

مقایسه تأثیر جنس براکت‌های ارتودنسی بر میزان رشد و چسبندگی استرپتوکوک موتانس و کاندیدا آلبیکانس

دکتر سیده‌های سجادی	دکتر پروانه عدیمی	دکتر بهنام خسروانی فرد	سمانه بیات
مربی گروه آموزشی ارتودنتیکس	مربی گروه آموزشی میکروبیولوژی	استادیار گروه آموزشی ارتودنتیکس	دانشجوی رشته دندانپزشکی
واحد دندانپزشکی	واحد پزشکی	واحد دندانپزشکی	واحد دندانپزشکی
دانشگاه آزاد اسلامی	دانشگاه آزاد اسلامی	دانشگاه آزاد اسلامی	دانشگاه آزاد اسلامی
	نویسنده مسئول		

خلاصه:

سابقه و هدف: با توجه به گسترش درمان‌های ارتودنسی برای بزرگسالان و تمایل به استفاده از براکت‌های همرنگ دندان به منظور زیبایی بیشتر و وجود شبهات زیاد در خصوص میزان رشد و چسبندگی میکروارگانیسم‌ها به این نوع از براکت‌ها، این تحقیق با هدف مقایسه تأثیر جنس براکت‌های مختلف ارتودنسی (فلز و سرامیک) بر میزان رشد و چسبندگی استرپتوکوک موتانس و کاندیدا آلبیکانس انجام شد.

مواد و روش‌ها: تحقیق به صورت experimental روی ۷۲ نمونه انجام گرفت. دونوع براکت فلزی و سرامیکی مربوط به دندان‌های پره مولر استفاده شدند. استرپتوکوک موتانس، کاندیدا آلبیکانس و تلفیق هر دو، مورد مطالعه قرار گرفتند. plateهای شیشه‌ای کوچک حاوی محیط کشت Nutrient broth به علاوه ۲۰٪ سوکروز اضافه با یکی از سه سوسپانسیون میکروبی تلقیح شدند. براکت‌ها داخل plateها قرار داده شدند. نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه به مدت ۵ روز انکوبه شدند. سپس براکت‌ها خارج شده و plateها تخلیه شدند. تعداد colony forming unit (CFU)های چسبیده به شیشه به صورت چشمی شمارش شدند. تعدادی از براکت‌ها با میکروسکوپ الکترونی بررسی شدند.

یافته‌ها: تحقیق روی ۷۲ نمونه انجام گرفت. چسبندگی میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه در حضور براکت‌های فلزی کاهش و در حضور براکت‌های سرامیکی افزایش پیدا کردند. ($P < 0.001$) بررسی با میکروسکوپ الکترونی نیز این نتایج را تأیید کرد.

نتیجه‌گیری: میزان رشد و چسبندگی استرپتوکوک موتانس و کاندیدا آلبیکانس در حضور براکت‌های ارتودنسی با جنس‌های مختلف، متفاوت است. لذا پیشنهاد می‌شود در گروهی از بیماران با ریسک عفونت‌های کاندیدا مثل بیماران دیابتی و یا شرایط سرکوب ایمنی و همچنین در مواردی که کاهش ریسک پوسیدگی و بیماری‌های پریدنتال مدنظر است، از براکت‌های فلزی استفاده شود.

کلید واژه‌ها: براکت‌های ارتودنسی، براکت‌های فلزی، براکت‌های سرامیکی، کاندیدا آلبیکانس، استرپتوکوک موتانس.

Email: hsajjadi3@gmail.com

مقدمه

این میان، براکت‌های ارتودنسی، شایع‌ترین اپلاینس‌هایی هستند که نقش معناداری در این تجمع بازی می‌کنند (۳ و ۴). توزیع پلاک میکروبی روی براکت‌های باند شده، اولین بار در سال ۱۹۷۹ مورد بررسی قرار گرفت (۵). به منظور کاهش تجمع

یکی از نگرانی‌های جامعه دندانپزشکان، دیمینرالیزاسیون مینا یا ضایعات سفید مینایی ایجاد شده متعاقب افزایش تجمع پلاک میکروبی اطراف اپلاینس‌های ارتودنسی می‌باشد (۱ و ۲). در

مواد و روش‌ها

مطالعه به روش تجربی و در شرایط *in Vitro* انجام گرفت. تکنیک جمع‌آوری داده‌ها به صورت *observation* به همراه تکمیل فرم‌های اطلاعاتی بوده است. سوش‌های استاندارد لیوفیلیزه استرپتوکوک موتانس ATCC 35668 و کاندیدا آلیکانس ATCC 10231 از مرکز پژوهش‌های علمی - صنعتی ایران تهیه شد. ۲cc محیط Todd Hewitt broth استریل به روی سوش استرپتوکوک موتانس ریخته شد. بعد از ۲ ساعت نگهداری در دمای محیط، Subculture به *plate* حاوی محیط Blood agar منتقل شد تا کلونی خالص در دسترس قرار گیرد. سپس *plate* در دمای 37°C به مدت ۲۴ ساعت تا زمان مشاهده کلونی‌های کوچک و آلفا همولیتیک استرپتوکوک موتانس، انکوبه شد. برای قارچ کاندیدا آلیکانس به روی سوش استاندارد لیوفیلیزه، ۲cc از محیط Saboreau dextrose broth استریل ریخته شد. بعد از ۲۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط، subculture به *plate* حاوی محیط سابورو دکستروز آگار منتقل شد. *plate* در دمای 37°C به مدت ۴۸ ساعت در شرایط هوایی تا زمان مشاهده کلونی‌های کاندیدا آلیکانس، انکوبه شد. از کلونی‌های تازه بدست آمده، سوسپانسیون‌هایی با غلظت 10^5 cfu/ml برای باکتری و cfu/ml برای قارچ تهیه شد. برای تهیه نمونه‌ها از دو نوع براکت ارتودنسی شامل یک نوع براکت فلزی و یک نوع براکت سرامیکی که هر دو از سیستم استاندارد 18 *edgwise* مربوط به دندان‌های پره مولر و ساخت کارخانه دنتاروم آلمان بودند، استفاده شد. براکت‌ها توسط اتوکلاو استریل شدند. محیط‌های کشت شامل *plate*‌های شیشه‌ای کوچک اتوکلاو شده با قطر $5/5 \text{ cm}$ محتوی 15 cc Nourient broth استریل به

پلاک در بیماران ارتودنسی، رعایت بهداشت دهان و استفاده از روش‌های کنترل پلاک مکانیکی و همین‌طور استفاده از دهانشویه‌های مناسب توصیه می‌شود (۶ و ۷ و ۸). از آنجایی که استرپتوکوک موتانس یکی از اجزای اصلی تشکیل‌دهنده پلاک دندانی است (۹ و ۱۰) و حضور قارچ کاندیدا نیز در پلاک دندانی به اثبات رسیده است (۱۱)، بنابراین افزایش تجمع پلاک می‌تواند تبعاتی از قبیل دیمیرالیزاسیون مینا یا ضایعات سفید مینائی (۱ و ۲) و همین‌طور عفونت‌های قارچی دهان مثل کاندیدایازیس را در پی داشته باشد (۱۲).

بنابراین بررسی چسبندگی میکروارگانیزم‌ها به انواع براکت‌ها به منظور پیشرفت در روش‌های پیشگیری از این ضایعات در طول درمان‌های ارتودنسی حائز اهمیت می‌باشد (۴). بیشتر تحقیقات انجام شده در زمینه امکان رشد کاندیدا آلیکانس و استرپتوکوک موتانس روی اپلاینس‌های متحرک انجام شده (۱۳ و ۱۴ و ۱۵) و مطالعات اندکی راجع به بقای آن‌ها روی اپلاینس‌های ثابت انجام گرفته که این مطالعات هم نتایج ضد و نقیضی گزارش داده‌اند. برخی تحقیقات تمایل اولیه استرپتوکوک موتانس را به براکت‌های فلزی کمتر از انواع پلاستیکی و پرسلنی اعلام کردند (۱۶). درحالی‌که برخی دیگر تفاوت معناداری میان براکت‌های فلزی و سرامیکی پیدا نکردند (۱۷). با توجه به تناقضات فوق و خلاء اطلاعاتی، در تحقیق حاضر به میزان رشد و چسبندگی استرپتوکوک موتانس و کاندیدا آلیکانس و بررسی تأثیر ترکیبات مختلف براکت‌ها (فلز و سرامیک) بر آن در شرایط آزمایشگاهی در دانشکده پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی در سال ۱۳۸۷ پرداختیم.

یافته‌ها

در این تحقیق تعداد ۷۲ نمونه مورد مطالعه قرار گرفت. ۲۴ عدد براکت فلزی، ۲۴ عدد براکت سرامیکی و ۲۴ عدد plate بدون براکت به عنوان گروه کنترل بررسی شدند. نتایج حاصل از این تحقیق در جدول ۱ آورده شده است.

جدول (۱): میزان رشد و چسبندگی میکروارگانیزم‌ها بر حسب جنس براکت و به تفکیک نوع سوسپانسیون میکروبی (در تمام خانه‌های جدول، میانگین و انحراف معیار تعداد کلونی‌ها بر حسب cfu/ml ارائه شده است).

جنس براکت	میزان رشد و چسبندگی میکروارگانیزم		
	کاندیدا آلیکانس	استرپتوکوک موتانس	تلفیق هر دو
فلزی	۵/۵ ± ۱/۴۱	۴۵ ± ۳/۳۸	۳۶/۵ ± ۳/۱۶
سرامیکی	۸/۷۵ ± ۱/۴۸	۵۸ ± ۳/۲۰	۵۰/۷۵ ± ۳/۰۱
بدون براکت	۵ ± ۱/۵۱	۴۹ ± ۳/۸۵	۴۱/۲۵ ± ۲/۱۸

با توجه به نتایج آزمون Kolmogrov Smirnov مبنی بر نرمال بودن توزیع داده‌ها، جهت آنالیز آماری از آزمون Anova و تست Tukey HSD استفاده شد. تفاوت در میزان رشد و چسبندگی میکروارگانیزم‌ها در حضور دو نوع براکت فلزی و سرامیکی از لحاظ آماری معنی‌دار بود. ($p < 0.001$)

در مورد سوسپانسیون استرپتوکوک موتانس، تعداد cfu/ml برای براکت‌های فلزی کمتر از گروه کنترل و برای گروه کنترل کمتر از براکت‌های سرامیکی بود که در این میان تفاوت براکت‌های فلزی با گروه کنترل از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p > 0.05$) و در سایر موارد این تفاوت معنی‌دار بود ($p < 0.05$)

(جدول ۲) Tukey HSD

علاوه ۲۰٪ سوکروز اضافه بود. محیط مورد استفاده این امکان را به استرپتوکوک می‌دهد که از سوکروز، گلوکان بسازد که باعث چسبیدن به سطح شیشه‌ای plate می‌شود. قبل از گذاشتن هر سری از نمونه‌ها، محیط کار توسط روشن کردن لامپ U.V به مدت ۶ ساعت، استریل شد. آزمایش درسه گروه انجام گرفت. هر گروه شامل ۲۴ عدد plate حاوی محیط کشت بود. هر کدام از گروه‌ها با 5×10^6 از یکی از سه سوسپانسیون میکروبی تهیه شده (استرپتوکوک موتانس، کاندیدا آلیکانس و یا تلفیق هر دو) تلقیح شدند. Plateها کدگذاری شدند. در هر گروه ۸ عدد براکت فلزی و ۸ عدد براکت سرامیکی به طور تصادفی داخل ۱۶ عدد از Plateها قرار گرفتند و ۸ plate فاقد براکت به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. مراحل کار در مجاورت انکوباتور انجام گرفت. Plateها به منظور حفظ آن‌ها در یک موقعیت ثابت، داخل یک سینی قرار داده شدند. نمونه‌ها به مدت ۵ روز در دمای ۳۷ درجه انکوبه شدند و Plateها به منظور شمارش کلونی‌های چسبیده به شیشه، سروته شدند. تعداد colony forming units به طور چشمی شمارش شد و نتایج به صورت تعداد cfu/ml در فرم اطلاعاتی بیان شد (۱۸). تعدادی از براکت‌ها برای آماده‌سازی جهت مشاهده با میکروسکوپ الکترونی رویشی (SEM) به مدت ۲۴ ساعت در فرمالدهید ۴٪ Fix شدند. سپس ۱۲ ساعت در بافر فسفات M ۰/۱ قرار گرفتند. بعد از دهیدراتاسیون با graded اتیل الکل و خشک کردن، نمونه‌ها با پوششی از طلا پوشانده شدند (۱۹) و زیر میکروسکوپ الکترونی رویشی (SEM) مدل XL30 ساخت شرکت Philips هلند با ولتاژ ۱۵ kv مشاهده و عکسبرداری شدند. جهت قضاوت آماری و مقایسه نتایج از آزمون Anova و تست تکمیلی آن استفاده شد.

جدول (۴): تعداد کلونی‌های تلفیق دو میکروب چسبیده به

plate بر حسب نوع پراکت (cfu/ml)

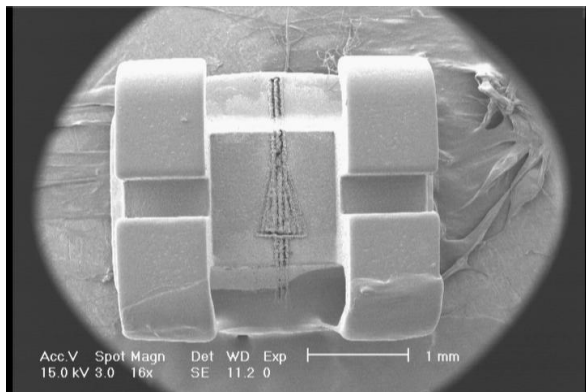
Subset tor alpha= .05			تعداد	پراکت
۳	۲	۱		
	۵/۵	۳۶/۵	۸	فلزی
	۴۱/۲۵		۸	کنترل
۵۰/۷۵			۸	سرامیکی
۱	۱	۱		Sig.

جدول (۲): تعداد کلونی‌های استرپتوکوک موتاس چسبیده به

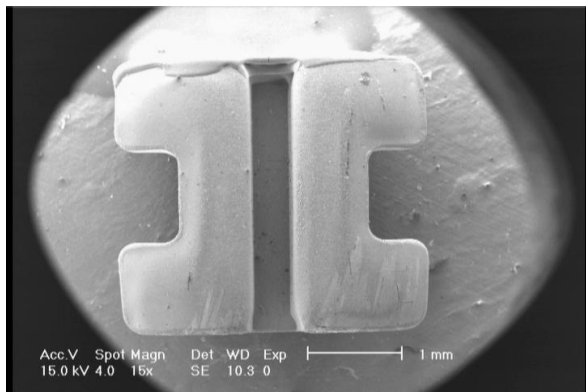
Plate بر حسب نوع پراکت (cfu/ml)

Subset tor alpha= .05			تعداد	پراکت
۲	۱			
	۴۵		۸	فلزی
	۴۹		۸	کنترل
۵۸			۸	سرامیکی
۱	۰/۰۷۹			Sig.

تصاویر میکروسکوپ الکترونی:



پراکت فلزی: تقریباً هیچ کلونی‌ای روی آن دیده نمی‌شود.



پراکت سرامیکی: به تجمع کلونی‌ها در ناحیه slot توجه کنید.

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق مشخص نمود که میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه چسبندگی بیشتری نسبت به

در مورد سوسپانسیون کاندیدا آلبیکانس، تعداد cfu/ml در حضور هر دو پراکت فلزی و سرامیکی نسبت به گروه کنترل، افزایش پیدا کرد که این اختلاف در مورد پراکت‌های سرامیکی، معنی‌دار بوده ($p < 0.05$) ولی در مورد پراکت‌های فلزی معنی‌دار نیست. ($p > 0.05$) (جدول ۳) Tukew HSD

جدول (۳): تعداد کلونی‌های کاندیدا آلبیکانس چسبیده به

Plate بر حسب نوع پراکت (cfu/ml)

Subset tor alpha= .05			تعداد	پراکت
۲	۱			
	۵/۵		۸	فلزی
	۵		۸	کنترل
۸/۷۵			۸	سرامیکی
۱	۰/۷۷۸			Sig.

در مورد سوسپانسیون تلفیق دو میکروب، تعداد cfu/ml به طور معناداری در گروه پراکت‌های فلزی کمتر از گروه کنترل و در گروه کنترل کمتر از گروه پراکت‌های سرامیکی بود. ($p < 0.05$) (جدول ۴) Tukey HSD

ویژگی‌های بیولوژیک گونه‌های مختلف میکروارگانیزم‌ها مربوط باشد. **Adury** و همکارانش در تحقیقات خود تفاوت معناداری میان براکت‌های فلزی و سرامیکی از نظر گونه‌های پوسیدگی‌زا، استرپتوکوک موتانس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بدست نیاوردند (۱۷). امتیاز این مطالعه در انجام آن به صورت *in vitro* است ولی شاید دلیل اختلاف نتایج آن با مطالعه حاضر، عدم یکسان‌سازی نمونه‌ها و در نظر نگرفتن متغیرهای مداخله‌گر مانند بهداشت فردی نمونه‌ها در آن مطالعه باشد. به علاوه در آن تحقیق تعداد نمونه‌ها برای براکت فلزی ۳۲ عدد و برای سرامیکی ۲۴ عدد بوده است که این اختلاف ۸ تایی می‌تواند نتایج را مخدوش کند.

شاید دلیل نتایج مطالعه ما، سطح خشن‌تر و کمتر صیقلی براکت‌های سرامیکی نسبت به انواع فلزی باشد. به‌عنوان توجیه دیگر می‌توان به تحقیقات **Van Dijk** و همکارانش اشاره کرد که طبق آن انرژی سطحی مواد نیز بر روی کلونیزاسیون میکروارگانیزم‌ها مؤثر است. هر چه میزان این انرژی بیشتر باشد باعث تمایل بیشتر میکروارگانیزم‌ها می‌شود (۲۳). طبق گزارش **lee** و همکارانش در بین براکت‌های مختلف، انرژی سطحی براکت‌های فلزی کمتر از سرامیکی است (۲۴). مطالعه حاضر همچنین نشان می‌دهد که با وجود مکانیزم متفاوت کلونیزاسیون در باکتری و قارچ، وقتی میکروارگانیزم‌ها در کنار یکدیگر قرار گرفتند، روی یکدیگر اثر سینرژیستیک اعمال کردند که این نتیجه مشابه تحقیق **Buca** و همکاران بود (۱۸). **Pecira-ceni** و همکاران نیز در مطالعه‌ای گزارش کردند که حضور استرپتوکوک موتانس تعداد **cfu**های کاندیدا آلبیکانس را در محیط‌های مختلف افزایش می‌دهد (۲۵).

براکت‌های سرامیکی دارند. **Buca** و همکاران نیز در تحقیقی تأثیر جنس براکت‌های مختلف سرامیکی، کامپوزیتی و فلزی را روی چسبندگی استرپتوکوک موتانس و کاندیدا آلبیکانس بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که چسبندگی استرپتوکوک موتانس به همراه کاندیدا آلبیکانس در حضور براکت‌های کامپوزیتی بیشتر از سرامیکی و در حضور براکت‌های سرامیکی بیشتر از فلزی است (۱۸). در تحقیق ما روش کار، سوش‌های میکروبی و محیط‌های کشت با تحقیق فوق مشابهت داشت. **Fumar** و همکاران نیز مطالعه‌ای روی چسبندگی استرپتوکوک موتانس به انواع براکت‌ها انجام دادند که در آن تمایل اولیه میکروارگانیزم به براکت‌های فلزی به طور معناداری کمتر از براکت‌های پلاستیکی و پرسلنی گزارش شده است (۱۶). در تحقیقی که **Card** و همکارانش انجام داده‌اند مشخص شده است که براکت‌های سرامیکی باعث چسبندگی بیشتر میکروارگانیزم‌ها نسبت به براکت‌های فلزی می‌شوند و بیشترین نسبت میکروب‌های بی‌هوازی به میکروب‌های هوازی مربوط به این دسته از براکت‌هاست (۲۰). در تحقیق **Rosritt** و همکاران چسبندگی استرپتوکوک موتانس بر روی مواد دندانی دیگر مورد مطالعه قرار گرفته است. این مطالعه مواد دندانی را در سه گروه عمده کامپوزیت، سرامیک و آلیاژ بررسی کرده است و چسبندگی استرپتوکوک موتانس را به ترتیب در کامپوزیت بیشترین و در آلیاژ کمترین گزارش داده است (۲۱). **Koerschid** و همکاران چسبندگی **Ips** باکتری‌های **Ecidi** و **pingivalis** را به براکت‌های مختلف استیل، پرسلن، پلاستیک و طلا بررسی کرده‌اند و نشان دادند که **Ips** آن‌ها به براکت‌های **SS** در مقایسه با سایر براکت‌ها تمایل بیشتری دارد (۲۲). که با نتایج مطالعه ما متفاوت است. شاید این اختلاف به منابع:

1. Gorelick L , Geiger AM , Gwinnett AJ .Incidence of white spot formation after bonding and banding . AM J Orthod . 1982 Feb ; 81(2): 93-8.
2. Artun J , Brobakken B . Prevalence of carious white spots after orthodontic treatment with multibonded appliances . Eur J Orthod .1986 Nov; 8(4): 229-34 .
3. Ahn SJ , Lim BS, Less SJ . Prevalence of cariogenic streptococci on incisor brackets detected by polymerase chain reaction. Am J Orthod Dentofacial Orthop . 2007 Jun;131(6) : 736-41 .
4. Ahn SJ , Lim BS , Yang HC , Chang YI . Quantitative analysis of the adhesion of cariogenic streptococci to orthodontic metal brackets . Angle Orthod . 2005 Jul; 75(4):666-71.
5. Gwinnett AJ , Ceen RF . Plaque distribution on bonded brackets : a scanning microscope study . AM J Orthod . 1979 Jun ; 75(6):667-77 .
6. Wisth P.J , Nord A. Caries experience in orthodontically treated individuals . Angle Orthod . 1977 Jan ; 47(1):59-64 .
7. Geiger AM , Gorelick L , Gwinnett AJ , Benson BJ . Reducing white spot lesions in orthodontic populations with fluoride rinsing .Am J Orthod Dentofacial Orthop . 1992 May ; 101(5) :403-7 .
8. Ogaard B , Rolla G , Arends J , Ten cate JM . Orthodontic appliances and enamel demineralization. Part 2 . prevention and treatment of lesions . AM J Orthod Dentofacial Orthop . 1988 Aug ; 94(2) : 123-8 .
9. Babaahmady KG , Challacombe SJ , Marsh PD . Newman HN . Ecological study of streptococcus mutans , streptococcus sobrinus and lacto bacillus spp .at sub-sites from approximal dental plaque from children. Caries Res. 1998; 32(1) : 51-8 .
10. Atack NE , Sandy JR , Addy M . Periodontal and microbiological changes with the placement of orthodontic appliances. A review . J Periodontal . 1996 Feb ; 67(2) : 78-85.
11. Hodson JJ , Craig GT . The incidence of candida albicans in the plaques of teeth of children . Dental Practitioner and Dental Record . 1972 Apr ; 22(8) : 296-301 .
12. Burket LW , Greenberg MS , Glick M . Burket's oral medicine diagnosis & treatment . 10th Ed . 2003 .
13. Arendorf T , Addy M . Candidal carriage and plaque distribution before , during and after removable orthodontic appliance therapy . J Clin Periodontol . 1985 May ; 12(5) :360-8.
14. Bialasiewicz D , kurnatowska A , smiech -słomkowska G . Characteristics of fungi and attempts of their elimination from the oral cavity in children treated with orthodontic appliances . Med Dosw Mikrobiol . 1993 ; 45(3):389-92 .

15. Batoni G , Pardini M , Giannotti A , Ota F , Giuca MR , Gabriele M , Campa M , Senesi S . Effect of removable orthodontic appliances on oral colonisation by mutans streptococci in children. *Eur J Oral Sci* . 2001 Dec ; 109(6) : 388-92.
16. Fournier A , payant L , Bouclin R . Adherence of streptococcus mutans to orthodontic brackets . *Am J Orthod Dentofacial Orthop* . 1998 Oct ; 114(4) :414-7 .
17. Ahoy P, Nilsson D, Higgs C, Svanby S, Fries M, Cull L. **Microbial profile on Malican ceramic bracket materials. *Angle Orthod* 2002 Aug; 72(4):384B.**
18. Brusca M.I , Chara O , Sterin –Borda L , Rosa A.C . Influence of different orthodontic brackets on adherence of microorganisms in vitro. *Angle Orthod* . 2007 Mar ; 77(2) : 331-6 .
19. Sukontapatipark w , EL- Agroudi MA , Selliseth NJ , Thunold k , Selvig k.A . Bacterial colonization associated with fixed orthodontic appliances . A scanning electron microscopy study . *Eur J Orthod* . 2001 Oct ; 23(5):475-84 .
20. Gastel JV , Quirynen M , Teughels W , Pauwels M , Coucke W , Carels C . Microbial adhesion on different bracket types in vitro . *Angle Orthod* . 2009 ;79(5):915-21.
21. Rosentritt M , Hahnel S , Groger G , Muhlriedel B, Burgers R, Handel G. Adhesion of streptococcus mutans to various dental materials in a laminar flow chamber system . *J Biomed Mater Res Part B:Appl Biomater* . 2008 Jul ; 86(1):36-44 .
22. Knoernschild KL , Rogers HM , Lefebvre CA , Fortson WM , Schuster GS . Endotoxin affinity for orthodontic brackets . *AM J Orthod Dentofacial Orthop* . 1999 Jun ; 115(6):634-9 .
23. Van Dijk J , Herkstroter F, Busscher H ,Weerkamp A ,Jansen H , Arends J. Surface-free energy and bacterial adhesion. An in vivo study in beagle dogs. *J Clin Periodontol*. 1987 May; 14(5):300-4.
24. Lee SP ,Lee SJ , Lim BS , Ahn SJ. Surface characteristics of orthodontic materials and their effect on adhesion of mutans streptococci . *Angle Orthod* . 2009 Mar ; 79(2):353-60
Pereira-Cenci T, Deng DM , Kraneveld EA , Manders EM , DelBel Cury AA , Ten Cate JM , Crielaard W . The effect of streptococcus mutans and candida glabrata on candida albicans biofilms formed on different surfaces . *Arch Oral Biol*. 2008 Aug ; 53(8):755-64