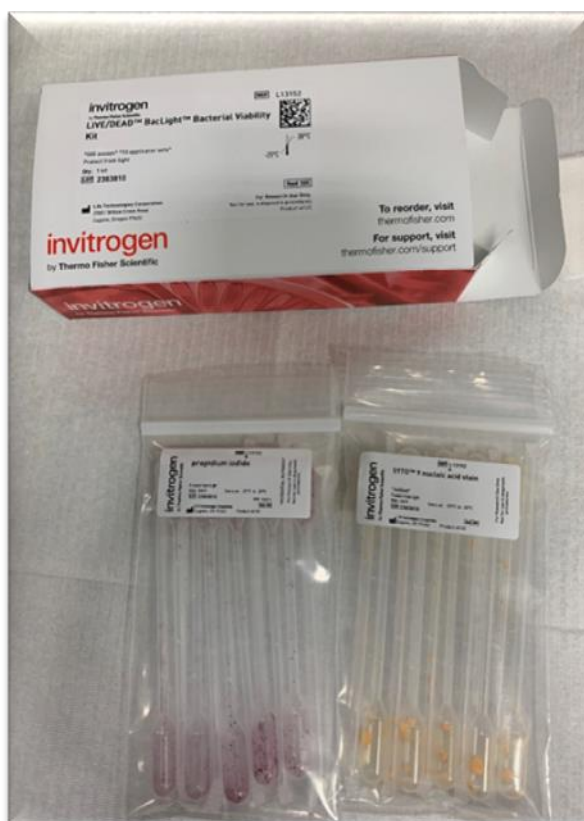


Slika 35. Uzorci pripremljeni u nosaču za SEM snimanje i analizu

3.3.6. Analiza uzoraka na konfokalnom laserskom mikroskopu

Konfokalna laserska mikroskopija provedena je na Institutu Ruđer Bošković, Zagreb.

Po dva uzorka iz svake skupine pripremljena su za kvalitativnu analizu konfokalnom laserskom mikroskopijom prema protokolu za pripremu bakterijskog materijala. Korišten je LIVE/DEAD kit (Invitrogen LIVE/DEAD BacLight Bacterial Viability kit), koji sadrži dvije boje SYTO 9 (zeleno fluorescencija) i propidijev jodid (crvena boja) (Slika 36). Sadržaj epruvete svake boje otopio se u 5 ml destilirane vode te su uzorci premazani i inkubirani 20 minuta na 25 °C. Uzorci su na kraju lagano isprani fiziološkom otopinom. Bojanjem uzoraka, zelena boja veže se za staničnu stijenku živih bakterija, a crvena boja na bakterije s oštećenom staničnom stijenkom. Nakon bojanja, uzorci su analizirani konfokalnom laserskom mikroskopijom (Leica TSC SP8 (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Njemačka)).



Slika 36. Invitrogen LIVE/DEAD BacLight Bacterial Viability kit

3.3.7. Statistička analiza

Za distribuciju rezultata i usporedbu broja kolonija *E. faecalis* prije i poslije tretiranja testiranim metodama rabljen je neparametrijski Mann-Whitneyjev U test zbog nehomogenosti podataka ($p < 0,05$).

Testovi su izrađeni uz razinu značajnosti $p = 0,05$. Za statističku analizu podataka korišten je programski paket IBM Statistics 19.0.0.1. (StatSoft, Tulsa, OK, SAD).

4. REZULTATI

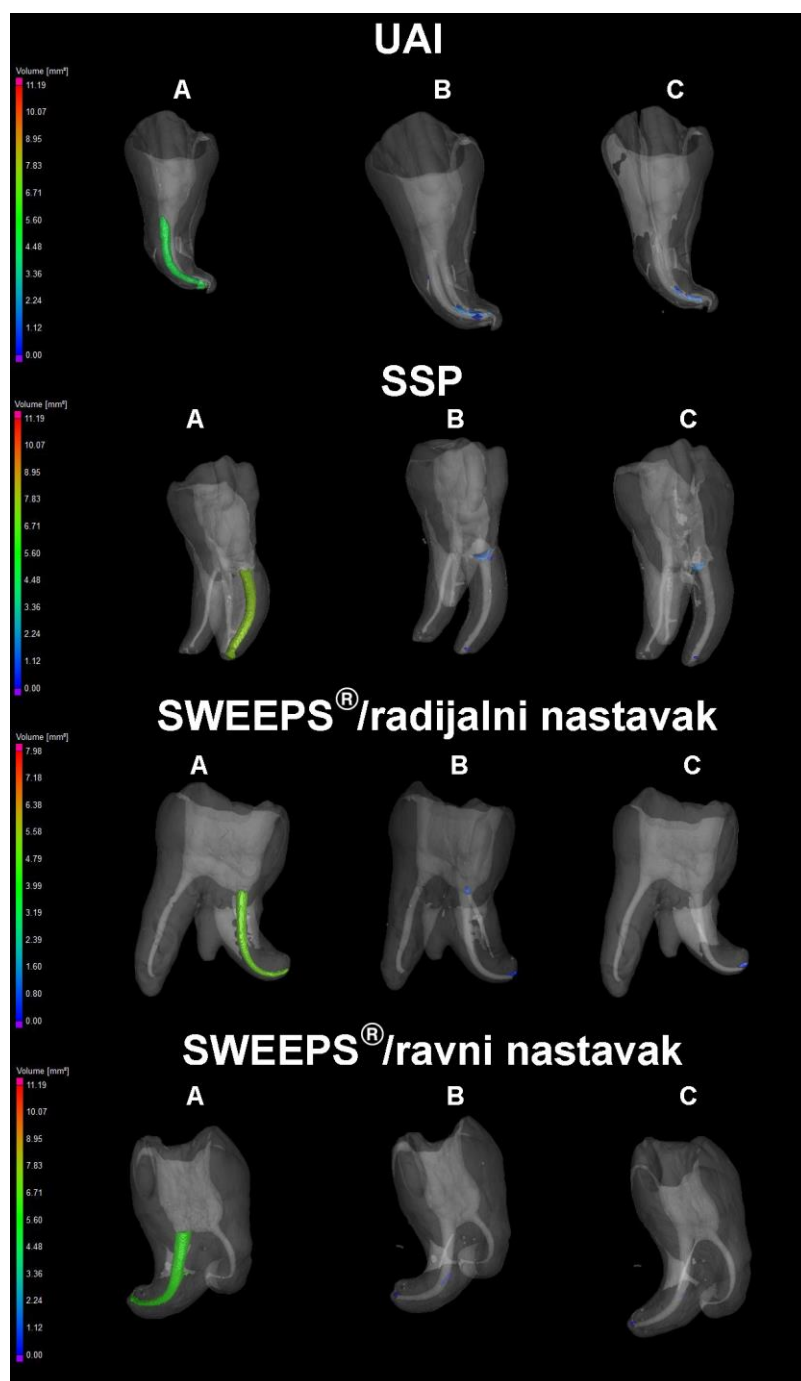
4.1. Istraživanje 1. Ispitivanje učinkovitosti SWEEPS tehnike u uklanjanju ostataka punila iz zavijenih korijenskih kanala nakon konvencionalnog postupka revizije

Rezultati su pokazali da je početni volumen materijala za punjenje bio sličan u svim skupinama što potvrđuje standardiziranost uzoraka na početku istraživanja (srednja vrijednost: 6,36–7,09 mm³; $p > 0,05$;). Nakon standardnog postupka revizije nije bilo statistički značajne razlike između skupina ($p > 0,05$). Analiza unutar svake skupine pokazala je da je i standardni postupak revizije, kao i dodatni završni protokol ispiranja, uklonio značajnu količinu materijala za punjenje u svim skupinama ($p < 0,001$). U skupini LAI/SSP, jedan uzorak je bio potpuno bez materijala za punjenje nakon završnog protokola ispiranja. Kod ostalih uzoraka u svim skupinama, zaostala je količina punila i nakon završnog protokola ispiranja (Tablica 1).

Slika 37 pokazuje trodimenzionalne mikro-CT modele izabranih uzoraka zuba nakon punjenja korijenskog kanala (A), nakon revizije (B) i nakon završnog protokola ispiranja (C) u svakoj skupini.

Tablica 1. pokazuje (u mm³) volumen materijala za punjenje nakon punjenja korijenskog kanala (Volumen I), nakon revizije (Volumen II), i nakon eksperimentalnog protokola ispiranja (Volumen III) te stupanj redukcije materijala za punjenje nakon svake faze revizije.

LAI/SSP tehnika ispiranja pokazala je statistički značajno veće smanjenje volumena materijala za punjanje (volumen III u usporedbi s volumenom II) u usporedbi sa skupinom SWEEPS/ravni nastavak ($p = 0,032$). Nije bilo statistički značajne razlika u učinkovitosti uklanjanja zaostalog materijala za punjenje od ostalih protokola ispiranja ($p > 0,05$) (Slika 38).



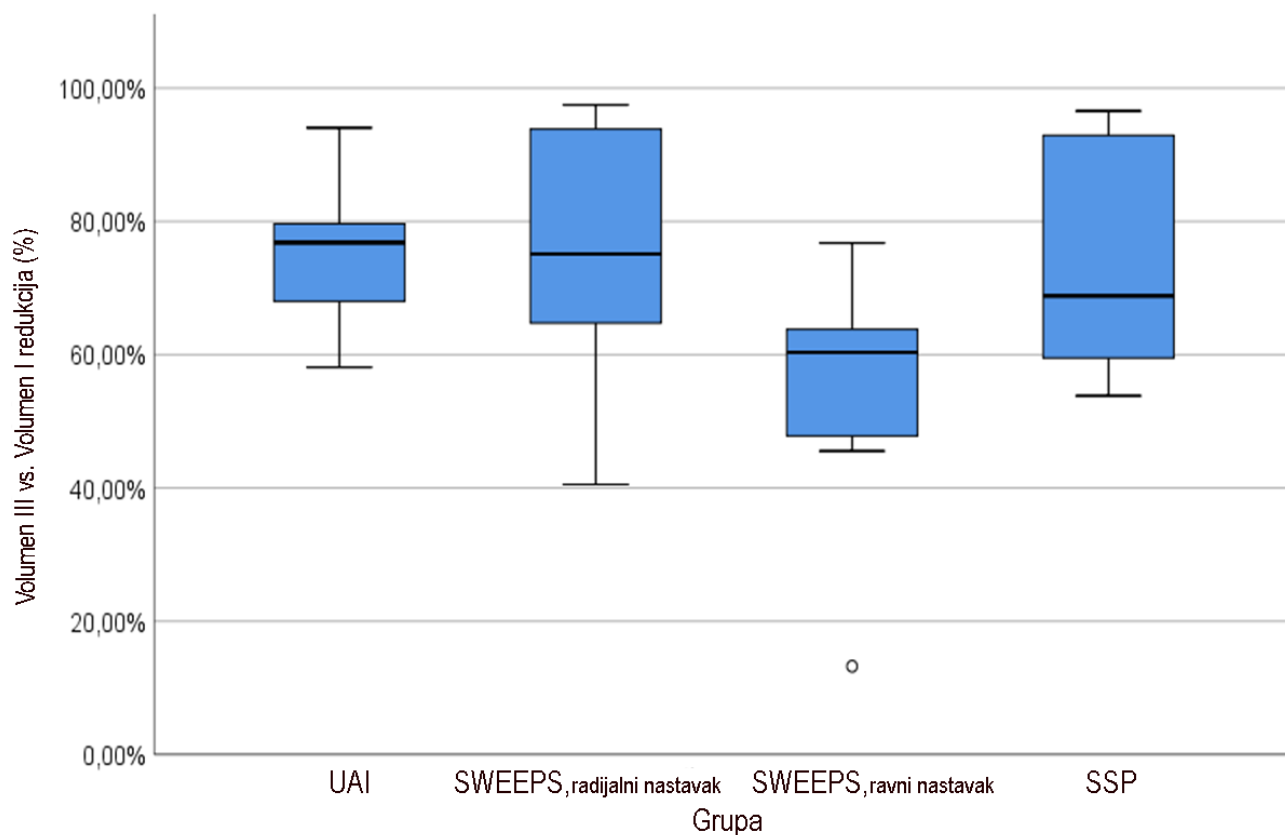
Slika 37. Trodimenzionalne mikro-CT slike reprezentativnog uzorka iz svake skupine (UAI, SSP, SWEEPS/konični, SWEEPS/radijalni) nakon punjenja kanala (A), nakon revizije kanala (B), nakon eksperimentalnog protokola ispiranja (C)

UAI- ultrazvučno aktivirano ispiranje, SSP- *Super short pulse* SWEEPS- *Schock wave enhanced emission photoacoustic streaming*

Tablica 1. Prikaz volumena (u mm³) materijala za punjenje nakon punjenja korijenskog kanala (Volumen I), nakon revizije (Volumen II), i nakon eksperimentalnog protokola ispiranja (Volumen III). Prikaz stope smanjenja (u %) volumena materijala za punjenje u svakoj fazi ponovne obrade.

Volumen materijala za punjenje	Skupina	Srednja vrijednost	Standardna Devijacija	Minimum	Maksimum	50ti (Median)
I- mm ³	UAI	7,09	1,85	4,3	9,76	7,27
	SWEEPS/radijalni	6,66	1,1	4,67	8,02	6,66
	SWEEPS/ravni	7,08	1,98	4,19	9,82	7,07
	SSP/radijalni	6,36	2,63	3,31	10,24	5,26
II - mm ³	UAI	1,83	1,76	0,25	4,37	0,94
	SWEEPS/radijalni	0,98	0,75	0,36	2,68	0,81
	SWEEPS/ravni	2,22	1,31	0,25	3,97	2,35
	SSP/radijalni	0,86	1,11	0,04	3,13	0,41
III- mm ³	UAI	1,43	1,52	0,09	4,09	0,75
	SWEEPS/radijalni	0,77	0,78	0,21	2,52	0,56
	SWEEPS/ravni	1,98	1,24	0,18	3,74	1,98
	SSP/radijalni	0,70	1,01	0	2,65	0,29
II. vs. I redukcija (%)	UAI	76,6	18,65	55,23	95,29	80,31
	SWEEPS/radijalni	84,50	11,71	62,73	95,14	89,07
	SWEEPS/ravni	69,61	17,32	40,69	94,27	68,32
	SSP/radijalni	86,96	14,99	54,75	99,14	93,35
III. vs. I redukcija (%)	UAI	82,01	16,26	58,09	98,52	84,21
	SWEEPS/radijalni	87,96	11,91	64,95	97,15	91,43
	SWEEPS/ravni	73,00	16,02	45,55	95,70	71,01
	SSP/radijalni	89,44	14,39	57,22	100,00	95,77
III. vs. II redukcija (%)	UAI	31,22	26,57	6,41	75,00	19,77
	SWEEPS/radijalni	31,58	20,62	5,97	63,16	30,70
	SWEEPS/ravni	14,91	10,05	5,79	38,19	10,9*
	SSP/radijalni	43,79	33,83	5,46	100,00	36,36*

SWEEPS- *Shock Wave Enhanced Emission Photoacoustic Streaming*, UAI – ultrazvučno aktivirano ispiranje, SSP- *Super Short Pulse*



Slika 38. Grafički prikaz stupnja smanjenja materijala za punjenje nakon završnog protokola ispiranja (Volumen III) u usporedbi s početnim volumenom nakon punjenja kanala (Volumen I); UAI- ultrazvučno aktivirano ispiranje, SSP- *Super short pulse* , SWEEPS- *Schock wave enhanced emission photoacoustic streaming*

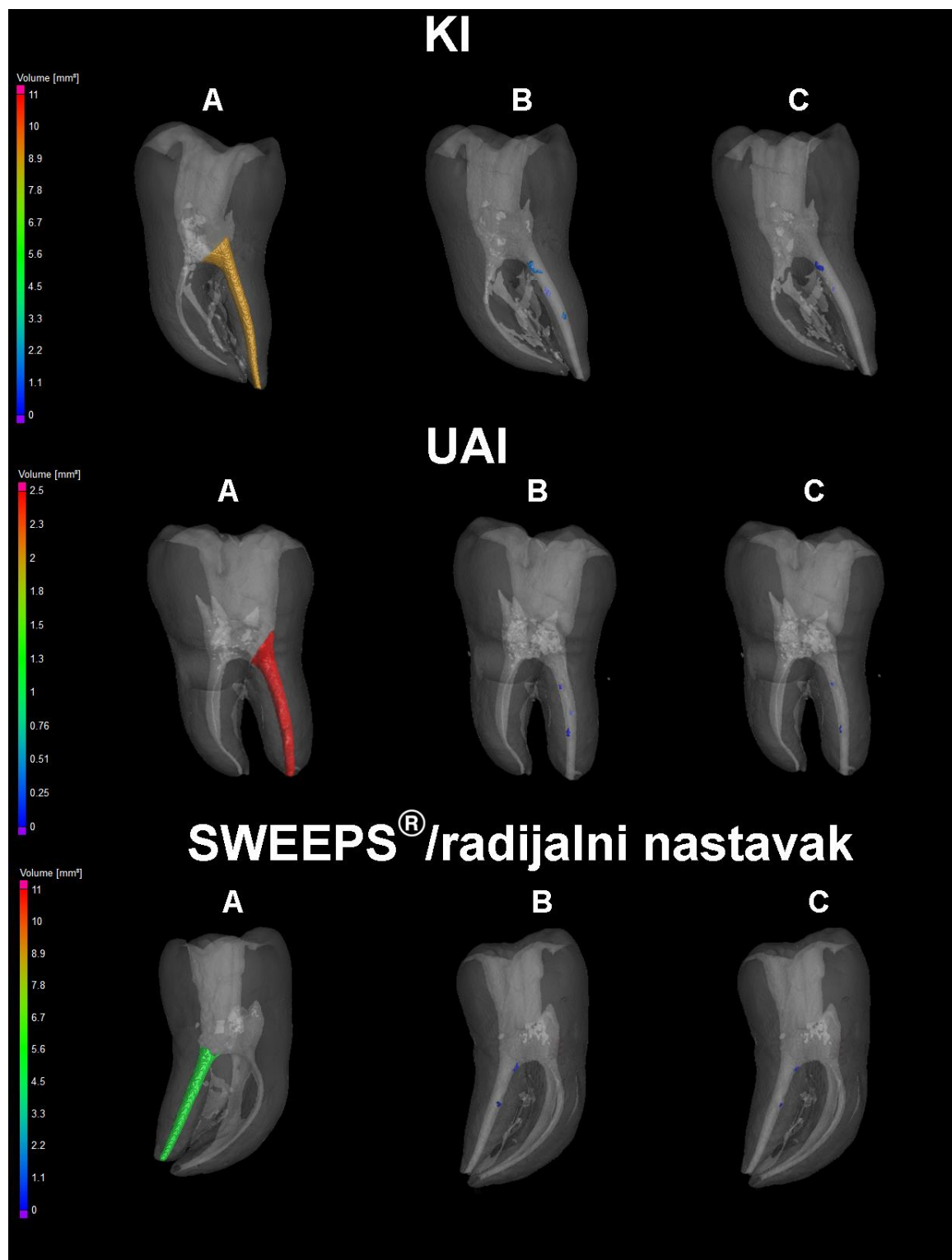
4.2. Istraživanje 2. Ispitivanje učinkovitosti SWEEPS tehnike u uklanjanju ostataka punila nakon konvencionalnog postupka revizije ovalnih korijenskih kanala

Analiza volumena punjenja kanala na početku nije pokazala statistički značajne razlike između skupina (prosjeak 6,08–6,95 mm³, $p > 0,05$).

Konvencionalna kemo-mehanička revizija (Volumen II u usporedbi s Volumenom I) i završno ispiranje kanala (Volumen III u usporedbi s Volumenom II) značajno su pridonijeli uklanjanju materijala za punjenje (gutaperka + biokeramičko punilo) unutar svake skupine ($p < 0,001$, $p < 0,008$) (Slika 39). U skupini SWEEPS, tri uzorka su bila bez ostataka punila nakon završnog protokola, a u skupini UAI jedan uzorak.

Rezultati nisu pokazali statistički značajnu razliku u stupnju smanjenja materijala za punjenje između skupinu, u bilo kojoj fazi revizije (Volumen II vs Volumen I i Volumen III vs Volumen II) ($p > 0,05$).

Tablica 2. prikazuje volumen materijala za punjenje i stupanj redukcije početnog volumena materijala za punjenje (Volumen I) u mm³ nakon svake faze eksperimentalnog protokola i za svaku skupinu. Tablica 2. također prikazuje stupanj smanjenja (%) materijala za punjenje nakon postupka revizije (Volumen II) u usporedbi s Volumenom I te nakon eksperimentalnog protokola ispiranja (volumen III) u usporedbi s početnim volumenima materijala (Volumen I) i nakon kemo-mehaničke revizije (Volumen II) za svaki od testiranih konačnih protokola ispiranja.



Slika 39 . Trodimenzionalni prikazi zuba unutar svake skupine: A) nakon punjenja kanala, B) nakon revizije kanala, C) nakon eksperimentalnog protokola ispiranja
KI- konvencionalno ispiranje, SSP- *Super short pulse* SWEEPS- *Schock wave enhanced emission photoacoustic streaming*

Tablica 2. Prikaz volumena (u mm³) materijala za punjenje nakon punjenja korijenskog kanala (Volumen I), nakon revizije (Volumen II), i nakon eksperimentalnog protokola ispiranja (Volumen III). Prikaz stope smanjenja (u %) volumena materijala za punjenje u svakoj fazi ponovne obrade.

Skupina		Srednja vrijednost	SD	Minimum	Maksimum	Percentile		
						25-ta	50-ti (Median)	75-ta
Volumen I (mm ³)	KI	6,08	1,88	3,80	9,70	4,10	6,30	7,05
	SWEEPS/radijalni	6,95	3,42	3,47	16,00	4,68	5,98	8,20
	UAI	6,49	2,64	3,90	12,00	4,59	5,26	8,45
Volumen II (mm ³)	KI	0,85	0,57	0,11	1,85	0,36	0,81	1,25
	SWEEPS/radijalni	0,72	0,72	0,01	2,33	0,17	0,51	0,94
	UAI	0,89	0,80	0,05	2,89	0,32	0,63	1,46
Volumen III (mm ³)	KI	0,71	0,57	0,05	1,74	0,26	0,48	1,17
	SWEEPS/radijalni	0,42	0,59	0,00	2,19	0,00	0,26	0,59
	UAI	0,58	0,53	0,00	1,55	0,15	0,36	1,16
Razlika volumen II vs. I (%)	KI	-86,61%	7,67%	-97,11%	-72,78%	-93,25%	-85,56%	-81,46%
	SWEEPS/radijalni	-90,90%	7,05%	-99,75%	-76,74%	-96,75%	-91,89%	-86,02%
	UAI	-87,20%	9,36%	-98,88%	-69,61%	-93,59%	-90,45%	-79,43%
Razlika volumen III vs. I (%)	KI	-88,74%	8,08%	-99,16%	-74,42%	-95,38%	-89,52%	-82,75%
	SWEEPS/radijalni	-95,12%	6,08%	-100,00%	-78,05%	-99,94%	-97,31%	-91,74%
	UAI	-91,15%	8,85%	-100,00%	-69,61%	-96,64%	-93,85%	-89,07%
Razlika volumen III vs. II (%)	KI	-22,89%	28,01%	-80,91%	0,00%	-42,26%	-9,75%	-2,08%
	SWEEPS/radijalni	-55,98%	36,99%	-100,00%	0,00%	-99,33%	-55,05%	-26,24%
	UAI	-36,24%	32,04%	-100,00%	0,00%	-60,58%	-25,33%	-7,58%

SWEEPS- *Shock Wave Enhanced Emission Photoacoustic Streaming*, UAI – ultrazvučno aktivirano ispiranje, KI – konvencionalno ispiranje

4.3. Istraživanje 3. Ispitivanje antimikrobne učinkovitosti SWEEPS tehnike u uklanjanju bakterijskog biofilma *Enterococcus faecalis* sa dentinskih izbrusaka

4.3.1. Rezultati kvantitativne metode kulture

U kontrolnoj skupini dokazan je porast biofilma *E. faeacalis-a* metodom kulture (Tablica 3) (Slika 40).

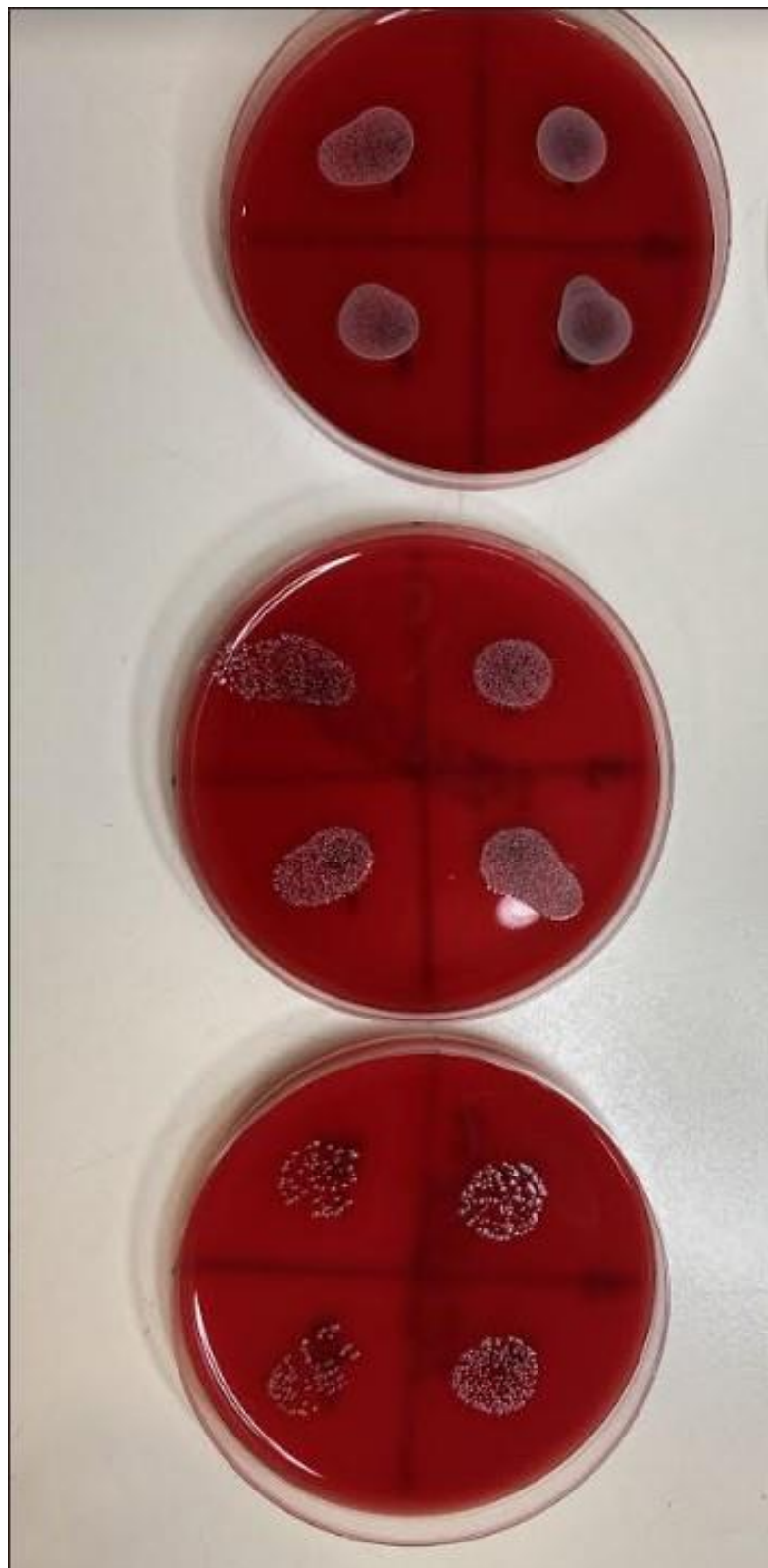
Tablica 3. pokazuje vrijednosti broja porasta kolonija (CFU) (minimalna, maksimalna, median) i usporedbu između skupina s p vrijednostima. Tehnike SWEEPS i UAI pokazali su statistički značajno smanjenje porasta kolonija *E. faeacalis-a* ($p < 0,001$). Skupina konvencionalnog ispiranja (KI) nije pokazala statistički značajno smanjenje broja kolonija *E. faeacalis-a* ($p = 0,553$).

Analiza rezultata između skupina pokazala je da je SWEEPS tehnika najučinkovitija u eliminaciji biofilma *E. faeacalis-a* ($p < 0,05$) (Slike 41-43).

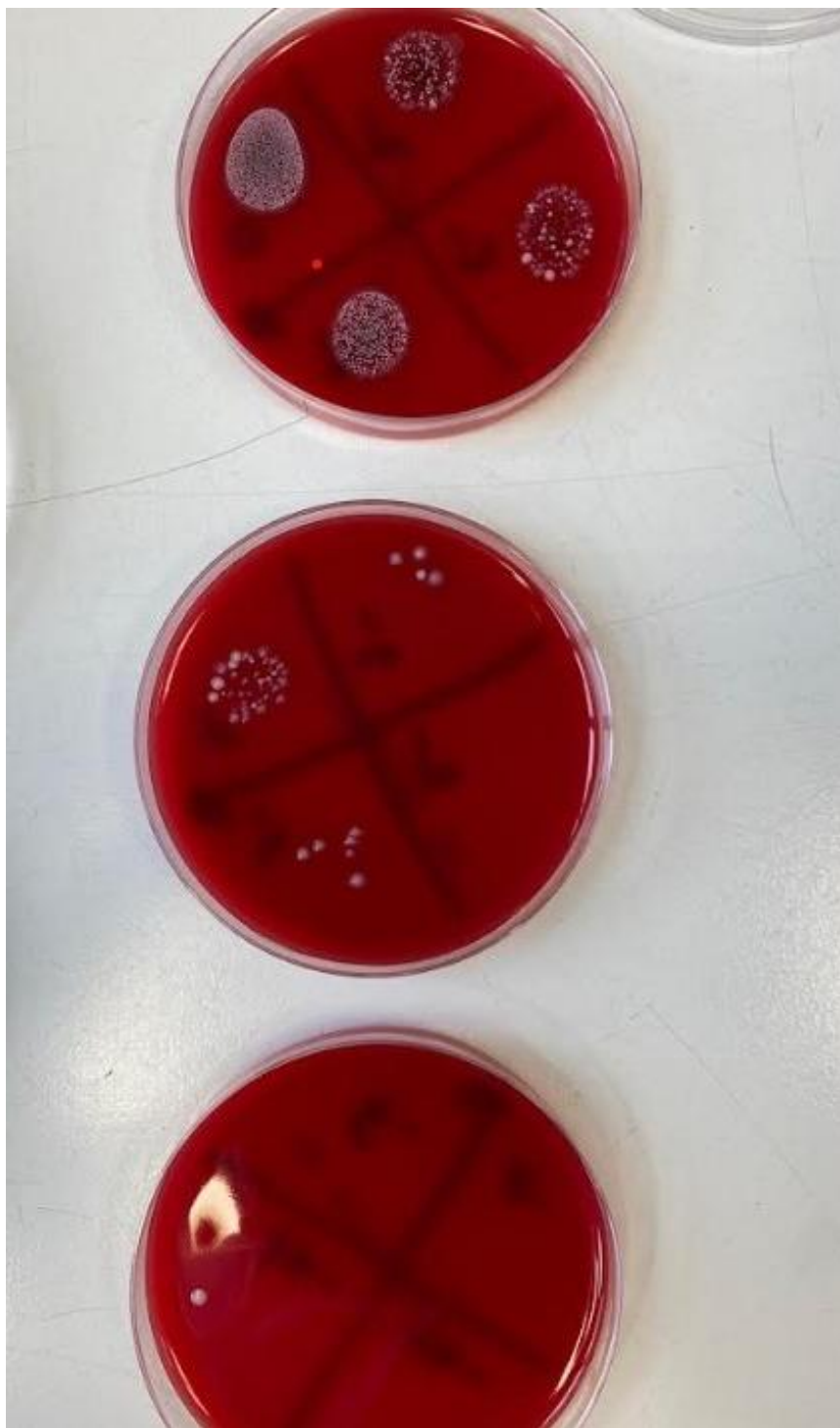
Tablica 3. Broj kolonija *E. faecalis* u svakoj skupini te razina značajnosti njihovog smanjenja nakon eksperimentalnog protokola ispiranja

		Broj uzoraka	Minimum	Maksimum	Percentila 25	Medijan	Percentila 75	Mann-Whitney U	Z	P	
Broj kolonija (CFU)	KI	Pozitivna kontrola	5	5,00E+07	2,50E+13	5,00E+08	5,00E+08	1,00E+10	26,50	-0,594	0,553
		Ispitivana skupina	13	1,00E+05	2,50E+13	5,00E+06	5,00E+08	5,00E+11			
	SWEEPS	Pozitivna kontrola	5	5,00E+12	3,50E+13	5,00E+12	1,00E+13	1,50E+13	0,00	-3,819	<0,001
		Ispitivana skupina	13	0,00E+00	5,00E+04	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00			
	UAI	Pozitivna kontrola	5	2,00E+13	1,00E+14	2,50E+13	7,00E+13	7,50E+13	0,00	-3,225	<0,001
		Ispitivana skupina	13	5,00E+05	2,00E+09	5,00E+06	5,00E+06	5,00E+08			

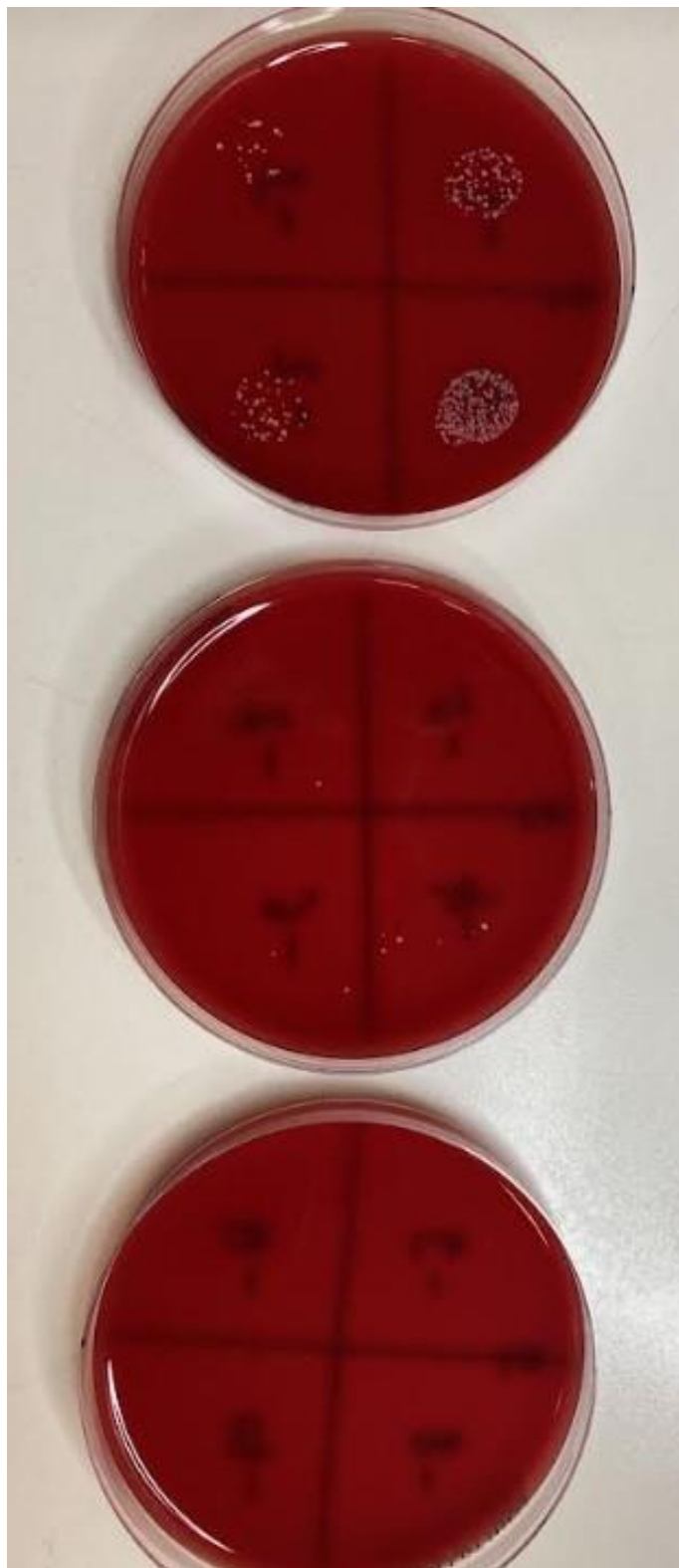
KI – konvencionalno ispiranje, SWEEPS- *Shock Wave Enhanced Emission Photoacoustic Streaming*, UAI – ultrazvučno aktivirano ispiranje, CFU- *colony forming unit*



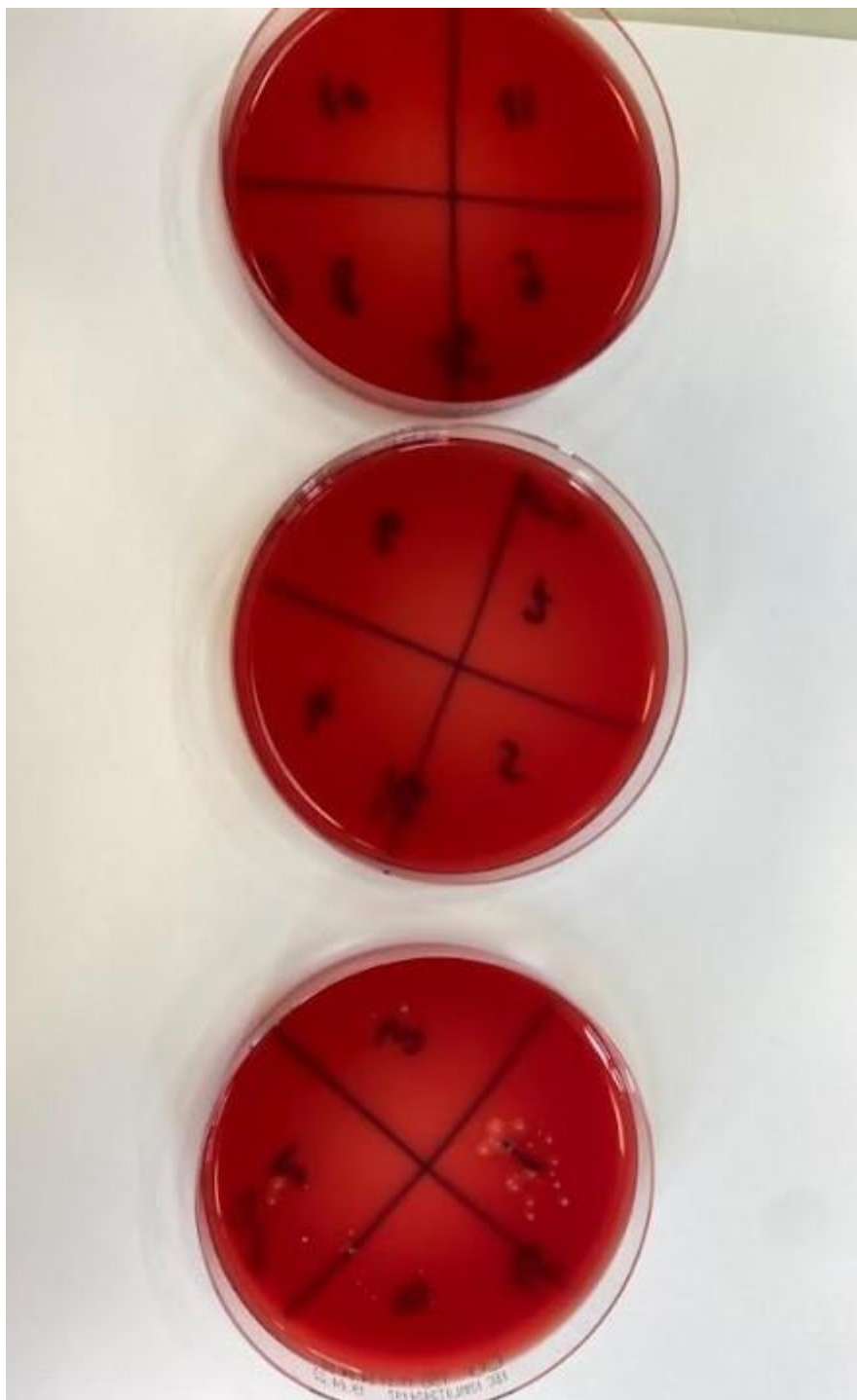
Slika 40. Porast kolonija *Enterococcus faecalis*-a na krvim pločama iz pozitivne kontrolne skupine



Slika 41. Porast *Enterococcus faecalis*-a na krvim pločama u skupini konvencionalnog ispiranja



Slika 42. Porast kolonija *Enterococcus faecalis*-a na krvim pločama u skupini pasivnog ultrazvučnog ispiranja

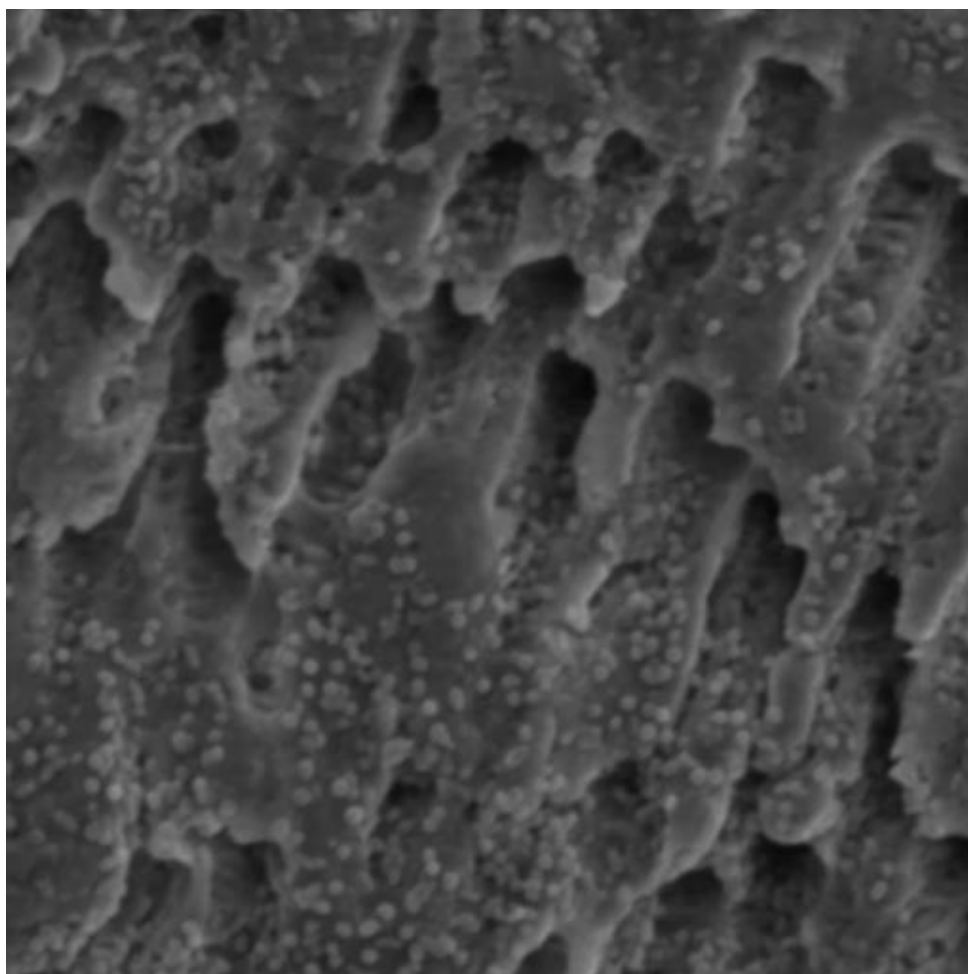


Slika 43. Porast kolonija *Enterococcus faecalis*-a na krvim pločama u skupini SWEEPS® laserski aktiviranog ispiranja

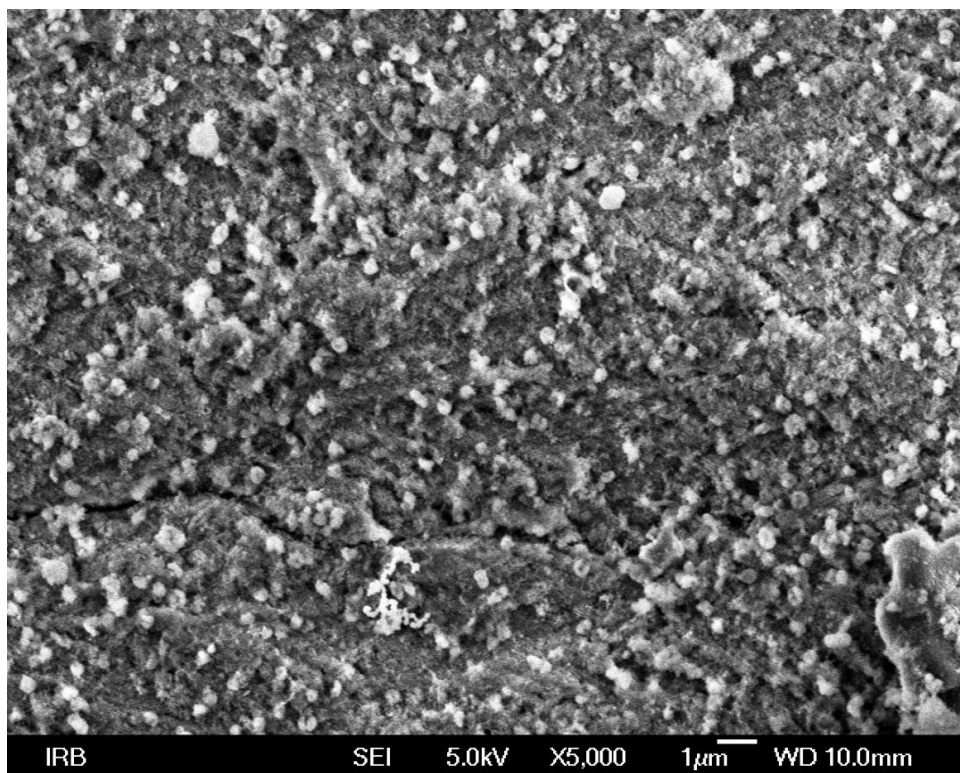
4.3.2. Rezultati SEM analize

Slika 44 pokazuje uzorak dentinske pločice kontrolne skupine s poraslim kolonijama *E. faeacalis-a* nakon 14 dana.

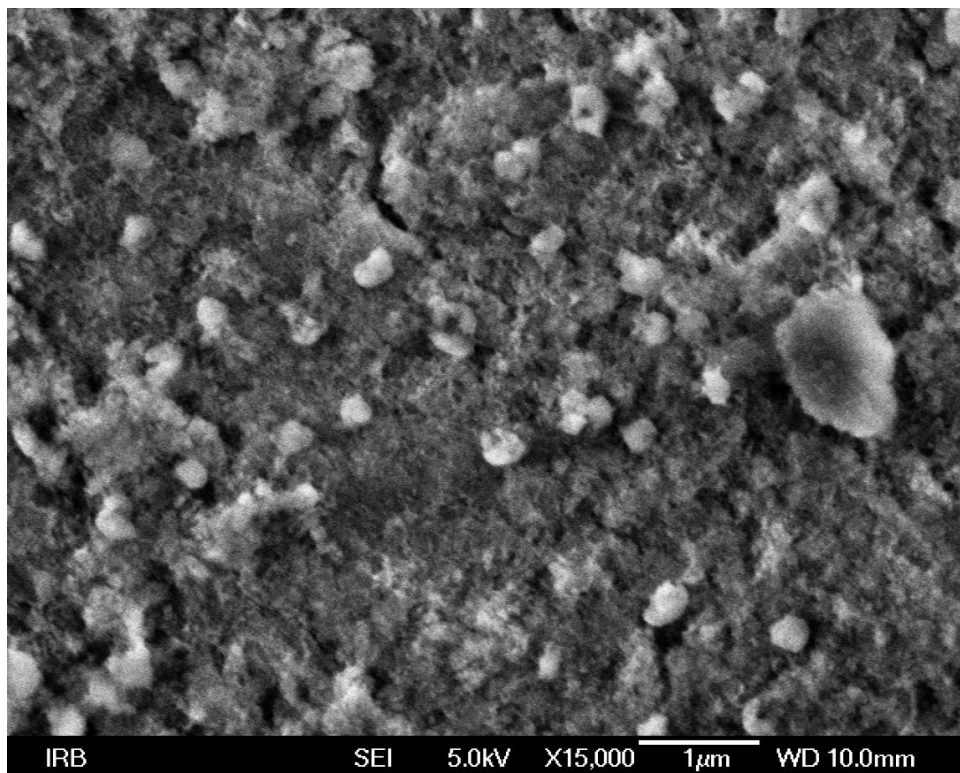
Slike 45 do 50 pokazuju uzorke dentinskih pločica s biofilmom *E. faecalis-a* nakon protokola ispiranja.



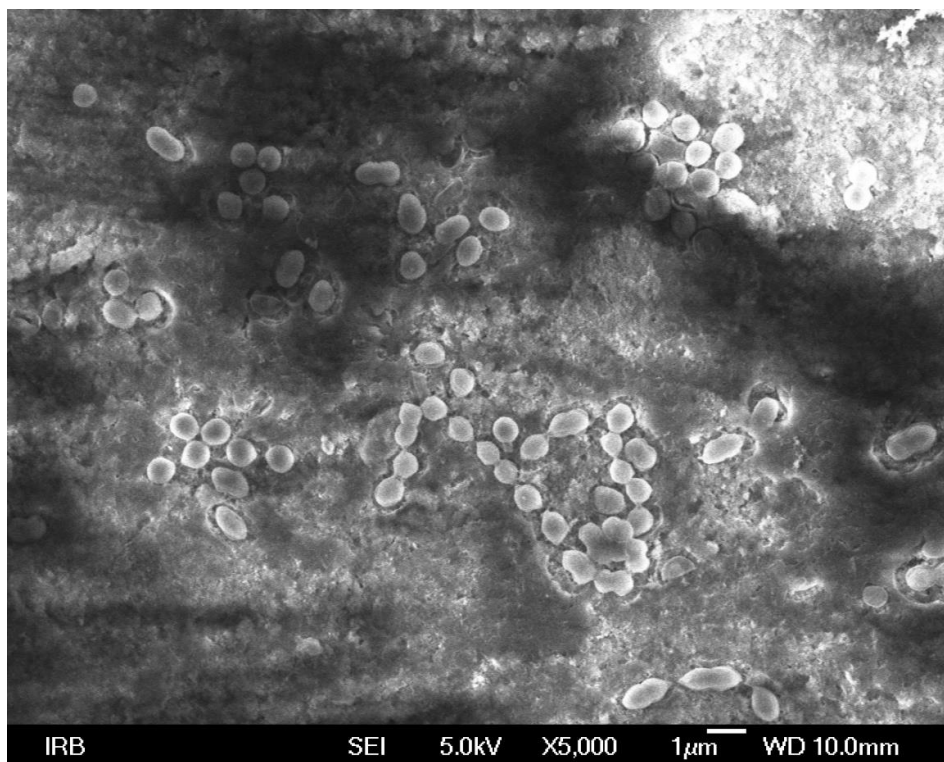
Slika 44. SEM snimka dentinskog diska kontrolne skupine s poraslim kolonijama *E.faeacalis-a*



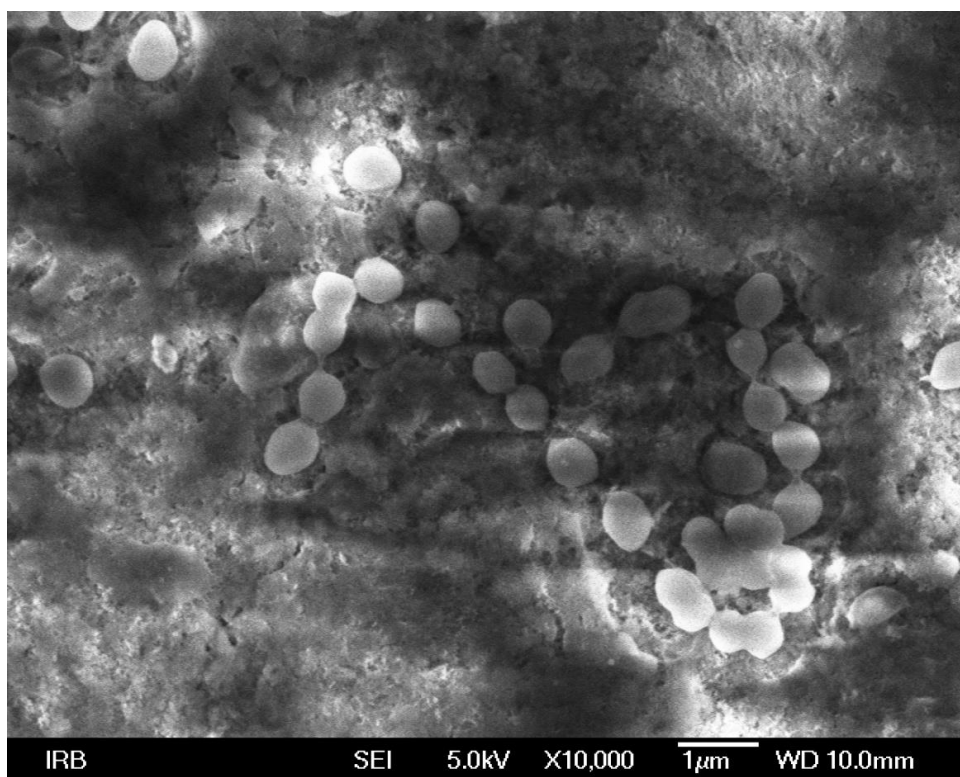
Slika 45. SEM snimka dentinskog diska skupine konvencionalnog ispiranja (povećanje 5000x): vidljive kolonije *E. faecalis-a*



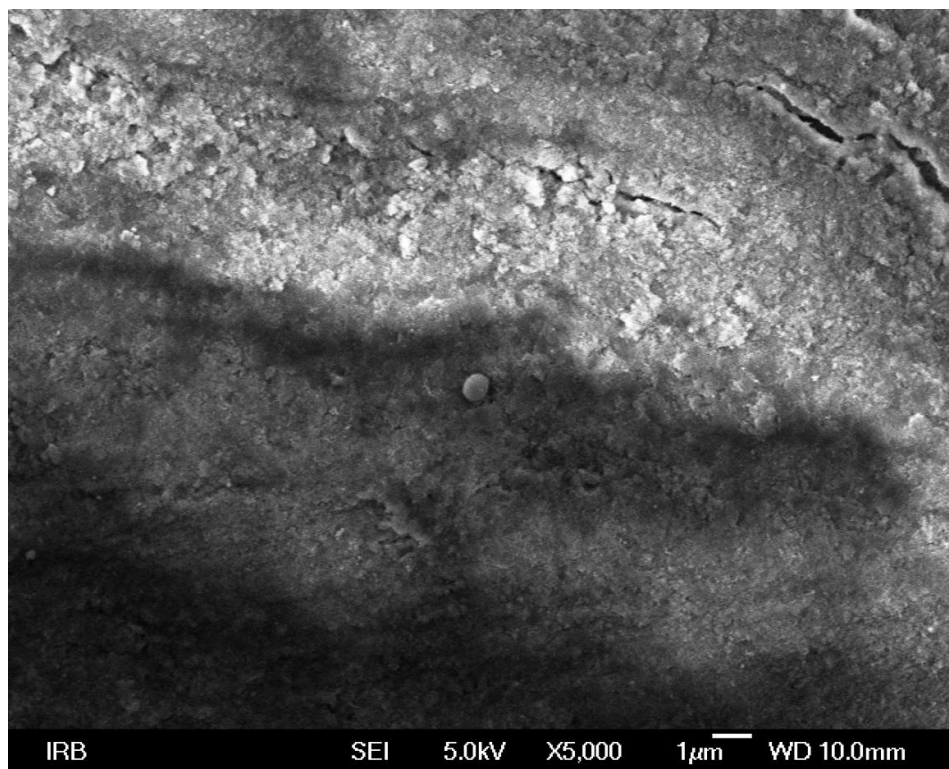
Slika 46. SEM snimka dentinskog diska skupine konvencionalnog ispiranja (povećanje 15000x): vidljive kolonije *E. faecalis-a* koje su grupirane



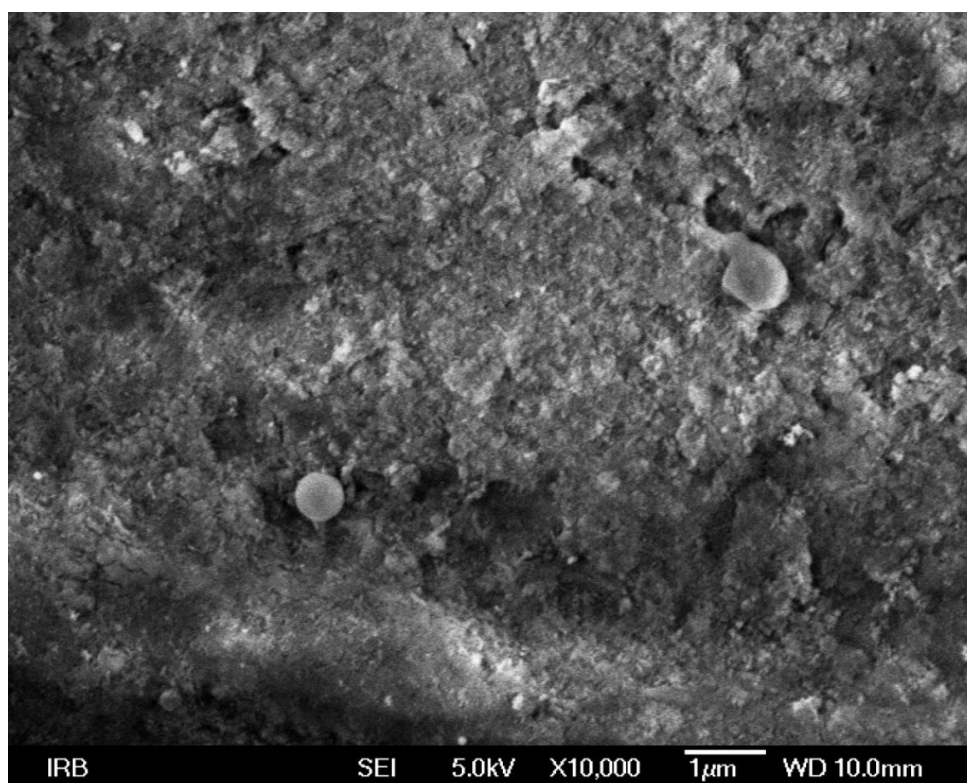
Slika 47. SEM snimka dentinskog diska skupine UAI (povećanje 5000x): vidljiv manji broj kolonija *E. faecalis*-a koje su grupirane u kraće i dulje lance



Slika 48. SEM snimka dentinskog diska skupine ultrazvučno aktiviranog ispiranja (povećanje 10000x): na većem povećanju preciznije vidljivi lanci *E. faecalis*-a



Slika 49. SEM snimka dentinskog diska skupine SWEEPS (povećanje 5000x): vidljiv mali broj izoliranih planktonskih stanica *E. faecalis*-a

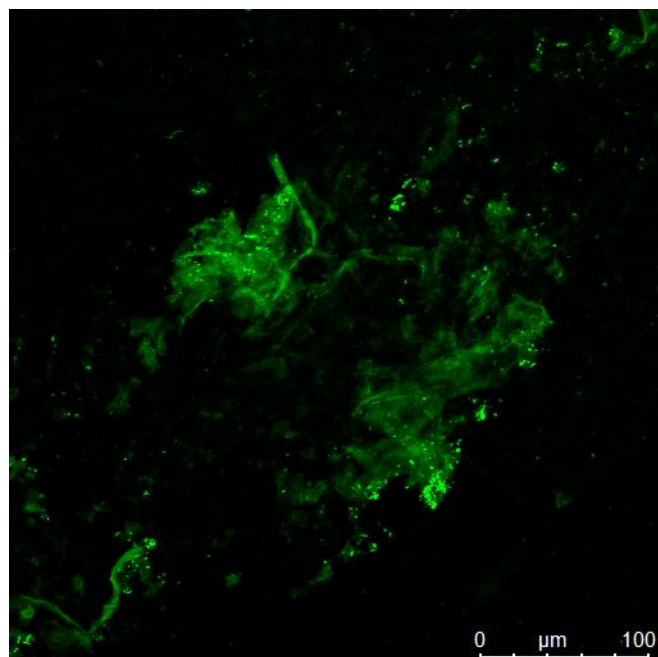


Slika 50. SEM snimka dentinskog diska skupine SWEEPS (povećanje 10000x): precizno vidljive čiste površine dentina uz samo nekoliko izoliranih planktonskih stanica *E. faecalis*-a

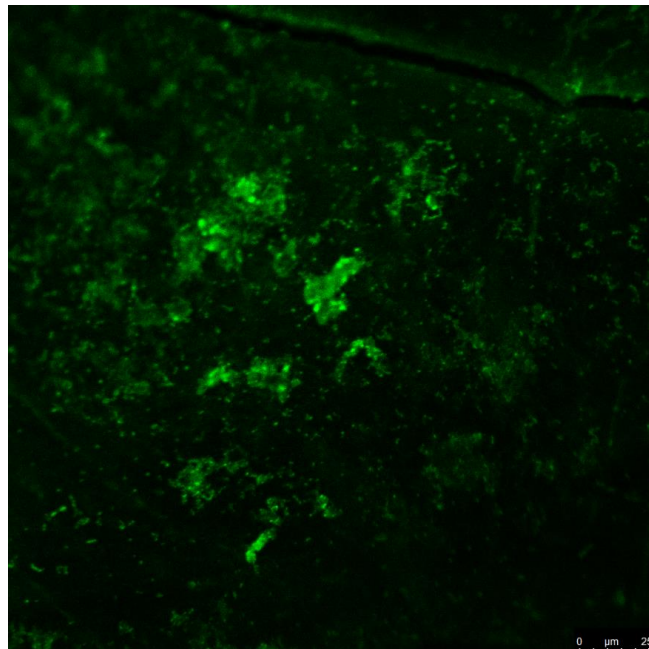
4.3.3. Rezultati CFLM analize

Na Slikama 51 i 52 prikazana je kolonizacija dentinskih pločica biofilmom bakterije *E. faecalis* nakon 14 dana inkubacije.

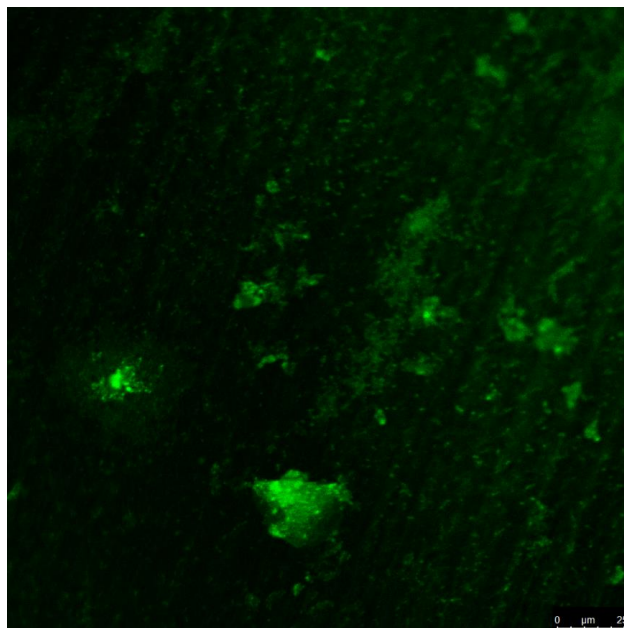
Slike 53 do 58 pokazuju uzorke dentinskih pločica s biofilmom *E. faecalis*-a nakon eksperimentalnih protokola ispiranja.



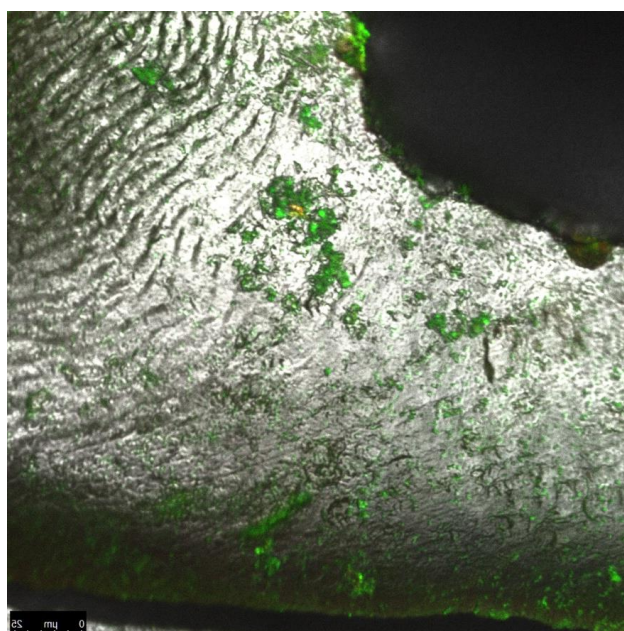
Slika 51. Snimka konfokalne laserske mikroskopije – porast kolonija *E. faecalis* bakterije iz prvog uzorka pozitivne kontrolne skupine. Veliki volumen zelenih nakupina predstavlja monobakterijski biofilm živih bakterija.



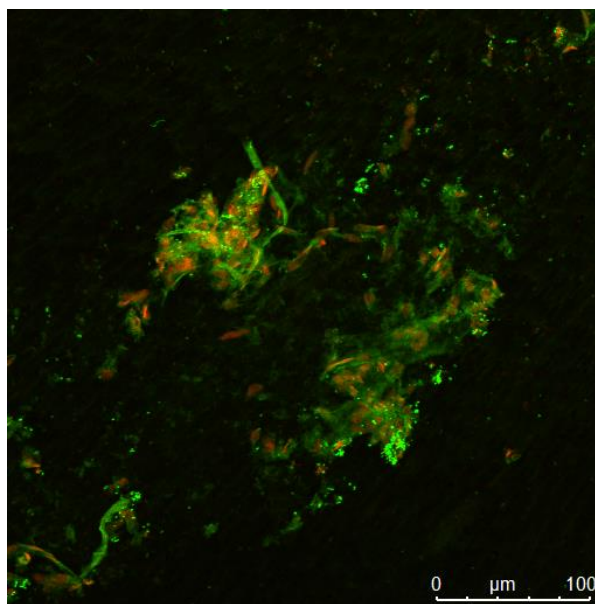
Slika 52. Snimka konfokalne laserske mikroskopije – porast kolonija *E. faecalis* bakterije iz drugog uzorka pozitivne kontrolne skupine. Veliki volumen zelenih nakupina predstavlja monobakterijski biofilm živih bakterija.



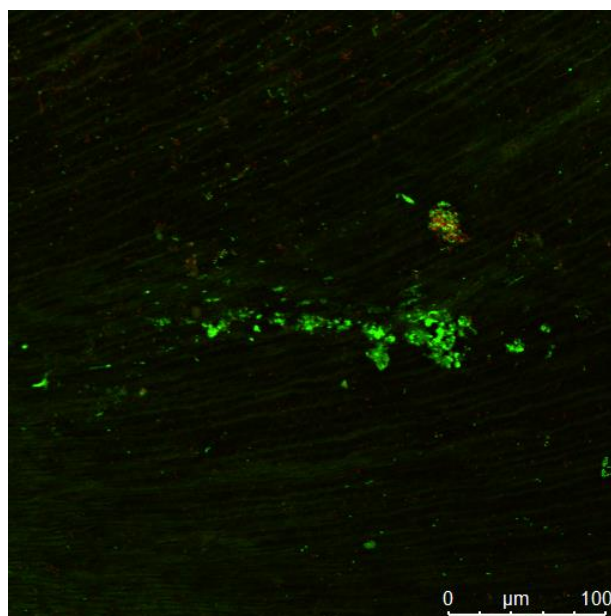
Slika 53. Snimka konfokalne laserske mikroskopije – porast kolonija *E.faecalis* bakterije iz prvog uzorka iz skupine konvencionalnog ispiranja. Rezultati pokazuju izrazito mali broj nakupina mrtvih bakterijskih stanica (crveno), dok je prisutan velik broj nakupina živih bakterijskih stanica i kolonija čvrsto adheriranih na dentinsku površinu (zeleno).



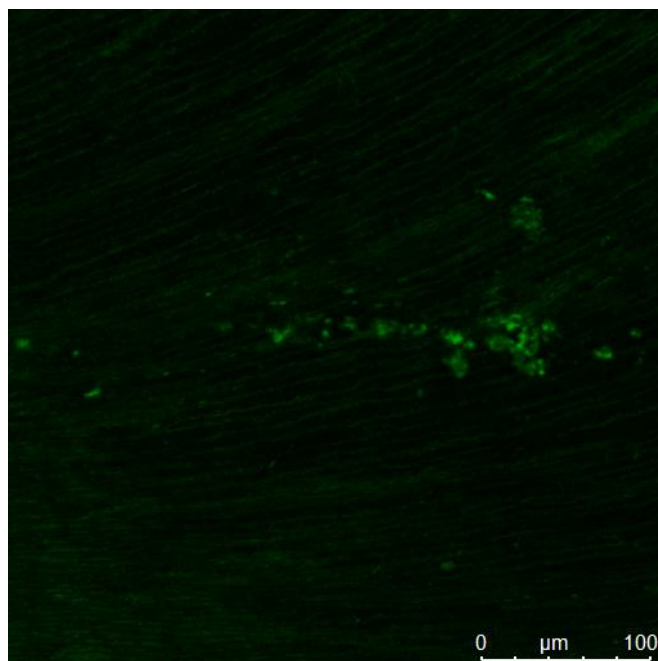
Slika 54. Snimka konfokalne laserske mikroskopije – porast kolonija *E.faecalis* bakterije iz drugog uzorka iz skupine konvencionalnog ispiranja. Rezultati pokazuju izrazito mali broj nakupina mrtvih bakterijskih stanica (crveno), dok je prisutan velik broj nakupina živih bakterijskih stanica i kolonija čvrsto adheriranih na dentinsku površinu (zeleno).



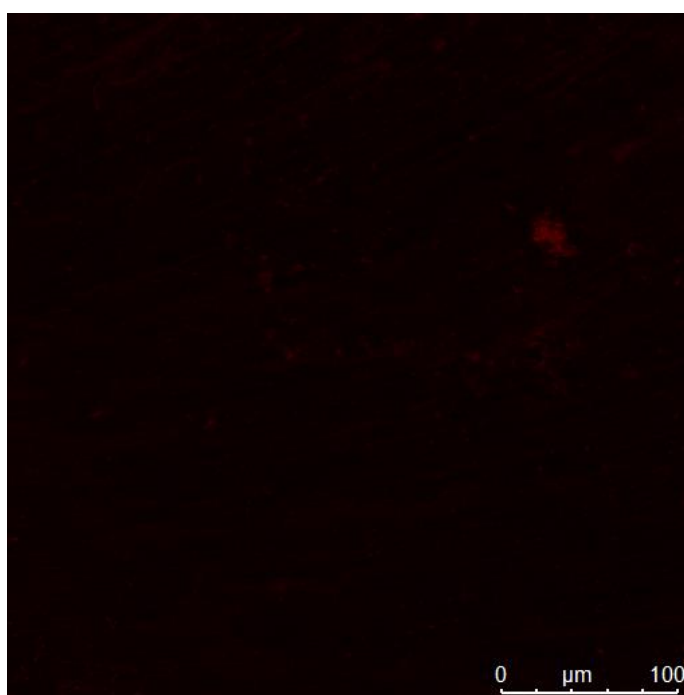
Slika 55. Snimka konfokalne laserske mikroskopije – porast kolonija *E. faecalis* bakterije iz prvog uzorka skupine ultrazvučno aktiviranog ispiranja. Primjećuje se manja gustoća živih kolonija (zeleno) nego na kontrolnom uzorku, a veća gustoća mrtvih bakterija (crveno).



Slika 56. Snimka konfokalne laserske mikroskopije – porast kolonija *E. faecalis* bakterije iz drugog uzorka iz skupine ultrazvučno aktiviranog ispiranja. Primjećuje se manja gustoća živih kolonija (zeleno) nego na kontrolnom uzorku.



Slika 57. Snimka konfokalne laserske mikroskopije – porast kolonija *E.faecalis* bakterije iz prvog uzorka iz skupine SWEEPS tehnike ispiranja. Primjećuje se vrlo mala gustoća živih kolonija (zeleno) i velika površina čistog dentina.



Slika 58. Snimka konfokalne laserske mikroskopije – porast kolonija *E.faecalis* bakterije iz drugog uzorka iz skupine SWEEPS tehnike ispiranja. Primjećuje se nekoliko područja nakupina mrtvih bakterija (crveno) i velika površina čistog dentina.

5. RASPRAVA

Laserski aktivirano ispiranje (LAI) spada u naprednu tehniku ispiranja kanala koja je visoko učinkovita u uklanjanju debrisa, zaostatnog sloja (239-241), pulpnog tkiva (242) i ostataka punjenja iz endodontskog prostora (187, 242, 243), i eradikaciji bakterijskih biofilmova (244). Novi Er:YAG modalitet LAI-a, SWEEPS, osmišljen je kako bi poboljšao stvaranje udarnih valova unutar korijenskog kanala, a time poboljšao ispiranje endodontskog prostora (245). SWEEPS tehnika nastala je kao modifikacija prethodne tehnike LAI-a, PIPS-a, čime se pokušao riješiti problem ograničenog stvaranja udarnih valova u složenoj anatomiji korijenskih kanala (245). Naime, unutar kanala dolazi do usporavanja dinamike mjehurića zbog trenja na zidovima kanala i ograničenog prostora za strujanje tekućine tijekom rasta i implozije mjehurića. Dodatni laserski puls u SWEEPS modalitetu emitira se s ciljem ubrzanja kolapsa inicijalnih i sekundarnih mjehurića, što potencijalno rezultira nastankom velikog broja udarnih valova duž cijelog kanala i posljedično boljim čišćenjem (246). Cilj doktorskog rada bio je ispitati doprinos SWEEPS tehnike u endodontskom liječenju, odnosno tijekom revizije u različitim anatomijama kanala (ovalni i uski, izrazito zavijeni) i usporediti ga sa standardnim aktivacijskim tehnikama, UAI i SSP modalitetom lasera Er:YAG, koji emitira samo jedan laserski puls. U trećem dijelu doktorskog rada, ispitana je antimikrobna učinkovitost SWEEPS tehnike i uspoređena s dosadašnjih aktivacijskim i pasivnim tehnikama ispiranja. U sva tri istraživanja, korišten je samo jedan irigans u završnom protokolu ispiranja, NaOCl, kako bi se postigla uniformnost u ispitivanjima te kako ne bi bilo dovedeno u pitanje na koji irigans je SWEEPS aktivacijska tehnika značajnije djelovala i koji je odgovoran za dobiveni rezultat.

Rezultati prvog ispitivanja koje je procjenjivalo učinkovitost aktivacijskog ispiranja u uklanjanju punila iz izrazito zavijenih korijenskih kanala pokazali su da SWEEPS i druge testirane aktivirane tehnike ispiranja (LAI/SSP i PUI) imaju opravdanu primjenu u reviziji endodontskog liječenja dodatno uklanjajući ostatke punjenja, u rasponu učinkovitosti srednjih vrijednosti od 14,9 (SWEEPS/ravni nastavak) do 43,79 % (LAI/SSP) nakon klasične revizije rotacijskim Ni-Ti instrumentima. Prema tome, prva nulta hipoteza koja predlaže da SWEEPS ne može učinkovito ukloniti ostatke materijala za punjenje je odbačena. Rezultati ove studije u skladu su s rezultatima prethodnih studija koje pokazuju značajno smanjenje ostataka materijala za punjenje od čak 74,16 % pri uporabi tehnike PIPS, ali u ravnim korijenskim kanalima (247) te 13 % redukcije materijala kada se koristi Er:YAG LAI i PIPS modalitet u ovalnim kanalima (248), dok učinkovitost PUI tehnike varira 16 – 89 % u različitim anatomijama kanala (242,

249, 250). U ovoj studiji samo je LAI/SSP tehnika u potpunosti eliminirala ostatke punjenja u jednom uzorku, dok je u drugim skupinama preostalo otprilike 0,70 – 1,98 mm³ materijala za punjenje. Još uvijek je dvojbeno ima li preostali materijal za punjenje klinički značaj, osobito ako se nalazi u srednjoj ili koronarnoj trećini korijenskog kanala (251). Prema studiji Nga i sur. (252), potpuno uklanjanje materijala za punjenje pomaže poboljšati pristup endodontskom prostoru korijenskog kanala, što onda omogućava bolju dezinfekciju i ponovno punjenje. U ovoj studiji pratila se ukupna količina preostalog materijala za punjenje u cijelom korijenskom kanalu, a ne po odvojenim trećinama kanala. Buduće studije trebale bi dodatno proučiti ovaj segment, osobito preostali materijal u apikalnoj trećini kanala. Naši rezultati pokazali su sličnu učinkovitost SWEEPS-a, SSP modaliteta i PUI-a u uklanjanju ostataka punjenja iz zakrivljenih okruglih korijenskih kanala nakon standardne kemomehaničke revizije endodontskog liječenja. Iako su do sada objavljene samo dvije studije na ovu temu, obje primjećuju bolju učinkovitost PIPS-a i SWEEPS-a od PUI-a u ovalnim i okruglim zakrivljenim korijenskim kanalima (92, 242). Razlika među rezultatima može se pripisati korištenom protokolu ispiranja. U ovoj studiji, dodatni protokoli ispiranja, koristeći PUI, SWEEPS i SSP modalitete, bili su primijenjeni odmah nakon ponovne NiTi rotacijske obrade kanala bez primjene EDTA, a protokol ispiranja trajao je 90 s podijeljenih u 3 ciklusa, dok su u prethodnim studijama (92, 242) SWEEPS i PUI korišteni nakon ispiranja EDTA-om, a protokol je trajao 60 s. Ova zapažanja sugeriraju mogući pozitivan učinak prethodnog uklanjanja zaostatnog sloja na učinkovitost Er:YAG LAI i SWEEPS-a u uklanjanju ostataka materijala za punjenje. Buduće studije trebale bi usporediti spomenute protokole ispiranja u različitim anatomijama i s različitim materijalima za punjenje. Nadalje, treba naglasiti da u ovoj studiji tijekom ponovne obrade i aktivacije nije korišteno otapalo budući da prethodna studija Bago i sur. (242) nije uočila nikakvu razliku u učinkovitosti kada je korišteno otapalo.

Rezultati drugih autora u istraživanju revizije u kanalima složene anatomije, primjerice onih s prisutnim istmusima mezijalnih kanala, nisu pokazala veću učinkovitost uklanjanja punila primjenom otapala (253), a neka istraživanja čak prikazuju bolju učinkovitost bez uporabe otapala (254). Štoviše, ako otapalo nije specifično za određeno punilo, može uzrokovati ekstruziju debrisa periapikalno (255). Također, uspoređujući učinkovitost različitih otapala, najčešće korišteno eukaliptusovo ulje pokazalo se najmanje učinkovitim (256). Stoga je potrebno pronaći učinkovite načine završne aktivacije otapala u cilju smanjenja ostataka punila nakon revizije u kanalu.

U ovoj je studiji u PUI skupini korišten je posebno dizajniran ultrazvučni nastavak (IRRI S25/25) koji je oscilirao primjenjujući jačinu 20 kHz prema preporuci proizvođača (VDW). Pri usporedbi različitih Er:YAG modaliteta, SSP je pokazao nešto bolju učinkovitost (srednja stopa redukcije 43,79 %) od SWEEPS/radijalnog nastavka skupine (srednja stopa smanjenja 31,58 %) i mnogo bolju učinkovitost od SWEEPS/ravnog nastavka (14,9 %). S obzirom da je radijalni nastavak pokazao bolju učinkovitost od ravnog, odbačena je i nulta hipoteza koja predlaže da nema razlike s obzirom na korišteni laserski nastavak. Ova dva načina lasera Er:YAG razlikuju se s obzirom na laserske parametre i laserske nastavke. SSP modalitet ima iste parametre kao PIPS (trajanje pulsa 50 μ s; energija pulsa 20 mJ; brzina ponavljanja 15 Hz), a jedina je razlika laserski nastavak. Nastavak korišten za SSP bio je pravilni radijalni vrh promjera 400 μ m koji nije ogoljen kao nastavak za PIPS. Modalitet SWEEPS temelji se na emisiji jednog pulsa praćenog dodatnim ultrakratkim pulsom (25 μ s), što rezultira dvostruko većom vršnom snagom (800 W) s istom isporučenom energijom pulsa. Interval između dva pulsa varira nasumično od 250 do 600 μ s. U ovoj je studiji uporabljen način rada AutoSWEEPS koji mijenja intervale između pulseva. Sve laserske parametre unaprijed je odredio proizvođač kako bi se osigurala optimalna djelotvornost. Također, laserski parametri su ispitani u prethodnim studijama (179, 239, 257). Lukač i sur. (179) sugeriraju da pristupni kavitet utječe na stvaranje udarnog vala i poboljšano fotodinamičko strujanje, tako da se točnim određivanjem dimenzija pristupnog kaviteta može predvidjeti optimalno vrijeme potrebno među pulsevima modaliteta SWEEPS. U ovoj studiji isti operater konvencionalno je pripremio pristupne kavitete u svim molarima kako bi se osigurao pravocrtni pristup kanalu. Koliko nam je poznato, nema studija koje uspoređuju uporabu navedenih laserskih modaliteta u uklanjanju ostataka punila iz korijenskih kanala. Kirmizi i sur. (257) i Yang i sur. (239) izvijestili su o sličnoj učinkovitosti uklanjanja kalcijevog hidroksida iz simuliranih resorpcijskih šupljina unutar korijenskog kanala. Jezeršek i sur. (180) ispitivali su učinkovitost uklanjanja debrisa iz umjetnih korijenskih kanala primijetivši bolju učinkovitost modaliteta dvopulsne laserske irigacije (AutoSWEEPS i X-SWEEPS) u usporedbi sa standardnim jednopulsnim SSP laserski potpomognutim ispiranjem. Ranije studije pokazale su da veličina i dizajn laserskog nastavka mogu utjecati na proces kavitacije u irigansu tijekom Er:YAG laserski aktiviranog ispiranja. Gregorčić i sur. (258) pokazali su da stožasti i debeli vrh laserskog vlakna uzrokuje stvaranje različitih oblika i dimenzija mjehurića u slobodnoj vodi. Međutim, kada su rabljeni u ograničenom prostoru korijenskog kanala, oba su vrha rezultirala sličnom učinkovitošću čišćenja Er:YAG LAI (38). Još uvijek nema jasnog konsenzusa o tome koju vrstu laserskog nastavka treba koristiti uz

SWEEPS tehniku. U nedavnoj studiji, Jezeršek i sur. (180) pokazali su da SWEEPS s ravnim vrhom laserskog nastavka uklanja debris znatno bolje od SWEEPS-a s radijalnim laserskim nastavkom. U ovoj studiji tehnika SWEEPS s radijalnim laserskim nastavkom pokazala je veće, ali statistički nedovoljno značajno smanjenje materijala za punjenje (srednje smanjenje 31,6 %) nego SWEEPS s ravnim nastavkom (srednje smanjenje od 15 %). Međutim, u usporedbi s SSP-om koji upotrebljava radijalni nastavak, SWEEPS s ravnim vrhom pokazao je lošije rezultate (stopa smanjenja od 14,9 %). Naši rezultati sugeriraju moguće prednosti radijalnog nastavka u SWEEPS tehnici kada se koristi u reviziji endodontskog liječenja. Ipak, potrebna su buduća istraživanja da bi se ova pretpostavka razjasnila. U istraživanju Ivanušića i sur. (259) nije bilo razlika između radijalnog i ravnog nastavka promjera 400 μm , ali veći radijalni nastavak od 600 μm bio je malo učinkovitiji od ravnog nastavka. Ovi su rezultati u skladu s rezultatima našeg istraživanja koji su pokazali da veći vrhovi nastavka (600 μm) korišteni u skupini SSP uzrokuju bolje uklanjanje preostalih ostataka punjenja, što sugerira snažnije stvaranje mjehurića u usporedbi s ravnim nastavkom debljine 400 μm .

Rezultati drugog dijela doktorskog rada pokazali su da konvencionalna kemo-mehanička revizija uz uporabu recipročnih strojnih instrumenata, a bez završnog protokola ispiranja, može ukloniti značajne količine gutaperke i biokeramičkog punila (BC) iz ovalnih korijenskih kanala sa srednjim stopama redukcije u rasponu od 86,61 – 90,90 %. Srednja vrijednost preostale gutaperke/BC kretala se od 0,72 do 0,89 mm³. Visoka stopa redukcije materijala za punjenje može se pripisati visokoj učinkovitosti reciprocirajuće tehnike instrumenta Reciproc Blue RB40/06, koji ima poprečni presjek u obliku slova S, oštre rezne bridove i dizajn koji omogućava učinkovito uklanjanje debrisa, a sve to omogućava učinkovitu ponovnu mehaničku obradu (251).

Visoka učinkovitost instrumenata Reciproc Blue u reviziji već je zabilježena u prethodnim studijama (260). Kanali su u ovoj studiji instrumentirani do veličine 40/06 i punjeni tehnikom *single cone*, a ni jedan uzorak nije u potpunosti očišćen od materijala za punjenje unatoč visokoj učinkovitosti reciprocirajućih instrumenata, što potvrđuje kompleksnost anatomije ovalnih korijenskih kanala. U nedavnom preglednom radu Arula i sur. (261) zabilježeni su isti rezultati i drugih studija o učinkovitosti recipročnih instrumenata u uklanjanju biokeramičkih punila. Druge su studije pokazale da je nemoguće u potpunosti ukloniti BC iz ovalnih korijenskih kanala uporabom konvencionalnih tehnika revizije endodontskog liječenja kao ni punila na bazi epoksi smole (215-217, 261). Nadalje, prethodne studije nisu pokazale

razliku u učinkovitosti uklanjanja biokeramičkih punila ni punila na bazi epoksi smole (247, 262). Rezultati ove studije pokazali su da se BC u kombinaciji s gutaperkom jednostavno uklanja. Buduće studije trebale bi procijeniti mogućnost ponovne obrade korijenskih kanala punjenih samo BioRoot RCS-om bez gutaperke. Eymirli i sur. (213) u svome su istraživanju zaključili da gutaperka olakšava uklanjanje punila na bazi kalcijevog silikata (Endosequence BC Sealer) i ponovnu uspostavu pune radne duljine. U ovoj studiji sva tri završna protokola ispiranja pridonijela su uklanjanju ostataka punila BC/gutaperka bez značajnih razlika među njima; dakle, nulta hipoteza studije je potvrđena. UAI je dobro poznata tehnika aktivacije i njezina učinkovitost u ponovnom liječenju dokazana je u mnogim prethodnim studijama (91,263). S obzirom da je SWEEPS nova LAI tehnika, njezina učinkovitost je procjenjivana u nedavnim studijama u različitim fazama liječenja korijenskih kanala, uključujući uklanjanje zaostatnog sloja i debrisa (240, 264), uklanjanje organskog materijala (265), i reviziju (91,242). Iako je SWEEPS dao obećavajuće rezultate, neke studije pokazale su da nije prevladao ograničenja tradicionalnih UAI tehnika (91, 266, 267). Nekoliko nedavnih studija ispitivalo je učinkovitost SWEEPS-a u reviziji korijenskih kanala. U studiji Bago i sur. (242), SWEEPS® je bio uspješniji od UAI u dodatnom uklanjanju punila na bazi epoksi smole i gutaperke iz zakrivljenih korijenskih kanala uz uporabu NaOCl-a (vrijeme irigacije 3×20 s). Korijenski kanali punjeni su tehnikom kontinuiranog vala uz injekcijsku tehniku. U kasnijoj studiji iste istraživačke skupine (91), a koja je dio ovog rada, SWEEPS tehnika u kombinaciji s NaOCl-om (3×30 s) imala je sličnu učinkovitost kao UAI, bez obzira na korišteni laserski nastavak. Iako su metodologije dviju studija slične, u prvoj je studiji (242) zaostatni sloj uklonjen EDTA-om i NaOCl-om prije primjene završnog protokola ispiranja. Ovaj korak nije primijenjen u drugoj studiji (91) koja bi mogla objasniti lošije rezultate. U nedavnoj studiji autora Angerame i sur. (217), SWEEPS tehnika u kombinaciji s EDTA-om, NaOCl-om i destiliranom vodom pokazala je bolje rezultate od UAI u dodatnom uklanjanju BioRoot-RCS/gutaperkom iz intaktnih jednokorijenskih zuba nakon revizije instrumentima recipročne kretnje. Na temelju ovih studija zaključuje se da bi anatomija korijenskog kanala mogla utjecati na učinkovitost dodatnog završnog protokola ispiranja aktivacijskim tehnikama. Buduće studije trebale bi procijeniti uklanjanje biokeramičkih punila iz zakrivljenih korijenskih kanala. Rezultati ove studije pokazali su da su aktivacijske tehnike, SWEEPS, UAI i SNI, značajno uklonile ostatke ispuna BioRoot RCS iz ovalnih korijenskih kanala nakon kemomehaničke instrumentacije pomoću reciprocirajućih instrumenata pokazujući sličnu učinkovitost. Međutim, treba napomenuti da je SWEEPS bila jedina tehnika u čijoj su ispitivanoj skupini čak 3 uzorka bila

potpuno bez ostataka punjenja. Stoga SWEEPS tehnika ima veći potencijal za potpuno čišćenje korijenskih kanala. Ograničenje ove studije, kao i prethodne, jest to što korijenski kanali nisu analizirani po trećinama, a utjecaj različitih regija kanala na učinkovitost različitih tehnika završnog ispiranja ne može se isključiti. Također treba napomenuti da su rezultati ove studije dobiveni na uzorcima s tradicionalnim pristupnim kavitom; međutim, poznato je da vrsta i veličina pristupnog kaviteta mogu utjecati na učinkovitost Er:YAG LAI tehnika, uključujući SWEEPS (179). Nadalje, razlike među skupinama, uspoređujući volumen III i volumen I, nisu bile značajne; međutim, dobivene vrijednosti veoma su blizu razine značajnosti ($p = 0,067$). Stoga bi buduće studije trebale uključiti veći broj uzoraka kako bi se provjerila vjerodostojnost rezultata.

Iako nije postignut konsenzus o tome utječe li zaostalo punilo na klinički ishod liječenja, dobro je poznato da zaostale bakterije i bakterijski biofilmovi mogu nepovoljno utjecati na ishod liječenja i uzrokovati perzistirajuću infekciju. Upravo to kao osnovni razlog zašto je irigacija najvažniji dio endodoncije navodi i Haapasalo (99) u svojim smjernicama. Stoga je cilj trećeg dijela ovog rada bio provjeriti antimikrobnu učinkovitost aktivacijskih tehnika na bakterijski biofilm *E. faecalis*. *E. faecalis* može preživjeti u veoma teškim uvjetima sa slabom opskrbom hranjivim tvarima i visokim alkalnim pH koji doseže i do 11,5. Kapacitet *E. faecalis* na stvaranje biofilma na stijenkama korijenskog kanala i uzrokovanje monoinfekcije (50) u endodontski liječenih zuba bez sinergističke potpore drugih bakterija, rezultira visokom otpornosti na antimikrobna sredstva (55, 62), što nameće potrebu za ispitivanjima antimikrobne učinkovitosti irigacijskih protokola na biofilm *E. faecalis*. Nekoliko laboratorijskih studija ispitivalo je osjetljivost *E. faecalis* na endodontski tretman, a rezultati su pokazali visoku otpornost (268, 269). Lei i sur. (270) dokazali su da laserski aktivirano ispiranje povećava učinkovitost nižih koncentracija NaOCl-a. Njihovi rezultati ukazali su na podjednaku učinkovitost tehnike SWEEPS u kombinaciji NaOCl-a različitih koncentracija (0,5 – 5,25) u eradikaciji *E. faecalis* biofilma iz goveđih zuba.

U ovom istraživanju, uspoređena je učinkovitost KI, SWEEPS aktivacijske tehnike te „zlatnog standarda“ aktivacijskog ispiranja, UAI. Rezultati su pokazali nedovoljnu učinkovitost konvencionalnog ispiranja u eliminaciji biofilma ($p = 0,553$), dok su SWEEPS i UAI pokazali podjednaku učinkovitost, čime je potvrđena nulta hipoteza. Ipak, u skupini SWEEPS velik broj uzoraka rezultirao je potpunom eliminacijom bakterija i bakterijskog biofilma, što sugerira potencijalnu bolju učinkovitost SWEEPS tehnike. Međutim, kao ograničavajući čimbenik

ovakvog zaključka mora se uzeti u obzir vrsta supstrata. Naime, biofilm je uzgajan na dentinskim pločicama i kao takav je dostupniji utjecaju aktivacijske tehnike nego biofilm u korijenskim kanalima. Naime, uočeno je da je u uskom prostoru korijenskog kanala učinak laserske zrake smanjen. Nedavna istraživanja pokazala su da se kolaps mjehurića koji proizvode udarne valove može dogoditi samo u velikim spremnicima tekućine, ali ne i u ograničenom prostoru kao što je korijenski kanal gdje trenje usporava dinamiku mjehurića, a zbog toga su udarni valovi smanjeni ili ih uopće nema (172).

Robberecht i sur. (271) ispitivali su mogućnost uklanjanja hidrogela iz istmusa 3D printanih modela, i iako se radi o potpuno drugoj ispitivanoj anatomiji, rezultati se podudaraju s rezultatima ove studije. Ispiranje iglom i špicom dalo je najlošije rezultate, dok SWEEPS i, u ovom slučaju, zvučna aktivacija, pokazuju podjednako učinkovito uklanjanje hidrogela.

Nastavno na prethodno navedeno istraživanje, novi rad Hoedke i sur. (103), koji je uspoređivao antimikrobnu učinkovitost UAI i zvučne aktivacije, dobio je kao rezultat bolju učinkovitost zvučno aktivirane irigacije. Takav rezultat može se objasniti time što je djelovanje ispiranja ispitivano na multibakterijskom biofilmu, za razliku od većine istraživanja, uključujući i naše, koja rabe monobakterijski biofilm. Ovakvi rezultati upućuju na potrebu usmjeravanja budućih istraživanja na kreiranje stabilnog multibakterijskog biofilma i ispitivanje najnovijih aktivacijskih tehnika ispiranja na takvom uzorku. Ipak, mnoge druge studije potvrđuju istovjetnu učinkovitost zvučne i ultrazvučne aktivacije (272) pa daljnja ispitivanja mogu uspoređivati zvučno aktivirano ispiranje, kao najdostupnije i najekonomičnije u kliničkom radu, s laserski aktiviranim metodama od kojih se u novije vrijeme očekuju najbolji rezultati kako bi se postigao konsenzus i donijele kliničke smjernice o opravdanosti i potrebi primjene različitih, na tržištu dostupnih, aktivacijskih metoda.

Akdere i sur. (273) uspoređivali su učinkovitost zvučnih, ultrazvučnih i laserskih (PIPS, SWEEPS) metoda aktivacije u uklanjanju biofilma *E. faecalis* iz simuliranih resorpcijskih šupljina. Unatoč drugačijoj metodologiji, rezultati se podudaraju s rezultatima naše studije. Dakle, sve ispitivane tehnike pokazale su podjednaku antimikrobnu učinkovitost.

Uporaba SWEEPS aktiviranog ispiranja učinkovita je u eliminaciji *E. faecalis* biofilma i u kombinaciji s drugim tekućinama za ispiranje. Primjerice, Ensafi i sur. (266) dokazali su učinkovitost zajedno s primjenom kurkumina i nanokurkumina u uklanjanju biofilma iz jednokanalnih korijenova. Ipak, unatoč različitim pozitivnim rezultatima, u najnovijoj preglednoj studiji, Boutsoukis i sur. (272) ustanovili su da su do sada poznati rezultati

ispitivanja laserski aktiviranih metoda ispiranja redom kontrastni te da se ispitivanje tog područja treba dalje nastaviti, ali s uniformnijim uvjetima ispitivanja: broj uzoraka, vrsta irigansa, protokol ispiranja itd. Naime, smjernice za različite vrste studija u endodonciji stare su više od 10 godina (274), ali i postojeće su smjernice usmjerene na pripremu rukopisa, a ne na dizajn i metodologiju studija.

Osnovno ograničenje ove studije je kultivacija monobakterijskog biofilma. Međutim, čak i ako su uspostavljeni modeli biofilma s više vrsta formirani iz laboratorijskih sojeva (275-277) ovi modeli obično uključuju mali broj vrsta odabranih na temelju njihove dostupnosti i kompatibilnosti između vrsta, a ne realnu reprodukciju kliničke situacije, a čak ni modeli s više vrsta možda neće moći replicirati prirodne zajednice korijenskih kanala zbog razlika u uvjetima okoliša (278). Povećanje bioraznolikosti modela biofilma s više vrsta može ugroziti njihovu standardizaciju i ponovljivost. Dodatno, pokazalo se da laboratorijski sojevi upotrijebljeni u modelima s više vrsta izražavaju različite fenotipske karakteristike od svojih kliničkih pandana (278.). Ako su bakterijske vrste skupljene iz kliničkih izolata bakterija iz korijenskog kanala, poteškoće mogu stvarati izbor najprikladnijeg vremena inkubacije, medija za rast i atmosferskih uvjeta i neke vrste, poput onih koje se ne mogu uzgajati, ali se mogu izgubiti tijekom laboratorijskog tijeka rada (279). Nadalje, točan mikrobnii sastav svake infekcije je nepoznat; bioraznolikost unutar svakog uzorka može se istražiti tek naknadno pomoću molekularnih tehnika kao što je sekvencioniranje gena 16S rRNA (280). Stoga se prirodni multibakterijski biofilmovi ne mogu reproducirati u različitim laboratorijima ili u različito vrijeme. Unatoč ovim ograničenjima, modeli multibakterijskih biofilмова budućnost su daljnjih studija antimikrobne učinkovitosti sredstava i tehnika za ispiranje.

6. ZAKLJUČAK

Zaključci doktorskog rada su:

1. SWEEPS tehnika laserski aktiviranog ispiranja učinkovita je u uklanjanju ostataka punila iz zavijenih korijenskih kanala nakon standardnog protokola kemomehaničke revizije. SSP modalitet Er:YAG lasera s radijalnim laserskim nastavkom pokazao se učinkovitijim od SWEEPS tehnike s ravnim laserskim nastavkom.
2. SWEEPS tehnika je pokazala visoku učinkovitost u uklanjanju ostataka biokeramičkog punila iz ovalnih kanala nakon standardne kemomehaničke revizije, međutim, nije pokazala superiornost naspram ultrazvučnog ispiranja i konvencionalnog pasivnog ispiranja.
3. Tehnike SWEEPS i UAI jednako su učinkovite u eliminaciji biofilma *E. faecalis*-a, a superiorne su naspram konvencionalnog pasivnog ispiranja.
4. SWEEPS tehnika je u uklanjanju punila iz izrazito zavijenih korijenskih kanala bila učinkovitija s radijalnim laserskim nastavkom nego s ravnim laserskim nastavkom.

7. LITERATURA

1. Ingle JJ, Bakland LK, Baumgartner JC. Ingle's Endodontics 6. 6th ed. Hamilton, Ontario: BC Decker Inc; 2008. 1555 p.
2. Siqueira JF Jr, Rocas IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod.* 2008;34:1291–301.
3. Shuping G, Ørstavic D, Sigurdsson A, Trope M. Reduction of intracanal bacteria using nickel-titanium rotary instruments and various medications. *J Endod.* 2000;26:751–5.
4. Peters OA. Current challenges and concepts in the preparation of root canal systems: a review. *J Endod.* 2004;30:559–67.
5. Siqueira JF Jr. Treatment of endodontic infections. Quintessence Publishing, London. 416p.
6. Bergenholtz G. Assessment of treatment failure in endodontic therapy. *J Oral Rehabil.* 2016;43(10):753-8.
7. Torabinejad M, Walton ER. Endodoncija. Zagreb: Naklada Slap; 2009. p. 298-322.
8. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1965;20:340-9.
9. Ng YL, Mann V, Gulabivala K. Outcome of secondary root canal treatment: a systematic review of the literature. *Int Endod J.* 2008;41:1026–46.
10. Torabinejad M, Corr R, Handysides R, Shabahang S. Outcomes of nonsurgical retreatment and endodontic surgery: a systematic review. *J Endod.* 2009;35:930–7.
11. Prada I, Micó-Muñoz P, Giner-Lluesma T, Micó-Martínez P, Collado-Castellano N, Manzano-Saiz A. Influence of microbiology on endodontic failure. Literature review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2019;24(3):364-72.
12. Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 1998;31:1-7.
13. Egan MW, Spratt DA, Ng YL. Prevalence of yeasts in saliva and root canals of teeth associated with apical periodontitis. *Int Endod J.* 2002;35:321-9.

14. Siqueira JF Jr, Rôças IN. Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004;97:85-94.
15. Ashraf H, Samiee M, Eslami G, Ghodse Hosseini MR. Presence of *Candida Albicans* in Root Canal System of Teeth Requiring Endodontic Retreatment with and without Periapical Lesions. *Iran Endod J.* 2007;2:24-8.
16. Kumar J, Sharma R, Sharma M, Prabhavathi V, Paul J, Chowdary CD. Presence of *Candida albicans* in Root Canals of Teeth with Apical Periodontitis and Evaluation of their Possible Role in Failure of Endodontic Treatment. *J Int oral Heal.* 2015;7:42-5.
17. Pinheiro ET, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Teixeira FB, Zaia AA, Souza Filho FJ. Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. *Oral Microbiol Immunol.* 2003;18:100-3.
18. Endo MS, Ferraz CCR, Zaia AA, Almeida JFA, Gomes BPFA. Quantitative and qualitative analysis of microorganisms in rootfilled teeth with persistent infection: Monitoring of the endodontic retreatment. *Eur J Dent.* 2013;7:302-9.
19. Pereira RS, Rodrigues VAA, Furtado WT, Gueiros S, Pereira GS, Avila-Campos MJ. Microbial analysis of root canal and periradicular lesion associated to teeth with endodontic failure. *Anaerobe.* 2017;48:12-8.
20. Rôças IN, Siqueira JF. Characterization of microbiota of root canal-treated teeth with posttreatment disease. *J Clin Microbiol.* 2012;50:1721-4.
21. Schirrmeister JF, Liebenow AL, Pelz K, Wittmer A, Serr A, Hellwig E, et al. New Bacterial Compositions in Root-filled Teeth with Periradicular Lesions. *J Endod.* 2009;35:169-74.
22. Sunde PT, Olsen I, Göbel UB, Theegarten D, Winter S, Debelian GJ, et al. Fluorescence in situ hybridization (FISH) for direct visualization of bacteria in periapical lesions of asymptomatic root-filled teeth. *Microbiology.* 2003;149:1095-102.
23. Nóbrega LMM, Delboni MG, Martinho FC, Zaia AA, Ferraz CCR, Gomes BPFA. *Treponema* diversity in root canals with endodontic failure. *Eur J Dent.* 2013;7:61-8.

24. Chan ECS, McLaughlin R. Taxonomy and virulence of oral spirochetes. *Oral Microbiol Immunol.* 2000;15:1-9.
25. Sedgley C, Nagel A, Dahlén G, Reit C, Molander A. Real-time quantitative polymerase chain reaction and culture analyses of *Enterococcus faecalis* in root canals. *J Endod.* 2006;32:173-7.
26. Zahran S, Mannocci F, Koller G. Assessing the Iatrogenic Contribution to Contamination During Root Canal Treatment. *J Endod.* 2022;48(4):479-86.
27. Ricucci D, Siqueira JF. Biofilms and apical periodontitis: Study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *J Endod.* 2010;36:1277-88.
28. Del Fabbro M, Samaranayake LP, Lolato A, Weinstein T, Taschieri S. Analysis of the secondary endodontic lesions focusing on the extraradicular microorganisms: an overview. *J Investig Clin Dent.* 2014;5:245-54.
29. Noguchi N, Noiri Y, Narimatsu M, Ebisu S. Identification and localization of extraradicular biofilm-forming bacteria associated with refractory endodontic pathogens. *Appl Environ Microbiol.* 2005;71:8738-43.
30. Siqueira JF Jr. Periapical actinomycosis and infection with *Propionibacterium propionicum*. *Endod Topics.* 2003;6:78-88.
31. Siqueira JF Jr, Rôças IN. Present status and future directions: Microbiology of endodontic infections. *Int Endod J.* 2022;55(3):512-30.
32. 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.
33. Chavez de Paz LE, Molander A, Dahlen G. Gram positive rods prevailing in teeth with apical periodontitis undergoing root canal treatment. *Int Endod J.* 2004;37:579-87.
34. 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.
35. Cohen S, Hargreaves KM. *Pathways of the pulp.* St Louis: Mosby, Inc; 2006.

36. Garberoglio R, Brannstrom M: Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol.* 1976;21:355-8.
37. Nagaoka S, Miyazaki Y, Liu HJ, i sur. Bacterial invasion into dentinal tubules of human vital and nonvital teeth. *J Endod.* 1995;21:70-3.
38. Hahn CL, Overton B. The effects of immunoglobulins on the convective permeability of human dentine in vitro. *Arch Oral Biol.* 1997;42:835-43.
39. Langeland K, Rodrigues H, Dowden W. Periodontal disease, bacteria, and pulpal histopathology. *Oral Surg Oral Pathol.* 1974;37:257-70.
40. Ando N, Hoshino E. Predominant obligate anaerobes invading the deep layers of root canal dentin. *Int Endod J.* 1990;23:20-7.
41. Martin FE, Nadkarni MA, Jacques NA, Hunter N. Quantitative microbiological study of human carious dentine by culture and real-time PCR: association of anaerobes with histopathological changes in chronic pulpitis. *J Clin Microbiol.* 2002;40:1698-1704.
42. 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.
43. Kantz W E, Henry C A. Isolation and classification of anaerobic bacteria from intact chambers of non-vital teeth in man. *Arch Oral Biol.* 1974;19:91-6.
44. Fabricius L, Dahlen G, Öhman A, Möller AJ. Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure. *Scand J Dent Res.* 1998;90:134-44.
45. Peters LB, Wesselink PR, Moorer WR. Penetration of bacteria in bovine root dentine in vitro. *Int Endod J.* 2000;33:28-36. 19.
46. Peters LB, Wesselink PR, Buijs JF, Van Winkelhoff AJ. Viable bacteria in root dentinal tubules of teeth with apical periodontitis. *J Endod.* 2001;27:76-81.
47. Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol.* 2002;28:12-55.

48. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15(2):167-93.
49. Stoodley P, Sauer K, Davies DG, Costerton JW. Biofilms as complex differentiated communities. *Annu Rev Microbiol.* 2002;56:187-209.
50. George S, Kishen A, Song KP. The role of environmental changes on monospecies biofilm formation on root canal wall by *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2005;31(12):867-72.
51. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod.* 2006;32(2):93-8.
52. Haapasalo M, Ørstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res.* 1987;66(8):1375-9.
53. Kayaoglu G, Erten H, Ørstavik D. Possible role of the adhesin ace and collagen adherence in conveying resistance to disinfectants on *Enterococcus faecalis*. *Oral Microb Immun.* 2008;23(6):449-54.
54. McHugh CP, Zhang P, Michalek S, Eleazer PD. pH required to kill *Enterococcus faecalis* in vitro. *J Endod.* 2004;30(4):218-9.
55. van Winkelhoff AJ, van Steenberghe TJ, de Graaff J. *Porphyromonas (Bacteroides) endodontalis*: its role in endodontal infections. *J Endod.* 1992;18(9):431-4.
56. Hafström C, Dahlén G. Pathogenicity of *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens* isolates in a wound chamber model in rabbits. *Oral Microbiol Immunol.* 1997;12(3):148-54.
57. Castellarin M, Warren RL, Freeman JD, Dreolini L, Krzywinski M, Strauss J et al. *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. *Genome Res.* 2012;22(2):299-306.
58. Brailsford SR, Tregaskis RB, Leftwich HS, Beighton D. The predominant *Actinomyces* spp. isolated from infected dentin of active root caries lesions. *J Dent Res.* 1999;78(9):1525-34.
59. Soll DR. *Candida* commensalism and virulence: the evolution of phenotypic plasticity. *Acta Trop.* 2002;81(2):101-10.
60. Marsh P, Martin MV. *Oral microbiology*. 4th ed. Oxford (England): Wright; 1999.

61. Odds FC. *Candida and candidosis- a review and bibliography*. 2izd. London:Bailliere Tindall- W.B. Saunders; 1988. 476p.
62. Chan Y, Chan CH. Antibiotic resistance of pathogenic bacteria from odontogenic infections in Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect*. 2003;36(2):105-10.
63. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial etiology. *Periodontol*. 2005;38:135-87.
64. Thurlow LR, Hanke ML, Fritz T, Angle A, Aldrich A, Williams SH, et al.. Staphylococcus aureus biofilm prevent macrophage phagocytosis and attenuate inflammation in vivo. *J Immunol*. 2011;186(11):6585-96.
65. Gunther F, Wabnitz GH, Stroh P, Prior B, Obst U, Samstag Y, et al. Host defence against Staphylococcus aureus biofilms infection: Phagocytosis of biofilms by polymorphonuclear neutrophils (PMN). *Mol Immunol*. 2009;46(8-9):1805-13.
66. Siren EK, Haapasalo MP, Ranta K, Salmi P, Kerosuo EN. Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. *Int Endod J*. 1997;30(2):91-5.
67. Williams NB, Forbes M, Blau E, Eickenberg C. A study of the simultaneous occurrence of Enterococci, Lactobacilli, and yeasts in saliva from human beings. *J Dent Res*. 1950;29:563-70.
68. Smith CJ, Halpenny MK, Ballagh SJ. Carriage rates of enterococci in the dental plaque of haemodialysis patients in Dublin. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 1987;25:21-33.
69. Siqueira JF Jr, Rjcas IN, Souto R, de Uzeda M, Colombo AP. Actinomyces species, streptococci, and Enterococcus faecalis in primary root canal infections. *J Endod*. 2002;28:168-72.
70. Sundqvist G. Associations between microbial species in dental root canal infections. *Oral Microbiol Immunol*. 1992;7:257-62.
71. Hancock HHI, Sigurdsson AD, Trope MB, Moiseiwitsch JB. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2001;91:579-86.

72. Clewell DB. Plasmids, drug resistance, and gene transfer in the genus *Streptococcus*. *Microbiol Rev.* 1981;45:409–36.
73. Chow JW, Thal LA, Perri MB, Vazquez JA, Donabedian SM, Clewell DB, Zervos MJ. Plasmid-associated hemolysin and aggregation substance production contribute to virulence in experimental enterococcal endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993;37:2474–7.
74. Süssmuth SD, Muscholl-Silberhorn A, Wirth R, Susa M, Marre R, Rozdzinski E. Aggregation substance promotes adherence, phagocytosis, and intracellular survival of *Enterococcus faecalis* within human macrophages and suppresses respiratory burst. *Infect Immun.* 2000;68:4900–6.
75. Costerton J, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilm: A common cause of persistent infections. *Science.* 1999;284:1318-22.
76. Davey M, O'Toole GA. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbial Mol Biol Rev.* 2000;4:847-67.
77. 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.
78. Beighton D, Smith K, Hayday H. The growth of bacteria and production of exoglycosidic enzymes in the dental plaque of macaque monkeys. *Arch Oral Biol.* 1986;31:829-35.
79. Distel JW, Hatton JF, Gillespe MJ. Biofilm formation in medicated root canals. *J Endod.* 2002;28:689-93.
80. Takemura N, Noiri Y, Ehara A, et al. Single species biofilm forming ability of root canal on gutta-percha points. *Eur J Oral Sci.* 2004;112:523-9.
81. Versiani MA, Basrani B, Sousa-Neto MD, editors. *The root canal anatomy in permanent dentition.* Cham: Springer; 2019. 425 p.
82. Wu MK, R'Oris A, Barkis D, Wesselink PR. Prevalence and extent of long oval canals in the apical third. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2000;89(6):739–43.

83. Siqueira Junior JF, Rôças IDN, Marceliano-Alves MF, Pérez AR, Ricucci D. Unprepared root canal surface areas: causes, clinical implications, and therapeutic strategies. *Braz Oral Res.* 2018;18:32(1):e65.
84. Watson ADM. Pulp space anatomy and access cavities. In: Chong BS, editor. *Harty's endodontics in clinical practice*. 6th ed. Edinburgh, etc.: Elsevier; 2010. p. 38-48.
85. Vertucci FJ. Root canal anatomy of the human permanent teeth. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol.* 1984;58(5):589-99.
86. Vertucci FJ. Root canal morphology and its relationship to endodontic procedures. *Endod Topics.* 2005;10(1):3-29.
87. Vertucci FJ, Haddix JE. Tooth morphology and access cavity preparation. In: Hargreaves KM, Cohen S, Berman LH, editors. *Cohen's Pathways of the Pulp*. 10th ed. St. Louis: Elsevier; 2011. p. 136-219.
88. 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.
89. Galler KM, Grubmüller V, Schlichting R, Widbiller M, Eidt A, Schuller C et al. Penetration depth of irrigants into root dentine after sonic, ultrasonic and photoacoustic activation. *Int Endod J.* 2019;52(8):1210-17.
90. Swimberghe RCD, Crabbé A, De Moor RJG, Coenye T, Meire MA. Model system parameters influence the sodium hypochlorite susceptibility of endodontic biofilms. *Int Endod J.* 2021;54:1557-70.
91. Petričević GK, Katić M, Anić I, Salarić I, Vražić D, Bago I. Efficacy of different Er:YAG laser-activated photoacoustic streaming modes compared to passive ultrasonic irrigation in the retreatment of curved root canals. *Clin. Oral Investig.* 2022;26: 6773-81.
92. Jiang S, Zou T, Li D, Chang JW, Huang X, Zhang C. Effectiveness of sonic, ultrasonic, and photon-induced photoacoustic streaming activation of NaOCl on filling material removal following retreatment in oval canal anatomy. *Photomed Laser Surg.* 2016;34(1):3-10.
93. Siqueira JF Jr, Pérez AR, Marceliano-Alves MF, Provenzano JC, Silva SG, Pires FR, Vieira GCS, Rôças IN, Alves FRF. What happens to unprepared root canal walls: a correlative

analysis using micro-computed tomography and histology/scanning electron microscopy. *Int Endod J.* 2018;51(5):501-8.

94. Moraes RDR, Perez R, Silva ASSD, Machado AS, Lopes RT, Pintor AVB, Primo LG, Neves AA. Micro-CT evaluation of root canal preparation with rotary instrumentation on prototyped primary incisors. *Braz Oral Res.* 2020;17:35:e132.

95. 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.

96. Thomas JP, Lynch M, Paurazas S, Askar M. Micro-computed tomographic evaluation of the shaping ability of WaveOne Gold, TRUShape, EdgeCoil, and XP-3D Shaper endodontic files in single, oval-shaped canals: an in vitro study. *J Endod.* 2020;46(2):244-51.

97. Velozo C, Silva S, Almeida A, Romeiro K, Vieira B, Dantas H et al. Shaping ability of XP-endo Shaper and ProTaper Next in long oval-shaped canals: a micro-computed tomography study. *Int Endod J.* 2020;53(7):998-1006.

98. Shuping G, Ørstavic D, Sigurdsson A, Trope M. Reduction of intracanal bacteria using nickel-titanium rotary instruments and various medications. *J Endod.* 2000;26:751–5.

99. Haapasalo M, Shen Y, Wang Z, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Br Dent J.* 2014;216(6):299–303.

100. Violich DR, Chandler NP. The smear layer in endodontics - a review. *Int Endod J.* 2010;43(1):2–15.

101. Čolić I, Bago Jurič I. Laserski aktivirano ispiranje korijenskih kanala zuba. Sonda : list studenata Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. 2014;15:43-44.

102. Olivi G, De Moor R, DiVito E. *Lasers in Endodontics.* London: Springer; 2016. 291p.

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

104. Darcey J, Taylor C, Roudsari RV, Jawad S, Hunter M. *Modern Endodontic Principles Part 3: Preparation.* *Dent Update.* 2015;42(9):810-2, 815-8, 821-2.

105. Vo K, Daniel J, Ahn C, Primus C, Komabayashi T. Coronal and apical leakage among five endodontic sealers. *J Oral Sci.* 2022;19;64(1):95-8.
106. Ng YL, Mann V, Rahbaran S, Lewsey J, Gulabivala K. Outcome of primary root canal treatment: Systematic review of the literature - Part 2. Influence of clinical factors. *Int Endod J* 2008;41:6-31.
107. 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.
108. Peters OA, Laib A, Gohring TN, Barbakow F. Changes in root canal geometry after preparation assessed by highresolution computed tomography. *J Endod.* 2001;27:1–6.
109. Park E, Shen Y, Haapasalo M. Irrigation of the apical root canal. *Endodontic Topics.* 2012;27:54–73.
110. Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Dent Clin North Amer.* 2010;54:291–312.
111. Basrani B. Endodontic irrigation: Chemical disinfection of the root canal system. London: Springer; 2015. 316 p.
112. Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg Oral Pathol.* 1983;55:307-12.
113. McDonnell G, Russell D. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev* 1999;12:147–79.
114. Clegg MS, Vertucci FJ, Walker C, Belanger M, Britto LR. The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentin biofilms in vitro. *J Endod.* 2006;32(5):434-7.
115. Zou L, Shen Y, Li W, Haapasalo M. Penetration of sodium hypochlorite into dentin. *J Endod.* 2010;36(5):793-6.
116. Rocha AW, de Andrade CD, Leitune VC, Collares FM, Samuel SM, Grecca FS, de Figueiredo JA, dos Santos RB. Influence of endodontic irrigants on resin sealer bond strength to radicular dentin. *Bull Tokyo Dent Coll.* 2012;53(1):1-7.

117. 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.
118. 108. McDonnell G, Russell D. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1999;12:147-79.
119. Russell AD, Day MJ. Antibacterial activity of chlorhexidine. *J Hosp Infect.* 1993;25:229-38.
120. 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.
121. Sen BH, Safavi KE, Spangberg LS. Antifungal effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine in root canals. *J Endod.* 1999;25:235-8.
122. Mohammadi Z, Abbott PV. The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *Int Endod J.* 2009;42:288-302.
123. 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.
124. 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.
125. Basrani BR, Manek S, Sodhi RN, i sur. Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. *J Endod.* 2007;33:966-9.
126. Czonstkowsky M, Wilson EG, Holstein FA. The smear layer in endodontics. *Dent Clin North Am.* 1990;34:13-25.
127. Bago Jurič I. Ispitivanje antimikrobne učinkovitost diodnog lasera, fotoaktivirane dezinfekcije, konvencionalne i zvučno aktivirane irigacije tijekom endodontskog liječenja liječenja [disertacija]. Zagreb:Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu. 2013. 115p.

128. Morgental RD, Singh A, Sappal H, Kopper PM, Vier-Pelisser FV, Peters OA. Dentin inhibits the antibacterial effect of new and conventional endodontic irrigants. *J Endod.* 2013;39(3):406-10.
129. 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(4):363-71.
130. Shabahang S, Pouresmail M, Torabinejad M. In vitro antimicrobial efficacy of MTAD and sodium. *J Endod.* 2003;29:450–2.
131. 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.
132. Kho P, Baumgartner JC. A comparison of the antimicrobial efficacy of NaOCl/Biopure MTAD versus NaOCl/EDTA against *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2006;32:652–5.
133. 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.
134. Cohen S, Burns RC. *Pathways of the pulp*. St. Louis: Mosby, Inc; 2002. 928 p.
135. Susila A, Minu J. Activated Irrigation vs. Conventional non-activated Irrigation in Endodontics - A Systematic Review. *Eur Endod J.* 2019;4(3):96-110.
136. 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.
137. Hage W, De Moor RJG, Hajj D, Sfeir G, Sarkis DK, Zogheib C. Impact of Different Irrigant Agitation Methods on Bacterial Elimination from Infected Root Canals. *Dent J.* 2019;7(3):64.
138. Shin JY, Kim MA, Kim HJ, Neelakantan P, Yu MK, Min KS. Evaluation of machine-assisted irrigation on removal of intracanal biofilm and extrusion of sodium hypochlorite using a three-dimensionally printed root canal model. *J Oral Sci.* 2023;65(3):158-62.

139. Ahmad M, Pitt Ford TR, Crum LA. Ultrasonic debridment of root canals: acoustic streaming and its possible role. *J Endod.* 1987;14:490-9.
140. Ahmad M, Pitt Ford TR, Crum LA, Walton AJ. Ultrasonic debridment of root canals: acoustic cavitation and its relevance. *J Endod.* 1988;14:486-93.
141. Roy RA, Ahmad M, Crum LA. Physical mechanisms governing the hydrodynamic response of an oscillating ultrasonic file. *Int Endod J.* 1994;27:197-207.
142. 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.
143. Ohl CD, Arora M, Ikink R, i sur. Sonoporation from jetting cavitation bubbles. *Biophysic J.* 2006;91:272-8.
144. Hockett JL, Dommisch JK, Johnson JD, Cohenca N. Antimicrobial efficacy of two irrigation techniques in tapered and nontapered canal preparations: an in vitro study. *J Endod.* 2008;34(11):1374-77.
145. Dostupno na: <https://www.fkg.ch/xpendo/finisher>
146. Silva EJNL, Belladonna FG, Zuolo AS, Rodrigues E, Ehrhardt IC, Souza EM, De-Deus G. Effectiveness of XP-endo Finisher and XP-endo Finisher R in removing root filling remnants: a micro-CT study. *Int Endod J.* 2018;51(1):86-91.
147. De-Deus G, Belladonna FG, Zuolo AS, Cavalcante DM, Carvalhal JCA, Simões-Carvalho M, Souza EM, Lopes RT, Silva EJNL. XP-endo Finisher R instrument optimizes the removal of root filling remnants in oval-shaped canals. *Int Endod J.* 2019;52: 899–907.
148. Ando N, Hoshino E. Predominant obligate anaerobes invading the deep layers of root canal dentin. *Int Endod J.* 1990;23:20-7.
149. Berutti E, Marini R, Angeretti A. Penetration ability of different irrigants into dentinal tubules. *J Endod.* 1997;23:725-7.
150. Parker S. Lasers tissue interaction and its application in clinical dentistry. *Int J Lasers Dent.* 2011;1:1-8.

151. Hardee MW, Miserendino L, Kos W, Walia H. Evaluation of the antibacterial effects of intracanal Nd:YAG irradiation. *J Endod.* 1994;20:377-80.
152. Rooney J, Midda M, Leeming J. A laboratory investigation of the bactericidal effect of a Nd:YAG laser. *Br Dent J.* 1994;176:61-4.
153. Moritz A, Jakolitsch S, Goharkhay K, i sur. Morphologic changes correlating to different sensitivities of *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* to Nd:YAG laser irradiation through dentin. *Lasers Surg Med.* 2000;26:250-61.
154. Piccolomini R, D’Arcangelo C, D’Ercole S, Catamo G, Schiaffino G, De Fazio P. Bacteriologic evaluation of the effect of Nd:YAG laser irradiation in experimental infected root canals. *J Endod.* 2002;28:276–8.
155. Moshonov J, Ørstavik D, Yamauchi S, Pettiette M, Trope M. Nd:YAG laser irradiation in root canal disinfection. *Endod Dent Traumatol.* 1995;11:220–4.
156. Gabrić Pandurić D, Bago I, Filipović Zore I, Sušić M, Katanec D, Milenović A, Vučićević Boras V. Application of Diode Laser in Oral and Maxillofacial Surgery. In: Motamedi MH, editor. *A Textbook of Advanced Oral and Maxillofacial Surgery. Vol. 2. 1st ed.* Rijeka: IntechOpen; 2013. p. 341-82.
157. Atieh MA, Fadhul I, Shah M, Hannawi H, Alsabeeha NHM. Diode Laser as an Adjunctive Treatment for Peri-implant Mucositis: A Systematic Review and Meta-analysis. *Int Dent J.* 2022;72(6):735-45.
158. Akbulut N, Kursun E, Tumer M, Kamburoglu K, Gulsen U. Is the 810-nm diode laser the best choice in oral soft tissue therapy?. *European Journal of Dentistry.* 2013;7(2):207-11.
159. Gutknecht N, Moritz A, Conrads C, Lampert F. Der Dioden-laser und seine bacterizide Wirkung im Wurzelkanal: Eine in vitro Studie. *Endodontie.* 1997;3:217-33.
160. Wilson M, Wilson H. Laser treatment. US Patent 5. 1997. 611,793.
161. Deppe H, Horch HH. Laser Applications in Oral Surgery and Implant Dentistry. *Lasers Med Sci.* 2007;22(4):217-21.
162. Clayman L, Kuo P. *Lasers in Maxillofacial Surgery and Dentistry.* 1st ed. New York: Thieme; 1997. 208 p.

163. Houk LD, Humphreys T. Masers to Magic Bullets: an Updated History of Lasers in Dermatology. *Clinical Dermatology*. 2007;25(5):434-42.
164. Jelinkova H, Dostalova T, Duskova J, i sur. Er:YAG and alexandrite laser radiation propagation in root canal and its effect on bacteria. *J Clin Laser Med Surg*. 1999;17:267-72.
165. Bago Jurič I, Anić I. The use of lasers in disinfection and cleaning of root canals: a review. *Acta stomatol Croat*. 2014;48(1):6-15.
166. Olivi G. Laser use in endodontics: Evolution from direct laser irradiation to laser-activated irrigation. *J Lasers Dent*. 2013;21:58-71.
167. Lulić M. Laserski aktivirano ispiranje korijenskih kanala [Diplomski rad]. Zagreb: Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu; 2016. 50 p.
168. DiVito E, Peters A, Olivi G. Effectiveness of the erbium:YAG laser and new design radial and stripped tips in removing the smear layer after root canal instrumentation. *Lasers Med Sci*. 2012;27(2):273-80.
169. Olivi G. Laser use in endodontics: Evolution from direct laser irradiation to laser-activated irrigation. *J Lasers Dent*. 2013;21:58-71.
170. Matsumoto H, Yoshimine Y, Akamine A. Visualization of irrigant flow and cavitation induced by Er:YAG laser within a root canal model. *J Endod*. 2011;37(6):839-43.
171. DiVito E, Mark P, Olivi G. The Photoacoustic Efficacy of an Er:YAG Laser with Radial and Stripped Tips on Root Canal Dentin Walls: An SEM Evaluation. *J Laser Dent*. 2011;19(1):156-61.
172. Lukac N, Tasic Muc B, Jezersek M, Lukac M. Photoacoustic endodontics using the novel SWEEPS Er:YAG laser modality. *J LA&HA*. 2017:1-5.
173. Lukac N, Gregorcic P, Jezersek M. Optodynamic phenomena during laser-activated irrigation within root canals. *Int J Thermophys*. 2016;37(7):1-8.
174. Lukac N, Jezersek M. Amplification of pressure waves in laser-assisted endodontics with synchronized delivery of Er:YAG laser pulses. *Lasers Med Sci*. 2018;33(4):823–33.

175. Olivi G, Olivi M. Innovative endodontics using SWEEPS technology. *Laser: international magazine of laser dentistry*. 2019;11(4):10-14.
176. De Moor RJG, Meire M, Goharkhay K, Moritz A, Vanobbergen J. Efficacy of ultrasonic versus laser-activated irrigation to remove artificially placed dentin debris plugs. *J Endod*. 2010;36(9):1580-3.
177. De Groot SD, Verhaagen B, Versluis M, Wu MK, Wesselink PR, van der Sluis LW. Laseractivated irrigation within root canals: cleaning efficacy and flow visualization. *Int Endod J*. 2009;42(12):1077-83.
178. Pedullà E, Genovese C, Campagna E, Tempera G, Rapisarda E. Decontamination efficacy of photon-initiated photoacoustic streaming (PIPS) of irrigants using low-energy laser settings: An ex vivo study. *Int Endod J*. 2012;45(9):865-70.
179. Lukac M, Olivi G, Constantin M, Lukac N, Jezeršek M. Determination of optimal separation times for dual-pulse sweep-laser-assisted irrigation in different endodontic access cavities. *Lasers Surg. Med*. 2021;53:998–1004.
180. Jezeršek M, Lukač N, Lukač M. Measurement of simulated debris removal rates in an artificial root canal to optimize laseractivated irrigation parameters. *Lasers Surg Med*. 2021;53(3):411-7.
181. European Society of Endodontology. Quality guidelines for endodontic treatment: consensus report of the European Society of Endodontology. *Int Endod J*. 2006;39(12):921-30.
182. Stabholz A, Friedman S. Endodontic retreatment—case selection and technique. part 2: Treatment planning for retreatment. *J Endod*. 1988;14:607–14.
183. Zandi H, Petronijevic N, Mdala I, Kristoffersen AK, Enersen M, Rôças IN, Siqueira JF Jr, Ørstavik D. Outcome of endodontic retreatment using 2 root canal irrigants and influence of infection on healing as determined by a molecular method: a randomized clinical trial. *J Endod*. 2019;45(9):1089-98.
184. Rossi-Fedele G, Ahmed HM. Assessment of root canal filling removal effectiveness using micro- tomography: a systematic review. *J Endod*. 2017;43:520–6.

185. Madani ZS, Simdar N, Moudi E, Bijani A. CBCT evaluation of the root canal filling removal using d-race, protaper retreatment kit and hand files in curved canals. *Iran Endod J* . 2015;10(1):69-74.
186. Nevares G, de Albuquerque DS, Freire LG, Romeiro K, Fogel HM, Dos Santos M, Cunha RS. Efficacy of ProTaper NEXT compared with Reciproc in removing obturation material from severely curved root canals: a micro-computed tomography study. *J Endod*. 2016;42(5):803-8.
187. Ma J, Al-Ashaw AJ, Shen Y, Gao Y, Yang Y, Zhang C, Haapasalo M. Efficacy of ProTaper universal rotary retreatment system for gutta-percha removal from oval root canals: a micro computed tomography study. *J Endod*. 2012;38(11):1516-20.
188. Cavenago BC, Ordinola-Zapata R, Duarte MAH, del Carpio-Perochena AE, Villas-Bôas MH, Marciano MA et al. Efficacy of xylene and passive ultrasonic irrigation on remaining root filling material during retreatment of anatomically complex teeth. *Int Endod J*. 2014;47(11):1078-83.
189. Zjača K, Prskalo K. Materijali za punjenje korijenskog kanala. *Sonda*. 2004;6(11):83-5.
190. Dotto L, Sarkis-Onofre R, Bacchi A, Pereira GKR. The use of solvents for gutta-percha dissolution/removal during endodontic retreatments: A scoping review. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2021;9(6):890-901.
191. Horvath SD, Altenburger MJ, Naumann M, Wolkewitz M, Schirrmeister JF. Cleanliness of dentinal tubules following guttapercha removal with and without solvents: a scanning electron microscopic study. *Int Endod J*. 2009;42(11):1032-8.
192. Boariu M, Nica LM, Marinescu A, et al. Efficiency of eucalyptol as organic solvent in removal of gutta-percha from root canal fillings. *Rev Chim-Bucharest*. 2015;66(6):907-10.
193. Souza LC, Neves GST, Kirkpatrick T, Letra A, Silva R. Physicochemical and Biological Properties of AH Plus Bioceramic. *J Endod*. 2023;49(1):69-76.
194. Jafari F, Jafari S. Composition and physicochemical properties of calcium silicate based sealers: A review article. *J Clin Exp Dent*. 2017;9(10):e1249-e55.

195. Loushine BA, Bryan TE, Looney SW, Gillen BM, Loushine RJ, Weller RN, et al. Setting properties and cytotoxicity evaluation of a premixed bioceramic root canal sealer. *J Endod.* 2011;37(5):673-7.
196. Borges RP, Sousa-Neto MD, Versiani MA, Rached-Junior FA, De-Deus G, Miranda CE, et al. Changes in the surface of four calcium silicate-containing endodontic materials and an epoxy resin-based sealer after a solubility test. *Int Endod J.* 2012;45(5):419-28.
197. Candeiro GT, Correia FC, Duarte MA, Ribeiro-Siqueira DC, Gavini G. Evaluation of radiopacity, pH, release of calcium ions, and flow of a bioceramic root canal sealer. *J Endod.* 2012;38(6):842-5.
198. Zhang H, Shen Y, Ruse ND, Haapasalo M. Antibacterial activity of endodontic sealers by modified direct contact test against *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2009;35(7):1051-5.
199. Zhang W, Li Z, Peng B. Ex vivo cytotoxicity of a new calcium silicate-based canal filling material. *Int Endod J.* 2010;43(9):769-74.
200. Koch K, Brave D. Bioceramic technology—the game changer in endodontics.. *Endodontic Practice.* 2009;12:7-11.
201. Zhou HM, Shen Y, Zheng W, Li L, Zheng YF, Haapasalo M. Physical properties of 5 root canal sealers. *J Endod.* 2013;39(10):1281-6.
202. Koch K BD, Ali Nasseh A. A review of bioceramic technology in endodontics. 2012. Dostupno na:https://media.zwponline.info/archiv/pub/sim/ro/2013/ro0113/ro0113_06_13_koch.pdf
203. Kossev D, Stefanov V. Ceramics-based sealers as new alternative to currently used endodontic sealers. *Roots.* 2009 Mar;1:42-8.
204. Wang C. Bioceramic materials in endodontics. *Endod Topics.* 2015;32:3-30.
205. Koch KA, Brave DG, Nasseh AA. Bioceramic technology: closing the endorestorative circle, Part I. *Dent Today.* 2010 Feb;29(2):100–5.
206. Camilleri J. Characterization and hydration kinetics of tricalcium silicate cement for use as a dental biomaterial. *Dent Mater.* 2011;27(8):836-44.

207. Sarkar NK, Caicedo R, Ritwik P, Moiseyeva R, Kawashima I. Physicochemical basis of the biologic properties of mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2005;31(2):97-100.
208. Tran XV, Gorin C, Willig C, Baroukh B, Pellat B, Decup F, et al. Effect of a calcium silicate-based restorative cement on pulp repair. *J Dent Res.* 2012;91(12):1166-71.
209. Richardson IG. The calcium silicate hydrates. *Cem Concr Res.* 2008;38(2):137-58.
210. Yang Q, Troczynski T, Liu D. Influence of apatite seeds on the synthesis of calcium phosphate cement. *Biomaterials.* 2002;23(13):2751-60.
211. Dohaithem A, Al-Nasser A, Al-Badah A, Al-Nazhan S, Al-Maflehi N. An in vitro evaluation of antifungal activity of Bioaggregate. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011;112(4):27-30.
212. Crozeta BM, Lopes FC, Menezes Silva R, Silva-Sousa YTC, Moretti LF, Sousa-Neto MD. Retreatability of BC Sealer and AH Plus root canal sealers using new supplementary instrumentation protocol during non-surgical endodontic retreatment. *Clin Oral Investig.* 2021;25(3):891-9.
213. Eymirli, A.; Sungur, D.D.; Uyanik, O.; Purali, N.; Nagas, E.; Cehreli, Z.C. Dentinal tubule penetration and retreatability of a calcium silicate-based sealer tested in bulk or with different main core material. *J. Endod.* 2019;45:1036–40.
214. Arul, B.; Varghese, A.; Mishra, A.; Elango, S.; Padmanaban, S.; Natanasabapathy, V. Retrievability of bioceramic-based sealers in comparison with epoxy resin-based sealer assessed using microcomputed tomography: A systematic review of laboratory-based studies. *J. Conserv. Dent.* 2021;24:421–34.
215. Keleş, A.; Şimşek, N.; Alçın, H.; Ahmetoglu, F.; Yologlu, S. Retreatment of flat-oval root canals with a self-adjusting file: An SEM study. *Dent. Mater. J.* 2014;33:786–91.
216. Marchi, V.; Scheire, J.; Simon, S. Retreatment of root canals filled with BioRoot RCS: An in vitro experimental study. *J. Endod.* 2020;46:858–62.
217. Angerame, D.; De Biasi, M.; Porrelli, D.; Bevilacqua, L.; Zanin, R.; Olivi, M.; Kaitsas, V.; Olivi, G. Retreatability of calcium silicate-based root canal sealer using reciprocating

instrumentation with different irrigation activation techniques in single-rooted canals. *Aust. Endod. J.* 2021;48:415–22.

218. Feldkamp LA, Goldstein SA, Parfitt AM, Jasion G, Kleerekoper M. The direct examination of three-dimensional bone architecture in vitro by computed tomography. *J Bone Miner Res.* 1989;4:3-11.

219. Kuhn JL, Goldstein SA, Feldkamp LA, Goulet RW, Jasion G. Evaluation of a microcomputed tomography system to study trabecular bone structure. *J Orthop Res.* 1990;8(6):833-42.

220. Dostupno na: <https://www.microphotonics.com/how-does-a-microct-scanner-work>

221. Versiani MA, Carvalho KKT, Mazzi-Chaves JF, Sousa-Neto MD. Micro-computed tomographic evaluation of the shaping ability of XP-endo Shaper, iRaCe, and EdgeFile systems in long oval-shaped canals. *J Endod.* 2018;44:489-95.

222. Pinheiro SR, Alcalde MP, Vivacqua-Gomes N, Bramante CM, Vivan RR, Duarte MAH, Vasconcelos BC. Evaluation of apical transportation and centring ability of five thermally treated NiTi rotary systems. *Int Endod J.* 2018;51:705-13.

223. Kim I, Paik KS, Lee SP. Quantitative evaluation of the accuracy of micro-computed tomography in tooth measurement. *Clin Anat.* 2007;20:27–34.

224. Swain MV, Xue J. State of the art of Micro-CT applications in dental research. *Int J Oral Sci.* 2009;1:177-88.

225. Dowker SE, Davis GR, Elliott JC. X-ray microtomography: nondestructive threedimensional imaging for in vitro endodontic studies. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1997;83:510-6.

226. Rhodes JS, Ford TR, Lynch JA, Liepins PJ, Curtis RV. Micro-computed tomography: a new tool for experimental endodontology. *Int Endod J.* 1990;32:165- 70.

227. Bergmans L, van Cleynenbreugel J, Wevers M, Lambrechts P. A methodology for quantitative evaluation of root canal instrumentation using microcomputedtomography. *Int Endod J.* 2001;34:390–8.

228. Cheung LHM, Cheung GSP. Evaluation of a rotary instrumentation method for C-shaped canals with micro-computed tomography. *J Endod.* 2008;34:1233-8.
229. Peters OA, Laib A, Gohring TN, Barbakow F. Changes in root canal geometry after preparation assessed by high-resolution computed tomography. *J Endod.* 2001;27:1–6.
230. 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.
231. Siqueira JF Jr, Rôcas IN. Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: Part 2--Redefining the endodontic microbiota. *J Endod.* 2005;31:488-98.
232. Fredricks DN, Relman DA. Application of polymerase chain reaction to the diagnosis of infectious diseases. *Clin Infect Dis.* 1999;29:475-8.
233. Balić M. Evaluation of surface wear in rotary and reciprocating nickel-titanium instruments after use in curved root canals [disertacija]. Zagreb: Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu. 2023; 83p.
234. McMullan D. Scanning electron microscopy 1928-1965. *Scanning.* 2006;17:175–85.
235. Alapati SB, Brantley WA, Svec TA, Powers JM, Nusstein JM, Daehn GS. SEM observations of nickel-titanium rotary endodontic instruments that fractured during clinical use. *J Endod.* 2005;31:40-3.
236. Cazaux J. Recent developments and new strategies in scanning electron microscopy. *J Microsc.* 2005;217:16-35.
237. Hassellöv M, Readman JW, Ranville JF, Tiede K. Nanoparticle analysis and characterization methodologies in environmental risk assessment of engineered nanoparticles. *Ecotoxicology.* 2008;17:344–61.
238. Balić M, otpornost bakterijskog biofilma na djelovanje antimikrobnih sredstava i analiza konfokalnom laserskom mikroskopijom diplomski rad [diplomski rad]. Zagreb: Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu; 2016. 38 p.
239. Yang R, Han Y, Liu Z, Xu Z, Liu H, Wei X. Comparison of the efficacy of laser-activated and ultrasonic-activated techniques for the removal of tricalcium silicate-based sealers and

gutta-percha in root canal retreatment: a microtomography and scanning electron microscopy study. *BMC Oral Health*. 2021;21:275.

240. Mancini, M.; Cerroni, L.; Palopoli, P.; Olivi, G.; Olivi, M.; Buoni, C.; Cianconi, L. FESEM evaluation of smear layer removal from conservatively shaped canals: Laser activated irrigation (PIPS and SWEEPS) compared to sonic and passive ultrasonic activation-an ex vivo study. *BMC Oral Health*. 2021;21:81.

241. Natanasabapathy V, Arul B, Srinivasan V, Santosh SS, Vasudevan A, Arockiam S, Namasivayam A, Deivanayagam K, Srinivasan MR. Removal of accumulated hard tissue debris from mesial root of mandibular molars evaluated using microCT - a systematic review and network meta-analysis. *Evid Based Dent*. 2022;23(1):5.

242. Bago I, Plotino G, Katić M, Ferenac A, Petričević GK, Gabrić D, Anić I. Effect of a novel laser-initiated photoacoustic activation of a solvent or sodium hypochlorite in the removal of filling remnants after retreatment of curved root canals. *Photodiagn Photodyn Ther*. 2021; 36:102535.

243. Do QL, Gaudin A. The efficiency of the Er: YAG laser and photoninduced photoacoustic streaming (PIPS) as an activation method in endodontic irrigation: a literature review. *J Lasers Med Sci*. 2020;11:316–34.

244. Betancourt P, Merlos A, Sierra JM, Camps-Font O, ArnabatDominguez J, Viñas M. Effectiveness of low concentration of sodium hypochlorite activated by Er, Cr:YSGG laser against *Enterococcus faecalis* biofilm. *Lasers Med Sci*. 2019;34:247–54.

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

246. Lukac N, Muc BT, Jezersek M, Lukac M. Photoacoustic endodontics using the novel sweeps Er:YAG laser modality. *Laser Health Acad*. 2017;7:1–4.

247. Suk M, Bago I, Katić M, Šnjarić D, Munitić ŠM, Anić I. The efficacy of photon-initiated photoacoustic streaming in the removal of calcium silicate-based filling remnants from the root canal after rotary retreatment. *Lasers Med Sci*. 2017;32:2055-62.

248. Keleş A, Arslan H, Kamalak A, Akçay M, Sousa-Neto MD, Versiani MA. Removal of filling materials from oval-shaped canals using laser irradiation: a micro-computed tomographic study. *J Endod.* 2015;41:219–24.
249. Volponi A, Pelegrine RA, Kato AS, Stringheta CP, Lopes RT, Silva ASS, Bueno CEDS. Micro-computed tomographic assessment of supplementary cleaning techniques for removing bioceramic sealer and gutta-percha in oval canals. *J Endod.* 2020;46(12):1901–6.
250. Borges MMB, Duque JA, Zancan RF, Vivian RR, Bernardes RA, Duarte MAH. Efficacy of reciprocating systems for removing root filling material plus complementary cleaning methods in fattened canals: microtomography and scanning electron microscopy study. *Microsc Res Tech.* 2019; 82:1057–64.
251. Crozeta BM, Silva-Sousa YT, Leoni GB, Mazzi-Chaves JF, Fantinato T, Baratto-Filho F, Sousa-Neto MD. Micro-computed tomography study of filling material removal from oval-shaped canals by using rotary, reciprocating, and adaptive motion systems. *J Endod.* 2016;42:793–7.
252. 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;44:583–609.
253. Campello AF, Almeida BM, Franzoni MA, Alves FRF, Marceliano-Alves MF, Rôças IN, Siqueira JF Jr, Provenzano JC. Influence of solvent and a supplementary step with a finishing instrument on filling material removal from canals connected by an isthmus. *Int Endod J.* 2019;52(5):716-24.
254. Das S, De Ida A, Das S, Nair V, Saha N, Chattopadhyay S. Comparative evaluation of three different rotary instrumentation systems for removal of gutta-percha from root canal during endodontic retreatment: An in vitro study. *J Conserv Dent.* 2017;20(5):311-16.
255. Çanakçı BC, Er O, Dincer A. Do the Sealer Solvents Used Affect Apically Extruded Debris in Retreatment? *J Endod.* 2015;41(9):1507-9.
256. Bayram E, Dalat D, Bayram M. Solubility evaluation of different root canal sealing materials. *J Contemp Dent Pract.* 2015;16(2):96-100.

257. Kirmizi D, Aksoy U, Orhan K. Efficacy of laser-activated irrigation and conventional techniques in calcium hydroxide removal from simulated internal resorption cavities: micro-CT study. *Photobiomodul Photomed Laser Surg.* 2021;39:674–81.
258. Gregorcic P, Jezersek M, Mozina J. Optodynamic energyconversion efficiency during an Er:YAG-laser-pulse delivery into a liquid through different fiber-tip geometries. *J Biomed Opt.* 2012;17:075006.
259. Ivanusic T, Lukac M, Lukac N, Jezersek M. SSP/SWEEPS endodontics with the SkyPulse Er:YAG dental laser. *LA&HA.* 2019. Dostupno na: www.laserandhealthacademy.com
260. Bago I, Plotino G, Katić M, Ročan M, Batinić M, Anić I. Evaluation of filling material remnants after basic preparation, apical enlargement and final irrigation in retreatment of severely curved root canals in extracted teeth. *Int Endod J.* 2020;53:962–73.
261. Arul B, Varghese A, Mishra A, Elango S, Padmanaban S, Natanasabapathy V. Retrievability of bioceramic-based sealers in comparison with epoxy resin-based sealer assessed using microcomputed tomography: A systematic review of laboratory-based studies. *J Conserv Dent.* 2021;24:421–34.
262. Kim K, Kim DV, Kim SY, Yang S. A micro-computed tomographic study of remaining filling materials of two bioceramic sealers and epoxy resin sealer after retreatment. *Restor Dent Endod.* 2019; 44:e18.
263. Almohareb RA, Barakat RM, Aljarallah N, Mudhish H, Almutairi A, Algahtani FN. Efficiency of diode laser and ultrasonic-activated irrigation in retreatment of gutta percha and bioceramic sealer: An in vitro study. *Aust. Endod. J.* 2023;49(2):318-23.
264. Vatanpour M, Toursavadkouhi S, Sajjad S. Comparison of three irrigation methods: SWEEPS, ultrasonic, and traditional irrigation, in smear layer and debris removal abilities in the root canal, beyond the fractured instrument. *Photodiagn. Photodyn. Ther.* 2022;37:102707.
265. 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. *Photodiagn. Photodyn. Ther.* 2022;37:102631.

266. Ensafi F, Fazlyab M, Chiniforush N, Akhavan H. Comparative effects of SWEEPS technique and antimicrobial photodynamic therapy by using curcumin and nano-curcumin on *Enterococcus faecalis* biofilm in root canal treatment. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2022;40:103130.
267. Koruk D, Basmacı F, Kırmızı D, Aksoy U. The Impact of Laser-Activated and Conventional Irrigation Techniques on Sealer Penetration into Dentinal Tubules. *Photobiomodul. Photomed. Laser Surg.* 2022;40:565-72.
268. Estrela C, Silva JA, de Alencar AH, Leles CR, Decurcio DA: Efficacy of sodium hypochlorite and chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* - a systematic review. *J Appl Oral Sci.* 2008;16:364-8.
269. Murad CF, Sassone LM, Souza MC, Fidel RAS, Fidel SR, Junior RH: Antimicrobial activity of sodium hypochlorite, chlorhexidine and MTAD® against *Enterococcus faecalis* biofilm on human dentin matrix in vitro. *Rev Bras Odontol.* 2012;9:143-50.
270. Lei L, Wang F, Wang Y, Li Y, Huang X. Laser activated irrigation with SWEEPS modality reduces concentration of sodium hypochlorite in root canal irrigation. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2022;39:102873.
271. Robberecht L, Delattre J, Meire M. Isthmus morphology influences debridement efficacy of activated irrigation: A laboratory study involving biofilm mimicking hydrogel removal and high-speed imaging. *Int Endod J.* 2023;56(1):118-27.
272. Boutsoukis C, Arias-Moliz MT. Present status and future directions - irrigants and irrigation methods. *Int Endod J.* 2022;55(Suppl 3):588-612.
273. Akdere SK, Aydın ZU, Erdönmez D. Antimicrobial effectiveness of different irrigation activation techniques on teeth with artificial internal root resorption and contaminated with *Enterococcus faecalis*: a confocal laser scanning,icroscopy analysis. *Lasers Med Sci.* 2023;38(1):89.
274. Nagendrababu V, Kishen A, Chong BS, Priya E, Duncan HF, Rôças IN et al. Preferred Reporting Items for study Designs in Endodontology (PRIDE): guiding authors to identify and correct reporting deficiencies in their manu-scripts prior to peer review. *Int Endod J.* 2020;53:589– 90.

275. Busanello FH, Petridis X, So MVR, Dijkstra RJB, Sharma PK, van der Sluis LWM. Chemical biofilm removal capacity of endodontic irrigants as a function of biofilm structure: optical coherence tomography, confocal microscopy and viscoelasticity determination as integrated assessment tools. *Int Endod J.* 2019;52:461–74.
276. Marinković J, Čulafić DM, Nikolić B, Đukanović S, Marković T, Tasić G et al. Antimicrobial potential of irrigants based on essential oils of *Cymbopogon martinii* and *Thymus zygis* towards in vitro multispecies biofilm cultured in ex vivo root canals. *Archives of Oral Biology.* 2020;117:104842.
277. Chávez de Paz LE. Development of a multispecies biofilm community by four root canal bacteria. *J of Endod.* 2012;38:318–23.
278. Chávez de Paz LE, Marsh PD. Ecology and physiology of root canal microbial biofilm communities. In: Chávez de Paz L, Sedgley CM, Kishen A. *The root canal biofilm.* New York, NY: Springer, 2015. p. 3–22.
279. Rudney JD, Chen R, Lenton P, Li J, Li Y, Jones RS et al. A reproducible oral microcosm biofilm model for testing dental materials. *J Appl Microbiol.* 2012;113(6):1540–53.
280. Boutsoukis C, Arias-Moliz MT, Chávez de Paz LE. A critical analysis of research methods and experimental models to study irrigants and irrigation systems. *Int Endod J.* 2022;55(Suppl. 2):295–329.

8. ŽIVOTOPIS

Gabrijela Kapetanović Petričević rođena je 28.11.1991. godine. 2010. godine završila je opću gimanziju Ban Josip Jelačić u Zaprešiću i upisala Stomatološki fakultet u Zagrebu. 2016. godine redovno je završila šestogodišnji integrirani preddiplomski i diplomski studij Dentalne medicina s odličnim uspjehom i diplomskim radom na temu "Utjecaj položaja glave i tijela na zubne dodire" pod mentorstvom prof. dr. sc. Nikše Dulčića.

Za vrijeme studija bila je urednica studentskog lista Sonda za što je nagrađena Dekanovom nagradom. Također, sudjelovala je u volonterskim udrugama Geronto projekt i Zubić vila.

Nakon studija radila je u nekoliko privatnih poliklinika u Zagrebu i pohađala niz stručnih tečajeva trajne izobrazbe.

2020. godine upisala je poslijediplomski doktorski studij i zaposlila se kao asistent na Stomatološkom fakultetu u Zagrebu, na Zavodu za endodonciju i restaurativnu stomatologiju, na projektu Hrvatske zaklade za znanost pod nazivom "Kliničko i eksperimentalno istraživanje laserski aktiviranog fotoakustičnog strujanja i fotoaktivirane dezinfekcije u endodontskom liječenju" voditeljice izv. prof. dr. sc. Ivone Bago u sklopu kojeg je upisala i doktorski studij na Stomatološkom fakultetu u Zagrebu.

2023. započela je specijalizaciju iz Endodoncije i restaurativne dentalne medicine na Stomatološkom fakultetu u Zagrebu pod mentorstvom prof. dr. sc. Ivice Anića.

Služi se engleskim, talijanskim i njemačkim jezikom.

Objavljeni radovi proizašli iz doktorata:

1. Petričević GK, Katić M, Anić I, Salarić I, Vražić D, Bago I. Efficacy of different Er:YAG laser-activated photoacoustic streaming modes compared to passive ultrasonic irrigation in the retreatment of curved root canals. *Clin Oral Investig.* 2022;26(11):6773-81.
Broj citata u WOSCC-SCIE: 4
Index/JCR kvartil u godini objave rada: Q2
2. Kapetanović Petričević G, Katić M, Brzović Rajić V, Anić I, Bago I. The Efficacy of Er:YAG Laser-Activated Shock Wave-Enhanced Emission Photoacoustic Streaming Compared to Ultrasonically Activated Irrigation and Needle Irrigation in the Removal of Bioceramic Filling Remnants from Oval Root Canals-An Ex Vivo Study. *Bioengineering (Basel).* 2022;9(12):820PMCID: PMC9774814.
Broj citata u WOSCC-SCIE: 0
Index/JCR kvartil u godini objave rada: Q2

Ostali objavljeni radovi:

1. Bago I, Plotino G, Katić M, Ferenac A, Petričević GK, Gabrić D, Anić I. Effect of a novel laser-initiated photoacoustic activation of a solvent or sodium hypochlorite in the removal of filling remnants after retreatment of curved root canals. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2021;36. Broj citata u WOSCC-SCIE: 7
Index/JCR kvartil u godini objave rada: Q3
2. Bago I. Kapetanović Petričević G. SWEEPS tehnologija u endodontskom liječenju zuba. *Vjesnik dentalne medicine.* 2020;3:4-9.
3. Kapetanović G, Klisović I, Alajbeg I. Faze izrade kombiniranog nadomjestka: određivanje međučeljusnih odnosa. *Sonda.* 2016;17(31):42-7.
4. Kapetanović G, Dulčić N. Stomatološki značaj u međuovisnosti okluzije i posture. *Sonda.* 2015;16(29):43-4.
5. Kapetanović G, Prskalo K. Komunikacija u stomatologiji: poziv ili zanimanje? *Sonda.* 2014;16(27):88-90.

Recenzije

1. Recenzija izvornog znanstvenog rada pod brojem 6319743, Scanning.

Izlaganja na međunarodnim kongresima:

1. Međunarodni kongres Stomatološkog fakulteta u Zagrebu (Rovinj, svibanj 2021.) *Effect of novel laser-initiated photoacoustic activation and ultrasonic activation to reduce filling remnants after root canal retreatment in curved root canals*
2. 99. Godišnjem IADR kongresu (Boston, srpanj 2021.) *Laser activated photoacoustic streaming in retreatment of curved root canals*
3. Godišnji kongres HED-a s međunarodnim sudjelovanjem (Zagreb, listopad 2021.) *SWEEPS in removing root canal filling remnants from severely curved root canals after chemomechanical root canal retreatment*
4. PER-IADR Oral Health Research Congress (Marseille, rujan 2022.) *SWEEPS in removing bioceramic sealer remnants from oval root canals*
5. 9. Međunarodni kongres Stomatološkog fakulteta u Zagrebu (Dubrovnik, ožujak 2023.)
6. Godišnji kongres HED-a s međunarodnim sudjelovanjem (Zagreb, svibanj 2023.) *Effectiveness of laser-activated photoacoustic streaming and ultrasound activation in removing root canal filling remnants – new findings and current status*

Tečajevi trajne izobrazbe i skupovi:

listopad 2013. - 8. Hrvatski međunarodni Quintessence kongres, Zagreb

studeni 2013. - Hrvatski dani dječje stomatologije, Zagreb

prosinac 2013. - Prvi međunarodni kongres studenata demtalne medicine, Rijeka

ožujak 2014. - Najnovije u restaurativnoj dentalnoj medicini, Zagreb

listopad 2014. - 9. Hrvatski međunarodni Quintessence kongres, Zagreb

studeni 2014. - HED: Stomatologija svakodnevna praksa, Zagreb

ožujak 2015. - Međunarodni kongres Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

travanj 2015. - Stomatologija svakodnevna praksa, Zagreb

listopad 2015. - 10. hrvatski međunarodni Quintessence kongres, Zagreb

ožujak 2016. - 2. međunarodni kongres Stomatološkog fakulteta u Zagrebu i AODES, Zagreb

travanj 2016. - Stomatologija svakodnevna praksa, Zagreb

studeni 2016. - radni tečaj - Estetika i restauracije novim kompozitnim materijalima i kolčićima ojačanim staklenim

vlaknima (doc. dr. sc. Anja Baraba), Zagreb

lipanj 2017. - 4. kongres Hrvatskog društva za stomatološku protetiku, Opatija

siječanj 2018. - radni tečaj MM1 (izv. prof. dr. sc. Nikša Dulčić), Zagreb

veljača 2018. - radni tečaj MM2 (izv. prof. dr. sc. Nikša Dulčić), Zagreb

travanj 2018. - Izbjeljivanje zuba individualnim udlagama (dr. Elizabeta Četa Gornik), Zagreb

prosinac 2018. - Endo - resto maraton (dr. Stevan Kopianja), Zagreb

veljača 2019. - radni tečaj MM3 (izv. prof. dr. sc. Nikša Dulčić), Zagreb

listopad 2019 - radni tečaj Moderne tehnike preparacije zuba za keramiče restoracije (doc. dr. sc. Andreja Carek), Zagreb

studeni 2019, MM4 - Potpuna proteza, live demo (izv. prof. dr. sc. Nikša Dulčić), Zagreb

listopad 2020. radni tečaj Trunatomy tehnika instrumentacije (prof. dr. sc. Ivica Anić), Zagreb

svibanj 2021. 7.međunarodni kongres Stomatološkog fakulteta, Rovinj

srpanj 2021. IADR general session, Boston, SAD

listopad 2021. radni tečaj Laseri u stomatologiji (izv. prof. dr. sc. Ivona Bago i izv. prof. dr. sc. Dragana Gabrić, Godišnji kongres HED-a, Zagreb

listopad 2021. radni tečaj Endodontska kirurgija i tehnike šivanja (prof. dr. sc. Ivica Anić), Celje, Slovenija

rujan 2022. PER-IADR Oral Health Research Congress, Marseille, Francuska

listopad 2022. Godišnji kongres HED-a

ožujak 2023. 9.međunarodni kongres Stomatološkog fakulteta, Dubrovnik

svibanj 2023. radni tečaj Direct veneers in case of root canal treated discolored anteriors (dr. Maciej Zarow), Godišnji kongres HED-a, Zagreb

svibanj 2023. radni tečaj ProTaper Ultimate tehnika instrumentacije, Godišnji kongres HED-a, Zagreb

lipanj 2023. radni tečaj Klinička endodoncija: predvidljiva, jednostavna i učinkovita (izv. prof. dr. sc. Ivona Bago)

