

INFILTRAÇÃO MICROBIANA EM DENTES PORTADORES DE RESTAURAÇÕES PROVISÓRIAS

MICROBIAL LEAKAGE IN TEETH WITH TEMPORARY RESTORATIVE MATERIALS

CYNTIA RODRIGUES DE ARAÚJO **ESTRELA***; ROSANE GALHARDO **RIBEIRO****; MARCELO SAMPAIO **MOURA*****; CARLOS **ESTRELA******

* Mestre em Microbiologia e Doutora em Biologia Celular e Molecular pela UFG.

** Mestre em Endodontia pela UNAERP-Ribeirão Preto-SP.

*** Mestre em Endodontia pela FORP-USP, Doutor em Ciências da Saúde pela UFG.

**** Doutor e Livre-Docente em Endodontia pela Universidade de São Paulo. Professor Titular de Endodontia da FO/UFG.

Endereço para correspondência: Prof. Carlos Estrela

Centro de Ensino e Pesquisa Odontológica do Brasil (CEPOBRAS)

Rua C-245, Quadra 546, Lote 9, Jardim América Goiânia, GO, CEP: 74.290-200, Brasil

e-mail: estrela3@terra.com.br - Fone (62) 92139483 e 39439778 - cmstefani@uol.com.br

Relevância Clínica

O microrganismo é um dos principais fatores relacionados ao fracasso endodôntico. Durante o processo de sanificação dos canais radiculares, o correto selamento coronário é essencial, pois reduz a possibilidade de reinfecção do sistema de canais radiculares entre as sessões do tratamento endodôntico e restaurador. A correta seleção de um material restaurador provisório que evite infiltração microbiana durante o transoperatório é um ponto que merece destaque nos estudos.

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a infiltração microbiana em dentes restaurados provisoriamente com o material restaurador intermediário (IRM, Intermediate Restorative Material), Cavit ou Vitremer. Para tanto, foram utilizados 50 dentes humanos extraídos unirradiculares, distribuídos aleatoriamente em três grupos experimentais e dois grupos controle (positivo e negativo). Para o modelo de estudo, empregou-se uma plataforma, dividida em duas partes: câmara superior – onde foi introduzida a suspensão microbiana contendo os indicadores biológicos (*E. faecalis* + *S. aureus* + *P. aeruginosa* + *B. subtilis* + *C. Albicans*); e, câmara inferior, com o meio de cultura (Brain Heart Infusion), onde os dentes permaneceram imersos com 5 mm do remanescente apical radicular (correspondente ao terço cervical) durante o período de 60 dias. Observou-se a partir dos resultados, que nos dentes dos grupos 1 (IRM) e 2 (Cavit) ocorreu infiltração microbiana a partir de 7 dias. No grupo 3 (Vitremer) não foi verificada infiltração microbiana no período de 7 a 60 dias.

PALAVRAS-CHAVE: Infiltração microbiana, selador provisório, selamento coronário.

ABSTRACT

This study aimed to determine the microbial coronal leakage of temporary restorative materials when employing IRM, Cavit or Vitremer, by means of different microbial indicators. Thus, 50 single-rooted human teeth were used, which were shaped until the file size 50 and assigned to 3 experimental groups. Two groups was used as control. In the study model, a platform was employed, which was split in two halves: an upper chamber – where the microbial suspension containing the biological indicators was introduced (*E. faecalis* + *S. aureus* + *P. aeruginosa* + *B. subtilis* + *C. albicans*); and a lower chamber containing the culture medium Brain Heart Infusion, in which 5 mm of the apical region of teeth (coronal third) were kept immersed. Interpretations of the time to occur microbial leakage were made daily for 60 days, using the turbidity of the culture medium which is indicative of microbial contamination, as a reference. The results showed that in the teeth from groups 1 (IRM) and 2 (Cavit) occurred microbial leakage after 7 days. In the group 3 (Vitremer) it was not observed microbial leakage at intervals of 7 to 60 days.

KEYWORDS: Microbial infiltration, temporary restorative materials, coronal seal.

INTRODUÇÃO

O sucesso do tratamento endodôntico relaciona-se com os cuidados observados em todas as etapas do processo de sanificação do sistema de canais radiculares e selamento coronário. Estas etapas incluem o diagnóstico, a abertura coronária, o esvaziamento, a odontometria, a limpeza e a modelagem, seguidas da obturação e restauração coronária.

Um dos fatores principais para o desenvolvimento das alterações pulpares e periapicais relaciona-se com a presença de microrganismos^{1,2}. O perfeito selamento do canal radicular e câmara coronária constituem fatores determinantes para o êxito do tratamento endodôntico.

A obturação do canal radicular representa uma etapa do tratamento endodôntico amplamente investigada quanto à capacidade de vedamento, particularmente a infiltração marginal. Percebe-se que o sucesso do tratamento endodôntico ao longo do tempo pode ser resguardado pelo selamento coronário, preservando o canal radicular de possíveis contaminações reincidentes³⁻⁸.

Em muitas situações clínicas, os dentes tratados endodonticamente permanecem na cavidade bucal por variados períodos de tempo até que sejam reabilitados definitivamente, sofrendo a influência de diversos fatores que podem promover falhas no selamento marginal decorrentes de restaurações provisórias.

Uma variedade de materiais seladores de canais radiculares foi objeto de estudo frente à infiltração marginal, os quais evidenciaram a possibilidade de ocorrência em maior ou menor grau, em todos os materiais testados^{5,7,9,10}. Outro fator bastante controverso no estudo da infiltração marginal coronária é o tempo necessário para que ocorra infiltração microbiana em todo canal radicular

selado e obturado. Os resultados observados são contraditórios, pois o tempo necessário para que as infiltrações se desenvolvam são dependentes de várias condições, e estas incluem: o tamanho da molécula do corante, a viscosidade, a densidade e a tensão superficial da solução identificadora, os microrganismos indicadores, além das características dos materiais estudados¹¹. Torabinejad et al.⁶ relataram ser necessário um período de tempo entre 24 a 48 dias para que se observe infiltração microbiana, considerando o tipo de microrganismo selecionado.

Todavia, frente à necessidade de assegurar uma melhor efetividade no selamento da interface material-estrutura dentinária, parece oportuno questionamento sobre a importância e qualidade do material restaurador provisório selecionado, o que justifica estudos sobre infiltração microbiana. Assim, o objetivo do presente estudo é avaliar o selamento coronário provisório produzido pelo IRM, Cavit ou Vitremer no período de 60 dias frente a indicadores microbianos.

MATERIAL E MÉTODO

Microrganismos Indicadores

Este trabalho empregou cinco microrganismos provenientes da American Type Culture Collection - *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) e *Candida albicans* (ATCC 10231). A propagação da cepa foi realizada em 5 mL de Brain Heart Infusion (BHI, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA). A partir do meio líquido os microrganismos foram cultivados em meio sólido. As suspensões

suspensões foram preparadas com culturas de 24 horas e ajustadas à escala 1 de McFarland. De cada suspensão foi retirado 1 mL, e foi preparada uma mistura constituída pelos indicadores microbianos - *E. faecalis* + *S. aureus* + *P. aeruginosa* + *B. subtilis* + *C. albicans*^{13,14}.

Seleção, Preparo e Distribuição das Amostras

Cinquenta dentes anteriores de humanos (incisivos e caninos superiores) extraídos por razões diversas, cuja origem provém do banco de dentes do Centro de Ensino e Pesquisa Odontológica do Brasil (CEPOBRAS) fizeram parte da amostra. Posterior à análise da radiografia inicial foram excluídos os dentes com rizogênese incompleta, reabsorção interna e/ou externa, linhas de fraturas, raízes curvas (ou dilaceradas) e canais radiculares preparados e/ou obturados. A amostra incluiu dentes com coroas íntegras ou cavidades de cáries ou restaurações com profundidade média, desde que mantivesse uma espessura superior a 1 mm de dentina da câmara coronária. Os dentes cariados antes da abertura coronária foram restaurados com resina composta (TPH spectrum, Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil).

As amostras foram padronizadas em tamanho (comprimento de 13 mm, sentido ápice-coroa), mantendo-se 5 mm do remanescente apical (terço cervical da raiz). Posterior ao acesso coronário com brocas diamantadas esféricas (números 1012, 1013, KG Sorensen, Brasil), o terço cervical foi preparado com brocas Gates-Glidden de números 3 e 4 (Maillefer-Dentsply, Switzerland). Cinco mililitros de solução de hipoclorito de sódio a 1% (Halex Istar, Goiânia, GO, Brasil) foram utilizados como solução irrigadora após o preparo coronário. A seguir, as amostras foram secadas e preenchidas com solução de EDTA (trissódico, pH 7,2, Biodinâmica, Ibiporã, PR, Brasil) a 17% por 3 minutos, com o objetivo de se remover a smear layer.

Os dentes foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos experimentais com 10 amostras cada (2 para cada intervalo de observação), correspondentes a 7, 21, 30, 45 e 60 dias. As câmaras coronárias foram seladas com igual volume de material (espessura de 4 mm de profundidade), previamente determinados com um batente feito com bastão de guta-percha. Os materiais restauradores temporários utilizados no estudo foram: o IRM® (Intermediate Restorative Material, Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil), Cavit® (3M ESP, Sumaré, SP, Brasil) ou Vitremer® (3M ESP, Sumaré, SP,

Brasil).

Plataforma de Fixação da Amostra

Uma plataforma foi confeccionada para a fixação dos dentes, levando-se em consideração outros modelos experimentais e estudos anteriores desenvolvidos nesta linha de pesquisa^{6,12,17,21,22}. A estrutura foi construída a partir de um frasco de vidro de 10 mL, com tampa de borracha de 20 mm de diâmetro e tubo Eppendorf de 1,5 mL (Cral, Comércio de Artigos para Laboratório Ltda., São Paulo, SP). Removeu-se aproximadamente 5 mm da extremidade dos tubos Eppendorf, o dente foi introduzido na estrutura e adaptado até o melhor ajuste do terço cervical. Os espécimes foram identificados e autoclavados, em conjunto com os tubos e as tampas (conjunto que compõe a plataforma) à temperatura de 121°C durante 20 minutos.

Posterior à restauração dos grupos experimentais, os dentes foram ajustados aos tubos para proceder-se às impermeabilizações das amostras, exceto na área de interesse ao estudo (região coronária, 2 mm aquém da margem restaurada provisoriamente). Assim, foram aplicadas duas camadas de cianoacrilato (Super Bonder®, Henkel Loclite Adesivos Ltda., Itapevi, SP). A seguir, a porção tubo-dente foi selada com uma camada de resina epóxi (Durepóxi®, Alba Química Indústria e Comércio Ltda., Boituva, SP), para garantir uma adequada impermeabilização. Outra camada de agente selador (esmalte para unhas, Colorama Cremoso, Procosa Produtos de beleza Ltda., São Paulo, SP) foi empregada para um perfeito selamento na plataforma de fixação.

Preparo e Distribuição do Meio de Cultura

Decorridas 24 horas, os dentes foram imersos por 30 minutos em hipoclorito de sódio a 5%, assegurando o controle microbiano. Os espécimes foram introduzidos em tubos esterilizados contendo 7 mL do meio de cultura Brain Heart Infusion acrescidos dos neutralizadores tiosulfato de sódio e Tween 80, ambos na concentração de 1%. Aproximadamente 5 mm de estrutura dentária radicular foram mantidas imersas no meio de cultura. A interface tubo/tampa foi impermeabilizada com uma camada de cianoacrilato. Para manter o controle asséptico do conjunto (plataforma e meio de cultura) durante essas etapas descritas, os dentes foram mantidos por 24 horas em estufa bacteriológica a 37°C.

Distribuição dos Grupos Controle

O grupo controle negativo foi composto por 10 espécimes. Estes receberam o mesmo tratamento, quanto à preparação das amostras e a montagem na plataforma. Os dentes foram restaurados com resina composta (TPH spectrum, Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil). Além da impermeabilização anteriormente descrita, uma camada de cianocrilato e duas camadas de esmalte para unhas foram aplicadas sobre a restauração coronária e sobre a superfície radicular presente no interior do tubo de Eppendorf. Outros 10 espécimes foram utilizados para o grupo controle positivos. Como nos demais espécimes realizaram-se as aberturas coronárias, os preparos dos canais radiculares e as montagens nas plataformas. Neste grupo, os dentes não foram restaurados e permaneceram abertos.

Inoculação Microbiana nas Amostras e Controle de Contaminação

Preparou-se uma suspensão microbiana em 5 mL de água destilada esterilizada, a partir de uma cultura de 24 horas de incubação, valendo-se da escala 1 de McFarland (3×10^8 células/mL). De cada suspensão microbiana, retirou-se 1 mL para o preparo da mistura constituída pelos microrganismos indicadores. Retirou-se desta mistura 0,1 mL e preparou-se uma nova suspensão microbiana em 8 mL de BHI. Uma alíquota de 0,1 mL da suspensão preparada foi utilizada para a inoculação dos espécimes. Esta inoculação microbiana foi realizada a cada 7 dias, com cultura de 24 horas, durante 60 dias. Posterior à realização da inoculação das suspensões microbianas, os espécimes foram mantidos em estufa bacteriológica a 37°C (Fluxograma 1).

FLUXOGRAMA



Figura 1 – Delineamento experimental.

A cada período experimental de observação (7, 21, 30, 45 e 60 dias) foi avaliada a presença ou a ausência de turvação do meio de cultura, na parte do tubo correspondente à raiz dentária, indicativa da contaminação microbiana, o que caracterizou a infiltração na interface do material temporário com a parede da câmara coronária. A partir de amostras selecionadas aleatoriamente de tubos contaminados, foram realizadas análises microscópicas (Coloração de Gram), com o objetivo de se assegurar que a contaminação presente era composta pelos mesmos indicadores biológicos empregados.

RESULTADOS

A tabela 1 expressa os resultados obtidos, os quais indicaram infiltração microbiana a partir de 7 dias para o grupo do IRM e Cavit, enquanto que o grupo do Vitremer indicou ausência de infiltração microbiana em todo o período experimental de 60 dias. Os resultados obtidos no grupo controle negativo (10 espécimes) não evidenciaram infiltração microbiana em nenhuma amostra durante o período experimental. Para os 10 espécimes do grupo controle positivo, pode-se observar infiltração microbiana nos períodos previamente estabelecidos.

Grupos	7 dias	21 dias	30 dias	45 dias	60 dias
IRM	++	++	++	++	++
Cavit	++	++	++	++	++
Vitremer	--	--	--	--	--
Controle Positivo	++	++	++	++	++
Controle Negativo	--	--	--	--	--

Tabela 1 – Selamento coronário proporcionado por diferentes materiais restauradores provisórios.

DISCUSSÃO

A endodontia contemporânea entende que a conclusão do tratamento endodôntico vincula-se à restauração definitiva do dente. Porém, em muitas situações clínicas observa-se a necessidade de se utilizar restauração provisória, a qual deve ser cuidadosamente indicada devido à possibilidade de reinfecção do dente tratado endodonticamente. Infiltrações marginais em diferentes interfaces dente-material selador foram avaliados valendo-se de diferentes testes com vários materiais dentários^{5,7,15-22}. Muitos métodos já foram testados para mensurar a infiltração marginal. Destacam-se indicadores físico-químicos (corantes)^{5,7,15-22,24,27,31,33}, íons^{10,23,29} e radioisótopos³⁰. Indicadores biológicos (microrganismos) também têm sido utilizados com esta finalidade^{6,9,17-20,25,26,28,33}.

O método da infiltração microbiana indicativo de penetração microbiana marginal através da restauração coronária provisória e estrutura dentária foi a opção deste estudo. Um fator importante na seleção do método foi buscar um método mais próximo do que acontece na clínica, quando se tem um dente com tratamento endodôntico exposto ao meio bucal, o que o torna-se propenso à contaminação microbiana.

Em estudos que envolveram infiltrações marginais, os indicadores físico-químicos (corantes, íons e isótopos) têm sido questionados quanto ao tamanho de suas moléculas, visto apresentarem-se menores que as bactérias e seus subprodutos^{11,25}.

As infiltrações microbianas observadas no presente estudo ocorreram a partir de 7 dias no grupo do IRM e do Cavit, enquanto que, no grupo do Vitremer observou-se ausência de infiltração microbiana em todo o período experimental de 60 dias.

Chailertvanitkul et al.³⁴, considerando infiltração coronária pós-tratamento endodôntico, em dentes que tiveram a abertura coronária selada ou não, com cimento de ionômero de vidro (Vitrebond), verificaram que os dentes submetidos ao selamento coronário com Vitrebond não apresentaram infiltração no período de 60 dias, enquanto 60% dos dentes que permaneceram com o acesso coronário aberto mostraram significativa infiltração no mesmo período. Veloso et al.¹² investigaram a infiltração microbiana em materiais restauradores provisórios (Coltosol, IRM, Vidrion R) após preparo para retentores intrarradiculares. Quarenta e dois dentes humanos anteriores superiores foram preparados e obturados com guta-percha e Sealapex utilizando a técnica da condensação lateral, mantendo quatro mm de remanescente apical de obturação. O Coltosol, o IRM e o Vidrion R permitiram infiltração microbiana entre 19 a 89 dias. O material restaurador temporário e a medicação intracanal não preveniram a penetração de microrganismos até o ápice radicular.

Alguns estudos discutiram aspectos expressivos quanto ao tempo aceitável de permanência de dentes com inadequados selamentos coronários e expostos ao meio bucal.

Torabinejad et al.⁶ analisaram *in vitro* o tempo para que espécies de *S. epidermidis* e *P. vulgaris* contidas em saliva artificial penetrassem em toda a extensão do canal radicular obturado. Os resultados indicaram infiltração microbiana até a região apical em um período médio de aproximadamente de 48,6 dias para o *P. vulgaris*, enquanto que o *S. epidermidis* ocorreu em de 24,1 dias. Magura et al.¹⁸ examinaram a infiltração coronária em 160 dentes humanos por meio de penetração de saliva humana, utilizando dois métodos de análise: exame histológico e penetração de corante. Os resultados mostraram que a penetração de saliva avaliada pelo corte histológico foi significativamente menor quando comparada com a análise da infiltração de corante. Quanto maior o tempo de exposição à saliva, maior era a infiltração coronária. Ao final de 3 meses de imersão dos dentes em saliva, ocorreu um aumento significativo da infiltração marginal em todos os grupos, que permaneceram ou não com cimento provisório, sem diferença estatística significativa entre si. Os autores enfatizaram que canais radiculares obturados, não restaurados definitivamente no período de 90 dias, devem ser retratados. Soluti et al.³⁶ investigaram a infiltração marginal coronária e o tempo necessário após exposição dos canais obturados ao meio bucal, por meio de análise histológica dos tecidos periapicais em 40 caninos inferiores de gatos (16 dentes receberam selamento coronário provisório após o tratamento endodôntico e outros 16 ficaram expostos à cavidade bucal em um período de 1 a 150 dias). O exame histológico dos tecidos periapicais mostrou não haver diferença estatística significativa entre os dentes que permaneceram com os acessos coronários selados ou não, no período de três meses. Entretanto, após 5 meses, houve diferença estatística significativa na infiltração marginal coronária entre os grupos com e sem o selamento provisório. Com base nos resultados obtidos, pode-se sugerir que após 150 dias de exposição aos fluidos bucais os canais radiculares obturados deveriam ser retratados. Pisano et al.³⁷ compararam o Cavit, IRM e o Super EBA frente a infiltração coronária em 74 dentes unirradulares. Os canais radiculares foram instrumentados e obturados. Vinte dentes foram selecionados aleatoriamente para cada um dos 3 grupos experimentais. Após esse procedimento, 3,5 mm de guta-percha foram removidos da região coronária dos canais e substituídos pelos três materiais estudados. Utilizou-se 5 dentes para cada grupo controle, os quais não receberam material restaurador provisório. Os dentes foram suspensos 2 mm apicais em frascos contendo Trypticase Soy Broth (TSB). Saliva humana foi adiciona-

da a cavidade de acesso através da extremidade da tampa de borracha pela ponta de uma seringa. A saliva foi reposta de 24 a 48 horas. Os resultados demonstraram que ao final de 90 dias, 15% das restaurações com Cavit infiltraram, enquanto as preenchidas com IRM e Super EBA infiltraram 35%. Balto et al.³⁸ avaliaram a infiltração microbiana em materiais restauradores temporários (Cavit, IRM e o Adesivo+Dyract), posterior ao tratamento endodôntico em 38 pré-molares humanos. Cavidades de acesso foram padronizadas com 2,5 mm de largura, 3,5 mm de comprimento por 5,5 mm de profundidade. Os espécimes foram divididos em 3 grupos de 10 dentes, os quais receberam uma camada de 3,5 mm de espessura de três tipos de materiais temporários, como se segue: grupo 1 - Cavit, grupo 2 - IRM e o grupo 3 - Adesivo+Dyract. Cada grupo experimental foi dividido em sub-grupo A e B. Os dentes do sub-grupo A foram inoculados com *S. faecalis*, enquanto os do sub-grupo B foram inoculados com *C. albicans*. Cada dente foi colocado em cavidades feitas em placas de cultura tecidual e embebido em Trypticase Soy Broth (TSB) e 0,5% de Bacto-ágar. Preparou-se uma suspensão de cada microrganismo em Phosphate Buffered Saline (PBS) contendo 2% de salina e 5 ml desta suspensão foi inoculada em cada acesso cavitário de acordo com seu sub-grupo, sendo a penetração microbiana constatada pela turbidez do meio (TSB). Decorridos 30 dias verificou-se no grupo do IRM a infiltração ocorreu em 10 dias, enquanto que no grupo do Cavit e do Dyract as infiltrações foram observadas após 2 semanas.

É importante ressaltar que esses achados sedimentaram uma afirmativa de que um canal radicular obturado deve receber, o mais breve possível, a restauração definitiva. Uma possível falha no selamento coronário temporário e/ou defeitos de adaptação marginal, que permitam infiltração de saliva e microrganismos orais, podem conduzir o tratamento endodôntico ao insucesso.

Deve-se estar atento ao fato que métodos de estudos delineados *in vitro*, os resultados não deveriam ser extrapolados de forma direta para os procedimentos clínicos, sem levar em consideração às limitações inerentes a cada método em particular, tornando-se necessários mais estudos para se definir outras variáveis.

A isenção de microrganismos no ambiente da cavidade endodôntica valoriza a constante busca científica de novos materiais e técnicas para o tratamento ideal do sistema de canais radiculares, capazes de selar a contento o habitat anteriormente ocupado a polpa dentária.

CONCLUSÃO

Com base no método empregado e nas limitações inerentes pode-se concluir que as restaurações provisórias realizadas com IRM ou Cavit exibiram infiltrações microbianas a partir de 7 dias, enquanto que nos dentes restaurados provisoriamente com Vitremer não foi evidenciado infiltração no intervalo de 7 a 60 dias.

REFERÊNCIAS

1. Shovelton DS. The presence and distribution of microorganisms within Non-vital Teeth. *British Dent J* 1964;117:101-7.
2. 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.
3. Ray HA, Trope M. Periapical status of endodontically treated teeth in relation to the technical quality of the root filling and the coronal restoration. *Int Endod J* 1995;28:12-8.
4. Tronstad L, Asbjornsen K, Dorving L, Pedersen I, Eriksen HM. Influence of coronal restorations on the periapical health of endodontically treated teeth. *Endod Dent Traumatol* 2000;16:218-21.
5. Madison S, Swanson K, Chiles SA. An evaluation of coronal microleakage in endodontically treated teeth. Part II. Sealer Types. *J Endod* 1987;13:109-12.
6. Torabinejad M, Ung B, Kettering JD. In vitro bacterial penetration of coronally unsealed endodontically treated teeth. *J Endod* 1990;16:566-9.
7. Saunders WP, Saunders EM. Influence of smear layer on the coronal leakage of thermofill and laterally condensed gutta-percha root fillings with a Glass Ionomer Sealer. *J Endod* 1994;20:155-8.
8. Taylor JK, Jeanson BG, Lemon RR. Coronal leakage: effects of smear-layer, obturation technique, and sealer. *J Endod* 1997;23:508-12.
9. Khayat A, Lee SJ, Torabinejad M. Human saliva penetration of coronally unsealed obturated root canals. *J Endod* 1993;19:458-60.
10. Wu MK, Degee AJ, Wesselink PR, Moorer WR. Fluid transport and bacterial penetration along root canal. *Int Endod J* 1993;26:203-8.
11. Wu MK, Wesselink PR. Endodontic leakage studies reconsidered. Part I. Methodology, application and relevance. *Int Endod J* 1993;26:37-43.
12. Veloso HEP, Estrela CRA, Decurcio DA, Alves D, Estrela C. Microbial microleakage in temporary restorative after post space preparation. *Odonto Ciência* 2008;23:187-91.
13. Estrela C, Pimenta FC, Ito IY, Bammann LL. Antimicrobial evaluation of calcium hydroxide in infected dentinal tubules. *J Endod* 1999;26:416-8.
14. Estrela C, Ribeiro RG, Estrela CRA, Pécora JD, Sousa-Neto MD. Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. *Braz Dent J* 2003;14:58-62.
15. Barbosa HG, Holland R. Infiltração marginal coronária após preparo para pino: influência do tipo de cimento obturador e de um plug de cimento temporário. *J Bras Endod* 2003;4:208-12.
16. Barbosa HG, Holland R, Souza V, Dezan-Junior E, Bernabé PFE, Otoboni-Filho JA, Nery MJ. Healing process of dog teeth after post-space preparation and exposition of the filling material to the oral environment. *Braz Dent J* 2003;14:103-8.
17. Zucco LR. Avaliação da infiltração coronária em canais obturados e preparados para pino. (Master's Thesis). Luteran University of Brazil;2001.164p.
18. Magura ME, Kafrawy AH, Brown-Jr CE, Newton CW. Human saliva coronal microleakage in obturated root canals: An In Vitro Study. *J Endod* 1991;17:324-31.
19. Barrieshi KM, Walton RE, Johnson WT, Drake DR. Coronal leakage of mixed anaerobic bacteria after obturation and post space preparation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1997;84:310-4.
20. Alves J, Walton R, Drake D. Coronal leakage: Endotoxin penetration from mixed bacterial communities through obturated post prepared root canals. *J Endod* 1998;24:587-91.
21. Hollanda ACB, Estrela CRA, Decurcio DA, Silva JÁ, Estrela C. Sealing ability of sealer 26, AH Plus and Resilon-Epiphany. *General Dentistry* 2009; (in press).

22.Paes FR, Estrela CRA, Decúrcio DA, Silva JA, Estrela C. Infiltração microbiana em remanescentes de obturação de canais radiculares acrescido de selador temporário. *Dental Science* 2008;2:117-124.

23.Lim KC, Tidmarsh BG. The sealing ability of Sealapex compared with AH 26. *J Endod* 1986;12:564-6.

24.Saunders WP, Saunders EM. The effect of smear layer upon the coronal leakage of gutta-percha root fillings and a glass ionomer sealer. *Int Endod J* 1992;25:245-9.

25.Trope M, Chow E, Nissan R. In Vitro endotoxin in penetration of coronally unsealed endodontically treated teeth. *Endod Dent Traumatol* 1995;11:90-4.

26.Chailervatnikul P, Saunders WP, Mackenzie E. The effect of smear layer on microbial coronal leakage of gutta-percha root fillings. *Int Endod J* 1996;29:242-8.

27.Valera MC, Bernardinelli N, Berbert A. Avaliação da infiltração marginal de corante, via coronária, em função do momento, nível de corte das obturações dos canais radiculares e armazenamento em saliva. *Rev Odontol Univ São Paulo* 1994;8:57-64.

28.Gish SP, Drake DR, Walton RE, Wilcox L. Coronal leakage: bacterial penetration through obturated canals following post preparation. *J Am Dent Assoc* 1994;125:1369-72.

29.Wu MK, Pehlivan Y, Kontakiotis EG, Wesselink PR. Microleakage along apical root fillings and cemented posts. *J Prosthet Dent* 1998;79:264-9.

30.Menezes MM, Andreatta-Filho OD, Soares LF, Valera MC, Araújo MA. Avaliação da capacidade de impermeabilização do cianoacrilato e do adesivo dentinário autocondicionante em canais obturados e preparados para retentor intra-radicular. *Cienc Odontol Bras* 2002;5:32-7.

31.Valera MC, Cia D. Impermeabilização da obturação do canal radicular após preparo para núcleo. *Rev Gauch Odontol* 2000;48:157-60.

32.Gomes APM, Iorio LS, Oliveira LD, Balducci I. Avaliação da impermeabilização com cianoacrilato sobre o remanescente de obturações de canais radiculares preparados para núcleo. *Rev Odontol UNESP* 2001;30:185-200

33.Barthel CR, Moshonov J, Shuping G, Orstavik D. Bacterial leakage versus dye leakage in obturated root canals. *Int. Endod J* 1999;32:370-5.

34.Chailertvanitkul P, Saunders WP, Saunders EM, Mackenzie P. An evaluation of microbial coronal leakage in the restored pulp chamber of root canal treated multirrooted teeth. *Int Endod J* 1997;30:318-22.

35.Malone KH, Donnelly JC. An in vitro evaluation of coronal microleakage in obturated root canals without coronal restorations. *J Endod* 1997;23:35-8.

36.Soluti A, Lotfi M, Sadeghein A. Histologic study of periapical tissue reaction to endodontic treatment with and without coronal microleakage in cats (Abstract). *J Endod* 1998;24:288.

37.Pisano DM, Difiore PM, McClanahan SB, Lautenschlager BP, Duncan JL. Intraorifice sealing of gutta percha obturated root canals to prevent coronal microleakage. *J Endod* 1998;24:659-62.

38.Balto H. An assessment of microbial coronal leakage of temporary filling materials in endodontically treated teeth. *J Endod* 2002;28:762-64.