



Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Medicina

Doctorado en Ciencias de la Salud

*“Análisis de la adherencia bacteriana a materiales
para el cementado de bandas ortodóncicas.”*

TESIS

Para Obtener el Grado de
Doctor en Ciencias de la Salud

Presenta:

M.C.O.E.O. Juan Carlos González Pérez.

Comité Tutorial:

Dr. Rogelio José Scougall Vilchis

Tutor Académico

Dra. Rosalía Contreras Bulnes

Tutor Interno

Dr. Isaías de la Rosa Gómez

Tutor Externo



Toluca, Estado de México

Marzo 2013

INDICE

	No. página
Resumen	1
Summary	2
	3
1. Antecedentes	3
1.1. Esmalte Dental	3
1.2 El Surco Gingival	4
1.3 Microbiota del Surco Gingival	4
1.4 Placa Dentobacteriana	5
1.5 Enfermedad Periodontal	6
1.6 Caries Dental	7
1.7 Lesión Incipiente de Caries	8
1.8 Aparatología Ortodóncica Fija	9
1.9 Adherencia Bacteriana	9
1.10 Resinas Compuestas	10
1.11 Ionómeros de Vidrio	11
1.12 Cuantificación Bacteriana	11
2. Planteamiento del Problema	13
3. Hipótesis	14
4. Objetivos	15
5. Justificación	16
6. Material y Métodos	17
6.1. Diseño de estudio	17
6.2. Criterios de inclusión, exclusión y eliminación	17
6.3. Procedimientos	17
6.4. Variables de Estudio	18
6.5. Implicaciones Bioéticas	21
6.6. Recolección de Datos	21
6.7. Análisis Estadístico	21
7. Resultados	22
7.1. Título corto del artículo publicado	22
7.1.1 Carta de aceptación	22
7.1.2 Página frontal del manuscrito	23
7.1.3 Resumen	24
7.1.4 Abstract	25
7.1.5 Primer Artículo	26
7.2. Título corto del segundo artículo enviado	37

7.2.1	Carta de envío	37
7.2.2	Resumen	38
7.2.3	Abstract	39
7.2.4	Segundo Artículo	40
7.3.	Titulo corto del tercer artículo enviado	50
7.3.1	Carta de envío	50
7.3.2	Resumen	51
7.3.3	Abstract	52
7.3.4	Tercer Artículo	53
8.	Discusión General	66
9.	Conclusiones Generales	69
9.1.	Conclusiones	69
9.2.	Limitaciones	70
9.3.	Recomendaciones	71
10.	Referencias Bibliográficas	72
11.	Anexos	77
11.1.	Anexo 1	77
11.2	Congresos y Reconocimientos	78

Resumen:

Objetivo: El propósito del presente estudio fue el de determinar cuantitativamente la adherencia del *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguinis* a cementos para bandas ortodóncicas. **Materiales y Metodos:** Se realizaron 420 bloques de ocho materiales para el cementado de bandas ortodóncicas diferentes (Fuji Ortho LC, Transbond Plus Band Cem, CX Plus, Multi-Cure Band, Optiband, Ketac Cem, Protech, Optiband Ultra). Utilizando un molde de teflón de (4x4x1mm). Los bloques obtenidos se pulieron ligeramente y fueron limpiados con ultrasonido. Cepas certificadas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Streptococcus sanguinis* ATCC 49295 fueron cultivadas mediante métodos convencionales en cajas Petri y con caldo soya tripticaseina suplementado con extracto de levadura (TSBY). El análisis cuantitativo fue llevado a cabo mediante marcadores radiactivos para codificar la bacteria (^3H) para el *Streptococcus mutans* y Carbono-14 (^{14}C) para el *Streptococcus sanguinis*. Posteriormente, un sistema de combustión se utilizó para capturar los residuos, la radiactividad de las muestras fue medida y los valores se registraron en desintegración por minuto (dpm). Se realizó el análisis estadístico de varianza de una vía (ANOVA) con el análisis de Sheffèr Post-hoc para múltiples comparaciones con un nivel de significación de ≤ 0.05 . **Resultados:** Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los materiales ($P < 0.001$). Transbond Plus Band Cem presentó la menor adhesión de ambas bacterias, seguido por Ortholy Band Paste. **Conclusiones:** Transbond Plus Band Cem y Ortholy Band Paste mostraron la menor adhesión de *S. mutans* y *S. sanguinis*.

Summary:

Objective: This study aimed to determine the adherence of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* to seven different cements for banding. **Materials and Methods:** The sample consisted of 420 blocks of 8 cement materials (Fuji Ortho LC, Transbond Plus Band Cem, CX Plus, Multi-Cure Band, Optiband, Ketac Cem, Protech, Optiband Ultra). The blocks were made using a Teflon mold (4 x 4 x 1mm). Certified *S. mutans* ATCC 25175 and *S. sanguinis* ATCC 49295 were cultivated separately using conventional methods and broth with TSBY agar. The quantitative analysis was carried out with radioactive markers (^3H) for the *Streptococcus mutans* and Carbon-14 (^{14}C) for the *Streptococcus sanguinis* to codify the bacteria. The radioactivity of the samples was recorded in disintegrations per minute (dpm). One-way analysis of variance (ANOVA) with a Scheffè post-hoc test for multiple comparisons was carried out with a significance level of ≤ 0.05 . **Results:** Significant differences were found among different band cement materials ($P < 0.001$). Transbond Plus Band Cem presented the significant lowest adherence of both bacteria, followed by Ortholy Band Paste. **Conclusion:** Transbond Plus Band Cem and Ortholy Band Paste showed lower adherence of *S. mutans* and *S. sanguinis*.

1. Antecedentes:

1.1 Esmalte Dental

El esmalte es un sólido complejo, constituido por innumerables cristales de hidroxiapatita pura e hidroxiapatita carbonada; estas últimas son consideradas las más abundantes y reactivas, donde los iones de fosfato (PO_4^{3-}) son sustituidos en su estructura por iones carbonatos (CO_3^{2-}). Estos cristales están rodeados por una matriz de agua, proteínas y lípidos. La fase inorgánica del esmalte ocupa aproximadamente el 85% en volumen. La fase acuosa y orgánica representa cerca del 15% del volumen total. ⁷

Dicho tejido es de origen ectodérmico y recubre la corona anatómica del diente, es translúcido, de espesor variable, dependiendo de la superficie que cubre, no posee vitalidad, con la edad se desgasta y cambia la permeabilidad y la naturaleza de su capa superficial. ^{1, 8, 9}

Los iones fluoruro, cloruro, silicio y zinc se encuentran en mayor concentración cerca de la superficie, mientras que otros como carbonato, magnesio y sodio aumentan hacia áreas más profundas. ^{1,2,10}

Los cristales de hidroxiapatita están ubicados casi paralelos entre sí. Los cristales más distantes al eje central del prisma se van inclinando lateralmente a medida que se aproximan al límite de los otros prismas, hasta que se ubican perpendicularmente respecto al otro prisma en la zona interprismática. Es importante resaltar que existe una interfase entre los cristales producto de sus diferentes angulaciones, esta interfase rodea a los cristales uniéndolos entre sí sirviendo de canal de entrada y salida de hidrogeniones (H^+) y de iones minerales (Ca^{++} , PO_4^{3-} , F-) durante el proceso de desmineralización y remineralización del cristal. ^{8,9,11}

1. 2 El Surco Gingival

Es una cavidad virtual que a manera de anillo o collar rodea el cuello dentario, tiene forma de “V” y determina el límite cervical de la corona clínica de los dientes. Posee uno o dos milímetros como máximo de profundidad, y está limitado en la parte interna por el esmalte dentario, por la parte externa por la encía libre o marginal, y es llamada pared blanda del surco, y por último, en su parte apical, por el llamado epitelio de inserción. A menudo, su

porción oclusal está cerrada por la biopelícula de la placa dentobacteriana, por sarro o simplemente por saliva y/o restos alimenticios, lo que favorece la baja cantidad de oxígeno en ese espacio, un medio ideal para las múltiples bacterias anaeróbicas estrictas que en él habitan.

El surco posee una temperatura media alrededor de los 36 grados y un pH ligeramente alcalino, adecuados para el desarrollo de una variada gama de bacterias parásitas; posee además un Eh (potencial de óxido-reducción, lo cual depende de la presencia de oxígeno) que puede bajar hasta -360 mv,¹² lo que permite el desarrollo eficaz de bacterias anaeróbicas, tanto facultativas como estrictas. A este último grupo bacteriano, el oxígeno les causa oxidación proteica con la consiguiente muerte, pero sobreviven en este medio gracias a que los anaeróbicos facultativos consumen las trazas de este gas que pudiera entrar al surco.

1.3 Microbiota del Surco Gingival

En condiciones normales, habitan en este surco gran cantidad de bacterias, predominando los cocos Grampositivos como los *Streptococcus* del grupo sanguis (*S.sanguinis*, *S. parasanguis*, *S.oralis* y otros); *Streptococcus* del grupo mitis (*S.mitis*, *S.milleri*, *S.anginosus*, entre otros); *Veillonella párvula* (un coco gramnegativo), el *Actinomyces naeslundii* y el *viscosus* y la *Rothia dentocariosa*, que son bacilos grampositivos, también se encuentran pequeñas cantidades de *Leptotrichia*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Eubacterium*, *Spiroquetas* y bacilos anaeróbicos estrictos como las *Capnocytophaga*, las *Selenomonas*, *Treponemas*, *Campilobacters* y otros. Esta población microbiana, más o menos constante en cantidad, es lo que se conoce como microbiota del surco gingival, la antigua flora normal del surco.

Para nutrirse, (a la vez huir de los fagocitos), muchas bacterias del surco, como la *Eikenella corrodens*, la *Porphyromona gingivalis* (*P.g.*), *Actinobacillus actinomycetemcomitans* y otras, invaden las células y se multiplican dentro de ellas, y para ello producen toxinas y enzimas líticas (así también lo hacen las bacterias que están en la superficie epitelial), tales como la colagenasa, la cual destruye el colágeno, proteína esencial de la sustancia intercelular, hialuronidasa que hidroliza el ácido hialurónico, condroitinsulfatasa que destruye el ácido condroitinsulfúrico, lecitinasa que destruye la lecitina de las membranas celulares, o elastasa, que destruye las fibras elásticas, lo cual les permite no sólo nutrirse sino seguir invadiendo y permitir la invasión de otras.¹² Estas enzimas y toxinas son antígenos o inmunógenos, por lo que promueven la génesis de anticuerpos como activan la cascada del complemento por vía

alterna, es decir la vía corta, que se inicia con la activación de la proteína plasmática llamada C3, con la génesis de diversas sustancias con efectos ya mencionados.

En personas con desaseo bucal, es frecuente encontrar encías inflamadas en cuyo surco pueden residir protozoarios como *Trichomonas tenax* y *Entamoeba gingivalis*, que se nutren de restos bacterianos y celulares, pero como poseen escasos factores de virulencia, se les tiene como simples comensales del surco.

1.4 Placa Dentobacteriana

Durante años han existido diversas definiciones expresadas por diferentes investigadores acerca del término de placa dental. La placa dental fue descrita por primera vez en 1898 Ref. Black, como una masa microbiana que recubría las lesiones cariosas. En 1976, Ref. Bowen, define a la placa dental como depósitos blandos que forman una biopelícula que se adhiere a la superficie dentaria o a otras superficies duras en la boca.¹³

Marsh y Martin (2000), definen a la placa dental como una comunidad microbiana compleja que se encuentra en la superficie de los dientes, embebida en una matriz de origen bacteriano y salival.¹⁴

Ref. Moore (1987), estimó que es posible encontrar más de 300 especies bacterianas en la placa dental, pero solo un número reducido se relacionan con la periodontitis. Slots (1979), Leknes y col, (1997) y Timmerman y col, (2001), señalan, que la presencia de la placa dental con especies bacterianas anaerobias específicas, induce al desarrollo de la enfermedad periodontal.^{15,16,17}

La placa dental se clasifica según su localización en supragingival y subgingival, según sus propiedades en adherente y no adherente, y por su potencial patógeno en cariogénica y periodontopatogénica. La placa dental supragingival se encuentra en las superficies dentales y está constituida predominantemente por flora bacteriana sacarolítica Gram positiva, en las cuales se encuentran microorganismos cariogénicos; sin embargo, es posible que esta placa se extienda hasta el fondo del surco gingival y entre en contacto con la encía, recibiendo la denominación de placa marginal. La placa dental subgingival se encuentra por completo dentro del surco gingival o de los sacos periodontales, y está constituida principalmente por

flora bacteriana proteolítica Gram negativa en la cual se encuentran microorganismos periodontopatogénicos.^{13,18,19}

La formación de la placa dental es el resultado de una serie de procesos complejos que involucran una variedad de bacterias y componentes de la cavidad bucal del huésped. Estos procesos comprenden en primer lugar la formación de la película adquirida sobre la superficie del diente; seguido de la colonización por microorganismos específicos adheridos sobre la película adquirida; y finalmente la formación de la matriz de la placa.

1.5 Enfermedad Periodontal

A mediados del siglo pasado, la periodontitis era considerada como el resultado de la acumulación de la placa dental a través del tiempo en combinación con la edad del individuo. Se pensaba que la placa dental era capaz de causar la enfermedad; sin embargo, el reconocimiento de diferentes especies de microorganismos en muestras de placa dental condujo a la búsqueda de patógenos específicos en las periodontitis.¹⁵

Loesche (1976), definió dos hipótesis para tratar de explicar el rol de la placa dental como agente periodontopatogénico. La primera de ellas, la hipótesis de la placa dental no específica, afirma que la enfermedad periodontal surge de la "elaboración de productos nocivos por todos los microorganismos de la placa", y la segunda, la hipótesis de la placa dental específica, afirma que "sólo cierta placa es patógena, y que su patogenicidad depende de la presencia o el incremento de microorganismos específicos".²⁰ En esa misma década se realizaron, avances en las técnicas microbiológicas usadas para aislar e identificar patógenos periodontales, así como también, mejoras en los procedimientos para obtener muestras de placa subgingival, y desarrollo de nuevos medios de cultivos para lograr el crecimiento bacteriano *in vitro*.¹⁵ Como resultado de estos avances, que permitieron el aislamiento de microorganismos específicos de diferentes tipos de enfermedad periodontal, la hipótesis de la placa dental específica, es la aceptada actualmente.

Recientemente, Marsh y Martin (2000), señalan la hipótesis de la placa ecológica, para explicar la etiología de enfermedad periodontal. Esta hipótesis propone que los cambios en las condiciones ambientales locales en la región subgingival, como es el incremento del fluido

crevicular durante la inflamación, favorece el crecimiento de especies anaeróbicas estrictas proteolíticas, lo cual predispone a la zona gingival a la enfermedad.¹⁴

Los primeros estudios que usaron procedimientos microbiológicos demostraron que la cantidad y proporción de diferentes morfotipos de bacterias en la placa dental subgingival es mayor en individuos con periodontitis que en individuos periodontalmente sanos.^{15,21}

Slots (1979) señala, que las bacterias aisladas a partir de individuos periodontalmente sanos son predominantemente cocos y bacilos facultativos Gram positivos (75%). No obstante, la recuperación de este grupo de microorganismos decrece de modo proporcional en gingivitis (44%) y de una manera considerable en la periodontitis (10 a 13%), donde se incrementan los Bacilos Anaerobios Gram negativos (74%).¹⁵

Marsh y Martin (2000) refieren que, aún no está claro si la gingivitis es un estado necesario para el desarrollo de las diferentes tipos de periodontitis o si estas pueden aparecer independientemente. No obstante, ciertas especies bacterianas que predominan en la periodontitis, no detectadas en individuos periodontalmente sanos, han sido encontradas en un porcentaje bajo en gingivitis. Tal situación sugiere que, condiciones desarrolladas durante la gingivitis como sangrado y supuración, pueden favorecer el crecimiento de especies implicadas en la periodontitis.¹⁴

1.6 Caries Dental

El término de caries se ha utilizado para describir un signo, es decir la cavidad que es un estadio avanzado de la destrucción del tejido. Cuando la enfermedad se inicia, el proceso ocurre a nivel subclínico, porque la enfermedad se establece en boca mucho tiempo antes de aparecer las primeras manifestaciones clínicas.^{3,4}

La caries se ha referido como una enfermedad que difícilmente se puede prevenir, pero si se puede evitar su progresión, es decir, se puede interferir en el proceso antes que la lesión inicial se transforme en un hecho irreversible (la cavidad franca).³ La caries no es una situación aislada, se le considera una enfermedad infecciosa y multifactorial, que resulta del acumulo de una serie de eventos en el tiempo. Por lo tanto, es obvio que un tratamiento

dirigido solamente a los signos ataca el efecto más no la causa y la simple extirpación de la lesión, no implica el fin de la enfermedad.^{3,4}

Se reconoce actualmente que la placa dental juega el papel más importante en la etiología de la caries. Inmediatamente después de realizar una profilaxis en las superficies de esmalte utilizando copas de goma y pasta ligeramente abrasiva, se deposita sobre el esmalte una cutícula fina de material orgánico, formado a partir de la saliva, y que contiene esencialmente mucopolisacáridos salivales. Esta capa orgánica libre de bacterias se engruesa (se considera que es una película cuando alcanza el grosor de una micra). Las bacterias orales se depositan en esta matriz denominada por algunos autores biocapa o biofilm. Además de este proceso que se desarrolla sobre las superficies limpias del esmalte, existen numerosas regiones donde es deficiente la integridad de esta superficie; tales regiones pueden ser fácilmente identificadas cuando la superficie del esmalte se examina con el microscopio electrónico de barrido. Es casi imposible eliminar de estos lugares a las colonias de bacterias. La edificación de la placa progresa rápidamente a partir de estos defectos cuneiformes.

La teoría acidógena considera que sobre la superficie del esmalte se producen ácidos como consecuencia de la fermentación bacteriana de los hidratos de carbono. Dichos ácidos son los responsables de la disolución de los cristales de apatita, que constituyen el 95 % de la masa del esmalte.⁷

La presencia de bacterias en la cavidad oral es esencial en la producción de caries, debido a que las enzimas bacterianas producen ácidos a partir de los hidratos de carbono.

1.7 Lesión Incipiente de Caries

La lesión inicial de caries es generalmente denominada como “mancha blanca”, puede producirse tanto a nivel de fosas y fisuras como de superficies lisas del esmalte y superficies radiculares. La primera manifestación macroscópica que podemos observar en el esmalte es la pérdida de su translucidez que da como resultado una superficie opaca, de aspecto tizoso y sin brillo.^{8,22}

La ubicación de la lesión inicial de mancha blanca está determinada por la distribución de los depósitos microbianos sobre las superficies dentarias.^{8,22}

Es importante destacar que en estadios iniciales, las lesiones activas de caries de esmalte están a nivel subclínico, es decir que son macroscópicamente invisibles. A medida que persiste el estímulo cariogénico, los cambios en el esmalte se hacen permisibles después del secado, indicando que la porosidad de la superficie se ha incrementado en concordancia con el agrandamiento de los espacios intercristalinos. Sin embargo, es importante recordar que cuando dichos espacios, están agrandados (contribuyendo a un incremento global de la porosidad de la superficie del esmalte) se pueden ver los cambios macroscópicos en el esmalte sin desecar. Cuando esto se presenta, ya existe una extensa pérdida mineral debajo de la capa superficial.^{11,23,24}

1.8 Aparatología Ortodóncica Fija

El tratamiento ortodóncico comprende el uso de aparatos para corregir la posición de los dientes. Se ha demostrado que la calidad del resultado del tratamiento obtenido con aparatos fijos es mucho mejor que con aparatos removibles. Por consiguiente, la mayoría de los ortodoncistas prefieren tratar a sus pacientes con aparatos fijos. El éxito de un aparato ortodóncico fijo depende de que los brackets y bandas se adhieran firmemente a los dientes, de manera que no se aflojen durante el tratamiento. Los brackets se adhieren generalmente a los dientes anteriores y algunos posteriores como son los premolares, mientras que para los molares se utilizan bandas y en algunas ocasiones tubos directos.

Durante el tratamiento de ortodoncia la formación de lesiones incipientes de mancha blanca es el efecto indeseable más frecuente y difícil de prevenir.²⁵ Dicho fenómeno es originado por la mayor cantidad de acumulo bacteriano cuando los aparatos se han colocado en la cavidad oral. Actualmente, la indeseable formación de lesiones incipientes de mancha blanca es una de las principales preocupaciones de los clínicos y esto se ve reflejado en numerosas investigaciones de relevancia a nivel internacional.

1.9 Adherencia Bacteriana

La adherencia bacteriana depende de factores inespecíficos de índole físico-químicos y eléctricos. También, existen otros factores específicos de carácter adhesina-receptor, fimbrias, etc. De cualquier manera, para que se produzca la adherencia inicial es necesario que la bacteria se acerque a la superficie del material.²⁶

El transporte de la bacteria se produce por tres mecanismos: 1) difusión 2) dinámica del fluido y 3) por actividad propia de la bacteria. Cuando la bacteria se acerca a la superficie aparece una atracción debido a las fuerzas de Van der Waals (F_a), que son debidas a un efecto dipolo entre átomos o moléculas. A medida que se va acercando a la superficie, aparece una fuerza de repulsión debida a la carga negativa de la bacteria y del material que suelen ser del mismo signo. A esta fuerza se le denomina "Z potencial" (F_e). De la interacción de estas dos fuerzas es de lo que depende el mayor o menor acercamiento del microorganismo a la superficie del material denominado energía Gibbs. Cuando la bacteria llega a una distancia de 2nm podemos predecir que la adhesión será irreversible, sin embargo a una distancia de 10nm la situación es crítica ya que la bacteria dependiendo de su tamaño y otros factores puede adherirse reversible o irreversiblemente. A distancias mayores, la adhesión puede considerarse reversible.²⁷ Posteriormente, se produce la fijación a la superficie del material o la superficie dura del diente según sea el caso. Cuando se fijan los microorganismos entran en íntimo contacto con la superficie sólida.²⁸

La superficie del material o del diente se reviste por una película con componentes salivares que actúan como receptores específicos para los microorganismos.²⁸ En algunas ocasiones cuando la bacteria está a una distancia aproximadamente de 10 nm se puede unir íntimamente a la superficie del diente o del material debido a sus prolongaciones, fimbrias o pilis. De cualquier manera, es importante mencionar que la adherencia bacteriana en materiales dentales es mayor que aquella observada en el esmalte dental y el análisis de la adherencia bacterianas sobre los materiales dentales es de vital importancia puesto que permanecen en íntimo contacto con la superficie dental.

1.10 Resinas Compuestas

Actualmente, las resinas compuestas son el material de elección para la colocación de brackets ortodóncicos.⁶ Debido a su composición, dichos materiales no tienen la capacidad de inhibir la adherencia bacteriana como los ionómeros de vidrio. Existen estudios donde al añadir sustancias similares a cementos de iónomero de vidrio a la composición de las resinas se puede inhibir la adherencia de microorganismos. Por ejemplo el triclosan añadido a su composición inhibe la adherencia tanto en muestras revestidas, como no revestidas de saliva.²⁹

En cuanto al pulido de las resinas compuestas, se ha encontrado un aumento de la adhesión bacteriana en superficies rugosas.³⁰ Sin embargo, existen gérmenes como el *Streptococcus oralis*, que a diferentes grados de rugosidad no variaba su grado de adhesión, ya que esta se producía específicamente a las partículas de relleno.³¹

Por otra parte, el efecto de agentes aclaradores sobre la superficie de los composites, implica un aumento para la adhesión de *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*, tanto con el peróxido de carbamida como con el peróxido de hidrógeno. Sin embargo, se ha reportado una disminución de la adhesividad de *Actinomyces viscosus*.³²

1.11 Ionómeros de Vidrio

En cuanto a los ionómeros de vidrio se encuentran diferentes estudios, como por ejemplo el de Shahal,³³ quien analizó la adherencia bacteriana entre las resinas compuestas y los ionómeros de vidrio. Encontrando que cuando las muestras fueron recubiertas con saliva fresca de parótida no existen diferencias entre ellos. En este caso, la película enmascara las posibles diferencias del material. Sin embargo en el estudio de Kawai K,³⁴ reportó que aunque los ionómeros no disminuyen de manera significativamente la adherencia bacteriana inicial, si lo hicieron a las 24 horas y en un grado mayor que los compómeros y los composites. En general se ha atribuido una disminución de la adhesividad bacteriana a los ionómeros de vidrio debido a su concentración de flúor. Pruebas *in vitro* han revelado que pueden reducir la adherencia de *Stroptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguinis* y *Actinomyces viscosus* en un 80%, asociándose a la capacidad de liberación de flúor.³⁵

1.12 Cuantificación Bacteriana

Los marcadores radiactivos son uno de los elementos primordiales de las técnicas predictivas de imagen. Se trata de moléculas a las que se añade o sustituye un átomo radiactivo que se fijan de forma específica a una célula o molécula. Cuando su átomo radiactivo se desintegra, emiten una radiación que puede seguirse mediante detectores externos. Uno de los principales desafíos de las técnicas predictivas de imagen es encontrar y luego sintetizar marcadores cada vez más específicos de un parámetro biológico dado.^{26,36}

Si bien existen diversas técnicas para la aplicación de marcadores radiactivos para la cuantificación de microorganismos adheridos a las superficies de los materiales dentales, la microscopía fluorescente se ha convertido en otra herramienta importante de investigación para observar y cuantificar el número de microorganismos existentes en una superficie determinada.

2. Planteamiento del Problema:

La descalcificación del esmalte adyacente a la aparatología ortodóncica fija es un efecto adverso común en el tratamiento ortodóncico.^{3,37} Los pacientes tienen problemas para mantener una adecuada higiene oral por la aparatología ortodóncica fija cementada directamente a la superficie dental, esto genera una mayor acumulación de placa dentobacteriana y la respectiva producción de ácidos que desmineralizaran la superficie dental generando una difusión de iones de calcio y fosfato en el esmalte.^{37,38}

La pérdida de la superficie calcificada del órgano dentario dará como resultado una lesión de mancha blanca visible, que es más pronunciada en la superficie gingival donde existe la mayor acumulación de placa dentobacteriana.³⁹

Esta descalcificación puede ocurrir en las 4 primeras semanas después de la colocación de la aparatología fija ortodóncica,⁴⁰ representando los primeros estadios de caries dental.

Existen medidas preventivas tales como la técnica de cepillado dental, remoción mecánica de la placa dentobacteriana y aplicaciones tópicas de fluoruro, sin embargo estas medidas dependen de la cooperación del paciente y han demostrado una baja y limitada reducción de la descalcificación del esmalte.³⁸

En relación a los materiales ortodóncicos cementantes, algunos de ellos cuentan con fluoruro para prevenir la descalcificación, pero no existen suficientes estudios para comparar los nuevos materiales con respecto a la adhesión bacteriana.^{41,42,43}

Preguntas de investigación:

¿Existen diferencias significativas de adherencia bacteriana entre los distintos tipos de materiales para la cementación de bandas ortodóncicas?

¿Cuál de las dos especies de *Streptococcus* (*mutans* y *sanguinis*) presenta una mayor adherencia a los materiales para cementado de bandas ortodóncicas?

3. Hipótesis:

H₁: La adhesión bacteriana muestra diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tipos de materiales para la cementación de bandas ortodóncicas.

H₂: Se presentan diferencias estadísticamente significativas entre las dos especies bacterianas *S. mutans* y *S. sanguinis* con respecto a la adhesión a los distintos materiales para cementación de bandas ortodóncicas.

Hipótesis nula: La adhesión bacteriana no muestra diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tipos de materiales para la cementación de bandas ortodóncicas.

Hipótesis nula₂: No se presenta diferencias estadísticamente significativas entre las dos especies bacterianas *S. mutans* y *S. sanguinis* con respecto a la adhesión a los distintos materiales para cementación de bandas ortodóncicas.

4. Objetivos:

General

Determinar cuantitativamente el grado de colonización bacteriana específicamente de *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguinis* en ocho materiales cementantes de bandas ortodóncicas.

Específicos

1. Cuantificar la cantidad de adherencia de *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguinis* utilizando marcadores radioactivos.
2. Comparar la cantidad de bacterias adheridas entre los distintos materiales para cementación de bandas.
3. Identificar los materiales ortodóncicos cementantes con mayor o menor susceptibilidad de colonización bacteriana.
4. Examinar la afinidad de adhesión entre el *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguinis* a los distintos materiales ortodóncicos cementantes.
5. Observar mediante microscopía electrónica la colonización de bacterias.

5. Justificación:

El conocimiento de los patrones de la adherencia de *Streptococcus* cariogénicos a los materiales ortodóncicos puede proporcionar al clínico información valiosa para la prevención de la desmineralización del esmalte durante el tratamiento ortodóncico, evitando así la lesión de mancha blanca que afecta a la mayoría de pacientes bajo tratamiento ortodóncico.⁴⁴

La información sobre adherencia de *Streptococcus* cariogénicos a los materiales para cementación de bandas ortodóncicas puede ayudar a determinar el tipo de material cementante a usar para prevenir la desmineralización del esmalte.⁴⁵ Los fabricantes proveen cierta información de las propiedades físicas de los materiales dentales, pero la información de las propiedades antibacteriales es incierta o se desconoce, esta información es necesaria para decidir cuál es el mejor material entre la amplia gama de opciones que existen en el mercado.⁴⁶

6. Material y Métodos:

6.1 Diseño de Estudio

Tipo de estudio

Experimental, transversal y prospectivo.

Método de muestreo

La experimentación se realizó *in vitro* en bloques de resina y cemento.

Tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra fue un total de 420 bloques de 8 materiales para el cementado de bandas de uso ortodóncico (Fuji Ortho Band, Transbond Plus Band Cem, CX, Multi-Cure Band, Ortholy Band Paste, Ketac Cem, Protech, Optiband Ultra).

6.2 Criterios de inclusión, exclusión y eliminación

Criterios de inclusión

Materiales para cementación de bandas ortodóncicas actuales.

Criterios de exclusión

Materiales que no sean para cementación de bandas ortodóncicas actuales.

6.3 Procedimientos

Se fabricaron bloques de cemento utilizando un molde teflón de 4 X 4 x 1mm. Para los materiales fotopolimerizables el procedimiento se realizó cubriendo el material con un porta objetos de cristal seguido de la aplicación de la lámpara de luz fotopolimerizable (Ortholux, 3M Unitek, Monclovia, Calif., EUA) por 60 seg.^{5,6}

Los bloques obtenidos se pulieron ligeramente con papel abrasivo y pasta diamantada de 6µm (MetaDi II Diamond Paste, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) y se limpiaron ultrasónicamente durante un minuto para eliminar impurezas. La muestra se seco y fue almacenada en recipientes libres de humedad.

Cepas certificadas de *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguinis* fueron cultivadas con métodos convencionales para su reproducción en cajas Petri y con medios a base de agar tipo TSBY (caldo soya tripticaseina suplementado con extracto de levadura).

Para realizar el análisis cualitativo de la adherencia de los microorganismos a las superficie de los materiales, se observaron los especímenes después de sumergirlos en una solución que contuvo los microorganismos en constante movimiento, durante 2 horas a una temperatura de 37°C. Para la observación con microscopio electrónico de barrido fue necesario pre-fijar químicamente los especímenes con glutaraldehído y fijar con tetraóxido de osmio al 1%, desecar con una serie ascendente de etanol, secar por congelamiento y recubrir las muestras con osmio.^{47,48}

El análisis cuantitativo de la adherencia de los microorganismos a la superficie de los materiales se realizó con marcadores radiactivos para codificar a las bacterias (H^3 y Ca^{14}) y posteriormente se utilizó un sistema de combustión (ACS-113, Aloka, Tokio, Japón), para capturar los residuos y posteriormente medir la radiación de cada muestra (LSC-900, Aloka).³⁶

6.4 Variables de Estudio

Dependientes

- Tipo de bacteria: *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguinis*.

Independientes

- Material para cementación de bandas ortodóncicas: Fuji Ortho Band, Transbond Plus Band Cem, CX Plus, Multi-Cure Band, Ketac Cem, Protech, Optiband Ultra, Ortholy Band Paste.

Variables dependientes

Variable	Definición conceptual	Definición operativa	Tipo de variable	Escala de medición
<i>S. mutans</i>	Bacteria Grampositiva, anaerobia facultativa del grupo de los cocos que se encuentra normalmente en la cavidad bucal humana, asociada a la caries dental	Desintegración por minuto de <i>S. mutans</i> (dpm)	Cuantitativa	Razón
<i>S. sanguinis</i>	Bacteria Grampositiva, anaerobia facultativa del grupo de los cocos que se encuentra normalmente en la placa dentobacteriana, asociada a la enfermedad periodontal.	Desintegración por minuto de <i>S. sanguinis</i> (dpm)	Cuantitativa	Razón

Variables independientes

Variable	Definición conceptual	Definición operativa	Tipo de variable	Escala de medición
Material para cementación de bandas ortodóncicas	Agente cementante de uso ortodóncico que nos permite fijar de manera transitoria las bandas a los molares durante el tratamiento ortodóncico, de acuerdo a la polimerización pueden ser autopolimerizables o fotopolimerizables y de acuerdo a sus componentes pueden ser ionómeros de vidrio, resinas compuestas o ionómeros de vidrio modificados con resina.	Fuji Ortho Band LC	Cualitativa	Nominal
		Transbond Plus Band Cem		
		CX Plus		
		Multi-Cure Band		
		Ketac Cem		
		Protech		
		Optiband Ultra		
		Ortholy Band Paste		

6.5 Implicaciones Bioéticas

No existen implicaciones bioéticas ya que el presente estudio fue realizado *in vitro*.

6.6 Recolección de Datos

Se utilizó un sistema de combustión (ACS-113, Aloka, Tokio, Japón), para capturar los residuos y posteriormente medir la radiación de cada muestra (LSC-900, Aloka).³⁶

6.7 Análisis Estadísticos

Los datos fueron registrados y examinados con el software para análisis estadísticos SPSS 18. Para el análisis estadístico se realizaron múltiples comparaciones entre los diversos materiales con la prueba de ANOVA (Sheffèr Post-hoc).

7 Resultados

7.1. Primer artículo: Adherence of Streptococcus mutans to orthodontic band cements.

7.1.1. Carta de Aceptación primer artículo.

06-May-2012

Dear Prof. Scoguell-Vilchis:

I am pleased to inform you that your manuscript entitled "Adherence of Streptococcus mutans to orthodontic band cements" has been accepted for publication in the Australian Dental Journal. Your manuscript will now be forwarded to our production editor to be prepared for publication.

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Australian Dental Journal, I look forward to your continued contributions to the Journal.

Sincerely,

Prof. Mark Bartold

Adherence of *Streptococcus mutans* to orthodontic band cements

JC Gonzalez-Perez,* RJ Scougall-Vikhis,* R Contreras-Bulnes,* I De La Rosa-Gómez,* S Uematsu,† R Yamaguchi‡

*Autonomous University State of Mexico, Toluca, Mexico.

†School of Dentistry, Asahi University, Gifu, Japan.

‡Research Institute of Radioisotope, School of Dentistry, Asahi University Gifu, Japan.

ABSTRACT

Background: The aim of this study was to quantitatively determine the adherence of *Streptococcus mutans* to orthodontic band cements.

Methods: Two hundred and ten blocks of seven different band cements for orthodontic prescription were made using a Teflon mould (4 × 4 × 1 mm). The obtained blocks were slightly polished and cleansed ultrasonically. Certified *S. mutans* ATCC 25175 were cultured with conventional methods for growth in Petri dishes and trypticase soy broth. Quantitative analysis was carried out with radioactive markers to codify the bacteria (³H). Subsequently, a combustion system was used to capture the residues, the radioactivity of the samples was measured, and the values recorded in disintegrations per minute (dpm). One-way analysis of variance (ANOVA) with a Scheffé test for multiple comparisons was realized with a significance level of ≤ 0.05 .

Results: Significant differences were found among different band cement materials ($p < 0.001$). Two band cement materials showed statistically lower values than the others (Transbond Plus Band Cem and Ketac Cem). In contrast, GC Fuji Ortho Band presented the highest adherence of *S. mutans*.

Conclusions: Among the cements evaluated, Transbond Plus Band Cem and Ketac Cem showed lower adherence of *S. mutans*.

Keywords: Adherence, bacteria, band cement, radiolabel, *Streptococcus mutans*.

Abbreviations and acronyms: ANOVA = analysis of variance; dpm = disintegration per minute; SEM = scanning electron microscope.

(Accepted for publication 6 May 2012.)

INTRODUCTION

The oral cavity environment provides certain essential characteristics for the proliferation of bacteria that are capable of producing acids that demineralize the surface of the tooth enamel.¹ Dentobacterial plaque has a crucial role in the adhesion of these microorganisms to the dental surface in such a way that the demineralization of the enamel originates with the organic acid production of microorganisms. *Streptococcus mutans* has been classified as the most cariogenic bacteria.²

Orthodontic treatment using fixed appliances (brackets, bands, archwires, ties) provides suitable conditions to facilitate the colonization of cariogenic microorganisms. As the fixed appliances facilitate the retention and

adhesion of dentobacterial plaque, dental hygiene becomes more complicated and microorganisms increase the risk of enamel demineralization. Orthodontic bands are usually placed on the teeth for 2 years on average, and the proliferation of microorganisms, as well as the risk of enamel damage at the enamel-cement interface, increases. Demineralization of the enamel can occur from the first month after placement of fixed appliances.³ It has been estimated that the prevalence of white spot lesions in patients treated orthodontically is from 12.6% to 50%.⁴

The prevention of white spot lesions/caries and periodontal problems during orthodontic treatment is a significant challenge to the clinician and patient. Many strategies have been proposed and developed to minimize these biological consequences, which may

7.1.3. Resumen

Objetivo: El propósito del presente estudio fue el de determinar cuantitativamente la adherencia del *Streptococcus mutans* a cementos para bandas ortodóncicas. **Materiales y Métodos:** Se realizaron 210 bloques de siete materiales para el cementado de bandas ortodóncicas diferentes utilizando un molde de teflón de (4x4x1mm). Los bloques obtenidos se pulieron ligeramente y fueron limpiados con ultrasonido. Cepas certificadas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 fueron cultivadas mediante métodos convencionales en cajas Petri y con medios a base de agar tipo TSBY. El análisis cuantitativo fue llevado a cabo mediante marcadores radiactivos para codificar la bacteria (^3H). Posteriormente, un sistema de combustión se utilizó para capturar los residuos, la radiactividad de las muestras fue medida y los valores se registraron en desintegración por minuto (dpm). Se realizó el análisis estadístico de varianza de una vía (ANOVA) con el análisis de Sheffèr Post-hoc para múltiples comparaciones con un nivel de significación de ≤ 0.05 . **Resultados:** Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes cementos para bandas ($P < 0.001$). Los dos cementos que mostraron valores estadísticamente menores fueron Transbond Plus Band Cem y Ketac Cem. En contraste GC Fuji Ortho Band mostro la mayor adhesión de *S. mutans*. **Conclusiones:** De entre los cementos evaluados en el presente estudio Transbond Plus Band Cem y Ketac Cem mostraron una menor adhesión de *S. mutans*.

7.1.4. Abstract

Background: The aim of this study was to quantitatively determine the adherence of *Streptococcus mutans* to orthodontic bands cement. **Methods:** 210 blocks of seven different band cements for orthodontic prescription were made by using a Teflon mold (4×4×1mm). The obtained blocks were slightly polished and cleansed ultrasonically. Certified *Streptococcus mutans* ATCC 25175 were cultured with conventional methods for their growth in Petri dishes and trypticase soy broth. Quantitative analysis was carried out with radioactive markers to codify the bacteria (³H). Subsequently, a combustion system was used to capture the residues, the radioactivity of the samples was measured, and the values were recorded in disintegrations per minute (dpm). One-way analysis of variance (ANOVA) with a Sheffé test for multiple comparisons was realized with a significance level of ≤ 0.05 . **Results:** Significant differences were found among different band cement materials ($P < 0.001$). Two band cement materials showed statistically lower values than the others (Transbond Plus Band Cem and Ketac Cem). In contrast, GC Fuji Ortho Band presented the highest adherence of *S. mutans*. **Conclusions:** Among the cements evaluated under the conditions of the present study, Transbond Plus Band Cem and Ketac Cem showed lower adherence of *S. mutans*.

7.1.5 Primer Articulo

INTRODUCTION

The oral cavity environment provides certain essential characteristics for the proliferation of bacteria that are capable of producing acids that would demineralize the surface of the tooth enamel.¹ The dentobacterial plaque has a crucial role in the adhesion of these microorganisms on the dental surface in such a way that the demineralization of the enamel originates with the organic acid production of microorganisms. *Streptococcus mutans* has been classified as the most cariogenic bacteria.^{1,2}

Orthodontic treatment using fixed appliances (brackets, bands, archwires, ties) provides suitable conditions to facilitate the colonization of cariogenic microorganisms. As the fixed appliances facilitate the retention and adhesion of dentobacterial plaque, dental hygiene becomes more complicated and microorganisms increase the risk of enamel demineralization. Usually, orthodontic bands are placed on the teeth for 2 years on an average, and the proliferation of microorganism as well as the risk of enamel damage at the enamel-cement interface increase. Demineralization of the enamel can occur from the first month after the placement of the fixed appliances,³ and it has been estimated that the prevalence of white spot lesions in patients treated orthodontically is from 12.6 to 50%.⁴

The prevention of white spot lesions/ caries and periodontal problems during orthodontic treatment is a significant challenge to the clinician and patient. Many strategies have been proposed and developed to minimize these biological consequences which may include fluoride varnishes, tooth Mousse and various tooth pastes, mouth rinses. Moreover, new materials have been developed which are relatively insoluble (unlike the historical copper and zinc phosphate cements) and even include antibacterial and fluoride releasing characteristics.

Although the direct bonding of appliances is performed in the majority of teeth, cementation of orthodontic bands in molars is an essential procedure for the clinical treatment in most common cases. The properties of the cements are different due to their structure and chemical composition. The recently developed materials present a great diversity between their physical properties, chemical composition, as well as the ultrastructure.^{5, 6} These properties can cause positive or perhaps negative effects in the bacterial aggregation, and the most undesirable effect during the orthodontic treatment is the appearance of incipient white spot lesions. Currently, different kinds of materials are available for cementing bands; however, the glass ionomer cement is the most commonly used, followed by hybrid materials such as glass ionomer modified with composite-resin.

In this context, it is important to analyze the amount of bacterial accumulation in different cement materials used in orthodontics. Thus, the aim of this study was to quantitatively determine the adherence of *S. mutans* to orthodontic bands cement.

MATERIALS AND METHODS:

The following orthodontic cements were classified into seven groups:

I: Transbond Plus Band Cem (3M Unitek, Monrovia, Calif., USA); II: Ketac Cem (3M ESPE, Gmbh, Seefeld Oberbay, Germany); III: Ortholy Band Paste (Fuji GC Corp., Tokyo, Japan); IV: GC Fuji Ortho Band (GC Corporation, Tokyo, Japan); V: Multi-Cure Band (3M Unitek); VI: CX (Shofu, Kyoto, Japan); and VII: Optiband Ultra (Ormco, Glendora, Calif., USA). The types of the cements are described in the Table 1. The total sample size was 210 blocks (30 per group). The cement blocks were made by using a Teflon mold of $4 \times 4 \times 1$ mm. For the light curing materials (Groups I, IV, V, and VII), the procedure was performed covering the material with a micro-slide glass, followed by the application of the light curing lamp (Ortholux, 3M Unitek) with an intensity of 1600 mw/cm^2 for 60 sec. The self-curing materials were handled according to the manufacturer's instructions.

The obtained blocks were slightly polished with sand paper and diamond pastes of $6 \mu\text{m}$ (MetaDi II Diamond Paste, Buehler, Lake Bluff, IL, USA) and cleaned ultrasonically for a minute to eliminate impurities. The samples were dried and stored in humidity-free environment to avoid contamination. All the specimens were sterilized in ethylene oxide gas.

Certified *S. mutans* ATCC 25175 were cultured with conventional methods in Petri dishes and trypticase soy broth (BBL, Cockeysville, MD, USA).⁷ Subsequently, *S. mutans* were transferred to a liquid culture medium.

Quantitative analysis of the adhesion of the microorganisms to the surface of the materials was performed with radioactive markers to codify the bacteria (^3H). The specific activity of the radioactivity was approximately 30 000 d.p.m. per 10^8 cells.

Each cement block was suspended in labeled bacterial fluid at 37°C for 2 hours. To eliminate the non-adhering bacteria, the cement blocks were removed from the test tubes and immediately washed thrice with PBS. Labeled bacteria that adhered to the cement blocks were collected using an automatic sample combustion equipment (ACS-113, Aloka, Tokyo, Japan). Tritium was recovered as H_2O in Aquasol-2 (Packard) and radioactivity was measured by a liquid scintillation counter (LSC-900, Aloka).^{7,8,9} The results were recorded in disintegration per minute (dpm).

In addition, some representative samples were observed under a scanning electron microscope (SEM) at 2500X magnification only for a qualitative analysis propose; after submerging the specimens for 2 hours at 37°C in a solution containing the cultured microorganisms, and the solution was continually stirred. For the observation under SEM, the samples were chemically prefixed with glutaraldehyde and fixed with osmium tetroxide, dehydrated with an ascending series of ethanol, and freeze-dried. The sample were coated with a thin layer of osmium.¹⁰

Statistical analysis

The data were registered and examined with the software for statistic analyses, SPSS 18. (International Business Machines Corp. New York, USA). Differences in the measured values among the band cements were tested by one-way analysis of variance (ANOVA) with a Sheffè test for multiple comparisons. A probability of less than 0.05 for similarity of distribution was considered to be statistically significant.

RESULTS

The mean values of the quantitative radio-labeled *S. mutans*, expressed in dpm, and the Sheffè Post-hoc test to determine the statistically significant differences ($P < 0.001$) are summarized in Table 2. Moreover, the distribution frequency and percentage of each band cement material are illustrated in Figure 1.

According to the values of dpm, the results show that the band cements with less adhesion of *S. mutans* are Transbond Plus Band Cem (1261.01 dpm) and Ketac Cem (1264.64 dpm), followed by Ortholy Band Paste (1394.58 dpm), CX (1492.10 dpm), Multi-Cure Band (1551.62 dpm), and Optiband Ultra (1615.82 dpm). However, the values of Transbond Plus Band Cem and Ketac Cem were significantly lower than Multi-Cure Band, Optiban Ultra, and GC Fuji Ortho Band. Although the values yielded by Ortholy Band Paste and CX were higher than Transbond Plus Band Cem and Ketac Cem, they were not significant.

On the other hand, the band cement material with the highest quantity of *S. mutans* adhered was GC Fuji Ortho Band (1902.67 dpm; this value was significantly higher than all groups).

The representative SEM images of the cement materials obtained after 2 hours of immersion in *S. mutans* solution are shown in Figure 2. The results obtained in the quantitative analysis are consistent with the qualitative observation with SEM.

DISCUSSION

Bacteria adherence to composite resins has been analyzed and measured; however, today, to our knowledge, the adherence of *S. mutans* to orthodontic band cement materials has not been quantified. The orthodontic bands surround the molars and the accumulation of dental plaque is higher than the other teeth. The enamel–cement interface is a vulnerable area to develop white spot lesions and enamel demineralization. In this context, the application of cement with lower adherence of these cariogenic bacteria might be beneficial to prevent or reduce the undesirable formation of white spot lesion. The methodology and the certified type of strain used in this study has been reported in relevant literature obtaining reliable conclusions.

In the present study, the two band cements materials that demonstrated lower adherence of *S. mutans* were Transbond Plus Band Cem and Ketac Cem. Transbond Plus Band Cem is a blue-color light-cured compomer band cement in a single syringe commercial presentation that makes it easier to handle and differentiate from the tooth, is convenient because it does not require to be mixed and is ready to be placed directly on to the orthodontic band, and as it is light-cured, the clinician can determine the best time for polymerization. On the other hand, Ketac Cem is a conventional white-colored glass ionomer cement in a commercial presentation of liquid and powder, which has to be mixed, and has an established curing time of 3 minutes.

Gillgrass et al.¹¹ evaluated the band failure with different band cement materials and showed that the band failure rate of 2.8% for the conventional glass ionomer, Ketac Cem, is lower than the 5% band failure rate for the modified composite. Therefore, this conventional glass ionomer cement provides suitable properties to place orthodontic bands, yielding higher mechanical retention and lower adherence of *S. mutans*. Moreover, it has been shown that disks of Ketac Cem release higher level of fluoride in vitro and have a greater antimicrobial effect. Furthermore, it has also been shown that conventional glass ionomers, resin-modified glass ionomers, and modified composites have the capacity for fluoride uptake in vitro.¹²⁻¹⁵

Microgap formation between the adhesive material and the enamel surface contributes to microleakage, permitting the passage of bacteria and oral fluids, which can cause white spot lesions or demineralization under the attachment surface area.¹⁶ Orthodontic applications usually involve thin layers of adhesives and lack areas of bulk material that would seem to favor chemical cure systems. Orthodontic bands, however, are susceptible to areas of variable cement thickness and have a physically greater barrier to irradiation than brackets.¹⁷

Ulysal et al. published that different band cement materials showed a significant microleakage results: Ketac-Cem had the highest leakage scores between the cement-band (median, 3.50 mm) and cement-enamel (median, 2.88 mm) interfaces followed by Transbond Plus with a

microleakage in cement-band (median, 0.38 mm) and cement-enamel (median, 0.38 mm) interfaces and Multi-Cure cement-band (median, 0.25 mm) and cement-enamel (median, 0.38 mm) interfaces.¹⁸

In this study, GC Fuji Ortho Band showed the highest bacterial adherence among all the cements evaluated, and a possible explanation could be that this material has a different surface texture and some irregularities that can cause retention of microorganism, making it more susceptible for colonization (Figure 2 D).

Although GC Fuji Ortho Band and Ortholy Band Paste exhibit similar presentation and components, the mixing procedure is different (Ortholy Band Paste has an automixing canules system), and the results of *S. mutans* adherence are significant. On the other hand, Cacciafesta et al.¹⁹ showed that GC Fuji Ortho Band released more fluoride than the remaining molar banding adhesives evaluated; moreover, Multi-Cure Band was found to release more fluoride than Transbond Plus and Optiband. The highest fluoride release rate of GC Fuji Ortho Band could be due to some components, such as barium fluoride in the inorganic phase of the adhesive.¹⁹ Perhaps fluoride release of GC Fuji Ortho Band is not sufficient to avoid adhesion of *S. mutans* to the material.

Fluoride released from conventional glass ionomer and resin-modified glass ionomer is believed to contribute to antibacterial activity.²⁰ The availability of the fluoride and its release into the immediate microenvironment in vivo are not well defined in most novel fluoride-containing dental materials, including orthodontic cements. The fluoride concentration in a specific dental material's composition does not reflect its rate of release. Thus, the antibacterial properties due to fluoride concentration are expected to vary from one material to another.²¹

A material's ability to be recharged with fluoride or other antibacterial components might extend the antibacterial activity for the duration of the orthodontic treatment, thus providing a superior preventive measure to orthodontic treatment.²¹ As some fluoride-releasing cements presented higher adherence of *S. mutans*, further studies should be carried out to identify the bacteriostatic effects of the cements with the property to release fluoride against the adherence of *S. mutans*.

In this study we evaluated the quantity of *S. mutans* adhered to different cements commonly used in Orthodontics, the application of a material with lower accumulation of this cariogenic microorganism might be beneficial; however, the white spot lesion is a multifactorial process found in patient treated with orthodontics due the changes of the oral ecologic, such as a low pH environment, increased retentive sites for *S. mutans*, and increased retention of food particles, which may lead to increased proportions numbers of bacteria.²²⁻²⁷ Additionally, oral

hygiene methods must be emphasized, the auxiliaries mouthwashes, sprays or varnishes and be very careful with the orthodontic material that we chose in a way to prevent this undesirable effects. In this connection, Nelson-Filho et al.²⁸ reported the efficacy of the use of a mouthwash with 0.12% of chlorhexidine gluconate to significant decrease the levels of *S. mutans* and we considerate that this would be an alternative to control this levels and reduce the white spot lesion.²⁸

Another important factors is the acid production potential, the solubility of the material, the distribution and volume of residual material and the comparative between bonding agents so further studies should be carried out to identified the bacterial adhesion with different variables and compare it with this results.

CONCLUSION

Among the cements evaluated in the present study, Transbond Plus Band Cem and Ketac Cem showed lower adherence of *S. mutans*. In this context, the application of a band cement material with lower adherence of these cariogenic bacteria might be beneficial to prevent or reduce the undesirable formation of white spot lesions.

ACKNOWLEDGMENT

The authors thank the Asahi University for providing all the facilities for making this research possible and the Mexican Council of Science and Technology (CONACYT) for the support.

REFERENCES

1. Babaahmady KG, Challacombe SJ, Marsh PD, Newman HN. Ecological study of *streptococcus mutans*, *streptococcus sobrinus* and *lactobacillus spp.* at sub-sites from approximal dental plaque from children. *Caries Res.* 1998; 32:51-8.
2. Hamada S, Slade HD. Biology, Immunology, and cariogenicity of *streptococcus mutans*. *Microbiol Rev.* 1980; 44: 331-84.
3. Gorelick L, Geiger AM, Gwinnett AJ. Incidence of white spot formation after bonding and banding. *Am J Orthod.* 1982; 81:93-8.
4. Artun J, Brobakken B. Prevalence of caries and white spots after orthodontic treatment with multibonded appliances. *Eur J Orthod.* 1986; 8:229-34.
5. Scougall-Vilchis RJ, Hotta Y, Hotta M, Idono T, Yamamoto K. Examination of composite resins with electron microscopy, microhardness tester and energy dispersive x-ray microanalyzer. *Dent Mater J.* 2009; 28: 102-112.
6. Scougall-Vilchis RJ, Hotta Y, Yamamoto K. Examination of six orthodontic adhesives with electron microscopy, hardness tester and energy dispersive x-ray micro analyzer. *Angle Orthod.* 2008; 78: 655-661.
7. Saku S, Kotake H, Scougall-Vilchis RJ, Ohashi S, Hotta M, Horiuchi S, Hamada K, Asaoka K, Tanaka E, Yamamoto K. Antibacterial activity of composite resin with glass-ionomer filler particles. *Dent Mater J.* 2010; 29(2): 193–198.
8. Nagayama M, Sato M, Yamaguchi R, Tokuda C, Takeuchi H. Evaluation of co-aggregation among *Streptococcus mitis*, *fusobacterium nucleatum* and *porphyromonas gigivalis*. *Letters in applied microbiology.* 2001; 33:122-5.
9. Hülsen W. A completely automatic sample combustion device for the technic of measuring H-3 and C-14 in the liquid scintillation spectrometer. *Experientia.* 1970 Dec 15;26(12):1406-7.
10. Scougall-Vilchis RJ, Yamamoto S, Kitai N, Hotta M, Yamamoto K. Shear bond strength of a new fluoride-releasing orthodontic adhesive. *Dent Mater J.* 2007; 26: 45-51.
11. Gillgrass TJ, Benington PCM, Millett DT, Newell J, Gilmour WH. Modified composite or conventional glass ionomer for band cementation? A comparative clinical trial. *Am J Orthod.* 2001;120:49-53.
12. Gillgrass TJ, Millett DT, Creanor SL, MacKenzie D, Bagg J, Gilmour WH, et al. Fluoride release, microbial inhibition and microleakage pattern of two orthodontic band cements. *J Dent.* 1999;27:455-61.
13. Takahashi K, Emilson CG, Birkhed D. Fluoride release in vitro from various glass ionomer cements and resin composites after exposure to NaF solutions. *Dent Mater.* 1993;9:350-4.

14. Hatibovic-Kofman S, Koch G, Ekstrand J. Glass ionomer materials a rechargeable fluoride release system. *Int J Paediatr Dent*. 1997;7:65-73.
15. Ashcraft DB, Staley RN, Jakobsen JR. Fluoride release and shear bond strengths of three light-cured glass ionomer cements. *Am J Orthod*. 1997;111:260-5.
16. James JW, Miller BH, English JD, Tadlock LP, Buschang PH. Effects of high-speed curing devices on shear bond strength and microleakage of orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2003;123:555-61.
17. Mizrahi E. Glass ionomer cements in orthodontics—an update. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1988;93:505-7.
18. Uysal T, Ramoglu SI, Ertas H, Ulkerd M. Microleakage of orthodontic band cement at the cement-enamel and cement-band interfaces. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2010;137:534-539.
19. Cacciafesta V, Sfondrini MF, Tagliani P, Klersy C. In-vitro fluoride release rates from 9 orthodontic bonding adhesives. *Am J Orthod*. 2007;132:656-62.
20. Fujimaki M, Rosa OPS, Torres SA, Costa B, Cury JA. Relationship between fluoride and aluminum release by dental materials and its antibacterial effect. *J Dent Res* 2000;79:294.
21. Matalon S, Slutzky H, Weissc EI. Antibacterial properties of 4 orthodontic cements. *Am J Orthod* 2005;127:56–63
22. Balenseifen JW, Madonia JV. Study of dental plaque in orthodontic patients. *J Dent Res*. 1970;49:20-3,
23. Chatterjee R, Kleinberg I. Effect of orthodontic band placement on the chemical composition of human incisor tooth plaque. *Arch Oral Biol*. 1979;24:97-100.
24. Corbett JA, Brown LR, Keene HI, Hot-ton IM. Comparison of *Streptococcus mutans* concentration in banded and non-banded orthodontic patients. *J Dent Res*. 1981;60:1936-42.
25. Mattngly JA, Sauer GJ, Yancey JM, Arnold RR. Enhancement of *Streptococcus mutans* colonization by direct bonded appliances. *J Dent Res*. 1983;62:1209-11.
26. Scheie AA, Arnesberg P, Krogstad O. Effects of orthodontic treatment on prevalence of *Streptococcus mutans* in plaque and saliva. *Scand J Dent Res*. 1984;92:211-7.
27. Vierrou AM, Manwell MA, Zameck RL, Sachdeva R, Tinanoff N. Control of *Streptococcus mutans* with topical fluorides in patients undergoing orthodontic treatment. *J Am Dent Assoc*. 1986;113:644-6.
28. Nelson-Filho P, Olmedo LY, Andruccioli MC, Saraiva MdaC, Matsumoto MA, de Queiroz AM, da Silva RA, da Silva LA. Use of the checkerboard DNA-DNA hybridisation technique

for in vivo detection of cariogenic microorganisms on metallic brackets, with or without use of an antimicrobial agent. *J. Dent.* 2011;39:513-17

Figure Legends

Figure 1. Distribution frequency of quantitative *S. mutans* adherence

Figure 2. SEM images of the orthodontic band cements immersed in a solution of *S. mutans* for 2 hours with a 2500x magnification. A, Transbond Plus Band Cem; B, Ketac Cem; C, Ortholy Band Paste; D, GC Fuji Ortho Band; E, Multi-Cure Band; F, CX; and G, Optiband Ultra.

Table 1. Tested Materials

Trade Name	Cement Type	Curing Mechanism
I. Transbond Plus Band Cem	Compomer	Photopolymerization (light cure)
II. Ketac Cem	Conventional glass ionomer	Chemical cure (acid-base reaction)
III. Ortholy Band Paste	Resin-modified glass ionomer	Photopolymerization (light cure)
IV. Fuji Ortho Band	Resin-modified glass ionomer	Chemical cure (acid-base reaction)
V. Multi-Cure Band	Resin-modified glass ionomer	Tri-cure (acid-base reaction, light cure, and self cure)
VI. CX	Conventional glass ionomer	Chemical cure (acid-base reaction)
VII. Optiband Ultra	Resin-modified glass ionomer	Photopolymerization (light cure)

Table 2. Quantitative adherence of radio-labeled *S. mutans* to orthodontic band cements (values expressed in dpm).

Band Cement Groups	Mean (dpm)	SD	*Sheffè Test
G I: Transbond Plus Band Cem	1261.01	202.85	A
G II: Ketac Cem	1264.64	197.22	A
G III: Ortholy Band Paste	1394.58	249.28	A, B
G IV: Fuji Ortho Band	1902.1	257.91	C
G V: Multi-Cure Band	1551.62	284.54	B
G VI: CX	1492.49	325.59	A, B
G VII: Optiband Ultra	1615.82	376.79	B

*Groups with different letters are significantly different from each

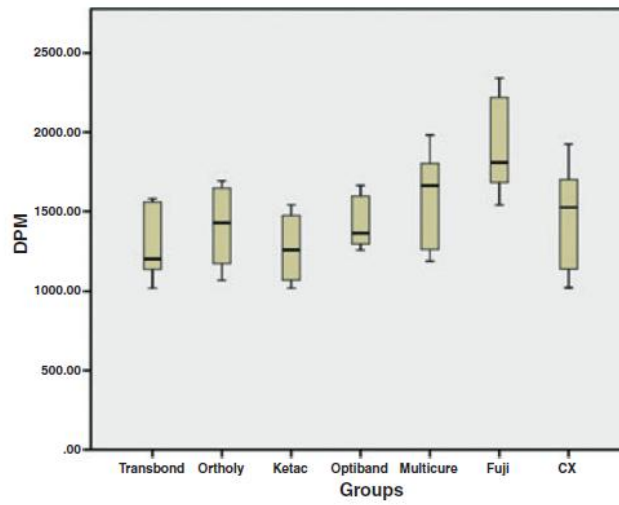


Fig. 1 Distribution frequency of quantitative *S. mutans* adherence.

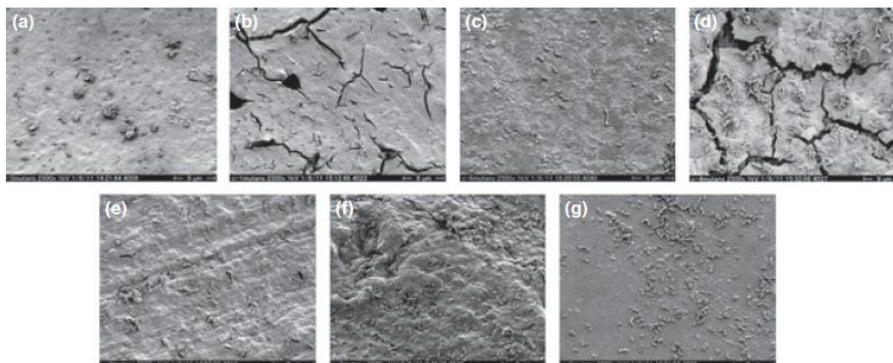
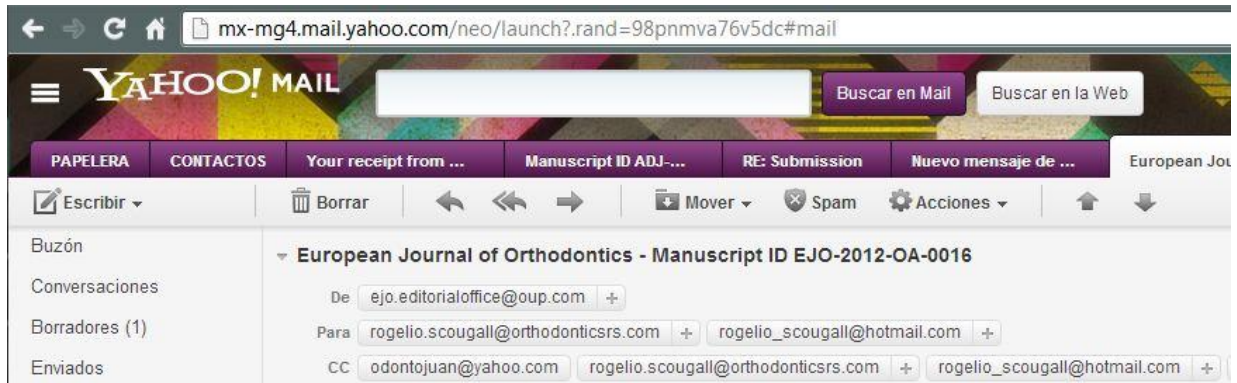


Fig. 2 SEM images of the orthodontic band cements immersed in a solution of *S. mutans* for 2 hours at 2500× magnification. (a) = Transbond Plus Band Cem; (b) = KetacCem; (c) = Ortholy Band Paste; (d) = GC Fuji Ortho Band; (e) = Multi-Cure Band; (f) = CX; and (g) = Optiband Ultra.

7.2. Segundo artículo: Quantitative adherence of *Streptococcus sanguinis* to eight orthodontic band cements.

7.2.1. Carta de Envío Segundo artículo



Dear Dr. Scougall-Vilchis,

Your manuscript entitled " Quantitative adherence of *Streptococcus sanguinis* to eight orthodontic band cements " has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the European Journal of Orthodontics.

Your manuscript ID is EJO-2012-OA-0016.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to Manuscript Central at <http://mc.manuscriptcentral.com/ejo> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <http://mc.manuscriptcentral.com/ejo> .

Please note that all future communications concerning this manuscript will be directed to the Corresponding Author only.

Thank you for submitting your manuscript to the European Journal of Orthodontics.

Sincerely,

European Journal of Orthodontics Editorial Office

7.2.2. Resumen

Objetivo: El propósito del presente estudio fue el de determinar cuantitativamente la adherencia del *Streptococcus sanguinis* a ocho cementos para bandas ortodóncicas. **Materiales y Metodos:** Se realizaron 240 bloques de ocho materiales para el cementado de bandas ortodóncicas diferentes utilizando un molde de teflón de (4x4x1mm). Los bloques obtenidos se pulieron ligeramente y fueron limpiados con ultrasonido. Cepas certificadas de *Streptococcus sanguinis* ATCC 49295 fueron cultivadas mediante métodos convencionales en cajas Petri y con medios a base de agar tipo TSBY. El análisis cuantitativo fue llevado a cabo mediante marcadores radiactivos para codificar la bacteria (^3H). Posteriormente, un sistema de combustión se utilizó para capturar los residuos, la radiactividad de las muestras fue medida y los valores se registraron en desintegración por minuto (dpm). Se realizó el análisis estadístico de varianza de una vía (ANOVA) con el análisis de Sheffèr Post-hoc para múltiples comparaciones con un nivel de significación de ≤ 0.05 . **Resultados:** Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes cementos para bandas ($P < 0.001$). Transbond Plus Band Cem mostró una adhesión significativamente menor (970.33dpm), seguido por Ortholy Band Paste (1267.03dpm), Optiband Ultra (1354.54dpm), GC Fuji Ortho Band (1498.71dpm), Multi-Cure Band (1644.84dpm), Protech (2004.53dpm) y Ketac Cem (2087.38dpm). En contraste CX presentó la mayor adhesión de *S. sanguinis*. **Conclusiones:** Entre los cementos evaluados Transbond Plus Band Cem mostró una adhesión significativa menor de *Streptococcus sanguinis*.

7.2.3. Abstract

Purpose: This study aimed to determinate quantitatively the adherence of *Streptococcus sanguinis* to eight different orthodontic band cements. **Methods:** The sample consisted of 240 blocks of 8 different band cements (I: Transbond Plus Band Cem, II: Ortholy Band Paste, III: Optiband Ultra, IV: GC Fuji Ortho Band, V: Multi-Cure Band, VI: Protech, VII: Ketac Cem and VIII: CX). The blocks were made by using a Teflon mold (4 x 4 x 1mm). Certified *Streptococcus sanguinis* ATCC 49295 were cultivated with conventional methods and broth with agar type TSBY. The quantitative analysis was carried out with radioactive markers to codify the bacteria (^3H). The radioactivity of the samples was measured and the values were recorded in disintegrations per minute (dpm). One-way analysis of variance (ANOVA) with a Sheffèr Post-hoc test for multiple comparisons was carried out with a significance level of ≤ 0.05 . **Results:** Significant differences were found among different band cement materials ($P < 0.001$). Two band cement materials showed statistically lower values (Transbond Plus Band Cem and Ortholy Band Paste). In contrast, CX presented the highest adherence of *S. sanguinis*. **Conclusions:** Among the cements evaluated Transbond Plus Band Cem showed significantly lower adherence of *S. sanguinis*.

7.2.4. Segundo Artículo

INTRODUCTION

The principal etiology of periodontitis, caries and gingivitis is a mixed bacteria in a biofilm structures on supragingival and subgingival tooth surfaces and oral soft tissues. The fixed appliances in orthodontic treatment modify the normal oral environment disrupting the balance between the host and established microorganisms. Clinical and microbiologic changes were induced on clinical and microbiologic parameters in subjects undergoing orthodontic therapy.¹⁻⁸ There appears to be a shift in the subgingival microbiota during orthodontic therapy. Increasing the total bacterial load, including spirochetes, fusiform bacteria, rods, and gram-negative anaerobic species concomitant with a reduction in gram-positive and aerobic bacteria, has been reported.^{2,6,7}

Augmented plaque accumulation, bleeding on probing and probing pocket depth have been reported after placement of bonded and banded orthodontic appliances.^{1-4,5,7,8}

Different studies report that the only presence of *S. mutans* is not sufficient to predict the formation of dental caries in children.^{9,10} The presence of other oral *streptococcus* species in the oral cavity may also moderate caries outcome in children. *Streptococcus sanguinis*, one of the predominant species of the indigenous oral biota colonizing saliva and dental plaque, is usually associated with tooth surfaces free of caries.^{11,12} It has been reported that the *S. mutans* to *S. sanguinis* ratio might be indicative of caries outcome or risk for caries.^{9,13,14}

In fact, several investigators using conventional culture methods have deduced from their studies that *S. sanguinis* may play an antagonistic role against *S. mutans* colonization.^{13,15,16} *S. sanguinis* is recognized not only for its historical association with life-threatening bacterial endocarditis, but also because of its putative antagonistic role in dental caries and periodontal diseases.^{17,18} In terms of the former, *S. sanguinis* may compete with the *mutans streptococci* for colonization sites on tooth surfaces, since both groups of bacteria require the presence of teeth for colonization and may exhibit direct biochemical antagonism *in situ*.¹⁹⁻²¹ Hence, the present study was conducted to determinate quantitatively the adherence of *Streptococcus sanguinis* to eight different orthodontic band cements.

METHODS:

The following orthodontic cements were classified in 8 groups:

I: Transbond Plus Band Cem (3M Unitek, Monclovia, Calif., USA); II: Ortholy Band Paste (Fuji GC Corp., Tokyo, Japan); III: Optiband Ultra (Ormco, Glendora, Calif., USA); IV: GC Fuji Ortho Band (GC Corp.); V: Multi-Cure Band (3M Unitek); VI: Protech (Ormco); VII: Ketac Cem (3M ESPE, Gmbh, Seefeld Oberbay, Germany); VIII: CX (Shofu, Kyoto, Japan). The characteristics of the cements are described in the Table 1. The sample consisted of 240 blocks 30 of each group. The cement blocks were made by using a Teflon mold of 4 x 4 x 1mm. For the light curing materials (groups I, III, V) the procedure was performed covering the material with a micro-slide glass followed of the application of the light curing lamp (Ortholux, 3M Unitek) with an intensity of 1600 mw/cm² for 60 seg. The selfcuring materials were handled according to the manufacturer's instructions.

The obtained blocks were slightly polished with sand paper and diamond pastes of 6µm (MetaDi II Diamond Paste, Buehler, Lake Bluff, IL, USA) and cleaned ultrasonically during a minute to eliminate impurities. The sample were dried and stored in free humidity containers to avoid contamination. All the specimens were sterilized with ethylene oxide gas.

Certified *Streptococcus sanguinis* ATCC 49295 were cultivated with conventional methods in Petri boxes and broth with agar type Trypticase Soy Broth (BBL, Cockeysville, MD, USA).²² After that, the *S. sanguinis* was transfer to a liquid cultured medium.

The quantitative analysis of the adhesion of the microorganisms to the surface of the materials was performed with tritium (³H), a radioactive marker to codify the bacteria, 74 kBq of [6-³H] thymidine (GE healthcare U.S.A.), and cultured by 18 hours at 37° C. After that, the bacteria was collected by centrifugation at 12 000 rpm for 15 minutes into 0.05M phosphate buffer saline (PBS) adjusted to pH 7.0, and washed three times with PBS. The concentration of *S. sanguinis* was 10⁵ CFU/ml. and the specific activity of the radioactivity was approximately 30 000 d.p.m. per 10⁸ cells.

Each cement block was suspended in labeled bacterial fluid at 37°C for 2 hours (Figure 1). To eliminate the non-adhering bacteria, the cement blocks were removed from the test tubes and immediately washed with PBS three times. Labeled bacteria which adhered to the cement blocks were collected using an automatic sample combustion equipment (ACS-113, Aloka, Tokyo, Japan). Tritium was recovered as H₂O in Aquasol-2 (Packard) and radioactivity was measured by a liquid scintillation counter (LSC-900, Aloka).²³ The results were recorded in disintegration per minute (dpm).

Statistical analysis

The data was registered after each sample was measured repeatedly 3 times. The results obtained were evaluated with software for statistic analyses SPSS 18 (International Business Machines Corp. New York, USA). Differences in measured values among the band cements were tested by one-way analysis of variance (ANOVA) with a Sheffèr Post-hoc test for multiple comparisons. A probability of less than 0.05 for similarity of distribution was considered to be significantly different.

RESULTS

The mean values of the quantitative radio-labeled *S. sanguinis*, expressed in dpm, and the Sheffèr Post-hoc test to determine the statistically significant differences ($P < 0.001$) are presented in Table 2.

It is important to mention that higher mean values of dpm represent higher radioactivity; in other words, means more quantity of bacteria adhered.

According to the values of dpm, the results showed that the band cement with significant less adhesion of *S. sanguinis* was Transbond Plus Band Cem (970.33 dpm), followed by Ortholy Band Paste (1267.03 dpm), Optiband Ultra (1354.54 dpm), GC Fuji Ortho Band (1498.71 dpm), Multi-Cure Band (1644.84 dpm), Protech (2004.53 dpm) and Ketac Cem (2087.38). On the other hand, the band cement material with the significant highest quantity of *S. sanguinis* adhered was CX (2308.25 dpm).

DISCUSSION

Advances in orthodontic materials have affected orthodontic practice, there are materials that do not need to be mixed and are light cured, so they reduce the chair time. The oral cavity reunites proper characteristics for the bacterial colonization and they must have the ability to adhere to oral surfaces, a property which has been repeatedly shown to be highly specific.²⁴

In addition to specific surface adhesion, bacteria have the property of co aggregation which allows cell-to-cell recognition of genetically distinct cell types.^{25,26}

The conventional glass ionomer cements (groups VI, VII, VIII) analyzed in this study showed similar results with each other. Additionally, these materials showed higher adherence of *S. sanguinis*, it is important to mention that these three band cements are self curing materials manufactured in powder and liquid; then, they need to be mixed manually and micro-air bubbles could be included. In contrast, no mixing materials (groups I and III) showed less bacterial adhesion, these are presented in one composite syringe with a contrasting blue color and they are light curing materials. In the process of handling the mixing materials showed an

irregular surface of the material block and in contra part the no mixing materials showed a smoother surface, the roughness of the material surface might be correlated with the adherence of *S. sanguinis* similar as Mei and cols showed in their work they conclude that the adhesion forces to orthodontic composites increase with increasing roughness of the composite surface.²⁷ Ketac cem and CX two conventional glass ionomer cements analyzed in this study, showed the higher adherence of *S. sanguinis*; it is important to mention that this band cement materials are self-curing and manufactured in powder and liquid. They need to be mixed manually and micro-air bubbles could be included. In contrast Transbond Plus Band Cem is a no mixing materials and showed less bacterial adhesion; this is presented in one composite syringe with a contrasting blue color and it is a light-curing material.

Because the cariogenic potential of *S. sanguinis* is deemed low compared to that of the *mutans streptococci*, several investigators have suggested that the ratio *S. mutans/S. sanguinis* may serve as an indicator for caries risk, the smaller the ratio, the lesser the risk of caries.^{17,28}

In the other hand it is a known fact that oral bacteria can gain access to the bloodstream after invasive dental procedures. Bacteremia can be life threatening and lead to infective endocarditis, brain abscesses, and other distant-site infections.²⁹ In a healthy person, microorganisms are efficiently cleared from the bloodstream by the reticuloendothelial system within a few minutes.³⁰ However, in some patients with compromised immune systems, bacteremia can be dangerous. Infective endocarditis can occur as a consequence of bacteremia, particularly in patients with congenital or acquired cardiac anomalies.^{31,32} Only 4 cases of endocarditis related to orthodontic treatment have been identified in the literature.³³⁻³⁶

Erverdi et al. found a bacteremia incidence of 6.6% in the postoperative blood samples from 30 patients after orthodontic debanding. The isolated bacteria were *S. sanguinis* and *Streptococcus mitis*. Orthodontic appliances tend to retain bacterial plaque and food debris, resulting in mild to moderate gingivitis in most patients.³⁶

Other studies showed that may be an antagonist relation between *S. sanguinis* and *S. mutans*, this finding result that *S. sanguinis* may compete with the *mutans streptococci* for colonization sites on tooth surfaces and suppose a decrease in the levels of *S. mutans* diminishing the incidence of caries; nevertheless, we need to be very cautious because this bacteria it is also associated with gingivitis, periodontal disease, bacteremia and endocarditis.

The clinician has to consider different characteristics of the dental materials for orthodontics bands cements and in some cases the bacterial adherence information is unknown, we deem that it is important to evince the material that showed the more bacterial adhesion.

In this context further studies are needed to evaluate the interactivity of this microorganism with another species of bacteria and the mechanisms by which the two major indigenous microorganisms compete with each other to result in disease or health of the oral cavity.

CONCLUSION

Among the cements evaluated in the present study, Transbond Plus Band Cem showed significantly lower adherence of *S. sanguinis* whereas CX presented significantly highest adherence of *S. sanguinis*. The possible antagonism effect of the *S. sanguinis* with cariogenic bacteria will suppose that more *S. sanguinis* adherence to band cements material may prevent undesirable lesion after debanding; however, it might be a higher risk to systemic health. Further studies are warrant to evaluate the interactivity of this microorganism with another species of bacteria and the mechanisms by which the two major indigenous microorganisms compete with each other to result in disease or health of the oral cavity.

ACKNOWLEDGMENT

The authors thank the Asahi University for providing all the facilities for making this research possible and the Mexican Council of Science and Technology (CONACYT) for the support.

REFERENCES

1. Alexander SA. Effects of orthodontic attachments on the gingival health of permanent second molars. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1991;100:337-400.
2. Atack NE, Sandy JR, Addy M. Periodontal and microbiological changes associated with the placement of orthodontic appliances. A review. *J Periodontol.* 1996;67:78-85.
3. Boyd RL, Baumrind S. Periodontal considerations in the use of bonds or bands on molars in adolescents and adults. *Angle Orthod.* 1992;62:117-26.
4. 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;34:423-31.
5. Kloehn JS, Pfeifer JS. The effect of orthodontic treatment on the periodontium. *Angle Orthod.* 1974;42:26-34.
6. Lee SM, Yoo SY, Kim HS, Kim KW, Yoon YJ, Lim SH. Prevalence of putative periodontopathogens in subgingival dental plaques from gingivitis lesions in Korean orthodontic patients. *J Microbiol.* 2005;43:260-5.
7. 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.e17-22.
8. Sinclair PM, Berry CW, Bennett CL, Israelson H. Changes in gingival and gingival flora with bonding and banding. *Angle Orthod.* 1987;57:271-8.
9. Burt BA, Loesche WJ, Eklund SA. Stability of selected plaque species and their relationship to caries in a child population over 2 years. *Caries Res.* 1985;19:193–200.
10. Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev.* 1986;50:353–380.
11. Marchant S, Brailsford SR, Twomey AC, Roberts GJ, Beighton D. The predominant microflora of nursing caries lesions. *Caries Res.* 2001;35:397–406.
12. Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, Boches SK, Dewhirst FE, Griffen AL. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *J Clin Microbiol.* 2002;40:1001–1009.
13. Loesche WJ, Eklund S, Earnest R, Burt B. Longitudinal investigation of bacteriology of human fissure decay: epidemiological studies in molars shortly after eruption. *Infect Immun.* 1984;46:765–772.
14. Alaki SM, Loesche WJ, da Fonesca MA, Feigal RJ, Welch K. Preventing the transfer of *Streptococcus mutans* from primary molars to permanent first molars using chlorhexidine. *Pediatr Dent.* 2002;24:103–108.

15. De Stoppelaar JD, Van Houte J, Backer Dirks O. The relationship between extracellular polysaccharide-producing streptococci and smooth surface caries in 13-year-old children. *Caries Res.* 1969;3:190–199.
16. Caufield PW, Dasanayake AP, Li Y, Pan Y, Hsu J, Hardin JM. Natural history of *Streptococcus sanguinis* in the oral cavity of infants: evidence for a discrete window of infectivity. *Infect Immun.* 2000; 68:4018–4023.
17. Loesche WJ, Rowan J, Straffon LH, Loos PJ. Association of *Streptococcus mutans* with human dental decay. *Infect. Immun.* 1975;11:1252–1260.
18. Socransky SS, Haffajee AD, Dzink JL, Hillman JD. Associations between microbial species in subgingival plaque samples. *Oral Microbiol. Immunol.* 1988;3:1–7.
19. Carlsson J, Soderholm G, Almfeldt I. Prevalence of *Streptococcus sanguis* and *Streptococcus mutans* in the mouth of persons wearing full-dentures. *Arch. Oral Biol.* 1969;14:243–249.
20. Carlsson, J, Grahnen H, Jonsson G, Wikner S. Establishment of *Streptococcus sanguis* in the mouths of infants. *Arch. Oral Biol.* 1970;15:1143–1148.
21. van der Hoeven JS, Camp PJ. Mixed continuous cultures of *Streptococcus mutans* with *Streptococcus sanguis* or with *Streptococcus oralis* as a model to study the ecological effects of the lactoperoxidase system. *Caries Res.* 1993;27:26–30.
22. Saku S, Kotake H, Scougall-Vilchis RJ, Ohashi S, Hotta M, Horiuchi S, Hamada K, Asaoka K, Tanaka E, Yamamoto K. Antibacterial activity of composite resin with glass-ionomer filler particles. *Dent Mater J.* 2010;29(2): 193–198.
23. Nagayama M, Sato M, Yamaguchi R, Tokuda C, Takeuchi H. Evaluation of co-aggregation among *Streptococcus mitis*, *fusobacteriumbnucleatum* and *porphyromonas gigivalis*. *Letters in applied microbiology.* 2001;33:122-5.
24. Whittaker CJ, Klier CM, Kolenbrander PE. Mechanisms of adhesion by oral bacteria. *Annu Rev Microbiol.* 1996;50:513-552.
25. Kolenbrander PE, Ganeshkumar N, Cassels FJ, Hughes CV. Coaggregation: specific adherence among human oral plaque bacteria. *Faseb J.* 1993;7(5):406-413.
26. Kolenbrander PE. Coaggregation among oral bacteria. *Methods in Enzymology.* 1995;253:385-397.
27. Mei L, Busscher HJ, van der Mei HC, Ren Y. Influence of surface roughness on streptococcal adhesion forces to composite resins. *Dent Mater.* 2011 Aug; 27(8):770-8.

28. de Stoppelaar JD, van Houte J, Backer-Dirks O. The relationship between extracellular polysaccharide-producing streptococci and smooth surface caries in 13-year-old children. *Caries Res.* 1969;3:190–199.
29. Tomas I, Alvarez M, Limeres J, Otero JL, Saavedra E, Lopez-Melendez C. *In vitro* activity of moxifloxacin compared to other antimicrobials against streptococci isolated from iatrogenic oral bacteremia in Spain. *Oral Microbiol Immunol.* 2004;19:331-5.
30. Heimdahl A, Hall G, Hedberg M, Sandberg H, Soder PO, Tuner K. Detection and quantitation by lysis-filtration of bacteremia after different oral surgical procedures. *J Clin Microbiol.* 1990;28:2205-9.
31. Meurman JH, Hamalainen P. Oral health and morbidity implications of oral infections on the elderly. *Gerodontology.* 2006;23:3-16.
32. Takai S, Kuriyama T, Yanagisawa M, Nakagawa K, Karasawa T. Incidence and bacteriology of bacteremia associated with various oral and maxillofacial surgical procedures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005;99:292-8.
33. Biancaniello TM, Romero JR. Bacterial endocarditis after adjustment of orthodontic appliances. *J Pediatr.* 1991;118:248-9.
34. Dajani AS. Bacterial endocarditis after minor orthodontic procedures. *J Pediatr.* 1991;119:339-40.
35. Hobson RS, Clark JD. Management of the orthodontic patient ‘at risk’ from infective endocarditis. *Br Dent J.* 1995;178:289-95.
36. Erverdi N, Biren S, Kadir T, Acar A. Investigation of bacteremia following orthodontic debanding. *Angle Orthod.* 2000;70:11-4.

Table 1. Tested Materials

Trade Name	Cement Type	Curing Mechanism
G I: Transbond Plus Band Cem	Compomer	Photopolymerization (light cure)
G II: Ortholy Band Paste	Resin-modified glass ionomer	Photopolymerization (light cure)
G III: Optiband Ultra	Resin-modified glass ionomer	Photopolymerization (light cure)
G IV: Fuji Ortho Band	Resin-modified glass ionomer	Chemical cure (acid-base reaction)
G V: Multi-Cure Band	Resin-modified glass ionomer	Tri-cure (acid-base reaction, light cure, and self cure)
G VI: Protech	Conventional glass ionomer	Chemical cure (acid-base reaction)
G VII: Ketac cem	Conventional glass ionomer	Chemical cure (acid-base reaction)
G VIII: CX	Conventional glass ionomer	Chemical cure (acid-base reaction)

Table 2. Quantitative adherence of radio-labeled *S. sanguinis* to orthodontic band cements (values expressed in dpm).

Band Cement Groups	Mean (dpm)	SD	*Sheffè Test
G I: Transbond Plus Band Cem	970.33	214.54	A
G II: Ortholy Band Paste	1267.03	105.54	B
G III: Optiband Ultra	1354.54	31.33	B, C
G IV: Fuji Ortho Band	1498.71	181.43	C, D
G V: Multi-Cure Band	1644.84	198.1	D
G VI: Protech	2004.53	84.82	E
G VII: Ketac cem	2087.38	438.61	E
G VIII: CX	2308.25	182.5	F

*Groups with different letters are significantly different from each other.

Figure Legends

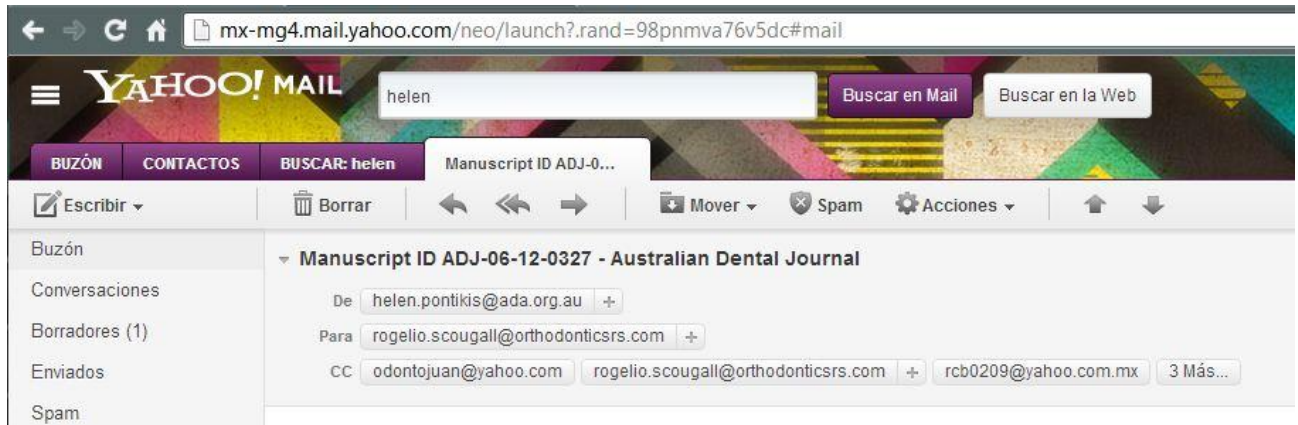
Figure 1. Cements blocks placed previous to suspension in radiolabeled bacterial fluid.



Fig. 1

7.3. Tercer artículo: Quantitative adherence of *Streptococcus sanguinis* and *Streptococcus mutans* to seven band cements.

7.3.1 Carta de Envío tercer artículo.



Dear Prof. Scougall-Vilchis:

Your manuscript entitled "Quantitative adherence of *Streptococcus sanguinis* and *Streptococcus mutans* to seven band cements." by Gonzalez-Perez, Juan; Scougall-Vilchis, Rogelio; Contreras_bulnes, Rosalia; De la Rosa-Gomez, Isaias; Uematsu, Shinsuke; Yamaguchi, Ryozo, has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the Australian Dental Journal.

Co-authors: Please contact the Editorial Office as soon as possible if you disagree with being listed as a co-author for this manuscript.

Your manuscript ID is ADJ-06-12-0327.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to ScholarOne Manuscripts at <http://mc.manuscriptcentral.com/adj> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <http://mc.manuscriptcentral.com/adj>.

Thank you for submitting your manuscript to the Australian Dental Journal.

Sincerely,

Australian Dental Journal Editorial Office

7.3.2 Resumen

Objetivo: El propósito del presente estudio fue el de determinar cuantitativamente la adherencia del *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguinis* a cementos para bandas ortodóncicas. **Materiales y Metodos:** Se realizaron 420 bloques de siete materiales para el cementado de bandas ortodóncicas diferentes (I: CX, II: GC Fuji Ortho Band, III: Ketac Cem, IV: Multi-Cure Band, V: Optiband Ultra, VI: Ortholy Band Paste and VII: Transbond Plus Band Cem). Utilizando un molde de teflón de (4x4x1mm). Los bloques obtenidos se pulieron ligeramente y fueron limpiados con ultrasonido. Cepas certificadas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *S. sanguinis* ATCC 49295 fueron cultivadas mediante métodos convencionales en cajas Petri y con medios a base de agar tipo TSBY. El análisis cuantitativo fue llevado a cabo mediante marcadores radiactivos para codificar la bacteria (^3H) para el *Streptococcus mutans* y Carbono-14 (^{14}C) para el *Streptococcus sanguinis*. Posteriormente, un sistema de combustión se utilizó para capturar los residuos, la radiactividad de las muestras fue medida y los valores se registraron en desintegración por minuto (dpm). Se realizó el análisis estadístico de varianza de una vía (ANOVA) con el análisis de Sheffèr Post-hoc para múltiples comparaciones con un nivel de significación de ≤ 0.05 . **Resultados:** Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los materiales ($P < 0.001$). Transbond Plus Band Cem presento la menor adhesión de ambas bacterias, seguido por Ortholy Band Paste. **Conclusiones:** Transbond Plus Band Cem y Ortholy Band Paste mostraron la menor adhesión de *S. mutans* y *S. sanguinis*.

7.3.3 Abstract

Objective: This study aimed to determine the adherence of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* to seven different cements for banding. **Materials and Methods:** The sample consisted of 420 blocks of 7 cement materials (I: CX, II: GC Fuji Ortho Band, III: Ketac Cem, IV: Multi-Cure Band, V: Optiband Ultra, VI: Ortholy Band Paste and VII: Transbond Plus Band Cem). The blocks were made using a Teflon mold (4 x 4 x 1mm). Certified *S. mutans* ATCC 25175 and *S. sanguinis* ATCC 49295 were cultivated separately using conventional methods and broth with TSBY agar. The quantitative analysis was carried out with radioactive markers (^3H) for the *Streptococcus mutans* and Carbon-14 (^{14}C) for the *Streptococcus sanguinis* to codify the bacteria. The radioactivity of the samples was recorded in disintegrations per minute (dpm). One-way analysis of variance (ANOVA) with a Scheffè post-hoc test for multiple comparisons was carried out with a significance level of ≤ 0.05 . **Results:** Significant differences were found among different band cement materials ($P < 0.001$). Transbond Plus Band Cem presented the significant lowest adherence of both bacteria, followed by Ortholy Band Paste. **Conclusion:** Transbond Plus Band Cem and Ortholy Band Paste showed lower adherence of *S. mutans* and *S. sanguinis*.

7.3.4. Tercer Artículo

INTRODUCTION

The principal etiology of caries, gingivitis, and periodontitis is a mixed bacteria in a biofilm structure on supragingival and subgingival tooth surfaces as well as in the oral soft tissues. The fixed appliances in orthodontic treatment modify the normal oral environment, disrupting the balance between the host and the established microorganisms. Clinical and microbiologic changes were induced on clinical and microbiologic parameters in subjects undergoing orthodontic therapy.¹⁻⁸

Bacterial biofilms in the oral cavity are composed of complex microbial communities with more than 500 species and phenotypes identified.⁹⁻¹¹ Furthermore, interactions between bacterial species that reside in biofilms are reported to influence the composition of those communities.¹² These interspecies interactions are known to play an essential part in balancing competition and coexistence, and synergistic interactions may stimulate the growth or survival of one or more of the residents.^{13,14} It is also well known that oral microbial flora are responsible for two major human diseases, dental caries and periodontitis.^{15,16}

Plaque formation plays a decisive role in microbial adhesion as its constituents may interact with oral microorganisms, either by direct interaction with receptors located on the microorganisms, or by indirectly influencing the thermodynamic conditions for microbial adhesion. Pellicle formation is followed by the adhesion of facultative anaerobic pioneer bacteria such as *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus oralis*, and *Streptococcus sanguinis*.^{17,18} Early-colonizing bacteria play a pivotal role for the subsequent adhesion of cariogenic microorganisms such as *Streptococcus mutans* and periodontal pathogens such as *Tannerella forsythensis*, *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, which may induce gingival and periodontal inflammation.¹⁵

Streptococcus sanguinis is a member of the viridans group of *Streptococci*.¹⁹ It is the first bacterium to colonize tooth surfaces, where it functions as a ‘pioneer’ by forming dental plaque, which leads to dental caries, periodontal diseases, and alterations of dental restorations.²⁰ *S. sanguinis* has been reported to be closely related to infective endocarditis, which is frequently caused by oral bacteria entering the bloodstream following trauma. Some bacterial surface proteins play important roles in the adherence to and invasion of human tissues.^{21,22}

Hence, the present study was conducted to determinate quantitatively the adherence of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* to seven different cements for banding.

MATERIALS AND METHODS:

The following cements were classified into 7 groups:

I: CX (Shofu, Kyoto, Japan); II: GC Fuji Ortho Band (Fuji GC Corp., Tokyo, Japan); III: Ketac Cem (3M ESPE, Seefeld Oberbay, Germany); IV: Multi-Cure Band (3M Unitek); V: Optiband Ultra (Ormco, Glendora, Calif., USA); VI: Ortholy Band Paste (GC Corp.); VII: Transbond Plus Band Cem (3M Unitek, Monrovia, Calif., USA). The characteristics of the cements are described in Table 1. The cement blocks were made using a 4 x 4 x 1 mm Teflon mold. For the light curing materials (Groups II, IV, V, VI, VII), the procedure was performed covering the material with a micro-slide glass followed by the application of the light curing lamp (Ortholux, 3M Unitek) with an intensity of 1600 mW/cm² for 60 seg. The self-curing materials were handled according to the manufacturer's instructions.

The obtained blocks were slightly polished with sand paper and diamond pastes of 6 µm (MetaDi II Diamond Paste, Buehler, Lake Bluff, IL, USA) and were cleaned ultrasonically for a minute to eliminate impurities. The sample was dried and stored in humidity-free containers to avoid contamination. All the specimens were sterilized with ethylene oxide gas.

Certified *Streptococcus sanguinis* ATCC 49295 and *Streptococcus mutans* ATCC 25175 were cultivated separately with conventional methods in Petri boxes and broth with agar type Trypticase Soy Broth (BBL, Cockeysville, MD, USA).²³ After that, the *S. sanguinis* and *S. mutans* were transferred separately to a liquid cultured medium.

The quantitative analysis of the adhesion of the microorganisms to the surface of the materials was performed with tritium (³H) for the *S. mutans* and Carbon-14 (¹⁴C) for the *S. sanguinis*. Two radioactive markers were necessary to codify and differentiate each bacteria. The specific activity of the radioactivity was approximately 30,000 dpm per 10⁸ cells for each one.

The two bacteria were mixed in a crystal container, and each cement block was suspended in this labeled bacterial fluid at 37°C for 2 hours in a constant movement. To eliminate the non-adhering bacteria, the cement blocks were removed from the test tubes and immediately washed with PBS three times. Labeled bacteria, which adhered to the cement blocks, were collected using an automatic sample combustion equipment (ACS-113, Aloka, Tokyo, Japan). Tritium and Carbon-14 were recovered as H₂O in Aquasol-2 (Packard) and the radioactivity was measured using a liquid scintillation counter (LSC-900, Aloka).²⁴ The results were recorded in disintegrations per minute (dpm).

Statistical analysis

The data were registered after each sample was measured thrice. The results obtained were evaluated using the SPSS 18 software for statistic analyses (International Business Machines Corp., New York, USA). Differences in measured values among the band cements were tested by one-way analysis of variance (ANOVA) with a Scheffè post-hoc test for multiple comparisons. A probability of less than 0.05 for similarity of distribution was considered to be significantly different.

RESULTS

The mean values of the quantitative radio-labeled *S. mutans*, expressed in dpm, and the Scheffè post-hoc test to determine the statistically significant differences are summarized in Table 2, and for *S. sanguinis* in Table 3. Moreover, the distribution and the frequency of each band cement material for *S. mutans* are illustrated in Figure 1, and for *S. sanguinis* in Figure 2.

S. mutans Adherence

According to the dpm values, the results showed that the cement with significant lower adhesion of *S. mutans* was Transbond Plus Band Cem (463.63 dpm), followed by Ortholy Band Paste (494.53 dpm), Ketac Cem (504.65 dpm), and Multi-Cure Band (510.12 dpm). Optiband Ultra (552.19 dpm), GC Fuji Ortho Band (593.13), and CX (694.61) presented higher adherence of *S. sanguinis*.

S. sanguinis Adherence

The results showed that the band cements with significant lower adhesion was Transbond Plus Band Cem (336.58 dpm) followed by Ortholy Band Paste (352.87 dpm), GC Fuji Ortho Band (380.86 dpm), Multi-Cure Band (467.73 dpm), Optiband Ultra (471.21 dpm), Ketac Cem (516.96), and CX (537.51).

DISCUSSION

Multispecies bacterial communities found in the oral biofilm are competing for the available space and nutrients. The competition involves several mechanisms including the excretion of inhibiting substances against competitors.²⁵ This was presented for the clinically relevant competition between the opportunistic pathogen *Streptococcus mutans* and the pioneer *Streptococcus sanguinis*. The strategy of *S. mutans* relies on the cell-density regulated production of antimicrobial peptides, mutacin I and IV.^{26,27} *S. sanguinis*, although known to produce the bacteriocin sanguicin, mainly competes with other oral *streptococci* by excreting

H₂O₂.^{25,28,29} H₂O₂ is bacteriostatic at low concentrations and is able to inhibit the growth of *S. mutans* by interfering with the glycolytic pathway.³⁰

In the present study, the band cement material that demonstrated lower significant adherence of *S. mutans* and *S. sanguinis* was Transbond Plus Band Cem. For *S. mutans*, Ortholy Band Paste, Multi-Cure Band and Ketac Cem were not significantly different. On the contrary, for the *S. sanguinis* group, only Optiband ultra and Multi-Cure Band were not significantly different.

S. sanguinis may compete with *S. mutans* for colonization sites on tooth surfaces, as both groups of bacteria require the presence of teeth for colonization and may exhibit direct biochemical antagonism *in situ*.³¹⁻³³ Because the cariogenic potential of *S. sanguinis* is deemed low compared to that of *S. mutans*, several investigators have suggested that the *S. mutans/S. sanguinis* ratio may serve as an indicator for caries risk, that is, the smaller the ratio, the lesser the risk of caries.³⁴⁻³⁶ In another study, however, a caries-predictive role for the *S. mutans/S. sanguinis* ratio could not be demonstrated.³⁷

CX, a conventional glass ionomer cement analyzed in this study, showed higher adherence of *S. sanguinis* and *S. mutans*; it is important to mention that this band cement material is self-curing and manufactured in powder and liquid. They need to be mixed manually and micro-air bubbles could be included.

In contrast, no mixing materials (Groups II, V, VI, and VII) showed less bacterial adhesion; these are presented in one composite syringe with a contrasting blue color and they are light-curing materials.

Microgap formation between the adhesive material and the enamel surface contributes to microleakage, permitting the passage of bacteria and oral fluids, which can cause white spot lesions or demineralization under the attachment surface area.³⁸ Orthodontic applications usually involve thin layers of adhesives and lack areas of bulk material that would seem to favor chemical cure systems. Orthodontic bands, however, are susceptible to areas of variable cement thickness and have a physically greater barrier to irradiation than brackets.³⁹

Ulysal et al. published that different band cement materials showed significant microleakage results: Ketac-Cem had the highest leakage scores between the cement-band (median, 3.50 mm) and cement-enamel (median, 2.88 mm) interfaces followed by Transbond Plus Band Cem with a microleakage in cement-band (median, 0.38 mm) and cement-enamel (median, 0.38 mm) interfaces and Multi-Cure cement-band (median, 0.25 mm) and cement-enamel (median, 0.38 mm) interfaces.⁴⁰

In a previous study with the same methodology, but only analyzing *S. mutans*, we found an increase of the values of dpm for Transbond Plus Band Cem (1261.01 dpm) and Ketac Cem (1264.64 dpm), followed by Ortholy Band Paste (1394.58 dpm), CX (1492.10 dpm), Multi-Cure Band (1551.62 dpm), Optiband Ultra (1615.82 dpm), and GC Fuji Ortho Band (1902.67 dpm); Transbond Plus Band Cem also showed a significant lowest adhesion of *S. mutans* similar to what has been presented in this study. However, Ketac Cem and GC Fuji Ortho Band showed a significant change with the presence of two bacteria.⁴¹

Nowadays, the use of direct tubes for orthodontics treatments is more frequent as these appliances would reduce the adherence of cariogenic bacteria. For some treatments, specific auxiliary attachments, such as the use of a Palatal bar, Nance button, Holding arch, Lingual arch among others, are necessary.

S. sanguinis may compete with the *S. mutans* for colonization sites on tooth surfaces and suppose a decrease in the levels of *S. mutans* diminishing the incidence of caries; nevertheless, we need to be very cautious because these bacteria are also associated with gingivitis, periodontal disease, bacteremia, and endocarditis.

In the present study, we decided not to use saliva coating because different publications showed that saliva coating did not significantly alter the adhesion patterns of cariogenic streptococci to the underlying materials.⁴²⁻⁴⁴

Further studies are needed to evaluate the interactivity of this microorganism with another species of bacteria and the mechanisms by which the two major indigenous microorganisms compete with each other to result in disease or health of the oral cavity.

CONCLUSION

Among the cements evaluated in the present study, Transbond Plus Band Cem showed lower adherence of *S. mutans* and *S. sanguinis*, followed by Ortholy Band Paste.

However, the adherence of *S. mutans* was not significantly different between Ortholy Band Paste, Multi-Cure Band, and Ketac Cem.

The possible antagonism effect of the *S. sanguinis* with cariogenic bacteria will suppose that more *S. sanguinis* adherence to band cements material may prevent undesirable lesion after debanding; however, it might be a higher risk to systemic health. Further studies are needed to evaluate the interactivity of this microorganism with another species of bacteria and the mechanisms by which the two major indigenous microorganisms compete with each other to result in disease or health of the oral cavity.

ACKNOWLEDGMENT

The authors thank the Asahi University for providing all the facilities for making this research possible and the Mexican Council of Science and Technology (CONACYT) for the support.

REFERENCES

1. Alexander SA. Effects of orthodontic attachments on the gingival health of permanent second molars. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1991;100:337-400.
2. Atack NE, Sandy JR, Addy M. Periodontal and microbiological changes associated with the placement of orthodontic appliances. A review. *J Periodontol* 1996;67:78-85.
3. Boyd RL, Baumrind S. Periodontal considerations in the use of bonds or bands on molars in adolescents and adults. *Angle Orthod* 1992;62:117-26.
4. 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;34:423-31.
5. Kloehn JS, Pfeifer JS. The effect of orthodontic treatment on the periodontium. *Angle Orthod* 1974;42:26-34.
6. Lee SM, Yoo SY, Kim HS, Kim KW, Yoon YJ, Lim SH. Prevalence of putative periodontopathogens in subgingival dental plaques from gingivitis lesions in Korean orthodontic patients. *J Microbiol* 2005;43:260-5.
7. 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.e17-22.
8. Sinclair PM, Berry CW, Bennett CL, Israelson H. Changes in gingival and gingival flora with bonding and banding. *Angle Orthod* 1987;57:271-8.
9. Kroes I, Lepp PW, Relman DA. Bacterial diversity within the human subgingival crevice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:14547-52.
10. Kolenbrander PE. Oral microbial communities: biofilms, interactions, and genetic systems. *Annu Rev Microbiol* 2000;54:413-37.
11. Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, *et al*. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol* 2001;183:3770-83.
12. Rickard AH, Palmer RJ Jr, Blehert DS, Campagna SR, Semmelhack MF, Eglund PG, *et al*. Autoinducer 2: a concentration-dependent signal for mutualistic bacterial biofilm growth. *Mol Microbiol* 2006;60:1446-56.
13. Kreth J, Merritt J, Shi W, Qi F. Competition and coexistence between *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* in the dental biofilm. *J Bacteriol* 2005;187: 7193-203.
14. Kuramitsu HK, He X, Lux R, Anderson MH, Shi W. Interspecies interactions within oral microbial communities. *Microbiol Mol Biol Rev* 2007;71:653-70.
15. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *Lancet* 2005;366:1809-20.

16. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet* 2007;369:51–9.
17. Li J, Helmerhorst EJ, Leone CW, Troxler RF, Yaskell T, Haffajee AD, *et al.* Identification of early microbial colonizers in human dental biofilm. *J Appl Microbiol* 2004;97:1311–8.
18. Kolenbrander PE, Andersen RN, Blehert DS, Eglund PG, Foster JS, Palmer Jr RJ. Communication among oral bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* 2002;66:486–505.
19. Swenson FJ, Rubin SJ. Clinical significance of viridans streptococci isolated from blood cultures. *J Clin Microbiol* 1982;15:725-727.
20. Kolenbrander PE, Ganeshkumar N, Cassels FJ, Hughes CV. Coaggregation: specific adherence among human oral plaque bacteria. *FASEB J* 1993;7:406-413.
21. Douglas CW, Heath J, Hampton KK, Preston FE. Identity of viridians streptococci isolated from cases of infective endocarditis. *J Med Microbiol* 1993;39:179-182.
22. Freedman LR. The pathogenesis of infective endocarditis. *J Antimicrob Chemother* 1987; 20: 1-6.
23. Saku S, Kotake H, Scougall-Vilchis RJ, Ohashi S, Hotta M, Horiuchi S, *et al.* Antibacterial activity of composite resin with glass-ionomer filler particles. *Dent Mater J* 2010;29(2): 193–198.
24. Nagayama M, Sato M, Yamaguchi R, Tokuda C, Takeuchi H. Evaluation of co-aggregation among *Streptococcus mitis*, *fusobacteriumbnucleatum* and *porphyromonas gigivalis*. *Letters in applied microbiology* 2001;33:122-5.
25. Kreth J, Merritt J, Shi W, Qi F. Competition and coexistence between *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* in the dental biofilm. *J Bacteriol* 2005;187:7193–203.
26. Kreth J, Merritt J, Shi W, Qi F. Co-ordinated bacteriocin production and competence development: a possible mechanism for taking up DNA from neighbouring species. *Mol Microbiol* 2005;57:392–404.
27. Merritt J, Kreth J, Shi W, Qi F. LuxS controls bacteriocin production in *Streptococcus mutans* through a novel regulatory component. *Mol Microbiol* 2005;57:960–9.
28. Deng H, Ding Y, Fu MD, Xiao XR, Liu J, Zhou T. Purification and characterization of sanguicin—a bacteriocin produced by *Streptococcus sanguis*. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2004;35:555–8.
29. Carlsson J, Iwami Y, Yamada T. Hydrogen peroxide excretion by oral streptococci and effect of lactoperoxidase–thiocyanate–hydrogen peroxide. *Infect Immun* 1983;40:70–80.
30. Baldeck JD, Marquis RE. Targets for hydrogen-peroxide induced damage to suspension and biofilm cells of *Streptococcus mutans*. *Can J Microbiol* 2008;54:868–75.

31. Carlsson J, Soderholm G, Almfeldt I. Prevalence of *Streptococcus sanguis* and *Streptococcus mutans* in the mouth of persons wearing full-dentures. Arch Oral Biol 1969;14:243–249.
32. Carlsson J, Grahn H, Jonsson G, Wikner S. Establishment of *Streptococcus sanguis* in the mouths of infants. Arch Oral Biol 1970;15:1143–1148.
33. van der Hoeven J S, Camp P J. Mixed continuous cultures of *Streptococcus mutans* with *Streptococcus sanguis* or with *Streptococcus oralis* as a model to study the ecological effects of the lactoperoxidase system. Caries Res 1993;27:26–30.
34. de Stoppelaar J D, van Houte J, Backer-Dirks O. The relationship between extracellular polysaccharide-producing streptococci and smooth surface caries in 13-year-old children. Caries Res 1969;3:190–199.
35. Loesche W J, Bhat M. Evaluation of diagnostic broths for *Streptococcus mutans*. In: Stiles H M, Loesche W J, O'Brien, editors. Microbial aspects of dental caries. Washington, D.C.: Informational Retrieval Inc. 1976. pp. 291–301.
36. Loesche W J, Rowan J, Straffon L H, Loos P J. Association of *Streptococcus mutans* with human dental decay. Infect Immun 1975;11:1252–1260.
37. Burt BA, Loesche WJ, Eklund SA, Earnest RW. Stability of *Streptococcus mutans* and its relationship to caries in a child population over 2 years. Caries Res 1983;17:532–542.
38. James JW, Miller BH, English JD, Tadlock LP, Buschang PH. Effects of high-speed curing devices on shear bond strength and microleakage of orthodontic brackets. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2003;123:555-61.
39. Mizrahi E. Glass ionomer cements in orthodontics—an update. Am J Orthod Dentofacial Orthop 1988;93:505-7.
40. Uysal T, Ramoglu SI, Ertas H, Ulkerd M. Microleakage of orthodontic band cement at the cement-enamel and cement-band interfaces. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2010;137:534-539.
41. Gonzalez-Perez JC, Scogull-Vilchis RJ, Contreras-Bulnes R, De La Rosa-Gomez I, Uematsu S, Yamaguchi R. Adherence of *Streptococcus mutans* to orthodontic band cements. Aust Dent J (in press).
42. Ahn SJ, Lim BS, Yang HC, Chang YI. Quantitative analysis on the adhesion of cariogenic streptococci to orthodontic metal brackets. Angle Orthod 2005;75:666-71.
43. Suljak JP, Reid G, Wood SM, McConnell RJ, van der Mei HC, Busscher HJ. Bacterial adhesion to dental amalgam and three resin composites. J Dent 1995;23:171-6.

44. Bum-Soon L, Shin-Jae L, Jae-Won L, Sug-Joon A. Quantitative analysis of adhesion of cariogenic streptococci to orthodontic raw materials. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2008;133:882-8

Figure Legends

Figure 1. Distribution frequency of quantitative *S. mutans* adherence.

Figure 2. Distribution frequency of quantitative *S. sanguinis* adherence.

Table 1. Tested Materials

Trade Name	Cement Type	Curing Mechanism
G I: CX	Conventional glass ionomer	Chemical cure (acid-base reaction)
G II: GC Fuji Ortho Band	Resin-modified glass ionomer	Chemical cure (acid-base reaction)
G III: Ketac cem	Conventional glass ionomer	Chemical cure (acid-base reaction)
G IV: Multi-Cure Band	Resin-modified glass ionomer	Tri-cure (acid-base reaction, light cure, and self-cure)
G V: Optiband Ultra	Resin-modified glass ionomer	Photopolymerization (light cure)
G VI: Ortholy Band Paste	Resin-modified glass ionomer	Photopolymerization (light cure)
G VII: Transbond Plus Band Cem	Compomer	Photopolymerization (light cure)

Table 2. Quantitative adherence of radio-labeled *S. mutans* to orthodontic band cements (values expressed in dpm).

Band Cement Groups	Mean (dpm)	SD	*Scheffè Test
G I: CX	694.61	6.25	A
G II: GC Fuji Ortho Band	593.13	9.95	B
G III: Ketac cem	504.65	10.54	C
G IV: Multi-Cure Band	510.12	3.66	C, D
G V: Optiband Ultra	552.19	13.89	E
G VI: Ortholy Band Paste	494.93	13.07	C,F
G VII: Transbond Plus Band Cem	453.63	13.65	G

*Groups with different letters are significantly different from each other.

Table 3. Quantitative adherence of radio-labeled *S. sanguinis* to orthodontic band cements (values expressed in dpm).

Band Cement Groups	Mean (dpm)	SD	*Scheffè Test
G I: CX	537.51	3.90	A
G II: GC Fuji Ortho Band	380.86	4.93	B
G III: Ketac cem	516.96	3.75	C
G IV: Multi-Cure Band	467.73	5.81	D
G V: Optiband Ultra	471.21	2.61	D
G VI: Ortholy Band Paste	352.87	5.13	E
G VII: Transbond Plus Band Cem	336.58	4.20	F

*Groups with different letters are significantly different from each other.

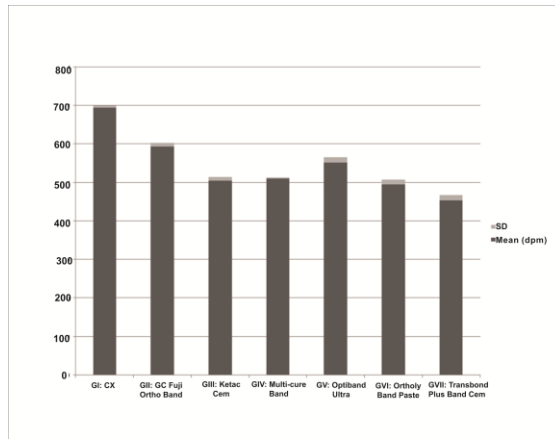


Fig.1

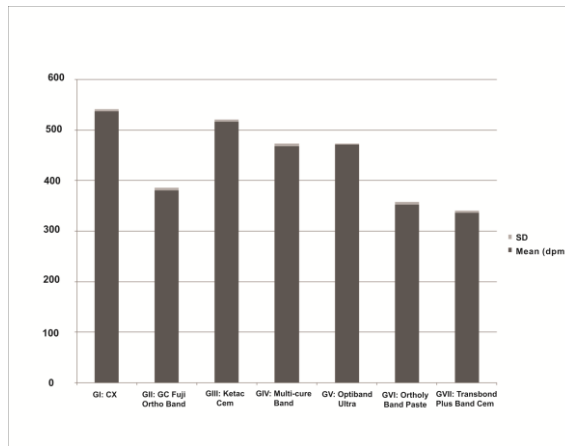


Fig. 2

8 Discusión General.

Las comunidades de distintas especies bacterianas encontradas en el biofilm se encuentran en constante competencia por el espacio físico y los nutrientes. Esta competencia involucra distintos mecanismos incluyendo la excreción de sustancias inhibitorias en contra de los competidores.⁴⁹ Esto fue presentado por la competencia clínicamente relevante entre el oportunista patógeno *Streptococcus mutans* y el microorganismo pionero *Streptococcus sanguinis*. La estrategia de *S. mutans* se basa en la producción de células de densidad regulada de péptidos antimicrobianos, mutacina I y IV.^{50, 51} *S. sanguinis*, aunque conocidos para producir la bacteriocina sanguicin, compete con los *Streptococcus* orales mediante la excreción de H₂O₂.^{49, 52,53} El H₂O₂ es bacteriostático a bajas concentraciones y es capaz de inhibir el crecimiento de *S. mutans* al interferir con la vía glicolítica.⁵⁴

En el presente estudio, el material de cementado de bandas que demostró una menor adherencia estadísticamente significativa de *S. mutans* y *S. sanguinis* fue Transbond Cem Plus Band. Para *S. mutans*, Ortholy Band Paste, Multi-Cure Band y Ketac Cem no fueron significativamente diferentes. Por el contrario, en el grupo de *S. sanguinis*, sólo OptiBand banda ultra y Multi-Cure no fueron significativamente diferentes. *S. sanguinis* puede competir con *S. mutans* por los sitios de colonización sobre la superficies de los dientes, ya que ambos grupos de bacterias requieren la presencia de los órganos dentarios para la colonización y pueden exhibir un efecto de antagonismo bioquímico directo *in situ*.⁵⁵⁻⁵⁷ Debido a que el potencial cariogénico de *S. sanguinis* se considera bajo en comparación con la de *S. mutans*, varios investigadores han sugerido que la relación *S. mutans* / *S. sanguinis* puede servir como un indicador de riesgo de caries; es decir, entre más pequeña sea la relación, menor será el riesgo de caries.⁵⁸⁻⁶⁰ Sin embargo; en otro estudio, el rol para la predicción de caries con respecto a la relación de *S. mutans* / *S. sanguinis* no pudo ser demostrado.⁶¹

CX es un cemento de ionómero de vidrio convencional analizado en este estudio, el cual mostró una mayor adherencia de *S. sanguinis* y *S. mutans*, es importante mencionar que este material para el cementado de bandas es de auto-curado y su presentación comercial es en polvo y líquido. Necesita ser mezclado manualmente y durante este proceso se le pueden incorporar micro-burbujas de aire lo que puede repercutir en una mayor adhesión bacteriana.

En contraste, los materiales que no requieren mezclarse (Grupos II, V, VI, y VII) mostraron menor adhesión bacteriana; su presentación comercial es en una jeringa, además son de un color azul contraste y son materiales fotopolimerizables.

La formación de microespacios entre el material adhesivo y la superficie del esmalte contribuye a la microfiltración, que permite el paso de bacterias y fluidos orales, que pueden causar lesiones de mancha blanca o desmineralización debajo de la superficie de los aditamentos ortodóncicos.⁶² Las bandas de ortodoncia; sin embargo, son susceptibles a las zonas de espesor variable de cemento y tienen una barrera física mayor a la irradiación que los brackets.⁶³

Ulysal et al. publicaron en el 2010 que los diferentes materiales para el cementado de bandas mostraron resultados estadísticamente significativos con respecto a la microfiltración: Ketac-Cem tuvo las puntuaciones más altas de filtración entre la banda-cemento (mediana, 3.50 mm) e interface cemento-esmalte (mediana, 2.88 mm) seguido de Transbond Plus Band Cem con una microfiltración entre la banda-cemento (mediana, 0.38 mm) y cemento-esmalte (mediana, 0.38 mm) Multi-Cure cemento-banda (mediana, 0.25 mm) y cemento-esmalte (mediana, 0.38 mm).⁶⁴

En un estudio previo con la misma metodología, la adhesión de *S. mutans* fue analizada y se demostró un aumento de los valores de dpm para Transbond Plus Band Cem (1261.01 dpm) y Ketac Cem (1264.64 dpm), seguido Ortholy Band Paste (1394.58 dpm), CX (1492.10 dpm), Multi-Cure Band (1551.62 dpm), OptiBand Ultra (1615.82 dpm), y GC Fuji Ortho Band (1902.67 dpm); Transbond Plus Band Cem también mostró una adherencia más baja estadísticamente significativa de *S. mutans* similar a lo que se ha presentado en este estudio. Por otra parte, Ketac Cem y GC Fuji Ortho Band mostraron un cambio significativo con la presencia de las dos bacteria.⁶⁵

Hoy en día, el uso de tubos directos para el tratamiento de ortodoncia es más frecuente ya que estos aditamentos podrían reducir la adherencia de las bacterias cariogénicas. Para algunos tratamientos es necesario el uso de auxiliares específicos acompañados de bandas (barra palatina, el botón de Nance, Holding arch, Arco lingual entre otros) aun son necesarios.

El *S. sanguinis* puede competir con el *S. mutans* en los sitios de colonización de la superficie de los dientes esto puede suponer una disminución de los niveles de *S. mutans* y por consecuencia una disminución de la incidencia de caries; sin embargo, tenemos que ser muy prudentes porque estas bacterias también están asociadas con la gingivitis, enfermedad periodontal, bacteriemia y endocarditis.

En el presente estudio, hemos decidido no utilizar saliva porque en diferentes publicaciones han mostrado que el uso de saliva no altera significativamente los patrones de adherencia de los *Streptococcus* cariogénicos a los materiales adyacentes.⁶⁶⁻⁶⁸

Se necesitan más estudios para evaluar la interactividad de este microorganismo con otras especies bacterianas y los mecanismos mediante los cuales los dos principales microorganismos autóctonos compiten entre sí para dar lugar a la enfermedad o la salud de la cavidad oral.

9 Conclusiones Generales.

9.1. Conclusiones

De entre todos los cementos evaluados en las diferentes investigaciones realizadas el cemento que mostró una menor adhesión de *S. sanguinis* y *S. mutans* fue Transbond Plus Band Cem exponiéndolo a cada microorganismo de manera individual o con los dos microorganismos en conjunto. En este contexto, la elección de un cemento para cementación de bandas con una menor adhesión bacteriana supondría un beneficio para prevenir y reducir la lesión de mancha blanca que es común al retirar esta aparatología fija.

En contraparte, el cemento para el cementado de bandas que mostró una mayor adhesión de microorganismos en los diferentes estudios realizados fue CX, por lo cual se sugiere tener especial atención con la utilización de este cemento.

9.2. Limitaciones

No se presentó ningún tipo de limitación para la realización del presente trabajo, cabe señalar que al contrario siempre existió la disposición por parte de los Tutores Académicos, la Coordinación del Doctorado en Ciencias de la Salud, la Universidad Autónoma del Estado de México, la Universidad de Asahi en Japón y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

9.3. Recomendaciones

Se recomienda la realización de estudios complementarios para evaluar la interactividad de estos microorganismos con otras especies de bacterias.

10 Referencias Bibliográficas

1. Babaahmady KG, Challacombe SJ, Marsh PD, Newman HN. Ecological study of streptococcus mutans, streptococcus sobrinus and lactobacillus spp. at sub-sites from approximal dental plaque from children. Caries Res 1998; 32:51-8.
2. Hamada S, Slade HD. Biology, Immunology, and cariogenicity of streptococcus mutans. Microbiol Rev 1980; 44: 331-84.
3. Gorelick L, Geiger AM, Gwinnett AJ. Incidence of white spot formation after bonding and banding. Am J Orthod 1982; 81:93-8.
4. Artun J, Brobakken B. Prevalence of caries and white spots after orthodontic treatment with multibonded appliances. Eur J Orthod 1986; 8:229-34.
5. Scougall-Vilchis RJ, Hotta Y, Hotta M, Idono T, Yamamoto K. Examination of composite resins with electron microscopy, microhardness tester and energy dispersive x-ray microanalyzer. Dent Mater J 2009; 28: 102-112.
6. Scougall-Vilchis RJ, Hotta Y, Yamamoto K. Examination of six orthodontic adhesives with electron microscopy, hardness tester and energy dispersive x-ray micro analyzer. Angle Orthod 2008; 78: 655-661.
7. Silverstone Leon M. Odontología Preventiva. Ed. Doyma. USA 1995. p.p. 3- 18.
8. Newbrun E. Cariología. Edt. Limusa. Cap. 7 1984. p. 271-280.
9. Orams H, Pharkey P, Rachinger W, Zyber J. Visualization of microphane structure in human dental enamel nature. 1974; 252: 584-585.
10. Robinson C, Kirklan I, Briggs H, Atkinson P. Enamel proteins from secretion to maturation. J Dent Res 1982; 61: 1490.
11. Kuhar M, Scharq M, Funduk N. Enhanced permeability of acid-etched or ground dental enamel. J Proth Dent 1997; 77: 578-582.
12. Farias R Francisco. Enfermedad periodontal y microorganismos periodontopatógenos. Revista Odous Científica 2003. Vol. IV, (1). pp 12-30
13. Carranza, F.; Newman, M. 1997: Periodontología Clínica. 8va. Edición. Ediciones Mc Graw- Hill Interamericana. Mexico.
14. Marsh, P.; Martin, M.2000: Oral Microbiology. Fourth edition. Wright. England.

15. Slots, J. 1979: Subgingival microflora and periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.*6:35-82.
16. Leknes, K.1997: A correlation Study of Inflammatory Cell Mobilization in Response Subgingival Microbial Colonization. *J. Periodontol.* 68: 67-72.
17. Timmerman, M.; Van der Weijden, G.; Arief, E.; Armand, S.; Abbas, F.; Winkel, E.; Van Winkelhoff, A.; Van der Velden, U. 2001. Untreated periodontal disease in Indonesian Adolescents. Subgingival microbiota in relation to experienced progression of periodontitis. *J. Clin Periodontol.* 28: 617-627.
18. Slots, J; Taubma, M. 1992: *Contemporary Oral Microbiology and Immunology.* 1ed.St. Louis USA. Editorial Mosby.
19. Genco, R.; Golman, H.; Cohen, D. 1990: *Periodoncia.* Editorial McGraw-Hill. Interamericana. México.
20. Loesche, W. 1976: Chemotherapy of dental plaqueinfections. *Oral. Sci.Rev.* 9:65.
21. Listgarten,M.; Helldén, L.1978: Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontally disease sites in humans. *J.Clin.Periodontol.* 5:115-132.
22. Thylstrup A, Fejerskov O. *Caries.* Edit. Doyma, S.A. Barcelona. 1988. p. 338.
23. Holmen L, Thylstrup A, Ogaard B, Kragh F. A polarized light microscopic study of progressive stage of enamel caries in vivo. *Caries Res* 1985; 384-354.
24. Ingram G, Fejerskov O. A scanning electron microscopic study of artificial caries lesion formation. *Caries Res* 1985; 348-368.
25. Scougall-Vilchis RJ, Yamamoto S, Kitai N, Yamamoto K. Shear bond strength of orthodontic brackets bonded with different self-etching adhesives. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2009; 136: 425-430.
26. Anhoury P, Nathanson D, Hughes CV, Socransky S, Feres M, Chou LL. Microbial profile on metallic and ceramic brackets. *Angle Orthod* 2002; 72:338-43.
27. Mitchell L. Decalcification during orthodontic treatment with fixed appliances: and overview. an overview. *Br J Orthod* 1992; 19:199-205.
28. Quirynen M, Bollen L: The influence of surface roughness and surface-free energy on supraand subgingival plaque formation in man. *J Clin Periodontol* 1995; 22: 1-14
29. Imazato S, Torii M, Tsuchitani Y: Antibacterial effect of composite incorporating triclosan against streptococcus mutans. *J Osaka Univ Dent Sch.* 1995; 35: 5-11.

30. Carlen A, Nikdel K, Wennerberg A: Surface Characteristics and in vitro biofilm formation on glass ionomer and composite resin. *Biomaterials*. 2001; 22 (5): 481-7.
31. Yamamoto K, Ohashi S, Taki E. Adherence of oral streptococci to composite resin of varying surface roughness. *Dent Mater*. 1996; 15 (2): 201-4.
32. Mor C, Steinberg D, Dogan H: Bacterial adherence to bleaches surfaces of composite resin in vitro. *Oral Surg oral Med oral Pathol Oral radiol Endod*. 1998; 86 (5): 582-6.
33. Shahal Y, Steinberg D, Hirschfeld Z: In vitro bacterial adherence onto pellicle-coated aesthetic restorative materials. *J Oral Rehabil*. 1998; 25 (1): 52-8.
34. Kawai K, Murano M: Adherence of plaque components to different restorative materials. *Oper Dent*. 2001; 26: 396-400.
35. Palenik CJ, Behnen MJ, Setcos JC : Inhibition of microbial adherence and growth by various glass ionomers in vitro. *Dent Mater*. 1992; 8 (1):16-20
36. Nagayama M, Sato M, Yamaguchi R, Tokuda C, Takeuchi H. Evaluation of co-aggregation among *Streptococcus mitis*, *Fusobacterium nucleatum* and *Porphyromonas gingivalis*. *Letters in applied microbiology* 2001; 33:122-5.
37. Thilander BL. Complications of orthodontic treatment. *Curr Opin Dent* 1992;2:28-37.
38. Mitchell L. Decalcification during orthodontic treatment with fixed appliances: an overview. *Br J Orthod* 1992;19:199-205.
39. Gwinnett AJ, Ceen RF. Plaque distribution on bonded brackets: a scanning microscopic study. *Am J Orthod* 1979;75:667-77.
40. O'Reilly MM, Featherstone JDB. Demineralization and remineralization around orthodontic appliances: an in vivo study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1987;92:33-40.
41. Fox NA. Fluoride release from orthodontic bonding materials. An in vitro study. *Br J Orthod* 1990;17:293-8.
42. Ghani SH, Creanor SL, Luffingham JK, Foye RH. An ex vivo investigation into the release of fluoride from fluoride-containing orthodontic bonding composites. *Br J Orthod* 1994;21:239-43.
43. Chadwick SM, Gordon PH. An investigation into the fluoride release of a variety of orthodontic bonding agents. *Br J Orthod* 1995;22:29-33.

44. Lim BS, Lee SJ, Lee JW, Ahnd SJ. Quantitative analysis of adhesion of cariogenic streptococci to orthodontic raw materials. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2008;133:882-8.
45. Ahn SJ, Lee SJ, Lim BS, Nahmc DS. Quantitative determination of adhesion patterns of cariogenic streptococci to various orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007;132:815-21.
46. Vokus RP, Cisneros GJ, Levi M. Antibacterial properties of current orthodontic band cements. *Pediatr Dent* 1998 Jan-Feb;20(1):43-8.
47. Scougall-Vilchis RJ, Mimura S, Yamamoto K. Propiedades de un adhesivo ortodóncico liberador de fluoruro que contiene partículas de relleno tipo S-PRG. *Rev Esp Ortod* 2007; 37: 119-126.
48. Scougall-Vilchis RJ, Yamamoto S, Kitai N, Hotta M, Yamamoto K. Shear bond strength of a new fluoride-releasing orthodontic adhesive. *Dent Mater J* 2007; 26: 45-51.
49. Kreth J, Merritt J, Shi W, Qi F. Competition and coexistence between *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* in the dental biofilm. *J Bacteriol* 2005;187:7193–203.
50. Kreth J, Merritt J, Shi W, Qi F. Co-ordinated bacteriocin production and competence development: a possible mechanism for taking up DNA from neighbouring species. *Mol Microbiol* 2005;57:392–404.
51. Merritt J, Kreth J, Shi W, Qi F. LuxS controls bacteriocin production in *Streptococcus mutans* through a novel regulatory component. *Mol Microbiol* 2005;57:960–9.
52. Deng H, Ding Y, Fu MD, Xiao XR, Liu J, Zhou T. Purification and characterization of sanguicin—a bacteriocin produced by *Streptococcus sanguis*. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2004;35:555–8.
53. Carlsson J, Iwami Y, Yamada T. Hydrogen peroxide excretion by oral streptococci and effect of lactoperoxidase–thiocyanate–hydrogen peroxide. *Infect Immun* 1983;40:70–80.
54. Baldeck JD, Marquis RE. Targets for hydrogen-peroxide induced damage to suspension and biofilm cells of *Streptococcus mutans*. *Can J Microbiol* 2008;54:868–75.
55. Carlsson J, Soderholm G, Almfeldt I. Prevalence of *Streptococcus sanguis* and *Streptococcus mutans* in the mouth of persons wearing full-dentures. *Arch Oral Biol* 1969;14:243–249.
56. Carlsson J, Grahnen H, Jonsson G, Wikner S. Establishment of *Streptococcus sanguis* in the mouths of infants. *Arch Oral Biol* 1970;15:1143–1148.

57. van der Hoeven J S, Camp P J. Mixed continuous cultures of *Streptococcus mutans* with *Streptococcus sanguis* or with *Streptococcus oralis* as a model to study the ecological effects of the lactoperoxidase system. *Caries Res* 1993;27:26–30.
58. de Stoppelaar J D, van Houte J, Backer-Dirks O. The relationship between extracellular polysaccharide-producing streptococci and smooth surface caries in 13-year-old children. *Caries Res* 1969;3:190–199.
59. Loesche W J, Bhat M. Evaluation of diagnostic broths for *Streptococcus mutans*. In: Stiles H M, Loesche W J, O'Brien, editors. *Microbial aspects of dental caries*. Washington, D.C.: Informational Retrieval Inc. 1976. pp. 291–301.
60. Loesche W J, Rowan J, Straffon L H, Loos P J. Association of *Streptococcus mutans* with human dental decay. *Infect Immun* 1975;11:1252–1260.
61. Burt BA, Loesche WJ, Eklund SA, Earnest RW. Stability of *Streptococcus mutans* and its relationship to caries in a child population over 2 years. *Caries Res* 1983;17:532–542.
62. James JW, Miller BH, English JD, Tadlock LP, Buschang PH. Effects of high-speed curing devices on shear bond strength and microleakage of orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2003;123:555-61.
63. Mizrahi E. Glass ionomer cements in orthodontics—an update. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1988;93:505-7.
64. Uysal T, Ramoglu SI, Ertas H, Ulkerd M. Microleakage of orthodontic band cement at the cement-enamel and cement-band interfaces. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2010;137:534-539.
65. Gonzalez-Perez JC, Scogull-Vilchis RJ, Contreras-Bulnes R, De La Rosa-Gomez I, Uematsu S, Yamaguchi R. Adherence of *Streptococcus mutans* to orthodontic band cements. *Aust Dent J* (in press).
66. Ahn SJ, Lim BS, Yang HC, Chang YI. Quantitative analysis on the adhesion of cariogenic streptococci to orthodontic metal brackets. *Angle Orthod* 2005;75:666-71.
67. Suljak JP, Reid G, Wood SM, McConnell RJ, van der Mei HC, Busscher HJ. Bacterial adhesion to dental amalgam and three resin composites. *J Dent* 1995;23:171-6.
68. Bum-Soon L, Shin-Jae L, Jae-Won L, Sug-Joon A. Quantitative analysis of adhesion of cariogenic streptococci to orthodontic raw materials. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2008;133:882-8

11 Anexos:

11.1 Anexo 1

1/10/12

Journal Search - IP & Science - Thomson Reuters

Site

Client

proxystylesheet

Output



Search

allAreas

*2/10 octubre / 2012
Dora Valdez*

JOURNAL SEARCH

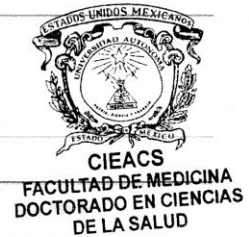
Search Terms: DENTAL

Total journals found: 17

The following title(s) matched your request:

Journals 1-10 (of 17)

> > **FORMAT FOR PRINT**



AUSTRALIAN DENTAL JOURNAL

Quarterly ISSN: 0045-0421

WILEY-BLACKWELL, 111 RIVER ST, HOBOKEN, USA, NJ, 07030-5774

Coverage

Science Citation Index Expanded

Current Contents - Clinical Medicine

BRITISH DENTAL JOURNAL

Semimonthly ISSN: 0007-0610

NATURE PUBLISHING GROUP, MACMILLAN BUILDING, 4 CRINAN ST, LONDON, ENGLAND, N1 9XW

Coverage

Science Citation Index

Science Citation Index Expanded

Current Contents - Clinical Medicine

COMMUNITY DENTAL HEALTH

Quarterly ISSN: 0265-539X

F D I WORLD DENTAL PRESS LTD, 5 BATTERY GREEN RD, LOWESTOFT, ENGLAND, SUFFOLK, NR32 1 DE

Coverage



La Asociación Mexicana de Microscopía, A.C.
y la
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



OTORGAN LA PRESENTE

CONSTANCIA

A: Juan Carlos González Pérez

Por su valiosa participación como

Asistente al
“X Congreso Nacional de Microscopía

Dr. Jesús A. Arenas Alatorre
Presidente de la AMM

Dr. Juan Zárate Medina
Comité Organizador Local

Morelia Michoacán 23-27 de mayo del 2010



La Universidad Autónoma del Estado de México

A través de la

Secretaría de Investigación y Estudios Avanzados
y la

Dirección de Estudios Avanzados de la UAEM

Otorga la presente



Constancia

A: Juan Carlos González Pérez

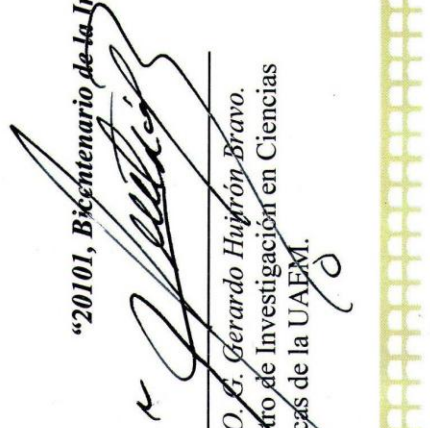
Por su ASISTENCIA al:

SÉPTIMO COLOQUIO DE DOCTORADO Y PRIMERO DE MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD.

Celebrado en el CICMED del 8 al 11 de junio de 2010. Con una duración de 25 hrs.

Toluca, Estado de México a 11 de Junio del 2010
Patria, Ciencia y Trabajo

“20101, Bicentenario de la Independencia Nacional y Centenario de la Revolución”


M. C. Esp. en T. y O. **Gerardo Hujrón Bravo**,
Coordinador del Centro de Investigación en Ciencias
Médicas de la UAEM.


Dr. **Nazarario Pescador Salas**,
Director de Estudios Avanzados de la UAEM





La Universidad Autónoma del Estado de México
 A través de la
Secretaría de Investigación y Estudios Avanzados
 y la
Dirección de Estudios Avanzados de la UAEM



Otorga el presente

Reconocimiento

A: Juan Carlos González Pérez

Por su PARTICIPACIÓN en el:

**SÉPTIMO COLOQUIO DE DOCTORADO Y PRIMERO DE MAESTRÍA
 EN CIENCIAS DE LA SALUD.**

Con la ponencia:

Análisis de la adherencia bacteriana a materiales para el cementado de bandas ortodóncicas.

Celebrado en el CICMED del 8 al 11 de junio de 2010; con una duración de 25 hrs.
 Toluca, Estado de México; 11 de junio de 2010.

[Firma]
 M. C. Esp. en T y O. G. Gerardo Huítrón Bravo
 Coordinador del Centro de Investigación en Ciencias
 Médicas de la UAEM

[Firma]
 “2010, Bicentenario de la Independencia Nacional y Centenario de la Revolución”
 Patria, Ciencia y Trabajo



Dr. Nazario Pescador Salas
 Director de Estudios Avanzados de la UAEM





Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Facultad de Estomatología
a través de

Maestría en Ciencias Odontológicas en el Área
de Odontología Integral Avanzada



Otorga el presente

MAESTRIA
ODONTOLOGIA INTEGRAL
AVANZADA

Reconocimiento

a: **Juan Carlos González Pérez**

Por su asistencia al

VIII CONGRESO INTERNACIONAL DE
ODONTOLOGÍA MULTIDISCIPLINARIA

III CONCURSO MEXICANO E IBEROAMERICANO
DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA EN ODONTOLOGÍA

2nd. AZTEC AWARD FOR CLINICAL
RESEARCH IN DENTISTRY

San Luis Potosí, México
20 al 22 de Octubre del 2010

CON VALOR CURRICULAR 30 HORAS CRÉDITO



Dr. Luis A. Leal Tobias
DIRECTOR
FAC. DE ESTOMATOLOGÍA

Dr. Juan Pablo Loyola Rodriguez
COORDINADOR GENERAL

Dr. Gabriel Alejandro Martínez Castañón
COORDINADOR CONCURSO
MEXICANO E IBEROAMERICANO
DE INV. CLÍNICA EN ODONTOLOGÍA



Universidad Regional del Sureste
Oaxaca



XVIII ENCUENTRO NACIONAL Y IX IBEROAMERICANO DE INVESTIGACIÓN EN ODONTOLOGÍA

LA UNIVERSIDAD REGIONAL DEL SURESTE
A TRAVÉS DE LA ESCUELA DE ODONTOLOGÍA

Otorga la presente

CONSTANCIA

Juan Carlos González Pérez

Por su *asistencia* al XVIII Encuentro Nacional
y IX Iberoamericano de Investigación
en Odontología, con un valor curricular de
25 horas crédito.

"Formación, en la libertad, para servir"

Oaxaca de Juárez, Oax.,
del 10 al 12 de Noviembre de 2010
URSE Campus "Rosario".

Lic. Psic. Rubén Leonardo Leo Salinas
Director General de Asuntos Académicos

C.D. Rafael Arnaud Carreño
Director de la Escuela de Odontología

M.S.P. Nora Pérez Pérez
Comisión Nacional de
Investigación en Odontología



Universidad Autónoma del Estado de México
UAEM • Facultad de Ciencias de la Conducta

otorga la presente

CONSTANCIA



Juan Carlos González Pérez

Por su participación como ponente en el “VIII Coloquio en Ciencias de la Salud”, llevado a cabo del día 29 de Noviembre al 3 de Diciembre del año en curso, en el auditorio de la Facultad. Avalado por los H.H. Consejos Académico y de Gobierno en la sesión ordinaria del 29 de Septiembre.

Toluca, México; Noviembre de 2010

PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO
« 2010. BICENTENARIO DE LA INDEPENDENCIA NACIONAL
Y CENTENARIO DE LA REVOLUCIÓN MEXICANA »



FACULTAD DE CIENCIAS
DE LA CONDUCTA
DIRECCION

M. en P.E.E.S Javier Margarito Serrano García
Director de la Facultad de Ciencias de la Conducta





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

La Secretaría de Docencia a través de la
Dirección de Desarrollo del Personal Académico

Otorga la presente

CONSTANCIA

A: Juan Carlos González Pérez

quien asistió y participó en el curso **CÓMO ELABORAR UNA ANTOLOGÍA (2a PARTE)**,
llevado a cabo en la Facultad de Odontología de la UAEM, del 27 de enero al 01 de febrero de 2011,
con una duración de 25 horas.

Toluca, México, 1 de febrero de 2011

Secretaría de Docencia

DIDEP
PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO

"2011, 160 Aniversario de la Promulgación de la Ley Orgánica del Instituto Literario del
Estado de México"

Dirección de Desarrollo del Personal Académico



M. en C. ANTONIO EDUARDO GÓMEZ DÍAZ
Director de Desarrollo del Personal Académico

Dirección de Desarrollo
del Personal Académico
3/2





[Start](#) | [Browse by Day](#) | [Author Index](#) | [Keyword Index](#)

145681 Effects of silver-nanoparticles on the bond strength of orthodontic brackets

Thursday, March 17, 2011: 8 a.m. - 9:30 a.m.

Location: Room 33C (San Diego Convention Center)

Presentation Type: Oral Session

R.J. SCOUGALL-VILCHIS¹, G.-A. MARTÍNEZ-CASTAÑÓN², J.-P. LOYOLA-RODRIGUEZ³, J.C. GONZALEZ-PEREZ⁴, U. VELAZQUEZ-ENRIQUEZ⁴, and J.-F. REYES-MACIAS², ¹Orthodontics, Autonomous University State of Mexico, Toluca, Mexico, ²Dental Research Center, Autonomous University of San Luis Potosi, San Luis Potosi, Mexico, ³Dental Research Center, University of San Luis Potosi, San Luis Potosi S.L.P, Mexico, ⁴Health Science, Autonomous University State of Mexico, Toluca, Mexico

Objective: To evaluate the effects of silver nanoparticles on the shear bond strength (SBS) of orthodontic brackets.

Methods: 60 freshly extracted human upper bicuspids were collected, pumiced with fluoride-free paste (10s), washed (30s) and dried. The teeth were randomly divided into two groups (n=30/gp). Group I: (Control), the enamel was etched (37% H₃PO₄; 15s), washed (30s) and dried. A coat of moisture insensitive primer was applied on the enamel surface [Transbond MIP (3M Unitek, Monrovia, Calif., USA)]. Group II: (Experimental), the procedure was carried out similar to the control group; however, 100µl of silver nanoparticles solution was mixed with 100µl of Transbond MIP (1:1 proportion). The spherical silver nanoparticles were formed by AgO and dispersed in H₂O at pH=11, the average size was 7.2±1.7nm and the concentration was 1070 µgr/ml. In both groups, stainless steel brackets [OptiMESH^{XRT} (Ormco Corp., Glendora, Calif., USA)], were bonded to the teeth with Transbond CC (3M Unitek), and light-cured (20s). Samples were stored (37°C, 24hrs), tested (0.5mm/min) and statistically analyzed [Mean, SD, Range; t-Student (p<0.05)]. The adhesive remnant index (ARI) was also evaluated and statistically analyzed with χ².

Results: The mean value of SBS of the control group (22.69±6.8MPa) was significantly higher than the experimental group (16.97±6.1MPa). Concerning ARI scores, significances were found between groups. In the experimental group the amount of adhesive remnant was higher.

Conclusions: Under the condition of this study, the addition of silver nanoparticles to the moisture insensitive primer significantly decreased the SBS of orthodontic brackets; nevertheless, the mean value was (16.9MPa), higher than the force suggested as necessary for orthodontic clinical treatment (6 to 8MPa). The silver nanoparticles might offer antibacterial properties at the interface enamel-bonding; however, further studies are required to find the optimum proportion between primer and silver nanoparticles.

Keywords: Acid etch, Adhesion, Composites, Dental materials and Orthodontics



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
FACULTAD DE ENFERMERÍA Y OBSTETRICIA

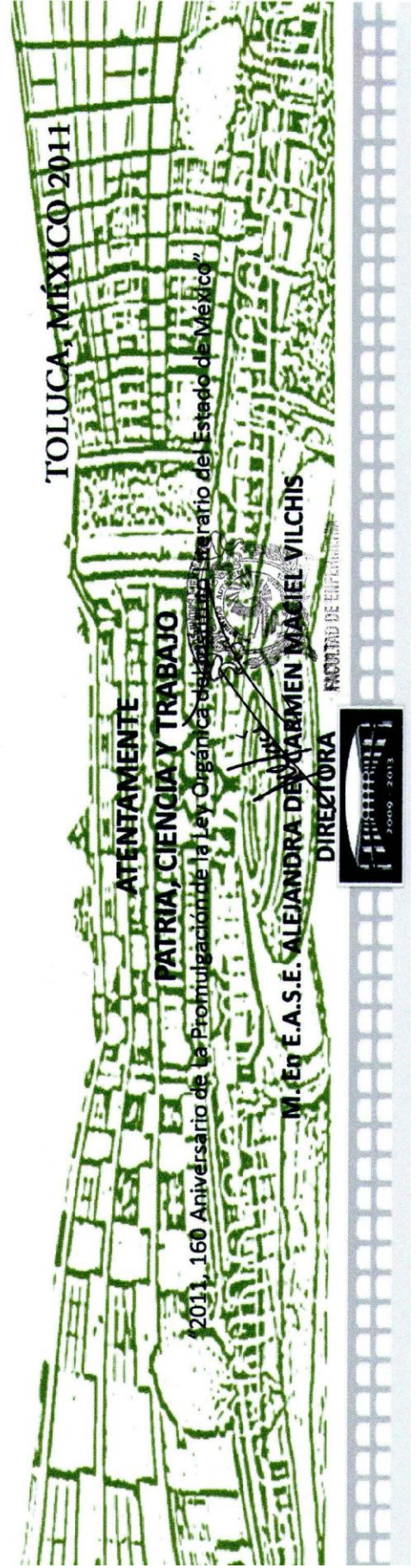


Otorga la presente

Constancia

A: Juan Carlos González Pérez

Por su participación como ponente en el “X COLOQUIO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIA DE LA SALUD”, efectuando los días 15 y 16 de noviembre de 2011.



XI

COLOQUIO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS DE LA SALUD MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD



La Universidad Autónoma del Estado de México
a través del Centro de Investigación en Ciencias Médicas

otorgan la presente

CONSTANCIA

A: **González Pérez Juan Carlos**

Por su participación como **PONENTE** con el tema

"Análisis de la adherencia bacteriana a materiales para el cementado
de bandas ortodóncicas"

Que se llevó a cabo los días 24 y 25 de mayo de 2012.

Toluca, Estado de México.

M. en I. C. Gerardo Huítron Bravo
COORDINADOR DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN
EN CIENCIAS MÉDICAS DE LA UAEM



Centro de Investigación
en Ciencias Médicas
UAEM



XI

COLOQUIO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS DE LA SALUD MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD



La Universidad Autónoma del Estado de México
a través del Centro de Investigación en Ciencias Médicas

otorgan la presente

CONSTANCIA

A: **González Pérez Juan Carlos**

Como **PRIMER LUGAR** en la presentación cartel de doctorado con el tema

"Análisis de la adherencia bacteriana a materiales para el cementado
de bandas ortodóncicas"

Que se llevó a cabo los días 24 y 25 de mayo de 2012.

Toluca, Estado de México.



Centro de Investigación
en Ciencias Médicas
U A E M

M. en I. C. G. Gerardo Huitrón Bravo
COORDINADOR DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN
EN CIENCIAS MÉDICAS DE LA UAEM





Universidad Veracruzana

**XX Encuentro Nacional
XI Iberoamericano**



**Boca del Rio, Ver.
2012**
De Investigación en Odontología

**XX ENCUENTRO NACIONAL Y
XI IBEROAMERICANO DE
INVESTIGACIÓN EN ODONTOLOGIA**

Universidad Veracruzana
Facultad de Odontología

Otorga la presente

CONSTANCIA
a

Juan Carlos González Pérez

Por su asistencia al XX Encuentro Nacional y XI Iberoamericano de Investigación en Odontología, con valor curricular de 25 horas crédito.

"LIZ DE VERACRUZ, ARTE, CIENCIA, LUZ"

BOCA DEL RIO VERACRUZ DEL 7 AL 9 DE NOVIEMBRE DEL 2012

Dr. Miguel Ángel Díaz Castillejos
Director de la Facultad de
Odontología

Dra. Clara Luz Parra Uscanga
Comité organizador

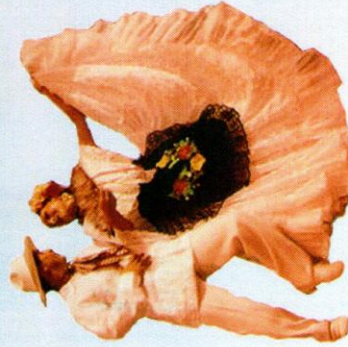
Mtro. Jorge Alanís Tavira
Presidente del SNIO





Universidad Veracruzana

**XX Encuentro Nacional
XI Iberoamericano**



**Boca del Río, Ver.
2012**
De Investigación en Odontología

**XX ENCUENTRO NACIONAL Y
XI IBEROAMERICANO DE
INVESTIGACIÓN EN ODONTOLOGIA**

Universidad Veracruzana
Facultad de Odontología



Otorga la presente

CONSTANCIA
a

Juan Carlos González Pérez

Por su participación con la ponencia titulada

**ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LA ADHERENCIA DE
STREPTOCOCCUS SANGUINIS A OCHO CEMENTOS PARA
BANDAS DE PRESCRIPCIÓN ORTODONCICA**
En el **XX ENCUENTRO NACIONAL Y XI IBEROAMERICANO DE
INVESTIGACIÓN EN ODONTOLOGÍA**

"LIZ DE VERACRUZ, ARTE, CIENCIA, LUZ"
BOCA DEL RIO VERACRUZ DEL 7 AL 9 DE NOVIEMBRE DEL 2012

Dr. Miguel Ángel Díaz Castillejos
Director de la Facultad de
Odontología

Dra. Clara Luz Parra Uscanga
Comité organizador

Mtro. Jorge Alanís Tavira
Presidente del SNIIO



Universidad Veracruzana

XX ENCUENTRO NACIONAL Y
XI IBEROAMERICANO DE
INVESTIGACIÓN EN ODONTOLOGIA



Universidad Veracruzana
Facultad de Odontología

XX Encuentro Nacional
XI Iberoamericano



Boca del Río, Ver.
2012
De Investigación en Odontología

Otorga el presente

RECONOCIMIENTO

Juan Carlos González Pérez, Rogelio José Scougall Vilchis, Rosalía Contreras Bulnes, Isaías de la Rosa Gómez, Shinsuke Uematsu, Ryozo Yamaguchi. Por haber obtenido el **PRIMER LUGAR** con la ponencia titulada

Análisis cuantitativo de la adherencia de Streptococcus sanguinis a ocho cementos para bandas de prescripción ortodóncica.

En la modalidad **ORAL** en el XX ENCUENTRO NACIONAL Y XI IBEROAMERICANO DE INVESTIGACIÓN EN ODONTOLOGÍA

"LIZ DE VERACRUZ, ARTE, CIENCIA, LUZ"
BOCA DEL RIO VERACRUZ DEL 7 AL 9 DE NOVIEMBRE DEL 2012

Dr. Miguel Ángel Díaz Castillejos
Director de la Facultad de Odontología

Dra. Clara Luz Parra Uscanga
Comité organizador

Mtro. Jorge Alanís Tavira
Presidente del SNIIO

La UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
ÁREA ACADÉMICA DE ODONTOLOGÍA

A través del
Cuerpo Académico de Epidemiología Estomatológica



Otorgan el presente

RECONOCIMIENTO

A: JUAN CARLOS GONZÁLEZ PÉREZ

Por su participación como PROFESOR del CURSO DE ORTODONCIA, impartido a profesores del Área Académica de Odontología, realizado en las instalaciones del Instituto de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo el día 16 de noviembre de 2012.

Con duración de 6 horas.

“Amor, orden y progreso”

Pachuca de Soto, Hidalgo., 16 de noviembre de 2012.

MC Esp. José María Busto Villarreal
Director del ICSa

Mtro. Sergio Vera Guzmán
Jefe del Á. A. de Odontología

La Universidad Autónoma del Estado de México

a través de la

Facultad de Odontología

Otorgan el presente

DIPLOMA

a: **JUAN CARLOS GONZÁLEZ PÉREZ**

Por su Asistencia al XI Coloquio de Investigación de Maestría y Doctorado en Ciencias de la Salud, celebrado en la Facultad de Odontología de la UAEMex. Toluca, México 22 y 23 de Noviembre de 2012

Patria, Ciencia y Trabajo

“ 2012, Año Internacional de la Energía Sostenible para Todos”



Dr. en E.P. Alberto Salgado Valdés
Director

FACULTAD DE ODONTOLOGIA



XI Coloquio de Investigación de Maestría y Doctorado en Ciencias de la Salud





La Universidad Autónoma del Estado de México

a través de la

Facultad de Odontología

Otorgan el presente

RECONOCIMIENTO

**a: Juan Carlos González Pérez, Rogelio J. Scougall Vilchis,
Rosalía Contreras Bulnes, Isaías de la Rosa Gómez.**

**Por su participación con el Trabajo Titulado: “Análisis de la Adherencia bacteriana a materiales para el cementado de bandas ortodóncicas”, en el XI Coloquio de Investigación de Maestría y Doctorado en Ciencias de la Salud, celebrado en la Facultad de Odontología de la UAEMex.
Toluca, México 22 y 23 de Noviembre de 2012**

Patria, Ciencia y Trabajo

“ 2012, Año Internacional de la Energía Sostenible para Todos”



Dr. en E.P. Alberto Salgado Valdés
Director



**XI Coloquio de Investigación de Maestría
y Doctorado en Ciencias
de la Salud**





Universidad Autónoma del Estado de México
 Facultad de Odontología
 a través del Cuerpo Académico Salud - Enfermedad Bucal



Otorga la presente
CONSTANCIA

A: *Juan Carlos González Pérez, Rogelio José Scougall Vilchis, Rosalía Contreras Bulnes, Isaías de la Rosa Gómez, Shinsuke Uematsu, Ryozo Yamaguchi*

Por su valiosa participación académica en el Cuarto Coloquio Nacional de Investigación en Salud Bucal, con la presentación del trabajo de investigación titulado:

ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LA ADHERENCIA DE STREPTOCOCCUS SANGUINIS A OCHO CEMENTOS PARA BANDAS DE PRESCRIPCIÓN ORTODONCICA

Toluca, Estado de México 6 de febrero del 2013



[Firma]
 Dr. en E. P. Alberto Salgado Valdés
 Director de la Facultad de Odontología

[Firma]
 Dr. en E. P. David Eduardo Velázquez Muñoz
 Subdirector Académico de la Facultad de Odontología



Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Odontología

a través del Cuerpo Académico Salud - Enfermedad Bucal



Otorga el presente

RECONOCIMIENTO

**A: Juan Carlos González Pérez, Rogelio José Scougall Vilchis, Rosalía Contreras
 Bulnes, Isaías de la Rosa Gómez, Shinsuke Uematsu, Ryozo Yamaguchi**

SEGUNDO LUGAR

Modalidad: Cartel

**ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LA ADHERENCIA DE STREPTOCOCCUS SANGUINIS A OCHO CEMENTOS
 PARA BANDAS DE PRESCRIPCIÓN ORTODONCICA**

en el Cuarto Coloquio Nacional de Investigación en Salud Bucal

Toluca, Estado de México 6 de febrero del 2013

Dr. en E. P. Alberto Salgado Valdés
Director de la Facultad de Odontología



Dr. en E. P. David Eduardo Velázquez Muñoz
Subdirector Académico de la Facultad de Odontología



Dra. en O. Blanca Silvia González López
Líder del Cuerpo Académico

Asahi University

School of Dentistry

Present this

Certificate

to

Mr. Juan Carlos Gonzalez Perez

as a Visiting Researcher at Asahi University,
School of Dentistry.

Mar. 30, 2011 ~ Jun. 29, 2011



Katsuyuki Ohtomo
President
Asahi University

Yasuo Tamura
Dean
Asahi University
School of Dentistry