

FARKLI BRAKET VE LİGASYON TİPLERİNİN STREPTOCOCCUS MUTANS ADEZYONU ÜZERİNE ETKİLERİNİN İN VİTRO OLARAK İNCELENMESİ

IN VITRO EVALUATION OF THE ADHESION OF *STREPTOCOCCUS MUTANS* TO DIFFERENT BRACKET AND LIGATION TYPES

Mine GEÇGELEN CESUR¹, Murat TELLİ², Törün ÖZER¹,

¹Adnan Menderes Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ortodonti Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye.

²Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye.

Cite this article as: Geçgelen Cesur M, Telli M, Özer T. In vitro evaluation of the adhesion of *Streptococcus mutans* to different bracket and ligation types. Med J SDU 2019; 26(2): 189-194.

Öz

Amaç

Bu çalışmanın amacı metal ve seramik kendinden bağlamalı braket sistemleri ile paslanmaz çelik tel ya da elastik ligatür ile bağlanmış klasik braket sistemlerinin *Streptococcus mutans* adezyonu üzerine etkilerini değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem

Çalışmamızda 40 adet metal klasik, 40 adet seramik klasik, 20 adet metal kendinden bağlamalı ve 20 adet seramik kendinden bağlamalı premolar braketleri kullanılmıştır. Metal ve seramik braketlerin 20 adeti paslanmaz çelik tel ligatür ile, diğer 20 adeti de elastik ligatür ile bağlanmıştır. *S. mutans* adezyonu mikrobiyolojik kültür tekniği ile değerlendirilmiştir.

Bulgular

S. mutans bakteri sayıları bakımından braket grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmaktadır ($p<0.001$). En yüksek *S. mutans* bakteri sayısı elastik ligatür ile bağlanmış seramik braket grubunda, en düşük *S. mutans* bakteri sayısı ise paslanmaz çelik tel ligatür ile bağlanmış metal braket ve kendinden bağlamalı metal braket gruplarında ölçülmüştür.

Sonuç

Daha az plak retansiyon alanına sahip braket tasarımlarının kullanılması ya da plak birikiminin artma-

sına neden olan elastik ligatürler yerine paslanmaz çelik tel ligatürlerin tercih edilmesi mikrobiyal kolonizasyonu azaltarak ağız hijyeninin korunmasına katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Ortodontik braket, Ligatür telleri, Mikrobiyal kolonizasyon

Abstract

Objective

The aim of this study was to evaluate the effects of metal and ceramic self-ligating bracket systems and conventional bracket systems ligated with stainless steel wire and elastic ligatures on the adhesion of *Streptococcus mutans*.

Material and Method

In our study, 40 metal conventional, 40 ceramic conventional, 20 metal self-ligating and 20 ceramic self-ligating premolar brackets were used. Twenty of metal and ceramic brackets were tied with stainless steel wire ligature and the other 20 are connected with elastic ligature. Adhesion of *S. mutans* was assessed by a microbiological culture technique.

Results

There are statistically significant differences between bracket groups in terms of bacterial counts of *S. mutans* ($p<0.001$). The highest bacterial count of *S. mutans* was measured in the ceramic bracket tied with

İletişim kurulacak yazar/Corresponding author: minegecgelen@hotmail.com

Müracaat tarihi/Application Date: 03.09.2018 • Kabul tarihi/Accepted Date: 05.10.2018

©Copyright 2018 by Med J SDU - Available online at <http://dergipark.gov.tr/sdutfd>

©Telif Hakkı 2018 SDÜ Tıp Fak Derg - Makaleye <http://dergipark.gov.tr/sdutfd> web sayfasından ulaşılabilir.

elastic ligature group, the lowest bacterial count of *S. mutans* was measured in the metal bracket tied with stainless steel ligature and metal self-ligating bracket groups.

Conclusion

The use of bracket designs with less plaque retention

area or the preference of stainless steel wire ligatures instead of the elastic ligatures that lead to increased plaque accumulation will contribute to preservation of oral hygiene by reducing microbial colonization.

Keywords: Orthodontic bracket, Ligature wires, Microbial colonization

Giriş

Ortodontik tedavi sırasında kullanılan apareyler ağız hijyenini olumsuz yönde etkilemektedir. Sabit ortodontik tedavide bant, braket ve ark tellerinin oral kaviteye yerleştirilmesi yeni retansiyon alanları oluşturarak oral hijyen işlemlerini güçleştirmekte ve mikrobiyal dental plak birikimine neden olmaktadır. Dental plak dişeti iltihabı ve periodontitis oluşumunda birincil etiyolojik faktör olarak kabul edilmektedir (1,2).

Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, diş çürüğü prevalansı ile plak veya tükürükte bulunan *Streptococcus mutans* sayısı yüksek korelasyon göstermiştir. *S. mutans*, çocuklarda ve erişkinlerde mine çürüğünün etyolojisinden sorumlu primer patojendir (3-5). Sabit ortodontik tedavi gören hastaların dental plağında *S. mutans* sayısının tedavi süresince, tedavi öncesine ve sonrasında göre daha fazla olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmektedir (5-7).

Ortodontik diş hareketinin sağlanabilmesi için ark tellerinin braket slotlarına ligatüre edilmesinde paslanmaz çelik tel ligatürler, elastik ligatürler ya da kendinden bağlamalı braketler kullanılmaktadır. Ortodontik braket materyali ve dizaynı, ligatürleme şeklinin değişken olmasına bağlı olarak plak adezyonu ve diş eti iltihabı oluşumunda değişkenlik gözlenmektedir (4,8).

Paslanmaz çelik tel ligatürlerin şeklini ve dayanıklılığını koruyarak sıkı bir ligatürleme sağlaması, mikrobiyal dental plak birikiminin daha az olması ve elastik ligatürlere göre daha kolay temizlenmesi gibi avantajları bulunmaktadır (9). Ancak en büyük dezavantajı ligatürleme işleminin uzun sürmesi ve yorucu olmasıdır (10). Elastik ligatürler kullanım kolaylığı ve ligatürleme işleminin hızlı olması nedeniyle sıklıkla tercih edilmektedirler ancak ağız hijyeni yeterli olmayan hastalarda elastik ligatürlerin mikrobiyal dental plak birikimini artırdığı ve temizliğinin zor olduğu bildirilmektedir (2,11).

Kendinden bağlamalı braket sistemleri klasik braket sistemlerinde yer alan paslanmaz çelik tel ya da elastik ile ligatürleme işlemini ortadan kaldırarak plak birikimini azalttığından hastalara kolay temizleme imkanı

sunmaktadır (12). Ancak bazı araştırmacılar pratikte bu avantajın ortadan kalkacağını ve kendinden bağlamalı braket sistemlerinde yer alan açılma ve kapanma mekanizmalarının plak birikimi için uygun alanlar olabileceğini bildirmektedirler (13).

Bu bilgiler ışığında çalışmamızın amacı; farklı braket ve ligasyon tiplerinin *S. mutans* adezyonu üzerine etkilerinin kültür tekniği ile incelenmesidir.

Gereç ve Yöntem

Çalışmamız Adnan Menderes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti Anabilim Dalı'nda yürütülmüştür. Çalışmanın yürütülebilmesi için Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul kararı alınmıştır (2012/123).

Çalışmamızda 0.022 inç slotlu 40 adet metal klasik (Gemini, 3M Unitek, Monrovia,

CA,USA), 40 adet seramik klasik (Clarity Advanced, 3M Unitek, Monrovia,

CA,USA), 20 adet metal kendinden bağlamalı (Empower, AO, Sheboygan, WI, USA) ve 20 adet seramik kendinden bağlamalı (Empower, AO, Sheboygan, WI, USA) premolar braketleri kullanılmıştır. Metal ve seramik braketlerin 20 adeti paslanmaz çelik tel ligatür ile, 20 adeti de elastik ligatür ile bağlanmıştır. Farklı braket çeşitleri ve ligasyon tipleri ile oluşturulan gruplar Tablo 1'de gösterilmiştir.

Oral Bakteri İzolasyonu

S. mutans izolasyonu için ortodontik tedavi gören hastaların ağız içinden molar dişler interproximal alandaki dental plak örnekleri steril eküvyon ile alınmıştır. Örneklerin Schaedler agar (Becton Dickinson, ABD) ve basitrasinli çukulata agar (Becton Dickinson, ABD) besiyerlerine ekimleri yapılmıştır. Petriyerler aerob ve anaerob ortamda 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Besiyerinde üreyen alfa-hemoliz özelliğine sahip şüpheli kolonilerden gram boyama ve katalaz testi yapılmıştır. Katalaz negatif, zincir yapmış Gram pozitif kokların tür düzeyinde tanımlanması için fenotipik

yöntemlerle, gram pozitif ticari tanımlama kiti (BD BBL Crystal Gram-positive ID kit, Becton Dickinson, ABD) kullanılmıştır. İzole edilen *S. mutans* suşları çalışmaları yapıncaya kadar -80°C'de süt kaymağı besiyerinde (Becton Dickinson, ABD) saklanmıştır. Adezyon çalışmalarından önce stok kültürlerden alınan bakteri suşları %5 koyun kanlı agar (Becton Dickinson, ABD), %5 CO₂'li ortamda inkübe edilip canlandırılmıştır.

Adezyon Çalışmaları

Hücre kültür plaklarına konulan braketler üzerine brain-heart infüzyon broth'da (Becton Dickinson, ABD) konsantrasyonu yaklaşık 108 koloni oluşturan ünite (cfu)/ml olacak şekilde hazırlanan bakteri süspansiyonundan 10 ml ilave edilmiştir. Mikrobiyal adezyon için %5 CO₂'li ortamda 37°C'de 90 dakika inkübe edilmiştir. Süre sonunda adere olmayan bakterilerin uzaklaştırılması için 2 defa PBS ile yıkama yapılmıştır. Daha sonra adere olmuş bakterileri ayırmak için 5 ml %0.25 tripsin/EDTA ilavesi yapılmıştır. 45 dakika 37°C'de inkübe edilmiştir. Bu solüsyondan seri dilüsyonlar hazırlanıp %5 koyun kanlı agara ekim yapılmıştır. Besiyerindeki üremeler cfu/ml olarak değerlendirilmiştir.

İstatistiksel Analiz

Çalışma gruplarına ait mikrobiyolojik verilerin değerlendirilmesinde Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Gruplar arasında tanımlayıcı istatistikler olarak ortanca ve %25-75 yüzdelerik değerleri verilmiştir. Kruskal Wallis analizi sonuçlarının önemli bulunduğu durumlarda ise farkın kaynağını belirlemek için Mann-Whitney U testi ile ikili karşılaştırmalar yapılmıştır. Çalışma verileri SPSS 17.0 istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Çalışmada istatistik anlamlılık düzeyi ise p<0.05 olarak kabul edilmiştir.

Bulgular

Farklı braket çeşitleri ve ligasyon tipleri ile oluşturulan gruplardaki *S. mutans* bakteri sayılarının ortanca ve %25-75 yüzdelerik değerleri Tablo 2 ve Şekil 1'de gösterilmiştir. *S. mutans* bakteri sayıları bakımından çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmaktadır (p<0.001). En yüksek *S. mutans* bakteri sayısı 3.11x10⁶ cfu/ml olarak grup 4'te, en düşük *S. mutans* bakteri sayısı ise 1.05x10⁶cfu/ml ve 1.06x10⁶ cfu/mlolarak grup 1 ve grup 5'te ölçülmüştür.

Tablo 1 Farklı braket çeşitleri ve ligasyon yöntemleri ile oluşturulan çalışma grupları

| | Braket | Materyal | Ligasyon yöntemi |
|--------|------------------|----------|------------------|
| Grup 1 | Gemini | Metal | Tel ligatür |
| Grup 2 | Gemini | Metal | Elastik ligatür |
| Grup 3 | Clarity Advanced | Seramik | Tel ligatür |
| Grup 4 | Clarity Advanced | Seramik | Elastik ligatür |
| Grup 5 | Empower | Metal | - |
| Grup 6 | Empower | Seramik | - |

Tablo 2 Çalışma gruplarına ait *Streptococcus mutans* değerleri

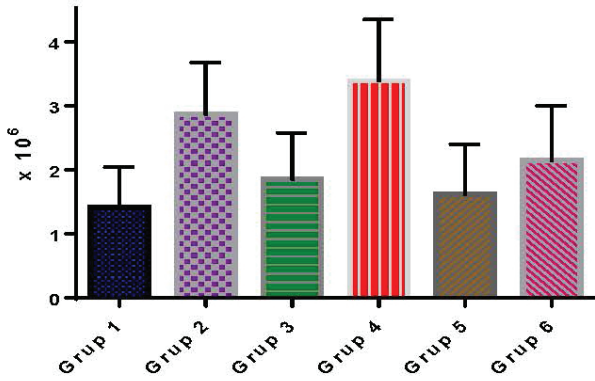
| | Ortanca | 25p-75p | p |
|--------|----------------------|---|---------|
| Grup 1 | 1.06x10 ⁶ | 0.92x10 ⁶ – 1.94x10 ⁶ | <0.001* |
| Grup 2 | 2.85x10 ⁶ | 2.20x10 ⁶ – 3.55x10 ⁶ | |
| Grup 3 | 1.79x10 ⁶ | 1.57x10 ⁶ – 2.18x10 ⁶ | |
| Grup 4 | 3.11x10 ⁶ | 2.50x10 ⁶ – 4.39x10 ⁶ | |
| Grup 5 | 1.05x10 ⁶ | 0.88x10 ⁶ – 2.42x10 ⁶ | |
| Grup 6 | 2.10x10 ⁶ | 1.57x10 ⁶ – 2.86x10 ⁶ | |

*Kruskal Wallis Testi

Tablo 3 Streptococcus mutans değerlerinin gruplar arası ikili karşılaştırmalarına ilişkin p değerleri

| Mann Whitney U Testi | Grup 1 | Grup 2 | Grup 3 | Grup 4 | Grup 5 | Grup 6 |
|----------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Grup 1 | - | <0.001 | 0.133 | <0.001 | 0.715 | 0.008 |
| Grup 2 | | - | <0.001 | 0.113 | <0.001 | 0.007 |
| Grup 3 | | | - | <0.001 | 0.228 | 0.386 |
| Grup 4 | | | | - | <0.001 | <0.001 |
| Grup 5 | | | | | - | 0.026 |
| Grup 6 | | | | | | - |

S. mutans değerlerinin gruplar arası ikili karşılaştırmaları ise Tablo 3'de gösterilmiştir. Grup 1 ile grup 2 ve 4, grup 2 ile grup 3 ve 5, grup 3 ile grup 4, grup 4 ile grup 5 ve 6 arasında $p<0.001$; grup 1 ile grup 6 arasında $p<0.01$; grup 5 ile grup 6 arasında ise $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanmıştır.

**Şekil 1:** Streptococcus mutans ölçüm değerleri

Tartışma

Ortodontik tedavinin amacı ortodontik anomaliyi tedavi ederek fonksiyonel ve estetik sonuçlar sağlamaktır. Estetik kaygıların ön planda olduğu hastalarda fonksiyonel problemler giderildiği halde, tedavi sonuçları estetik değilse, hasta o tedaviden tatmin olmamaktadır.

Sabit ortodontik tedavinin yan etkilerinden olan beyaz nokta lezyonları ve mine demineralizasyonları oluşumu estetik olarak sıkıntı oluşturabilmektedir. Beyaz nokta lezyonları tedaviden sonra yıllarca kalabilen estetik bir problemdir (14). Aynı zamanda sabit ortodontik tedavi ile oral mikrofloranın değişmesi sonucu periodontal parametrelerde kötüleşme ve çürük lezyonlarında da artış gözlenmektedir (15,16).

Sabit ortodontik tedavinin dental plak retansiyonu ve mikrobiyal flora üzerine etkisini değerlendiren bazı çalışmalar mevcuttur (1,4-6,16-20). Bu çalışmada hem metal ve seramik kendinden bağlamalı braket sistemleri hem de paslanmaz çelik tel ya da elastik ligatür ile bağlanmış klasik braket sistemlerinin *S. mutans* adezyonu üzerine etkilerinin kültür tekniği ile incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda elastik ligatür ile bağlanmış klasik metal ve seramik grubunda en fazla *S. mutans* bakteri sayısı tespit edilmiştir. Forsberg ve ark. (8), Garcez ve ark. (21), Alves de Souza ve ark. (22) ve Türkkahraman ve ark. (11) yaptıkları çalışmalarda bizim bulgularımıza benzer olarak elastik ligatürlerin daha fazla mikrobiyal kolonizasyona neden olduğunu belirtirken, Bretas ve ark. (23), Pandis ve ark. (24) ve Sukontapitipark ve ark. (25) ise elastik ile paslanmaz çelik tel ligatürler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamışlardır. Elastik ligatürlerin diş çürüğü ve diş eti iltihabı gelişimine yol açan mikrobiyal kolonizasyonu önemli derecede artırabilmesi nedeniyle zayıf ağız hijyenine sahip hastalarda elastik ligatür kullanımından kaçınılması tavsiye edilmektedir (8).

Mikrobiyal kolonizasyon açısından metal ve seramik braket sistemleri arasında farklılık olup olmadığının değerlendirildiği çalışmamızda aynı ligatür tipi kullanılmış klasik braket sistemi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Literatürde bazı çalışmalarda metal braketlerde daha yüksek dental plak adezyonu görüldüğü bildirilmiştir. Eliades ve ark. (26), Lindel ve ark. (27) kritik yüzey geriliminin metal braketlerde daha yüksek olduğu için metal braketlerde seramik ya da plastik braketlere oranla daha yüksek miktarda mikrobiyal adezyon görüldüğünü bildirmişlerdir. Anhoury ve ark. (28), Brusca ve ark. (29), Papaioannou ve ark. (19), Jurela ve ark. (30) ise sonuçlarımız ile uyumlu olarak braketler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamışlardır. Ça-

lişmamızda seramik kendinden bağlamalı braket grubunda ise metal kendinden bağlamalı braket grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha fazla *S. mutans* adezyonu tespit edilmiştir. Bu bulgu Rammo-han ve ark. (31)'nin çalışması ile uyumludur.

Kendinden bağlamalı braket sistemleri elastik veya paslanmaz çelik tel ligatürle bağlama işlemi elimine etmesi, ayrıca mikrobiyal kolonizasyon için tutucu alanlarının az olması ve karmaşık olmayan yüzeylere sahip olması nedeni ile günümüzde sıklıkla kullanılmaktadır (12,18). Çalışmamızda metal kendinden bağlamalı braket grubunda en az *S. mutans* bakterisi sayısı tespit edilmiş olup, paslanmaz çelik tel ligatür ile bağlanmış klasik braket grupları ile metal kendinden bağlamalı braket grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Uzun ve ark. (20), Baka ve ark. (17)'nin bulguları bizim çalışmamızı desteklerken, Garcez ve ark. (21) ise metal kendinden bağlamalı braket grubu ve paslanmaz çelik tel ligatür grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bildirmişlerdir. Çalışmamızın bu sonuçları metal kendinden bağlamalı braket sistemlerinin paslanmaz çelik ligatür ile bağlanmış klasik braketlere göre ligatür kullanılmamasına bağlı olarak plak birikimi açısından bir avantaja sahip olduğunu ve ağız hijyenini iyileştirdiği sonucunu desteklemektedir.

Literatürde bulunan bazı çalışmalar ile farklı sonuçlar bulmamızın sebebi, çalışma dizaynındaki farklılıklar, braket tipi ve kullanılan teknikteki farklılıklardan kaynaklanabilir. Çalışmamızda mikrobiyolojik kültür yöntemi kullanılmasına rağmen bu tekniğin laboratuvar prosedürlerinin zahmetli olması, hata olasılığının yüksek olması ve uzun sürede sonuç alınması gibi dezavantajları vardır. Bu limitasyonların üstesinden gelebilmek amacıyla daha hızlı, hassas ve spesifik ölçüm yapılabilen polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yönteminin kullanıldığı ve farklı braket tiplerinin yer aldığı yeni çalışmalar yapılmalıdır.

Sonuç

Metal ve seramik kendinden bağlamalı braketler ile elastik ligatür uygulanan ve paslanmaz çelik tel ligatür uygulanan klasik braketleri mikrobiyal adezyon bakımından in vitro olarak karşılaştırdığımız çalışmamızda ligasyon yöntemine bağlı olarak *S. mutans* bakterisi sayısının önemli farklılıklar gösterdiği bulunmuştur. Üç ligasyon yöntemi değerlendirildiğinde en çok mikrobiyal adezyonun elastik ligatür uygulanan gruplarda, en az mikrobiyal adezyonun ise paslanmaz çelik tel ligatür uygulanan metal klasik braket ve kendinden bağlamalı braket gruplarında olduğu saptanmıştır. Daha az plak retansiyon alanına sahip braket tasarımı-

larının kullanılması ya da plak birikiminin artmasına neden olan elastik ligatürler yerine paslanmaz çelik tel ligatürlerin tercih edilmesi mikrobiyal kolonizasyonu azaltarak ağız hijyeninin korunmasına, periodontal problemlerin ve beyaz nokta lezyonlarının oluşumunun engellenmesine yardımcı olacaktır.

Kaynaklar

1. Chhibber A, Agarwal S, Yadav S, Kuo CL, Upadhyay M. Which orthodontic appliance is best for oral hygiene? A randomized clinical trial. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2018; 153: 175-83.
2. Sawhney R, Sharma R, Sharma K. Microbial colonization on elastomeric ligatures during orthodontic therapeutics: An overview. *Turk J Orthod* 2018; 31: 21-5.
3. Salman HA, Senthilkumar R, Imran K, Selvam KP. Isolation and typing of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* from caries-active subjects. *Contemp Clin Dent* 2017; 8: 587-93.
4. Shirozaki MU, Ferreira JTL, Kuchler EC, Matsumoto MAN, Aires CP, Nelson-Filho P, et al. Quantification of *Streptococcus mutans* in different types of ligature wires and elastomeric chains. *Braz Dent J* 2017; 28: 498-503.
5. Sharma R, Sharma K, Sawhney R. Evidence of variable bacterial colonization on coloured elastomeric ligatures during orthodontic treatment: An intermodular comparative study. *J Clin Exp Dent* 2018; 10: 271-8.
6. do Nascimento LE, Pithon MM, dos Santos RL, Freitas AO, Alviano DS, Nojima LI, et al. Colonization of *Streptococcus mutans* on esthetic brackets: self-ligating vs conventional. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2013; 143: 72-7.
7. Moolya NN, Shetty A, Gupta N, Gupta A, Jalan V, Sharma R. Orthodontic bracket design and their impact on microbial profile and periodontal disease: A clinical trial. *J Orthod Sci* 2014; 3: 125-31.
8. Forsberg CM, Brattström V, Malmberg E, Nord CE. Ligature wires and elastomeric rings: two methods of ligation, and their association with microbial colonization of *Streptococcus mutans* and *Lactobacilli*. *Eur J Orthod* 1991; 13: 416-20.
9. Bednar JR, Gruendeman GW, Sandrik JL. A comparative study of frictional forces between orthodontic brackets and arch wires. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1991; 100: 513-22.
10. Berger J, Byloff FK. The clinical efficiency of self-ligated brackets. *J Clin Orthod* 2001; 35: 304-8.
11. Turkkahraman H, Sayin MO, Bozkurt FY, Yetkin Z, Kaya S, Onal S. Archwire ligation techniques, microbial colonization, and periodontal status in orthodontically treated patients. *Angle Orthod* 2005; 75: 231-6.
12. Huang J, Li CY, Jiang JH. Effects of fixed orthodontic brackets on oral malodor: A systematic review and meta-analysis according to the preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses guidelines. *Medicine (Baltimore)* 2018; 97: 14.
13. Yang X, Su N, Shi Z, Xiang Z, He Y, Han X, et al. Effects of self-ligating brackets on oral hygiene and discomfort: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *Int J Dent Hyg* 2017; 15: 16-22.
14. Ogaard B, 1989. Prevalence of white spot lesions in 19-year olds: a study on untreated and orthodontically treated persons 5 years after treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1989; 96: 423-7.
15. Lovrov S, Hertrich K, Hirschfelder U. Enamel demineralization during fixed orthodontic treatment-incidence and correlation to various oral-hygiene parameters. *J Orofac Orthop* 2007; 68: 353-63.
16. Van Gastel J, Quirynen M, Teughels W, Carels C. The relationships between malocclusion, fixed orthodontic appliances

- and periodontal disease. A review of the literature. *Aust Orthod J* 2007; 23: 121-9.
17. Baka ZM, Basciftci FA, Arslan U. Effects of 2 bracket and ligation types on plaque retention: a quantitative microbiologic analysis with real-time polymerase chain reaction, *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop* 2013; 144: 260-7.
 18. Kaygisiz E, Uzuner FD, Yuksel S, Taner L, Culhaoglu R, Sezgin Y, et al. Effects of self-ligating and conventional brackets on halitosis and periodontal conditions. *Angle Orthod* 2015; 85: 468-73.
 19. Papaioannou W, Panagopoulos A, Koletsi-Kounari H, Kontou E, Makou M. Adhesion of *Porphyromonas gingivalis* and biofilm formation on different types of orthodontic brackets. *Int J Dent* 2012; 2012: 471380.
 20. Uzuner FD, Kaygisiz E, Cankaya ZT. Effect of the bracket types on microbial colonization and periodontal status. *Angle Orthod* 2014; 84: 1062-7.
 21. Garcez AS, Suzuki SS, Ribeiro MS, Mada EY, Freitas AZ, Suzuki H. Biofilm retention by 3 methods of ligation on orthodontic brackets: a microbiologic and optical coherence tomography analysis. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 2011; 140: 193-8.
 22. Alves de Souza R, Borges de Araujo Magnani MB, Nouer DF, Oliveira da Silva C, Klein MI, Sallum EA, et al. Periodontal and microbiologic evaluation of 2 methods of archwire ligation: ligature wires and elastomeric rings. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 2008; 134: 506-12.
 23. Bretas SM, Macari S, Elias AM, Ito IY, Matsumoto MA. Effect of 0.4% stannous fluoride gel on *Streptococci mutans* in relation to elastomeric rings and steel ligatures in orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2005; 127: 428-33.
 24. Pandis N, Papaioannou W, Kontou E, Nakou M, Makou M, Eliades T. Salivary *Streptococcus mutans* levels in patients with conventional and self-ligating brackets. *Eur J Orthod* 2010; 32: 94-9.
 25. Sukontapatipark W, el-Agroudi MA, Selliseth NJ, Thunold K, Selvig KA. Bacterial colonization associated with fixed orthodontic appliances. A scanning electron microscopy study. *Eur J Orthod* 2001; 23: 475-84.
 26. Eliades T, Eliades G, Brantley WA. Microbial attachment on orthodontic appliances: I. Wettability and early pellicle formation on bracket materials. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1995; 108: 351-60.
 27. Lindel ID, Elter C, Heuer W, Heidenblut T, Stiesch M, Schweska-Polly R, et al. Comparative analysis of long-term biofilm formation on metal and ceramic brackets. *Angle Orthod* 2011; 81: 907-14.
 28. Anhoury P, Nathanson D, Hughes CV, Socransky S, Feres M, Chou LL. Microbial profile on metallic and ceramic bracket materials. *Angle Orthod* 2002; 72: 338-43.
 29. Brusca MI, Chara O, Sterin-Borda L, Rosa AC. Influence of different orthodontic brackets on the adherence of microorganisms in vitro. *Angle Orthod* 2007; 77: 331-6.
 30. Jurela A, Repic D, Pejda S, Juric H, Vidakovic R, Matic I, et al. The effect of two different bracket types on the salivary levels of *S mutans* and *S sobrinus* in the early phase of orthodontic treatment. *Angle Orthod* 2013; 83: 140-5.
 31. Rammohan SN, Juvvadi SR, Gandikota CS, Challa P, Manne R, Mathur A. Adherence of *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* to different bracket materials. *J Pharm Bioallied Sci* 2012; 4: 212-6.