

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o
texto completo desta tese será
disponibilizado somente a partir de
05/09/2027.



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



Paula Cristina Henriques da Silva

**Soluções antimicrobianas para alinhadores ortodônticos: uma análise
microbiológica, colorimétrica e mecânica**

Araraquara

2025



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



Paula Cristina Henriques da Silva

**Soluções antimicrobianas para alinhadores ortodônticos: uma análise
microbiológica, colorimétrica e mecânica**

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

Orientador: Prof. Dr. Jonas Bianchi

Araraquara

2025

Silva, Paula Cristina Henriques da

Soluções antimicrobianas para alinhadores ortodônticos: uma análise microbiológica, colorimétrica e mecânica [recurso eletrônico] /

Paula Cristina Henriques da Silva. — Araraquara, 2025.

39 p. ; PDF ; 1.114 KB : il. color., fotos color.

Recurso educacional derivado de tese em Doutorado - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araraquara.

Orientado por Prof. Dr. Jonas Bianchi.

1. Aparelhos ortodônticos removíveis 2. Sobrevida celular 3. Agentes de limpeza 4. Resistência a tração

Paula Cristina Henriques da Silva

**Soluções antimicrobianas para alinhadores ortodônticos: uma análise
microbiológica, colorimétrica e mecânica**

Comissão julgadora

Tese para obtenção do grau de Doutora em Ciências Odontológicas

Presidente e orientador: Prof. Dr. Jonas Bianchi

2º Examinador: Prof. Dr. Luiz Gonzaga Gandini Júnior

3º Examinador: Prof. Dr. João Roberto Gonçalves

4º Examinador: Profa. Dra. Adriana Souza de Jesus

5º Examinador: Profa. Dra. Julianna de Oliveira Lima Parizotto

Araraquara, 05 de setembro de 2025.

DADOS CURRICULARES

Paula Cristina Henriques da Silva

NASCIMENTO: 22 de janeiro de 1992, na cidade de Belém-Pa.

FILIAÇÃO: Ana Cristina Henriques da Silva e Paulo Roberto Carvalho da Silva.

2011/2017 – Graduação em Odontologia na Universidade Federal do Pará – UFPA.

2014/2015 – Graduação sanduíche na Western Kentucky University – WKU - Estados Unidos.

2018/2021 – Especialização em Ortodontia no Grupo de Estudos Ortodônticos e Serviços – GESTOS.

2019/2021 – Mestrado em Ciências Odontológicas, área de Ortodontia, pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP.

2022/2025 – Doutorado em Ciências Odontológicas, área de Ortodontia, pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP.

Para cada sorriso que escondia inseguranças, dedico esta pesquisa. Que a ciência continue sendo ponte entre a dor silenciosa e a transformação visível.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me sustentar em todos os momentos, principalmente nos dias mais difíceis. Pela força que me fez seguir em frente, pela fé que me manteve firme e pela graça que me trouxe até aqui.

Aos meus pais Ana Cristina e Paulo Roberto, pelo amor incondicional, apoio constante e pelos valores que me ensinaram. Por acreditarem em mim mais do que eu mesma, e por estarem ao meu lado em cada passo dessa caminhada.

À minha irmã Thamires, que é muito mais do que irmã: é minha melhor amiga, confidente e parceira em todos os momentos. Obrigada por estar ao meu lado com tanto amor, leveza e apoio sincero em cada etapa desse caminho.

À minha avó Zuleide, exemplo de força, carinho e sabedoria. Sua presença e orações foram abrigo e inspiração ao longo de toda a minha trajetória.

À minha família, tios, primos, por serem a minha rede de apoio em qualquer situação.

Ao meu orientador Jonas Bianchi, pelo conhecimento compartilhado, pela paciência e por confiar no meu trabalho. Sua orientação foi fundamental para meu crescimento acadêmico e pessoal.

Aos professores da Unesp, que contribuíram de forma significativa para minha formação. Cada ensinamento deixará uma marca importante na minha vida profissional.

Aos meus amigos do mestrado e doutorado, pela troca de experiências, pelo companheirismo e pelas risadas que tornaram a jornada mais leve.

Aos amigos que fiz em Araraquara, por dividirem comigo a caminhada, em especial à Ingra, Nicole, Jane e dona Nívia, que sempre estiveram ao meu lado, dando apoio e suporte quando precisei, obrigada por serem amigas atenciosas, prestativas e acolhedoras, vocês tornaram-se parte da minha família aqui.

Aos meus amigos de Belém, que mesmo a distância, sempre estiveram presentes celebrando as conquistas e dividindo os momentos difíceis.

A cada pessoa que cruzou meu caminho durante esses anos e me ofereceu apoio, meu mais sincero obrigado.

À CAPES:

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

“Eu sou de lá, onde o Brasil verdeja a alma e o rio é mar
Eu sou de lá, terra morena que amo tanto, meu Pará”
Pe. Fábio de Melo*

*Pe. Fábio José de Melo Silva. Eu sou de lá. Lançamento independente; 2012.

Silva PCH. Soluções antimicrobianas para alinhadores ortodônticos: uma análise microbiológica, colorimétrica e mecânica [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2025.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de soluções antimicrobianas na viabilidade celular, a redução na contagem de colônias bacterianas de *Streptococcus mutans*, as alterações de cor e nas propriedades mecânicas dos alinhadores transparentes, induzidas por diferentes agentes químicos. A amostra foi composta por alinhadores Invisalign® obtidos de uma sequência de tratamento para má oclusão de uma arcada superior. Foram confeccionados corpos de provas com as faces vestibulares dos incisivos centrais superiores esquerdos e direitos, e as faces vestibulares de caninos à segundos molares superiores direitos para realização dos ensaios colorimétricos (n=35), microbiológicos (n=21) e mecânicos (n=60), respectivamente. Os corpos de prova foram então divididos em 7 grupos: hipoclorito de sódio 0,5% (HIP), bicarbonato de sódio (BIC), detergente neutro (DET), digluconato de clorexidina 0,12% (CX), vinagre branco diluído em água (VIN), tabletes efervescentes Corega tabs® (COR) e água destilada (AD) (grupo controle). O controle microbiológico foi avaliado pela análise da proliferação celular (UFC/ml) e do metabolismo celular (teste AlamarBlue®), o espectrofotômetro VITA EasyShade® Advance foi utilizado para análise de alterações de cor, e a análise mecânica foi realizada através de testes de tração que avaliaram a deformação elástica e módulo de Young. A análise estatística foi realizada por meio de múltiplos testes de Mann-Whitney. Todas as soluções reduziram significativamente o biofilme de *S. mutans* (UFC/mL), exceto o grupo controle. A análise AlamarBlue mostrou uma redução significativa na viabilidade celular, exceto para a solução BIC (p=0,183). Após 7 dias, HIP mostrou variação de cor significativa em comparação com todas as outras soluções, exceto para o grupo controle (p=0,095). Após 14 dias, BIC e CX mostraram variação de cor significativamente maior do que o grupo controle (p=0,007). DET mostrou uma diferença estatisticamente significativa em comparação com VIN e COR (p=0,015). Também foi possível observar diferenças estatisticamente significativas com relação à rigidez dos materiais embebidos nas soluções AD 14 dias (p=0,158), BIC 7 dias (p=0,420), DET 7 dias (p=0,294), VIN 14 dias (p=0,158) e COR 14 dias (p=0,408) quando comparados ao grupo sem imersão. Conclui-se que as soluções desinfetantes HIP, DET, CX, VIN e COR reduzem significativamente as colônias bacterianas de *S. mutans* e o metabolismo celular. Após algum tempo, HIP, BIC, CX e COR afetam significativamente a cor do material. A rigidez dos materiais foi significativamente influenciada pela imersão em diferentes soluções ao longo do tempo. As soluções de BIC e DET por 7 dias, e VIN e COR por 14 dias, apresentaram menores valores de módulo de Young em comparação ao grupo sem imersão, indicando maior degradação mecânica do material. Não houve diferença estatisticamente significativa na deformação máxima do material para nenhuma das soluções.

Palavras – chave: Aparelhos ortodônticos removíveis;
Sobrevivência celular; Agentes de limpeza; Resistência a tração.

Silva PCH. Cleaning solutions for orthodontic clear aligners: a microbiological, colorimetric and mechanical analysis [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2025.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of antimicrobial solutions on cell viability, reduction in *Streptococcus mutans* bacterial colony counts, color changes, and mechanical properties of clear aligners induced by different chemical agents. The sample consisted of Invisalign® aligners obtained from a treatment sequence for malocclusion in an upper arch. Test specimens were prepared from the buccal surfaces of the upper left and right central incisors, and the buccal surfaces of upper right canines to second molars for colorimetric (n=35), microbiological (n=21), and mechanical (n=60) testing, respectively. The specimens were then divided into 7 groups: 0.5% sodium hypochlorite (HYP), sodium bicarbonate (BIC), neutral detergent (DET), 0.12% chlorhexidine digluconate (CX), white vinegar diluted in water (VIN), Corega tabs® effervescent tablets (COR), and distilled water (DW) (control group). Microbiological control was assessed by analyzing cell proliferation (CFU/ml) and cellular metabolism (AlamarBlue® test). The VITA EasyShade® Advance spectrophotometer was used to analyze color changes, and mechanical analysis was performed through tensile tests that evaluated elastic deformation and Young's modulus. Statistical analysis was performed using multiple Mann-Whitney tests. All solutions significantly reduced *S. mutans* biofilm (CFU/mL), except for the control group. The AlamarBlue analysis showed a significant reduction in cell viability, except for the BIC solution (p=0.183). After 7 days, HYP showed significant color variation compared to all other solutions except for the control group (p=0.095). After 14 days, BIC and CX showed significantly greater color variation than the control group (p=0.007). DET showed a statistically significant difference compared to VIN and COR (p=0.015). It was also possible to observe statistically significant differences regarding the stiffness of the materials soaked in the DW 14 days (p=0.158), BIC 7 days (p=0.420), DET 7 days (p=0.294), VIN 14 days (p=0.158), and COR 14 days (p=0.408) solutions when compared to the group without immersion. It is concluded that the disinfectant solutions HYP, DET, CX, VIN, and COR significantly reduce *S. mutans* bacterial colonies and cellular metabolism. Over time, HYP, BIC, CX, and COR significantly affect material color. Material stiffness was significantly influenced by immersion in different solutions over time. The BIC and DET solutions for 7 days, and VIN and COR for 14 days, showed lower Young's modulus values compared to the group without immersion, indicating greater mechanical degradation of the material. There was no statistically significant difference in maximum material deformation for any of the solutions.

Keywords: Removable orthodontic appliances; Cell survival; Cleaning agents; Tensile strength.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 PROPOSIÇÃO.....	12
3 REVISÃO DA LITERATURA	13
3.1 Soluções de limpeza utilizadas em alinhadores ortodônticos	13
3.2 Efeitos microbiológicos e físico-químicos dos métodos de limpeza....	14
3.3 Comparação entre métodos físico e químicos para a limpeza de alinhadores	15
3.4 Alterações mecânicas e estruturais dos alinhadores após diferentes métodos de higienização	15
4 MATERIAL E MÉTODO	17
4.1 Capacidade de redução de biofilme - contagem de unidades formadoras de colônias (UFC/mL)	18
4.2 Avaliação do metabolismo celular usando o teste AlamarBlue®.....	19
4.3 Análise colorimétrica.....	20
4.4 Análise mecânica.....	21
5 RESULTADO	25
5.1 Redução do biofilme.....	25
5.2 Metabolismo celular.....	26
5.3 Análise colorimétrica.....	26
5.4 Análise mecânica.....	28
6 DISCUSSÃO	31
7 CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS	36

ANEXO39

1 INTRODUÇÃO

Devido à crescente demanda por tratamentos ortodônticos mais estéticos e confortáveis, os alinhadores transparentes se consolidaram como uma alternativa altamente atrativa em relação aos aparelhos fixos convencionais¹. Além da vantagem estética, já está bem estabelecido que parâmetros periodontais — como índice de placa, índice gengival, profundidade de sondagem e sangramento à sondagem —, bem como indicadores microbiológicos relacionados à formação de biofilme e ao risco de desenvolvimento de lesões de manchas brancas, apresentam valores até dez vezes menores em pacientes tratados com alinhadores quando comparados àqueles que utilizam aparelhos fixos^{2,3}.

Apesar desses benefícios, a formação de biofilme é inevitável, não apenas nas superfícies dentárias, mas também nos próprios dispositivos ortodônticos, incluindo os removíveis⁴. No caso dos alinhadores, o acúmulo de biofilme pode ocorrer em diferentes áreas do dispositivo, favorecendo o comprometimento estético devido a alterações de cor, bem como o surgimento de odores desagradáveis. Tais fatores podem impactar negativamente a adesão do paciente ao tratamento, considerando que a principal motivação para a escolha dos alinhadores está relacionada justamente à estética e ao conforto⁵.

Para o controle do biofilme, diversas substâncias antimicrobianas vêm sendo utilizadas na odontologia, com destaque para hipoclorito de sódio a 1%, bicarbonato de sódio a 0,5% e gluconato de clorexidina a 2%. Estes agentes apresentam eficácia comprovada na desinfecção de dispositivos removíveis, como próteses e aparelhos ortodônticos, devido à sua ação na redução da carga microbiana⁶⁻⁸. No entanto, estudos relatam que tais soluções podem provocar alterações indesejáveis, como manchas e mudanças nas propriedades dos materiais⁶.

Paralelamente, diversas soluções desinfetantes comerciais — como Periogard®, Cepacol®, Ortoform®, NitrAdine® e Kukis® — também têm sido investigadas quanto à sua capacidade de controlar a microbiota e reduzir a formação de biofilme em alinhadores e dispositivos removíveis⁹⁻¹³. Todavia, apesar da disponibilidade desses produtos, muitos pacientes buscam alternativas de higienização de menor custo, recorrendo a soluções caseiras, como vinagre, bicarbonato de sódio e detergente neutro.

Diante desse cenário, torna-se relevante avaliar não apenas a eficácia antimicrobiana dessas substâncias alternativas, mas também seus possíveis efeitos sobre características fundamentais dos alinhadores, como a estabilidade de cor e as propriedades mecânicas do material. Esse equilíbrio entre controle microbiológico, preservação estética e manutenção das propriedades funcionais do dispositivo é essencial para garantir a longevidade do tratamento ortodôntico e a satisfação do paciente.

Apesar da ampla utilização de soluções antimicrobianas convencionais e comerciais, ainda existem lacunas quanto ao impacto de agentes alternativos e de baixo custo, frequentemente empregados pelos próprios pacientes, sobre os alinhadores ortodônticos. A literatura carece de evidências consistentes acerca da eficácia antimicrobiana dessas substâncias e, principalmente, de seus efeitos sobre aspectos estéticos e funcionais do material, como a manutenção da cor e das propriedades mecânicas.

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados, a hipótese nula foi aceita, sendo possível afirmar que as soluções caseiras e de baixo custo representam alternativas viáveis para higienização de alinhadores, aliando eficácia antimicrobiana à manutenção das propriedades do material.

As soluções desinfetantes de hipoclorito de sódio 0,5% (HIP), detergente neutro (DET), clorexidina 0,12% (CX) (Periogard®), vinagre (VIN) e Corega Tabs® (COR) reduzem significativamente as colônias bacterianas de *S. mutans* e o metabolismo celular. As soluções de hipoclorito de sódio 0,5%, bicarbonato de sódio, clorexidina 0,12% (Periogard®) e Corega Tabs® podem afetar significativamente a cor do material.

A rigidez dos materiais foi significativamente influenciada pela imersão em diferentes soluções ao longo do tempo. Todas as soluções testadas (HIP, DET, CX, BIC, VIN e COR) apresentaram alterações significativas quando comparadas ao grupo controle (AD) ou ao grupo sem imersão. Porém, clinicamente, estas alterações não parecem ser relevantes, já que não foram observadas alterações significativas quanto a deformação elástica do material.

A higienização adequada dos alinhadores ortodônticos é fundamental para o sucesso do tratamento, sendo essencial tanto na preservação das propriedades físicas do material quanto na manutenção da saúde bucal do paciente. Assim, a escolha do método de higienização deve ser individualizada, levando em conta as condições clínicas, a adesão do paciente e a orientação profissional adequada. Pesquisas adicionais, incluindo ensaios clínicos e avaliações de longo prazo, são necessárias para confirmar esses resultados e refletir melhor as condições da vida real.

REFERÊNCIAS*

1. Tamer İ, Öztaş E, Marşan G. Orthodontic treatment with clear aligners and the scientific reality behind their marketing: a literature review. *Turk J Orthod.* 2019; 32(4): 241-6.
2. Karkhanechia M, Chowb D, Sipkin J, Shermand D, Boylane RJ, Normanf RG, *et al.* Periodontal status of adult patients treated with fixed buccal appliances and removable aligners over one year of active orthodontic therapy. *Angle Orthod.* 2013; 83(1): 146–51.
3. Llera-Romero AS, Adobes-Martín M, Iranzo-Cortés JE, Montiel Company JM, Garcovich D. Periodontal health status, oral microbiome, white-spot lesions and oral health related to quality of life-clear aligners versus fixed appliances: a systematic review, meta-analysis and meta-regression. *Korean J Orthod* 2023; 53(6): 374-92.
4. Tektas S, Thurnheer T, Eliades T, Attin T, Karygianni L. Initial bacterial adhesion and biofilm formation on aligner materials. *Antibiotics (Basel).* 2020; 9(12): 908.
5. Charavet C, Gourdain Z, Graveline L, Lupi L. Cleaning and disinfection protocols for clear orthodontic aligners: a systematic review. *Healthcare (Basel).* 2022; 10(2): 340.
6. Fotovat F, Abbasi S, Nikanjam S, Alafchi B, Baghiat M. Effects of various disinfectants on surface roughness and color stability of thermoset and 3D-printed acrylic resin. *Eur J Transl Myol.* 2024; 34(1): 11701.
7. Semenoff TDV, Semenoff-Segundo A, Borges AH, Pedro FML, Caporossi LS, Rosa-Júnior A. Antimicrobial activity of 2% chlorhexidine gluconate, 1% sodium hypochlorite and paramonochlorophenol combined with furacin against *S. aureus*, *C. albicans*, *E. faecalis* and *P. aureginosa*. *Rev Odonto ciênc* 2010; 25(2): 174–7.
8. Valentini-Mioso F, Maske TT, Cenci MS, Boscato N, Pereira-Cenci T. Chemical hygiene protocols for complete dentures: a crossover randomized clinical trial. *J Prosthet Dent.* 2019; 121(1): 83-89.
9. Charavet C, Graveline L, Gourdain Z, Lupi L. What are the cleaning and disinfection methods for acrylic orthodontic removable appliance? A systematic review. *Children (Basel).* 2021; 8(11): 967
10. Fathi H, Martiny H, Jost-Brinkmann PG. Efficacy of cleaning tablets for removable orthodontic appliances. An in vivo pilot study. *J Orofac Orthop* 2015; 76:143-51.

* 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>

11. Lessa FC, Enoki C, Ito IY, Faria G, Matsumoto MA, Nelson-Filho P. In-vivo evaluation of the bacterial contamination and disinfection of acrylic baseplates of removable orthodontic appliances. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2007; 131(6): 705.e11-7.
12. Peixoto ITA, Enoki C, Ito IY, Matsumoto MAN, Nelson-Filho P. Evaluation of home disinfection protocols for acrylic baseplates of removable orthodontic appliances: A randomized clinical investigation. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2011; 140(1): 51-7.
13. Lima EM, Moura JS, Del Bel Cury AA, Garcia RC, Cury JA. Effect of enzymatic and NaOCl treatments on acrylic roughness and on biofilm accumulation. *J Oral Rehabil.* 2006; 33(5): 356-62.
14. Cardoso PC, Espinosa DG, Mecenas P, Flores-Mir C, Normando D. Pain level between clear aligners and fixed appliances: a systematic review. *Prog Orthod.* 2020; 21(1): 3.
15. Li Q, Du Y, Yang K. Comparison of pain intensity and impacts on oral health-related quality of life between orthodontic patients treated with clear aligners and fixed appliances: a systematic review and meta-analysis. *BMC Oral Health.* 2023; 23(1): 920.
16. Arndt-Fink A, Jost-Brinkmann PG. Investigation of the cleaning performance of commercial orthodontic cleaning tablets regarding biofilm removal on PMMA test specimens: an ex vivo study. *J Orofac Orthop.* 2025; 86(2): 89-97.
17. Iliadi A, Enzler V, Polychronis G, Peltomaki T, Zinelis S, Eliades T. Effect of cleansers on the composition and mechanical properties of orthodontic aligners in vitro. *Prog Orthod.* 2022; 23(1): 54.
18. Shpack N, Greenstein RB, Gazit D, Sarig R, Vardimon AD. Efficacy of three hygienic protocols in reducing biofilm adherence to removable thermoplastic appliance. *Angle Orthod.* 2014; 84(1): 161-70.
19. Silva PCH, Ribas BR, Faria TV, Jorge JH, Gandini Jr LG, Santos-Pinto A, et al. Cleaning solutions for orthodontic clear aligners: a microbiological and colorimetric analysis. *Dental Press J. of Orthod.* 2025; 30(2).
20. Akgün FA, Şenışık NE, Çetin ES. Evaluation of the efficacy of different cleaning methods for orthodontic thermoplastic retainers in terms of bacterial colonization. *Turk J Orthod.* 2019; 32(4): 219-28.
21. Kiesow A, Sarembe S, Pizzey RL, Axe AS, Bradshaw DJ. Material compatibility and antimicrobial activity of consumer products commonly used to clean dentures. *J Prosthet Dent.* 2016; 115(2): 189-98.e8.
22. Ihssen BA, Willmann JH, Nimer A, Drescher D. Effect of in vitro aging by water immersion and thermocycling on the mechanical properties of PETG aligner material. *J Orofac Orthop.* 2019; 80(6): 292-303.

23. Daniele V, Macera L, Taglieri G, Spera L, Marzo G, Quinzi V. Color stability, chemico-physical and optical features of the most common PETG and PU based orthodontic aligners for clear aligner therapy. *Polymers (Basel)*. 2021; 14(1): 14
24. Liu CL, Sun WT, Liao W, Lu WX, Li QW, Jeong Y, et al. Colour stabilities of three types of orthodontic clear aligners exposed to staining agents. *Int J Oral Sci*. 2016; 8(4): 246-53.
25. Smith T, Guild J. The C.I.E. colorimetric standards and their use. *Opt Soc* 1932; 33(3): 73–134.
26. Johnston WM. Color measurement in dentistry. *J Dent*. 2009; 37 Suppl 1:e2-6.
27. Cruz PC, Andrade IM, Peracini A, Souza-Gugelmin MCM, Silva-Lovato CH, de Souza RF, et al. The effectiveness of chemical denture cleansers and ultrasonic device in biofilm removal from complete dentures. *J Appl Oral Sci*. 2011; 19(6): 668-73.
28. Albanna RH, Farawanah HM, Aldrees AM. Microbial evaluation of the effectiveness of different methods for cleansing clear orthodontic retainers: a randomized clinical trial. *Angle Orthod*. 2017; 87(3): 460-5.
29. Morelli VG, Oliveira VC, Vasconcelos GLL, Curylofo PA, Monteiro RM, Macedo AP, et al. Effect of effervescent tablets on removable partial denture hygiene. *Am J Dent*. 2023; 36(2): 75-80.
30. Bernard G, Rompré P, Tavares JR, Montpetit A. Colorimetric and spectrophotometric measurements of orthodontic thermoplastic aligners exposed to various staining sources and cleaning methods. *Head Face Med*. 2020; 16(1): 2.
31. Agarwal M, Wible E, Ramir T, Altun S, Viana G, Evans C, et al. Long-term effects of seven cleaning methods on light transmittance, surface roughness, and flexural modulus of polyurethane retainer material. *Angle Orthod*. 2018; 88(3): 355-62.
32. Wible E, Agarwal M, Altun S, Ramir T, Viana G, Evans C, et al. Long-term effects of various cleaning methods on polypropylene/ethylene copolymer retainer material. *Angle Orthod*. 2019; 89(3): 432-7.
33. Siotou K, Chountalas T, Katsavrias A, Siotos C, Mpalias K, Semitekolos D, Charitidis C, Tsolakis AI. The Mechanical Properties of Orthodontic Aligners of Clear Aligner After Intraoral Use in Different Time Periods. *Orthod Craniofac Res*. 2025; 28(2): 253-260.