

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 03/04/2022



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Eder Augusto Mastropietro Cavichioli

Fototerapia com luz azul combinada à aplicação de clorexidina 0,12% em um modelo ortodôntico com biofilme cariogênico

Araraquara

2020



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Eder Augusto Mastropietro Cavichioli

Fototerapia com luz azul combinada à aplicação de clorexidina 0,12% em um modelo ortodôntico com biofilme cariogênico

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia de Araraquara, para obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas, na área de Ortodontia

Orientador: Prof. Dr. Luiz Gonzaga Gandini Júnior

Coorientadora: Profa. Dra. Beatriz Helena Dias Panariello

Araraquara

2020

Cavichioli, Eder Augusto Mastropietro

Fototerapia com luz azul combinada à aplicação de clorexidina 0,12% em um modelo ortodôntico com biofilme cariogênico / Eder Augusto Mastropietro Cavichioli.-- Araraquara: [s.n.], 2020

51f.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado em Ciências Odontológicas) –
Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia

Orientador.: Prof. Dr. Luiz Gonzaga Gandini Júnior

Coorientadora: Dra. Beatriz Helena Dias Panariello

1. Ortodontia 2. Fototerapia 3. Streptococcus mutans
I. Título

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marley C. Chiusoli Montagnoli, CRB/5646
Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

Eder Augusto Mastropietro Cavichioli

Fototerapia com luz azul combinada à aplicação de clorexidina 0,12% em um modelo ortodôntico com biofilme cariogênico

Comissão julgadora

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Odontológicas

Presidente e orientador: Prof. Dr. Luiz Gonzaga Gandini Júnior

2º Examinador: Profa. Dra. Fernanda Lourenção Brighenti

3º Examinador: Profa. Dra. Mirian Aiko Nakane Matsumoto

Araraquara, 03 de abril de 2020.

DADOS CURRICULARES

Eder Augusto Mastropietro Cavichioli

NASCIMENTO: 22/05/1987 – Araraquara – São Paulo.

FILIAÇÃO: Duvílio Cavichioli Júnior e Magda Regina Mastropietro Cavichioli.

2006 – 2010: Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Araraquara – Unesp.

2008 – 2010: Membro do Grupo PET-Odonto.

2010 – 2011: Curso de extensão em Ortodontia Preventiva e Interceptativa Extensiva pelo Grupo de Estudos Ortodônticos e Serviços – GESTOS.

2014: Especialização em Ortodontia com realizada no Grupo de Estudos Ortodônticos e Serviços – GESTOS e título obtido pela Faculdade Mozarteum de São Paulo – FAMOSP.

2016: Capacitação em Harmonização Orofacial com ênfase em Toxina Botulínica, Materiais de Preenchimento Orofacial e Fototerapia.

2017: Credenciamento no sistema Invisalign.

2018: Credenciamento no sistema Propel Orthodontics.

2018 – 2020: Cursando Mestrado em Ciências Odontológicas com concentração em Ortodontia na Faculdade de Odontologia de Araraquara – Unesp, com período no exterior como Visiting Scholar na instituição Indiana University School of Dentistry (IUSD).

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais que sempre me deram estrutura e apoio para evoluir.

Aos meus orientadores e coorientadora, por todo suporte necessário. Em especial, para coorientadora *Beatriz Helena Dias Panariello*, que não mediu esforços para que esse trabalho se concretizasse, sempre dando o seu melhor. Sem ela, com certeza, nada disso teria acontecido.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

Cavichioli EAM. Fototerapia com luz azul combinada à aplicação de clorexidina 0,12% em um modelo ortodôntico com biofilme cariogênico [dissertação de mestrado]. Faculdade de Odontologia de Araraquara - Unesp; 2020.

RESUMO

Aparelhos ortodônticos fixos criam áreas de estagnação para biofilmes dentários e dificultam a limpeza dos dentes; portanto, existe o risco de desenvolver lesões incipientes de cárie durante o tratamento ortodôntico. O objetivo deste estudo é verificar se a aplicação de luz azul antes da clorexidina 0,12% no esmalte, bráquete e elástico ortodôntico reduziria ou inibiria os biofilmes maduros de *Streptococcus mutans* e seu crescimento nesses substratos 24 horas após a aplicação dos tratamentos; e se esse tratamento interfere na adesão do bráquete ao esmalte. Biofilmes de *S. mutans* UA159 foram formados por 5 dias sobre amostras compostas por esmalte bovino, bráquete ortodôntico e elástico ortodôntico. Em seguida, as amostras foram tratadas com NaCl 0,89% por 1 minuto (NaCl), luz azul por 12 minutos (BL), clorexidina 0,12% por 1 minuto (CHX) e luz azul por 12 minutos seguido da aplicação de clorexidina 0,12% por 1 minuto (BL+CHX). O acúmulo de biofilme imediatamente após os tratamentos e 24 horas após os tratamentos foram avaliados por unidades formadoras de colônias (CFU) e peso seco (DW). O pH do meio foi medido no quinto dia e sexto dia. A formação de biofilme nas amostras após os tratamentos (Imediato) e no recrescimento (Regrowth) foi avaliada visualmente por microscopia confocal de varredura a laser (CLSM). O teste de adesão (SBS) entre o bráquete e o esmalte foi feito após as amostras serem termocicladas por 500 ciclos (5°C e 55°C), tratadas e termocicladas novamente nas mesmas condições. O teste de adesão (N/mm²) foi feito com uma máquina de teste universal com uma velocidade de 1 mm/min. Após 5 dias de formação do biofilme, o tratamento com BL+CHX reduziu significativamente a viabilidade bacteriana no esmalte em comparação com o NaCl ($p = 0,004$) e BL ($p = 0,014$). Para o bráquete e o elástico, todos os tratamentos resultaram em viabilidade bacteriana semelhante ($p \geq 0,081$). No recrescimento, CHX e BL+CHX reduziram significativamente a viabilidade bacteriana no esmalte em comparação com o NaCl ($p \leq 0,015$) e BL ($p \leq 0,013$). Para o bráquete, BL+CHX reduziu significativamente a viabilidade bacteriana em comparação com NaCl ($p = 0,008$) e BL ($p = 0,009$). Para o elástico, BL+CHX eliminou o biofilme do substrato. CHX e BL+CHX reduziram significativamente a viabilidade bacteriana 24 horas após o tratamento para todos os substratos ($p \leq 0,05$). O pH do meio aumentou significativamente quando as amostras foram tratadas com CHX e BL+CHX ($p \leq 0,001$). Imagens da CLSM mostraram maior quantidade de células mortas nas amostras tratadas com BL+CHX. Não houve diferença no SBS entre os tratamentos ($p \geq 0,932$). A associação entre BL+CHX reduziu o biofilme de *S. mutans* e seu recrescimento em um modelo ortodôntico in vitro e não influenciou na resistência de adesão entre bráquete e esmalte.

Palavras chave: Ortodontia. Fototerapia. *Streptococcus mutans*.

Cavichioli EAM. Blue-light phototherapy combined with 0.12% chlorhexidine on an orthodontic cariogenic biofilm model [dissertação]. Faculdade de Odontologia de Araraquara - Unesp; 2020.

ABSTRACT

Fixed orthodontic appliances create areas of stagnation for dental biofilms and make it difficult to clean the teeth; therefore, there is a risk of developing incipient lesions of caries during the orthodontic treatment. The objective of this study is to verify if the application of blue light prior to 0.12% chlorhexidine (CHX) on enamel, orthodontic brackets and elastics would reduce or inhibit mature *Streptococcus mutans* biofilms and their regrowth on these substrates 24 h after the application of the treatment; and if this treatment would interfere with bracket adhesion to the enamel. Biofilms of *S. mutans* UA159 were formed for 5-days over samples composed by a bovine enamel, an orthodontic bracket and an orthodontic elastic. Then, the samples were treated with 0.89% NaCl for 1 minute (NaCl), blue light for 12 minutes (BL), 0.12% chlorhexidine for 1 minute (CHX) and BL for 12 min + 0.12% CHX for 1 min (BL+CHX). Biofilm accumulation immediately after treatments and 24-h after treatments (regrowth) were evaluated by colonies forming units (CFU) and dry weight (DW). The pH of the spent media was measured on the 5th and 6th day. Biofilm formation on the samples after the treatments and on the regrowth was visually evaluated by confocal laser scanning microscopy (CLSM). Shear bond strength (SBS) between bracket and enamel was evaluated after specimens were thermocycled for 500 cycles (5° and 55 °C), treated and thermocycled again in the same conditions. Shear forces (N/mm²) were applied to the specimens with a universal testing machine at a crosshead speed of 1 mm/min. After 5 days of biofilm formation BL+CHX significantly reduced the bacterial viability on Enamel compared to NaCl (p=0.004) and BL (p=0.014). For Bracket and Elastic, all the treatments resulted in similar bacterial viability (p≥0.081). In the regrowth, CHX and BL+CHX significantly reduced the bacterial viability in the Enamel compared to the NaCl (p≤0.015) and BL (p≤0.013). For Bracket, BL+CHX significantly reduced the bacterial viability compared to NaCl (p=0.008) and BL (p=0.009). For the Elastic, BL+CHX eliminated the biofilms from the substrate. CHX and BL+CHX significantly reduced the bacterial viability 24 h after treatment for all substrates (p≤0.05). The media pH significantly increased when samples were treated with CHX and BL+CHX (p≤0.001). CLSM images showed greater amount of dead cells in the samples treated with BL+CHX. There was no difference on the SBS between the treatments (p≥0.932). The association between BL and CHX reduced *S. mutans* biofilm and its regrowth on an in vitro orthodontic model and did not influence on the bonding strength between bracket and enamel.

Keywords: Orthodontics. Phototherapy. *Streptococcus mutans*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 PROPOSIÇÃO	11
3 PUBLICAÇÕES	12
3.1 Publicação 1	12
3.2 Publicação 2	36
4 CONCLUSÃO	48
REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

Várias doenças em humanos são causadas por biofilmes, incluindo aquelas que ocorrem na boca. Entre elas, a cárie continua sendo uma das doenças orais mais presentes que comprometem a saúde e o bem-estar de crianças e adultos¹. Esta doença resulta de interações complexas entre microrganismos orais específicos, fatores do hospedeiro e dieta, que promovem o estabelecimento de biofilme cariogênico na superfície dos dentes^{2,3}. Os aparelhos ortodônticos criam áreas de estagnação para o biofilme dental e dificultam a limpeza dos dentes. As superfícies irregulares dos bráquetes ortodônticos limitam o mecanismo natural de autolimpeza feitos pela musculatura oral e saliva⁴. A diversidade de dispositivos utilizados em aparelhos ortodônticos pode promover alterações específicas no ambiente bucal, como pH ácido, aumento da adesão de microrganismos e desenvolvimento de biofilme^{5,6}. O aumento da proliferação de bactérias facultativas, incluindo o *Streptococcus mutans*, leva a uma diminuição do pH que inclina o equilíbrio desmineralização-remineralização em direção à perda mineral que, por sua vez, pode levar ao desenvolvimento de lesões de mancha branca e, eventualmente, a cárie com cavitação^{7,8}.

O risco de desenvolver lesões cariosas incipientes durante o tratamento ortodôntico não deve ser subestimado pelos ortodontistas⁹. Com base em registros fotográficos antes e após o tratamento ortodôntico, um estudo mostrou uma alta incidência de lesões de mancha branca em pacientes após o tratamento ortodôntico (72,9%), e a incidência de lesões cavitadas nessa população foi de 2,3%⁹. Sexo, idade e higiene bucal no início do tratamento não foram associados ao desenvolvimento da lesão, mas uma associação significativa foi evidenciada com o aumento da duração do tratamento⁹. O problema do desenvolvimento de lesões de mancha branca é um desafio alarmante e merece atenção significativa de pacientes e profissionais, o que deve resultar em maior ênfase na prevenção eficaz da cárie⁹. Os métodos preventivos de cárie incluem instruções sobre higiene bucal e hábitos alimentares, bem como a prescrição de dentifrícios com flúor (≥ 1000 ppm) e enxaguatórios bucais¹⁰. No entanto, é necessário implementar um programa preventivo de higiene bucal para pacientes ortodônticos, pois a higiene bucal é mais difícil de manter quando há bráquetes, fios e outros acessórios^{11,12}. Nesse contexto, o controle efetivo do biofilme dental por métodos mecânicos sofre algumas limitações em pacientes com aparelhos

ortodônticos fixos^{13,14}. Assim, deve ser considerado o importante papel dos agentes químicos utilizados para melhorar a saúde bucal dos pacientes em tratamento ortodôntico¹⁵.

A clorexidina (CHX) tem sido amplamente utilizada como agente tópico na descontaminação de cáries e mucosa bucal devido seus excelentes resultados contra muitas bactérias orais¹⁶, sendo considerada padrão ouro no controle químico dessas bactérias¹⁷. No entanto, a eficácia da CHX é reduzida contra bactérias organizadas em biofilmes^{18,19}. Isso pode ocorrer devido a interações iônicas entre a matriz de exopolissacarídeos (EPS) carregada negativamente, que compreende a maior parte do volume do biofilme e as moléculas de CHX carregadas positivamente¹⁸. À medida que a CHX catiônica interage com a matriz de EPS aniônica, a carga da matriz torna-se neutra, reduzindo as forças de repulsão entre as partes carregadas e permitindo maiores aproximações entre as cadeias poliméricas, o que leva a redução do volume ocupado pelo biofilme¹⁸. Uma matriz mais compacta pode inibir a difusão de solutos no biofilme, incluindo a própria CHX¹⁸.

A terapia antimicrobiana fotodinâmica tem sido indicada como uma alternativa às terapias convencionais para o tratamento de doenças bucais de origem microbiana. Essa terapia é baseada no uso de fotosensibilizadores que iniciam uma resposta fotoquímica quando expostos à luz de um comprimento de onda específico. Em um estudo que investigou os efeitos antimicrobianos das luzes azul (400-440 nm) e vermelha (570-690 nm) em combinação com fotossensibilizadores curcumina e azul de toluidina em *S. mutans*, observou que as luzes em combinação com os fotossensibilizadores promoveram a inativação das células planctônicas e *S. mutans* em tempos de iluminação muito curtos²⁰. No entanto, a principal limitação da terapia fotodinâmica antimicrobiana é o desafio do fotossensibilizador de penetrar na profundidade do biofilme²⁰. Estudos que avaliam a eficácia da terapia fotodinâmica antimicrobiana em *S. mutans* sugerem que a terapia é eficaz e promove a erradicação dos microrganismos em sua forma planctônica²¹; no entanto, a erradicação de microrganismos organizados em biofilmes ainda não foi observada. Provavelmente, isso se deve ao efeito protetor da matriz de EPS, que dificulta a ação do agente fotossensibilizador. Assim, a fototerapia com luz azul sem a presença de um fotossensibilizador parece ser uma alternativa promissora à terapia fotodinâmica antimicrobiana para superar esse problema²². A fototerapia sem fotossensibilizadores exógenos demonstrou que *S. mutans* perderam a capacidade de se reorganizar em

biofilme após exposição à luz azul (68-680 J/cm²; 400 a 500 nm)²³. Além disso, foi demonstrado que a aplicação de luz azul (72 J/cm²; 400-440 nm) duas vezes ao dia impedia o desenvolvimento a matriz de EPS nos biofilmes de *S. mutans*²². Assim, pode-se hipotetizar que a associação da luz azul, que reduz significativamente a matriz de EPS do biofilme de *S. mutans*, possa facilitar a penetração da CHX.

Uma força de adesão confiável entre bráquete e dente é essencial para o sucesso do tratamento ortodôntico²⁴. Reynolds²⁵ descobriu que uma força de adesão entre 5,9 e 7,8 Mpa é adequada para manter a adesão do bráquete ao dente. A queda dos bráquetes ortodônticos pode frustrar o clínico, afetar significativamente a eficiência do tratamento e ter um impacto financeiro no tratamento²⁶ e, portanto, devemos fazer o possível para evitá-lo. Os efeitos das aplicações de CHX na adesão dos bráquetes aos dentes foi avaliado anteriormente^{27,28}, mostrando que a CHX não interfere na adesão. Por outro lado, foi demonstrado que a aplicação de Laser de Diodo (445 nm) por 15 segundos na base do bráquete reduziu significativamente os valores de SBS²⁹. No entanto, até onde sabemos, nenhum estudo avaliou os efeitos da luz azul combinada com clorexidina no SBS dos bráquetes ortodônticos.

A prática clínica requer uma alternativa fácil, rápida e eficaz para reduzir o biofilme de *S. mutans* em pacientes em tratamento ortodôntico com aparelhos fixos. A aplicação de luz azul antes da aplicação de clorexidina 0,12% na redução do biofilme de *S. mutans* nos dentes, bráquetes ortodônticos e elásticos ainda não foi estudada. Portanto, o objetivo deste estudo é avaliar o acúmulo de biofilme de *S. mutans* no esmalte, bráquete e elástico para verificar se a aplicação de luz azul antes da clorexidina 0,12% reduz ou inibe a formação do biofilme e seu recrescimento nesses substratos após 24 horas. Além disso, objetivamos analisar se a aplicação desses tratamentos interferiria na adesão do bráquete ao esmalte. Os resultados deste estudo podem ajudar os ortodontistas a prevenir lesões de cárie em seus pacientes, principalmente naqueles com maior risco de desenvolvimento de cárie. Além disso, os resultados obtidos com a aplicação da luz azul associada à clorexidina 0,12% nos bráquetes e elásticos podem representar uma alternativa promissora, prática e rápida de ser realizada no consultório odontológico para redução de *S. mutans* nos pacientes durante o tratamento ortodôntico.

4 CONCLUSÃO

Como o tratamento ortodôntico é uma fase crítica para alguns pacientes com dificuldade no controle da higiene bucal e considerando os bons resultados imediatos e prolongados obtidos neste estudo, o tratamento com BL+CHX pode ser considerado uma alternativa aos métodos tradicionais, a fim de reduzir o risco de manchas brancas devido a desmineralização do esmalte. No entanto, evidências derivadas de observações clínicas são necessárias para confirmar nossos achados. Em conclusão, a associação entre luz azul e clorexidina reduziu o biofilme de *Streptococcus mutans* e seu recrescimento em um modelo ortodôntico in vitro e não influenciou na força de adesão entre bráquete e esmalte.

REFERÊNCIAS*

1. Marcenes W, Kassebaum NJ, Bernabé E, Flaxman A, Naghavi M, Lopez A et al. Global burden of oral conditions in 1990-2010: a systematic analysis. *J Dent Res*. 2013; 92(7): 592–7.
2. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet*. 2007; 369(9555): 51-9.
3. Russell RR. How has genomics altered our view of caries microbiology? *Caries Res*. 2008; 42(5): 319-27.
4. Mount GJ, Hume WR. Preservation and restoration of tooth structure, 2nd ed. Brisbane: Knowledge Books and Software; 2005. p. 61 – 82.
5. Menzaghi N, Saletta M, Garattini G, Brambilla E, Strohmenger I. Changes in the yeast oral flora in patients in orthodontic treatment. *Prev.Assist. Dent..* 1991; 17(4): 26-30.
6. Rosenbloom RG, Tinanoff N. Salivary *Streptococcus mutans* levels in patients before, during, and after orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1991; 100(1): 35-7.
7. Featherstone JD. The caries balance: contributing factors and early detection. *J Calif Dent Assoc*. 2003; 31(2): 129-33.
8. Featherstone JD, Domejean-Orliaguet S, Jenson L, Wolff M, Young DA. Caries risk assessment in practice for age 6 through adult. *J Calif Dent Assoc* 2007; 35(10): 703-13.
9. Richter AM, Arruda AO, Peters MC, Sohn W. Incidence of caries lesions among patients treated with comprehensive orthodontics. *American Journal of Orthodontic and Dentofacial Orthopedics*. 2011; 139(5): 657-64.
10. Panhóca VH, Esteban Florez FL, Corrêa TQ, Paolillo FR, de Souza CW, Bagnato VS. Oral decontamination of orthodontic patients using photodynamic therapy mediated by blue-light irradiation and curcumin associated with sodium dodecyl sulfate. *Photomed Laser Surg*. 2016; 34(9): 411-7.
11. Derks A, Frencken J, Bronkhorst E, Kuijpers-Jagtman AM, Katsaros C. Effect of chlorhexidine varnish application on *mutans streptococci* counts in orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2008; 133(3): 435–9.
12. Opsahl Vital S, Haignere-Rubinstein C, Lasfargues JJ, Chaussain C. Caries risk and orthodontic treatment. *Int Orthod*. 2010; 8(1): 28–45.
13. Goh HH. Interspace/interdental brushes for oral hygiene in orthodontic patients with fixed appliances. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007; 18(3): CD005410.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

14. Costa MR, Silva VC, Miqui MN, Colombo AP, Cirelli JA. Effects of ultrasonic, electric, and manual toothbrushes on subgingival plaque composition in orthodontically banded molars. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2010; 137(2):229–35.
15. Pretti H, Barbosa GL, Lages EM, Gala-García A, Magalhães CS, Moreira AN. Effect of chlorhexidine varnish on gingival growth in orthodontic patients: a randomized prospective split-mouth study. *Dental Press J Orthod.* 2015; 20(5): 66-71.
16. James P, Worthington HV, Parnell C, Harding M, Lamont T, Cheung A, Whelton H, Riley P. Chlorhexidine mouthrinse as an adjunctive treatment for gingival health. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017; 3: CD008676.
17. Mathur S, Mathur T, Srivastava R, Khatri R. Chlorhexidine: The gold standard in chemical plaque control. *Natl J of Physiol Pharm Pharmacol.* 2011; 1(2): 45-50.
18. Hope CK, Wilson M. Analysis of the effects of chlorhexidine on oral biofilm vitality and structure based on viability profiling and an indicator of membrane integrity. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004; 48(5): 1461-8.
19. Bonez PC, Dos Santos Alves CF, Dalmolin TV, Agertt VA, Mizdal CR, Flores V da C et al. . Chlorhexidine activity against bacterial biofilms. *Am J Infect Control.* 2013; 41(12): e119-22.
20. Paschoal MA, Lin M, Santos-Pinto L, Duarte S. Photodynamic antimicrobial chemotherapy on *Streptococcus mutans* using curcumin and toluidine blue activated by a novel LED device. *Lasers Med Sci.* 2015; 30(2): 885-90.
21. Costa AC, Chibebe Junior J, Pereira CA, Machado AK, Beltrame Junior M, Junqueira JC et al.. Susceptibility of planktonic cultures of *Streptococcus mutans* to photodynamic therapy with a light-emitting diode. *Braz Oral Res.* 2010; 24(4): 413-8.
22. de Sousa DL, Araujo RL, Zanin IC, Klein MI, Janal MN, Duarte S. Effect of twice-daily blue light treatment on matrix-rich biofilm development. *Plos One.* 2015; 10(7): e0131941.
23. Chebath-Taub D, Steinberg D, Featherstone JD, Feuerstein O. Influence of blue light on *Streptococcus mutans* re-organization in biofilm. *J Photochem Photobiol B.* 2012; 116: 75–8.
24. Mandall NA, Millett DT, Mattick CR, Hickman HVW, Macfarlane TV. Orthodontic adhesives: a systematic review. *J Orthod.* 2002; 29(3): 205–10.
25. Reynolds IR. A review of direct orthodontic bonding. *Br J Orthod.* 1975; 2(3): 171–8.
26. Northrup RG, Berzins DW, Bradley TG, Schuckit W. Shear bond strength comparison between two orthodontic adhesives and self-ligating and conventional brackets. *Angle Orthod.* 2007; 77(4): 701-6.

27. Bishara SE, Damon PL, Olsen ME, Jakobsen JR. Effect of applying chlorhexidine antibacterial agent on the shear bond strength of orthodontic brackets. *Angle Orthod.* 1996; 66(4):313–6.
28. Catalbas B, Ercan E, Dalli M, Gelgor IE, Erdemir A. Does chlorhexidine affect the shear bond strengths of orthodontic brackets? *Journal of Dental Sciences.* 2011; 6(2): 76-81.
29. Stein S, Hellak A, Schauseil M, Korbmacher-Steiner H, Braun A. Effects of 445-nm diode laser-assisted debonding of self-ligating ceramic brackets on shear bond strength. *Photomed Laser Surg.* 2018; 36(1): 31-6.