

Diş Hekimliğinde Frez ve Eğelerin Sterilizasyonu

Dr. Oktay DÜLGER

Diş Dostu Derneği, İSTANBUL

e-posta: info@oktaydulger.com

Diş hekimliğinde kullanılan aletlerin hem hastaya bir hastalık bulaştırmaması, hem de kullanıldıktan sonra bir başkasına bilinen veya bilinmeyen bir hastalık etkenini geçirmemesi istenir. Kullanılan her aletin bu açıdan düşünülmesi gerekir. En güvenli olanlar tek kullanımlık olanlardır. Bunların da ağız içinde kullanılacaklarsa steril olmaları tercih edilmelidir. Özellikle kanal tedavisi veya cerrahi işlemlerde bunun önemi artar.

Tekrar kullanılması gereken aletlerin çok titizlikle hazırlanması gerekir. Bu hazırlıkta ön temizlik ve sterilizasyon aşamaları ayrı bir önem taşır. Bu sırada aletlerin hem zarar görmemesi, hem de kontrol edilebilir sterilizasyona tabi tutulmaları istenir. Temizlik aşamasında da, sterilizasyon aşamasında da hangi aletin hangi işlemlerden geçmesi gerektiği ayrı ayrı düşünülmeli, hangi cihazların tercih edilmesi gerektiği iyi bilinmelidir.

En sıklıkla kullanılan aletlerden olan frezler ve kök kanal eğeleri son yıllardaki çarpıcı gelişmelerle diğer aletlerden farklı bir yere gelmiştir. Prion hastalıklarının bulaşmasında etken olabilecekleri şüphesi vardır. Bazı ülkelerde bunların tek kullanımlık olmaları gerektiği konusunda öneriler, uyarılar yapılmaktadır. Bunun nedenini anlayabilmek için prion hastalıklarının gelişmesini gözden geçirmekte yarar vardır (1).

PRİON HASTALIKLARI

Diş hekimliğinde çapraz enfeksiyonun önlenmesinde sterilizasyonun önemi, özellikle 1999 yılından sonra değişik bir yön kazanmıştır. Sebebi; nükleik asidi olmayan, konak tarafından kodlanan hücrelerin yüzeyinde bulunan anormal bir izoformdaki ve proteaza dirençli bir sialoglikoprotein olarak tarif edilen kısaca "prion" denilen partiküldür (2). İlk olarak 1996 yılında İngiltere'de "deli dana hastalığı" olarak bilinen sığırsüngerimsi ensefalopati hastalıklı hayvanların etlerinin yenmesiyle insanlara bulaştığı sanılan 10 hastanın bildirilmesiyle iş ciddiyet kazanmıştır (3). Bu hastalarda deli dana hastalığının insandaki karşılığı olarak adlandırılabilen varyant Creutzfeld-Jakobs

Hastalığı (vCJH) tanımlanmıştır. Diğer bulaşabilir süngerimsi ensefalopatilerden farklı olarak infeksiyöz ajan (prion), santral sinir sistemi dışında da görülebilmektedir. 1996 yılından sonra, en çoğu İngiltere'den olmak üzere birçok ülkeden 300'den fazla vCJH'li olgu bildirimini, dikkatlerin prion hastalıkları ve olası bulaşma yolları üzerine toplanmasına yol açmıştır (4,5).

Prion hastalıkları koyun ve keçilerde "scrapie" (kaşıntı ya da sıçrama hastalığı), sığırlarda "deli dana hastalığı" (sığır süngerimsi ensefalopati); insanlarda ise "kuru hastalığı", sporadik Creutzfeld-Jakob hastalığı (sCJH), ailesel Creutzfeld-Jakob hastalığı (aCJH), iyatrojenik Creutzfeld-Jakob hastalığı (iCJH), varyant Creutzfeld-Jakob hastalığı (vCJH), öldürücü ailesel uykusuzluk (fatal familial insomnia) ve Gerstmann-Straussler-Scheinker sendromu olarak adlandırılan değişik klinik tablolara yol açar (2).

Türkler genetik olarak kazanılmış Creutzfeld-Jakobs hastalığına yakalanmaya Batı Avrupa toplumlarından ve Doğu Asya ülkelerinden daha yatkın olarak gösterilmektedir (6).

Tüm prion hastalıklarında hastalıkla ilişkili izoform olan proteaza dirençli anormal scrapie izoformu, beyin dokusunda birikir ve vakuoller oluşturarak beynin süngerimsi bir hal almasına yol açar. Prion hastalıkları, bu izoformun santral sinir sistemine yerleşmesini izleyerek aylardan yıllara kadar değişen uzun inkübasyon süreleri sonrasında kaçınılmaz olarak ölümle sonuçlanır (2).

Son zamanlarda prionların daha hızlı saptanabilmesi çalışmaları hız kazanmıştır. "Real time quaking induced conversion assay (RT-QuIC)" gibi yöntemler kullanarak prion hastalıklarına erken teşhis konulabileceği bildirilmektedir (7).

Prion Hastalıklarının Bulaşması ve Diş Hekimliği Açısından Önemi

Prion hastalıklarının bulaşma yolları konusunda ayrıntılı çalışmalar devam etmekle beraber, ilk yapılan hayvan modeli çalışmalarında, beyin içi inokülasyon sonrasında prion, trigeminal gangliyonlarda, tükürük bezlerinde ve dilde bulunmasına rağmen, tükürükte bulunamamıştır (8). Deneysel scrapili fare çalışmalarında tükürük yoluyla bulaşma gerçekleşmemiştir (8).

Scrapie infeksiyonu bulaştırılan farelerin diş eti dokusu yavaş dönen bir frezle yaralanmış ve frez üzerinde 50-100 µg'lık bir doku toplanmıştır. Frez temizlenmeden diş eti dokuları yaralanarak infekte edilen sağlıklı farelerde histolojik ve klinik olarak scrapie bulgusu saptanmamıştır (9). Scrapili hayvandan alınan 5 mg'lık diş eti dokusunun intraperitoneal olarak inokülasyonundan sonra infeksiyon bulaşmış; ancak 0.5 mg'lık inokülasyonundan sonra bulaşma olmamıştır (9). Syrian hamsterlerin bir scrapie suşu ile intraperitoneal olarak infeksiyonu sonrası trigeminal gangliyon, diş pulpası ve diş eti dokusunun infekte olduğu saptanmıştır (10). Bu çalışmada ayrıca alt sol kesici dişlerinin pulpa odasına inokülasyonundan sonra patojen prionun inoküle edilen bölge tarafındaki trigeminal gangliyona dağıldığı ve tüm hayvanlarda scrapie geliştiği gösterilmiştir (10).

İnsanlarda ise vCJH nedeniyle ölmüş hastaların otopsilerinde prionlar, trigeminal gangliyonda bulunmasına karşın diş pulpası, kafa sinirleri ve tükürük bezlerinde saptanmamıştır (11-13).

Diğer prion hastalıklarından farklı olarak vCJH'de, prionların santral sinir sistemi dışındaki dokularda da bulunabilmesi nedeniyle semptomlar görülmeden önceki dönemde vCJH'li kişilerden dış tedavileri sırasında teorik olarak bulaşma riski olduğu söylenmektedir (4,8,10). Ayrıca, kan transfüzyonuyla bulaşabilir olması birçok yeni önlem alınması ve yeni stratejiler geliştirilmesini zorunlu kılmıştır (5).

Diş hekimliğinde vCJH'nin iki yolla bulaşma olasılığı vardır: Bunlardan ilki işlemler sırasında lenforetiküler dokunun (örn. tonsilin) kaza ile abrazyonuyla; diğeri ise infekte diş pulpasının kanal eğeleri ile taşınması yoluyla (14). Örneğin; bir senaryoya göre vCJH'li bir kişide diş hekimliği uygulaması sırasında infektif doku olarak tonsillerin üzerindeki epitelin kazara sıyırılmasıyla infeksiyöz materyalin alet üzerine geçmesi ve bu aletin daha sonraki hastada kullanılması sırasında yine kazara alıcı bir bölgenin sıyırılmasıyla bulaşmanın olabileceği ileri sürülmektedir (14).

Trigeminal gangliyonun periferik dalları ile yakın ilişkide olabilen kanal aletleri kanal tedavisi esnasında olası bir bulaşma riskini düşündürmektedir (15).

vCJH'nin kanal tedavisi ile bulaşma olasılığı az olsa bile, çok sayıda kanal tedavisi yapılıyor olması nedeniyle riskin arttığı söylenmekte, bu yüzden de kanal eğelerinin sadece bir hastada kullanılıp atılması önerilmektedir (10,16,17).

2007 yılı Nisan ayında İngiltere sağlık bakanlığı diş hekimliği dairesi başkanının yaptığı öneri ve uyarılar oldukça dikkat çekicidir (18):

- Tüm kanal eğelerinin tek sefer kullanılıp atılması,
- Bütün yeniden kullanılacak aletlerin sterilizasyon öncesi en üst düzeyde ön temizlikten geçmesi,
- Üretici firmaların temizlik önerilerine uyulması, temizliğin zor olacağı aletlerin mümkün olduğunca tek kullanımlık olmasına çalışılması.

Henüz bulaşma yolları konusundaki çalışmalar oldukça yetersiz olmasına karşın her diş hekiminin uyması tavsiye edilen bu önlemler (belki de yerinde bir endişe olarak) prion hastalıklarının kişiden kişiye bu yolla yayılmasındaki önemin altını çizmektedir (11,17,18).

Aynı hastada tekrar kullanılmak üzere kök kanal eğelerinin saklanabileceği veya hastaya verilebileceği düşüncesi tıbbi atık yönergesinin ihlali olacağı için uygun değildir. İnfekte tıbbi atıklar, üzerinde belirgin işaretler olan özel kutulara atılır ve bunda sorumluluk hastaya değil hekime aittir (19).

Prionların İnaktivasyonu

Prionların inaktivasyon yöntemleri diş hekimliği infeksiyon kontrolü uygulamaları arasına girmiştir (1,20-22).

Bulaşıcı olan prion proteinleri, proteaz ve ısıya dirençli olmaları ve paslanmaz çelik yüzeylere sıkıca bağlanmaları nedeniyle geleneksel dezenfeksiyon ve sterilizasyon tekniklerine karşı dirençlidir (23). Bu nedenle, prion bulaşıcılığının önlenmesi için farklı yöntemler gerekmektedir.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 1999 yılındaki bulaşabilir süngerimsi ensefalopati-lerle ilişkili hasta bakımı ve hastane infeksiyon kontrolü danışma raporu ve 2003 yılındaki bulaşabilir süngerimsi ensefalopati sürveyans kılavuzunda da bu yöntemlerle ilgili öneriler sunulmuştur (2,20,24). Prion hastalıklarının rutin diş hekimliği işlemleri esnasında bulaşılabilirliği ile ilgili kesin kanıt olmamasına karşın, CJH ya da vCJH tanısı koyulmuş hastaların diş tedavilerinde tek kullanımlık aletlerin kullanılması ve kullanıldıktan sonra atılması; nörovasküler dokularla kontamine olmuş, frez ve kanal eğesi gibi tekrar kullanılabilen aletlerin de yakılarak imha edilmesi önerilmiştir. Kontamine yüzeylerin 1 N sodyum hidroksit ya da 1 N sodyum hipoklorid dökülüp bir saat bekletildikten sonra suyla silinmesi önerilmektedir (2,20,25).

Prion hastalığı riski taşıyan hastalarda kullanılan ısıya duyarlı aletlerin sterilizasyonu için 1 N sodyum hidroksit ya da 1 N sodyum hipoklorid içinde bir saat bekletilmesi, bol su ile çalkalanması ve otoklavda 134-138°C'de 18 dakika ya da üç dakikalık hızlı çevrimin altı kez yinelenmesiyle steril edilmesi önerilmektedir. Yeni otoklavlarda prion programı bulunmaktadır (2,20,25).

Yıkayıcı dezenfektör makinelere yeni otomatize işlemler ilave edilerek 134°C'de iki saat otoklavda bekletilmeyle karşılaştıracak kadar etkin prion inaktive edici özellik kazandırılmaya çalışılmaktadır (26). Son yıllarda geliştirilen ve 1993 yılında üretilme izni alınan hidrojen peroksit düşük ısı gaz plazma sterilizatörlerinin prionları etkili şekilde inaktive edebildikleri vurgulanmaktadır (27).

"Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (Centers for Disease Control and Prevention: CDC)"nin 2003 yılında bildirilen Diş Hekimliğinde İnfeksiyon Kontrolü Yönergesinde prionlar için infeksiyon kontrol önlemleri şu şekilde sıralanmıştır (21):

- Mümkün olduğunca tek kullanımlık aletler kullanın.
- Temizlenmesi zor olan aletleri (örn. endodontik kanal aletleri, frezler vs.) bir kez kullandıktan sonra atın.
- Aletleri temizlenene ve dekontamine edilene kadar üzerindeki doku ya da vücut sıvılarının kurumaması için nemli bırakın.
- Aletleri iyice temizleyin ve otoklavda 134°C'de 18 dakika steril edin.
- Flaş (hızlı) sterilizasyon uygulamayın ya da birbiri ardına altı çevrimde çalıştırın.

KÖK KANAL EĞELERİNİN ve FREZLERİN STERİLİZASYONU

Kök kanal eğelerinin ve frezlerin sterilizasyonu için aynı yöntemler kullanılır. En uygun yöntemin ne olduğu birçok araştırmanın konusu olmuştur. Amaç, en etkin ve metalin hem keskinlik hem de kırılmaya karşı direnç açısından zarar vermeyecek, paslanmaya neden olmayacak yöntemin bulunmasıdır.

Diğer uygulamalarda olduğu gibi, endodontik tedavilerde çalışma setlerinin önceden hazırlanması, frezlerin ve kanal eğelerinin sıralı ve hızlı kullanım için özel taşıyıcılara dizilmesi esastır. Bunun için kullanılan endodontik kutular ve taşıyıcıların ön temizleme ve sterilizasyon işlemlerine izin verecek şekilde tasarlanmış olanları tercih edilmelidir (28).

Prion hastalıklarının bulaşabilirliği ön plana çıkıp kanal eğelerinin tek kullanımlık olması önerilene kadar özellikle nikel titanyum döner kanal eğelerinin nasıl tam olarak temizlenmesi gerektiği konusunda protokoller oluşturulmaya çalışılmakta ve çok aşamalı ön temizlik işlemleri sonucunda kanal eğelerinin tekrar kullanılabilir olduğu vurgulanmaktadır.

Avustralyalı bir grup araştırmacı şöyle bir temizlik protokolü önermiştir (29):

Kanal eğesi önce %0.2'lik klorheksidin emdirilmiş temizleme süngerine 10 kez etkili şekilde batırılıp çıkarılır, sonra enzimatik temizleme solüsyonunda 30 dakika bekletilip aynı solüsyonla dolu ultrasonik banyoda 15 dakika titreşim uygulandıktan sonra 20 saniye musluk suyu ile yıkanır.

Araştırmacılar kullanılmış kanal eğelerini tarif ettikleri bu ön temizlik işlemlerinden geçirip Van Gieson solüsyonunda beklettikten sonra mikroskopla incelediklerinde %100 temizlik sağlandığını vurgulamışlardır. Hiç kullanılmamış kanal eğelerinin de üzerlerinde çeşitli kirlilikler olduğu ve bu protokole uyularak temizlendiğinde mikroskopik olarak temizlendiğini vurgulamışlardır.

Son araştırmaların hemen hepsinde kanal eğelerinin yüzey yapıları nedeniyle kullanıldıktan sonra temizlenip üzerindeki artıklardan tamamen arındırılmasının neredeyse imkansız olduğu bildirilmekte, bu nedenle de ve özellikle de prionların bulaştırılmasına olanak vermemek için tek sefer kullanılıp atılmaları gerektiği vurgulanmaktadır. Ancak ilk kullanımdan önce de temizlenip sterilize edilmesi gerektiği bildirilmektedir (23,30).

Frezler için de durum aynıdır. İlk açıldıklarında yüzeylerinin ön temizleme işlemlerinden geçirilmeden otoklavlanmaları, steril olmalarını sağlamaz. Yıkayıcı dezenfektörler bu konuda başarılı sonuçlar vermiştir (31).

Kanada'da dört değişik klinikten toplanan kullanılmış temizlenmiş, sonrasında sterilizasyon yapılmış ve tekrar kullanılmaya hazır hale getirilmiş frez ve kanal eğelerinin steril olup olmadığının araştırıldığı son yıllarda yapılan bir çalışmada, sterilizasyon öncesi temizlik aşamasının çok önemli olduğu saptanmıştır. Sterilizasyonu yapılacak malzemenin yüzey özelliklerinin, frez, kanal eğesi gibi mikromorfolojileri ön temizlik aşamasında sorun yaratacak aletlerin tek kullanımlık olmasının gerektiğine değinilmiştir. Yani frez ve eğelerin ilk açıldıklarında steril olmadığı, bunlardan %42 oranında frezlerin, %48 oranında kanal eğelerinin steril bulunmadığı ve steril edilmeleri gerektiği vurgulanmış, ancak üzerinde organik birikinti olmadığı için kullanılmış eğelerden farklı olarak etkin bir şekilde sterilizasyonlarının sağlanabildiği sonucu çıkartılmıştır (16).

Benzer bir çalışmada 22 değişik klinikten toplanan kullanılmış ve tekrar kullanılmaya hazır hale getirilmiş 220 kök kanal eğesi incelendiğinde, eğelerin %98'inde gözle görülür kir, %100'ünde artık protein kaldığı saptanmıştır (32).

Kök kanal aletlerinin ilk kullanımdan önce sterilizasyonları için üretici firmanın önerilerini dikkate almak gerekir. Genellikle otoklav, tavsiye edilen sterilizasyon cihazıdır. Herhangi farklı bir yöntem belirtilmemişse, günümüzde hala en önerilen süre 121°C, 15

psi basınçta 20 dakika beklenmesi, güncellenmiş endodonti kitaplarında yerini korumaktadır (33,34).

Kanal eğelerinin sterilizasyonu için boncuklu sterilizatörlerin ve gluteraldehidin kullanımı uygun değildir (35,36). Bunun yerine hasta başında gerekirse karbondioksit lazer cihazının eğenin her yüzeyine üç saniye 10 Watt gücünde kullanımının uygun olacağı bildirilmiştir (37). Otoklav ve kuru hava sterilizatörü her ne kadar torsiyona direnci azalrsa da, bunun klinik olarak anlamlı bir fark yaratmayacağı sonucu çıkartılmış ve kanal eğelerinin sterilizasyonu için uygun olduğu görüşünde birleşilmiştir (22,35,37-40).

Başka bir araştırmada, kirletilmiş kanal eğeleri üzerinden prionları inaktive etme girişimlerinde genellikle sterilizasyondan önce ön temizliğin iyi olmadığı veya kimyasal solüsyonların metallerde paslanmaya yol açtığı sonuçları bulunmuş, kanal eğelerinin bir defa kullanılmasının doğru olacağı sonucuna varılmıştır.

İlk kullanımdan önce kanal eğeleri incelendiğinde hem kirli hem de steril olmadığı bulunmuş, ancak üzerinde organik birikinti olmadığı için sterilizasyonunun sağlanabileceği bildirilmiştir (41).

Birçok firma bu sorunların üstesinden gelmek için kullanıma hazır steril, blister ambalajda frez ve kanal aletleri üretmektedir. Bunların temiz ve steril olmaları gelecekte tercih edilme sebeplerinden olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Topçuoğlu N, Külekçi G. Diş hekimliği yönünden prion hastalıklarının önemi. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi* 2007;11:121-4. Erişim adresi: http://hastaneinfeksiyonlari.com/manager/fu_folder/2007-02/html/2007-11-2-121-124.htm
2. WHO manual for surveillance of human transmissible spongiform encephalopathies including variant Creutzfeldt-Jakob disease, 2003.
3. Scully C, Smith AJ, Bagg J. Prions and the human transmissible spongiform encephalopathies. *Dent Clin North Am* 2003;47:493-516.
4. Porter SR. Prion disease-possible implications for oral health care. *JADA* 2003;134:1486-90.
5. Wallis JP. Strategies to reduce transfusion acquired vCJD. *Transfus Med* 2011;21:1-6.
6. Erginel-Unaltuna N, Peoc'ñ K, Komurcu E, Acuner TT, Issever H, Laplanche JL. Distribution of the M129V polymorphism of the prion protein gene in a Turkish population suggests a high risk for Creutzfeldt-Jakob disease. *Eur J Hum Genet* 2001;9:965-8.
7. Wilham J, et al. Rapid end-point quantitation of prion seeding activity with sensitivity comparable to bioassays. *PLoS Pathogens* 6(12): e1001217. DOI: 10.1371/journal.ppat.1001217 (2010) December 2, 2010 (NIH News).
8. Smith AJ, Bagg J, Ironside JW, Will RG, Scully C. Prions and oral cavity. *J Dent Res* 2003;82:769-75.
9. Adams DH, Edgar WM. Transmission of agent of Creutzfeldt-Jakob disease (research letter). *Br Med J* 1978;1:987.
10. Ingrosso L, Pisani F, Pocchiari M. Transmission of the 263K scrapie strain by the dental route. *J Gen Virol* 1999;80:3043-7.
11. Head MW, Ritchie D, McLoughlin V, Ironside JW. Investigation of PrPres in dental tissues in variant CJD. *Br Dent J* 2003;195:339-43.

12. Blanquet-Grossard F, Sazdovitch V, Jean A, et al. Prion protein is not detectable in dental pulp from patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *J Dent Res* 2000;79:700.
13. Palacios-Sanchez B, Esparza-Gomez GC, Campo-Trapero J, Cerero-Lapiedra R. Implications of prion disease for dentistry: an update. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;105:316-20.
14. Bennett P, Grove P, Perera L, McLean I. Potential vCJD transmission risks via dentistry: an interim review. UK Department of Health, 14th Dec 2007. Erişim adresi: http://www.dh.gov.uk/en/Publicationsandstatistics/Publications/PublicationsPolicyAndGuidance/DH_081170.
15. Smith A, Dickson M, Aitken J, Bagg J. Contaminated dental instruments. *J Hosp Infect* 2002;51:233-5.
16. Morrison A, Conrod S. Dental burs and endodontic files: are routine sterilization procedures effective? *JCDA* 2009;1:39.
17. Bourvis N, Boelle PY, Cesbron JY, Valleron AJ. Risk assessment of transmission of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease in endodontic practice in absence of adequate prion inactivation. *PLoS One* 2007;2:e1330.
18. Department of Health. Advice for dentists on re-use of endodontic instruments and variant Creutzfeldt-Jakob disease (vCJD). London: Department of Health, 2007. Gateway Reference Number 8100.
19. Hazardous Waste (England and Wales) Regulations 2005. London: The Stationery Office, 2005.
20. WHO infection control guidelines for transmissible spongiform encephalopathies. Report of a WHO consultation, Geneva, Switzerland, 23-26 March 1999. Erişim adresi: <http://www.who.int/emc-documents/tse/whocdscrAPH2003c.html>.
21. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Infection Control in Dental Health-Care Settings-2003. *MMWR* 2003;52(RR-17):36-7.
22. Department of Health. Decontamination Health Technical Memorandum 01-05: decontamination in primary care dental practices (2009). Erişim adresi: http://www.dh.gov.uk/prod_consum_dh/groups/dh_digitalassets/documents/digitalasset/dh_112542.pdf
23. Walker JT, Dickinson J, Sutton JM, Raven NDH, Marsh PD. Cleanability of dental instruments-implications of residual protein and risks from Creutzfeldt-Jakob disease. *Br Dent J* 2007;203:395-401.
24. Mastrianni JA. Prion diseases. *Clinical Neuroscience Research* 2004;3:469-80.
25. Bebermeyer RD, Powell JF, Hobdel MH, Durban EM. Dental practice implications of prion diseases. *Quintessence Int* 2003;34:38-44.
26. Schmitt A, Westner IM, Reznicek L, Michels W, Mitteregger G, Kretzschmar HA. Automated decontamination of surface-adherent prions. *J Hosp Infect* 2010;76:74-9. Epub 2010 Jun 15.
27. Rogez-Kreuz C, et al. Inactivation of animal and human prions by hydrogen peroxide gas plasma sterilization. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2009;30:769-77.
28. Carrote P. Endodontics: part 5. Basic instruments and materials for root canal treatment. *Br Dent J* 2004;197:455-46.
29. Parashos P, Linsuwanont P, Messer HH. A cleaning protocol for rotary nickel-titanium endodontic instruments. *Aust Dent J*. 2004;49:20-7.
30. Kazemi RB, Stenman E, Spångberg LS. The endodontic file is a disposable instrument. *J Endod* 1995;21:451-5.
31. Whitworth CL, Martin MV, Gallagher M, Worthington HV. A comparison of decontamination methods used for dental burs. *Br Dent J* 2004;197:635-40; discussion 623.
32. Smith A, Letters S, Lange A, Perrett D, McHugh S, Bagg J. Residual protein levels on reprocessed dental instruments. *Journal of Hospital Infection* 2005;61:237-41.
33. Council on dental therapeutics: Sterilization or disinfection of dental instruments. In: Accepted Dental Therapeutics. 40th ed. Chicago: American Dental Association, 1984.
34. Krell KV. Endodontic instruments. In: Walton RE, Torabinejad M (eds). *Endodontics: Principles and practice*. Saunders St. Louis Missouri 2009:213-4.

35. Hurtt CA, Rossman LE. Sterilization of endodontic hand files. *J Endod* 1996;22:321-2.
36. Chong BS. Basic instrumentation in endodontics. Pitt Ford TR (ed). *Harty's Endodontics in Clinical Practice* Wright, Londra, 2004:S71.
37. Venkatasubramanian R; Jayanthi, Das UM, Bhatnagar S. Comparison of the effectiveness of sterilizing endodontic files by 4 different methods: an in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2010;28:2-5.
38. Mitchell BF, James GA, Nelson Russell C. The effect of autoclave sterilization on endodontic files *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 1983;55:204-7.
39. Viana AC, Gonzalez BM, Buono VT, Bahia MG. Influence of sterilization on mechanical properties and fatigue resistance of nickel-titanium rotary endodontic instruments. *Int Endod J* 2006;39:709-15.
40. Silvaggio J, Hicks ML. Effect of heat sterilization on the torsional properties of rotary nickel-titanium endodontic files. *J Endod* 1997;12:731-4.
41. Sonntag D, Peters OA Effect of prion decontamination protocols on nickel-titanium rotary surfaces. *J Endod* 2007;4:442-6.