

[DOI]10.12016/j.issn.2096-1456.2018.12.004

· 基础研究 ·

Er:YAG激光联合次氯酸钠对根管内壁粪肠球菌的灭除效果

陈红¹, 薛凡², 李巧梅¹, 李跃烘³

1. 南方医科大学深圳口腔医院牙体牙髓科, 广东 深圳 (518001); 2. 南方医科大学深圳口腔医院牙周科, 广东 深圳 (518001); 3. 南方医科大学深圳口腔医院儿童口腔科, 广东 深圳 (518001)

【摘要】 目的 体外观察Er:YAG激光联合次氯酸钠对不同深度根管内壁粪肠球菌杀灭和清除效果,以期为临床应用提供参考。方法 成功建立75个粪肠球菌感染根管模型后,随机分为A、B、C3组,每组25个。每组随机抽取10个样本不做任何处理,用于检测根管壁不同深度处的细菌基线数。样本A组为Er:YAG激光联合52.5 g/L次氯酸钠组,B组为52.5 g/L次氯酸钠阳性对照组,C组为生理盐水阴性对照组处理后,计算各组各深度的细菌减少率。在扫描电镜下观察每组5个样本根管壁表层的清除效果。结果 各处理组对不同深度牙本质中的细菌减少率有所不同,①牙本质表层(0 μm),A组(100.00 ± 0.00)%与B组(98.62 ± 2.01)%比较差异没有统计学意义($P > 0.05$),A组(100.00 ± 0.00)%与C组(64.37 ± 2.45)%比较差异有统计学意义($P < 0.05$);②在0 μm < 深度 ≤ 100 μm,A组的细菌减少率(99.46 ± 2.31)%均比B组(92.89 ± 3.07)%与C组(56.72 ± 4.96)%多,差异有统计学意义($P < 0.05$);③100 μm < 深度 ≤ 200 μm,A组的细菌减少率(97.62 ± 3.73)%均比B组(72.49 ± 2.35)%与C组(44.42 ± 4.78)%多,差异有统计学意义($P < 0.05$);④200 μm < 深度 ≤ 300 μm牙本质中,A组的细菌减少率(95.89 ± 2.46)%均比B组(63.88 ± 1.08)%与C组(33.31 ± 5.21)%多,差异有统计学意义($P < 0.05$)。A组、B组与C组在各牙本质深度组间细菌减少率比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。电镜结果显示Er:YAG激光联合52.5 g/L次氯酸钠对根管内壁粪肠球菌清除较其它两组更干净。结论 Er:YAG激光能有效地增强次氯酸钠对根管内壁粪肠球菌的灭除效果。

【关键词】 Er:YAG激光; 次氯酸钠; 粪肠球菌; 根管治疗; 电镜

【中图分类号】 R781.05 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2018)12-0773-06

【引用著录格式】 陈红,薛凡,李巧梅,等. Er:YAG激光联合次氯酸钠对根管内壁粪肠球菌的灭除效果[J]. 口腔疾病防治,2018,26(12):773-778.

Effect of an Er:YAG laser combined with sodium hypochlorite on the elimination of *Enterococcus faecalis* in the root canal CHEN Hong¹, XUE Fan², LI Qiaomei¹, LI Yuehong³. 1. Department of Endodontics, Shenzhen Stomatological Hospital, Southern Medical University, Shenzhen 51800, China; 2. Department of Periodontics, Shenzhen Stomatological Hospital, Southern Medical University, Shenzhen 51800, China; 3. Children's Department of Stomatology, Shenzhen Stomatological Hospital, Southern Medical University, Shenzhen 51800, China

Corresponding author: CHEN Hong, Email: 1217661463@qq.com, Tel: 0086-755-82245520

【Abstract】 Objective To observe the killing and clearance effect of an Er:YAG laser combined with sodium hypochlorite on *Enterococcus faecalis* at different depths of the root canal in vitro to provide a reference for clinical application.

Methods A total of 75 models of *Enterococcus faecalis* infection were successfully established and randomly divided into three groups (25 per group). Ten random samples per group underwent no processing. The remaining models in group A were treated with an Er:YAG laser combined with sodium hypochlorite 52.5 g/L. Group B was treated with 52.5 g/L sodium hypochlorite (positive control), and group C was treated with normal saline (negative control). The bacterial reduc-

【收稿日期】 2018-07-03; **【修回日期】** 2018-08-29

【基金项目】 广东省医学科研基金项目(B2017063)

【通信作者】 陈红,副主任医师,本科, Email: 1217661463@qq.com, Tel: 0086-755-82245520

tion rate was calculated for each group. The bactericidal effect on the surface of the root canal wall was observed in 5 samples by scanning electron microscopy. **Results** There was no statistically significant difference ($P > 0.05$) between group A (100.00 ± 0.00) and group B (98.62 ± 2.01) but was a statistically significant difference between group A (100.00 ± 0.00) and group C (64.37 ± 2.45) ($P < 0.05$). The percentage reduction in bacteria was higher in group A (99.46 ± 2.31) than in groups B (92.89 ± 3.07) and C (56.72 ± 4.96) ($P < 0.05$). The decrease in bacteria was greater in group A (97.62 ± 3.73) than in groups B (72.49 ± 2.35) and C (44.42 ± 4.78) ($P < 0.05$). The bacterial reduction rate in group A (95.89 ± 2.46) was higher than that in groups B (63.88 ± 1.08) and C (33.31 ± 5.21) ($P < 0.05$). There were significant differences at different dentin depths in the bacterial reduction rates among groups A, B and C ($P < 0.05$). Electron microscopy analysis showed that the Er:YAG laser combined with 52.5 g/L sodium hypochlorite was better than either treatment alone at removing bacteria from the surface of the root canal wall. **Conclusion** An Er:YAG laser can effectively enhance the bactericidal effect of sodium hypochlorite on the inner wall of the root canal.

【Key words】 Er:YAG laser; Sodium hypochlorite; *Enterococcus faecalis*; Root canal therapy; Electron microscope

目前根管治疗术是治疗牙髓病、根尖周病的首选方法。根管治疗成功的关键在于彻底清除根管内微生物,防止其再感染^[1]。有报道显示根管治疗1年后总的成功率为85%~90%^[2-3],其失败主要原因是存在根管内持续感染,并主要由粪肠球菌等顽固性致病菌引起^[4]。由于根管弯曲、分叉、侧支等结构的复杂性,怎样彻底清除粪肠球菌和其他致病菌,防止根管再感染,提高根管治疗质量,是目前口腔医学研究的热点和重点。本研究拟通过体外离体牙建立粪肠球菌感染根管模型,观察Er:YAG激光联合次氯酸钠对根管壁内粪肠球菌灭除效果,以期为临床应用提供参考。

1 材料和方法

1.1 主要材料和仪器

粪肠球菌标准菌株(ATCC29212);脑-心浸液(brain heart infusion, BHI)琼脂培养皿,2.5%戊二醛(北京雷根生物,中国),PBS固定液(上海立菲生物,中国),Er:YAG激光(light instrument,以色列),扫描电镜(Hitachi S-3000N,日本),52.5 g/L次氯酸钠(泽丽口腔护理用品,中国),170 g/L EDTA(上海生工生物工程,中国),生理盐水冲洗液,ProTaper机用马达和锉(登士柏,瑞士)等。

1.2 感染根管模型的建立

1.2.1 离体牙处理 选择2017年1—12月因正畸或牙周病在南方医科大学深圳口腔医院拔除的85个根尖发育完成、单根管新鲜离体牙作为研究对象。清理牙根表面,去除牙冠,截短牙根(保留牙根12 mm的长度)。ProTaper预备根管到F3,预备

过程中用5 mL 52.5 g/L次氯酸钠和生理盐水冲洗液交替冲洗1 min。预备完成后,分别将52.5 g/L次氯酸钠液和170 g/L EDTA注入根管内浸泡3 min以去除玷污层。再用5 mL生理盐水冲洗1 min,去除溶剂,然后把牙根装袋,121 °C高温高压消毒20 min。随机抽取样本5个,2个扫描电镜观察显示牙本质小管口全部开放,表明根管壁玷污层均已被完全去除干净。3个放在5 mL BHI液体培养基中,并置于37 °C厌氧条件下静置孵育48 h,以确定灭菌是否完全,再进行下一步实验。

1.2.2 感染根管模型的建立 取标准粪肠球菌标准菌株(ATCC29212),常温复苏后接种于BHI琼脂培养皿中,在37 °C厌氧环境下培养24 h,后挑数个单菌落转至液体培养皿中,增菌培养24 h,调节细菌浓度约为 10^8 CFU/mL,麦氏值为0.5的菌悬液,将菌悬液注入根管后一对一置入含1 mL的BHI液体培养基的无菌离心管中,每3 d更换1次培养基,连续培养3周后,随机抽取5个样本,扫描电镜观察,确认根管感染模型成功建立后再进行以下实验。

1.3 Er:YAG激光对根管内粪肠球菌灭除效果的观察

1.3.1 分组及粪肠球菌感染根管处理 取上述成功建立粪肠球菌感染根管模型牙75个,随机分为A组(Er:YAG/次氯酸钠组)、B组(次氯酸钠阳性对照)、C组(生理盐水阴性对照组),每组25个。从每一大组再各随机抽取10个样本不做任何处理,用于检测根管壁不同深度处的细菌基线数,各组所剩余的15个样本分别按上述分组进行相应的处

理。A组:先向根管内注满52.5 g/L次氯酸钠溶液后,将Er:YAG激光(Er:YAG激光处理参数设置为50 mJ, 15 HZ, 0.3 W,下同)光纤头(直径300 μm)置于根管口处并作用20 s,然后再注满生理盐水,Er:YAG激光作用20 s,最后注满蒸馏水,Er:YAG激光作用20 s,两次作用间隔15 s;B组:使用5 mL 52.5 g/L次氯酸钠溶液冲洗根管60 s;C组:使用5 mL生理盐水冲洗根管60 s。

1.3.2 细菌培养计数 将各组处理过的10个样本和之前未处理的10个样本一并置于无菌面巾纸上,室温下自然干燥后,按下述方法采集试样并进行培养和检测。根管壁表面细菌采集:将饱和浸透生理盐水的无菌纸尖分别插入各样本的根管内,静置60 s后取出,放入盛有1 mL生理盐水的无菌离心管中并充分振荡10 s。不同深度根管壁细菌采集:选用直径大小分别为0.8、1.0、1.2 mm的无菌球钻,并在球钻柄上标记同一数值如3 mm的长度,分别钻取3个不同直径深度、根中上段3 mm处的牙本质碎屑,考虑到球钻本身的振动,认为收集来的牙本质碎屑来自0 μm < 深度 ≤ 100 μm、100 μm < 深度 ≤ 200 μm、200 μm < 深度 ≤ 300 μm 3个深度,注入根管生理盐水并转入盛有1 mL生理盐水的无菌离心管中充分振荡10 s。稀释培养:取上述采集的各样本试样悬液,按照体积比为1:10的比例分别进行梯度稀释后,每个梯度各取100 μL涂于BHI琼脂培养皿,并置于37 °C需氧条件下静置孵育。细菌计数:孵育24 h后分别观察每个培养皿上菌落形成情况并进行细菌计数。最后以未处理样本不同根管壁深度处的细菌数为基线,按下列公式计算各组各根管壁深度的细菌减少率,以评估各组的杀菌效果。

细菌减少率(%) = (M-N)/M × 100%,其中M为基线细菌数,N为处理后的细菌数。

1.3.3 电镜扫描观察 感染根管模型清洗:剩余的每组5个样本PBS冲洗,先用金钢砂车针沿样本长轴磨一浅沟,骨凿纵行劈开;①清洗:PBS,15 min × 3次;②前固定:2.5%新鲜预冷戊二醛4 °C固定,2 h后送电镜室继续进行制样;③漂洗:PBS,15 min × 3次;④后固定:1%锇酸固定1 h;⑤漂洗:15 min × 3次;⑥脱水:50%丙酮15 min × 1次,70%丙酮15 min × 1次,90%丙酮15 min × 1次;100%丙酮15 min × 3次;⑦置换:加入乙酸异戊酯,2 h;⑧临界点干燥粘台,喷金,用于扫描电镜观察。在扫描电镜下观察根管内壁表层的情况。通过扫描电镜观察处理前后样本的根管壁内表层的情况和评估粪肠球菌对根管内壁表层的影响。

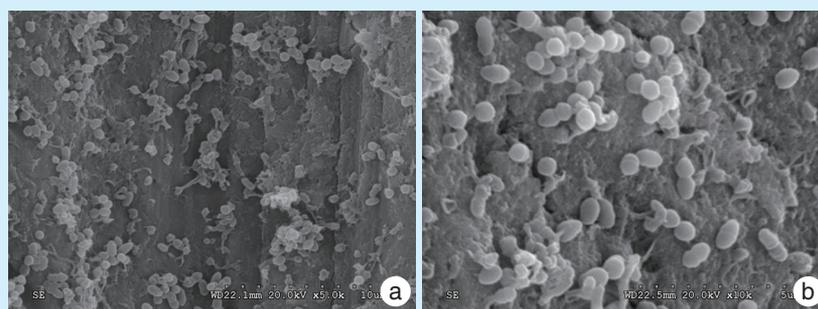
1.4 统计学方法

数据采用SPSS 20.0软件进行统计分析,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,对多组间比较进行方差分析,两两比较采用LSD-t检验,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 粪肠球菌感染根管模型的建立

细菌连续培养3周后电镜下观察根管壁表面大量粪肠球菌附着,圆形,表面光滑,并以生物膜样结构附着在根管壁表面,可见大量粪肠球菌以片状膜状结构粘附着在根管壁表面(图1a),部分已侵入到牙本质小管深层。高倍电镜下细菌形态正常,表面光滑饱满,呈圆形或椭圆形(图1b),说明根管感染模型成功建立。



a: 根管壁表面形态(×5 000); b: 根管壁表面形态(×10 000)

图1 电镜下观察细菌感染根管壁表面形态

Figure 1 The morphology of bacteria on the surface of the root canal wall was observed under an electron microscope

2.2 各处理组对不同深度牙本质中的细菌减少率比较

各处理组对不同深度牙本质中的细菌减少率有所不同(表1),在牙本质表层(0 μm),A、B、C组间比较差异有统计学意义($F=79.34, P<0.05$),两两比较发现A组(100.00±0.00)%与B组(98.62±2.01)%比较差异无统计学意义($P>0.05$),A组的细菌减少率(100.00±0.00)%与C组(64.37±2.45)%比较差异有统计学意义($P<0.05$)。在0 μm<深度≤100 μm,3组间比较差异有统计学意义($F=66.78, P<0.05$),

两两比较发现A组的细菌减少率(99.46±2.31)%均比B组(92.89±3.07)%与C组(56.72±4.96)%多($P<0.05$)。在100 μm<深度≤200 μm,3组间比较差异有统计学意义($F=56.36, P<0.05$),两两比较发现A组的细菌减少率(97.62±3.73)%也均比B组(72.49±2.35)%与C组(44.42±4.78)%多($P<0.05$)。200 μm<深度≤300 μm牙本质中,3组间比较差异有统计学意义($F=48.35, P<0.05$),两两比较发现A组的细菌减少率(95.89±2.46)%均比B组(63.88±1.08)%与C组(33.31±5.21)%多($P<0.05$)。

表1 各处理组对不同深度牙本质中的细菌减少率比较

Table 1 Bacteria reduction rates in dentin at different depths were compared in each treatment group $\bar{x} \pm s, \%$

组别	牙本质深度(μm)			
	0	0 < 深度≤100	100 < 深度≤200	200 < 深度≤300
A	100.00 ± 0.00 ¹⁾	99.46 ± 2.31 ¹⁾²⁾	97.62 ± 3.73 ¹⁾²⁾	95.89 ± 2.46 ¹⁾²⁾
B	98.62 ± 2.01 ¹⁾	92.89 ± 3.07 ¹⁾	72.49 ± 2.35 ¹⁾	63.88 ± 1.08 ¹⁾
C	64.37 ± 2.45	56.72 ± 4.96	44.42 ± 4.78	33.31 ± 5.21

注 1): $P<0.05$ vs C组; 2): $P<0.05$ vs B组

2.3 各处理组不同牙本质深度细菌培养皿上菌落形成情况

图2所示,A组经Er:YAG激光联合52.5 g/L次氯酸钠处理后牙本质表层0 μm细菌培养皿上无菌落形成,说明在根管壁表层是100%灭除细菌,从左至右牙本质深度0 μm<深度≤100 μm、100 μm<深度≤200 μm、200 μm<深度≤300 μm(以下同)细菌培养皿上偶有零星菌落表明在牙本质深度300 μm之前细菌减少率基本能达到95%以上。B组经52.5 g/L次氯酸钠处理后在牙本质表层0 μm细菌培养皿见少许点状菌落,与A组同深度培养皿上菌落比较差别微小;其他的从左至右,菌落逐渐增多,与A组相比差别较大。但与C组各对应深度比较,菌落数量仍明显少于C组。C组经生理盐水处理后培养皿上菌落与A、B组各对应牙本质深度比较显著增多,从左至右深度增加菌落增多也明显,在200 μm<深度≤300 μm菌落布满培养皿大部分,说明该组细菌减少率较低,此深度细菌仅被灭除很小部分。

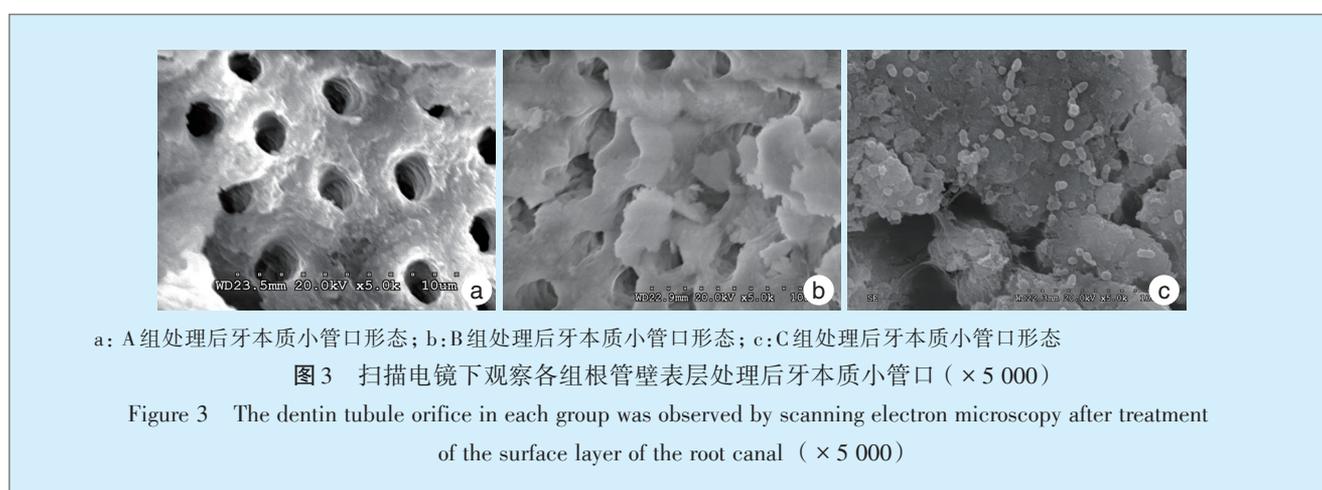
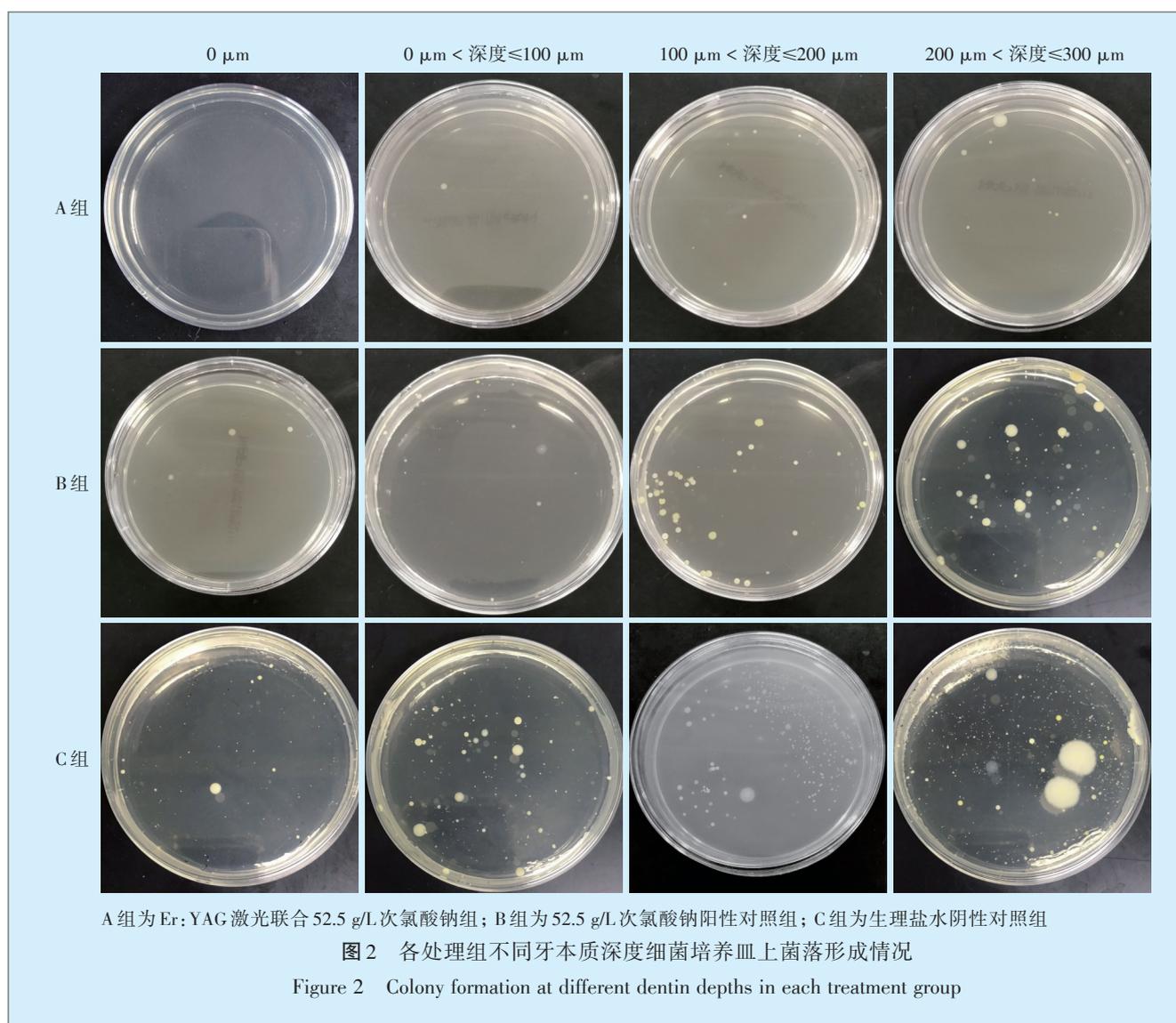
2.4 电镜观察处理后牙本质小管口形态

从电镜照片看,A组根管壁表面被清除的最干净,牙本质小管圆润表面光滑干净清爽无任何多余物,玷污层已被去除干净,牙本质小管口呈开放状态,形态均匀,大小相当(图3a);B组牙本质小管口也光滑圆润可见,表面可见极少量碎屑样物,牙本质小管口形态不均匀(图3b);C组牙本质小管口

几乎被细菌层完全遮盖了,可见椭圆形细菌,表面突出不平,有大量厚层的玷污层,几乎看不出牙本质小管口的完整形态(图3c)。

3 讨论

感染根管细菌检出率最高最多的是粪肠球菌^[5],近年来研究发现细菌不仅是以浮游状态更多的是以膜状状态存在于感染根管中。粪肠球菌是G⁺兼性厌氧菌,目前研究证实是导致根管治疗失败的主要致病菌之一^[6],有试验检测出其在根管充填完善但仍有持续根尖损害的根管中的检出率为24%~77%^[7]。52.5 g/L次氯酸钠溶液是目前临床根管治疗最常用的根管消毒冲洗液,它具有良好的抗菌作用和组织溶解作用,但也只有与细菌直接接触才能发挥杀菌作用,且渗透性较差,因根管结构的复杂性直接冲洗根管很难冲洗消毒达到根管壁牙本质深层及细小根尖段、根管分歧、侧枝等位置,因此可以说目前传统根管消毒液难于清除感染根管细菌膜^[8-10],目前低能量激光在牙科医疗方面具有一定的运用性^[11-12],Er:YAG和Er,Cr:YSGG激光较传统牙科治疗优越性强,已经被广泛用于牙周、种植、儿科、牙体牙髓病等口腔各领域^[13]。Er:YAG具有激光本身能被细菌强吸收从而起到消毒杀菌作用^[14],且具有在操作过程中震动噪音少,病人不需要局部麻醉对周围组织的热损伤非常小等优良特性^[15-16]。



本研究通过在离体牙根管感染模型成功建立后,再通过Er:YAG激光联合52.5 g/L次氯酸钠根管冲洗剂对根管内粪肠球菌灭除效果发现在本实验中各处理组对不同深度牙本质中的细菌减少率

有所不同,A组在根管壁表层是100%灭除细菌,在300 μm之前基本能达到杀灭细菌95%以上效果,在0 μm与B组杀菌效果相当,在>0 μm后A组与B组相比均有统计学差异($P < 0.05$),表明A组的杀

菌效果优于B组,即52.5 g/L次氯酸钠联合Er:YAG激光优于单独52.5 g/L次氯酸钠,越到牙本质深层对应比较杀菌效果更明显。A组、B组与阴性对照组(C组)相比均有统计学差异,表明A组和B组都具有良好的杀菌消毒效果,实验结果与临床实践效果相符合。研究表明次氯酸钠只能渗入牙本质小管约130 μm左右,而一些顽固性致病菌如上述粪肠球菌则可侵入到牙本质内的300~1 000 μm^[17-18]。本研究表明Er:YAG激光联合次氯酸钠组可灭除牙本质较深层的细菌,其根管壁杀菌消毒效果最佳。

从电镜照片看,A组即Er:YAG联合次氯酸钠组根管壁表层被清除的最干净,基本没有细菌残留,牙本质小管口开放,牙本质小管横截面圆润表面光滑干净清爽无多余物。阳性对照组B组牙本质小管口部分开放,部分被玷污层遮掩使得牙本质小管口不完全暴露,牙本质小管的轮廓可见。阴性对照C组则表面的絮状物和凸起物明显可见,电镜下牙本质小管的轮廓消失,遮盖了几乎所有的牙本质小管口。这也证实Asnaashari等^[19-20]研究次氯酸钠自带消毒作用加上放置到髓腔根管中的激光工作头工作状态下可产生强大的冲击旋涡进入侧枝等根管深部,对根管起到良好的冲刷消毒作用,根管壁的玷污层也被冲刷干净而充分暴露牙本质小管。

本实验中分析Er:YAG激光与52.5 g/L次氯酸钠联合消毒效果最好,Er:YAG激光能有效灭除感染根管内壁、较深层牙本质小管的粪肠球菌,能有效地增强次氯酸钠对根管壁的杀菌效果,Er:YAG激光联合使用根管消毒药物52.5 g/L次氯酸钠对根管内壁的消毒具有一定临床应用意义。

参考文献

- [1] Haapasalo M, Shen Y, Wang Z, et al. Irrigation in endodontics[J]. Br Dent J, 2014, 216(6): 299-303.
- [2] Chercoles-Ruiz A, Sanchez-Torres A, Gay-Escoda C, et al. Endodontics, endodontic retreatment, and apical surgery versus tooth extraction and implant placement: a systematic review[J]. J Endon, 2017, 43(5): 679-686.
- [3] Wong AW, Zhang C, Chu CH. A systematic review of nonsurgical single-visit versus multiple-visit endodontic treatment[J]. Clin Cosmet Investig Dent, 2014, 6(6): 45-56.
- [4] Stojanović N, Krunic J, Popović B, et al. Prevalence of enterococcus faecalis and porphyromonas gingivalis in infected root canals and their susceptibility to endodontic treatment procedures: a molecular study[J]. Srp Arh Celok Lek, 2014, 142(9/10): 535-541.
- [5] Murad CF, Sassone LM, Favari M, et al. Microbial diversity in persistent root canal infections investigated by checkerboard DNA-DNA hybridization[J]. J Endod, 2014, 40(7): 899-906.
- [6] Licata ME, Albanese A, Campisi G, et al. Effectiveness of a new method of disinfecting the root canal, using Er, Cr: YSGG laser to kill *Enterococcus faecalis* in an infected tooth model[J]. Lasers Med Sci, 2015, 30(2): 707-712.
- [7] Agrawal A, Ajay S, Chandak M, et al. Comparative evaluation of antibacterial efficacy of ayurvedic and homeopathic drugs against *E.faecalis* with different concentrations of Sodium hypochlorite[J]. Sch J Dent Sci, 2017, 4(2): 79-83.
- [8] Wilson CE, Cathro PC, Rogers AH, et al. Clonal diversity in bio-film formation by *Enterococcus faecalis* in response to environmental stress associated with endodontic irrigants and medicaments[J]. Int Endod J, 2015, 48(3): 210-219.
- [9] Agrawal V, Rao MR, Dhingra K, et al. An *in vitro* comparison of antimicrobial efficacy of three root canal irrigants-BioPure MTAD, 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% Sodium hypochlorite as a final rinse against *E. faecalis*[J]. J Contemp Dent Pract, 2013, 14(5): 842-847.
- [10] Mohammadi Z. Effects of root canal irrigations on the planktonic form of enterococcus faerails: a review[J]. Niger J Med, 2015, 24(3): 261-267.
- [11] 李风舟, 薛凡. Er:YAG激光辅助治疗慢性牙周炎的短期临床效果观察[J]. 口腔疾病防治, 2016, 24(3): 170-173.
- [12] Karandish M. The efficiency of laser application on the enamel surface: a systematic review[J]. J Lasers Med Sci, 2014, 5(3): 108-114.
- [13] 丁一, 杨恒. 激光在牙周领域的应用及前景[J]. 中国实用口腔科杂志, 2015, 8(4): 193-198.
- [14] 秦晗, 龚永庆, 徐宏志. Er:YAG激光应用于年轻恒切牙活髓切断术的研究[J]. 口腔疾病防治, 2016, 24(4): 238-240.
- [15] 梁韵, 陈柯. Er, Cr: YSGG激光对乳牙硬组织粘接性能影响的研究进展[J]. 口腔疾病防治, 2017, 25(3): 196-199.
- [16] Khaord P, Amin A, Shah MB, et al. Effectiveness of different irrigation techniques on smear layer removal in apical thirds of mesial root canals of permanent mandibular first molar: a scanning electron microscopic study[J]. J Conserv Dent, 2015, 18(4): 321-326.
- [17] Peters LB, Wesselink PR, Buijs JF, et al. Viable bacteria in root dentinal tubules of teeth with apical periodontitis[J]. J Endod, 2001, 27(2): 76-81.
- [18] Virdee SS, Seymour DW, Farnell D, et al. Efficacy of irrigant activation techniques in removing intracanal smear layer and debris from mature permanent teeth: a systematic review and meta-analysis[J]. Int Endod J, 2018, 51(6): 605-621.
- [19] Asnaashari M, Safavi N. Disinfection of contaminated canals by different laser wavelengths, while performing root canal therapy[J]. J Lasers Med Sci, 2013, 4(1): 8-16.
- [20] Jurič IB, Anić I. The use of lasers in disinfection and cleanliness of root canals: a review[J]. Acta Stomatol Croat, 2014, 48(1): 6-15.

(编辑 罗燕鸿, 曾雄群)