



Universidad
Nacional
de Córdoba



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ESCUELA DE POSGRADO

**“BIOFILM BUCAL ASOCIADO AL TRATAMIENTO
ORTODÓNICO Y RIESGO DE CARIES: CARACTERIZACIÓN
CLÍNICA Y MICROBIOLÓGICA DE PACIENTES PREVIOS AL
TRATAMIENTO”**

ESPECIALIZANDO:

OD. VERÓNICA S. VERA CUCCIARO

DIRECTOR:

PROF. DR. ALFREDO BASS PLUER

CO-DIRECTOR:

PROF. DRA. ANA AZCURRA

CÓRDOBA, 2016



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-
NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).



TRABAJO FINAL

Carrera de Especialización en Ortodoncia y Ortopedia Dento-Máxilo-Facial

**Escuela de Posgrado, Facultad de Odontología,
Universidad Nacional de Córdoba**

**Biofilm bucal asociado al tratamiento ortodóncico y
riesgo de caries: Caracterización clínica y
microbiológica de pacientes previos al tratamiento**

Especializando: Od. Esp. Verónica S. Vera Cucchiaro

Director – Área de Clínica: Prof. Dr. Alfredo Bass Plier

Co-Director: Prof. Dra. Ana Azcurra

Año 2016

AGRADECIMIENTOS

A LA ESCUELA, ETC.....

Resumen:

El uso de dispositivos de ortodoncia pone a los pacientes en condición de vulnerabilidad, por lo que valorar el riesgo individual constituye una importante actividad previa al inicio del tratamiento. El objetivo de este trabajo fue evaluar las condiciones clínicas, sialoquímicas y microbiológicas de los pacientes al inicio del tratamiento ortodóncico, para adecuar la motivación de estos pacientes y las acciones clínicas que eviten patologías secundarias. Se trabajó con 15 pacientes adultos con necesidad de tratamiento ortodóncico, se confeccionó la historia clínica, se registraron parámetros clínicos y se tomaron muestras de placa bacteriana y saliva para determinar parámetros microbiológicos y sialoquímicos.

Los pacientes mostraron altos valores medios del índice de caries; el 80% presentó valores del índice de placa indicativos de mala higiene bucal. Los pacientes más jóvenes mostraron mayor cantidad de placa bacteriana y cantidades de *S.mutans* significativamente mayor en los sectores anterior y posterior de la boca ($p=0,05$ y $0,006$, respectivamente). Se observaron menores recuentos de microorganismos en la zona anterior de la boca que en la posterior, con diferencias significativas en *S.mutans* y *Candida* ($p<0,0001$). No se aisló *Candida* en la zona anterior de la boca; en la zona posterior se aisló *Candida* (35% de los pacientes) con mayores valores en varones que en mujeres ($p=0,05$).

Este estudio muestra la necesidad de motivación del paciente por parte del ortodoncista previo al tratamiento ortodóncico con el fin de prevenir lesiones de descalcificación del esmalte dentario frecuentemente observadas al finalizar los tratamientos ortodóncicos.

Palabras Clave: factores de riesgo, ortodoncia, caries, prevención, salud bucal

Introducción

En las últimas décadas se ha producido un incremento en los pacientes tratados con aparatos de ortodoncia fija, tanto por razones estéticas como por razones funcionales. Es por esto que el ortodoncista tiene la necesidad de evaluar y analizar ciertas patologías secundarias ocasionadas por los tratamientos con aparatología fija, e incorporar todas las medidas terapéuticas preventivas necesarias durante su tratamiento antes de comenzar cualquier terapia de ortodoncia (1).

Los principales problemas de los pacientes bajo tratamiento son la caries dental y la enfermedad periodontal, que, a pesar de que su diversa patogénesis, tiene a la placa bacteriana o biofilm bucal (BB) como factor esencial para su producción. Los dispositivos ortodóncicos constituyen un nuevo hábitat de retención microbiana en la ecología bucal, producen cambios ambientales que pueden ocasionar una respuesta inflamatoria, facilitan el desarrollo del BB y, por ello, afectan su desarrollo y maduración. La literatura muestra inequívocamente esta situación, señalando a los pacientes bajo tratamiento ortodóncico como de alto riesgo de caries dental (2-6). Entre las modificaciones que ocurren en estos nuevos hábitats ecológicos están la reducción del pH salival local, una mayor disponibilidad de sitios de unión para el biofilm, la desmineralización en las zonas aledañas y un incremento en la acumulación de restos de comida, lo que conlleva a un aumento de los niveles microbianos locales, capaces de producir lesiones de descalcificación del esmalte dentario frecuentemente observadas durante y al finalizar los tratamientos ortodóncicos.

La saliva juega un papel fundamental en el mantenimiento de la integridad de las estructuras bucales, en el control de infecciones bucales y, en particular, en la protección frente a la caries dental. Las funciones de la saliva que se relacionan con la susceptibilidad a la caries dental pueden resumirse en su capacidad de "limpieza" (dilución y eliminación de azúcares y otros componentes de la dieta), de neutralización

y mantenimiento del equilibrio entre desmineralización-rem mineralización del esmalte y acción antimicrobiana (7,8). Los estudios en saliva han sido utilizados como complemento para la evaluación del riesgo de caries, a través de la capacidad amortiguadora de la saliva y el contenido microbiano (9). El pH salival determina la mayoría de las reacciones que ocurren en la cavidad bucal y establece el equilibrio entre las sales de calcio y fosfato de las estructuras duras del diente y las de la fase líquida que los rodea. El ácido láctico, que es el producto más importante del metabolismo del biofilm cariogénico, es el responsable del descenso del pH en el BB, lo cual provoca un aumento en el proceso de desmineralización del esmalte (10). La saliva mixta posee diversos sistemas amortiguadores que contribuyen a regular el pH, cuya concentración depende de la velocidad con que la saliva es producida. Bardow y cols. mostraron que el sistema bicarbonato-ácido carbónico es el más importante en la saliva mixta a valores de pH entre 5 y 7 (11). Esto es sumamente importante, considerando que estos valores de pH incluyen los pH críticos de la hidroxiapatita. Por su parte, las proteínas salivales constituyen los principales amortiguadores a valores de pH salival ácido, situación responsable de la enfermedad de caries dental y de la desmineralización.

La colonización temprana de los *brackets* por diferentes microorganismos cariogénicos está asociada a la alta prevalencia de caries en estos pacientes. Dentro de los microorganismos bucales, *S.mutans* ha sido reconocido como un indicador pronóstico de la caries dental (12); otros estudios (13) mostraron que el nivel de lactobacilos aumenta durante el tratamiento con *brackets*, proponiendo este parámetro como parte de la evaluación de riesgo de caries. Por su parte, la levadura *Candida* constituye un agente oportunista presente en humanos, que ha sido aislado en la boca de entre el 50 y el 60% de pacientes adultos jóvenes. La alta colonización por este hongo patógeno y su adhesión a los aparatos de ortodoncia y prótesis dentales ha sido bien documentada (14).

La posibilidad de desarrollo de lesiones de manchas blancas y de caries dental debería advertirse a los pacientes, así como la posibilidad de suspender el tratamiento de ortodoncia si las condiciones de higiene oral son pobres. Por tal motivo, en este trabajo, se propuso evaluar y correlacionar las condiciones clínicas, sialoquímicas y microbiológicas de los pacientes al inicio del tratamiento ortodóncico, para adecuar la motivación de estos pacientes y analizar las acciones clínicas adecuadas que eviten las patologías secundarias.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio observacional descriptivo y correlacional en pacientes mayores de 18 años de ambos sexos (n=18 pacientes) que asistieron espontáneamente a la Fundación CREO (Centro de Rehabilitación Estética Odontológica) de la ciudad de Córdoba, para el tratamiento de ortodoncia. Para ser incluidos en el protocolo, a los pacientes se les diagnosticó dicho tratamiento para la corrección del posicionamiento y/o rotación de sus elementos dentarios. Los pacientes fueron citados antes de la colocación de los *brackets* a fin de prestar su consentimiento (comité de Ética del Polo Hospitalario N° 139- Agosto 2012 y el CIEIS de la Facultad de Odontología (N° 49- Septiembre 2013). Se excluyeron pacientes con enfermedades sistémicas o crónicas, que estén medicadas con tratamiento prolongado con fármacos antimicrobianos o fármacos que produzcan hiposialia, uso de corticoides y otros antiinflamatorios.

Recolección de datos y muestras pre-tratamiento

Previo a la colocación de la ortodoncia, los pacientes fueron citados y se determinaron los siguientes indicadores o parámetros clínicos:, índice CPO-D, índice de higiene oral simplificado de Green y Vermillion (IP), motivo de la consulta y determinación del biotipo facial. Para la determinación del IP, se tomaron registros fotográficos de la cavidad bucal en las zonas bucales anterior y posterior izquierda, luego de la aplicación de solución doble tono (cámara extraoral, D5100, Nikon).

Análisis sialoquímico

Las muestras de saliva no estimulada se recolectaron durante 5 minutos en tubos graduados estériles mantenidos en hielo con el paciente sentado, entre las 8 y las 10 hs de la mañana, previo enjuague de la boca con agua, según lo recomendado por Chiappin y cols (9). Inmediatamente se registró el volumen total, tiempo de

recolección, el pH y la capacidad amortiguadora de la saliva. Esta última se calcula como la diferencia de los valores de pH antes y después de agregar una alícuota de ácido clorhídrico 5 mM a la saliva (15).

Análisis microbiológico

La recolección de placa microbiana o biofilm de los elementos dentarios se realizó en la zona anterior y posterior derechas de ambas arcadas. La toma se realizó con un *microbrush* que fue inmediatamente colocado en tubos eppendorf estériles prepesados con solución fisiológica estéril para el transporte de los microorganismos. Las muestras fueron sembradas, previa dilución en solución fisiológica, en medio selectivo para de *S.mutans*, en agar mitis salivarius con bacitracina (Difco®, Becton Dickinson, Francia), para lactobacilos, en agar Rogosa (Merck, Argentina) y para especies *Candida* en agar Sabourad glucosado (Biokar®, Francia) y CHROMagar® (CHROMagar Candida, Biomerieux, Francia). El recuento final (UFC) será referido al total de biofilm (mg), considerando la dilución realizada en solución fisiológica. Se emplearon cepas de referencia en cada siembra (*Candida albicans* serotipo A, NCPF 3153 y *Streptococcus mutans* ATTC 25175). La identificación bioquímica de las mismas se realizó mediante características morfológicas y pruebas convencionales de fermentación de azúcares. Se incubaron por 48-72 hs en microaerofilia para *S.mutans* y lactobacilos y en aerofilia para *Candida* a 37°C, y posteriormente, se realizó el recuento de colonias, expresándolas como UFC/mg de biofilm.

Tratamiento estadístico de los datos

Para el análisis estadístico, se comprobó la normalidad de la distribución de los datos numéricos (Shapiro-Wilks modificado), se calcularon las medidas de centralización y desviaciones estándar; para los datos categóricos se emplearon proporciones.

Se empleó el test t de Student para muestras apareadas para el análisis de las variables. Para las variables de distribución no paramétrica, se empleó la prueba de Kruskal-Wallis. Para el análisis multivariado de los datos, se operacionalizaron las variables cuantitativas, empleando la mediana para determinar las categorías. Se estableció un nivel de significación estadística de $p \leq 0,05$ (Infostat versión Profesional 2015 Profesional).

Resultados

Entre los datos recopilados en la historia clínica, se observó que el rango etario de los pacientes fue entre 18 y 35 años, mediana 21 años, y una proporción de 47% de mujeres y 53% de varones (Fig. 1.A). La mejora de la estética resultó el motivo de consulta más frecuente (53%), seguido por la corrección de la oclusión (33%), sin observarse diferencias significativas con el género de los pacientes ($p > 0,05$) (Fig. 1.B). Además, el biotipo facial más frecuentemente observado en la muestra fue el dólicofacial (50% de los pacientes), seguido por el braquifacial (36%) (Fig. 1.C).

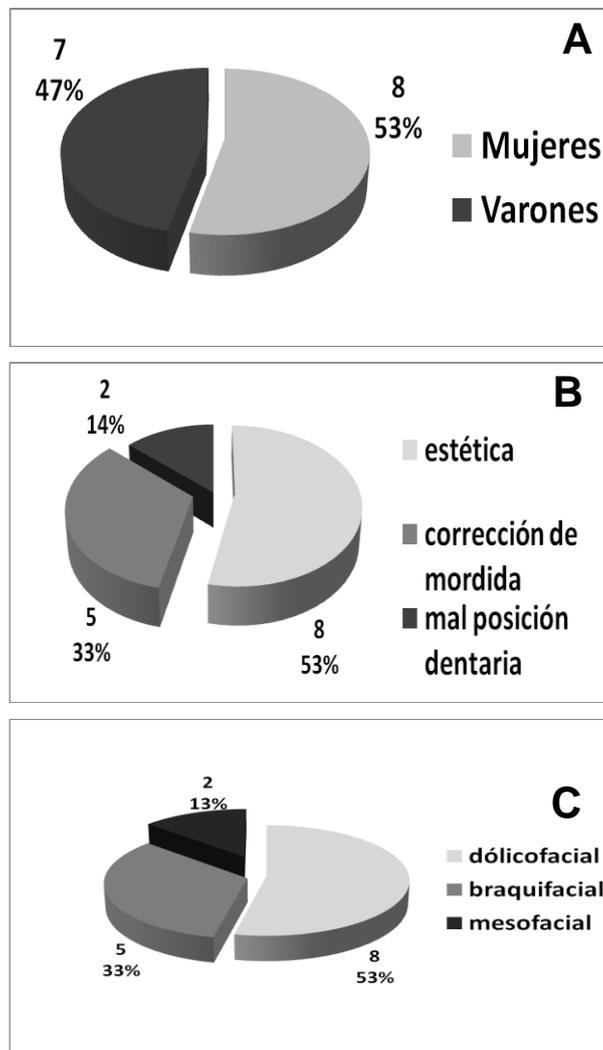


Figura 1: Distribución de A) género B) motivo de consulta y C) biotipo facial en la muestra.

La historia de caries, medida como índice *c*, mostró una media de 6 con valores límites entre 1 y 14. El 80% de los pacientes presentó valores altos del índice IP, en el rango de higiene bucal deficiente (mayor a 1,9); el resto de los pacientes presentó valores regulares de este índice (1,3 a 1,8) antes de la colocación de los *brackets*. Los pacientes más jóvenes de la muestra presentaron la mayor cantidad de biofilm cariogénico, reflejado en el índice IP, sin observarse diferencias significativas con la edad y el género de los pacientes (Fig. 2).

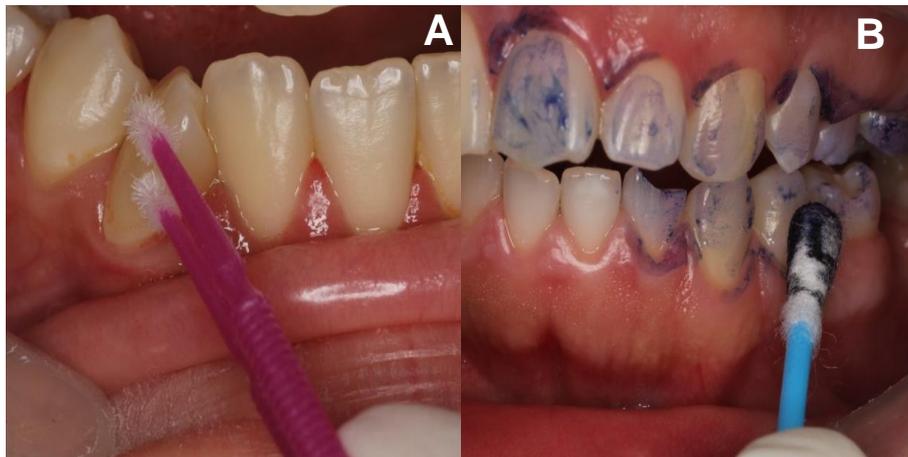


Figura 2: A: Recolección de placa microbiana de los elementos dentarios; B: Valoración del índice de placa.

Los componentes que integran el índice CPO-D ($CPO-D = 11,7 \pm 2,3$) y de placa se muestran en la Tabla 1.

PARÁMETRO	RANGO	MEDIA	DE
CARIADOS	0-14	5,77	3,42
PERDIDOS	0-11	3,48	3,21
OBTURADOS	0-13	2,45	3,07
CON EXTRACCIÓN INDICADA	0-4	0,5	1,10
INDICE DE PLACA	1,3-3,0	2,19	0,56

Tabla 1. Componentes que integran el índice CPO-D y de placa

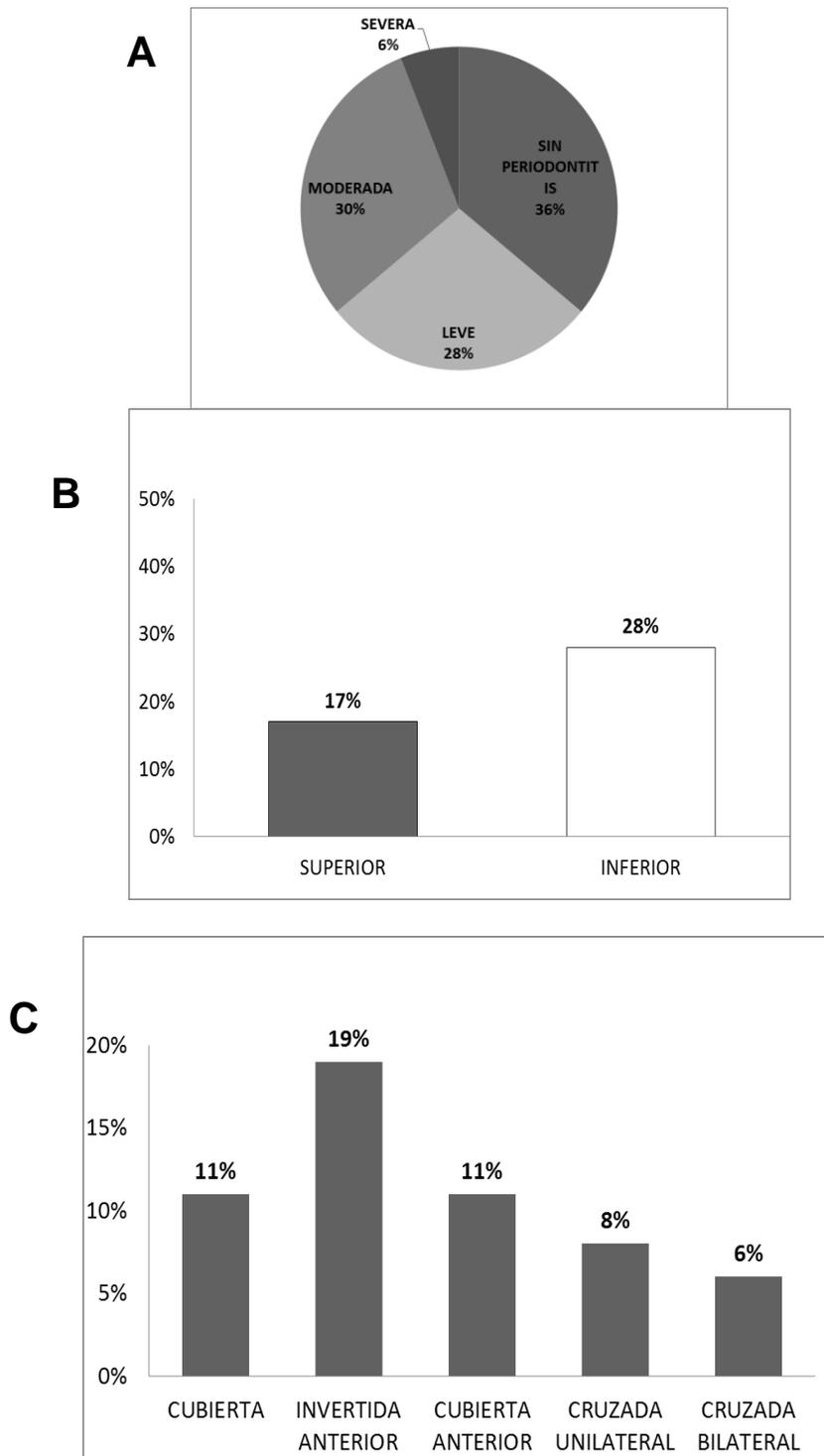


Figura 3. Distribución de A. periodontitis; B. apiñamiento y C. de la oclusión en los pacientes del estudio.

La Figura 3 muestra la distribución de periodontitis, apiñamiento y de la oclusión de los pacientes del estudio. Puede observarse que la mayoría de los pacientes no presentó

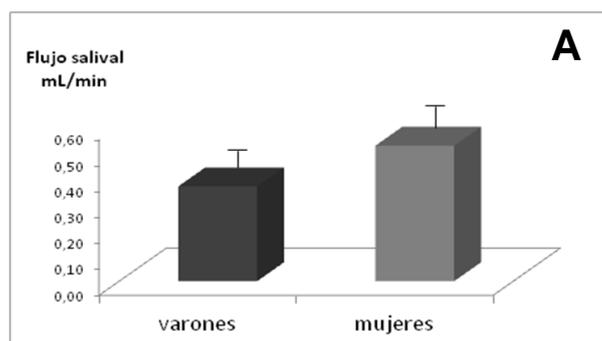
periodontitis, o era de grado leve, y un predominio del apiñamiento dentario inferior (28%) y de mordida invertida anterior (19%).

Los valores del flujo salival, el pH salival y la capacidad amortiguadora se muestran en la Tabla 2.

Parámetros sialoquímicos	
Flujo salival	0,45 ±0,36 mL/min (0,30 mL/min)
pH salival	6,96 ± 0,16 (6,96)
Capacidad amortiguadora	1,6 ± 0,86 (1,19)

Tabla 2. Parámetros sialoquímicos de los pacientes de la muestra. Los valores representan la media y su desviación estándar; los valores entre paréntesis corresponden a la mediana.

Cuando se analizaron estos parámetros según el sexo de los pacientes, las mujeres mostraron un pH salival significativamente menor que el de los varones ($p=0,005$); sin embargo, no se observaron diferencias significativas de la capacidad amortiguadora y del flujo salival con el género ($p>0,05$) (Fig. 4. A,B y C).



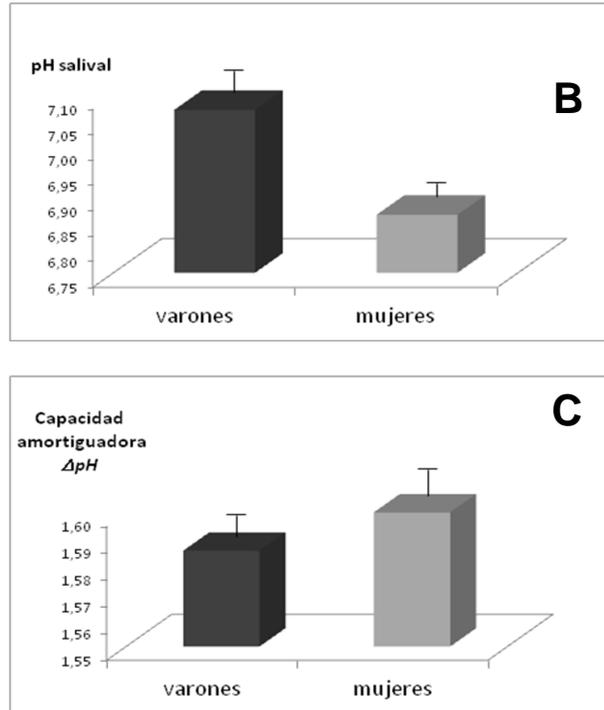
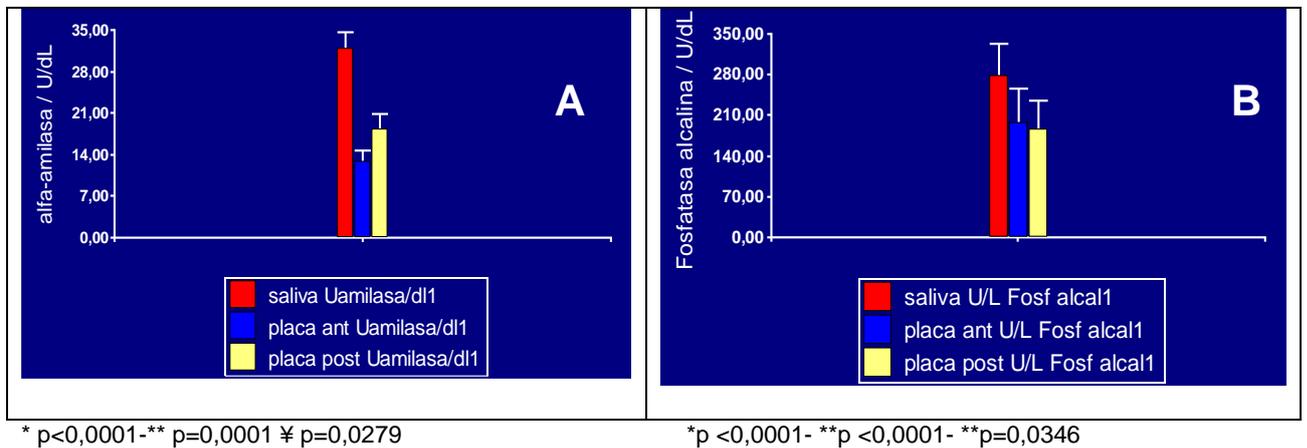


Figura 4: Parámetros sialoquímicos: A) flujo, B) pH y C) capacidad amortiguadora salival según el género.



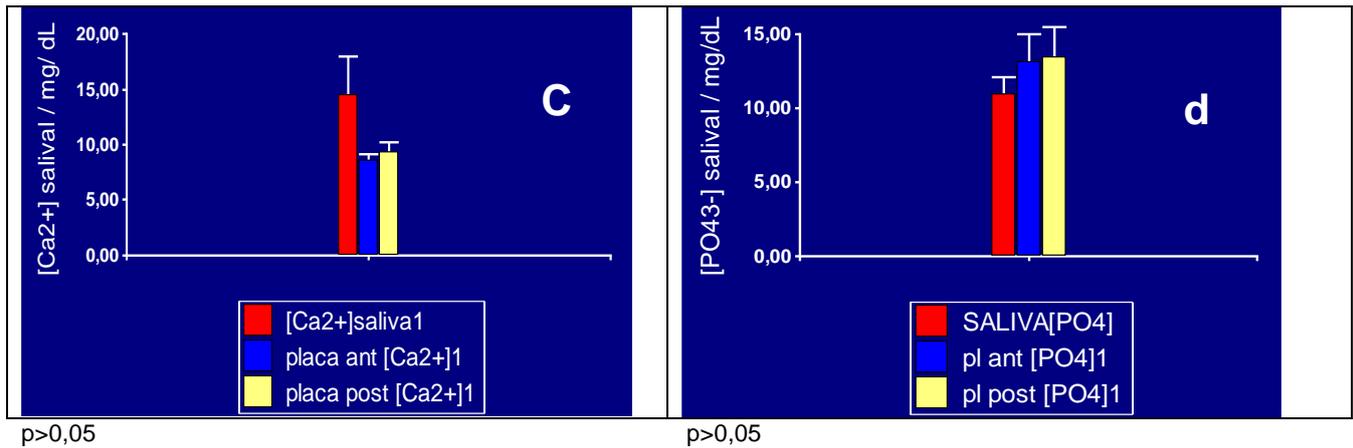


Figura 5: Parámetros sialoquímicos: A) α -amilasa, B) fosfatasa alcalina C) iones calcio y D) iones fosfato en saliva, biofilm zona anterior y biofilm zona posterior.

Al analizar la concentración de iones y enzimas en la saliva y en el biofilm formado en diferentes zonas de la cavidad bucal, se observaron incrementos significativos de la actividad amilasa y fosfatasa alcalina en saliva respecto a las otras zonas ((Fig.5 A y B; $p < 0,0001$), no así la concentración de iones calcio y fosfato (Fig.5 C y D).

Las muestras de biofilm bucal fueron tomadas de la zona anterior y posterior de las hemiarquadas derechas del paciente y procesadas para el aislamiento e identificación de *S.mutans*, lactobacilos y *Candida*. Se observaron menores recuentos de todos los microorganismos estudiados en la zona anterior de la boca comparado con la zona posterior (Fig. 6).

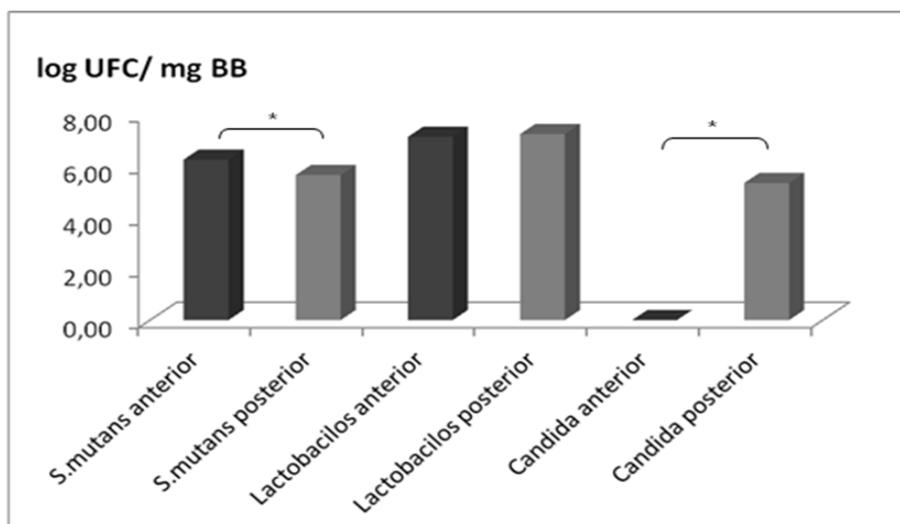


Figura 6: Recuento de *S.mutans*, lactobacilos y *Candida* en la placa bacteriana de las zonas anterior y posterior de la boca de los pacientes. (* $p < 0,0001$).

Estas diferencias, según la zona bucal de toma de la muestra, fueron significativas tanto en el recuento de *S.mutans* como para *Candida* ($p < 0,0001$). En el 100% de los pacientes, no se aisló *Candida* en la zona anterior de la boca, mientras que en la zona posterior de la boca sólo se aisló *Candida* en un 35% de los pacientes. En todos los aislados de *Candida*, la especie encontrada fue *C.albicans*.

Cuando se analizó la relación existente entre presencia de los microorganismos estudiados y el género de los pacientes, se observaron mayores recuentos de *Candida* en pacientes varones que en mujeres ($p = 0,05$), sin observarse asociación con el género en los otros microorganismos estudiados. Al ser divididos en dos grupos según su edad, empleando la mediana, los pacientes entre 18 y 21 años mostraron los mayores recuentos de *S.mutans* en los sectores anterior y posterior de la boca ($p = 0,05$ y $0,006$, respectivamente), mientras que los parámetros pH y flujo salival no mostraron asociación con el aislamiento de ninguno de los microorganismos estudiados ($p > 0,05$).

Al analizar las asociaciones entre los parámetros, no se observaron asociaciones significativas entre la presencia de biofilm y gingivitis, ni tampoco entre el índice de placa y el apiñamiento dentario superior e inferior (Fig.7; $p > 0,05$).

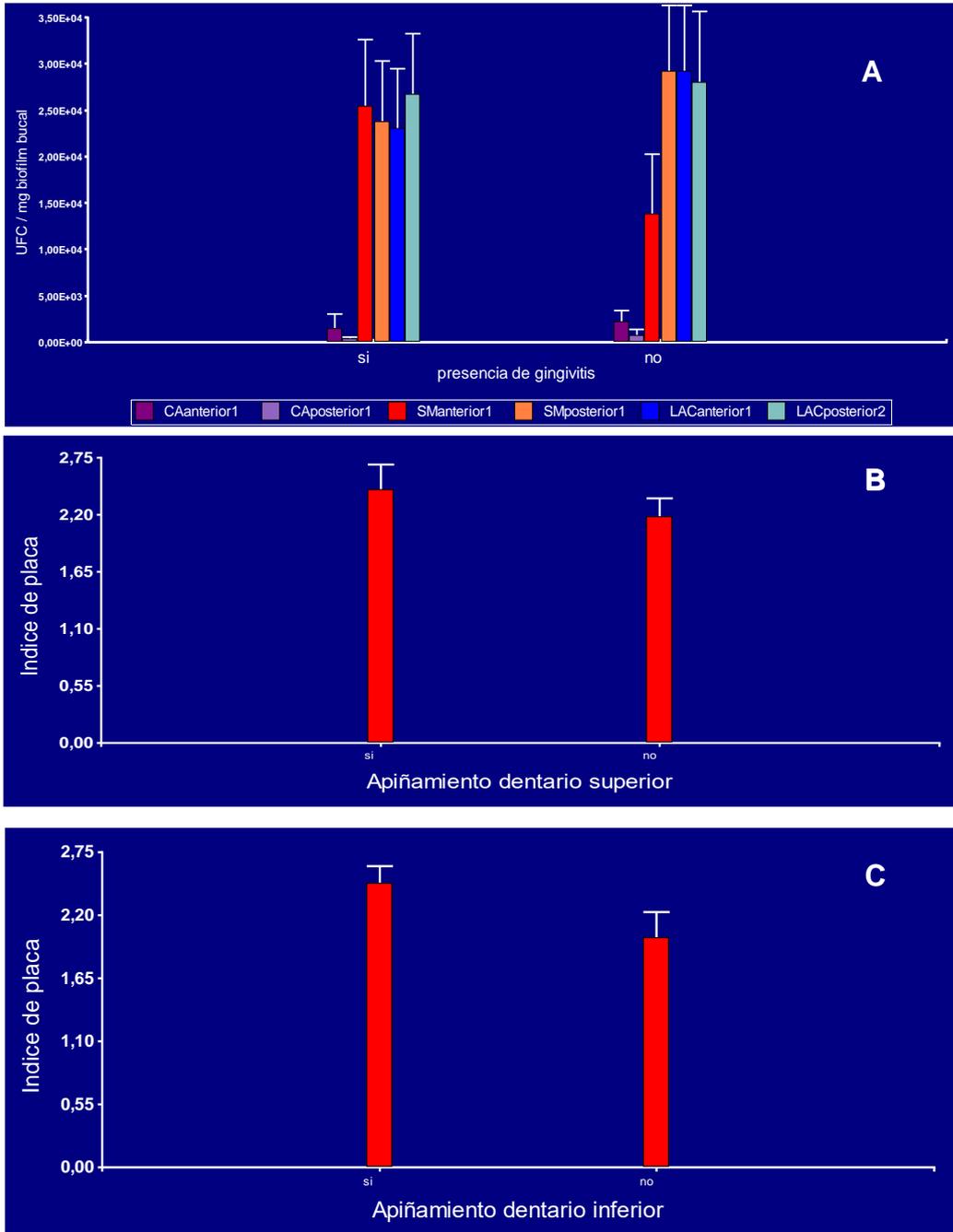


Figura 7: Asociación entre A) gingivitis y presencia de biofilm bucal; índice placa y apiñamiento superior (B) e inferior (C) ($p < 0,05$).

La Figura 8 muestra la falta de correlaciones estadísticamente significativas entre la actividad enzimática de α -amilasa y fosfatasa alcalina salival con el biofilm de ambas zonas de la boca ($p > 0,05$).

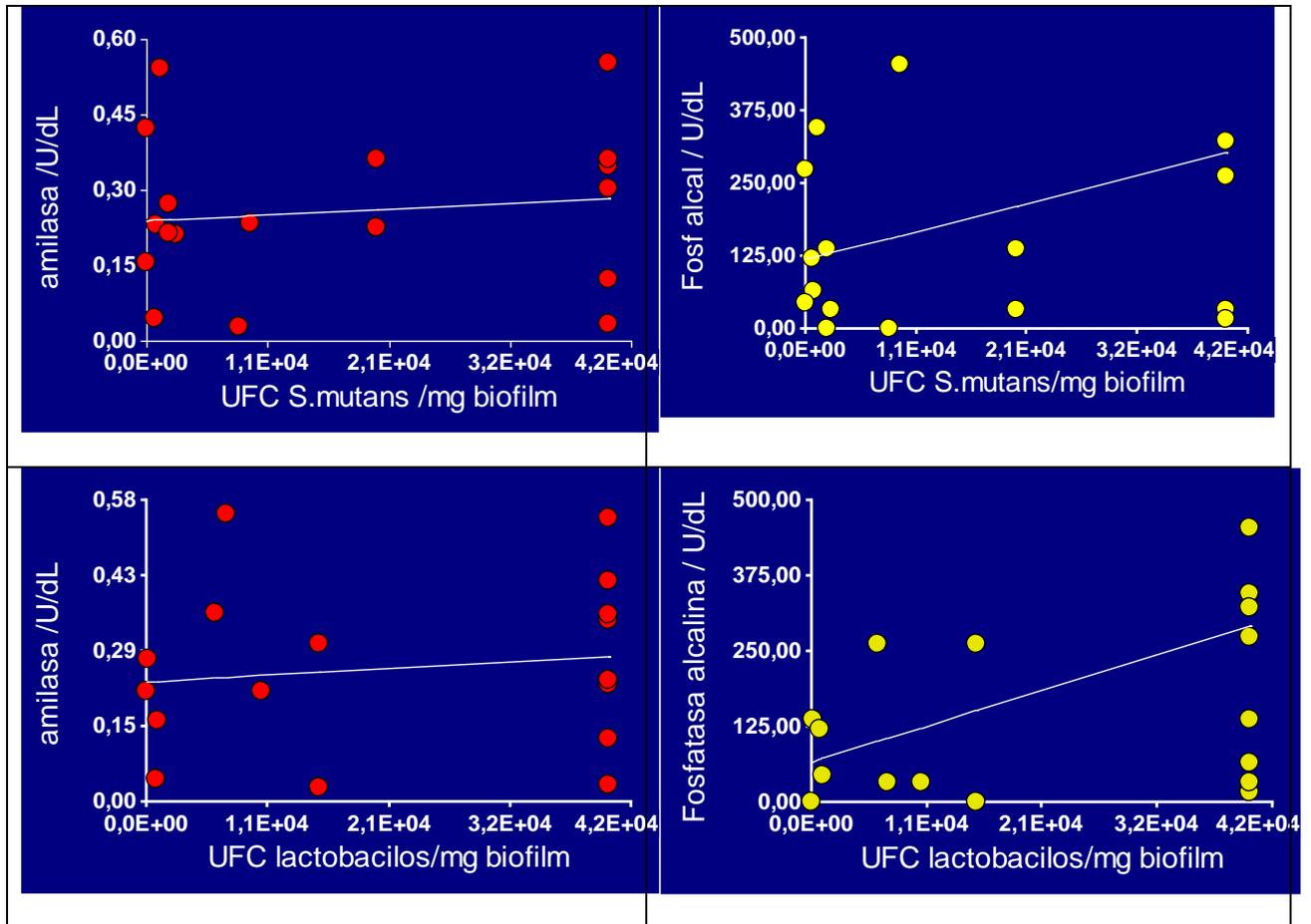


Figura 8: Correlaciones entre los valores de -amilasa y fosfatasa alcalina salival con el biofilm de ambas zonas de la boca ($r^2 < 0,35$ y $p < 0,05$).

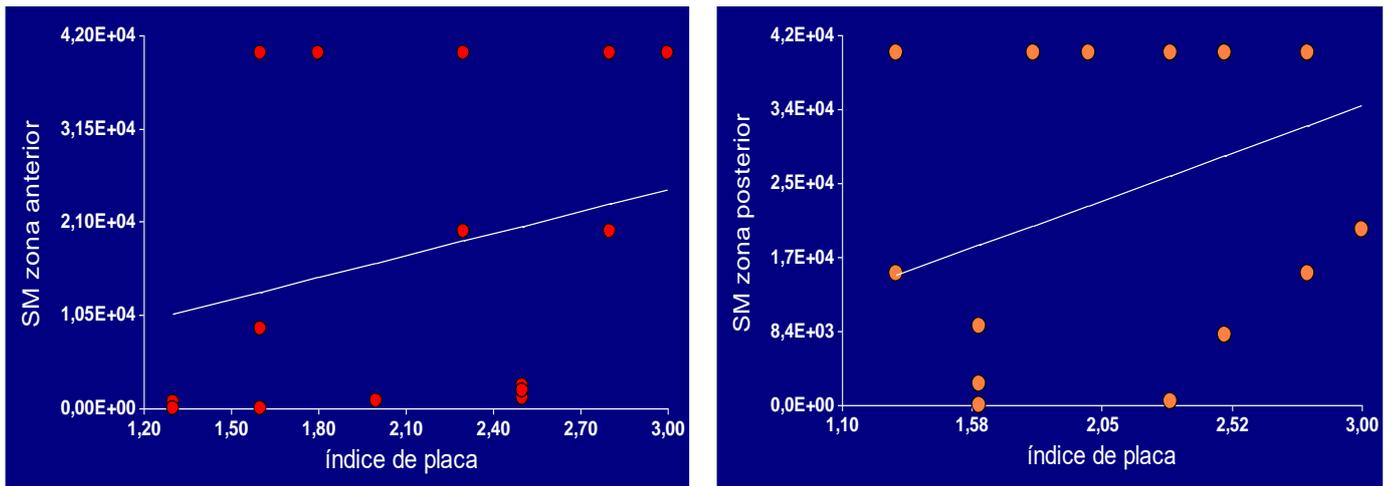


Figura 9: Correlaciones entre los valores de biofilm de *S.mutans* con el índice de placa de ambas zonas de la boca.

La Figura 9 muestra la correlación positiva observada entre el número de UFC de *S.mutans* en las dos zonas y el índice de placa del paciente ($r^2= 0,53$; $p= 0,0004$ y $r^2= 0,71$; $p<0,0001$, respectivamente)..

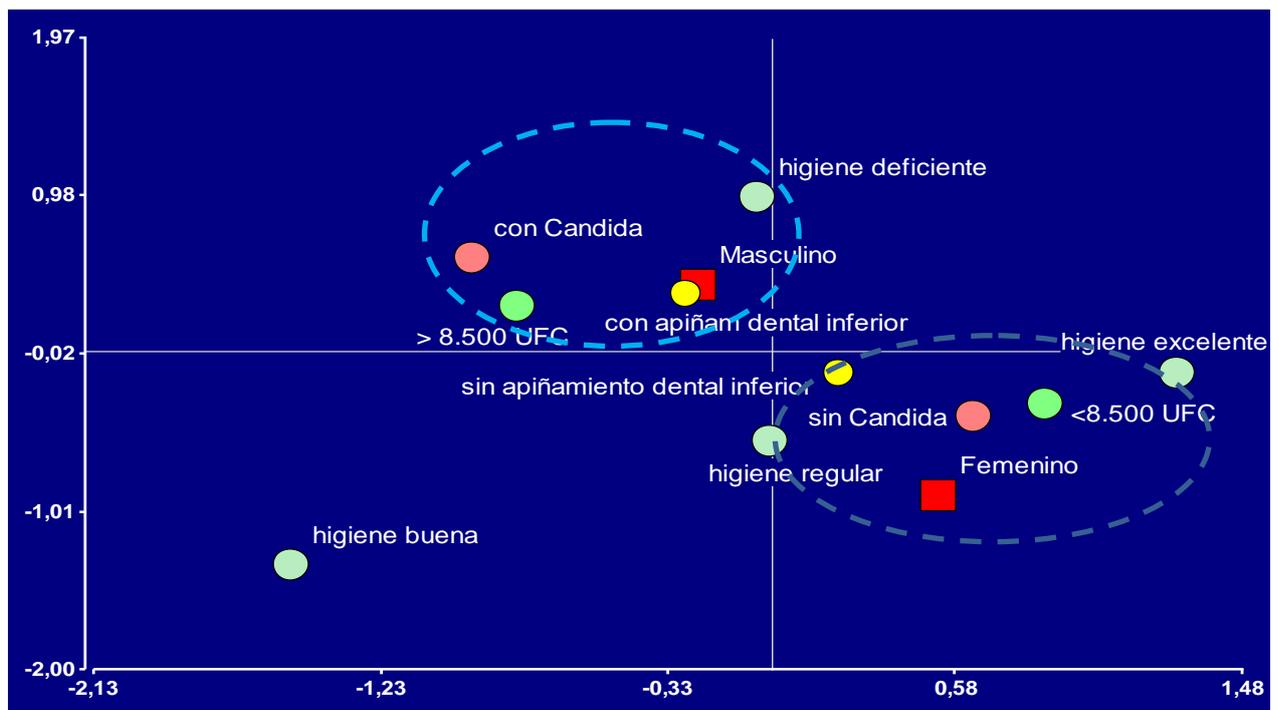


Figura 10: Análisis multivariado de correspondencia para algunos parámetros estudiados

Al realizar el análisis multivariado por correspondencia entre las variables estudiadas, se observó una asociación entre el sexo femenino, la higiene excelente, la ausencia de especies *Candida*, el recuento de *S.mutans* $< 8,5 \cdot 10^3$ UFC/mg biofilm y la ausencia de apiñamiento dentario de la arcada inferior. En contrario, se asociaron mayores recuentos de *S.mutans* ($> 8,5 \cdot 10^3$ UFC/mg biofilm), la presencia de *Candida* y de apiñamiento dentario mandibular, malos niveles de higiene y el sexo masculino.

Discusión

Conociendo el riesgo de desmineralización del esmalte y de caries dental que implica el tratamiento ortodóncico, el profesional ortodoncista debe ser consciente del riesgo que supone el comenzar un tratamiento de este tipo y poner en marcha programas preventivos para conseguir que un tratamiento ortodóncico se convierta en un tratamiento saludable.

Las modificaciones que pueden ocurrir en la cavidad bucal de pacientes bajo tratamiento ortodóncico son variadas; se modifican la calidad y cantidad de la saliva, los índices de higiene y placa bacteriana, y la cantidad y calidad de microbiota asociada a procesos cariosos, la cual puede producir la fermentación de los carbohidratos de la dieta e inducir a la desmineralización del esmalte dental y formación de caries (16,17).

Los valores de índice de placa bacteriana observados en los pacientes de este estudio colocan a estas personas en una situación de riesgo que no puede soslayarse y más aún en los pacientes adolescentes de sexo masculino. Además, pudo observarse mayor cantidad de los microorganismos estudiados en la zona posterior de la boca de todos los pacientes, lo que implica la necesidad de motivación, enseñanza y seguimiento del cepillado del paciente antes de comenzar el tratamiento, considerando que muchos trabajos han mostrado el aumento de los recuentos de microorganismos cariogénicos al colocar los dispositivos ortodóncicos. Este estudio coincide con los trabajos de Jara y cols. (4) y de Basso y cols. (18), en donde la mala higiene bucal observada en el grupo de estudio ratifica que el desafío más grande, durante el tratamiento de los pacientes, es mantener los dispositivos ortodóncicos y su entorno limpios.

Por todo esto, es importante considerar las características individuales del paciente que va a iniciar un tratamiento ortodóncico, a fin de preservar su salud bucal

y general. A partir del conocimiento del estado inicial de salud bucodental de cada paciente, se puede clasificar al mismo, y elaborar un programa preventivo de atención personalizada en el comienzo de un tratamiento ortodóncico. Se ha propuesto que en los individuos de bajo riesgo, las acciones clínicas consistirán en una profilaxis inicial, control de placa, control de dieta, sesiones individuales de motivación, fluorización profesional y revisiones periódicas cada 6 meses por el odontólogo, mientras que en pacientes de alto riesgo deberían sumarse una profilaxis exhaustiva, tartrectomías periódicas, colocación de selladores de fisuras, uso de antisépticos (clorhexidina), aplicación de flúor profesional cada 3 meses y revisiones periódicas cada 3 meses por el odontólogo, hasta convertirlo en un paciente de bajo riesgo (1).

Conclusiones

Es importante destacar que el tratamiento ortodóncico modifica la condición de vulnerabilidad frente a las lesiones de caries dental, ya que constituye un nuevo hábitat para la adhesión de microbiota bucal. Sumado a ello, las condiciones de la ecología bucal, la oclusión, la calidad y cantidad de la saliva y la mala higiene bucal pueden determinar un rápido deterioro de la salud bucal del paciente. Además, la desmineralización en las zonas aledañas a los *brackets* ortodóncicos constituye un problema clínico muy preocupante, con la aparición de las manchas blancas iatrogénicas que conllevan un desmejoramiento estético y, en casos severos, requieren de tratamientos restauradores.

Los resultados de este estudio demuestran la necesidad de que el profesional ortodoncista tome conciencia y motive a su paciente antes, durante y después de su respectivo tratamiento ortodóncico, con la finalidad de prevenir lesiones de descalcificación del esmalte dentario frecuentemente observadas al finalizar los tratamientos ortodóncicos.

Bibliografía

- 1- Samara, G., Lenguas, A., López, M. A. Ortodoncia y salud bucodental. *Cient Dent* 2007;4;1:33-41.
- 2- Balenseifen JW, Madonia JV. Study of dental plaque in orthodontic patients. *J Dent Res* 1970;49(2):320-4.
- 3- Batoni G, Pardini M, Giannotti A, Ota F, Giuca MR, Gabriele M, Campa M, Senesi S. Effect of removable orthodontic appliances on oral colonisation by mutans streptococci in children. *Eur J Oral Sci* 2001;109(6):388-92.
- 4- Jara C, Barra J, Muessic D. Importancia de una terapia preventiva de caries durante el tratamiento ortodóncico. *Ortod Esp* 2005;45(2):74-82.
- 5- Ahn SJ, Lim BS, Yang HCh, Chang Y. Quantitative analysis of the adhesion of cariogenic streptococci to orthodontic metal brackets. *Angle Orthod* 2005;75(4):666-71.
- 6- Ahn SJ, Lim BS, Lee YK, Nahm DS. Quantitative determination of adhesion patterns of cariogenic streptococci to various orthodontic adhesives. *Angle Orthod* 2006;76(5):869-75.
- 7- Llana-Puy C. The role of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006;11(5):E449-55
- 8- Mandel ID. The functions of saliva. *J Dent Res* 1987;66 Spec No:623-7.
- 9- Chiappin S, Antonelli G, Gatti R, De Palo EF. Saliva Specimen: A new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clinica Chimica Acta* 2007;383:30-40.
- 10- Aldalá Teruto LM, Olivera Lima JE, Cardoso CL. Effect of plaque accumulation and salivary factors on enamel demineralization and plaque composition in situ. *Pesqui Odontol Bras* 2003;17(4):326-31.
- 11- Bardow A, Moe D, Nyvad B, Nauntofte B. The buffer capacity and buffer systems of human whole saliva measured without loss of CO₂. *Arch Oral Biol* 2000; 45:1-12.

- 12- van Gastel J, Quirynen M, Teughels W, Pauwels M, Coucke W, Carels C. Microbial adhesion on different bracket types *in vitro*. Angle Orthod 2009;79(5):915-21.
- 13- Sanpei S, Endo T, Shimooka S. Caries risk factors in children under treatment with sectional brackets. Angle Orthod 2010;80(3):509-14.
- 14- Brusca MI, Chara O, Sterin-Borda L, Rosa AC. Influence of different orthodontic brackets on adherence of microorganisms in vitro. Angle Orthod. 2007;77:331-6.
- 15- Ligtenberg AJ, Brand HS, Bots CP, Nieuw Amerongen AV. The effect of toothbrushing on secretion rate, pH and buffering capacity of saliva. Int J Dent Hyg 2006;4:104-5.
- 16- Aldalá Teruto LM, Olivera Lima JE, Cardoso CL. Effect of plaque accumulation and salivary factors on enamel demineralization and plaque composition in situ. Pesqui Odontol Bras 2003;17(4):326-31.
- 17- Pistochini A, Squassi A. Factores y nivel de riesgo cariogénico en niños. Bol Asoc Odontol P Niños 2006;35(2):14-9.
- 18- Basso ML. Control de caries dental durante el tratamiento ortodóncico. Ortodoncia 2005;68(138):26-34.

Agradecimientos:

Al Prof. Dr Alfredo Bass Puer, por su asesoramiento y su colaboración para posibilitar el desarrollo del trabajo.

A las Dras. Regina Bass y Adriana Piacenza, por el registro de las fotografías intraorales y su colaboración como docentes de la Fundación CREO.

Al personal administrativo por su colaboración por el desarrollo del trabajo.