

**Comparație între aderența microbiană la diferite tipuri de
brakeți și minimplante ortodontice din titan**



REZUMAT

Teză de doctorat

Conducător științific: Prof. Univ. Dr. Dragoș Stanciu
Doctorand: Kalid Aelawi R. Saleh

2019

Cuprins

Introducere	4
PARTEA GENERALĂ.....	5
Capitolul I. Placa bacteriană.....	6
1.1.Nutriția.....	6
1.2 Semnalizarea.....	6
1.3 Adeziunea	6
1.4 Biofilmul.....	6
1.5 Microflora plăcii dentare	6
1.6 Compoziția biofilmelor ortodontice	7
1.7 Mecanismul formării biofilmului	7
1.8 Factori ce influențează formarea biofilmului ortodontic	7
1.9 Ipoteza plăcii specifice	7
1.10 Igiena orală	7
CAPITOLUL 2 Dispozitivele ortodontice	8
2.1. Definiție	8
2.2 Scurt istoric al dispozitivului ortodontic	8
2.3 Clasificarea bracketilor în funcție de materialul de fabricație.....	8
2.3.1. Bracketi din inox	8
2.3.2. Bracketi cobalt-crom	8
2.3.3. Bracketi din aliaje fără nichel sau cu nivel scăzut de nichel	9
2.3.4. Bracketi din titan	9
2.3.5. Bracketi din plastic.....	9
2.3.6. Bracketi ceramici.....	9
2.3.7. Bracketi din zirconiu	9

2.3.8. Brackeți din compozit	9
Capitolul III. Miniimplantul ortodontic	9
3.1. Generalități	9
3.2. Tehnica de inserție.....	10
3.3. Avantajele utilizării miniimplanturilor în ortodonție	10
3.4. Nomenclatura și designul miniimplantului.....	10
3.5 Igiena orală la pacienții cu miniimplanturi.....	10
PARTEA PERSONALĂ.....	11
Material și metodă.....	12
Scopul studiului	12
Material de lucru.....	12
Metoda de lucru	12
Descrierea procedurii:	12
Evaluare.....	12
Streptococcus mutans.....	13
Lactobacilii.....	13
Evaluarea riscului de carii bazată pe Streptococi mutans și Lactobacili.....	13
Procedura modificată	14
Capitolul 4 Studiul in-vivo (faza 1).....	14
4.1 Introducere.....	14
4.2 Material și metodă	14
4.3 Rezultate	15
4.4 Discuții.....	20
CAPITOLUL 5 Studiul in vitro (faza 2)	20
5.1 Introducere.....	20

5.2 Material și metodă	20
5.3 Rezultate	20
5.4 Discuții.....	22
Concluziile tezei de doctorat. Direcții practice de aplicare a studiului	22
Bibliografie.....	23

Introducere

Cavitatea orală oferă condițiile propice pentru colonizarea bacteriilor. Într-o cavitate orală sănătoasă, aceste microorganisme coexistă într-o stare de echilibru cu gazda lor. Când apar schimbări în mediul oral, apar dezechilibre și afecțiuni, astfel de modificări putând fi determinate și de introducerea în cavitatea orală a unor dispozitive metalice sau de altă natură, asociate tratamentelor ortodontice.

În mod special, brackeții ortodontici metalici au fost incriminați pentru inducerea unor modificări specifice în mediul bucal, cum ar fi scăderea pH-ului și creșterea acumulării de placă bacteriană [19] [20], creșterea nivelului de *Streptococi mutans* [21] [22], creșterea numărului de specii de *Lactobacili* [17][18] și apariția riscului potențial de decalcificare a smalțului.

Această cercetare, gândită ca un studiu longitudinal asupra florei bacteriene la pacienții în tratament ortodontic, are ca scop determinarea diferențelor dintre brackeții maxilari și mandibulari și afinitatea lor pentru adeziunea bacteriilor anaerobe sub diferite forme.

O altă direcție de cercetare a fost reprezentată de evaluarea cantității de placă bacteriană depusă la nivelul miniimplanturilor, folosite ca adjuvante în creșterea ancorajului ortodontic.

Flora orală este un sistem ecologic complex, peste 700 de specii de microorganisme fiind identificate [1]. Grupele prezente în cavitatea orală includ *Streptococii*, *Neisseria*, *Veillonella*, *Actinomices* și alte specii anaerobe [3]

Aceste organisme mențin o relație mutuală cu gazda prin prevenirea adeziunii la suprafața mucoasei a altor specii patogene [4]. Microflora orală poate cauza placă dentară, carii dentare și boală parodontală [2][6].

Cele două etiologii principale ale afecțiunilor orale au fost atribuite speciilor *Porphyromonas gingivalis* (cauzează principalele afecțiuni parodontale) și *Streptococcus mutans* (cauzează carii dentare) [4].

Până în prezent, mecanismele de adeziune directă ale bacteriilor la diferitele materiale ce participă la joncțiunea bracket-adeziv-smalț sunt incomplet elucidate. Pentru a preveni și a controla acumularea biofilmului în timpul tratamentului ortodontic, este esențială înțelegerea mecanismelor de adeziune bacteriană la suprafețele biomaterialelor ortodontice.

De aceea, studiul actual a avut ca scop investigarea forțelor de adeziune ale coloniștilor inițiali (*Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mutans* și *Lactobacillus acidophilus*) [30][31] asupra materialelor ortodontice, inclusiv asupra smalțului folosind microscopia atomică (AFM), o unealtă puternică pentru măsurarea forțelor de adeziune microbiană pe suprafețele substratului [22]. Mai mult de atât, proprietatea de a fi hidrofobe a materialelor ce alcătuiesc joncțiunea bracket-adeziv-smalț a fost determinată prin măsurători ale unghiurilor la contactul cu apa. Alte materiale și smalțul au fost utilizate cu sau fără film de condiționare absorbantă.

PARTEA GENERALĂ

Capitolul I. Placa bacteriană

1.1.Nutriția

Microflora orală utilizează ca substrat derivate din alimentația gazdei sau produși ai altor bacterii [7]. Acesta este produs de comunitățile microbiene pioniere (primele microorganisme colonizante) pentru a genera produși finiți sau compuși din metabolism ce pot fi utilizați de alte microorganisme [9].

1.2 Semnalizarea

Bacteriile utilizează o metodă de comunicare denumită detectarea quorum ce implică eliberarea unor molecule speciale folosite pentru a comunica cu alte bacterii [3]. Aceasta este vitală pentru creșterea coloniei bacteriene și formarea biofilmului, punând bazele coagregării diferitelor microfloare orale (vezi subcapitolul Adeziunea).

1.3 Adeziunea

Adeziunea inițială este realizată de coloniștii primari (*Streptococcus sanguinis*, *Veillonella*, *Fusobacterium*) având ca rezultat monostraturile microbiene [3]. Aderența este inițial o interacțiune reversibilă, nespecifică pe termen lung, urmată apoi de o interacțiune pe termen scurt, ireversibilă de tipul adeziune-receptor [9].

Primii coloniști ai plăcii dentare sunt speciile de streptococ și par să recunoască componente din pelicula salivară [39]. Odată cu introducerea aparatelor ortodontice în cavitatea orală, nivelurile de *Streptococcus mutans* și *Lactobacillus casei* încep să crească. Aceste bacterii aderă la suprafețele aparatelor prin reacții lectin-like, forțe Van der Waals și interacțiuni electrostatice. Studiile recente au arătat corelații semnificative între energia liberă de la suprafață și capacitatea de reținere a plăcii, energiile crescute având un efect pozitiv asupra aderenței bacteriene. Efectele regulatorii ale proprietăților suprafeței substratului sunt esențiale în fazele inițiale ale adeziunii bacteriene și ajută la inițierea colonizării [22].

1.4 Biofilmul

Placa dentară este alcătuită din mucină derivată din salivă și microorganisme bacteriene co-asociate biofilmului. Conține depozite moi care formează de fapt biofilmul și au capacitatea de a se atașa de suprafețele dure din cavitatea orală, dar și de aparatele fixe sau mobile. Acumularea plăcii bacteriene pe dispozitivele ortodontice sau pe dinți continuă să fie o problemă majoră în ortodonție [93].

Cel mai mare procent de bacterii asociate plăcii include cocci gram pozitivi (aprox. 45%). Cocii gram pozitivi reprezintă 38% din placa bacteriană, bacilii gram negativi 17% și cocci gram negativi 2%.

Matricea intercelulară a plăcii conține o porțiune din masa plăcii și este alcătuită din materiale organice și anorganice.

1.5 Microflora plăcii dentare

Placa dentară, descrisă ca o acumulare non-mineralizată ce aderă tenace la suprafața dentară, restaurări protetice sau aparate ortodontice, este alcătuită dintr-o matrice organizată derivată din glicoproteinele salivare și produșii microbieni extracelulari ce nu pot fi îndepărtați prin clătire sau spray cu apă [90].

Placa microbiană ce se găsește pe țesuturile orale moi și dure se împarte în două categorii. Primul tip este placa frecvent afectată, în care masele microbiene sunt frecvent dislocuite și înlocuite și se găsește în zonele ușor accesibile și pe suprafața țesutului moale [11].

1.6 Compoziția biofilmelor ortodontice

În ultimii ani, tratamentul ortodontic a crescut în popularitate în rândul tinerilor și adulților. O varietate de materiale a fost introdusă în practica ortodontică pentru a îmbunătăți eficiența clinică a tratamentului și confortul pacientului. Inoxul și rășinile compozite fotosensibile sunt cele mai utilizate materiale pentru brackeți și adezivi în ortodonție [1][4].

Adeziunea bacteriană inițială la joncțiunea bracket-adeziv-smalț reprezintă o etapă crucială în demineralizarea smalțului indusă ortodontic [18]. Creșterea ulterioară a bacteriilor inițial aderente incomplet îndepărtate de periaj duce la apariția unui biofilm patogenic.

Biofilmele orale, inclusiv cele ortodontice (biofilmele orale formate pe materiale ortodontice în timpul tratamentului ortodontic activ sau în timpul fazei de contenție) sunt comunități cu diverse microorganisme cantonate pe țesuturile dure și moi orale și pe biomaterialele orale.

Organismul cauzal principal în inițierea cariilor dentare este *Streptococcus mutans*.

1.7 Mecanismul formării biofilmului

Biofilmele orale se acumulează prin colonizare secvențială și ordonată a suprafețelor orale de diferitele specii prezente în cavitatea orală [1,2,9]. Se disting mai multe faze distincte în formarea biofilmelor orale: condiționarea, adeziunea reversibilă, tranziția la adeziunea ireversibilă, co-adeziunea și maturizarea.

1.8 Factori ce influențează formarea biofilmului ortodontic

Adezivii ortodontici, dispozitivele fixe incluzând brackeții, ligaturile și arcurile de sârmă sau plăcile acrilice mobile sunt factori importanți în formarea biofilmului ortodontic.

1.9 Ipoteza plăcii specifice

Ipoteza plăcii specifice afirmă că doar anumite bacterii ce se găsesc în placa bacteriană dau caracterul patogenic al acesteia și doar un număr din aceste bacterii cresc în placă [93].

1.10 Igiena orală

Elementul cheie în managementul pacienților ortodontici cu niveluri crescute de retenție a plăcii este acela de a reduce acumularea de placă și inflamația gingivală. Prezența aparatelor ortodontice face curățarea dentară mai dificilă prin obstrucție mecanică.

În afara periajului, pacienții trebuie să acorde atenție curățării zonelor proximale.

Aderența plăcii la aparatele ortodontice, inclusiv brackeți și minișuruburi, poate fi problematică atât pentru pacient cât și pentru clinician. Retenția unor bacterii specifice pe aceste dispozitive poate permite medicului curant să aleagă cele mai potrivite aparate pentru tratamentul pacientului. După cercetări temeinice ale literaturii s-a ajuns la concluzia că niciun studiu specific nu a fost condus ca o paralelă la prezentul studiu.

CAPITOLUL 2 Dispozitivele ortodontice

2.1. Definiție

Tratamentul cu dispozitive ortodontice fixe este cea mai precisă metodă de a controla mișcările dentare pentru a obține zâmbetul perfect. Există trei mari componente ale acestor dispozitive, incluzând brackeții (atașați dinților), arcurile de sârmă (sârmele plasate între brackeți) și auxiliare (cum ar fi elasticele).

Bracketul ajută la determinarea poziției finale a dintelui. Arcul de sârmă acționează ca motor și plasează forțele necesare pentru a iniția și susține migrarea dentară.

Brackeții metalici Edgewise sunt confecționați din benzi metalice subțiri ștanțate în forma dorită.

Acești brackeți conțin fier, mangan (18%), crom (15%), molibden (5%), nichel (14%) și cantități scăzute de cupru, niobiu, aluminiu și cobalt. Brackeții sunt de obicei atașați de suprafața dentară prin intermediul unor rășini fotopolimerizabile. S-a demonstrat că acești brackeți pot determina modificări specifice în mediul oral, inclusiv creșterea acumulării de placă bacteriană, niveluri crescute de *Streptococcus mutans* și scăderea pH-ului [15].

Brackeții ceramici au fost utilizați frecvent în regiunea frontală maxilară, acolo unde estetica joacă un rol important în satisfacerea pacientului. Aceste dispozitive pot fi modelate sau fabricate pentru fiecare dinte individual și sunt stabile dimensional. Majoritatea acestor brackeți sunt confecționați din alumina (Al_2O_3), dintr-o singură unitate cristalină sau unități policristaline. Oxidul de siliciu (SiO_2) sau magneziu (MgO) pot fi adăugate în compoziția acestor brackeți pentru a scădea granulația cristalului [14].

2.2 Scurt istoric al dispozitivului ortodontic

Ortodonția a trecut printr-un proces evolutiv pentru a ajunge la sistemul actual de brackeți utilizați în practica clinică. În anul 1928, Dr. Angle a descris sistemul Edgewise, ce a fost utilizat drept plan de bază pentru toate celelalte sisteme de brackeți Edgewise. Un alt sistem popular dezvoltat de Dr. Begg în anii '20 a fost obținut prin modificarea arcuirii dispozitivului creat de Angle. Dr. Begg a fost student la școala Angle, unde a fost învățat cum să utilizeze dispozitivul arc. La întoarcerea în Australia, Dr. Begg a modificat dispozitivul creând astfel sistemul Begg. Timp de mai mulți ani, ortodonții au folosit sistemele Edgewise standard și Begg cu succes.

2.3 Clasificarea brackeților în funcție de materialul de fabricație

2.3.1. Brackeți din inox

Utilizarea acestor brackeți cu baze retentive a fost prima dată menționată în anul 1967 de către Mitchell. Chiar dacă nu erau la fel de satisfăcători din punct de vedere estetic precum cei plastici, ceramici sau din fibră de sticlă, brackeții din inox au reprezentat o îmbunătățire estetică față de benzile utilizate anterior [79].

2.3.2. Brackeți cobalt-crom

Producerea acestui bracket a avut în vedere problema sensibilității la nichel; cu toate acestea, cobaltul și cromul sunt departe de a fi inerte în privința performanței ca implanturi sau explanturi. Brackeții cobalt-crom conțin aproximativ 0.5% nichel comparativ cu 12% pentru inox [30]. Spectroscopia de absorbție atomică arată că eliberarea de nichel dintr-un bracket cobalt-crom este de 0.02% mg/l comparativ cu 0.3% mg/l dintr-un bracket din inox [38].

2.3.3. Bracketeți din aliaje fără nichel sau cu nivel scăzut de nichel

Inoxurile fără nichel sau cu nivel scăzut de nichel au fost introduse în ortodonție ca alternative la tipurile convenționale. Aceste metale conțin substanțial mai puțin nichel față de tipurile convenționale și au aceeași sau chiar mai mare duritate și rezistență la coroziune [44].

2.3.4. Bracketeți din titan

Titanul pur comercial este cel mai pasiv metal disponibil pentru implanturi și explanturi și a fost utilizat pentru confecționarea brackeților. Aceștia sunt făcuți din titan pur, medicinal, ce are duritate mai mare, densitate mai mică și un modul de elasticitate mai mic. De asemenea, titanul are conductivitate termică mică și nu produce apariția gustului metalic cum se întâmplă în cazul brackeților din inox.

2.3.5. Bracketeți din plastic

La începutul anilor '70, brackeții din plastic erau prezentați drept o alternativă estetică a celor metalici [44]. Principalele probleme ale brackeților din plastic erau decolorarea prin lumină ultravioletă și coloranți alimentari, scăderea durității și rezistenței la purtare, modificarea sloturilor datorită absorbției de apă și incapacitatea de a suporta forțele de torsiune generate de sârmele rectangulare [74].

2.3.6. Bracketeți ceramici

La jumătatea anilor '80, brackeții ceramici confecționați din materiale ceramice mono și policristaline au devenit accesibili pe scară largă. Procesul de obținere al brackeților monocristalini a avut ca rezultat o structură mai pură, o suprafață mai netedă și o substanță considerabil mai dură decât în cazul brackeților policristalini. Bracketeții ceramici au fost creați pentru a combina estetica brackeților din plastic cu fiabilitatea celor metalici [6].

2.3.7. Bracketeți din zirconiu

O altă variantă a bracketului metalic este un bracket din inox acoperit de un microstrat de nitride-zirconiu pentru a obține o culoare aurie. Odată cu acest tip de bracket, arcurile de sârmă aurii au fost disponibile pentru a complementa culoarea [59].

2.3.8. Bracketeți din compozit

Bracketeții din compozit sunt fabricați dintr-un poliuretan special termoplastic printr-un sistem de tratare termică avansat. Producerea se bazează prin adăugarea controlată a umpluturilor într-o matrice de rășină sintetică ce este supusă ulterior turnării prin injecție. Se obține astfel creșterea rezistenței, mecanismului de alunecare și durității suprafeței, comparativ cu brackeții ceramici. Capacitatea de a rezista la forțe de torsiune mari permite un control superior în timpul tratamentului [59].

Capitolul III. Miniimplantul ortodontic

3.1. Generalități

Implanturile minișuruburi sunt adjuvante ale tratamentului realizate pentru a oferi ancorare scheletală absolută în ortodonție. Au devenit populare datorită plasării facile, costului scăzut, gradului crescut de acceptare și abilității de a elimina problemele de complianță la tratament.

Așadar, un dispozitiv contemporan ce capătă popularitate în ancorarea în cadrul tratamentului este miniimplantul ortodontic. Miniimplantul (fabricat de IMTEC) are 1.8 mm în diametrul extern, 1.6 mm în diametrul intern al capătului și se subțiază progresiv. Structura este din aliaj de titan (Ti-6 Al-4V) și s-a dovedit a fi de 2.5 ori mai durabilă decât titanul pur comercial.

Miniimplantul este disponibil în trei dimensiuni: 6, 8 și 10 mm. În capătul rotunjit al dispozitivului există două găuri cu diametrul de 0.7 mm ce permit atașarea facilă a ligaturilor sau altor dispozitive [18]. Capătul implantului este proiectat specific pentru atașarea ortodontică. Cu toate acestea, capătul implantului nu protejează gingia și țesutul adiacent de presiunea ligaturilor sau elasticelor [25].

3.2. Tehnica de inserție

Plasarea miniimplantului este o procedură relativ simplă ce poate fi efectuată sub anestezie locală sau chiar topică. Cel mai lung miniimplant poate fi utilizat astfel încât să nu afecteze sănătatea țesuturilor adiacente [27]. Locul implantului este analizat radiologic pentru a stabili plasarea ideală.

3.3. Avantajele utilizării miniimplanturilor în ortodonție

Utilizarea miniimplanturilor în ortodonție prezintă avantaje semnificative. Sunt relativ ușor de introdus și există puține limitări anatomice pentru plasarea lor. Acestea se datorează dimensiunilor reduse ale implanturilor și faptului că pot fi inserate aproape oriunde la nivel maxilar și în regiunea bucală a arcului alveolar mandibular.

3.4. Nomenclatura și designul miniimplantului

Ce a fost denumit până acum drept implant minișurub sau MSIs, s-a mai numit: microimplant, implant microșurub, mini-implant, mini implant dentar, minișurub, dispozitiv de ancorare temporară (TAD) și OrthoImplant.

În acest studiu, termenul auto-forant va fi folosit pentru a ne referi la un model de șurub cu vârful foarte ascuțit, ce se poate insera fără orificiu pilot și fără foraj în prealabil.

3.5 Igiena orală la pacienții cu miniimplanturi

Pentru succesul implanturilor minișurub este esențială menținerea mucoasei periimplantare keratinizate. Igiena orală este mai ușoară atunci când implantul este folosit cu o ligatură de sârmă pe un cârlig decât atunci când ligatura se face direct de capătul șurubului [64]. Țesuturile moi adiacente trebuie menținute după inserarea minișurubului pentru asigurarea longevității implantului. Pacienții trebuie instruiți pentru controlul zilnic al plăcii la domiciliu și pentru supraveghere profesională pe durata tratamentului [52].

PARTEA PERSONALĂ

Material și metodă

Scopul studiului

Scopul acestui studiu este de a compara valoarea de aderare și de creștere a *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei*, și *Porphyromonas gingivalis* pe dispozitive temporare de ancoraj (miniimplanturi), din metal standard, și compozite ceramice ortodontice in vivo.

Partea in-vivo a constat în obținerea de mostre de placă bacteriană de pe aparatele aflate în cavitatea orală a pacientului în diferite locații. Această colectare s-a desfășurat pe o perioadă de trei luni.

Material de lucru

S-a utilizat CRT bacteria pentru a determina numărul de Streptococi mutans și Lactobacili în salivă prin intermediul mediilor de cultură selective.

Metoda de lucru

Testul este condus profesional de către dentist sau personal calificat.

Descrierea procedurii:

1. Se stimulează secreția salivară a pacientului prin mijloace specifice
2. Se colectează saliva în recipientul destinat acestui scop

Se poate folosi această ocazie pentru măsurarea fluxului salivar și capacității de tampon a salivei prin sistemul CRT Buffer de la Ivoclar Viva Dent

3. Se îndepărtează suportul cu agar din flaconul de testare
4. Se plasează o tabletă de NaHCO_3 pe fundul flaconului
5. Se îndepărtează cu grijă foliile de protecție de pe cele două suprafețe cu agar. Nu se atinge agarul.
6. Se udă complet ambele suprafețe de agar cu salivă, folosind o pipetă. Se evită zgărirea suprafeței de agar. Suportul de agar se menține ușor oblic.
7. Se scurge excesul de salivă
8. Se pune suportul cu agar înapoi în flacon și se securizează flaconul.
9. Se folosește un pix rezistent la apă pentru a nota numele pacientului și data pe flacon.
10. Se pune flaconul test vertical în incubator ex. Cultura/Ivoclar Vivadent și incubăți la $37^\circ\text{C}/99^\circ\text{F}$ pentru 48 ore.
11. După îndepărtarea flaconului din incubator, se compară densitatea coloniilor de Streptococ mutans și Lactobacili cu imaginile corespunzătoare din diagrama

Pentru a facilita evaluarea se menține suportul cu agar ușor oblic sub o sursă de lumină

Evaluare

Peste 105 CFU sau mai mult/ml de saliva de Lactobacili sau Streptococi mutans indică risc înalt pentru carii.

Streptococcus mutans

Aportul ridicat de zahăr combinat cu valori ale pH-ului frecvent scăzute duce la creșterea numărului de S. Mutans și S. Sobrinus în cavitatea orală

Detectarea Streptococilor mutans

În cazul mediilor de cultură microbiologice, Streptococii mutans sunt identificați prin proceduri de testare standard ce implică agar mitis-salivarius ce conține bacitracină (Gold și colab. 1973). Concentrația și combinația substanțelor de pe substratul de cultură asigură selectivitatea înaltă a procedurii, cum ar fi sucroză și bacitracină, un antibiotic polipeptidic, diferite săruri, ce mai târziu vor fi responsabile de culoarea albastră a agarului.

Lactobacilii

Lactobacilii sunt bacteriile responsabile pentru progresia cariilor (Featherstone, 2000), provocând activ deteriorarea structurii dentare prin multiplicarea și răspândirea bacteriană.

Detectarea Lactobacililor

Agarul Rogosa permite detectarea selectivă a lactobacililor și a rămas procedura standard de laborator până în prezent. Pot apărea ocazional levuri, dar rar și într-un număr foarte mic. Apariția lor se poate deosebi clar de lactobacili (Rogosa și colab. 1951). Coloniile corespondente sunt relativ înalte și de culoare crem

Dacă există îndoieli, se pot identifica prin adăugarea câtorva picături de H₂O₂. Levurile încep să „fiarbă”. Candida albicans este printre cele mai frecvente levuri, un parazit din flora mucoasei orale la aproape jumătate din populația adultă (Arendorf și Walker 1980; Lehner 1967).

Testul pentru carii CRT bacteria de la Ivoclar Vivadent reprezintă un progres pentru practica dentară. Acesta permite determinări simultane pentru Streptococii mutans și Lactobacilii din salivă prin intermediul mediilor selective agar. Agarul albastru mitis-salivarius-bacitracină este folosit pentru a detecta Streptococcus mutans, în timp ce agarul Rogosa medium-light este folosit pentru a evalua Lactobacilii. Filmele protejează agarul împotriva uscării și contaminării.

Evaluarea riscului de carii bazată pe Streptococi mutans și Lactobacili

Rezultatele celor două sisteme de testare arată corelații excelente. 54% dintre copiii examinați au arătat același risc mic pentru carii prin ambele metode de testare, iar 30% un risc înalt (Kneist și colab. 1999). CRT bacteria reacționează mai selectiv decât MSR-agar.

Utilizarea CRT bacteria în practică s-a dovedit a fi ușoară și în ceea ce privește economisirea timpului.

Bacteriile vor crește numai în zonele care au intrat în contact cu saliva. Ținând suportul ușor oblic previne curgerea prea rapidă a salivei și favorizează umezirea completă a suprafeței. Suportul de agar este plasat imediat în fiola de testare, care este închisă ermetic. Două zile de incubare într-un termostat la 37 ° C / 99 ° F sunt suficiente pentru a permite coloniilor bacteriene să crească. Aceasta este un avantaj față de alte sisteme, pentru care rezultatele testelor sunt disponibile la timpi diferiți, adică după două zile pentru Streptococii mutans și după patru zile pentru Lactobacili.

Procedura modificată

O mică modificare a procedurii de testare permite determinarea numărului Streptococilor mutans în placa bacteriană:

Placa este colectată cu o perie umedă, buclă sau scobitoare și însămânțată cu grijă pe agar albastru. Spațiul disponibil este pretabil pentru patru probe paralele. Pentru a se asigura umiditatea adecvată, se adaugă puțină apă la comprimatul NaHCO_3 din moment ce saliva poate să nu fie suficientă pentru a elibera de CO_2 atunci când se utilizează această metodă. Aceste probe sunt, de asemenea, incubate timp de două zile.

Această procedură este recomandată pentru copii mici, care nu colaborează în timpul procedurii de colectare a salivei, pentru pacienții cu xerostomie și pacienții cu dificultăți în mestecare. Alte posibilități de a colecta saliva la copiii mici pot include folosirea unei pipete (Alaluusua et colab. 1989) sau o spatulă de lemn aplicată inițial pe limbă și, ulterior, se realizează transferul pe agar (Laurisch 1,999). Pacienții cu xerostomie au posibilitatea de a clăti gura cu apă sterilă (Krasse 1985). Cu toate acestea, în cazul acestor proceduri, trebuie să ne așteptăm la un randament mai mic de bacterii.

Tot prin această metodă modificată se poate realiza și determinarea Lactobacililor din placa dentară (bacteriană).

Capitolul 4 Studiul in-vivo (faza 1)

4.1 Introducere

Scopul studiului a fost de a monitoriza pentru bacterii specifice (SM și LB) pacienții de ortodonție din Clinica de Ortodonție și Ortopedie Dento-facială a Facultății de Medicină Dentară a UMF „Carol Davila” din București la una, două și trei luni, de la aplicarea dispozitivelor ortodontice cu examinarea a trei regiunii diferite (bracket incisiv central maxilar, bracket incisiv central mandibular, capăt miniimplant).

4.2 Material și metodă

1. Selectarea probelor
2. Prima prezentare: aplicarea aparatului ortodontic după următorul model:
 - a. bracket compozit pe cei șase frontali superiori și inferiori
 - b. bracket ceramic pe premolarii 2 superiori și inferiori
 - c. bracket metalic pe restul dinților

În timpul 0 al tratamentului s-au prelevat trei mostre de placă (înainte de inițierea oricărui tratament). Aceleași zone au fost examinate la fiecare pacient odată pe lună, la fiecare programare, timp de trei luni. Astfel, un total de nouă mostre au fost prelevate de la fiecare pacient pe parcursul colectării datelor.

3. A doua programare: după o lună de la plasarea bracketurilor ortodontice, aplicarea inelelor metalice (din inox) pe primul molar superior și inferior

- d. miniimplant titan pe partea dreaptă

Se prelevă șapte mostre de placă de la pacient (bracket incisiv central drept superior și inferior, bracket premolar 2 superior și inferior, inel din inox molar inferior 1 și miniimplant din titan dreapta). Pacientul este instruit să nu efectueze măsuri de igienă orală cu 12 ore înaintea prelevărilor de mostre (fără periaj sau clătire cu apă de gură). Mostre din aceleași zone vor fi colectate la 2 și 3 luni.

4. Colectarea mostrelor de placă

5. Transferul probei.
6. Inocularea și cultivarea: speciile se inoculează pe plăci cu agar sânge.
7. Testul biochimic pentru anaerobi

Toți pacienții au semnat consimțământul informat înainte de începerea studiului și primesc instrucțiuni legate de igiena orală, ce constau în tehnici corecte de periaj și utilizare a aței dentare, din partea medicului coordonator la începutul tratamentului ortodontic. Pacienții au fost astfel instruiți cum să se perieze și cum să utilizeze ața dentară cu aparatul dentar aplicat.

4.3 Rezultate

Plăcile au fost citite și analizate la șapte zile de la incubare în interiorul camerei anaerobe. Cele trei microorganisme au fost identificate folosind următoarele metode.

A. *S. Mutans* au fost identificați folosind plăcile MSAT, plăci cu agar specifice pentru acest tip bacterian.

B. Plăcile TSBA pentru *Lactobacillus casei* au fost numărate prin intermediul tehnicii gram-stain și microscopie.

C. *Porphyromonas gingivalis* a fost identificat cu ajutorul luminii UV cu lungime de undă mare și a unui reactiv cu tripsină.

Primul tip bacterian examinat a fost *S. Mutans*. Tabelul 1 și Fig. 4.1 arată valorile medii și erorile standard (ES) ale *S. Mutans* în cele trei regiuni. ANOVA nu a arătat diferențe semnificative între cele trei regiuni ($p=0.994$).

Tabelul 1: Medii și ES pentru *S. Mutans* în trei zone diferite (CFU)

Locație CFU	Medie	Eroare standard
1. Bracket incisiv central maxilar	805.33	241.26
2. Bracket incisiv central mandibular	792.00	241.26
3. Capăt miniimplant	874.00	241.26

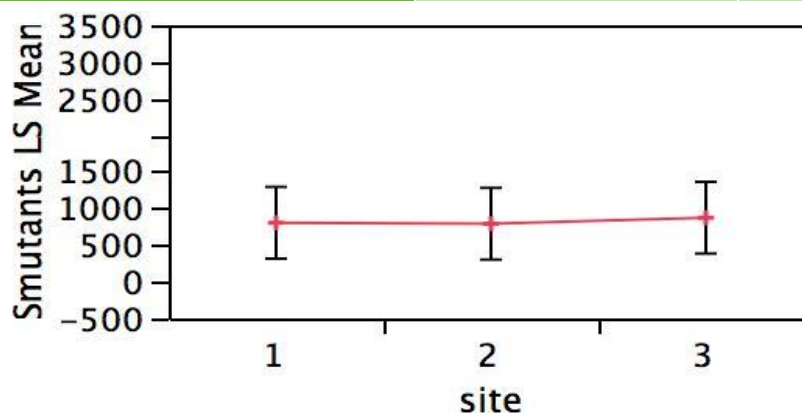


Figura 4.1 Valoarea medie a aderenței *S. Mutans* în cele 3 regiuni (CFU)

Locul: 1. Bracket Incisiv central maxilar, 2. Bracket incisiv central mandibular, 3. Capăt miniimplant

Tabelul 2 și Fig. 4.2 arată media și ES pentru *S. Mutans* pentru cele trei intervale de timp. ANOVA nu a arătat diferențe semnificative între cele trei perioade ($p=0.851$).

Tabelul 2: Medii și ES ale *S. Mutans* în cele trei perioade (CFU)

CFU - perioadă	Medie	Eroare standard
1 lună	740.66	241.26
2 luni	930.66	241.26
3 luni	800.00	241.26

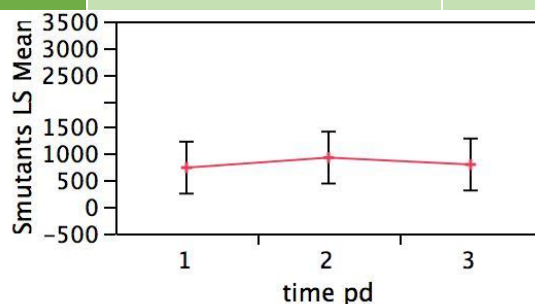


Fig. 4.2: Aderența medie pentru *S. Mutans* în cele trei perioade (CFU) Timpul 1-1 lună, 2 – 2luni, 3-3 luni

Tabelul 3 și Fig. 4.3 arată valorile medii și ES pentru *S. Mutans* cu privire la locul și momentul interacțiunii. ANOVA nu a arătat diferențe semnificative locație vs. interacțiune temporală ($p=0.9895$).

Tabelul 3: valori medii și ES ale interacțiunilor loc-timp asupra nivelurilor *S. Mutans* (CFU)

Loc, timp (CFU)	Medie	ES
1,1	634.00	417.88
1,2	1058.00	417.88
1,3	724.00	417.88
2,1	752.00	417.88
2,2	856.00	417.88
2,3	768.00	417.88
3,1	836.00	417.88
3,2	878.00	417.88
3,3	908.00	417.88

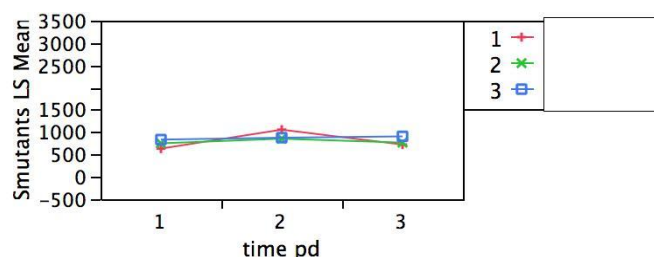


Figura 4.3: Loc, interacțiune temporală pentru *S. Mutans* (CFU); 1- bracket maxilar, 2- bracket mandibular, 3- capăt miniimplant

Un al doilea tip bacterian studiat a fost *Lactobacillus casei*.

Tabelul 4 și Fig.4.4 arată mediile și ES pentru cele trei locații. ANOVA nu a arătat diferențe semnificative între cele trei zone ($p=0.998$).

Tabelul 4. Mediile și ES pentru *Lactobacillus casei* în cele trei zone (CFU)

Locație CFU	Medie	Eroare standard
1. Bracket incisiv central maxilar	456.60	160.83
2. Bracket incisiv central mandibular	463.26	160.83
3. Capăt minimplant	452.00	160.83

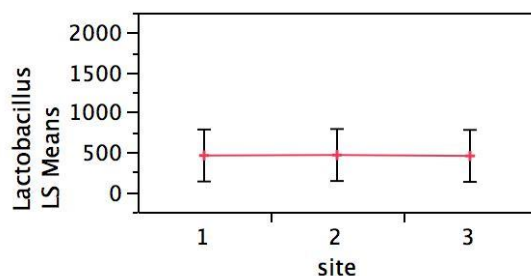


Fig. 4.4: Valorile medii ale aderenței *Lactobacillus casei* în cele trei zone (CFU); 1. Bracket incisiv central maxilar, 2. Bracket incisiv central mandibular, 3. Capăt minimplant

Tabelul 5 și Fig. 4.5 arată mediile și ES pentru *Lactobacillus casei* în cele trei momente. ANOVA nu a arătat diferențe semnificative între cele trei momente ($p=0.7074$).

Tabelul 5. Valori medii și ES pentru *L. Casei* în cele trei momente (CFU)

CFU - perioadă	Medie	Eroare standard
1 lună	377.86	160.83
2 luni	562.66	160.83
3 luni	431.33	160.83

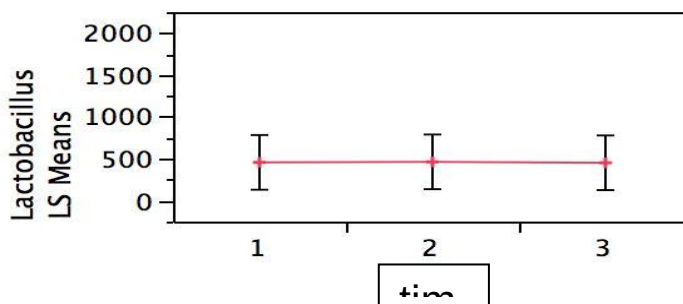


Figura 4.5: Valoarea medie a aderenței pentru *Lactobacillus Casei* în cele 3 momente (CFU); 1-1 lună, 2-2luni, 3-3luni

Tabelul 6 și Fig. 4.6 arată mediile și ES pentru *Lactobacillus casei* în ceea ce privește interacțiunea loc și timp.

Tabelul 6: Medii și ES pentru interacțiunea loc – perioadă asupra nivelurilor L. Casei (CFU)

Loc, timp (CFU)	Medie	ES
1,1	167.80	278.58
1,2	668.00	278.58
1,3	534.00	278.58
2,1	387.80	278.58
2,2	490.00	278.58
2,3	512.00	278.58
3,1	578.00	278.58
3,2	530.00	278.58
3,3	248.00	278.58

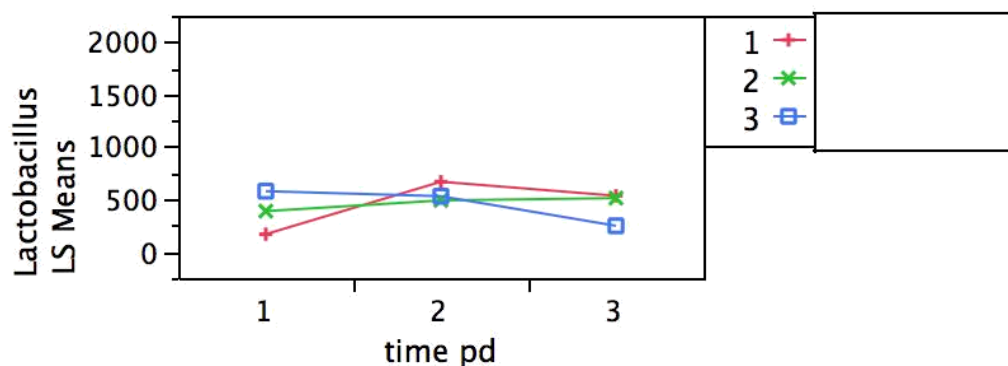


Fig.4.6: Loc, interacțiune perioadă pentru *Lactobacillus casei* (CFU); 1- bracket maxilar, 2- bracket mandibular, 3- capăt miniimplant

Cel de-al treilea tip bacterian a fost *Porphyromonas Gingivalis*. Tabelul 7 și Fig.4.7 arată valorile medii și ES pentru *P. Gingivalis* în cele trei regiuni. ANOVA nu a arătat diferențe semnificative între cele trei regiuni ($p=0.447$).

Tabelul 7: Valori medii și ES pentru *P. Gingivalis* în cele trei regiuni (CFU).

Locație CFU	Medie	Eroare standard
1. Bracket incisiv central maxilar	6.00	12.17
2. Bracket incisiv central mandibular	28.00	12.17
3. Capăt miniimplant	18.66	12.17

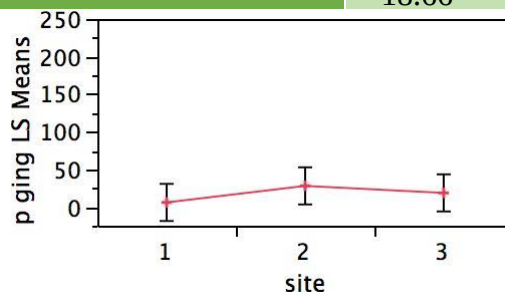


Fig. 4.7: Valori medii ale aderenței *P. Gingivalis* în cele trei regiuni (CFU). 1. Bracket incisiv central maxilar, 2. Bracket incisiv central mandibular, 3. Capăt miniimplant

Tabelul 8 și Fig.4.8 arată valorile medii și ES ale P. Gingivalis în cele trei perioade. ANOVA nu a arătat diferențe semnificative între aceste momente ($p=0.267$).

Tabelul 8. Valori medii și ES pentru P. Gingivalis în cele trei perioade (CFU)

CFU - perioadă	Medie	Eroare standard
1 lună	34.00	12.17
2 luni	8.66	12.17
3 luni	10.00	12.17

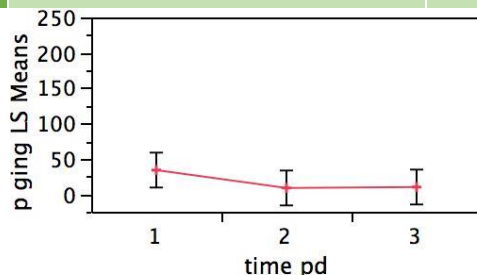


Fig. 4.8. Valori medii aderență P. Gingivalis în cele trei momente (CFU); 1-1 lună, 2-2 luni, 3-3 luni

Tabelul 9 și Fig. 4.9 arată valorile medii și ES pentru P. Gingivalis privind interacțiunea loc-timp. ANOVA nu a arătat diferențe semnificative cu privire la interacțiunea timp vs locație ($p=0.829$).

Tabelul 9: Valori medii și ES pentru interacțiunile loc-timp asupra P. Gingivalis (CFU)

Loc, timp (CFU)	Medie	ES
1,1	8.00	21.08
1,2	2.00	21.08
1,3	8.00	21.08
2,1	58.00	21.08
2,2	10.00	21.08
2,3	16.00	21.08
3,1	36.00	21.08
3,2	14.00	21.08
3,3	6.00	21.08

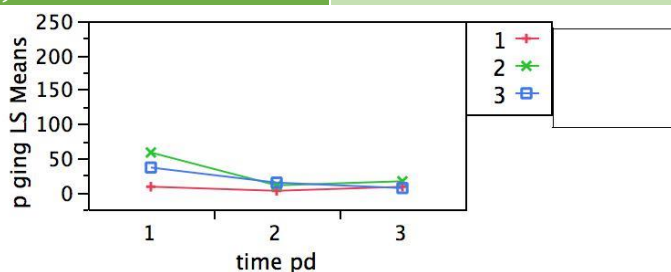


Fig. 4.9: Interacțiunea loc-timp pentru P. Gingivalis; 1- bracket maxilar, 2- bracket mandibular, 3- capăt miniimplant

4.4 Discuții

Studiul prezent nu a arătat diferențe semnificative între tipurile bacteriene, localizare sau moment și nu au fost diferențe semnificative între interacțiunile dintre aceste variabile. Cantitatea totală de *S. Mutans* a fost mai mare pe brackeții ortodontici decât pe minișuruburi. Creșterea aderenței *S. Mutans* după plasarea brackeților ortodontici este în acord cu studiul condus de Corbett și colab. Aceste descoperiri indică faptul că pacienții ortodontici au o concentrație cariogenică de *S. mutans* din momentul colajului [46]. Grupul de control pentru acest studiu a fost cel al brackeților metalici deoarece a fost demonstrată acumularea bacteriilor pe aceste dispozitive.

Nu au fost găsite diferențe semnificative între acumularea pe brackeții metalici standard din regiunea bazei bracketului incisivului central superior, baza bracketului incisivului central inferior și capătul miniimplantului. Variabilitatea a fost destul de mare în a preciza care dintre aceste locații a avut o acumulare bacteriană mai mare pentru etapa in-vivo a studiului.

Acest studiu sugerează că tratamentul ortodontic poate afecta numărul de bacterii prezente pe dispozitive și poate afecta prezența generală a microorganismelor parodontale [61]. Aceste date se corelează cu cele ale unui studiu comparativ al nivelurilor CFU pentru *L. Casei* și *S. Mutans* la pacienții ortodontici. Acest studiu a confirmat nivelul înalte semnificative ale *L. Casei* la pacienții cu aparate ortodontice la 2 luni de la începerea tratamentului. Nu au fost găsite diferențe pentru *S. Mutans*. Rezultatele studiului confirmă prezența bacteriilor variate atât pe miniimplant cât și pe bracketul standard, chiar dacă nu au fost consemnate diferențe semnificative statistic.

CAPITOLUL 5 Studiul in vitro (faza 2)

5.1 Introducere

Studiul in-vitro și-a propus să analizeze măsura în care se produce aderența bacteriană pe diferitele componente ale aparatelor ortodontice, încercând să limiteze astfel influența mediului oral, în special complianța pacientului în ceea ce privește igiena orală.

Partea in-vitro s-a desfășurat în laboratorul de microbiologie timp de o lună. Acumularea bacteriană de pe brackeți ortodontici metalici și implanturi de tip minișurub a fost examinată, numărată și înregistrată.

5.2 Material și metodă

Faza in-vitro (Faza II) a constat în montarea a 12 brackeți metalici și 12 miniimplanturi din titan într-o configurație unică experimentală. Brackeții și miniimplanturile au fost plasate într-un tub steril vidat – 6 brackeți și 6 miniimplanturi. Aceste dispozitive au fost expuse la cantități egale din cele trei specii bacteriene și au fost lăsate în contact timp de 24 de ore.

La intervale de timp de o săptămână, 2 săptămâni și 3 săptămâni s-au prelevat prin raclare probe de pe suprafața brackeților și a miniimplanturilor.

Pentru a cultiva bacteriile s-a utilizat metoda urine-streak, similar cu studiul in-vivo.

Identificarea coloniilor s-a realizat atât macroscopic, prin evaluarea aspectului coloniilor cât și prin testare biochimică, prin intermediul sistemului API20A.

Metoda de lucru este similară cu cea utilizată la testul in-vivo pentru a permite coroborarea rezultatelor.

5.3 Rezultate

Plăcile au fost citite și analizate la șapte zile de la incubare în interiorul camerei anaerobe.

Cele trei microorganisme au fost identificate folosind următoarele metode:

A. *S. Mutans* au fost identificați folosind plăcile MSAT, plăci cu agar specifice pentru acest tip bacterian. Fiecare colonie a fost numărată folosind numărătoarea de colonii Acolyte. Numărătorul a fost plasat la o expunere de 51 și o sensibilitate de 92. Toate coloniile au fost numărate și înregistrate corect.

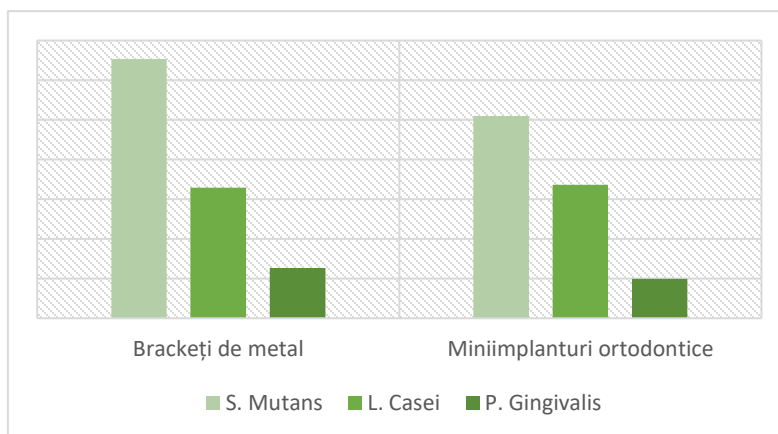
B. Plăcile TSBA pentru *Lactobacillus casei* au fost numărate prin intermediul tehnicii gram-stain și microscopie.

Odată uscate, lamele au fost examinate la microscopie cu câmp luminos pentru a identifica speciile de *Lactobacillus casei*. A fost utilizată magnificarea cea mai mare (400x). Odată identificate, coloniile au fost numărate și înregistrate corespunzător.

C. *Porphyromonas gingivalis* a fost identificat cu ajutorul luminii UV cu lungime de undă mare și a unui reactiv cu tripsină. Placa specifică (TSBA și HK) a fost acoperită cu un strat de reactiv cu tripsină și examinată cu lumină UV. Sub reactiv, toate coloniile *Porphyromonas gingivalis* apar albastru fluorescente la examinarea cu lumină UV. Toate coloniile au fost numărate și înregistrate

Analiza rezultatelor ne-a permis să descoperim diferențe semnificative în ceea ce privește tipul dispozitivului, perioada și tipul bacterian.

Braceții metalici standard au avut un nivel mai mare al aderenței bacteriene spre deosebire de miniimplanturile din titan. Tipurile bacteriene au fost descoperite într-o anumite ordine. Cantitatea cea mai mare a fost de *S. Mutans*, urmat de *L. Casei* și *P. Gingivalis* (graficul nr. 5.1).



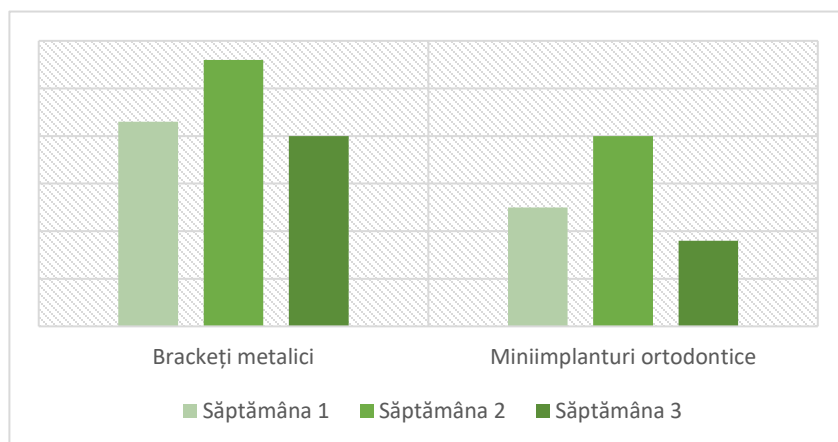
Graficul nr. 5.1 Distribuția culturilor bacteriene în raport cu tipul de dispozitiv ortodontic

Analiza statistică a datelor obținute ne confirmă diferența destul de importantă între cantitatea de bacterii care a aderat pe suprafața braceților metalici și cantitatea de bacterii care a aderat la suprafața miniimplanturilor ortodontice .

Cu toate acestea, coeficientul de corelație statistică nu ne relevă un grad ridicat de semnificație (0,834), ceea ce poate însemna că diferența de adeziune poate fi pusă și pe seama altor factori (nu doar tipul de bacterie), cum ar fi porozitatea metalului sau particularitățile structurale ale braceților, respectiv miniimplanturilor.

Cantitatea diferită de microorganisme care a aderat la cele două suprafețe din studiul nostru in vitro se poate explica prin particularitățile de structură ale pereților celulari și, probabil, prin diferențele existente la nivelul mecanismelor de adeziune specifice fiecărui tip de bacterie în parte.

Cantitatea de bacterii a crescut de la prima la doua săptămână, dar a scăzut spre a treia săptămână (Graficul nr. 5.2).



Graficul nr. 5.2 Distribuția culturilor bacteriene în raport cu timpul

Analiza statistică ne confirmă rezultatele de mai sus, dar nu ne relevă un coeficient statistic semnificativ. Cu alte cuvinte, adeziunea la braceți și sau la miniimplanturi a diferitelor tipuri de bacterii nu este neapărat condiționată de tipul de membrană celulară sau de mecanismele de adeziune, ci este cel mai probabil rezultatul unui cumul de factori ca de exemplu structura metalului sau rugozitatea suprafețelor de contact.

Date obținute de noi s-au corelat cu cele din faza in-vivo a studiului. Modelul pentru etapa in-vitro a funcționat și a avut corelație clinică semnificativă și poate fi din acest motiv utilizat pentru studii clinice viitoare.

5.4 Discuții

Studiul a arătat o creștere inițială a acumulării de bacterii pe braceți și miniimplanturi și o scădere a aderenței pe parcurs. S-a demonstrat că miniimplantul a avut cantități relativ similare de acumulare bacteriană comparativ cu braceții standard (cu valori ușor crescute, totuși).

Concluziile tezei de doctorat. Direcții practice de aplicare a studiului

Nu există diferențe semnificative între tipul dispozitivului și aderența bacteriană in-vivo.

Nu au existat diferențe semnificative privind perioada și acumularea bacteriană in-vivo. A existat o creștere inițială a aderenței bacteriene la dispozitive de la prima la a doua lună urmată de o descreștere în acumularea bacteriană între lunile 2 și 3, dar aceste diferențe nu au fost semnificative in-vivo.

Speciile bacteriene descoperite în proporția cea mai mare pe ambele dispozitive au fost *S. Mutans*, urmat de *L. Casei* și *P. Gingivalis*, chiar dacă aceste diferențe nu au fost semnificative in-vivo.

Diferențe semnificative au fost descoperite cu privire la cantitatea de bacterii acumulată pe dispozitive în intervalul de timp. Mai multe bacterii s-au acumulat între săptămâna 1 și 2 și numărul descrește între săptămânile 2 și 3. Această informație se corelează cu rezultatele din studiul in-vitro.

Acumularea bacteriană pe dispozitivele ortodontice continuă să reprezinte o provocare pentru clinicieni în încercarea acestora de a elimina capcanele mecanice ale plăcii. Biofilmele pot evolua la un stadiu patologic, măsurile de igienă orală fiind greu de instaurat la pacienții în tratament ortodontic.

Miniimplantul din titan este un câștig adus ortodonției. Aceste dispozitive pot reprezenta zone de acumulare pentru placa bacteriană și pot irita țesuturile periodontale în regiunile unde sunt plasate. Măsuri stricte de igienă orală trebuie impuse pacienților în tratament ortodontic, iar aceștia trebuie să se arate complianți și să le respecte, indiferent de tipul aparatului.

Având în vedere descoperirile acestui studiu, studii ulterioare ar putea fi inițiate pentru a determina dacă și alte bacterii specifice se acumulează pe aparatele ortodontice. Un studiu al zonei parodontale din jurul implantului din titan ar putea să determine dacă bacterii specifice, dacă sunt, ar putea contribui la pierderea șurubului și importanta sinergiei bacteriene.

Acest studiu ar putea fi extins pentru a implica un număr mai mare de subiecți și pentru a crește cantitatea de date. De asemenea, SEM ar putea fi folosit pentru a arunca o privire în profunzime în ceea ce privește bacteriile și pentru studii 3D. Odată cu plasarea unui număr mai mare de miniimplanturi, studii variate ar putea fi conduse pentru a examina efectele asupra țesutului gingival extern și asupra osului în care sunt plasate.

Bibliografie

1. Abrahamian A. Correction of individual tooth rotations with elastomeric ligatures. J Clin Orthod. 1993; 27(3): 163-3.
2. Alexander RG. The uses of elastics, The Alexander discipline. 1 st ed.Ormco Corporation, 1986.
3. Al-Faham AMM. Force decay of elastomeric ligatures. Master thesis, College of Dentistry, University of Baghdad, 2002.
4. Al-Khafaji AJ. Force degradation of elastic ligatures during chlorhexidine application 'In vitro study'. Master thesis, College of Dentistry, University of Baghdad, 2006.
5. Al-Nimri K, Al Habashneh R, Obeidat M. Gingival health and relapse tendency: a prospective study of two types of lower fixed retainers. Aust Orthod J 2009;25:142-146.[33]
6. Andreasen GF, Bishara SE. Comparison of Alastic chain with elastics involved with intra-arch. Molar to molar forces. Angle Orthod. 1970; 40(3): 151-8.
7. Angolkar PV, Kapila S, Duncanson MG, Nanda RS. Evaluation of friction between ceramic brackets and orthodontic wires of four alloys. Am J Orthod Dentofac Orthop. 1990; 98(6): 499-506.
8. Arneberg, P., Ogaard B, Scheie A, Rolla G. Selection of *streptococcus mutans* and *lactobacilli* in an intra-oral human caries model. J.Dent.Res. 1984; 63: 1197-1200.[47]
9. Baccetti T, Franchi L. Friction produced by types of elastomeric ligatures in treatment mechanics with the preadjusted appliance. Angle Orthod. 2006; 76(1): 211-6.
10. Baker KL, Nieberg LG, Weimer LD, Hanna M. Frictional changes in force values caused by saliva substitution. Am J Orthod Dentofac Orthop. 1987; 91(4): 316-20.

11. Balenseifen, J, Madonia J. Study of dental plaque in orthodontic patients. *J.Dent.Res.* 1970; 49: 320-324. [48]
12. Barrer HG. Elastic thread with the Begg technique. *J Cli Orthod.* 1967; 1(11): 122-129
13. Barros SE, Janson G, Chiqueto K, Garib DG, Janson M. Effect of mini-implant diameter on fracture risk and self-drilling efficacy. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2011 Oct;140:e181–92.[27]
14. Baty DL, Storie DJ, Von Fraunhofer JA. Synthetic elastomeric chain. A literature review. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 1994; 105(6): 536-42. 0010
15. Baumgaertel S. Predrilling of the implant site: Is it necessary for orthodontic mini-implants? *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2010 Jun;137(6):825–9.[1]
16. Bazakidou E, Nanda RS, Duncanson MG, Sinha P. Evaluation of frictional resistance in esthetic brackets. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 1997; 112(2): 138-44.
17. Beachey, Edwin. Bacterial Adherence: Adhesin-Receptor Interactions Mediating the Attachment of Bacteria to Mucosal Surfaces. *J.of Infectious Diseases.* 1981; 143: 325-341[33].
18. Bednar JR, Gruendeman GW. The influence of bracket design on moment production during axial rotation. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 1993; 104 (3): 254-61
19. Bedner JR, Gruendeman GW, Sandrik JL. A comparative study of frictional forces between orthodontic brackets and archwires. *Am J Orthod Dentofac Ortho.* 1991; 100(6): 513-22.
20. Bennett JC, Mclaughlin RP. Orthodontic management of the dentition with the preadjusted appliance, 3rd . ed. ISIS Medical media Oxford, 2000.
21. Birnie D, Harradine N. Excellence in orthodontic 2005 lecture course. 17 th ed.Royal College of Physicians, London, 2005.
22. Bishara SE. Text book of orthodontics, 1st ed. Philadelphia. W.B. Saunders, 2001.
23. Bishara SE, Andreasen GF. A comparison of time related forces between plastic alastics and latex elastics. *Angle Orthod.* 1970; 40(4): 319-28.
24. Brantley SA, Salander S, Myers CL, Winders RV. Effects of prestretching on force degradation characteristics of plastic modules. *Angle Orthod.* 1979; 49(1): 37-43.
25. Brooks DG, Hershey HG. Effect of heat and time on stretched plastic orthodontic modules. *J Dent Res.* 1976; Special issue 55B: 363.
26. Burstone C, Goldberg AJ. Maximum forces and deflections from orthodontic appliances. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 1983; 84(2): 95-103.
27. Burstone CJ, Koenig AA. Force systems from an ideal arch. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 1974; 65(3): 270-89.
28. Burstone CJ, Koenig HA. Optimizing anterior and canine retraction. *Am J Orthod Dentofac.* 1976; 70: 1-19.
29. Burstone CJ, Pryputniewicz. Holographic determination of centers of rotation produced by orthodontic forces. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 1980; 77(4): 396-409.
30. Burstone CB. Beta titanium. A new orthodontic alloy. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 1980; 77(2): 121-32.
31. Burstone CG. Variable-modulus orthodontics. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 1981; 80(1): 1-16.
32. Buschang PH, Carrillo R, Ozenbaugh B, Rossouw PE. 2008 survey of AAO members on miniscrew usage. *J Clin Orthod.* 2008 Sep;42(9):513–8.[3]
33. Carranza, FA. *Clinical Periodontology.* W.B.Saunders Company; 1996.[25]
34. Chimenti C, Franchi L, Giuseppe MG, Lucci M. Friction of orthodontic elastomeric ligatures with different dimensions. *Angle Orthod.* 2005; 75(3): 421-5.

35. Cicciafesta V, Sfondini MF, Ricciardi A, Scribante A, Klersy C, Auricchio F. Evaluation of friction of stainless steel and esthetic self-ligating brackets in various bracket-archwire combinations. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 2003; 124(4): 395-402.
36. Clark ET, Calvin C. A combined wire dispenser and ligator. *Brit J Orthod.* 1980; 7: 31-2.
37. Corbett, J., Brown L, Keene H, Horton I. Comparison of *Streptococcus mutans* concentrations in non-banded and banded orthodontic patients. *J.Dent.Res.* 1981; 60: 1936- 1942. [46].
38. Craig RG, Power JM. Restorative dental materials. 11th ed. A Harcourt Health Sciences Company, 2002.
39. Daskalogiannakis J. Glossary of orthodontic terms. 1st ed. Quintessence Publishing Co, 2000.
40. De Franco DJ, Spiller RE, Von Fraunhofer JA. Frictional resistance using Teflon-coated ligatures with various bracket-archwire combinations. *Angle Orthod.* 1995; 65(1): 63-73.
41. DeGenova DC, McInnes-Ledoux P, Weinberg R, Shaye R. Force degradation of orthodontic elastomeric chains-a product comparison study. *Am J Orthod.* 1985; 87(5): 377–84.
42. Dobrin RJ, Kamel IL, Musich DR. Load-deformation characteristics of polycarbonate orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 1975; 67: 24-33.
43. Drescher D, Bourquel C, Schumacher H. Frictional forces between bracket and archwire. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 1989; 96(5): 249-54.
44. Eliades T., Eliades G., Brantley W. Microbial attachment on orthodontic appliances: I. Wettability and early pellicle formation on bracket materials. *Am.J.Orthod.Dentofacial Orthop.* 1995; 108: 351-60. [16]
45. Edwards GD, Davies EH, Jones SP. The ex vivo effect of ligation technique on the static frictional resistance of stainless steel brackets and archwires. *Br J Orthod.* 1995; 22(2): 145-53.
46. Filoche S, Wong L, Sissons CH. Oral biofilms: emerging concepts in microbial ecology. *J Dent Res* 2010;89:8-18. [1].
47. Florvaag B, Kneuert P, Lazar F, Koebke J, Zöller JE, Braumann B, et al. Biomechanical properties of orthodontic miniscrews. An in-vitro study. *Journal Orofac Orthop.* 2010 Feb;71(1):53–67. [26]
48. Gwinnett, J., Ceen R. Plaque distribution on bonded brackets: A scanning microscope study. *Am.J.Orthod.* 1979; 75:667-677.[36].
49. Gjessing P. Biomechanical design and clinical evaluation of a new canine-retraction spring. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 1985; 87: 353-62
50. Hojo K, Nagaoka S, Ohshima T, Maeda N. Bacterial interactions in dental biofilm development. *J Dent Res* 2009;88:982-990.[2].
51. Hazel RJ, Rohan GJ, West VC. Force relaxation in orthodontic archwires. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 1984; 86(5): 396-402.
52. Huang L, Shotwell J, Wang H. Dental implants for orthodontic anchorage. *Am.J.Orthod.Dentofacial Orthop.* 2005; 127: 713-22.
53. Kang Y-G, Kim J-Y, Lee Y-J, Chung K-R, Park Y-G. Stability of mini-screws invading the dental roots and their impact on the paradental tissues in beagles. *Angle Orthod.* 2009.[7]
54. Kanomi, R. Mini-Implant for orthodontic anchorage. *Jour.Clin.Orthod.* 1997; 31: 763-767. [53]

55. Kawahara H, Yamagami A, Nakamura M Jr. Biological testing of dental materials by means of tissue culture, *Int Dent J*. 1968 Jun; 18(2):443-67.[21].
56. Kawahara H. From organization of the academy until today, *Journal of the Japanese Society for Dental Implants*.1978; 1(1): 3-10 (in Japanese)[20].
57. Keim RG, Gottlieb EL, Nelson AH, Vogels DS 3rd. 2008 JCO study of orthodontic diagnosis and treatment procedures, part 1: Results and trends. *J Clin Orthod*. 2008 Nov;42(11):625–40. [4].
58. Kim J-W, Baek S-H, Kim T-W, Chang Y-I. Comparison of stability between cylindrical and conical type mini-implants. Mechanical and histological properties. *Angle Orthod*. 2008 Jul;78(4):692–8.[28]
59. Kolenbrander, P., London J. Adhere today, here tomorrow: Oral bacterial adherence. *J.of Bacteriology*. 1993; 175: 3247-3252.[30]
60. Kyung, S., Choi J, Park, Y. Miniscrew anchorage used to protract lower second molars into first molar extraction sites. *Jour.Clin.Orthod*. 2003; 37: 575-579. [54]
61. Keith O, Kusy RP and Whitley JQ. Zirconia brackets: an evaluation of morphology and coefficients of friction. *Am J Orthod Dentofac Orthop*. 1994; 106(6): 605-14.
62. Kyung, H., Park H, Bae S, Sung J, Kim I. Development of orthodontic micro-implants for intraoral anchorage. *J.Clin.Ortbod*. 2003; 37: 321-328.
63. Kanomi, R. Mini-Implant for orthodontic anchorage. *Jour.Clin.Orthod*. 1997; 31: 763-767.
64. Kyung, S., Choi J, Park, Y. Miniscrew anchorage used to protract lower second molars into first molar extraction sites. *Jour.Clin.Orthod*. 2003; 37: 575-579.
65. Lamont, R., Jenkinson H. Life below the gum line: Pathogenic mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol.Mol.Biol.Rev*. 1998; 62: 1244-163.[50]
66. Lees, A., Rock W, Jensen SB, Loe H. Experimental gingivitis in man. II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. *J.Periodontal Res*. 1966; 1: 1-13. [52]
67. 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;131:705 e711-707.[31].
68. Levin L, Samorodnitzky-Naveh GR, Machtei EE. The association of orthodontic treatment and fixed retainers with gingival health. *J Periodontol* 2008;79:2087-2092.[32].
69. Lindhe J, Berglundh T, Liljenberg B, Marinello C. Experimental breakdown of periimplant and periodontal tissues. *Clin Oral Impl.Res*. 1992; 3: 9-16. [51]
70. Lees, A., Rock W, Jensen SB, Loe H. Experimental gingivitis in man. II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. *J.Periodontal Res*. 1966; 1: 1-13.
71. Marsh PD, Moter A, Devine DA. Dental plaque biofilms: communities, conflict and control *Periodontol* 2000 2010;55:16-35 [9]
72. Marsh PD, Moter A, Devine DA. Dental plaque biofilms: communities, conflict and control. *Periodontol* 2000 2010;55:16-35.
73. Nanda R, Uribe FA. *Temporary Anchorage Devices in Orthodontics*. St. Louis: Mosby; 2008. [19]
74. Naranjo AA, Trivino ML, Jaramillo A, Betancourth M, Botero JE. Changes in the subgingival microbiota and periodontal parameters before and 3 months after bracket placement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2006;130:275 e217-275 e222.
75. Nobbs AH, Lamont RJ, Jenkinson HF. *Streptococcus* adherence and colonization. *Microbiol Mol Biol Rev* 2009;73:407-450.

76. Pandis N, Vlachopoulos K, Polychronopoulou A, Madianos P, Eliades T. Periodontal condition of the mandibular anterior dentition in patients with conventional and self-ligating brackets. *Orthod Craniofac Res* 2008;11:211-215
77. Quirynen M, Bollen C, Papaioannou W, Eldere J, Steenberghe D. The influence of titanium Abutment surface roughness on plaque accumulation and gingivitis: short-term observations. *The Int.J.of Oral and Maxillofac.Implants.* 1996; 11: 169-178.[32]
78. Quirynen M, Bollen C, Papaioannou W, Eldere J, Steenberghe D. The influence of titanium Abutment surface roughness on plaque accumulation and gingivitis: short-term observations. *The Int.J.of Oral and Maxillofac.Implants.* 1996; 11: 169-178.
79. Ring M.E. Pause for a moment in Dental History: A thousand years of dental implants: A definitive history - Part 2. *Compendium* 1995; 16: 1132-1142.[22]
80. Rogers, A. Bacteriocinogeny and the properties of some bacteriocins of *Streptococcusmutans*. *Arch Oral Biol.* 1976; 21: 99-104.[44].
81. Rosen, S., Elkin-Lewis M. Oral microflora in Essential Dental Microbiology. Appletonand Lange, East Norwalk, Connecticut; pp 342-344.[45]
82. Restorative Dental Materials , Robert G. Craig , John M. Powers , ELEVENTH EDITION Copyright O 2002 by Mosby, Inc. XXAA
83. Removable Orthodontic Appliances, K. G. Isaacson, J. D. Muir, R. T. Reed Wright, 2002.
84. Rosenbloom RG, Tinanoff N. Salivary Streptococcus mutans levels in patients before, during, and after orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1991;100:35-37
85. Schreiber B., Griepentrog M, Haustein I, Muller W, Gobel U. Plaque formation on surface modified dental implants. *Clin Oral Implants Res.* 2001; 12: 543-55.[34]
86. Shah, A. P. Effect of miniscrew characteristics (length and outer diameter) and bone properties (cortical thickness) on insertion torque and pullout strength [MS thesis]. St. Louis:Saint Louis University; 2011.[23]
87. Sukontapatipark, W., El-Agroudi M, Selliseth N, Thunold K, Selvig K. Bacterial colonization associated with fixed orthodontic appliances: A scanning electron microscopy study. *Eur.J.Orthod.* 2001; 23: 475-484.[35]
88. Shivapuja PK, Berger J. A comparative study of conventional ligation and self-ligation bracket systems. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 1994; 106(5): 472-80.
89. Samuels RHA, Peak JD. Use of nickel titanium closed coil springs to align unerupted teeth: A case report. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 1998; 113(3): 353-6.
90. Stoodley P, Sauer K, Davies DG, Costerton JW. Biofilms as complex differentiated communities. *Annu Rev Microbiol* 2002;56:187-209
91. Truelove, J. K., Klein, R. I., McKee, C. F., Hollman II, J. H., Howell, L. H., & Greenough, J. A. 1997, *ApJ*, 489, L179.
92. Stolzenberg J. The efficiency of the Russell attachment. *Am J Orthod Oral Surg.* 1946; 32(1): 572-82.
93. Van Gastel J, Quirynen M, Teughels W, Coucke W, Carels C. Influence of bracket design on microbial and periodontal parameters *in vivo*. *J Clin Periodontol* 2007;34:423-431.
94. Weerkamp AH., Van der Mei H, Engelen D, and de Windt C. Properties of bacteria affecting adhesion. *Bacterial Adhesion and Preventive Dentistry.* 1983; 11: 85-97.[31]
95. Whittaker, C., Klier C, Kolenbrander P. Mechanisms of adhesion by oral bacteria. *Annu.Rev.Microbiol.* 1996; 50: 513-52. [29]
96. Wilmes B, Ottenstreuer S, Su Y-Y, Drescher D. Impact of implant design on primary stability of orthodontic mini-implants. *J Orofac Orthop.* 2008 Jan;69(1):42-50. [25]

97. Wilmes B, Rademacher C, Olthoff G, Drescher D. Parameters affecting primary stability of orthodontic mini-implants. *J Orofac Orthop.* 2006 May;67(3):162–74.[24]
98. Wilmes B, Su Y-Y, Sadigh L, Drescher D. Pre-drilling force and insertion torques during orthodontic mini-implant insertion in relation to root contact. *J Orofac Orthop.* 2008 Jan;69(1):51–8. [20]
99. William R. Proffit , *CONTEMPORARY ORTHODONTICS* , copy Right 2000, fourth Edition.
100. Weber, B., Donath K, Fiorellini J, Doppalapudi V, Paquette D, Williams RC. Comparison of healed tissues adjacent to submerged and non-submerged unloaded titanium dental implants. *Clin.Oral Impl.Res.* 1996; 7: 11-19.
101. Zachrisson, B. Clinical implications of recent orthodontic-periodontic research findings. *Semin.Orthod.* 1996; 2, 4-12. [49]