

UNIVERSIDADE DE UBERABA  
MESTRADO ACADÊMICO EM ODONTOLOGIA

GRAZIELLE APARECIDA DE SOUSA

AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE LIMPEZA DE DIFERENTES PROTOCOLOS  
DE ATIVAÇÃO DA IRRIGAÇÃO DOS CANAIS RADICULARES

UBERABA- MG  
2020



GRAZIELLE APARECIDA DE SOUSA

AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE LIMPEZA DE DIFERENTES PROTOCOLOS  
DE ATIVAÇÃO DA IRRIGAÇÃO DOS CANAIS RADICULARES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia - Mestrado Acadêmico da Universidade de Uberaba, como requisito para obtenção do título de Mestre em Odontologia, na Área de Concentração em Clínica Odontológica Integrada.

Orientador: Prof. Dra. Renata Oliveira Samuel

UBERABA- MG  
2020

Catálogo elaborado pelo Setor de Referência da Biblioteca Central UNIUBE

- S85a      Sousa, Grazielle Aparecida de.  
Avaliação da eficiência de limpeza de diferentes protocolos de  
ativação da irrigação dos canais radiculares / Grazielle Aparecida de  
Sousa. – Uberaba, 2020.  
35 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade de Uberaba. Programa de  
Mestrado em Odontologia. Área Clínica Odontológica Integrada.  
Orientadora: Profa. Dra. Renata Oliveira Samuel.
1. Endodontia. 2. Canal radicular – Tratamento. 3. Ultrassom em  
odontologia. I. Samuel, Renata Oliveira. II. Universidade de Uberaba.  
Programa de Mestrado em Odontologia. Área Clínica Odontológica  
Integrada. III. Título.
- CDD 617.6342

GRAZIELLE APARECIDA DE SOUSA

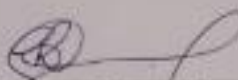
AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE LIMPEZA DE DIFERENTES PROTOCOLOS  
DE ATIVAÇÃO DA IRRIGAÇÃO DOS CANAIS RADICULARES

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia do Programa de Pós-Graduação em Odontologia - Mestrado da Universidade de Uberaba.

Área de concentração: Clínica Odontológica Integrada

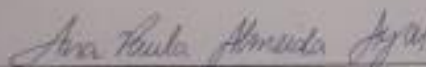
Aprovado (a) em: 14/02/2020

BANCA EXAMINADORA:



---

Prof.ª Dr.ª Renata Oliveira Samuel  
Orientadora  
Universidade de Uberaba



---

Prof.ª Dr.ª Ana Paula Almeida Ayres  
Universidade de Uberaba



---

Prof. Dr. Benito André Silveira Miranzi  
Universidade de Uberaba



*DEDICATÓRIA*

---





## **DEDICATÓRIA**

Ao meu pai Antônio e à minha mãe Aparecida.

Aos meus irmãos Francielle e Luís.

E aos meus amigos e colegas de trabalho que  
estiveram me apoiando nessa jornada.



*AGRADECIMIENTO ESPECIAL*

---



## **AGRADECIMENTO ESPECIAL**

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Renata Oliveira Samuel pela presteza, dedicação e empenho na orientação deste trabalho.



## *AGRADECIMIENTOS*

---





## **AGRADECIMENTOS**

Ao Programa de Pós-graduação em Odontologia e a todos os seus professores e funcionários, ao Prof. Dr. Cesar Penazzo Lepri, e à secretária Flávia Michele da Silva pelo dedicação, apoio e profissionalismo em todos os momentos.

Ao Prof. Dr. Marcelo Rodrigues Pinto pela disponibilidade de empenho na execução de parte do projeto. Ao Prof. Dr. Benito André Silveira Miranzi pela sua contribuição na análise dos resultados.

Agradeço aos meus pais, por serem meus maiores guias e por me incentivarem no meu crescimento profissional.

Aos meus irmão que já estavam nessa jornada acadêmica e me apoiaram, me instruíram e me escutaram várias vezes.

Aos colegas e amigos, em especial Gabriela Paiva, pelo apoio e ajuda de sempre.

Às instituições as quais trabalho, SEST/SENAT e Faculdade Patos de Minas, nas pessoas, respectivamente, Glísia Pinto e Fernando Nascimento, pelo entendimento e flexibilidade para me ausentar.

Agradeço à Deus pelo dom da vida e por me dar força e coragem para conquistar meus sonhos.



*RESUMO*

---



## RESUMO

**Introdução:** Para garantir o sucesso do tratamento endodôntico, a microbiota do sistema de canais radiculares deve ser eficientemente reduzida, por meio da limpeza e modelagem. Este estudo teve como objetivo avaliar comparativamente a eficiência de limpeza da agitação da solução irrigadora com espiral lentulo (L), com ativação ultrassônica por meio de um inserto específico para este fim *Irrisonic* (IS), *Easy Clean* (EC) e *XP Endo Finisher* (XP). **Materiais e métodos:** Cinquenta raízes mesiais de molares inferiores extraídos com presença de istmo foram preparadas com limas de diâmetro de ponta de 0,25 mm com conicidade de 0,06 mm/mm e divididas em cinco grupos de acordo com o instrumento utilizado para a agitação final da solução irrigante: grupo L, grupo IS, grupo EC, grupo XP e irrigação sem ativação (grupo C). Dez espécimes de cada grupo foram seccionados e preparados para análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV). As imagens foram avaliadas em terços nas regiões cervical, média e apical, e os dados foram analisados pelo teste não paramétrico de Kruskal- Wallis seguido pelo pós-teste de Dunn ( $p < 0,05$ ). **Resultados:** A ativação da solução irrigadora foi mais eficiente do que a irrigação simples, independentemente da forma de ativação ( $p < 0,05$ ). Não observou-se diferença na limpeza quando foi comparado o método de ativação da solução entre os grupos estudados em nem um dos terços ( $p > 0,05$ ). **Conclusão:** Independentemente do dispositivo utilizado, a ativação da solução irrigadora mostrou-se mais eficiente na limpeza do que a irrigação convencional.

**PALAVRAS - CHAVES:** Irrigantes do canal radicular, smear layer, ultrassom.



*ABSTRACT*

---





## **ABSTRACT**

**Introduction:** To ensure the success of endodontic treatment, the microbiota of the root canal system must be efficiently reduced, through cleaning and shaping. This study aimed to comparatively evaluate the cleaning efficiency of the agitation of the irrigation solution with lentulous spiral (L), with ultrasonic activation through a specific insert for this purpose Irrisonic (IS), Easy Clean (EC) and XP Endo Finisher (XP). **Materials and methods:** Fifty mesial roots of mandibular molars extracted with the presence of the isthmus were prepared with 0.25 mm tip diameter files with 0.06 mm / mm taper and divided into five groups according to the instrument used for the final agitation of the irrigating solution: group L, group IS, group EC, group XP and irrigation without activation (group C). Ten specimens from each group were sectioned and prepared for analysis by scanning electron microscopy (SEM). The images were evaluated in thirds in the cervical, middle and apical regions, and the data were analyzed by the Kruskal-Wallis non-parametric test followed by the Dunn post-test ( $p < 0.05$ ). **Results:** The activation of the irrigation solution was more efficient than simple irrigation, regardless of the form of activation ( $p < 0.05$ ). No difference in cleaning was observed when the method of activating the solution was compared between the groups studied in not one third ( $p > 0.05$ ). **Conclusion:** Regardless of the device used, the activation of the irrigation solution proved to be more efficient in cleaning than conventional irrigation.

**KEYWORDS:** Root canal irrigants, smear layer, ultrasonics.



## **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1. Representative images of the canal and isthmus in the cervical, middle and apical regions after instrumentation and after the third agitation of the different systems: irrigation without activation (group C), Easy Clean (group EC), Irrisonic (group IS), XP Endo Finisher (Group XP) and Lentulo spiral (group L).



## **LISTA DE ABREVIATURAS**

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

SCR – Sistema de canais radiculares

EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético

HDMS - Hexametildissilazano



## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b>	
<b>ABSTRACT</b>	
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>18</b>
<b>2 CAPÍTULO 1 - Evaluation of cleaning efficiency of different irrigation activation protocols</b>	<b>22</b>
<b>3 ABSTRACT</b>	<b>23</b>
<b>4 INTRODUCTION</b>	<b>24</b>
<b>5 MATERIAL AND METHODS</b>	<b>25</b>
<i>5.1 Teeth selection</i>	<b>25</b>
<i>5.2 Radical Canal Instrumentation and irrigation protocol</i>	<b>25</b>
<i>5.3 Group division</i>	<b>26</b>
<i>5.4 Analysis in scanning electron microscopy (SEM)</i>	<b>26</b>
<i>5.5 Image analysis</i>	<b>27</b>
<i>5.6 Image analysis</i>	<b>27</b>
<b>6 RESULTS</b>	<b>28</b>
<b>7 DISCUSSION</b>	<b>28</b>
<b>8 CONCLUSION</b>	<b>29</b>
<b>9 ACKNOWLEDGMENTS</b>	<b>30</b>
<b>10 CONFLICT OF INTEREST</b>	<b>30</b>
<b>11 ETHICAL APPROVAL</b>	<b>30</b>
<b>12 REFERENCES</b>	<b>30</b>
<b>12 CONCLUSÃO</b>	<b>33</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>35</b>
<b>APÊNDICES</b>	<b>39</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>41</b>
<i>Anexo 1. Comitê de Ética</i>	
<i>Anexo 2. Comprovante de submissão do artigo</i>	





## *1. INTRODUÇÃO*

---



## 1INTRODUÇÃO

Uma das grandes dificuldades do tratamento endodôntico é a obtenção de limpeza. Por este motivo, sempre há novas abordagens que visam a excelência do tratamento pautado em técnicas que buscam ser cada vez mais eficientes neste aspecto (Ramalho et al., 2017). Tanto em dentes com polpa viva como em dentes com polpa necrosada, objetiva a remoção da maior quantidade possível de matéria orgânica e restos de conteúdo séptico/tóxico dos canais radiculares. Para que esta limpeza seja realizada, atualmente são utilizados instrumentos endodônticos, que atuam de forma mecânica, associados à ação química e física da solução (Freire et al., 2015; Mohammadi, 2008; Haapasalo et al., 2014).

No entanto, tendo em vista a anatomia amplamente complexa do sistema de canais radiculares, há presença de biofilme ou tecido orgânico e inorgânico em áreas de difícil acesso (Sakko et al., 2016). Assim, a instrumentação e irrigação clássica de forma isolada não é suficiente para promover adequada desinfecção, principalmente em condutos laterais e acessórios, delta apicais e regiões de istmos (Paque et al., 2011).

Dentro deste contexto, estudos demonstram que até 79% da área de superfície dos condutos permanece intocada, independente do sistema utilizado (Lopes et al., 2017). As áreas não tocadas, no entanto, nem sempre são nas regiões de anfractuosidades (Lee et al., 2004). Há regiões não tocadas até mesmo no canal principal, que na maioria das vezes não possui secção transversal circular, como o realizado pelo desgaste do instrumento. Essa deficiência na limpeza impossibilita a remoção mecânica de biofilmes até mesmo em canais com anatomia menos complexa (Lin et al., 2013).

Buscando amenizar este problema, atualmente propõe-se cada vez mais, como protocolo ideal, a ativação das soluções irrigadoras no canal radicular (Urban et al., 2017). O intuito desta ativação seria uma maior dispersão e contato da solução pelo SCR, especialmente nas regiões que a instrumentação não alcança (Caron, G et al., 2010). Embora a ativação da solução irrigadora tem entrado em pauta recentemente, há mais de 30 anos, afirmava-se que a agitação mecânica do hipoclorito de sódio ou o fluxo de fluido é o fator mais importante na capacidade de dissolução de tecido orgânico do que a porcentagem inicial de cloro disponível (Moorer e Wesselink, 1982).

Os principais meios de ativação da solução irrigadora com bons resultados são com a utilização de insertos ultrassônicos específicos; com utilização de dispositivos

para uso em baixa rotação; com dispositivos sônicos; com limas especiais com designs diferenciados com o objetivo de tocar em mais paredes (Lee et al., 2004).

Para a agitação da solução irrigadora com ultrassom, tem sido amplamente utilizado o sistema Irrisonic (Helse Ultrasonic, Santa Rosa de Viterbo, SP, Brasil), um inserto de ultrassom de aço inoxidável, grau cirúrgico mais fino, com sistema de irrigação ultrassônica, utilizado com o intuito de agitar as soluções irrigadoras no interior do conduto. Possui diâmetro equivalente a uma lima manual 20, porém com conicidade reduzida (0.01). Pode ser pré-curvado em sua extremidade. A recomendação de utilização é inserir o inserto 3 milímetros aquém do comprimento de trabalho, após a instrumentação, de modo que o inserto permaneça sem tocar nas paredes dos canais. O instrumento permanece em ação com baixa potência (por volta de 30%) durante 20 segundos, movendo-se dinamicamente em toda extensão do canal (Caron, G et al., 2010). Este procedimento deve ser repetido por 3 vezes, sendo necessária a renovação da solução irrigadora após a última ativação (Kato et al., 2016 ;Vivan et al., 2016).

Outra alternativa é o sistema Easy Clean (Easy Odontológicos, Belo Horizonte, MG, Brasil), um instrumento de plástico de acrilonitrila butadieno estireno indicado para agitação mecânica de substâncias irrigadoras. Possui diâmetro inicial 0.25mm e taper 0.04 e um formato de seção transversal e opera com um movimento recíprocante (ou seja, 180 graus no sentido horário seguido de 90 graus no sentido anti-horário), podendo também ser utilizado em movimentos rotatórios (Kato et al, 2016). A proposta de ativação é semelhante à ativação ultrassônica: propõe-se 3 ativações de 20 segundos após a instrumentação do canal, de modo que o instrumento consiga entrar no canal sem encostar nas paredes. A cada ativação a solução irrigadora deve ser renovada (Kato et al., 2016).

O espiral Lentulo (Dentispaly Maillefer, EUA) é descrito na literatura para agitação de cimentos endodônticos (Oliveira et al., 2017) e colocação de medicação intracanal de pasta a base de hidróxido de cálcio. Acionado em contra-ângulo em baixa rotação no sentido horário, ele possui uma conformação de mola espiral de aço inoxidável em formato de rosca inversa (Galvão et al., 2017). A agitação mecânica do EDTA por dois minutos utilizando uma espiral Lentulo já é indicada há mais de 20 anos, antes mesmo de se falar da agitação da solução irrigadora como o hipoclorito de sódio e/ou clorexidina (Lopes et al., 1996). Com o EDTA, a Lentulo permite a remoção quase completa da camada de smear layer do terço apical. A agitação mecânica com uma

espiral Lentulo remove as bolhas de ar, favorece um melhor contato de EDTA com as paredes do canal, e leva a solução em áreas que não são atingidas pela agulha de irrigação (Lopes et al., 1996). No entanto, ainda não há estudos levando em consideração a utilização da espiral Lentulo para ativação das soluções irrigadoras.

Com o mesmo objetivo de melhorar a eficiência de limpeza, o sistema XP Endo Finisher (FKG

Dentaire SA, La Chaux-de-Fonds, Switzerland) propõe um novo paradigma para instrumentos endodônticos. Trata-se de instrumentos com conformação e matéria-prima diferenciada, no qual objetiva-se o contato com maior quantidade de paredes possível. Na temperatura corporal, o metal se expande e tem a propriedade de promover agitação da solução irrigadora e ao mesmo tempo entrar em contato com as paredes dos canais. Esta nova proposta tem apresentando resultados altamente eficazes (Elnaghy et al., 2017).

As comparações quanto a eficiência de cada protocolo de ativação final da solução irrigadora têm sido descritas em poucos estudos, no entanto, já está claro que qualquer método de ativação é melhor que a irrigação convencional simples (Caron, G et al., 2010). Estudos mostram que a utilização do ultrassom, Easy Clean e XP Endo Finisher são eficientes (Urban, et al., 2017; Kato et al., 2016). No entanto, até então, não há comparações com a espiral Lentulo, que é um instrumento já conhecido pelos cirurgiões-dentistas, já é utilizado no consultório com outras finalidades, além de possuir o preço acessível e poder ser utilizado em baixa rotação ou motor endodôntico.

Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi verificar se existia diferença na eficácia de limpeza nas regiões de istmos de molares inferiores após agitação da solução irrigadora com espiral Lentulo quando comparada com Irrisonic, Easy Clean, XP Endo Finisher e irrigação convencional, bem como observar em qual terço da raiz foi mais eficiente. A hipótese nula era de que não haveria diferença na remoção de detritos nos condutos após protocolo de irrigação final com espiral de Lentulo quando comparada a irrigação convencional, o que se confirmou após as análises de imagem de microscopia eletrônica de varredura.



## **2. CAPÍTULO 1** - *artigo submetido à Clinical Oral Investigation*

---





## 2 CAPÍTULO 1

### **Evaluation of cleaning efficiency of different irrigation activation protocols**

**Grazielle Aparecida de Sousa<sup>1</sup>, DDS, Benito André Silveira Miranzi<sup>1</sup>, PhD, Tarso Campos de Souza Filho<sup>1</sup>, DDS, Marcelo Rodrigues Pinto<sup>1</sup>, DMD, Carlos Roberto Emerenciano Bueno<sup>2</sup>, PhD, Patrícia Oliveira Souza<sup>1</sup>, DDS, Wilson Donizetti da Silva Júnior<sup>1</sup>, DDS, Nathália Souza Ferreira<sup>1</sup>, DDS, Renata Oliveira Samuel\*<sup>1</sup>, PhD**

<sup>1</sup> Department of Clinical Dentistry, Dental School, UNIUBE – Universidade de Uberaba, Uberaba, MG, Brazil

<sup>2</sup> Department of Endodontics, São Paulo State University (Unesp), School of Dentistry, Araçatuba, SP, Brazil.

### **Corresponding Author**

Dra. Renata Oliveira Samuel  
Department of Clinical Dentistry,  
Dental School,  
UNIUBE- Universidade de Uberaba,  
R: Nene Sabino, 1801  
Uberaba – Minas Gerais, Brazil  
Tel: (0055) 34 9 98007096

### 3 ABSTRACT

**Objective:** This study aimed to determine any differences in cleaning efficiency between stirring the lentil spiral irrigation solution and using ultrasonic activation with Irrisonic (Helse, Santa Rosa de Viterbo, SP, Brazil), Easy Clean (Easy Dental Equipment, Belo Horizonte, MG, Brazil), and XP Endo Finisher (FKG, La Chaux-de-Fonds, Neuchâtel, Switzerland). **Materials and Methods:** Fifty mesial roots of mandibular molars extracted with isthmus were prepared with 0.25 mm tip diameter files with a 0.06 mm/mm taper (Easy, Belo Horizonte, MG, Brazil) and divided into five groups according to the instrument used for the final stirring of the irrigating solution: Lentulo spiral (group L), Irrisonic (IS group), Easy Clean (EC group), XP Endo Finisher (XP group), and irrigation without activation (group C). Ten specimens from each group were cross-sectioned and prepared for scanning electron microscope (SEM) analysis. Images were evaluated in thirds at the cervical, middle, and apical regions, and data were analyzed by case-specific tests ( $p < 0.05$ ). **Results:** Activation of the irrigation solution was more efficient than simple irrigation, independent of the form of activation ( $p < 0.05$ ). We observed no difference in the solution activation method between the studied groups ( $p > 0.05$ ). **Conclusion:** Regardless of the device used, activation of the irrigation solution by activation proved more efficient in cleaning than conventional irrigation. **Clinical relevance:** The Lentulo may be an alternative for activating the irrigation solution during endodontic treatment, enabling efficient cleaning of the root canal system. Lentulo cleaning efficiency was similar to conventional methods used in a 0.25 mm tip preparation with a 0.06 mm/mm taper.

**KEYWORDS:** Irrigation, Passive ultrasonic irrigation, isthmus.

## 4 INTRODUCTION

The complex anatomy of the root canal system causes the presence of biofilm, organic, and inorganic tissue in areas that are difficult to access [1]. Thus, classical instrumentation and irrigation alone are insufficient to adequately disinfect the lateral and accessory canals, apical delta, and isthmus regions [2]. Gaining notice as an ideal current protocol, the activation of irrigating solutions used in the root canal seeks to alleviate this problem [3]. Activation involves greater dispersion and contact of the solution through the root canal system, especially in regions that instruments do not touch [4].

The main method of activating irrigating solutions with good results uses specific ultrasonic inserts, devices at low rotation, sonic devices, and special files with specialized designs aimed at touching more walls [5]. The Irrisonic instrument (Helse Ultrasonic, Ribeirão Preto, SP, Brazil) uses ultrasound to shake the irrigation solution and widely produces excellent cleaning results [6, 7]. Easy Clean (Easy Dental, Belo Horizonte, MG, Brazil) also produces good effects when operated at low RPM or reciprocating kinematics. The XP Endo Finisher instrument (FKG Dentaire SA, La Chaux-de-Fonds, Switzerland) agitates the irrigating solution but also proposes a new paradigm for endodontic instruments. The instrument is a file with conformation and differentiated raw material, which aims to contact as many walls as possible. This new option has shown highly effective results [8].

The Lentulo Spiral (Dentsply Maillefer, USA), despite its wide usage in Dentistry, no has reported about activates the irrigation solution to improve cleaning efficiency in the root canal systems. The Lentulo facilitates the activation of endodontic cement [9] and the placement of intracanal medication. Even before irrigating solutions such as sodium hypochlorite/chlorhexidine, the mechanical stirring of EDTA for two minutes using a Lentulo spiral has been reported [10]. With EDTA, Lentulo allows almost complete removal of the smear layer from the apical third. Mechanical stirring with a Lentulo spiral removes air bubbles, favors better EDTA contact with the canal walls, and allows the solution to access areas not reached by the irrigation needle [10]. However, there are no studies considering the use of the Lentulo spiral to activate irrigating solutions.

The present study aimed to elucidate the difference in cleaning efficacy in the lower molar isthmus regions after the stirring of the Lentulo spiral irrigation solution

when compared to Irrisonic, Easy Clean, XP Endo Finisher, and simple conventional irrigation.

## **5 MATERIALS AND METHODS**

Prior to laboratory procedures, this study was submitted to the Human Research Ethics Committee of the University of Uberaba (CAAE 22269719.3.0000.5145). The same previously trained operator performed all procedures.

### *5.1 Teeth selection*

Fifty lower molar mesial roots with fully formed apices were selected. The roots were examined for the presence of isthmus such that only the isthmus classified as Vertucci type IV (two canal ending in an independent foramen) were analyzed [11]. The teeth had canal with curvatures between 10 and 25 degrees. The teeth were kept in distilled water until the study. All teeth were cleaned with periodontal curettes and ultrasound (Gnatus, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil) to remove stones and dirt.

After coronal access, the working length was established by inserting a K #8 or #10 file (Dentsply Maillefer) until its tip was observed decreasing 1 mm in the foramen through a magnifying glass. Criteria for exclusion included caries, cracks, and fracture lines. The crowns were not removed to preserve the normal trajectory of irrigation instruments. Instrumentation was performed with the MK Life X1-Blue #25.06 (MK Life) system powered by an X-Mart Plus engine (Dentsply Maillefer, Pennsylvania, United States) in a reciprocating motion. Instrumentation was performed after manual Glide Path with Flexofiles and K-files (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) by thirds. After the enlargement of each third, irrigation with 2.5 mL of 2.5% sodium hypochlorite was performed [3,12].

### *5.2 Radical Canal Instrumentation and irrigation protocol*

Prior to canal preparation, all apices were covered with wax to ensure a closed irrigation system. Only one experienced operator performed root canal preparation. During instrumentation, all root canals were irrigated with 2.5 ml 2.5% sodium hypochlorite with a needle (NaviTip, Ultradent, South Jordan, UT, USA) inserted into the root canal. With instrumentation completed, irrigation solution was activated with 12 ml

NaOCl with three activation cycles (4 mL NaOCl per cycle) of 30 s according to each group.

### *5.3 Group division*

The specimens were randomly divided into 5 groups according to the type of solution shaking instrument:

Group L: Activation was performed with the Lentulo spiral (Dentsply Maillefer, USA) 25 mm, N.1. We performed activation at 2 mm working length in a micromotor at approximately 20,000 RPMs (KaVo Kerr Group, Charlotte, NC).

Group IS: Activation was performed with the Irrisonic 20/01 ultrasonic insert (Helse Dental Technology, Santa Rosa de Viterbo, SP, Brazil) at 2 mm from the working length coupled to an ultrasound unit (Olsen SA, Palhoça, SC, Brazil) with power set to 30%, according to the manufacturer's recommendations.

EC Group: Activation was performed with Easy Clean (Easy Dental, Belo Horizonte, MG, Brazil) sized 25/04 with a 2 mm working length coupled to a micromotor at approximately 20,000 clockwise rpm (KaVo Kerr Group, Charlotte, NC).

XP Group: shaking was performed with XP Endo Finisher (FKG Dentaire, La Chaux-de-Fonds, Switzerland) 25 diameter ISO without a taper and coupled with the X-smart Plus engine at 800 rpm/torque 1 Ncm.

Group C: The control group did not receive the final activation of the irrigating solution after instrumentation. A simple 4 mL irrigation and aspiration of 2.5% sodium hypochlorite was performed.

### *5.4 Analysis in scanning electron microscopy (SEM)*

We prepared the specimens to be analyzed by SEM (n=10) by dividing the roots into cross-sections of three parts (cervical, middle, and apical). We immersed the sections in 0.1 M sodium cacodylate (pH 7.4) buffered glutaraldehyde (2.5%) solution for one hour and followed by washing with distilled water for one minute. The samples were dehydrated with increasing concentrations of ethanol (25%, 50%, and 75%) for 20 minutes each. Final dehydration was performed for 30 min and 60 min at 95% and 100%

ethanol, respectively, followed by incubation in HMDS for 10 minutes. Each experimental group had the samples fixed in stubs, with the surface to be analyzed facing the upper face for microscopic analysis, using appropriate gold-plated metallic tape. The scanning electron microscopy FEG-XL30 (JEOL Ltda., Tokyo 190-0012 Japan) operating at 20 KV was used.

We gathered SEM images after instrumentation and activation of the irrigation solution to assess debris area. The percentage of debris remaining in the ducts was calculated, and scores were assigned according to debris coverage (dentin chips, pulp debris, and particles attached to the canal wall) after instrumentation.

Score 1: Clean canal wall, few debris particles.

Score 2: Some small conglomerates; less than 25% of the canal wall covered with debris.

Score 3: Many conglomerates; 25% to 50% of the canal covered with debris.

Score 4: 50% to 75% of the canal wall covered with debris.

Score 5: Complete or nearly complete (more than 75% of canal wall covered in debris)

### *5.5 Image analysis*

Three endodontic specialists (ROS, GAS, and BASM) evaluated the images. Each evaluator observed all the images and subsequently assigned a score according to the level of cleanliness. Any evaluation divergences were discussed among the experts, and the final scores were analyzed.

### *5.6 Statistical analysis*

We used the nonparametric Kruskal-Wallis test following Dunn's posttest to analyze the data. The significance level was set at  $p \leq 0.05$ . A Cohen-Kappa test was used to analyze inter- and intra-observer agreement.

## **6 RESULTS**

None of the systems were shown to be capable of eliminating the debris in this region isthmus in all specimens. However, activation of the irrigation solution was more

efficient than simple irrigation, regardless of the form of activation in both the cervical, middle, and apical thirds ( $p < 0.05$ ) (Figure 1). There was no difference in the activation method between the studied groups ( $p > 0.05$ ). In examining the cross-sections by SEM, the apical third region had more debris than the cervical and middle thirds had ( $p < 0.05$ ).

## 7 DISCUSSION

This study analyzed the efficacy of different protocols to clean regions of anatomical complexity of the lower molar mesial roots. According to our observations, shaking the solution three times for 20 seconds was efficient for all protocols, without any significant differences. Corroborating our findings, another report evaluating cleaning efficiency comparing activation with Easy Clean with rotary and reciprocating motion, endo activator, and passive ultrasonic irrigation obtained similar results after activation [12].

Although previous papers report cleaning by irrigation solution activation [4, 13], this is the first report comparing the activation techniques proposed to be standard with the Lentulo spiral. Previously, the Lentulo spiral was recommended only for activation of endodontic cement and EDTA prior to filling [9, 10]. The results of this survey suggest that Easy Clean, Irrisonic, or XP Endo Finisher with the Lentulo improve cleanliness in hard-to-reach regions.

Further studies with different magnifications are warranted to evaluate possible differences in cleaning efficiency. The larger the main canal is, the greater is the cleaning efficiency during activation. The cleaning promoted by ultrasonic activation occurs due to the mechanical action of the irrigating solution being thrown against the canal walls, promoting the effect of cavitation [7]. Therefore, it may be that the mechanical preparation of root canals with files with smaller diameter has reduced may cleaning efficiency, especially in the apical third.

When comparing Lentulo with Easy Clean activation, similar results were expected as both instruments received the same rotary kinematics with the same engine at low RPM. Easy Clean is known to be used in both a rotary motion (between 5 and 20,000 RPM) and reciprocating motion (around 350 RPM). However, previous reports indicate that Easy Clean cleanses more efficiently in a rotary engine compared to reciprocating [12]. Thus, the rotational kinematics was chosen in the present study.

From the many options in the market, the XP Endo Finisher files are also an

excellent option for shaking the irrigation solution. The manufacturer recommends use at 800 RPM and 1N torque. A great advantage of this instrument is its metal alloy that expands with body temperature promoting a mechanical contact of the instrument with the canal walls in addition to stirring the solution. [8]. Although the instrument has promising action and safe results, the XP Endo Finisher file did not obtain superior results after instrumentation with a 25/06 file. Similar to this study, another analysis comparing XP Endo Finisher with passive ultrasonic irrigation also indicated no difference regarding cleaning efficiency in the removal of calcium hydroxide paste [14].

The activation time and the number of cycles chosen in the present study were based on optimal results obtained from methods in other study [12]. In one study, comparing 1, 2, or 3 activations with different devices, three shakes of 20 sec were ideal for removing organic debris from regions difficult to access. More studies to determine if shorter times and fewer cycles, yield better cleaning between different devices should be performed.

The analysis of the present study was performed by root thirds, comparing the cervical, middle and apical thirds. Regardless of which third was studied, the results were similar: there was no difference in cleaning efficiency when comparing the different protocols. There was only difference between the groups that carried out conventional irrigation, without any type of activation when compared to the groups that activated the irrigation solution. Further studies are needed to assess, from a bacterial point of view, whether the efficiency will be the same, especially within the dentinal tubules and regions with anfractuositities.

## **8 CONCLUSION**

In conclusion, the Lentulo spiral can be used as an affordable economical option to activate the irrigating solution in canals prepared with files close to dilation 25/06. A major advantage of this instrument is that it is already widely in use and known by professionals. As the instrument becomes more accessible, the public sector can perform higher-quality cleaning during endodontic procedures.

## **9 ACKNOWLEDGMENTS**

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001. The authors deny any conflicts of interest related to this study.



## 10 CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest.

## 11 ETHICAL APPROVAL

The ethical clearance was approved by local ethics committee in research (22269719.3.0000.5145).

## 12 REFERENCES

1. Sakko, M.; Tjaderhane, I.; Rautemaa-Richardson, R (2016) Microbiology of Root Canal Infections. *Prim Dent J* 5(2): 84-89. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28826437>
2. Paque, F.; Boessler, C.; Zehnder, M (2011) Accumulated hard tissue debris levels in mesial roots of mandibular molars after sequential irrigation steps. *Int Endod J* 44(2):148-153. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21083577>
3. Urban, K. et al (2017) Canal cleanliness using different irrigation activation systems: a SEM evaluation. *Clin Oral Investig* 21(9):2681-2687. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28185091>
4. Caron, G. et al (2010) Effectiveness of different final irrigant activation protocols on smear layer removal in curved canals. *J Endod* 36(8):1361-1366. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20647097>
5. Lee, S. J.; Wu, M. K.; Wesselink, P. R. (2004). The effectiveness of syringe irrigation and ultrasonics to remove debris from simulated irregularities within prepared root canal walls. *Int Endod J* 37(10):672-678. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15347291>
6. Kato, A. S. et al (2016) Investigation of the Efficacy of Passive Ultrasonic Irrigation Versus Irrigation with Reciprocating Activation: An Environmental Scanning Electron Microscopic Study. *J Endod* 42(4):659-663. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26906240>
7. Vivan, R. R. et al (2016) Evaluation of Different Passive Ultrasonic Irrigation Protocols on the Removal of Dentinal Debris from Artificial Grooves. *Braz Dent J* 27(5):568-572. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27982235>
8. Elnaghy, A. M.; Mandorah, A.; Elsaka, S. E. (2017) Effectiveness of XP-endo Finisher, EndoActivator, and File agitation on debris and smear layer removal in

- curved root canals: a comparative study. *Odontology* 105 (2):178-183.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27206916>
9. Oliveira, K. V. et al (2017) Effectiveness of different final irrigation techniques and placement of endodontic sealer into dentinal tubules. *Braz Oral Res* 31: e114.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29267675>
  10. Lopes Hp, Elias Cn, Estrela C, Toniasso S (1996) Mechanical stirring of smear layer removal: Influence of the chelating agent (EDTA). *Braz Endod J* 1:52–5.
  11. Vertucci FJ (1984) Root canal anatomy of the human permanent teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 58(5):589-99.
  12. Duque, J. A. et al (2017) Comparative Effectiveness of New Mechanical Irrigant Agitating Devices for Debris Removal from the Canal and Isthmus of Mesial Roots of Mandibular Molars. *J Endod* 43(2):326-331.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27989584>
  13. Topcuoglu Hs, Düüzgüün S, Ceyhanli Kt, et al (2015) Efficacy of different irrigation techniques in the removal of calcium hydroxide from a simulated internal root resorption cavity. *Int Endod J* 48:309–316.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20647097>
  14. Kfir A1, Blau-Venezia N1, Goldberger T1, Abramovitz I2, Wigler R1 (2018) Efficacy of self-adjusting file, XP-endo finisher and passive ultrasonic irrigation on the removal of calcium hydroxide paste from an artificial standardized groove. *Aust Endod J* 44(1):26-31. doi: 10.1111/aej.12204. Epub 2017 Jun 23.

## *12. CONCLUSÃO*

---



## **12 CONCLUSÃO**

Com os resultados obtidos no presente estudo, pôde-se concluir que não houve diferença significativa entre os protocolos usados, agitando a solução irrigadora nos terços cervical, médio e apical por 3 ciclos de 20 segundos em canais ampliados com instrumento 25/06. Assim sendo, o protocolo utilizando Lentulo para ativação da solução química foi tão eficiente quanto a Easy Clean, ativação ultrassônica e XP Endo Finisher. Portanto, vale ressaltar que a importância da agitação, independente do protocolo clínico a ser usado. Mais estudos precisam ser realizados para avaliar se esta eficiência também acontece do ponto de vista bacteriano.



## *REFERÊNCIAS*

---





## REFERÊNCIAS\*

CARON, G. et al. Effectiveness of different final irrigant activation protocols on smear layer removal in curved canals. *J Endod*, v. 36, n. 8, p. 1361-6, Aug 2010. ISSN 1878-3554 (Electronic) 0099-2399 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20647097> >. Acesso em: 29 Out. 2018.

DUQUE, J. A. et al. Comparative Effectiveness of New Mechanical Irrigant Agitating Devices for Debris Removal from the Canal and Isthmus of Mesial Roots of Mandibular Molars. *J Endod*, v. 43, n. 2, p. 326-331, Feb 2017. ISSN 1878-3554 (Electronic) 0099-2399 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27989584>>. Acesso em: 4 Set. 2018.

ELNAGHY, A. M.; MANDORAH, A.; ELSAKA, S. E. Effectiveness of XP-endo Finisher, EndoActivator, and File agitation on debris and smear layer removal in curved root canals: a comparative study. *Odontology*, v. 105, n. 2, p. 178-183, Apr 2017. ISSN 1618-1255 (Electronic) 1618-1247 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27206916> >. Acesso em: 4 Set. 2018.

FREIRE, L. G. et al. Micro-Computed Tomographic Evaluation of Hard Tissue Debris Removal after Different Irrigation Methods and Its Influence on the Filling of Curved Canals. *J Endod*, v. 41, n. 10, p. 1660-6, Oct 2015. ISSN 1878-3554 (Electronic) 0099-2399 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26093470> >. Acesso em: 4 Set. 2018.

GALVAO, T. et al. Efficacy of three methods for inserting calcium hydroxide-based paste in root canals. *J Clin Exp Dent*, v. 9, n. 6, p. e762-e766, Jun 2017. ISSN 1989-5488 (Print) 1989-5488 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28638552> >. Acesso em: 4 Set. 2018.

HAAPASALO, M. et al. Irrigation in endodontics. *Br Dent J*, v. 216, n. 6, p. 299-303, Mar 2014. ISSN 1476-5373 (Electronic) 0007-0610 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24651335> >. Acesso em: 4 Set. 2018.

KATO, A. S. et al. Investigation of the Efficacy of Passive Ultrasonic Irrigation Versus Irrigation with Reciprocating Activation: An Environmental Scanning Electron Microscopic Study. *J Endod*, v. 42, n. 4, p. 659-63, Apr 2016. ISSN 1878-3554 (Electronic) 0099-2399 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26906240> >. Acesso em: 4 Set. 2018.

LEE, S. J.; WU, M. K.; WESSELINK, P. R. The effectiveness of syringe irrigation and ultrasonics to remove debris from simulated irregularities within prepared root canal walls. *Int Endod J*, v. 37, n. 10, p. 672-8, Oct 2004. ISSN 0143-2885 (Print) 0143-2885 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15347291>>. Acesso em: 4 Set. 2018.

\*De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Disponível em: [https://www.uniube.br/biblioteca/novo/arquivos/2019/manual\\_normatizacao2019.pdf](https://www.uniube.br/biblioteca/novo/arquivos/2019/manual_normatizacao2019.pdf)

LIN, J.; SHEN, Y.; HAAPASALO, M. A comparative study of biofilm removal with hand, rotary nickel-titanium, and self-adjusting file instrumentation using a novel in vitro biofilm model. *J Endod*, v. 39, n. 5, p. 658-63, May 2013. ISSN 1878-3554 (Electronic) 0099-2399 (Linking). Disponível em:

< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23611386> >. Acesso em: 4 Set. 2018.

LOPES, R. M. V. et al. Untouched canal areas and debris accumulation after root canal preparation with rotary and adaptive systems. *Aust Endod J*, Sep 20 2017. ISSN 1747-4477 (Electronic) 1329-1947 (Linking). Disponível em:

< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28940891> >. Acesso em: 4 Set. 2018.

LOPES HP, ELIAS CN, ESTRELA C, TONIASSO S. Mechanical stirring of smear layer removal: Influence of the chelating agent (EDTA). *Brazilian Endodontic Journal*, v. 1, p. 52–5. 1996.

MOHAMMADI, Z. Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. *Int Dent J*, v. 58, n. 6, p. 329-41, Dec 2008. ISSN 0020-6539 (Print) 0020-6539 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19145794> >. Acesso em: 4 Set. 2018.

MOORER, W. R.; WESSELINK, P. R. Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite. *Int Endod J*, v. 15, n. 4, p. 187-96, Oct 1982. ISSN 0143-2885 (Print) 0143-2885 (Linking). Disponível em:

< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6964523> >. Acesso em: 4 Set. 2018.

OLIVEIRA, K. V. et al. Effectiveness of different final irrigation techniques and placement of endodontic sealer into dentinal tubules. *Braz Oral Res*, v. 31, p. e114, Dec 18 2017. ISSN 1807-3107 (Electronic) 1806-8324 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29267675> >. Acesso em: 4 Set. 2018.

PAQUE, F.; BOESSLER, C.; ZEHNDER, M. Accumulated hard tissue debris levels in mesial roots of mandibular molars after sequential irrigation steps. *Int Endod J*, v. 44, n. 2, p. 148-53, Feb 2011. ISSN 1365-2591 (Electronic)

0143-2885 (Linking). Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21083577> >. Acesso em: 4 Set. 2018.

PETERS, O. A.; SCHONENBERGER, K.; LAIB, A. Effects of four Ni-Ti preparation techniques on root canal geometry assessed by micro computed tomography. *Int Endod J*, v. 34, n. 3, p. 221-30, Apr 2001. ISSN 0143-2885 (Print)

0143-2885 (Linking). Disponível em:

< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12193268> >. Acesso em: 4 Set. 2018.

RAMALHO, K. M. et al. In vitro evaluation of methylene blue removal from root canal after Photodynamic Therapy. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, v. 20, p. 248-252, Dec 2017. ISSN 1873-1597 (Electronic)

1572-1000 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29097290> >.

Acesso em: 29 Out. 2018.

SAKKO, M.; TJADERHANE, L.; RAUTEMAA-RICHARDSON, R. Microbiology of Root Canal Infections. *Prim Dent J*, v. 5, n. 2, p. 84-89, May 1 2016. ISSN 2050-1684 (Print) 2050-1684 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28826437> >. Acesso em: 29 Out. 2018.

TOPCUOGLU HS, DÜUZGÜÜN S, CEYHANLI KT, et al. Efficacy of different irrigation techniques in the removal of calcium hydroxide from a simulated internal root resorption cavity. *Int Endod J* 2015;48:309–16. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20647097> >. Acesso em: 29 Out. 2018.

URBAN, K. et al. Canal cleanliness using different irrigation activation systems: a SEM evaluation. *Clin Oral Investig*, v. 21, n. 9, p. 2681-2687, Dec 2017. ISSN 1436-3771 (Electronic) 1432-6981 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28185091> >. Acesso em: 4 Set. 2018.

VERSIANI, M. A. et al. 3D mapping of the irrigated areas of the root canal space using micro-computed tomography. *Clin Oral Investig*, v. 19, n. 4, p. 859-66, May 2015. ISSN 1436-3771 (Electronic) 1432-6981 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25187264> >. Acesso em: 4 Set. 2018.

VIVAN, R. R. et al. Evaluation of Different Passive Ultrasonic Irrigation Protocols on the Removal of Dentinal Debris from Artificial Grooves. *Braz Dent J*, v. 27, n. 5, p. 568-572, Sep-Oct 2016. ISSN 1806-4760 (Electronic) 0103-6440 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27982235> >. Acesso em: 4 Set. 2018.



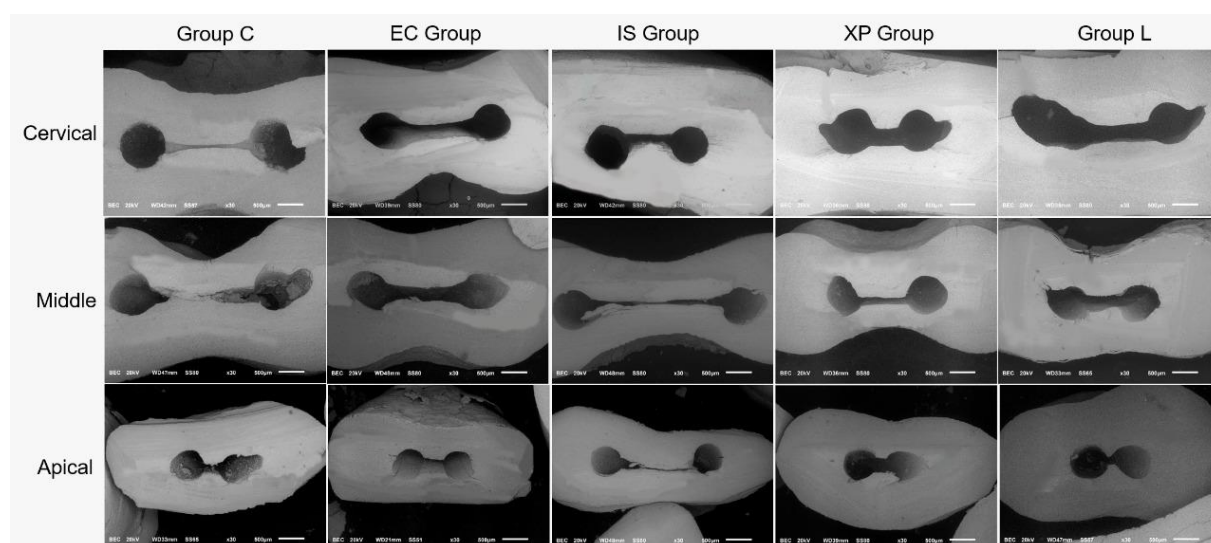
## *APÉNDICES*

---



## APÊNDICES

**Figura 1** - Imagens representativas do canal e istmo na região cervical, média e apical após instrumentação e após a terceira agitação dos diferentes sistemas: irrigação sem ativação (grupo C), Easy Clean (grupo EC), Irrisonic (grupo IS), XP Endo Finisher (Grupo XP) e espiral Lentulo (grupo L).







*ANEXOS*

---



## ANEXOS

*Anexo 1: Comitê de Ética*UNIVERSIDADE DE UBERABA -  
UNIUBE**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Avaliação da eficiência de limpeza de diferentes protocolos de ativação da solução irrigadora utilizando agitação ultrassônica, EasyClean, Lentulo e XP Endo Finisher

**Pesquisador:** RENATA OLIVEIRA SAMUEL

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 22269719.3.0000.5145

**Instituição Proponente:** Sociedade Educacional Uberabense

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 3.660.835

**Recomendações:**

Não há.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

O relator vota pela aprovação do protocolo de pesquisa, salvo melhor juízo deste comitê.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Em reunião realizada no dia 24 de outubro de 2019, o colegiado do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Uberaba votou de acordo com o relator, pela aprovação do projeto. O CEP da Uniube lembra o pesquisador responsável do compromisso com a resolução 466/12 inclusive no que se refere à necessidade do encaminhamento do relatório final do projeto.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1247162.pdf	27/09/2019 19:28:21		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	banco_de_dentes_comite.pdf	27/09/2019 19:27:58	RENATA OLIVEIRA SAMUEL	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_pesquisa_irrigacao.pdf	17/06/2019 16:11:27	RENATA OLIVEIRA SAMUEL	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	dispensa_tcle.pdf	17/06/2019 16:09:48	RENATA OLIVEIRA SAMUEL	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto.pdf	17/06/2019 16:03:29	RENATA OLIVEIRA SAMUEL	Aceito
Cronograma	Cronograma_irrigacao.pdf	04/06/2019 19:39:55	RENATA OLIVEIRA SAMUEL	Aceito

**Situação do Parecer:**

*Anexo 2: Comprovante de submissão do artigo*

**Clinical Oral Investigations**  
**Evaluation of cleaning efficiency of different irrigation activation protocols**  
 --Manuscript Draft--

<b>Manuscript Number:</b>	
<b>Full Title:</b>	Evaluation of cleaning efficiency of different irrigation activation protocols
<b>Article Type:</b>	Original Article
<b>Corresponding Author:</b>	RENATA OLIVEIRA SAMUEL, Ph.D. Universidade de Uberaba BRAZIL
<b>Corresponding Author Secondary Information:</b>	
<b>Corresponding Author's Institution:</b>	Universidade de Uberaba
<b>Corresponding Author's Secondary Institution:</b>	
<b>First Author:</b>	Grazielle Aparecida de Sousa
<b>First Author Secondary Information:</b>	
<b>Order of Authors:</b>	Grazielle Aparecida de Sousa Benito André Silveira Miranzi Tarso Campos de Souza Filho Marcelo Rodrigues Pinto Carlos Roberto Emerenciano Bueno Patrícia Oliveira Souza Wilson Donizette da Silva Júnior Nathália Souza Ferreira RENATA OLIVEIRA SAMUEL, Ph.D.
<b>Order of Authors Secondary Information:</b>	
<b>Funding Information:</b>	CAPES (001) Not applicable