

تغییرات مورفولوژیک عاج داخل کانال توسط لیزر Nd:YAG، اولتراسونیک و روش‌های معمول: ارزیابی میکروسکوپ الکترونی

عبدالله قربانزاده^۱محسن امین سبحانی^۱خسرو سهرابی^۲سروناز غفاری^۳نسیم چینی فروش^۴احمد رضا شمیری^۵^۱استادیار اندودنتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه

علوم پزشکی تهران

^۲آندودنتیست، مرکز تحقیقات لیزر در دندانپزشکی،

دانشگاه علوم پزشکی تهران

^۳استادیار اندودنتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه

علوم پزشکی کرمانشاه

^۴دندانپزشک، مرکز تحقیقات لیزر در دندانپزشکی،

دانشگاه علوم پزشکی تهران

^۵استادیار اپیدمیولوژی، مرکز تحقیقات دندانپزشکی،

دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

نویسنده: مسئول: نسیم چینی فروش، تلفن ۰۹۱۲۴۹۴۹۱۲۱

پست الکترونیک: n-chiniforush@farabi.tums.ac.ir

خلاصه

مقدمه: پاک‌سازی و شکل‌دهی کامل فضای کانال ریشه بخش مهمی از درمان‌های اندودانتیک است که با اعمال مکانیکی و شیمیایی انجام می‌شود. حذف بافت پالپی، دبری‌های آلی و غیر آلی، میکروارگانیزم‌ها و محصولات آن‌ها با استفاده از وسایل و شستشودهنده‌های داخل کانال، یکی از اهداف این فاز درمان است. هدف از انجام این مطالعه ارزیابی *Ex vivo* میزان حذف لایه اسمیر در دو روش *Passive Ultrasonic Irrigation*، *Laser Activated Irrigation* با لیزر Nd:YAG در مقایسه با روش‌های مرسوم بالینی بود.

روش بررسی: این مطالعه بر روی مجموعاً ۵۴ دندان قدامی تک‌کانال مندیبل انجام شد. پس از آماده‌سازی نمونه‌ها، آن‌ها به ۳ گروه *Conventional Irrigation + Smear Experimental layer*، *Passive Ultrasonic Irrigation* و *Laser Activated Irrigation* تقسیم شدند. پس از برش طولی نمونه‌ها از بعد مزودیستال، میزان حذف لایه اسمیر به وسیله SEM با بزرگ‌نمایی $\times 150$ بررسی شد.

یافته‌ها: میزان حذف لایه اسمیر در یک‌سوم کرونالی و میانی و آپیکالی کانال در گروه *Conventional Irrigation + Smear layer* بیشتر از دو گروه دیگر بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به حذف بهتر، لایه اسمیر در گروه *CI+Smear layer removal* به‌عنوان گروه *Gold standard* در نظر گرفته می‌شود و گروه‌های مذکور نمی‌توانند جانشینی برای آن محسوب شوند.

واژه‌های کلیدی: حذف لایه اسمیر، فعال‌سازی شستشودهنده با لیزر، فعال‌سازی با شستشودهنده

اولتراسونیک

مقدمه

پاک‌سازی و شکل‌دهی کامل فضای کانال ریشه بخش مهمی از درمان‌های اندودانتیک است که با اعمال مکانیکی و شیمیایی انجام می‌شود. حذف بافت پالپی، دبری‌های آلی و غیر آلی، میکروارگانیزم‌ها و محصولات آن‌ها با استفاده از وسایل و شستشودهنده‌های داخل کانال، یکی از اهداف این فاز مهم درمان است [۱، ۲]. به دلیل پیچیدگی‌های آناتومیک سیستم کانال ریشه، امکان پاک‌سازی و شکل‌دهی کامل کانال وجود ندارد و نامنظمی‌های دیواره کانال ریشه شامل گسترش‌های بیضی‌شکل، ایسموس‌ها و دلتاهای اپیکالی، نگرانی‌های اصلی هستند [۳]. هیپوکلریت سدیم (NaOCl) در سال ۱۹۳۶ به دندانپزشکی

معرفی شد و به دلیل توانایی در حل کردن مواد آلی و ضد عفونی کانال ریشه به‌عنوان محلول شستشودهنده کانال مورد استفاده قرار گرفت [۴].

عمق نفوذ محلول‌های شستشودهنده و بنابراین توانایی آن‌ها در ضدعفونی کردن توبول‌های عاجی محدود است و احتمالاً باکتری‌ها پس از شکل‌دهی داخل کانال، شستشو و کاربرد دارو در داخل توبول‌های عاجی باقی می‌مانند [۵].

Laser activated irrigation (LAI) به‌عنوان روشی برای فعال کردن بیشتر ماده شستشودهنده معرفی شده‌است. اثرهای این تکنیک بر اساس *Cavitation* است به این صورت که در یک محیط آبی فعال کردن لیزر در فرم کاهنده (*Ablative*) ممکن

الماسی به ضخامت ۱ میلی‌متر (D & Z, Cologne, Germany) به گونه‌ای قطع شدند که طول استاندارد ۱۹ میلی‌متر تا فورامن اپیکال به دست آمد. موقعیت فورامن اپیکال به وسیله فایل سایز ISO ۱۵ (Dentsply, Maillefer) (K-file stainless-steel) مشخص شد به طوری که پس از مشاهده نوک فایل در محل اپیکال فورامن از طول فایل یک میلی‌متر کم شد و آن را به عنوان "طول کارکرد" در نظر گرفتیم. جهت بررسی و مقایسه توانایی چهار روش جهت حذف لایه اسمیر، بعد از سیل کردن فورامن اپیکال با موم جهت ایجاد Closed system در دندان اختصاص داده شده به این بخش از مطالعه، کانال‌ها با استفاده از سیستم روتاری (VDW Mtwo endodontic synergy, Munich, Germany) (به همراه Premier product Co, Hannover, Germany) (Lubricant (RC-Prep) Germany) تا سایز اپیکالی ۴۰ # و تیپر ۰/۰۴، شستشو با ۲ میلی‌لیتر هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵ درصد بین فایل‌ها و شستشوی نهایی آب مقطر، آماده‌سازی شدند. نمونه‌های مربوط به این بخش از مطالعه به ۳ گروه Experimental تقسیم شدند:

گروه ۱: Conventional Irrigation (CI) + حذف لایه اسمیر شامل (n= ۱۸) دندان که در آن طی ۲۰ ثانیه ۲ میلی‌لیتر NaOCl ۵/۲۵ درصد به وسیله سرنگ Maxi-probe با سرسوزن گیج ۳۰ به داخل کانال هدایت شد به طوری که سوزن در ۱ میلی‌متری طول کارکرد قرار داده شد و در نیمه اپیکالی دندان در یک فاصله ۴ میلی‌متری به بالا و پایین حرکت داده شد. در این مرحله جهت حذف لایه اسمیر، ۲ میلی‌لیتر EDTA به مدت ۱ دقیقه و ۲ میلی‌لیتر NaOCl ۵/۲۵ درصد به مدت ۱ دقیقه استفاده شد و سپس طی ۶۰ ثانیه با نرمال‌سالیین شستشو داده شد. این گروه به عنوان Gold standard مقایسه در نظر گرفته شد.

گروه ۲: Laser Activated Irrigation (LAI) شامل (n= ۱۸) دندان که در آن طی ۲۰ ثانیه، ۲ میلی‌لیتر هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵ درصد به وسیله سرنگ Maxi-probe با سرسوزن گیج ۳۰ به داخل کانال برده شد و سپس به وسیله لیزر Nd:YAG (Fotona, FIDELIS, Ljubljana, Slovenia) با یک فیبر اندودانتیک به قطر ۳۰۰ میکرومتر و پالس انرژی ۵۰ میلی‌ژول و توان ۲ وات، فرکانس ۲۰ هرتز با عرض پالس Microsecond ۱۰۰ (VSP : Very short pulse) و ۲۰ pps، به مدت ۲۰ ثانیه فعال شد. فیبر در اپیکالی‌ترین ناحیه آماده‌سازی شده کانال قرار داده می‌شود و طی دوره‌های زمانی ۵ ثانیه‌ای به صورت

است منجر به شکل‌گیری حباب‌های بخار بیضی‌شکل بزرگ گردد که منبسط و از داخل منفجر می‌شوند نشان داده شده است این حباب‌های بخار ممکن است باعث افزایش حجم تا ۱۶۰۰ برابر حجم اولیه شوند. با این انبساط، مکانیسم ایجاد فشار زیاد می‌شود و فشار سبب بیرون راندن مایع از کانال می‌گردد. هنگامی که حباب بعد از ۲۰۰-۱۰۰ ms از داخل منفجر شد، فشار کم می‌گردد و با ورود مجدد مایع به داخل کانال، آثار ثانویه Cavitation ایجاد می‌شود. بنابراین لیزر به عنوان پمپ مایع عمل می‌کند [۶].

لیزر Nd:YAG علاوه بر کاربرد در مراحل پاک‌سازی و شکل‌دهی کانال ریشه، دارای مزایایی همچون حذف دبری، حذف لایه اسمیر و اثرهای باکتریسی‌دال است [۷-۹]. مطالعات کمی عوارض جانبی استفاده از این لیزر را گزارش کرده‌اند.

این لیزر به دلیل حذف مؤثر باکتری‌ها در ناحیه آپکس از درد بعد از درمان نیز ممانعت می‌کند [۱۰]. مزایای دیگر آن شامل سیل کردن توبول‌های عاجی با ذوب عاج و حذف دبری ولایه اسمیر از دیواره‌های کانال ریشه با تبخیر بافتی است [۱۱].

دبریدمان کامل جهت موفقیت طولانی‌مدت درمان کانال ریشه ضروری است. تأثیر دبریدمان مکانیکی هر سیستم شستشو به توانایی آن در انتقال شستشودهنده به نواحی اپیکال و اینسترومنت نشده کانال و قدرت آن در انتقال دبری‌ها از دیواره‌های کانال به خارج بستگی دارد [۱۲].

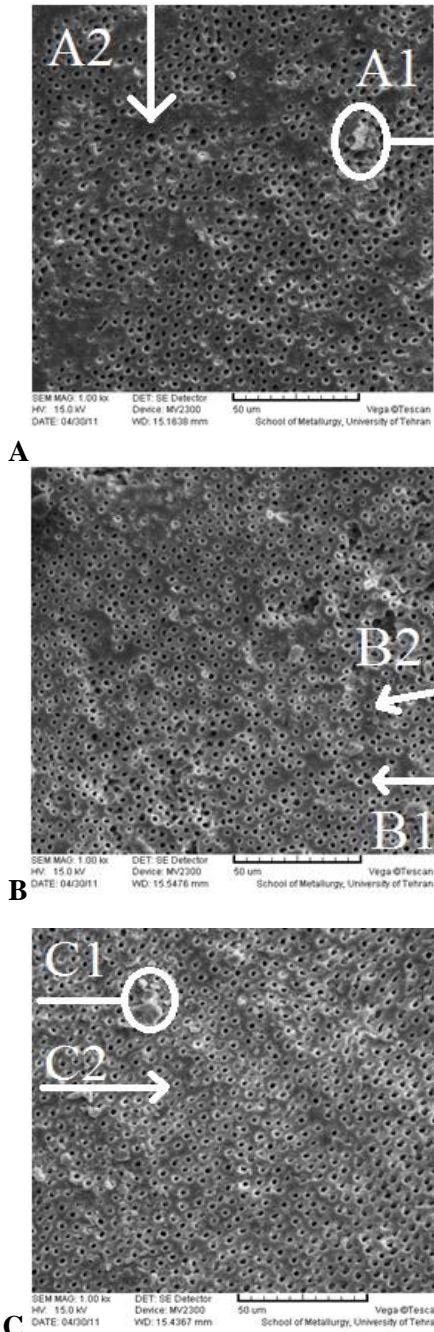
هدف از انجام این مطالعه ارزیابی Ex vivo میزان حذف لایه اسمیر در دو روش Passive Ultrasonic Irrigation و Laser Activated Irrigation با لیزر Nd:YAG در مقایسه با روش‌های مرسوم بالینی بود.

روش بررسی

تعداد (n= ۵۴) دندان تک‌کانال دائمی مندیبل انسانی با ریشه‌های بالغ مستقیم بدون تحلیل یا پوسیدگی ریشه که به دلایل مختلف از جمله اندودنتیک یا پرپودنتال کشیده شده‌اند، انتخاب شدند. با توجه به نیاز به قطع تاج دندان‌ها از محل CEJ، دندان‌های دچار پوسیدگی از مطالعه خارج نشدند در حالی که دندان‌های با سابقه درمان ریشه، کانال‌های کلسیفیه و کرودار از مطالعه خارج شدند. در این مطالعه سعی شد دندان‌هایی با سایز فایل اولیه ۱۵ انتخاب شوند.

دندان‌های قدیمی تک‌کانال مندیبل پس از کشیده شدن، در نرمال‌سالیین نگهداری شدند و جهت انجام مطالعه با کلرامین T با نسبت ۱:۷ ضد عفونی شدند. سپس تاج دندان‌ها به وسیله دیسک

ناحیه یک سوم میانی و یک سوم آپیکالی اسمیر لایر دیده شد که در ناحیه یک سوم آپیکالی این اسمیر لایر ضخیم به صورت ترک خورده دیده شد (تصویر ۳).



تصویر ۱: تصویر Scanning electron microscopic با بزرگ‌نمایی ۱۵۰۰ برابر یک نمونه از گروه Conventional irrigation + Smear layer removal (A) یک سوم کرونا میانی (A1, A2): دهانه باز توپول‌های عاجی (B) یک سوم میانی (B1, B2): دهانه باز توپول‌های عاجی (C) یک سوم آپیکالی (C1): لایه اسمیر و (C2): دهانه باز توپول‌های عاجی

مارپیچ حرکت داده می‌شود. این پروتکل بدون خارج ساختن فیبر از کانال، ۴ بار تکرار می‌شود (۲۰ ثانیه). در انتها، کانال با ۲ میلی‌لیتر ۵/۲۵ NaoCl درصد به وسیله سرنگ شستشو داده شد و نهایتاً طی ۶۰ ثانیه با نرمال سالین شسته شد.

گروه ۳: Passive Ultrasonic Irrigation (PUI) شامل (۱۸ دندان که در آن طی ۲۰ ثانیه، ۲ میلی‌لیتر ۵/۲۵ NaoCl درصد به وسیله سرنگ Maxi-probe با سرسوزن گیج ۳۰ به داخل کانال هدایت شد. سپس یک فایل (K-file stainless-steel, Dentsply, Maillefer) #۲۰ Stainless-steel به وسیله دستگاه اولتراسونیک (Varios350, NAKANISHI Inc, Tokyo, Japan) نگهدارنده E11 (نگهدارنده u-فایل با زاویه ۱۲۰ درجه) جهت فعال‌سازی محلول شستشو دهنده با تنظیم بر E4 Power استفاده شد به طوری که مطابق مطالعه De Moor (۳۱) نوک فایل در ۱ میلی‌متری سد اپیکالی قرار گرفت. در انتها، طی ۲۰ ثانیه کانال با ۲ میلی‌لیتر ۵/۲۵ NaoCl درصد به وسیله سرنگ Maxi-probe با سرسوزن گیج ۳۰ شستشو داده شد و نهایتاً طی ۶۰ ثانیه با نرمال سالین مقطر شسته شد.

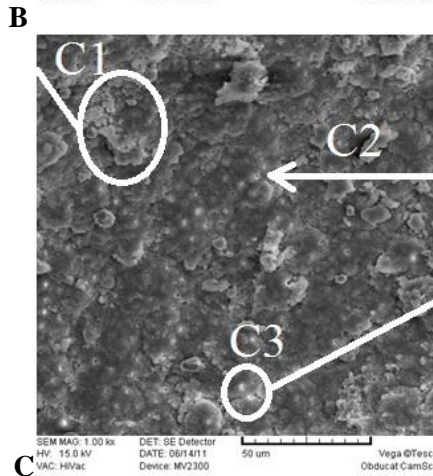
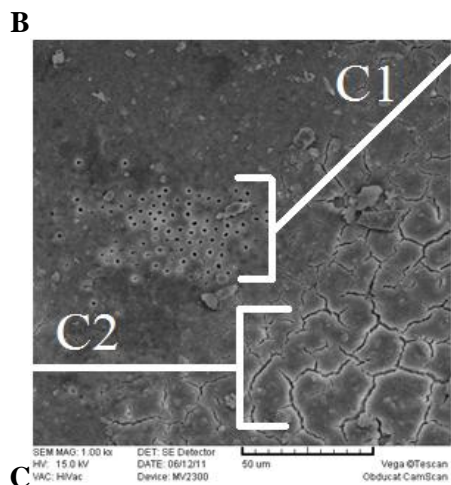
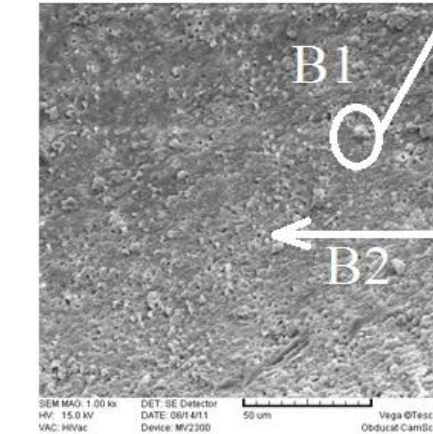
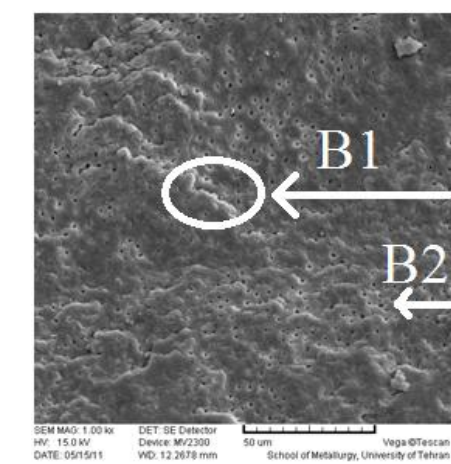
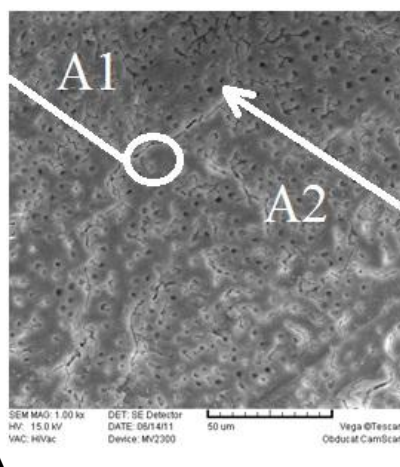
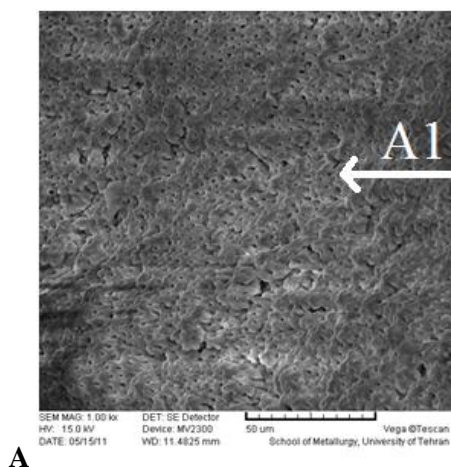
بعد از شستشوی نهایی، کانال‌ها به دقت با کن کاغذی شماره ۳۵ خشک شدند. از دندان‌ها به وسیله دستگاه Mecatome (T201A, Persi, Grenoble, France) مقاطع طولی (Longitudinal) تهیه شد. مرکز ناحیه مورد بررسی در سه ناحیه کرونا میانی و اپیکالی به وسیله (JEOL, JSM-5500, Tokyo, Japan) Scanning Electron Microscope (SEM) و با بزرگ‌نمایی ۲۰۰X مشخص گردید و سپس با بزرگ‌نمایی ۱۵۰۰X میزان دبری و لایه اسمیر بررسی شد.

یافته‌ها

در گروه Conventional Irrigation (CI) + حذف لایه اسمیر توسط EDTA دهانه توپول‌های عاجی در هر سه منطقه یک سوم آپیکالی، یک سوم میانی و یک سوم کرونا میانی بود و تنها اندکی اسمیر لایر در ناحیه یک سوم آپیکالی دیده شد (تصویر ۱).

در گروه لیزر Nd:YAG در ناحیه یک سوم کرونا میانی و یک سوم میانی دهانه توپول‌های عاجی باز بود ولی در ناحیه یک سوم آپیکالی اسمیر لایر دیده شد و همچنین دهانه توپول‌های عاجی توسط تابش لیزر ذوب و مسدود شدند (تصویر ۲).

در گروه Passive Ultrasonic Irrigation (PUI) در ناحیه یک سوم کرونا میانی دهانه توپول‌های عاجی باز بود ولی در



تصویر ۳: تصویر Scanning electron microscopic با بزرگ‌نمایی ۱۵۰۰ برابر یک نمونه از گروه Passive ultrasonic irrigation A: یک سوم کرونالی (A1: دهانه باز توپول‌های عاجی) B: یک سوم میانی (B1: لایه اسمیر پوشاننده توپول‌های عاجی B2: دهانه باز توپول‌های عاجی) C: یک سوم اپیکالی (C1: دهانه باز توپول‌های عاجی و C2: لایه اسمیر ضخیم ترک‌خورده)

تصویر ۲: تصویر Scanning electron microscopic با بزرگ‌نمایی ۱۵۰۰ برابر یک نمونه از گروه Laser activated irrigation A: یک سوم کرونالی (A1, A2: دهانه باز توپول‌های عاجی) B: یک سوم میانی (B1, B2: دهانه باز توپول‌های عاجی) C: یک سوم اپیکالی (C1: لایه اسمیر و C2, C3: دهانه ذوب‌شده توپول‌های عاجی)

اندودانتیک، حاوی بقایای بافت پالپ نکروتیک و باکتری می‌باشد [۱۷]. همچنین لایه اسمیر می‌تواند از نفوذ ضدعفونی‌کننده‌ها و پرکننده‌های کانال ریشه به داخل توبول‌های عاجی ممانعت کند [۱۸].

Minamisako و همکاران کارایی لیزر Nd:YAG را در حذف دبری، لایه اسمیر و بافت پالپی ثابت کرده‌اند [۱۹]. بنابراین در این مطالعه از لیزر Nd:YAG با توان ۲ وات، فرکانس ۲۰ هرتز با عرض پالس $100 \mu s$ VSP : Very short (pulse) و به مدت ۲۰ ثانیه استفاده شد. اکسیژن‌های طولانی‌تر با قدرت کمتر، ریسک آسیب بافتی طی کاربرد بالینی را کاهش می‌دهد زیرا افزایش دما به‌طور قابل توجهی کمتر می‌شود. از سوی دیگر برای خنثی کردن گرمای تولیدشده طی تابش لیزر و همچنین تقویت اثرهای تابش لیزر، کانال‌ها می‌توانند با هیپوکلریت سدیم یا EDTA پر شوند. در توافق با نتایج به‌دست آمده از تحقیق، Mello و همکاران نیز در ارزیابی‌های SEM نتیجه گرفتند شستشوی ممتد با ۵ میلی‌لیتر EDTA به مدت ۳ دقیقه به‌طور مؤثری لایه اسمیر را برمی‌دارد [۲۰].

همچنین Oliveira و همکاران در مقایسه قابلیت نفوذ و مورفولوژی عاج داخل کانال تحت تابش با لیزرهای مختلف شامل Er:YAG، Nd:YAG و دیود به این نتیجه رسیدند که دیواره‌های تابش‌یافته با لیزر Nd:YAG سطوح داخل کانال ذوب شده بود [۲۱].

نتیجه گیری

از یافته‌های این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت پروتکل استاندارد حذف لایه اسمیر، منجر به حذف مؤثرتر لایه اسمیر و عمق نفوذ بیشتر محلول شستشودهنده می‌گردد. از آنجاکه یک‌سوم اپیکالی کانال برای ما یک ناحیه با اهمیت محسوب می‌شود و هرچه بهتر بتوانیم دبری و لایه اسمیر را حذف کنیم، شانس موفقیت درمان ریشه را بالاتر برده‌ایم، به‌نظر می‌رسد تلفیق دو روش laser و پروتکل استاندارد حذف لایه اسمیر جهت پوشش نقاط ضعف هر کدام می‌تواند ما را به سمت اهداف درمان ریشه سوق دهد. مطالعات بیشتری جهت اثبات این امر مورد نیاز است.

به‌طور کلی میزان حذف لایه اسمیر در یک‌سوم کرونالی کانال در مقایسه سه گروه تفاوت نشان داد که مربوط به گروه Conventional Irrigation+Smear layer removal و گروه Passive ultrasonic irrigation بود به‌طوری‌که میزان حذف لایه اسمیر در گروه PUI از CI+Smear layer removal کمتر بود. در یک‌سوم میانی کانال، میزان حذف لایه اسمیر در گروه CI+Smear layer removal از هر دو گروه دیگر بیشتر بود و در یک‌سوم اپیکالی کانال میزان حذف لایه اسمیر در گروه CI+Smear layer removal از هر دو گروه دیگر بیشتر بود.

بحث

بسیاری از چالش‌های شناخته‌شده مطالعات In vivo در اندودانتیکس به مشکلات مشارکت و استانداردسازی بیماران مربوط می‌شود. از این‌رو تلاش برای به‌کارگیری مدل‌های تجربی که بازتابی از شرایط بالینی هستند و همچنین از عوامل انحرافی (Confounding factors) ممانعت می‌کنند، صورت گرفت. بسیاری از تحقیقات In vitro و Ex vivo در اندودانتیکس در زمینه‌های میکروبیولوژی، شستشو و ضدعفونی کانال ریشه با استفاده از عاج (Dentin) انجام شده است [۱۳، ۱۴].

اهمیت لایه اسمیر پوشاننده دیواره‌های کانال ریشه، همچنان متناقض است. از نقطه‌نظر دندانپزشکی ترمیمی، لایه اسمیر به‌عنوان سد فیزیکی در مقابل باکتری‌ها و محصولاتشان عمل می‌کند و اجازه نفوذ به آن‌ها را نمی‌دهد [۱۵]. از سوی دیگر Brannstrom و همکاران حضور باکتری‌ها را در لایه اسمیر نشان دادند و اظهار داشتند آن‌ها می‌توانند تکثیر یابند و سمومی تولید می‌کنند که برای پالپ مضر است [۱۶]. William و همکارانش، با استفاده از مدل میکروآرگانیسم‌های متحرک، نفوذپذیری لایه اسمیر را در In vitro ثابت کردند و همچنین گزارش کردند در کانال ریشه به‌شدت عفونی، باکتری‌ها ممکن است در عمق توبول‌های عاجی یافت شوند و لایه اسمیر پوشاننده دیواره‌های کانال ریشه بعد از اینسترومنتیشن

References

1. Clegg MS, Vertucci FJ, Walker C, Zand V. The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentin biofilms in vitro. *J Endod.* 2006; 32(5): 434-7.
2. Dunavant TR, Regan JD, Glickman GN, Solomon ES, Honeyman AL. Comparative evaluation of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilms. *J Endod.* 2006; 32(12): 527-31.
3. Nair P, Henry S, Cano V, Vera J. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after one visit endodontic treatment. *Oral surgery, oral pathology, oral radiology and endodontics* 2005; 99(2): 231-52.
4. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod.* 2006; 32(5): 389-98.
5. Wu Mk, Dummer PMH, Wesselink PR. Consequences of and strategies to deal with residual post-treatment root canal infection. *Int Endod J* 2006; 39(5): 343-56.
6. Wang Q, Zhang C, Yin X. Evaluation of bactericidal effect of Er;Cr:YSGG and Nd:YAG lasers in experimentally infected root canals. *J Endod* 2007; 33(7): 830-2.
7. Stabholz A, Sahar Helft S, Mosgonov J. laser in endodontics. *Dent clin north Am* 2004; 48(4): 809-32.
8. Piccolomini R, D'Arcangelo C, D'Ercole S, Catamo G, De-Fazio P. Bacteriologic evaluation of the effect of Nd:YAG laser irradiation in experimental infected root canals. *J Endod* 2002; 28(12): 276-8.
9. Folwaczny M, Mehl A, Jordan C, Hickel R. Effect of pulsed Nd:YAG laser irradiation at different energy settings in root canals. *J Endod.* 2002; 28(5): 24-9.
10. Koba K, Kimura Y, Matsumoto K, Takeuchi T, Ikarugi T, Shimizu T. A histopathological study of the morphological changes at the apical seat in the periapical region after irradiation with a pulsed Nd:YAG laser. *Int Endod J.* 1998; 31(6): 415-20.
11. Minamisako M, Kinoshita J, Matsimoto K, Stolf D, Morques J, . A study on root canal cleaning by Nd:YAG laser with black dye solution. *journal of oral laser applications.* 2009; 9(2): 101-9.
12. Berber VB, Gomes BP, Sena NT, Vianna ME, Ferraz CCR. Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing *Enterococcus faecalis* within root canals and dentinal tubules. *Int Endod J.* 2006; 39(1): 10-7.
13. Haapasalo M, Endal U, Zandi H, M.coil J. Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. *Endodo Topics* 2005;10(9): 77-102.
14. Qrstavik D, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressing of experimentally infected dentinal tubules. *Endod Dent Traumatol* 1990; 6(4): 142-9.
15. Michelich VJ, Schuster GS, Pashley DH. Bacterial penetration of human dentin in vitro. *J Dent Res* 1980; 59(8): 1398-403.
16. Brannstrom M, Nyborg H. Bacterial growth and pulpal changes under inlays cemented with zinc phosphate and epoxyite CBA 9080. *J prosthetic dent* 1974; 31(9): 556-65.
17. William S, Goldman M. Penetrability of the smeared layer by a strain of *Proteus vulgaris*. *J Endod* 1985; 11(5): 385-8.
18. Goldberg F, Abramovich A. Analysis of the effect of EDTAC on the dentinal walls of the root canal. *J Endod* 1977; 3(5): 101-5.
19. Minamisako M, Kinoshita J, Matsimoto K, Stolf D, Morques J, . A study on root canal cleaning by Nd:YAG laser with black dye solution. *journal of oral laser applications* 2009; 9(2): 101-9.
20. Mello I, Kammere B, Yoshimoto D, Macedo M, Antoniazzi J. Influence of final rinse technique on ability of Ethylenediaminetetraacetic acid of removing smear layer. *J Endod* 2010; 36(3): 512-4.
21. Esteves-Oliveira M, Guglielmi C, Müller Ramalho K, Arana-Chavez V, de Eduardo CP. Comparison of dentin root canal permeability and morphology after irradiation with Nd:YAG, Er:YAG, and diode lasers. *Lasers in Medical Sciences* 2010; 25(5): 755-60.