Mikrobiološki poticana korozija: probiotici i ortodontske naprave

Musa Trolić, Ines

Doctoral thesis / Disertacija

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Dental Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:127:545134

Rights / Prava: Attribution-NonCommercial 3.0 Unported/Imenovanje-Nekomercijalno 3.0

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

University of Zagreb School of Dental Medicine Repository

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
STOMATOLOŠKI FAKULTET

Ines Musa Trolić

MIKROBIOLOŠKI POTICANA KOROZIJA: PROBIOTICI I ORTODONTSKE NAPRAVE

DOKTORSKI RAD

Mentori:
izv. prof. dr. sc. Stjepan Špalj
izv. prof. dr. sc. Helena Otmačić Ćurković

Zagreb, 2019.



UNIVERSITY OF ZAGREB

SCHOOL OF DENTAL MEDICINE

Ines Musa Trolić

MICROBIALLY INDUCED CORROSION: PROBIOTICS AND ORTHODONTIC APPLIANCES

DOCTORAL THESIS

Supervisors:

Stjepan Špalj, PhD, Associate Professor

Helena Otmačić Ćurković, PhD, Associate Professor

Zagreb, year 2019

Rad je ostvaren u: Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci, Katedri za ortodonciju
Naziv poslijediplomskoga doktorskog studija: Dentalna medicina
Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Stjepan Špalj, dr. med. dent., spec. ortodont, Katedra za ortodonciju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci
Komentor rada: izv. prof. dr. sc. Helena Otmačić Ćurković, dipl. ing. kem. teh., Zavod za elektrokemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu
Lektor hrvatskog jezika: Karolina Vrljić, prof.
Lektor engleskog jezika: Maja Stojkić, prof.
Sastav Povjerenstva za ocjenu poslijediplomskoga doktorskog rada:
1. Prof. dr. sc. Sandra Anić Milošević
2. Prof. dr. sc. Marina Lapter Varga
3. Prof. dr. sc. Senka Meštrović
4. Izv. prof. dr. sc. Ana Budimir
5. Prof. dr. sc. Ivan Alajbeg

Sastav Povjerenstva za obranu poslijediplomskog doktorskog rada:
1. Prof. dr. sc. Sandra Anić Milošević
2. Prof. dr. sc. Marina Lapter Varga
3. Prof. dr. sc. Senka Meštrović
4. Izv. prof. dr. sc. Ana Budimir
5. Prof. dr. sc. Ivan Alajbeg

Datum obrane rada: 30. 10. 2019.
Rad sadrži: 86 stranica
15 tablica
36 slika
CD

Rad je vlastito autorsko djelo koje je u potpunosti samostalno napisano uz naznaku izvora drugih autora i dokumenata korištenih u radu. Osim ako nije drukčije navedeno, sve ilustracije (tablice, slike i dr.) u radu su izvorni doprinos autora poslijediplomskog doktorskog rada. Autor je odgovoran za pribavljanje dopuštenja za korištenje ilustracija koje nisu njegov izvorni doprinos, kao i za sve eventualne posljedice koje mogu nastati zbog nedopuštenog preuzimanja ilustracija, odnosno propusta u navođenju njihovog podrijetla.

ZAHVALA

Pri izradi ovoga doktorskog rada uzorci su se pripremali, a istraživanja provodila u Laboratoriju za dentalne biomaterijale Sveučilišta u Trstu, u Italiji, Laboratoriju za nanoinovacije istraživačkog centra Elettra-Sincrotrone u Trstu, Laboratoriju za Ramanovu spektroskopiju i Laboratoriju za nanomaterijale Instituta za kemiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta Sv. Ćirila i Metoda u Skoplju, u Makedoniji, Kliničkom zavodu za kliničku i molekularnu mikrobiologiju Kliničkoga bolničkog centra Zagreb, Laboratoriju Zavoda za elektrokemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu te Katedri za ortodonciju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci. Zahvaljujem svima koji su pomogli u provođenju istraživanja: Luci Contardu, Gianluci Turcu, Fabiju Perissinottu, Nikolini Leoni Serdarević, Višnji Katić, Andreju Pavliću, Biljani Pejovi, Petreu Makreskiju, Zrinki Todorić, Ani Budimir.

Materijalna i financijska pomoć istraživanju osigurana je kroz projekt Hrvatske zaklade za znanost *Imunosne i regenerativne implikacije korozije dentalnih materijala u djece i adolescenata* (IP-2014-09-7500) čiji je voditelj prof. dr. sc. Stjepan Špalj.

Hvala mojoj mentorici prof. dr. sc. Heleni Otmačić Ćurković na velikoj pomoći oko elektrokorozijskog dijela istraživanja.

Najveća zahvalnost pripada mom mentoru prof. dr. sc. Stjepanu Špalju, velikom čovjeku, znanstveniku i prijatelju, na ogromnom trudu, znanju i motivaciji koje je nesebično dijelio sa mnom kroz sve ove godine zajedničkog rada i učenja.

I na kraju hvala mojoj obitelji, roditeljima koji su bili uz mene i za mene cijelo moje školovanje, suprugu i djeci što su izdržali moje izbivanje kad sam im trebala najviše.

Mikrobiološki poticana korozija: probiotici i ortodontske naprave

SAŽETAK

SVRHA: Cilj je rada bio istražiti utječu li probiotici dodatno povrh sline na površinu dviju osnovnih slitina koje se upotrebljavaju u ortodonciji te je li taj utjecaj modificiran njihovom oblogom.

MATERIJALI I POSTUPCI: Ispitana su četiri tipa žičanih lukova dimenzija 0,508×0,508 mm – tri nikal-titanijeve (NiTi) slitine, i to neobložene, rodinirane i nitrirane površine, te jedna od nehrđajućeg čelika (SS). Žičani su lukovi bili 28 dana izloženi pri temperaturi od 37±2 ˚C umjetnoj slini (pH = 4,8), slini s dodatkom probiotičkih bakterija *Lactobacilus reuteri Prodentis* te slini s probiotičkim pripravkom *BioGaia*. Kao kontrola služile su neizložene žice. Analizirana je mikrotvrdoća po Vickersu, površinska hrapavost pretražnim elektronskim mikroskopom i mikroskopom atomskih sila te trenje. Elektrokemijskom impedancijskom spektroskopijom i cikličkom polarizacijom provedena je analiza vrste i brzine korozije. Ramanovom spektroskopijom identificirani su metalni oksidi na površini slitina.

REZULTATI: Probiotičke bakterije *Lactobacillus reuteri* i pripravak *BioGaia* utječu na brzinu opće korozije žica u slini, na mogućnost pojave lokalizirane korozije te na mehanička svojstva površine, a učinak je ovisan o tipu slitine i oblozi. Veći korozivni utjecaj ima probiotički pripravak nego sama bakterija. Bakterije povećavaju površinsku hrapavost neobložene NiTi pored utjecaja sline ($p < 0,001$), ali smanjuju korozivni utjecaj sline kada je slitina obložena rodijem ili nitridom. Kod nehrđajućeg čelika bakterije smanjuju korozivni utjecaj sline. Probiotički pripravak *BioGaia* inducira veću površinsku hrapavost kod svih NiTi, ali bez značajnog utjecaja na trenje ili mikrotvrdoću. Dodatne tvari iz probiotičkog pripravka utječu na koroziju povrh utjecaja same probiotičke bakterije.

ZAKLJUČAK: Promjene slitina izazvane probioticima vjerojatno ne bi imale utjecaj na tijek i ishod ortodontske terapije.

Ključne riječi: probiotici; korozija; nikal-titanijeva slitina; površinske karakteristike.

Microbially induced corrosion: probiotics and orthodontic appliances

SUMMARY

AIM: Orthodontic treatment can be done by mobile and fixed orthodontic appliances. Fixed orthodontic appliance is constructed by brackets which are fixed on the patient's teeth by the composite material and archwires which are tied in the brackets with ligatures or with clips integrated in the brackets. Brackets are usually made by stainless steal, titanium, ceramics or plastic, and archwires are made of different alloys of iron, nickel, titanium and molybdenum. NiTi wires have been modified for aesthetic and functional reasons, rhodium coating of the wire improves aesthetic properties of the wire while nitrided surface of the wire shows better mechanical properties. The length of the orthdontic treatment and difficulty maintaining oral hygiene during orthodontic treatment can lead to the development and action of cariogenic bacteria such as *Streptococcus* and *Lactobacillus.* Acidic media and bacterial activity in presence of carbohydrates can lead not only to damage of tooth enamel and caries but also to corrosive damage of dental alloys, release of metal ions and development of hypersensitivity. For the sake of maintenance of oral health, biological methods such as probiotics are introduced nowadays, which are based on restoring microbiological ecological balance. One of the probiotic bacteria used to maintain oral health is *Lactobacillus reuteri*. Favorable effect of *L. reuteri* is attributed to the ability of these bacteria to produce antimicrobial substances such as reuterin, reutericin and reutericyclin. Corrosion of metallic materials can be induced by the presence of microorganisms such as different strains of aerobic and anaerobic bacteria and fungi. Probiotic bacteria show some corrosive potential, however their impact on orthodontic materials has not yet been sufficiently investigated. The aim was to determine if the probiotics have additional effect on the surface of two principle alloys used in dentistry above the influence of saliva and whether this influence is modified by the alloy's coating.

MATERIALS AND METHODS: Research was conducted on four types of archwires with dimensions 0.508×0.508 mm – three nickel-titanium (NiTi) alloys with uncoated surfaces, rhodium coated and titanium nitride coated, as well as one archwire made of stainless steel (SS). The archwires were exposed to pure artificial saliva (pH=4.8), saliva with the addition of probiotic bacteria *Lactobacillus reuteri Prodentis,* and saliva containing BioGaia Prodentis probiotic supplement for a period of 28 days at a temperature of 37±2˚C. Unexposed

archwires were used as control. Surfaces of the exposed and unexposed wires were qualitative examined by the scanning electron microscope (SEM) and quantitatively by atomic force microscope (AFM). Type and speed of archwire corrosion were examined by using the electrochemical methods of cyclic polarization and electrochemical impedance spectroscopy. Mechanical properties of the wires such as friction, microhardness and surface roughness were also analysed. A universal material testing machine was used to measure the friction of exposed and exposed wires. Microhardness was analysed according to Vickers, surface roughness was analysed by means of a scanning electron microscope and an atomic force microscope. Raman spectroscopy was used to identify metal oxides on the alloy surface.

RESULTS: Tested probiotic supplement and probiotic bacteria *Lactobacillus reuteri* influences corrosive and mechanical properties of the examined archwires. The influence depends on the alloy type and the coating. Probiotic supplement has greater influence than the bacteria themselves. The bacteria increase surface roughness of uncoated NiTi in addition to the influence of saliva ($p < 0,001$), but they decrease corrosive influence of saliva when the alloy is coated with rhodium or nitride. In stainless steel the bacteria decrease the corrosive influence of saliva. BioGaia probiotic supplement induces a higher surface roughness in all NiTi archwires but has no significant influence on friction or microhardness. Additional substances in the probiotic supplement influence corrosion above the influence of probiotic bacteria alone.

Key words: probiotics; corrosion; nickel-titanium alloy; surface properties.

SADRŽAJ

1. UVOD 1
1.1. Ortodontska terapija fiksnim napravama 2
1.2. Nuspojave ortodontske terapije 4
1.3. Probiotici 6
1.4. Korozija 9
2. SVRHA ISTRAŽIVANJA 13
3. MATERIJALI I POSTUPCI 15
3.1. Materijali 16
3.2. Postupci 17
3.3. Statistička obrada podataka 28
4. REZULTATI 29
4.1. Korozijski procesi i mehanizmi 30
4.2. Analiza površine 44
4.3. Trenje 58
4.4. Mikrotvrdoća 61
5. RASPRAVA 64
5.1. Korozijski procesi 65
5.2. Promjene mehaničkih svojstava 68
6. ZAKLJUČAK 71
7. LITERATURA 73
8. ŽIVOTOPIS 84

POPIS KRATICA

NiTi – nikal-titanijeva slitina

RhNiTi – nikal-titanijeva slitina rodinirane površine

NNiTi – nikal-titanijeva slitina nitrirane površine

SS – nehrđajući čelik (engl. s*tainless steel*)

MRS agar – Man-Rogosa-Sharpev agar

SEM – pretražni elektronski mikroskop (engl. *scanning electron microscope*)

AFM – mikroskop atomskih sila (engl. *atomic force microscope*)

R_a – srednja hrapavost površine (engl. *average roughness*)

R_{ms} – drugi korijen srednjeg kvadrata hrapavosti (engl. *root mean square roughness*)

M_h – maksimalna visina (engl. *maximum height*)

I_{corr} – korozijska struja (engl. *corrosion current density*)

E_{corr} – korozijski potencijal (engl. *corrosion potential*)

E_{bd} – potencijal pucanja pasivnog oksidnog filma (engl. *brakedown potential*)

E_{rp} – potencijal repasivacije (engl. *repasivation potential*)

R_{el} – otpor elektrolita

R_1 – otpor prevlake ili biofilma probiotika na površini metala

Q_1 – konstantno fazni element koji opisuje kapacitivna svojstva prevlake ili biofilma

n_1 – koeficijent odstupanja od idealnog kapacitivnog ponašanja za konstantno fazni element koji opisuje kapacitet porozne prevlake

R_2 – otpor oksida na površini

Q_2 – konstantno fazni element koji opisuje kapacitivna svojstva površinskih oksida

n_2 – koeficijent odstupanja sustava od idealnog ponašanja

ANOVA – analiza varijance (engl. *analysis of variance*)

1. UVOD

1.1. Ortodontska terapija fiksnim napravama

Ortodoncija je klinička specijalistička grana dentalne medicine koja se bavi proučavanjem rasta dentofacijalnih struktura, dijagnosticiranjem anomalija položaja zuba i čeljusti te terapijom malokluzija. Ortodontskom se terapijom nastoji postići funkcionalno i estetski optimalan položaj zuba u odnosu na susjedne zube i alveolarnu bazu gornje i donje čeljusti, kao i optimalan odnos između donje i gornje čeljusti u okluziji. Terapija doprinosi poboljšanju estetike lica i osmijeha, žvakanja te fonacije čime, osim na oralno zdravlje, utječe i na poboljšanje kvalitete života pacijenata (1).

Terapija malokluzija može se provoditi mobilnim i fiksnim ortodontskim napravama. Mobilne naprave pacijent sam umeće i vadi iz usta čime sam dozira djelovanje sile, trajanje terapije i kvalitetu ishoda. Fiksne pak naprave postavljene su na zube cijelo vrijeme trajanja ortodontske terapije, pacijent ih ne može sam uklanjati i umetati, zbog čega je ishod terapije manje ovisan o njegovoj suradnji. Pojedine aktivne elemente, poput gumica, i kod fiksnih naprava pacijent mora sam umetati i uklanjati.

Fiksne se ortodontske naprave sastoje od elemenata koji su pričvršćeni za zube kompozitnim materijalima ili cementima. Fiksna ortodontska terapija odnosi se na napravu načinjenu od bravica koje se kompozitnim materijalima fiksiraju na zube, te žičanih lukova koji se postavljaju u bravice i u njima vežu žičanim, odnosno gumenim ligaturama (konvencionalne bravice) ili kvačicom integriranom u samu bravicu (samoligirajuće bravice). Bravice mogu biti izrađene od različitih materijala i mogu biti različita dizajna. Najčešće se izrađuju od čelika, titanija, keramike i plastike (2). Žičani su lukovi aktivni elementi, odnosno izvor sile za pomak zuba, a izrađeni su od slitina željeza, nikla, titanija i molibdena.

Nikal-titanijeva slitina (NiTi) ima podjednake udjele nikla i titanija, izrazito je elastična te ima sposobnost pamćenja prvobitnog oblika (engl. *shape memory effect*) (3). Uporabom NiTi žica proizvode se lagane dugotrajne kontinuirane sile koje su pogodne za pomak zuba u početnoj, nivelacijskoj fazi terapije. Time se izbjegavaju neželjene posljedice djelovanja ortodontskih sila kao što su pulpitis, resorpcija korijena zuba i okolne alveolarne kosti (4). U nivelacijskoj fazi terapije, koja traje šest mjeseci do godinu dana, zubi se dovode u idealan položaj u zubnom luku, korigiraju se rotacije i distopije zuba te križni zagriz i Speeova krivulja (1).

NiTi žice u posljednje se vrijeme modificiraju iz estetskih i funkcijskih razloga. Rodiniranjem se postižu bolja estetska svojstva žica kojima se površina presvlači slojem rodija i zlata u debljini od 0,5 μm. Nitriranje je postupak implantacije dušika u površinski sloj NiTi žica kako

bi se poboljšala njihova kemijska i mehanička svojstva. Tim se postupkom povećava tvrdoća i otpornost na korozivno djelovanje okoline (5). Postupci rodiniranja i nitriranja ne utječu na radna svojstva žica dok žice nisu izložene nikakvom mediju (5). No, obloga bi mogla mijenjati utjecaj oralnog medija na svojstva žičanih lukova (6).

Čelična je slitina kruta i njezine se žice pri savijanju vrlo brzo trajno deformiraju. Upotrebljava se u radnoj fazi ortodontske terapije u kojoj se korigiraju međučeljusni odnosi, zatvaraju dijasteme i ekstrakcijski prostori (1, 3). Upravo njezina krutost omogućava pomicanje po žici koja će se teško deformirati dok se po njoj pomiču zubi duž alveolarnoga grebena.

Titanij-molibdenova slitina ima dobar odnos krutosti i elastičnosti za završnu fazu ortodontske terapije u kojoj se detaljizira okluzija (1, 3). Nju je moguće lakše saviti nego čeličnu žicu, a doza elastičnosti omogućava produciranje nižih sila od čelične, a viših od NiTi.

1.2. Nuspojave ortodontske terapije

Ortodontska terapija fiksnim napravama dugotrajan je proces koji traje prosječno dvije godine. Održavanje oralne higijene kod pacijenata znatno je otežano zbog samog dizajna ortodontske naprave. Mjesta oko bravica i ispod žičanih lukova u potpunosti su nedostupna fiziološkom čišćenju zuba pa su uz neodgovarajuće održavanje oralne higijene idealna mjesta za nakupljanje plaka. Duljina trajanja ortodontske terapije, kao i otežano održavanje oralne higijene, dovode do akumulacija dentobakterijskog plaka, odnosno razvoja biofilma, što dovodi do stvaranja idealnih uvjeta za razvoj i djelovanje kariogenih bakterija kao što su *Streptococcus* i *Lactobacillus* (7). Metabolički je produkt tih bakterija mliječna kiselina zbog koje pH u plaku starom 24 sata može pasti i na 4,8. (8). Takvi uvjeti dovode do najčešćih nuspojava ortodontske terapije, a to su bijele mrljaste lezije cakline, karijes i gingivitis (9). Snižena pH-vrijednost dovodi do otpuštanja iona kalcija i fosfata iz caklinskih prizmi, odnosno demineralizacije, što se klinički očituje kao pojava bijelih mrlja na površini zubne cakline. Kod oko 50 % pacijenata nakon ortodontske terapije uočena je pojava bijelih mrlja, i to najčešće na gornjim središnjim sjekutićima (10). Taj je proces reverzibilan do određenih granica. Ako se pH-vrijednost u okolini neutralizira, izgubljeni ioni će se ponovno iz sline ugraditi u kristalnu rešetku caklinskih prizmi. Ako pH-vrijednost ostane duže vrijeme niska, uslijed neodgovarajućeg održavanja oralne higijene i nakupljanja i sazrijevanja naslaga plaka dolazi do opsežnijih gubitaka kalcijevih i fosfatnih iona i taj proces progredira u dublje slojeve cakline i dentina. Dolazi do trajnih oštećenja zuba, urušavanja caklinskih prizmi i kavitacije, odnosno do razvoja karijesne lezije. Te su promjene cakline ireverzibilne i zahtijevaju konzervativnu terapiju.

Gingivitis je također česta nuspojava ortodontske terapije (11). Krvarenja, hiperplazija interdentalnih papila, kao i stvaranje subgingivnih džepova, simptomi su uznapredovanog gingivitisa koji je posljedica nemogućnosti održavanja odgovarajuće oralne higijene i nakupljanja plaka. Gotovo svi pacijenti tijekom ortodontske terapije fiksnim napravama razviju blaži ili teži oblik gingivitisa koji, međutim, rijetko napreduje u parodontitis (12, 13). Kako bi se spriječile pojave uzrokovane nakupljanjem plaka i povećanjem broja kariogenih bakterija, ortodontskim se pacijentima sugerira učestalije održavanje oralne higijene i uporaba dodatnih mehaničkih, kemijskih i bioloških sredstava poput interdentnalnih četkica, tuševa, fluorida, amorfnog kalcijeva fosfata s kazein-fosfopeptidom, antiseptika i probiotika.

Korozijska oštećenja ortodontskih naprava dovode do otpuštanja iona nikla u organizam pacijenta što može uzrokovati preosjetljivost tipa IV, odnosno stanično posredovanu odgođenu

imunološku reakciju koja se najčešće očituje kao eritem i otok oralne sluznice (3). Preosjetljivost na nikal javlja se relativno često u populaciji (5 % – 29 %), i to češće kod žena (15, 16). Istraživanja provedena u Hrvatskoj ukazuju na prevalenciju od 28 % te da su osobe alergične na nikal često alergične i na kobalt (17).

Resorpcija korijena pojava je koja se događa pri ortodontskom pomaku zuba. Kako pri tome dolazi do resorpcije i apozicije kosti, na sličan način dolazi i do obnavljanja cementa na površini korijena zuba. Preoblikovanje korijena zuba proces je koji se stalno ponavlja tijekom ortodontske terapije. Primjena jakih kontinuiranih sila može dovesti do trajnih oštećenja površine korijena, i to prije svega na vršku korijena (3).

Resorpcija alveolarne kosti rjeđa je nuspojava ortodontske terapije i rijetko prelazi više od 0,5 mm, jer pri pomicanju zub sa sobom nosi i alveolarnu kost.

Pulpitis je relativno rijetka nuspojava ortodontske terapije. Upalne promjene prilikom pomaka zuba zahvaćaju parodontni ligament (PDL), ali vrlo slabo ili gotovo nikako ne uzrokuju upalne promjene pulpe (18). Ipak, moguć je gubitak vitalnosti zuba primjenom nekontroliranih jakih dugotrajnih kontinuiranih ortodontskih sila.

1.3. Probiotici

Probiotici su živi mikroorganizmi koji povoljno djeluju na ljudsko zdravlje (19). Najčešće probiotičke bakterije pripadaju skupinama *Lactobacillus, Bifidobacterium, Propionibacterium* i *Streptococcus.* Dokazano je da te bakterijske vrste imaju povoljan utjecaj kod određenih gastrointestinalnih bolesti i stanja, kardiovaskularnih bolesti te infekcija urogenitalnog i orofaringealnog trakta (20).

Nekoliko je mogućih mehanizama djelovanja probiotika: kompeticijska sposobnost zauzimanja mjesta patogenim mikroorganizmima na površinama na koje adheriraju, modificiranje imunološkog odgovora domaćina redukcijom upalnog odgovora ili antagonističko djelovanje s patogenim bakterijama produkcijom antimikrobnih tvari i mijenjanjem okoline u kojoj se bakterije nalaze (21, 22).

Pored mehaničke kontrole dentobakterijskog plaka tradicionalno se primjenjuju i kemijski agensi s antimikrobnim učinkom. Tim bi se načinom trebalo smanjiti stvaranje oralnog biofilma bez utjecaja na biološku ravnotežu usne šupljine koju naseljava oko 1.000 različitih vrsta bakterija, $10^8 – 10^9$ bakterija po 1 mL sline ili 1 mg dentalnog plaka (23). Biološke metode za kontrolu oralnog biofilma, poput probiotika, temelje se na obnavljanju mikrobiološke ekološke ravnoteže, a ne na uklanjanju mikroorganizama koji su povezani s bolesti (24).

Dokazano je da određene probiotičke vrste mogu povoljno utjecati i na oralno zdravlje ljudi služeći u prevenciji nastanka bijelih mrljastih lezija, odnosno karijesa te liječenju gingivitisa, parodontitisa i halitoze, koji se mogu javiti i tijekom ortodontske terapije (25 – 30).

Jedna od probiotičkih bakterija koja se upotrebljava s ciljem očuvanja oralnog zdravlja jest *Lactobacillus reuteri* (*L. reuteri*). To je bakterija koja se nalazi u gastrointestinalnom sustavu čovjeka, ali ne nužno kod svih ljudi. Postoji komercijalno dostupan oralni pripravak pod nazivom *BioGaia Prodentis* (*BioGaia AB*, Stockholm, Švedska). Proizvodi se u obliku pastila koje sadrže dva soja probiotičkih bakterija *L. reuteri*: DSM 17938 i ATCC PTA 5289. Pastile sadrže minimalno 10^8 živih bakterija obaju sojeva. Proizvođač preporučuje da se one otope u ustima navečer prije spavanja, nakon pranja zuba, kako bi se bakterijama omogućilo koloniziranje oralne šupljine i adheriranje na različite površine u ustima. Oralnom primjenom probiotika dolazi do brze kolonizacije cijeloga gastrointestinalnog sustava. Povoljan učinak bakterija *L. reuteri* pripisuje se njihovoj sposobnosti produciranja antimikrobnih tvari kao što su reuterin, reutericin i reutericiklin (31 – 33).

Upravo je soj *L. reuteri* ATCC PTA 5289, koji se nalazi u komercijalnom pripravku *BioGaia*

Prodentis, jedan od onih koji stvara gušće biofilmove (34). Imunomodulacijski kapacitet sojeva *L. reuteri* ogleda se u mogućnosti moduliranja produkcije citokina, suzbijanja produkcije čimbenika tumorske nekroze te produkcije reuterina koji inhibira širok spektar mikroorganizama uključujući Gram-pozitivne i Gram-negativne bakterije, gljive i protozoe (34).

Dva soja *L. reuteri*, sadržana u pripravku *BioGaia*, imaju protugljivično djelovanje na većinu najčešćih vrsta oralnih *Candida*, ali djeluju na različite načine (35). Tako soj ATCC PTA 5289 pokazuje veći koagregacijski kapacitet, odnosno sposobnost da se natječe s gljivicama za vezna mjesta u oralnom biofilmu. Soj DSM 17938 ima pak jaču sposobnost inhibiranja rasta gljivica što je vjerojatno posljedica pojačane produkcije reuterina ili radikala kisika, odnosno H_2O_2 (35).

Neka istraživanja pokazuju da *L. reuteri* svojim antimikrobnim djelovanjem kod odraslih osoba može smanjivati količinu acidogene bakterije *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) koja pridonosi nastanku karijesa, a ako se uzimaju tijekom prve godine života djeteta, smanjuje prevalenciju karijesa i gingivitisa u dobi od 9 godina (36, 37). Druga pak dokazuju da pripravci koji sadrže *L. reuteri* kod odraslih ne utječu značajno na acidogenost plaka, kao ni na količinu *S. mutansa* (38 – 40). Recentna metaanaliza ukazuje na to da nema dovoljno dokaza da probiotici mogu prevenirati nastanak karijesa, ali donekle mogu reducirati broj *S. mutansa* (41).

Postoje naznake da sojevi *L. reuteri* smanjuju halitozu i poboljšavaju cijeljenje rana u usnoj šupljini, ali ne mijenjaju oralni imunološki odgovor kod zdravih ljudi (42 – 45).

Pripravak *BioGaia* uspijeva reducirati broj pojedinih parodontopatogena u subgingivnoj mikrobioti, ali bez kliničkog utjecaja na gingivitis. No, i neki drugi probiotički sojevi ne uspijevaju smanjiti intenzitet gingivitisa, ali uvelike utječu na njegov opseg (46, 47). Probiotici u kombinaciji s konvencionalnim parodontološkom terapijom mogu korigirati mikrobnu neravnotežu i značajno poboljšati kliničko stanje, međutim izgleda da se taj učinak ne zadržava nakon prestanka uporabe probiotika (22). Recentna metaanaliza ukazuje da dodatak probiotika u terapiji kroničnog parodontitisa može dodatno smanjiti dubinu parodontnih džepova i povećati razinu parodontnog pričvrstka (48).

Kod zdravih ljudi konzumacija komercijalnih probiotika u kratkom roku povećava ukupnu raznolikost mikrobioma usne šupljine, međutim probiotici ipak ne mogu bitno modificirati strukturu mikrobioma (49). Stoga je djelotvornost probiotika na stanja u usnoj šupljini još uvijek dvojbena. Prema dosadašnjim istraživanjima, kratkotrajna je te učinkovitija kod gingivitisa, parodontitisa i halitoze nego kod prevencije karijesa (50, 51).

1.4. Korozija

Korozija je nenamjerno trošenje metala u interakciji s okolinom što dovodi do stvaranja oksida, hidroksida i ostalih spojeva. U okolini bogatoj kisikom i vodom stanje je oksida najpovoljnije za metal s energetskog stajališta jer u tom stanju metali imaju najmanje slobodne energije (52). U ljudskom se organizmu korozija metala odvija prema elektrokemijskim načelima. Dolazi do stvaranja elektrokemijskog članka jer je metal uronjen u elektrolit, odnosno u tjelesne tekućine, a one sadrže različite ione koji omogućavaju zatvaranje električnog kruga (53, 54).
Na anodi (pozitivnoj elektrodi) metal se oksidira te se odvija sljedeća reakcija:

$$M \leftrightarrow M^{n+} + ne^-$$

Na katodi (negativnoj elektrodi) odvija se reakcija redukcije, u korozijskim je sustavima to najčešće redukcija otopljenog kisika:

$$4H^+ + O_2 + 4e^- \leftrightarrow 2H_2O$$

Niz Nernstovih potencijala prikazuje težnju metala da korodira. Metali s negativnijim potencijalom pokazuju veću sklonost koroziji (55).

Tablica 1. Elektrokemijski niz standardnih potencijala

Reakcija	**ΔE^0 (V)**
$Li \leftrightarrow Li^+ + e^-$	-3,045
$Na \leftrightarrow Na^+ + e^-$	-2,714
$Al \leftrightarrow Al^{3+} + 3e^-$	-1,66
$Ti \leftrightarrow Ti^{3+} + 3e^-$	-1,63
$Fe \leftrightarrow Fe^{2+} + 2e^-$	-0,44
$H_2 \leftrightarrow 2H^+ + 2e^-$	0,000
$Ag \leftrightarrow Ag^+ + e^-$	+0,799
$Au \leftrightarrow Au^+ + e^-$	+1,68

Položaj metala u elektrokemijskom nizu govori o njegovoj plemenitosti, odnosno sposobnosti odolijevanja korozijskim procesima, Tablica 1. Bez obzira na elektrokemijski potencijal neki

metali mogu pokazati veću otpornost prema koroziji zbog sposobnosti pasivacije, odnosno presvlačenja površine kompaktnim slojem korozijskih produkata te zaustavljanja korozijskih procesa.

Razlikuje se nekoliko vrsta korozije: opća, jamičasta, galvanska, tarna i mikrobiološki uvjetovana (52, 56).

Opća korozija najčešća je vrsta koja pogađa sve metale, a odvija se jednoliko po cijeloj površini metala (57). Na površini metala odvijaju se reakcije oksidacije i redukcije, a ovisno o vrsti metala i okolini u kojoj se nalazi, korozija će biti različitog intenziteta.

Kod jamičaste korozije intenzitet je pojačan na lokalnoj razini. Nehrđajući čelik (engl. *stainless steel*, SS) osjetljiv je na tu vrstu korozije (58). Lokalizirana korozija pojavit će se ako postoji nehomogenost u sastavu materijala ili okoline. Jamičasta i korozija u procjepu mogu se odvijati na površinama ortodontskih žica i bravica zbog postojanja neravnina ili naslaga na površini žice (57). Na mikroskopskoj je razini moguće primijetiti mnogo udubina i procjepa. Smatra se da te pojave pogoduju koroziji zato što se u takvim procjepima nakupljaju mikroorganizmi iz plaka. Ti mikroorganizmi uzrokuju lokalni pad pH-vrijednosti i trošenje kisika, što utječe na proces pasivacije (57).

Galvanska korozija odvija se kad su dva metala povezana i smještena u vodljivu otopinu ili elektrolit (59). Elektronegativniji elemenat postaje anoda, a elektropozitivniji ili plemenitiji metal katoda. Elektronegativniji će metal prvi korodirati. Galvanska se korozija odvija zbog razlike u elektrokemijskom potencijalu između dviju vrsta metala ili jednog metala na različitim mjestima ako postoji nehomogenost sastava metala. Galvanski članak može nastati i zbog različite pH-vrijednosti, razlike u hrapavosti površine zbog različite završne obrade ili oštećenja materijala uslijed mehaničkog naprezanja (57). Korozija se u gavanskom članku odvija puno brže nego u samostalnom metalu. Stoga je poželjno izbjegavati materijale načinjene od različitih metala.

Tarna korozija javlja se na područjima kontakta metala koji su izloženi konstantnom opterećenju. U ortodonciji se takva vrsta korozije događa na kontaktu slota bravice i žice (60). Pri opterećenju dva metala prolaze kroz proces hladnog zavarivanja. Kontinuirana sila na tom kontaktu uzrokuje trenje zavarenog spoja skidajući zaštitni površinski sloj oksida i čineći metal podložnim koroziji. Metali imaju povećanu tendenciju pucanja pod ponavljanim cikličkim naprezanjima. Ta je pojava ubrzana ako je slitina izložena korozivnom mediju. Takva se vrsta korozije javlja ako se ortodontske žice ostave u ustima pod naprezanjem na dulje vrijeme (61). Usna je šupljina složena okolina u kojoj su meka i tvrda tkiva izložena utjecaju sline, hrane,

različitih mikroba te naprezanjima prilikom žvakanja i gutanja. Sastav i pH sline razlikuje se od osobe do osobe, a sadrži mješavinu anorganskih soli, organske kiseline, enzime, bakterije i želučane izlučevine (62). Očito je da se radi o agresivnoj okolini te se stoga od stomatoloških materijala očekuje da su postojani na mehanička naprezanja i otporni na degradaciju uzrokovanu djelovanjem sila i korozivne okoline.

Mikrobiološki uvjetovana korozija predmet je ovoga istraživanja. Poznato je da koroziju metalnih materijala mogu uzrokovati mikroorganizmi kao što su različiti sojevi aerobnih i anaerobnih bakterija te gljivica (63 – 73). Takva je korozija uvjetovana sposobnošću bakterija da koloniziraju površinu metala i stvaraju debeli slojeviti biofilm. Kada bakterije adheriraju na površinu, luče ekstracelularni matriks sastavljen od proteina, polisaharida, nukleinskih kiselina i lipida unutar kojeg se nalaze bakterijske stanice. Poznato je da je mikrobiološki potpomognuta korozija gotovo uvijek uzrokovana sinergijom više bakterijskih vrsta (74). Sposobnost ekstracelularnog matriksa da veže metalne ione važna je za nastanak mikrobiološki uvjetovane korozije i istodobno ovisi o vrsti bakterija, kao i o vrsti metalnih iona. Metali vezani u ekstracelularnom matriksu mogu djelovati kao „prijenosnici“ elektrona te tako uzrokovati nove redoks-procese između metala i biofilma što u prisutnosti slobodnog elektronskog akceptora može dovesti do depolarizacije katode te na taj način pojačati koroziju metala (63). Mikroorganizmi stoga mogu izravno biti uključeni u korozijski proces (dobivaju energiju iz procesa redukcije ili oksidacije) ili proizvoditi metabolite koji mijenjaju uvjete u okolini (pH, sastav medija) što će utjecati na opću ili lokaliziranu koroziju (68). Ti su procesi najbolje istraženi na materijalima koji se upotrebljavaju u industriji. Tako je poznato da brojni mikroorganizmi iz prirodnih voda mogu potaknuti koroziju čelika, aluminija i bakrenih slitina. S druge strane, mikrobiološka korozija ortodontskih naprava znatno je manje istražena. Dosad je utvrđeno da mikroorganizmi kao što su sulfat-reducirajuće *Bacteroides corrodens* i bakterije koje proizvode kiseline *S. mutans* mogu izazvati mikrobiološku koroziju dentalnih materijala u usnoj šupljini (68 – 73). Ta istraživanja ukazuju na mogućnost pojave mikrobiološke korozije i kod titanijevih slitina iako se do sada smatralo da ne podliježu tom obliku korozije (71 – 73). Probiotičke bakterije pokazuju određeni korozivni potencijal, međutim njihov utjecaj na ortodontske materijale još nije dovoljno istražen (75). Mogućnost pojave korozije uzrokovane probiotičkim bakterijama tek se započela istraživati, primarno za ispitivanje postojanosti posuda u kojima će se prehrambeni artikli s dodatkom probiotika proizvoditi i plasirati na tržište. Dosadašnja istraživanja ukazuju da primjena probiotika tijekom ortodontske terapije pogoduje zdravlju oralne šupljine (76, 77), ali se također navodi i mogućnost razvoja korozije

metalnih slitina (78, 79).

Korozija dentalnih biomaterijala, poglavito slitina, u usnoj šupljini načelno ne dovodi do teških posljedica, ali može uzrokovati pigmentacije, obojenost zuba i alergijske reakcije kao nuspojavu otpuštanja iona metala u organizam. Ortodontske naprave sadrže i otpuštaju nikal koji je inače alergen, a dokazano je i njegovo citotoksično te genotoksično djelovanje (80).

Otpornost ortodontskih materijala na koroziju nije važna samo zbog bioloških posljedica nego i zbog utjecaja na djelotvornost same ortodontske naprave. Zbog korozije može doći do zamora materijala i slabljenja djelovanja naprave te u konačnici i do trajnih mehaničkih oštećenja (81). Aktivnost probiotika može dodatno pojačati korozijske procese te promijeniti mehanička, odnosno radna svojstva naprava (82, 83).

2. SVRHA ISTRAŽIVANJA

Svrha ovog rada bila je ispitati kako biološka metoda za kontrolu oralnog biofilma i halitoze tijekom ortodontske terapije utječe na korozijsko ponašanje dviju najčešćih slitina koje se upotrebljavaju u ortodontskim napravama – nehrđajućeg čelika i nikal-titanija. Ispitan je utjecaj komercijalno dostupnog oralnog pripravka *BioGaia Prodentis*, koji sadrži probiotičke bakterije *L. reuteri,* te u kojoj je mjeri korozija uvjetovana samim bakterijama. Mogućnost pojave mikrobiološki poticane korozije ispitana je kroz utjecaj probiotičkih bakterija na korozijske mehanizme, morfologiju površine i mehanička svojstva slitina.

Ovim istraživanjem nastojalo se pridonijeti kliničkom radu ortodonata ispitivanjem interakcije probiotičkih pripravaka, koji se upotrebljavaju u stomatologiji, i ortodontskih materijala te njezina utjecaja na duljinu terapije i moguće nuspojave. Istraživanje može također poslužiti proizvođačima u budućem razvoju ortodontskih materijala jer definira ovisnost pojave biofilma probiotičkih bakterija i različitih tipova korozijskih oštećenja o osnovnom materijalu i površinskoj obradi ortodontskih žičanih lukova.

Hipoteze su bile da, osim korozivnog djelovanja sline na ortodontske žičane lukove, uporaba probiotičkih pripravaka tijekom ortodontske terapije može dodatno pojačati korozivno djelovanje u obliku opće i lokalizirane korozije. Očekivalo se da će se utjecaj očitovati u većoj površinskoj hrapavosti žica koje su bile izložene djelovanju probiotičkog pripravka te da će vjerojatno veći utjecaj biti na čelik nego na NiTi. Predviđalo se da će vrsta obloge žice mijenjati sklonost koroziji te da će nitrirane površine biti manje, a rodinirane više sklone koroziji. Očekivanja su bila i da su promjene uglavnom posljedica djelovanja samih probiotičkih bakterija, a tek manjim dijelom tvari dodanih u probiotički pripravak. Pretpostavka je bila da će se utjecaj očitovati u većoj površinskoj hrapavosti i trenju, ali ne i u promjeni tvrdoće materijala.

3. MATERIJALI I POSTUPCI

3.1. Materijali

Testirane su četiri vrste komercijalno dostupnih ortodontskih žičanih lukova dimenzija 0,508 × 0,508 mm (0,020 × 0,020 inča) – tri nikal-titanijeve slitine (sastava Ni = 50,4 %; Ti = 49,6 %), i to neobložene (*BioForce Sentalloy*®), nitrirane (*IonGuard*®) i rodinirane površine (*High Aesthetic*®), te nehrđajućeg čelika (*Stainless Steel Accuform*®) (*Dentsply GAC*, Bohemia, SAD), Slika 1.



Slika 1. Slitine upotrebljavane u istraživanju

Upotrebljavana je umjetna slina sastava: 1,5 g/l KCl, 1,5 g/l $NaHCO_3$, 0,5 g/l $NaH_2PO_4xH_2O$, 0,5 g/l KSCN, 0,9 g/l mliječne kiseline, pH 4,8 (84), umjetna slina s dodatkom kultura probiotičkih bakterija *Lactobacilus reuteri Prodentis* sojeva DSM 17938 i ATCC PTA 5289 te probiotičkim pripravkom *BioGaia* (*BioGaia AB*, Stockholm, Švedska) koji sadrži navedena dva soja bakterija u količini od minimalno 10^8 živih bakterija obaju sojeva u svakoj pastili, Slika 2. Drugi su sastojci pripravka *BioGaia*: punilo (izomalt), potpuno hidrogenizirano palmino ulje, aroma paprene metvice, aroma mentola, ulje paprene metvice i sladilo (sukraloza). U plaku starom jedan i dva dana izmjeren je pH od 4,8 i služio je kao simulacija pacijenta s lošom oralnom higijenom (85).



Slika 2. Probiotički pripravak *BioGaia* i probiotička bakterija *Lactobacillus reuteri*

3.2. Postupci

Korozija u slini i u probiotičkom pripravku provedena je u laboratorijskim uvjetima u Laboratoriju za dentalne biomaterijale Sveučilišta u Trstu. Uzorci svakog tipa žice dužine 2,5 cm bili su uronjeni u 1 mL pokusne otopine (čiste umjetne sline ili umjetne sline s otopljenim probiotičkim pripravkom u omjeru 1 pastila na 30 mL) u plastičnim Eppendorfovim epruvetama od 1,5 mL (*Sigma-Aldrich*, St. Louis, SAD). Imerzija je trajala ukupno 28 dana, a otopine su mijenjane jedanput tjedno. Prvih pet dana uzorci su bili izloženi termocikliranju kroz 2.500 ciklusa od 5 °C do 50 °C (*Thermo Haake Willytech*, SD Mechatronik Feldkirchen-Westerham, Njemačka), Slika 3, pri čemu su epruvete s uzorcima i pokusnim otopinama bile naizmjence uranjane u termalne kupke po 30 sekundi s dvije sekunde na sobnoj temperaturi između uranjanja. Termocikliranjem se nastojalo simulirati temperaturne varijacije u usnoj šupljini tijekom konzumacije toplih i hladnih napitaka. Nakon toga su uzorci u epruvetama bili pohranjeni u inkubator na temperaturu od 37 °C i 5 % CO_2 do kraja pokusa. Neizložene žice služile su za kontrolu. Kako bi se minimalizirao utjecaj supstancija dodanih u pastilu *BioGaia* nakon njezina otapanja u umjetnoj slini, otopina je profiltrirana kroz grubi filtar, a prisutnost probiotičkih bakterija u filtratu provjeravala se tijekom pokusa nasađivanjem na de Man-Rogosa-Sharpev (MRS) agar (*Sigma-Aldrich*, St. Louis, SAD) u Petrijevim zdjelicama promjera 9 mm.



Slika 3. Uređaj za termocikliranje (*Thermo Haake Willytech*, SD Mechatronik Feldkirchen-Westerham, Njemačka)

Pokus djelovanja probiotičkih sojeva bakterija na koroziju žica proveden je u Kliničkom zavodu za kliničku i molekularnu mikrobiologiju Kliničkoga bolničkog centra Zagreb. Uzorci svakoga žičanog luka, 2,5 cm dužine, uronjeni su u 6 mL pokusne otopine (umjetna slina ili slina s dodatkom 10^5 probiotičkih bakterija procijenjenih prema McFarlandovim standardima) u uskim plastičnim epruvetama visine 6 cm s čepom, Slika 4.



Slika 4. Izlaganje žica probiotičkim bakterijama



Slika 5. Uzgoj *L. reuteri* na MRS agaru

Izlaganje je trajalo 28 dana. Nove žive bakterije dodavane su svakih 48 sati čime je osigurana njihova vijabilnost tijekom pokusa. Dokaz vijabilnosti bio je stvaranje i održavanje vidljivog biofilma na žicama koje su se svakih 48 sati prebacivale u novu epruvetu sa svježom slinom u kojoj je *L. reuteri*. Kultura *L. reuteri* također se konstantno održavala na MRS agaru u

Petrijevim zdjelicama promjera 9 mm čime se dodatno osiguravala vijabilnost željene kulture bakterija, Slika 5. Za postizanje anaerobne atmosfere upotrebljavao se GENbox anaer (*BioMérieux*, Marcy-l'Étoile, Francuska). Osim makroskopski vidljivog dokaza bakterijskog života nakon pokusa, prisutnost bakterija na površini ispitana je pretražnim elektronskim mikroskopom (SEM) s detektorom sekundarnih elektrona Tescan Vega 3 (*Tescan*, Brno, Češka) pri povećanju 2000 puta. Kako ne bi došlo do oštećenja eventualno prisutnog biološkog materijala na žicama, uzorci su prije SEM ispitivanja fiksirani u 2,5-postotnoj otopini glutaraldehida u 0,1 M fosfatnom puferu. Nakon fiksiranja uzorci su dehidrirani u etanolu.

Slina u uzorcima bez bakterija tijekom pokusa nije se mijenjala. Epruvete s uzorcima bile su pohranjene u inkubatoru gdje su čuvane na temperaturi od 37 °C do kraja pokusa. Za postizanje anaerobne atmosfere upotrjebljen je GasPak System CO_2 generator (*BD BBL*, *Becton, Dickinson and Company*, New Jersey, SAD). Neizložene žice služile su kao kontrola.

Pokusi su se obavljali na po pet usporednih uzoraka. Za izračun veličine uzorka preuzeti su podatci iz pilot-studije. Uz pretpostavku da će između dvaju pokusnih uvjeta biti razlika u tvrdoći od 40 HV jedinica (engl. *hardness Vickers*) te uz standardnu devijaciju od 20 u jednom i 20 u drugom uvjetu uz snagu od 80 % i razinu značajnosti $\alpha = 0,05$, dobije se potrebna veličina od po pet uzoraka po skupini. Ista veličina uzorka dobivena je i za ispitivanje trenja uz pretpostavku da će se trenje razlikovati za 0,2 N uz standardu devijaciju od po 0,1 u svakom pokusnom uvjetu. Kalkulacija je rađena u statističkom računalnom programu MedCalc 14.8.1 (*MedCalc Software bvba*, Belgija).

Izgled površine neizloženih žica te žica nakon izlaganja medijima utvrđen je kvalitativno pretražnim elektronskim mikroskopom (*SEM FEI Quanta-200*, *FeI Company*, Hillsboro, USA) u Laboratoriju za dentalne biomaterijale Sveučilišta u Trstu uz povećanja od 1.000 puta i 4.000 puta, Slika 6.

Morfologija površine žica ispitana je kvantitativno mikroskopom atomskih sila (AFM) na uređajima NT-MDT Solver Pro AFM (*NT-MDT*, Moskva, Rusija), Slika 7 i 8, u Laboratoriju za naonistraživanja Istraživačkog centra Elettra-Sincrottrone u Trstu te na SPM 9600 (*Schimatzu*, Kyoto, Japan) dinamičnim i faznim načinom u Laboratoriju za nanomaterijale Instituta za kemiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta Sv. Ćirila i Metoda u Skoplju, Makedonija. Kraj svake žice odrezan je u dužini od 5 mm i zalijepljen za metalni nosač uzoraka brzovezujućim ljepilom. Svi uzorci očišćeni su 95 % etanolom prije analize. Područje snimanja bilo je 30 μm x 30 μm u Skoplju i 15 μm x 15 μm u Trstu (3 NSC36 sonde bez vrha, rezonantna frekvencija 65 kHz, konstantna sila 0,6 N/m). Svaki je uzorak snimljen na nekoliko

mjesta. Dobivene su dvodimenzionalne i trodimenzionalne AFM mikrofotografije i procijenjena su tri parametra površinske hrapavosti: srednja hrapavost površine (engl. *average roughness*, R_a), drugi korijen srednjeg kvadrata hrapavosti (engl. *root mean square roughness*, R_{ms}) i maksimalna visina (engl. *maximum height*, M_h).

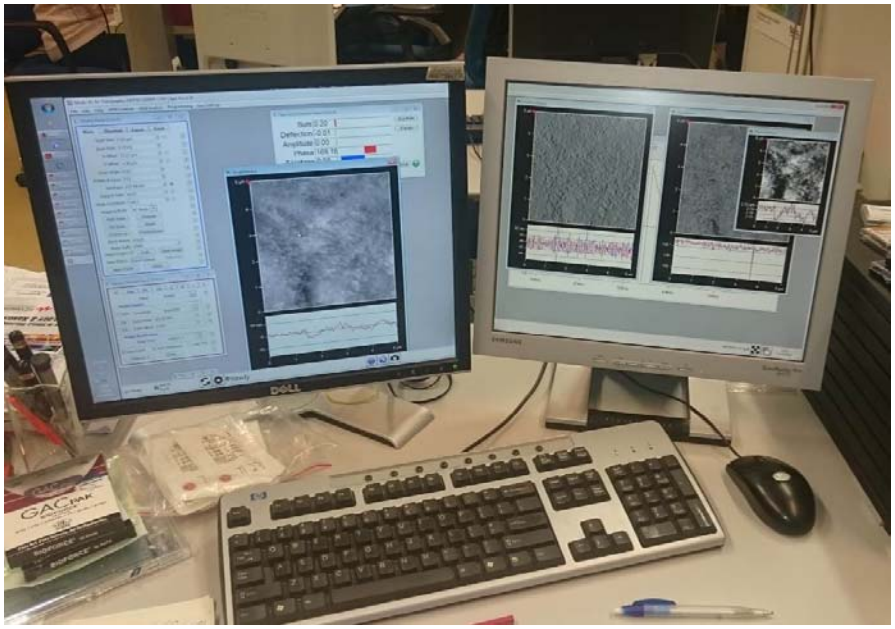
Primjenom tih metoda utvrđen je oblik i dubina nastalih korozijskih oštećenja, kao i postojanje biofilma na površini žice.



Slika 6. Pretražni elektronski mikroskop (*SEM FEI Quanta-200*, *FeI Company*, Hillsboro, SAD)



Slika 7. Mikroskop atomskih sila (AFM) NT-MDT Solver Pro AFM (*NT-MDT*, Moskva, Rusija)



Slika 8. Snimke dobivene mikroskopom atomskih sila

Mjerenje mikrotvrdoće neizloženih žica i žica izloženih probiotičkom pripravku provedeno je na uređaju Leica VMHT MOT (*Walter Uhl*, Asslar, Njemačka) prema Vickersovoj metodi (engl. *microindentation hardness testing*) utiskivanjem dijamantne četverostrane piramide s vršnim kutom od 136º u uzorke materijala masom od 100 g (1N) u vremenu od 15 sekundi, Slika 9. Tvrdoća je mjera otpornosti što ga materijal pruža prodiranju piramide. Tvrdoća po

Vickersu (engl. *hardness Vickers*, HV) računala se prema jednadžbi HV = 0,0018544 x L/d^2 u kojoj je L tlačna sila utiskivanja, a d prosjek izmjerenih dužina dviju dijagonala utisnute piramide u milimetrima. Očitanje dužine dijagonala provedeno je mikroskopom na povećanju 50 puta. Na svakoj su žici provedena dva mjerenja tvrdoće i svako je mjerenje dvaput očitano. Prosjeci su uzeti kao mjera tvrdoće po žici.



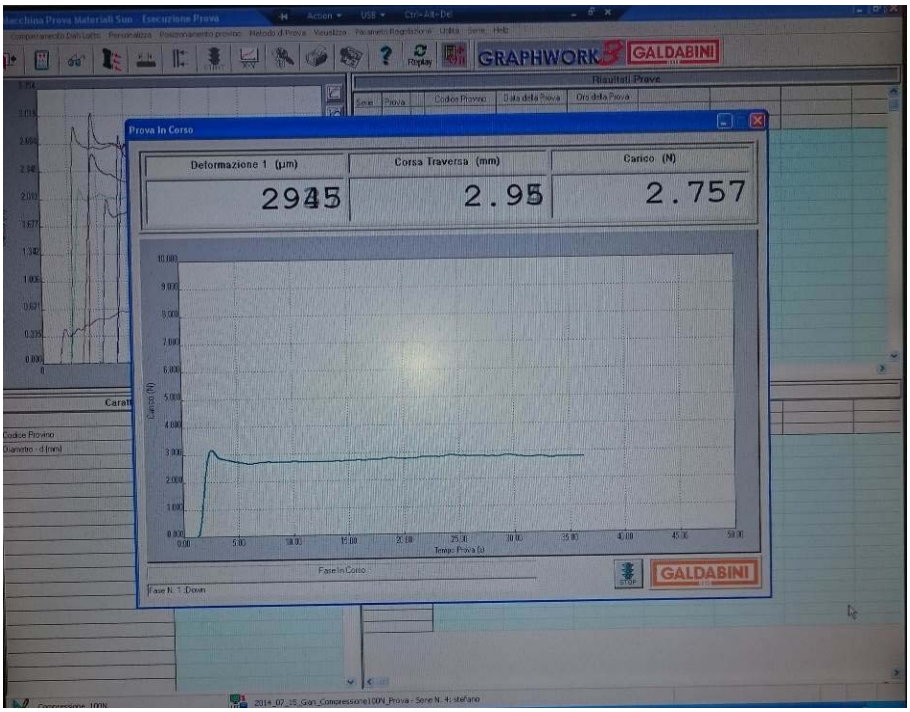
Slika 9. Uređaj za mjerenje mikrotvrdoće Leica VMHT MOT
(*Walter Uhl*, Asslar, Njemačka)

Za mjerenje trenja neizloženih i izloženih žica upotrebljavan je univerzalni stroj za ispitivanje materijala Sun 500 (*Galdabini*, Cardano al Campo, Italija), Slika 10 i 11. Kao simulacija fiksne ortodontske naprave, tri čelične maksilarne bravice (lateralni inciziv, očnjak i prvi premolar) Victory Series MBT 0.022" (*3M Unitec*, Monrovia, SAD) zalijepljene su ortodontskim svjetlosnopolimerizirajućim adhezivom Transbond XT (*3M Unitec*, Monrovia, SAD) na prethodno pjeskarenu čvrstu polimernu ploču na udaljenosti od po 5 mm. Kako bi se postigla

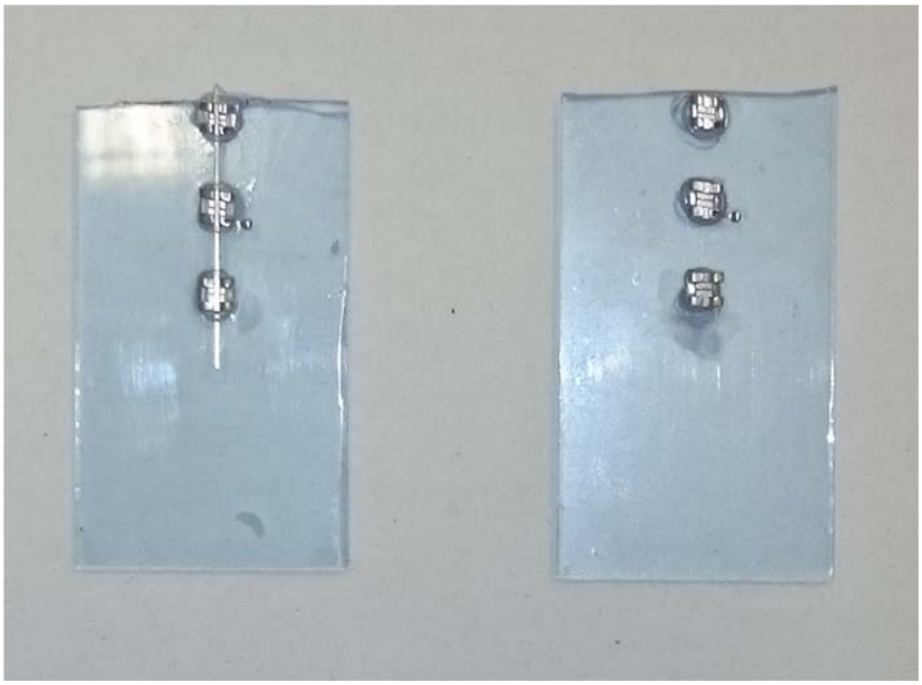
paralelnost, bravice su pozicionirane s umetnutom ravnom čeličnom žicom dimenzija 0.021 x 0.025" Unitec Stainless Steel (*3M Unitec*, Monrovia, SAD) radi sprječavanja zapinjanja tijekom klizanja, Slika 12. Testni žičani luk učvršćen je u utore bravice gumenim ligaturama Alastik (*3M Unitec*, Monrovia, SAD) tako da njihov pritisak bude ujednačen. Bazna ploča s bravicama učvršćena je s pomoću škripca u univerzalni stroj za ispitivanje materijala. Sila trenja žice u bravici mjerena je u suhom stanju pri brzini od 5 mm/min tijekom 60 sekundi uz opterećenje ćelijom od 100 N.



Slika 10. Mjerenje trenja univerzalnim strojem za ispitivanje materijala Sun 500 (*Galdabini*, Cardano al Campo, Italija)

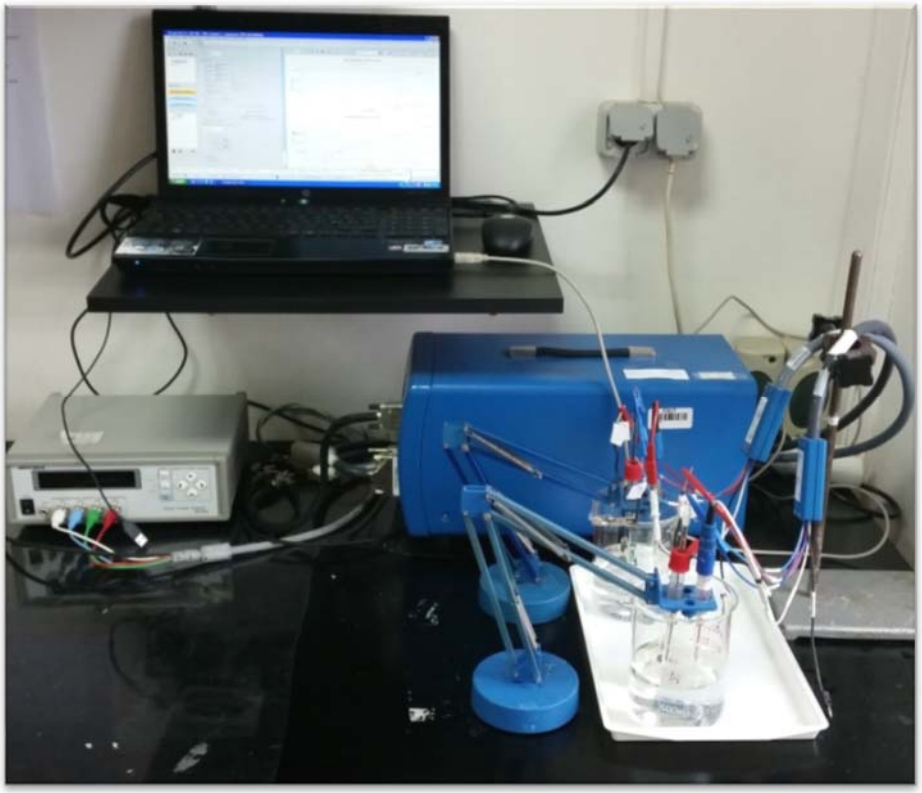


Slika 11. Mjerenje trenja univerzalnim strojem za ispitivanje materijala Sun 500 (*Galdabini*, Cardano al Campo, Italija)



Slika 12. Simulacija fiksne ortodontske naprave za mjerenje trenja

Budući da se korozija metala u usnoj šupljini odvija prema elektrokemijskom mehanizmu, korozija je žica ispitana elektrokemijskom metodom cikličke polarizacije (86) na potenciostatu EIS Biologic SP-300 (*Bio-Logic Science Instruments*, Seyssinet-Pariset, Francuska), Slika 13.



Slika 13. Potenciostat za elektrokemijska mjerenja korozije EIS Biologic SP-300

Zasićena kalomel-elektroda upotrijebljena je kao referentna elektroda, platinska žica kao protuelektroda, a uzorci žičanih lukova kao radna elektroda. Elektrokemijska testiranja provodila su se u tri dijela. Prvo je kroz dva sata promatrana stabilizacija korozijskog potencijala, a potom je pri stabiliziranom potencijalu otvorenoga kruga provedena elektrokemijska impedancijska spektroskopija uz amplitudu pobude 10 mV. Impedancijska mjerenja provodila su se u frekventnom rasponu od 100 kHz do 10 mHz. Završno, skeniranje cikličkom polarizacijom, počinje na -300 mV od potencijala otvorenog kruga pa sve do potencijala 700 mV, odnosno u području gustoće struje do 100 μAcm^{-2}. Polarizacija je potom nastavljena u katodnom smjeru do potencijala otvorenoga kruga ili potencijala repasivacije. Brzina promjene potencijala iznosila je 1 mVs^{-1}.

Elektrokemijska su mjerenja provedena u 300 mL umjetne sline na temperaturi od 37±2 °C. Ispitivane su žice bile izrezane i izolirane lakom tako da im je izložena površina bila 0,61 cm^2. Testiranja su provedena na tri primjerka. Testirane su žice na četiri načina:

1. s probiotičkim pripravkom *BioGaia* – u 300 mL umjetne sline otopljeno je 6 pastila probiotika
2. prethodno nekorištene žice u 300 mL umjetne sline bez probiotika – time se usporedilo ima li probiotički pripravak dodatni utjecaj povrh sline
3. žice prethodno izložene djelovanju samo probiotičkih bakterija *L. reuteri* kroz razdoblje od 28 dana čime se provjerilo je li utjecaj probiotičkog pripravka *BioGaia* uzorkovan aktivnom tvari – probiotičkom bakterijom ili pomoćnim tvarima iz pastile – u 300 mL umjetne sline
4. žice prethodno izložene djelovanju umjetne sline kroz 28 dana bez probiotičkih bakterija i probiotičkih pripravaka – u 300 mL umjetne sline.

Iz polarizacijskih krivulja ovisnosti potencijala o logaritamskoj vrijednosti gustoće struje određena je gustoća korozijske struje (engl. *corrosion current density*, I_{corr}) koja je ekvivalent brzini opće korozije. Tendencija pojave lokalnih korozijskih oštećenja na materijalu određena je na temelju izgleda polarizacijske krivulje, odnosno odnosa između korozijskog potencijala (engl. *corrosion potential*, E_{corr}) – potencijala kod kojeg su zabilježene najmanje gustoće struje, potencijala pucanja pasivnog oksidnog filma (engl. *breakdown potential*, E_{bd}) – potencijala kod kojeg dolazi do naglog povećanja gustoće struje, te potencijala repasivacije (engl. *repasivation potential*, E_{rp}) – potencijala kod kojeg u povratnom dijelu krivulje dolazi do izjednačavanja struja s onima iz početnog dijela ciklusa. Pri potencijalu E_{bd} dolazi do lokalnog oštećenja zaštitnoga pasivnog filma, odnosno intenzivnog otapanja slitine, koje može rezultirati značajnim otpuštanjem iona nikla. Što je veća razlika između vrijednosti E_{corr} i E_{bd}, to je manja vjerojatnost da će u realnim uvjetima primjene doći do pojave lokalizirane korozije uslijed oštećenja pasivnog filma. Kod nižih potencijala u povratnom dijelu polarizacijske krivulje oštećeni pasivni sloj može se obnoviti (repasivirati). Ako do repasivacije dolazi pri potencijalima bliskim E_{bd}, tada je vjerojatnost pojave lokalizirane korozije zanemariva.

Analizom rezultata elektrokemijske impedancijske spektroskopije dobiveni su podatci koji objašnjavaju mehanizme samozaštite materijala stvaranjem oksidnog sloja, odnosno stupanj zaštite koju pruža prevlaka te njihovu postojanost. To su otpor elektrolita (R_{el}), otpor prevlake ili biofilma probiotika na površini metala (R_1), konstantno fazni element koji opisuje

kapacitivna svojstva prevlake ili biofilma (Q_1), koeficijent odstupanja sustava od idealnog kapacitivnog ponašanja (n_1), otpor oksida na površini (R_2), konstantno fazni element koji opisuje kapacitivna svojstva površinskih oksida (Q_2) te koeficijent odstupanja sustava od idealnog kapacitivnog ponašanja (n_2).

Nakon završetku elektrokemijskih mjerenja površina ispitivanih uzoraka snimljena je pretražnim elektronskim mikroskopom (*Tescan Vega 3*, Tescan, Brno, Češka) uz povećanja od 1.000 puta.

Identifikacija metalnih oksida koji se stvaraju na površini slitina provedena je Ramanovom spektroskopijom. Ramanovi su spektri snimljeni na sobnoj temperaturi mikro-Ramanovim spektrometrom s više kanala LabRam 300 Infinity (*Horiba JobinYvon*, Kyoto, Japan). Ramanov efekt postignut je s pomoću helij-neonskog (He-Ne) lasera valne dužine 632,8 nm bez uporabe atenuacijskog filtera (nije bilo laserski inducirane fotodegradacije). Upotrjebljen je objektiv za povećanje 50 puta konfokalnog mikroskopa MPlanN (*Olympus*, Tokyo, Japan). Kako bi se fokusirala laserska zraka, rabljena je konfokalna rupica od 2 μm, a pozicija na površini uzorka prilagođena je uporabom motorizirane x-y platforme. Kalibracija je napravljena prema Ramanovoj liniji silicija pri 520,7 cm^{-1}. Za postizanje boljeg odnosa između signala i šuma snimano je svakih 20 sekundi te je prikupljeno ukupno 20 snimki.

3.3. Statistička obrada podataka

Analiza distribucije podataka provedena je Shapiro-Wilkov W testom. Kod podataka koji su slijedili normalnu distribuciju, za procjenu razlika u mehaničkim i elektrokemijskim parametrima između tipova žica i medija upotrijebljene su jednofaktorska i dvofaktorska analiza varijance sa Student-Newman-Keuls post hoc testom. U suprotnom su rabljeni Kruskal-Wallisov i Mann-Whiteyevi testovi s Bonferronijevom korekcijom za višestruke usporedbe. Snaga efekta kvantificirana je s pomoću η^2. Za interpretaciju služili su Cohenovi kriteriji: η^2 = 0,02 – 0,13: mala snaga efekta; 0,13 – 0,26: umjerena i > 0,26: velika.

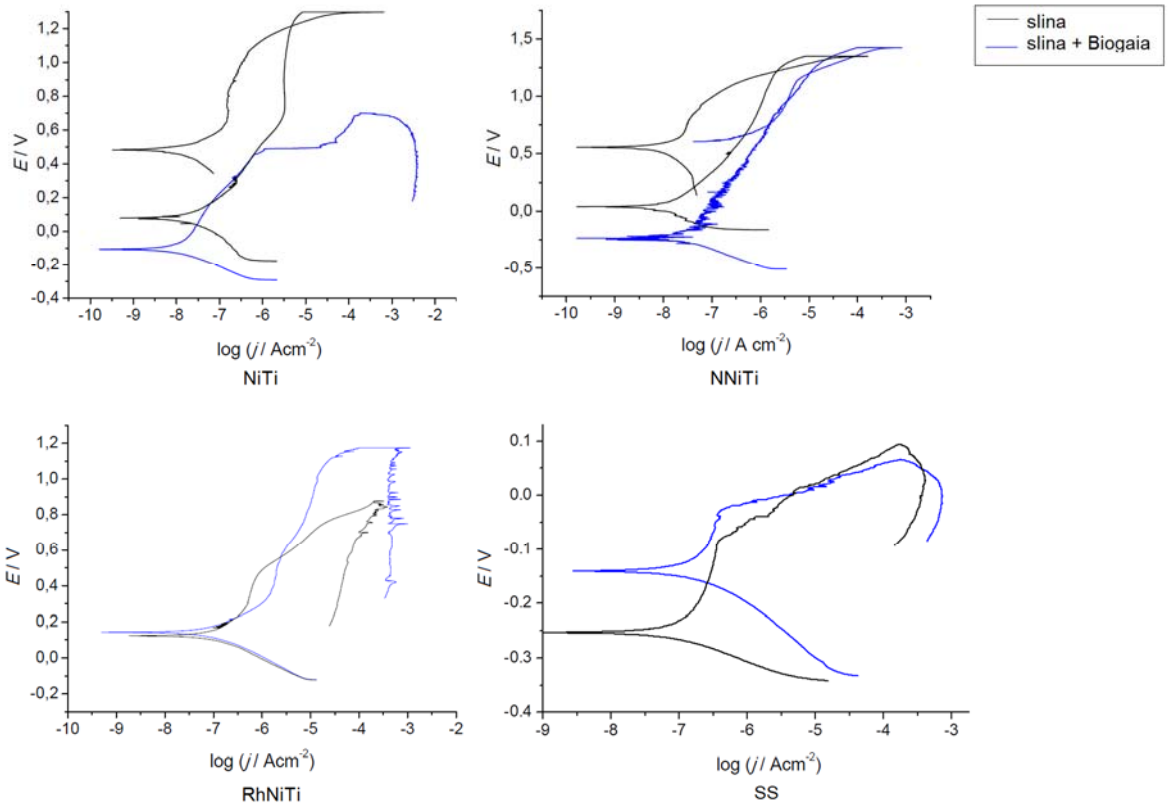
Ponovljivost mjerenja procijenjena je intraklasnim korelacijskim koeficijentom (ICC) te kvantificirana 95 % intervalom pouzdanosti (95 % CI). Za interpretaciju ICC-a upotrijebljeni su sljedeći graničnici: 0 – 0,2: slaba ponovljivost; 0,3 – 0,4: pristojna; 0,5 – 0,6: umjerena, 0,7 – 0,8: jaka te > 0,8: gotovo savršena ponovljivost.

Razlike u mjerenjima analizirane su t-testom za zavisne uzorke. Rabljen je statistički program IMB SPSS 22 (*IBM Corp*, Armonk, SAD).

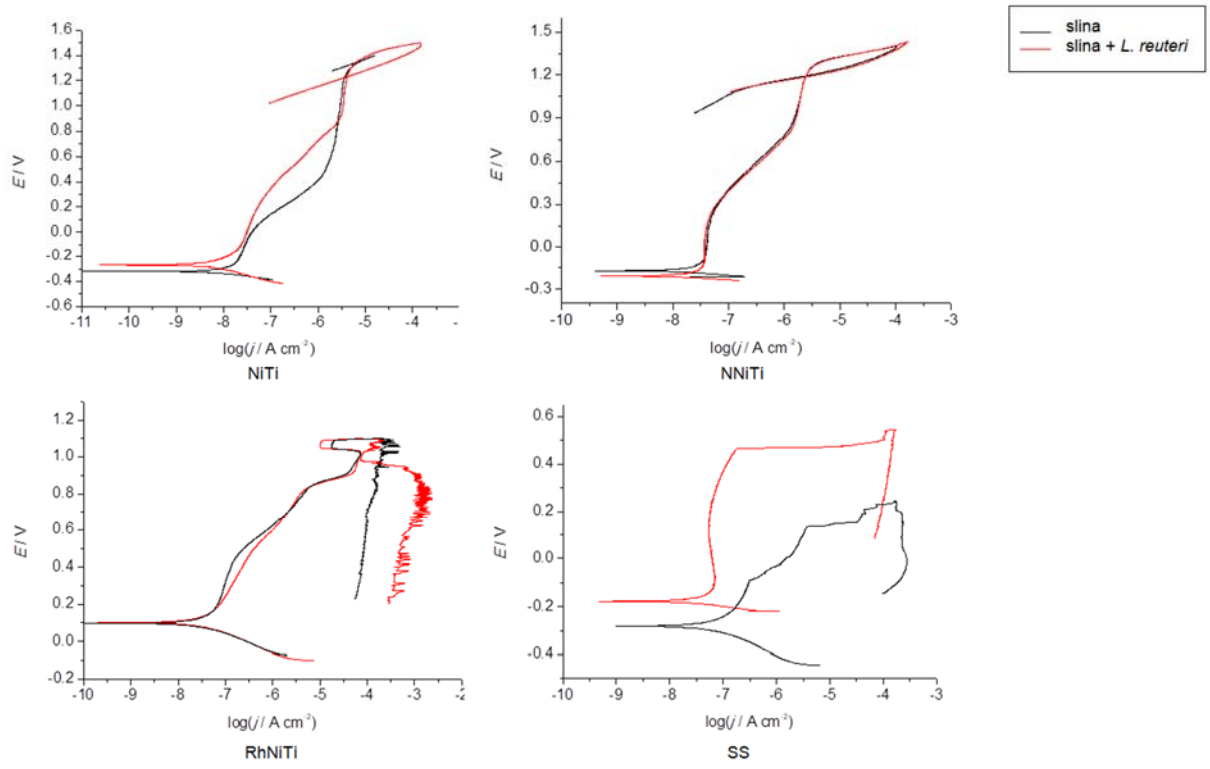
4. REZULTATI

4.1. Korozijski procesi i mehanizmi

Na slikama 14 i 15 prikazane su polarizacijske krivulje za sve četiri ispitivane žice dobivene nakon dva sata izlaganja umjetnoj slini ili slini s probiotičkim pripravkom *BioGaia*, odnosno nakon 28 dana izlaganja umjetnoj slini ili slini s ispitivanim bakterijama. Korozijski parametri određeni iz ovih polarizacijskih krivulja predstavljeni su u tablici 2. Analizirajući utjecaj probiotičkog pripravka na koroziju ispitivanih žica, kod neobložene NiTi uočavaju se pozitivnije vrijednosti korozijskog potencijala i potencijala pucanja pasivnog filma u slini od onih zabilježenih u slini s probiotičkim pripravkom, Tablica 2. Isto tako kod čiste sline lako dolazi do repasivacije žica, što kod sline s probiotikom nije slučaj. Kao i kod neobloženih žica uzorci nitirirane površine u slini s probiotikom također imaju negativniji korozijski potencijal te slabiju sposobnost repasivacije nego u čistoj umjetnoj slini. Usporedbom rodinirane žice u čistoj slini i slini s probiotikom uočava se da dodatkom probiotika potencijal pucanja pasivnog filma raste, ali nema mogućnosti repasivacije ni u jednoj otopini. Izlaganje bakterijama ne izaziva bitnije promjene u otpornosti na lokaliziranu koroziju u odnosu na izlaganje slini kod svih žica osim čelične gdje se uočava pomak korozijskog potencijala, ali i potencijala pucanja pasivnog filma prema pozitivnijim vrijednostima u prisutnosti bakterija. Usporedbom korozijskih parametara u umjetnoj slini i slini s probiotikom *BioGaia* uočava se da su u odnosu na čistu slinu vrijednosti korozijskih struja u slini s probiotikom nešto manje za neobloženu NiTi i čelik, podjednake za nitriranu, a veće za rodiniranu žicu, Tablica 2 i 3, Slika 16 i 17. No, razlike nisu statistički značajne. Sama bakterija *L. reuteri* ne inducira veću brzinu opće korozije ni kod jedne vrste slitine u odnosu na čistu slinu. Kod čelika i neobložene NiTi žice probiotik uzrokuje pojavu lokalne korozije koja se ne javlja u čistoj slini. Kod rodinirane žice javlja se lokalizirana korozija u oba medija, ali do oštećenja uz pripravak *BioGaia* malo teže dođe nego u čistoj slini (veći E_{bd}), pri tome u oba medija ne dolazi do obnove oštećenog dijela površine. Kod nitrirane teže nastaje oštećenje pri uporabi pripravka *BioGaia* nego u slini, ali kad nastane, nešto se teže obnavlja oksidni sloj. Sama bakterija ne inducira lokaliziranu koroziju ni kod jedne od ispitivanih žica, ona se javlja samo kod žica koje pokazuju sklonost lokaliziranoj koroziji u čistoj slini, a to su rodinirane i čelične žice. Pri tome se kod žice od čelika može uočiti da bakterije dovode do pomaka korozijskog potencijala i potencijala pucanja pasivnog filma u smjeru pozitivnijih vrijednosti te da je razlika između tih potencijala veća nego u umjetnoj slini što govori o težem nastajanju lokaliziranoga korozijskog oštećenja u prisutnosti bakterija.

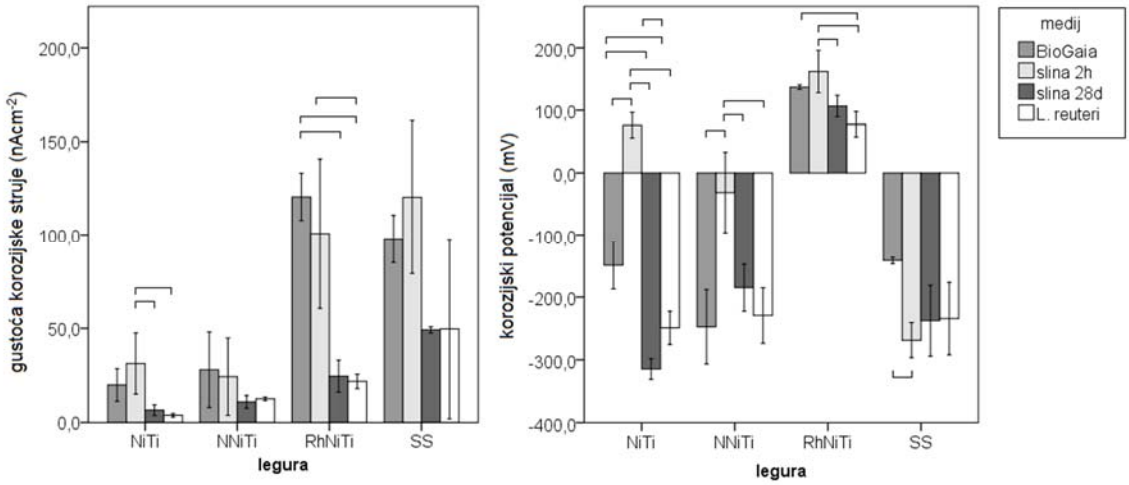


Slika 14. Reprezentativne krivulje cikličke polarizacije uslijed izlaganja slini i probiotiku *BioGaia*

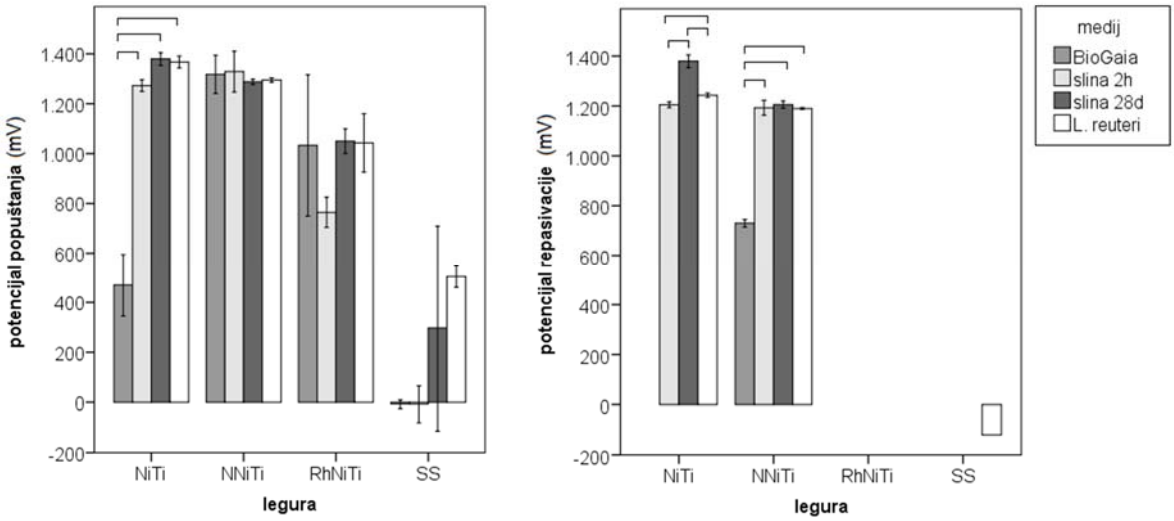


Slika 15. Reprezentativne krivulje cikličke polarizacije uslijed izlaganja slini i *L. reuteri*

Očito je da kod svih žica vrijednosti korozijskih struja nakon 28 dana izlaganja umjetnoj slini postaju znatno manje što govori o poboljšanju korozijske otpornosti žica s vremenom izlaganja slini zbog nastanka debljega zaštitnog pasivnog filma.



Slika 16. Usporedba gustoće struje i korozivnog potencijala između eksperimentalnih stanja; prikazane su aritmetičke sredine i standardne devijacije; horizontalnim crtama povezani su mediji između kojih je razlika statistički značajna pri $p < 0,05$



Slika 17. Usporedba potencijala pucanja pasivnog filma i repasivacije između eksperimentalnih stanja

Tablica 2. Vrijednosti korozijskih parametara za neobloženu i nitriranu NiTi slitinu

Žica	Korozijski parametar	Medij	Prosjek± SD*	p**	η2***
NiTi	gustoća korozijske struje (I_{corr} / nAcm^{-2})	slina 2h	31,3±16,3^{a}		
		BioGaia	19,9±8,7^{ab}		
		slina 28d	6,6±2,8^{b}		
		L. reuteri	3,8±1,0^{b}	0,023	0,677
	korozijski potencijal (E_{corr} / mV)	slina 2h	76,3±20,4^{a}		
		BioGaia	-149,3±37,7^{b}		
		slina 28d	-314,7±16,3^{c}		
		L. reuteri	-249,0±26,5^{d}	0,001	0,979
	potencijal pucanja pasivnog filma (E_{bd} / mV)	slina 2h	1272,7±23,7^{a}		
		BioGaia	469,7±124,6^{b}		
		slina 28d	1379,3±25,7^{a}		
		L. reuteri	1367,3±24,1^{a}	<0,001	0,980
	potencijal repasivacije (E_{rp} / mV)	slina 2h	1205,0±11,5^{a}		
		BioGaia	-		
		slina 28d	1379,3±25,7^{b}		
		L. reuteri	1243,0±8,9^{c}	<0,001	0,967
NNiTi	gustoća struje (I_{corr} / nAcm^{-2})	slina 2h	24,3±20,5		
		BioGaia	28,0±20,0		
		slina 28d	10,9±3,4		
		L. reuteri	12,6±0,9	0,427	0,280
	korozijski potencijal (E_{corr} / mV)	slina 2h	-31,7±65,0^{a}		
		BioGaia	-247,4±59,3^{b}		
		slina 28d	-185,0±37,7^{b}		
		L. reuteri	-229,3±44,3^{b}	0,004	0,795
	potencijal pucanja pasivnog filma (E_{bd} / mV)	slina 2h	1328,7±82,1		
		BioGaia	1317,6±76,4		
		slina 28d	1288,0±10,8		
		L. reuteri	1295,0±8,9	0,797	0,113
	potencijal repasivacije (E_{rp} / mV)	slina 2h	1193,0±29,8^{a}		
		BioGaia	729,9±14,9^{b}		
		slina 28d	1205,7±14,8^{a}		
		L. reuteri	1189,5±3,5^{a}	<0,001	0,994

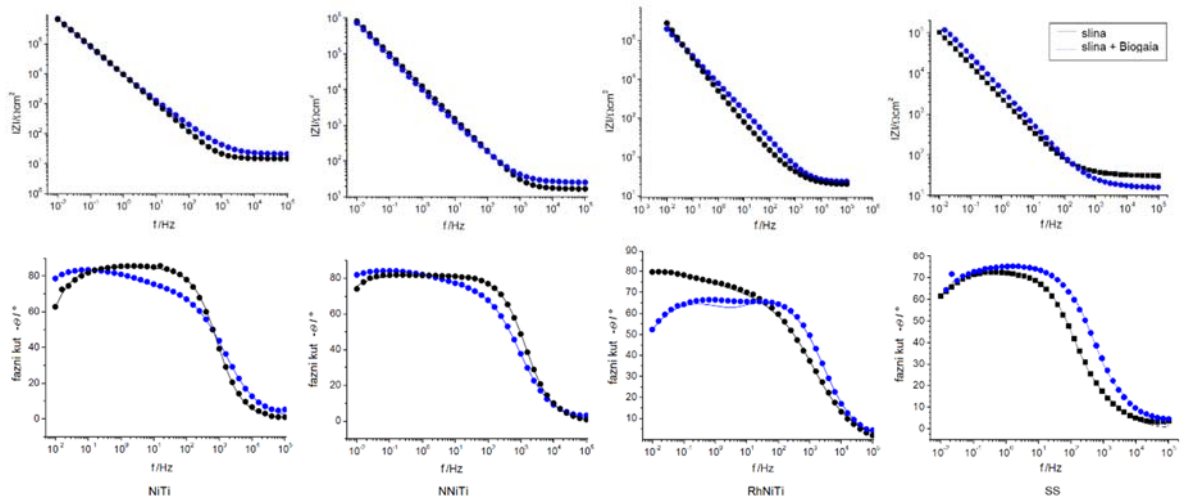
*mediji koji dijele ista slova u eksponentu ne razlikuju se statistički značajno na temelju Student-Newman-Keulsova post hoc testa; **p: razina značajnosti; ***η2: snaga efekta.

Tablica 3. Vrijednosti korozijskih parametara za rodiniranu NiTi slitinu i čelik

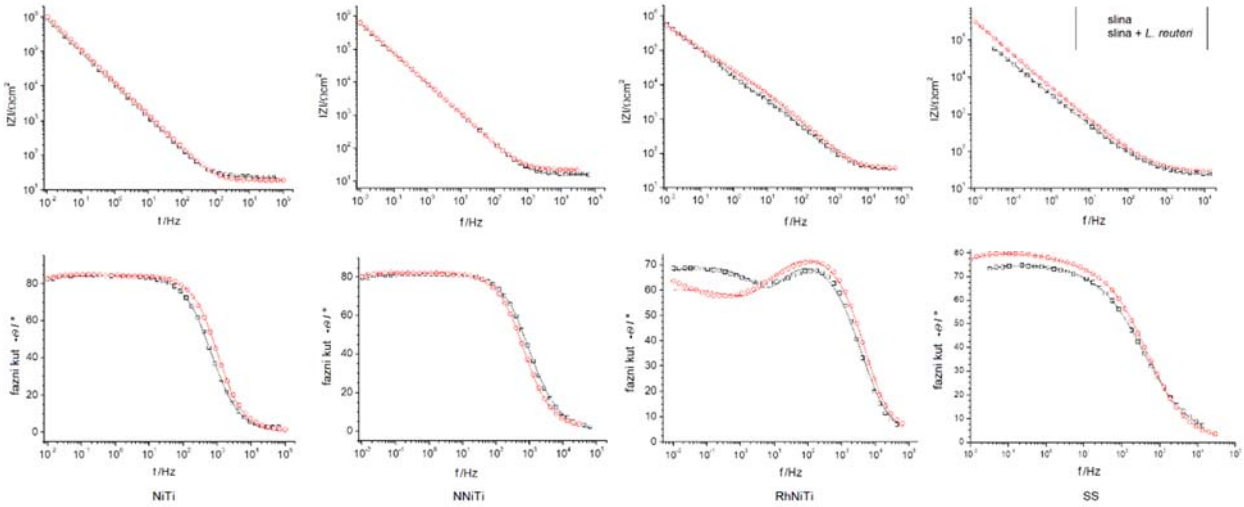
Žica	Korozijski parametar	Medij	Prosjek± SD*	p**	η2***
RhNiTi	gustoća struje	slina 2h	100,7±40,1[a]		
	(I_{corr} / nAcm^{-2})	*BioGaia*	120,4±12,7[a]		
		slina 28d	24,6±8,5[b]		
		L. reuteri	21,9±3,8[b]	0,001	0,864
	korozijski potencijal	slina 2h	162,0±34,0[a]		
	(E_{corr} / mV)	*BioGaia*	137,0±3,7[ab]		
		slina 28d	106,7±17,2[bc]		
		L. reuteri	77,7±20,2[c]	0,007	0,763
	potencijal pucanja pasivnog filma	slina 2h	764,7±60,4		
	(E_{bd} / mV)	*BioGaia*	1033,0±283,1		
		slina 28d	1050,0±49,5		
		L. reuteri	1043,0±117,0	0,152	0,465
	potencijal repasivacije	slina 2h	-		
	(E_{rp} / mV)	*BioGaia*	-		
		slina 28d	-		
		L. reuteri	-	-	-
SS	gustoća struje	slina 2h	120,2±41,0		
	(I_{corr} / nAcm^{-2})	BioGaia	97,8±12,7		
		slina 28d	49,2±1,6		
		L. reuteri	49,7±47,8	0,062	0,580
	korozijski potencijal	slina 2h	-268,7±28,0[a]		
	(E_{corr} / mV)	*BioGaia*	-141,1±5,1[b]		
		slina 28d	-237,7±56,5[ab]		
		L. reuteri	-234,3±57,8[ab]	0,031	0,649
	potencijal pucanja pasivnog filma	slina 2h	-7,7±73,3		
	(E_{bd} / mV)	*BioGaia*	-7,0±16,1		
		slina 28d	297,7±411,3		
		L. reuteri	504,0±43,6	0,045	0,615
	potencijal repasivacije	slina 2h	-		
	(E_{rp} / mV)	*BioGaia*	-		
		slina 28d	-		
		L. reuteri	-120,0±0,0	-	-

*mediji koji dijele ista slova u eksponentu ne razlikuju se statistički značajno na temelju Student-Newman-Keulsova post hoc testa; **p: razina značajnosti; ***η2: snaga efekta.

Slike 18 i 19 prikazuju impedancijske spektre žica (ovisnost modula impedancije o frekvenciji te ovisnost faznog kuta o frekvenciji) kod izlaganja slini, probiotičkom pripravku i čistim bakterijama.

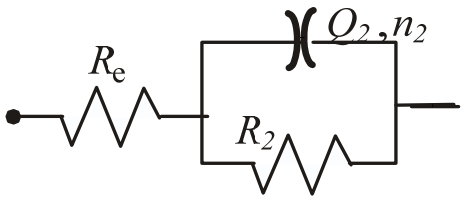


Slika 18. Bodeovi dijagrami za ovisnost modula impendancije o frekvenciji (gornji red) te ovisnost faznog kuta o frekvenciji (donji red) kod izlaganja slini i probiotičkom pripravku; simboli predstavljaju pokusne podatke, a linije podatke dobivene modelom.

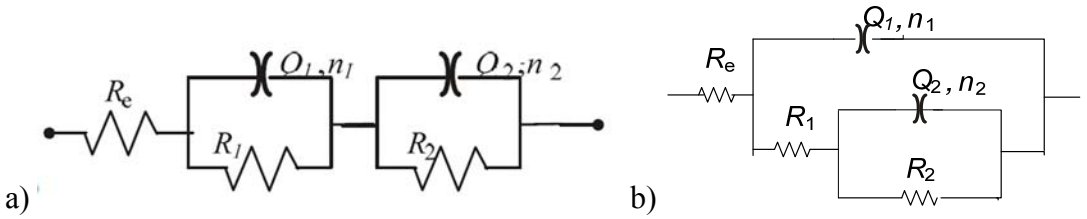


Slika 19. Bodeovi dijagrami za ovisnost modula impendancije o frekvenciji (gornji red) te ovisnost faznog kuta o frekvenciji (donji red) kod izlaganja slini i probiotičkim bakterijama; simboli predstavljaju pokusne podatke, a linije podatke dobivene modelom.

Iz Bodeovih je dijagrama sa slika 18 i 19 vidljivo da neobložena NiTi u umjetnoj slini (2 sata i 28 dana), kao i nitrirana NiTi nakon 2 sata pokazuje samo jedan maksimum krivulje faznog kuta pa se ti spektri mogu opisati električnim modelom koji ima samo jednu vremensku konstantu, Slika 20. Svi ostali spektri imaju dva maksimuma faznog kuta, iako ne uvijek jasno vidljiva, te se mogu opisati samo ekvivalentnim električnim modelom s dvije vremenske konstante, odnosno dva procesa. Električni model na slici 20 sastoji se od otpora elektrolita R_{el}, između radne i referentne elektrode, paralelnog spoja R_2 otpora oksidnog filma te konstantno faznog elementa Q_2 koji opisuje kapacitivna svojstva oksida, pri čemu koeficijent n_2 govori o odstupanju od idealnoga kapacitivnog ponašanja.



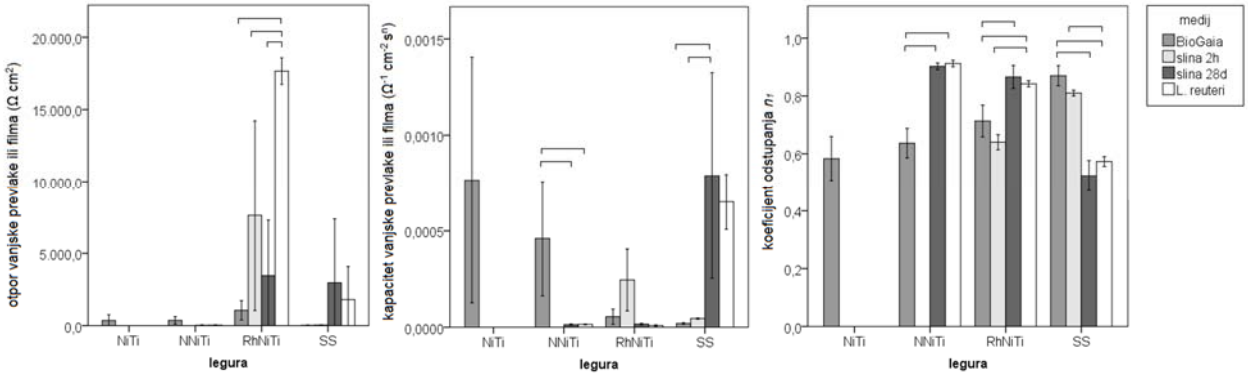
Slika 20. Električni ekvivalentni krug za neobloženu žicu u čistoj slini u svim medijima osim sline s probiotičkim pripravkom te nitriranu NiTi nakon 2 sata u slini.



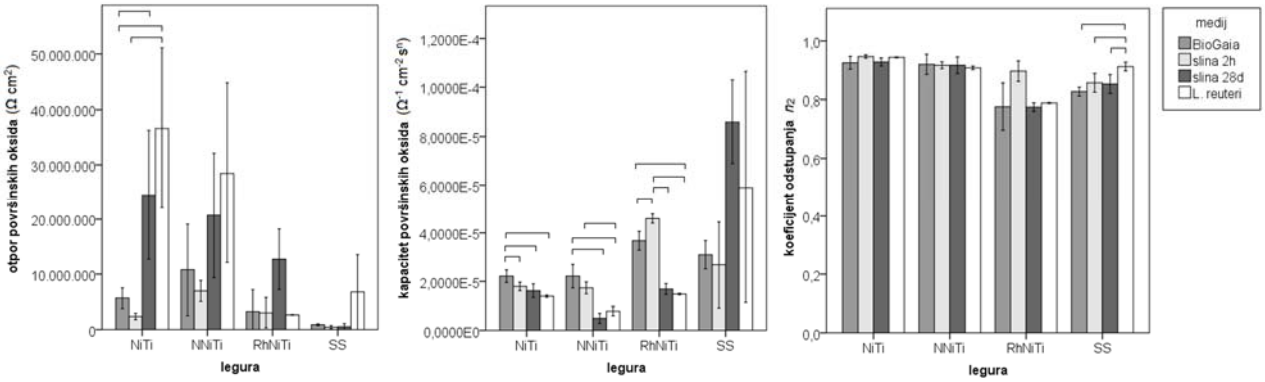
Slika 21. a) električni ekvivalentni krug za čeličnu i rodiniranu žicu u svim medijima te sve žice u slini s probiotičkim pripravkom; b) električni ekvivalentni krug za nitiriranu NiTi nakon 28 dana u slini ili slini s *L. reuteri* bakterijama.

Spektri dobiveni u mediju s probiotikom *BioGaia* mogu se opisati ekvivalentnim krugom prikazanim na slici 21 a) koji se sastoji od serijskog spoja dvaju *RQ* krugova. Pojavljuje se dodatni krug nakon taloženja probiotičkog pripravka ili njegove aktivne tvari na dio površine žice. Stoga R_1 opisuje otpor tog dijela površine, a Q_1 i n_1 njegova kapacitivna svojstva. Takav se model može primijeniti i za opisivanje ostalih impedancijskih spektara za rodiniranu i čeličnu žicu u slini ukazujući na dva sloja. Kod rodinirane žice dodatni sloj bi bila sama rodinirana

prevlaka s ili bez prisutnih bakterija, odnosno bez adsorbiranih komponenti probiotičkog pripravka. Kod čelične žice dva *RQ* kruga mogu se povezati s nehomogenosti pasivnog filma na površini žice, kao što će biti pokazano u poglavlju o Ramanovoj spektroskopiji, površina čeličnih žica djelomično je prekrivena slojem titanijeva oksida (TiO_2) što može biti uzrok uočenih nehomogenosti. Električni ekvivalentni krug prikazan na slici 21 b) bolje opisuje spektre nitiririrane žice dobivene nakon 28 dana u slini ili slini s *L. reuteri*. U tom se slučaju pretpostavlja da R_1-Q_1 par opisuje vanjski porozni sloj oksida na površini žice.



Slika 22. Usporedba impedancijskih parametara vanjskog poroznog filma (prevlake ili biofilma) između medija i slitina.



Slika 23. Usporedba impedancijskih parametara površinskih oksida između medija i slitina.

Impedancijski parametri, dobiveni usklađivanjem pokusnih podataka s parametrima predloženih električnih modela, prikazani su na slikama 22 i 23 te u tablicama 4 – 7. Otpor oksidnoga pasivnog filma nakon 2 sata u slini najmanji je kod čelika, a najveći kod NiTi nitrirane površine što je i u skladu s najvećim izmjerenim korozijskim strujama kod čelika. Izlaganje slini 28 dana poboljšava otpor površinskog sloja kod neobloženih i obloženih NiTi te

čelika. Probiotički pripravak donekle povećava otpornost oksidnog sloja kod neobloženih i nitriranih NiTi te čelika, ali ne i kod rodinirane NiTi. Bakterije znatno povećavaju otpornost oksidnog sloja kod neobložene NiTi te u određenoj mjeri i nitrirane NiTi te čelika, ali ne kod rodinirane NiTi. Duže izlaganje slini smanjuje otpor rodinirane prevlake, dok ga izlaganje bakterijama povećava, iz čega se može pretpostaviti da *L. reuteri* stvara biofilm na površini rodinirane žice i smanjuje oksidaciju NiTi podloge zbog čega se dobiva manji otpor sloja pasivnog filma u odnosu na žicu izloženoj čistoj slini. Kod čelika izlaganje bakterijama, ali i samo duže izlaganje slini, povećava otpor vanjskoga poroznog filma, kao i unutarnjega pasivnog oksidnog sloja što ide u prilog pasivaciji žice u kontaktu s korozijskim medijem. Najveći otpor oksida dobiven je kod žice koja je bila u mediju s *L. reuteri* što govori o pasivacijskom utjecaju bakterija na čelik.

Tablica 4. Impedancijski parametri (EIS) za neobloženu NiTi

Korozijski parametar	Medij	Prosjek± SD*	p**	η2***
otpor elektrolita R_{el} (Ω cm^2)	slina 2h	17,5±2,7		
	BioGaia	21,5±3,1		
	slina 28d	31,9±12,7		
	L. reuteri	23,2±7,4	0,209	0,416
otpor porozne prevlake ili filma R_1 (Ω cm^2)	slina 2h	-		
	BioGaia	354,8±401,4		
	slina 28d	-		
	L. reuteri	-	-	-
kapacitet porozne prevlake ili filma Q_1 (Ω^{-1} cm^{-2} s^n)	slina 2h	-		
	BioGaia	0,001±0,001		
	slina 28d	-		
	L. reuteri	-	-	-
koeficijent odstupanja n_1	slina 2h	-		
	BioGaia	0,6±0,1		
	slina 28d	-		
	L. reuteri	-	-	-
otpor kompaktnog površinskog oksida R_2 (Ω cm^2)	slina 2h	2381000,0±57142,9^a		
	BioGaia	5653333,3±1838051,5^a		
	slina 28d	24490000,0±11771987,9^b		
	L. reuteri	36610000,0±14494459,7^b	0,006	0,769
kapacitet površinskog oksida Q_2 (Ω^{-1} cm^{-2} s^n)	slina 2h	0,000018±0,000002^a		
	BioGaia	0,000022±0,0000026^b		
	slina 28d	0,000016±0,000003^a		
	L. reuteri	0,000014±0,00000^a	0,008	0,756
koeficijent odstupanja n_2	slina 2h	0,95±0,01		
	BioGaia	0,93±0,02		
	slina 28d	0,93±0,02		
	L. reuteri	0,94±0,00	0,194	0,428

*mediji koji dijele ista slova u eksponentu ne razlikuju se statistički značajno na temelju Student-Newman-Keulsova post hoc testa; **p: razina značajnosti; ***η2: snaga efekta.

Tablica 5. Impedancijski parametri za NNiTi

Korozijski parametar	Medij	Prosjek± SD*	p**	η2***
otpor elektrolita	slina 2h	18,0±1,1		
R_{el} (Ω cm^2)	*BioGaia*	25,5±0,9		
	slina 28d	22,7±11,3		
	L. reuteri	25,3±3,1	0,424	0,281
otpor porozne prevlake ili filma	slina 2h	-		
	BioGaia	363,4±260,4		
R_1 (Ω cm^2)	slina 28d	24,4±15,1		
	L. reuteri	29,9±20,1	0,054	0,623
kapacitet porozne prevlake ili filma	slina 2h	-		
	BioGaia	0,00046±0,000297^a		
Q_1 (Ω^{-1} cm^{-2} s^n)	slina 28d	0,000014±0,000003^b		
	L. reuteri	0,000015±0,000002^b	0,029	0,692
koeficijent odstupanja	slina 2h	-		
n_1	*BioGaia*	0,64±0,05^a		
	slina 28d	0,90±0,01^b		
	L. reuteri	0,91±0,01^b	<0,001	0,962
otpor kompaktnog površinskog oksida	slina 2h	6940666,7±1910610,7		
	BioGaia	10810000,0±8290072,4		
R_2 (Ω cm^2)	slina 28d	20730000,0±11370277,0		
	L. reuteri	28446666,7±16320209,4	0,152	0,509
kapacitet površinskog oksida	slina 2h	0,000017±0,000003^a		
	BioGaia	0,000022±0,000005^a		
Q_2 (Ω^{-1} cm^{-2} s^n)	slina 28d	0,000005±0,000002^b		
	L. reuteri	0,000008±0,000002^b	<0,001	0,887
koeficijent odstupanja	slina 2h	0,92±0,01		
n_2	*BioGaia*	0,92±0,03		
	slina 28d	0,92±0,03		
	L. reuteri	0,91±0,01	0,923	0,055

*mediji koji dijele ista slova u eksponentu ne razlikuju se statistički značajno na temelju Student-Newman-Keulsova post hoc testa; **p: razina značajnosti; ***η2: snaga efekta.

Tablica 6. Impedancijski parametri za RhNiTi

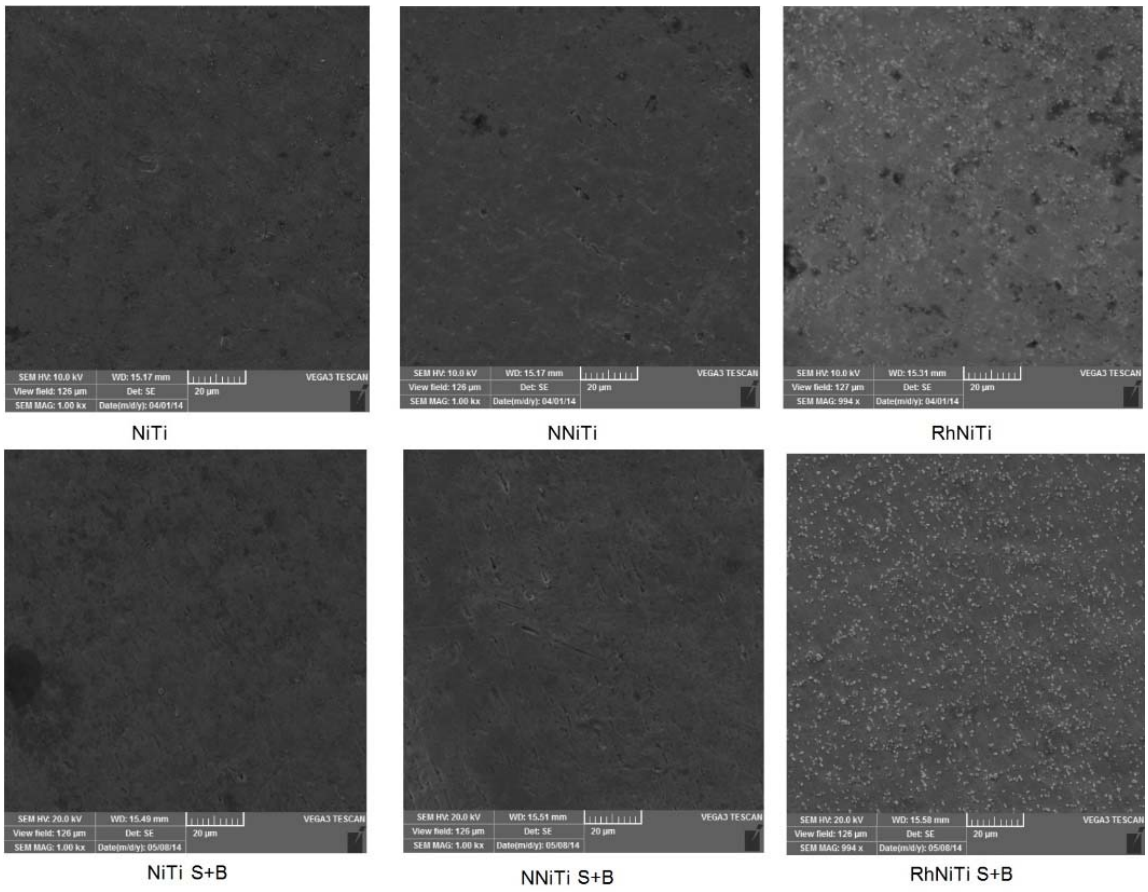
Korozijski parametar	Medij	Prosjek± SD*	p**	η2***
otpor elektrolita	slina 2h	18,7±1,5		
R_{el} (Ω cm^2)	*BioGaia*	21,7±1,1		
	slina 28d	30,1±3,8		
	L. reuteri	25,6±12,0	0,117	0,547
otpor porozne prevlake ili filma	slina 2h	7630,7±6592,5[a]		
	BioGaia	1057,2±666,7[a]		
R_1 (Ω cm^2)	slina 28d	3450,7±3852,5[a]		
	L. reuteri	17660,0±919,2[b]	0,015	0,758
kapacitet porozne prevlake ili filma	slina 2h	0,00025±0,00016		
	BioGaia	0,00006±0,00004		
Q_1 (Ω^{-1} cm^{-2} s^n)	slina 28d	0,00002±0,0000		
	L. reuteri	0,00001±0,0000	0,046	0,659
koeficijent odstupanja	slina 2h	0,64±0,03[a]		
n_1	*BioGaia*	0,71±0,06[a]		
	slina 28d	0,87±0,04[b]		
	L. reuteri	0,84±0,01[b]	0,001	0,9
otpor kompaktnog površinskog oksida	slina 2h	3026333,3±2717898,0		
	BioGaia	3279333,3±3901848,5		
R_2 (Ω cm^2)	slina 28d	12715666,7±5519337,5		
	L. reuteri	2672000,0±56568,5	0,046	0,659
kapacitet površinskog oksida	slina 2h	0,000046±0,000002[a]		
	BioGaia	0,000037±0,000004[b]		
Q_2 (Ω^{-1} cm^{-2} s^n)	slina 28d	0,000017±0,000002[c]		
	L. reuteri	0,000015±0,00000[c]	<0,001	0,975
koeficijent odstupanja	slina 2h	0,90±0,04		
n_2	*BioGaia*	0,78±0,08		
	slina 28d	0,78±0,02		
	L. reuteri	0,79±0,00	0,047	0,657

*mediji koji dijele ista slova u eksponentu ne razlikuju se statistički značajno na temelju Student-Newman-Keulsova post hoc testa; **p: razina značajnosti; ***η2: snaga efekta.

Tablica 7. Impedancijski parametri za čelik

Korozijski parametar	Medij	Prosjek± SD*	p**	η2***
otpor elektrolita	slina 2h	29,6±7,2		
R_{el} (Ω cm^2)	*BioGaia*	25,3±9,4		
	slina 28d	26,3±12,2		
	L. reuteri	23,9±3,8	0,871	0,08
otpor porozne prevlake ili filma	slina 2h	31,9±7,2		
R_1 (Ω cm^2)	*BioGaia*	17,8±2,0		
	slina 28d	2959,5±4424,2		
	L. reuteri	1804,3±2283,4	0,439	0,274
kapacitet porozne prevlake ili filma	slina 2h	0,00045±0,000003^a		
	BioGaia	0,00019±0,000004^a		
Q_1 (Ω^{-1} cm^{-2} s^n)	slina 28d	0,00079±0,00054^b		
	L. reuteri	0,00065±0,00014^{ab}	0,017	0,703
koeficijent odstupanja	slina 2h	0,81±0,01^a		
n_1	*BioGaia*	0,87±0,04^a		
	slina 28d	0,52±0,05^b		
	L. reuteri	0,57±0,02^b	<0,001	0,968
otpor kompaktnoga površinskog oksida	slina 2h	426666,7±294036,3		
	BioGaia	886000,0±175419,5		
R_2 (Ω cm^2)	slina 28d	526650,0±566604,7		
	L. reuteri	6748033,3±6798074,1	0,194	0,469
kapacitet površinskog oksida	slina 2h	0,00003±0,00002		
Q_2 (Ω^{-1} cm^{-2} s^n)	*BioGaia*	0,00003±0,00001		
	slina 28d	0,00009±0,00002		
	L. reuteri	0,00006±0,00005	0,088	0,539
koeficijent odstupanja	slina 2h	0,86±0,03^a		
n_2	*BioGaia*	0,83±0,02^a		
	slina 28d	0,85±0,03^a		
	L. reuteri	0,91±0,02^b	0,018	0,669

*mediji koji dijele ista slova u eksponentu ne razlikuju se statistički značajno na temelju Student-Newman-Keulsova post hoc testa; **p: razina značajnosti; ***η2: snaga efekta.

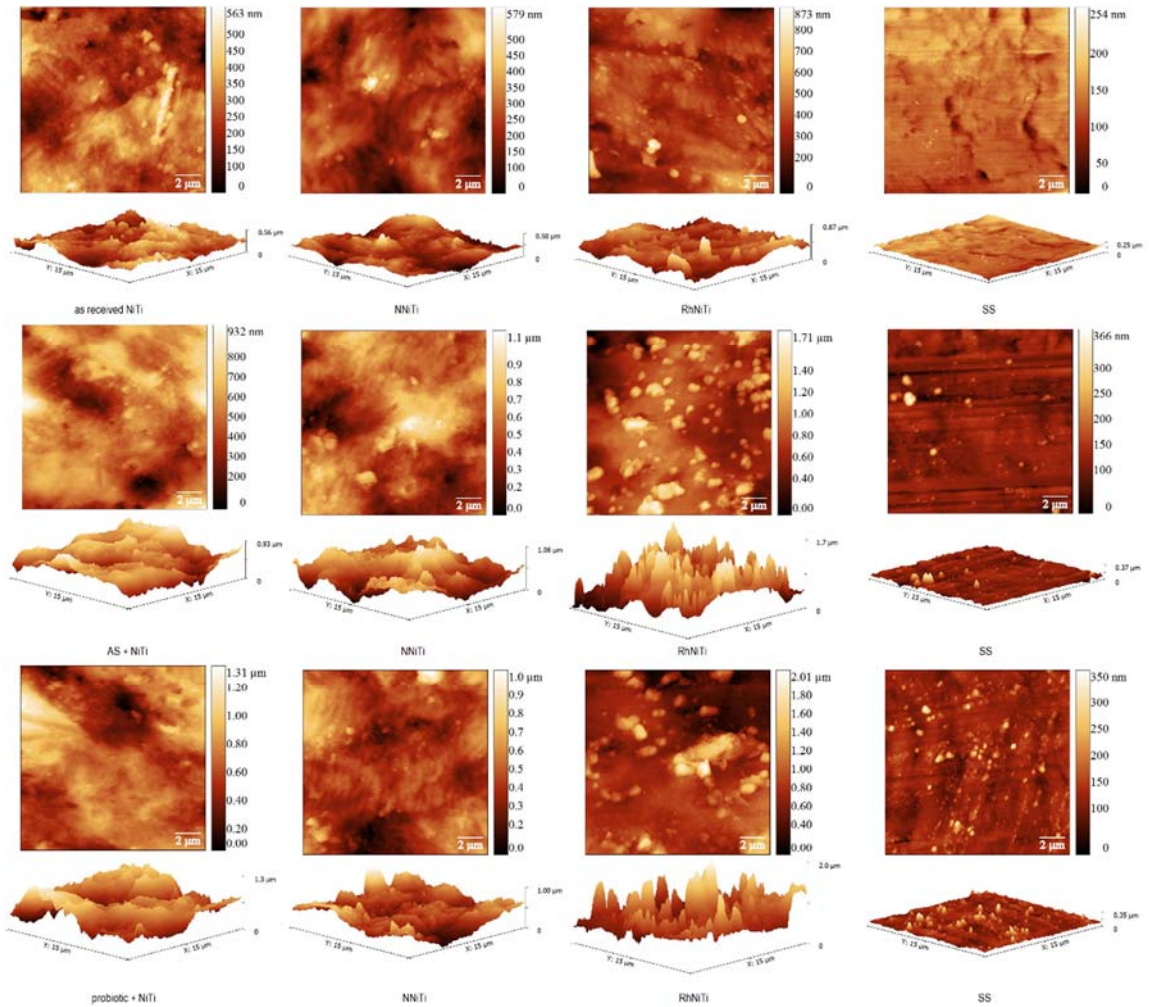


Slika 24. SEM povećanje 1.000 puta neeksponirane (prvi red) te nakon elektrokemijskih testiranja u slini s dodatkom probiotičkog pripravka *BioGaia* (drugi red).

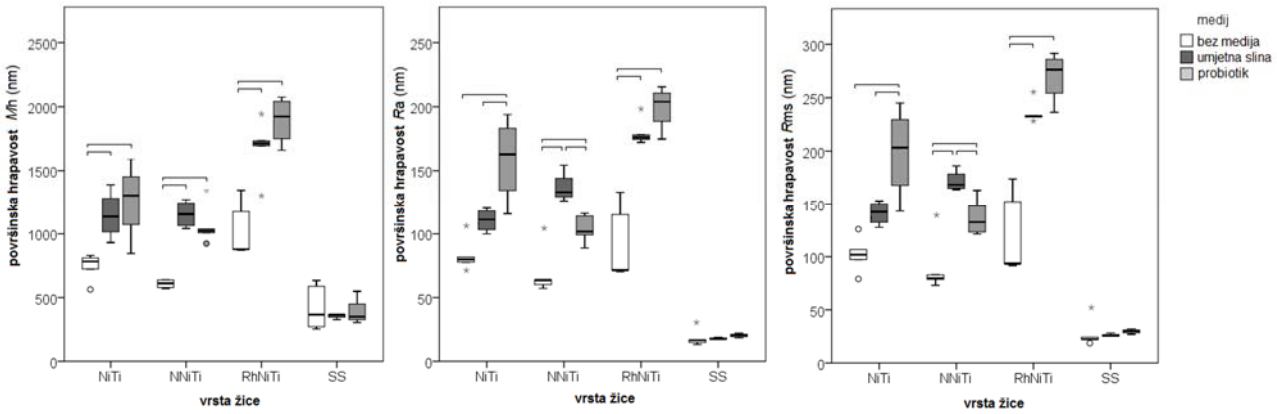
Na SEM snimkama na površini neobložene i nitrirane žice uočava se porast broja mikropukotina u obliku zareza nakon izlaganja umjetnoj slini s probiotičkim pripravkom što se može povezati s pojavom korozijskih oštećenja, Slika 24. Kod rodinirane žice došlo je do taloženja korozijskih produkata koji su vidljivi kao pravilno i gusto raspoređene bijele točke.

4.2. Analiza površine

Ponovljivost mjerenja površinske hrapavosti provjerena je dvostrukim mjerenjima 25 istih uzoraka i iznosila je ICC = 0,872 (95 % CI 0,728-0,943; p = 0,001) za M_h, ICC = 0,915 (95 % CI 0,815 – 0,962; p < 0,001) za R_a te ICC = 0,913 (95 % CI 0,811 – 0,961; p < 0,001) za R_{ms}. Neizložene čelične žice imaju značajno manje parametre površinske hrapavosti od nikal-titanijevih neobložene, nitrirane i rodinirane površine (p < 0,001; η2 = 0,667 – 0,755). Razlike između tipova NiTi žica vidljive su samo u parametru M_h gdje RhNiTi ima značajno veće vrijednosti od nitrirane i neobložene što se može pripisati nakupljanju korozijskih produkata uočenih na SEM snimkama, Slika 25 i 26.



Slika 25. Dvodimenzionalne i trodimenzionalne AFM snimke prikazuju reprezentativne neizložene žice te žice izložene slini i probiotičkom pripravku *BioGaia* uz termocikliranje.



Slika 26. Usporedbe parametara površinske hrapavosti između tipova žica i eksperimentalnih stanja (slina i probiotički pripravak *BioGaia* uz termocikliranje).

Uslijed izlaganja medijima površinska hrapavost čeličnih žica značajno se ne mijenja, ali se značajno mijenja kod nikal-titanijevih žica, Tablica 8 – 10, Slika 25 i 26. To je najviše vidljivo kod RhNiTi, kod koje se hrapavost značajno povećava nakon izlaganja umjetnoj slini te još izraženije nakon izlaganja slini s probiotikom uz veliku snagu efekta ($p < 0,001$; $\eta 2 = 0,787 – 0,873$). Ipak, razlika između izlaganja slini i probiotiku nije značajna. Kod neobložene žice izlaganje slini povećava hrapavost, ali ne značajno u parametrima R_a i R_{ms}, dok izlaganje probiotiku kod svih triju parametra značajno povećava hrapavost u odnosu na neizloženu žicu u parametrima R_a i R_{ms} i u odnosu na ekspoziciju samoj slini ($p < 0,05$). Kod nitrirane žice izlaganje probiotiku uzrokuje manju hrapavost nego izlaganje samoj umjetnoj slini.

Tablica 8. Usporedba površinske hrapavosti u parametru maksimalna visina (M_h [nm]) između neizloženih žica te onih izloženih slini i probiotičkom pripravku *BioGaia* uz termocikliranje

Tip žice	Stanje / medij	Aritmetička sredina ± standardna devijacija*	p**	η2**
NiTi	neizložena	741,9±107,7[a]		
	umjetna slina	1148,6±190,0[b]		
	probiotik *BioGaia*	1262,4±309,5[b]	0,009	0,609
NNiTi	neizložena	670,5±160,7[a]		
	umjetna slina	1156,1±107,9[b]		
	probiotik *BioGaia*	1067,7±161,3[b]	0,001	0,722
RhNiTi	neizložena	1030,6±219,0[a]		
	umjetna slina	1678,4±231,9[b]		
	probiotik *BioGaia*	1895,7±185,1[b]	<0,001	0,784
SS	neizložena	422,6±177,9		
	umjetna slina	352,9±22,1		
	probiotik *BioGaia*	401,2±129,9	0,802	0,054

*mediji koji imaju isto slovo u eksponentu ne razlikuju se statistički značajno na temelju ANOVA-e i Student-Newman-Keuls post hoc testa; **statistička značajnost; ***snaga efekta.

Tablica 9. Usporedba površinske hrapavosti u parametru srednja hrapavost (R_a [nm]) između neizloženih žica te onih izloženih slini i probiotičkom pripravku *BioGaia* uz termocikliranje

Tip žice	Stanje / medij	Aritmetička sredina ± standardna devijacija*	p**	η2**
NiTi	neizložena	80,6±12,7[a]		
	umjetna slina	110,7±9,2[a]		
	probiotik *BioGaia*	158,8±33,1[b]	0,001	0,765
NNiTi	neizložena	68,6±16,7[a]		
	umjetna slina	136,8±12,2[b]		
	probiotik *BioGaia*	104,0±11,3[c]	<0,001	0,834
RhNiTi	neizložena	92,3±29,8[a]		
	umjetna slina	179,8±10,6[b]		
	probiotik *BioGaia*	199,6±17,4[b]	<0,001	0,862
SS	neizložena	17,0±4,0		
	umjetna slina	18,0±0,8		
	probiotik *BioGaia*	20,3±1,8	0,380	0,215

*mediji koji imaju isto slovo u eksponentu ne razlikuju se statistički značajno na temelju ANOVA-e i Student-Newman-Keuls post hoc testa; **statistička značajnost; ***snaga efekta.

Tablica 10. Usporedba površinske hrapavosti u parametru drugi korijen srednjeg kvadrata hrapavosti (R_{ms} [nm]) između neizloženih žica te onih izloženih slini i probiotičkom pripravku *BioGaia* uz termocikliranje

Tip žice	Stanje / medij	Aritmetička sredina ± standardna devijacija*	p**	η2**
NiTi	neizložena	102,2±16,9[a]		
	umjetna slina	141,4±11,2[a]		
	probiotik *BioGaia*	198,7±42,8[b]	0,001	0,747
NNiTi	neizložena	89,1±23,8[a]		
	umjetna slina	171,7±10,0[b]		
	probiotik *BioGaia*	137,7±17,7[c]	<0,00	0,804
RhNiTi	neizložena	120,9±39,2[a]		
	umjetna slina	236,3±10,8[b]		
	probiotik *BioGaia*	270,1±23,9[b]	<0,001	0,873
SS	neizložena	26,0±9,6		
	umjetna slina	26,3±1,7		
	probiotik *BioGaia*	29,7±2,6	0,759	0,067

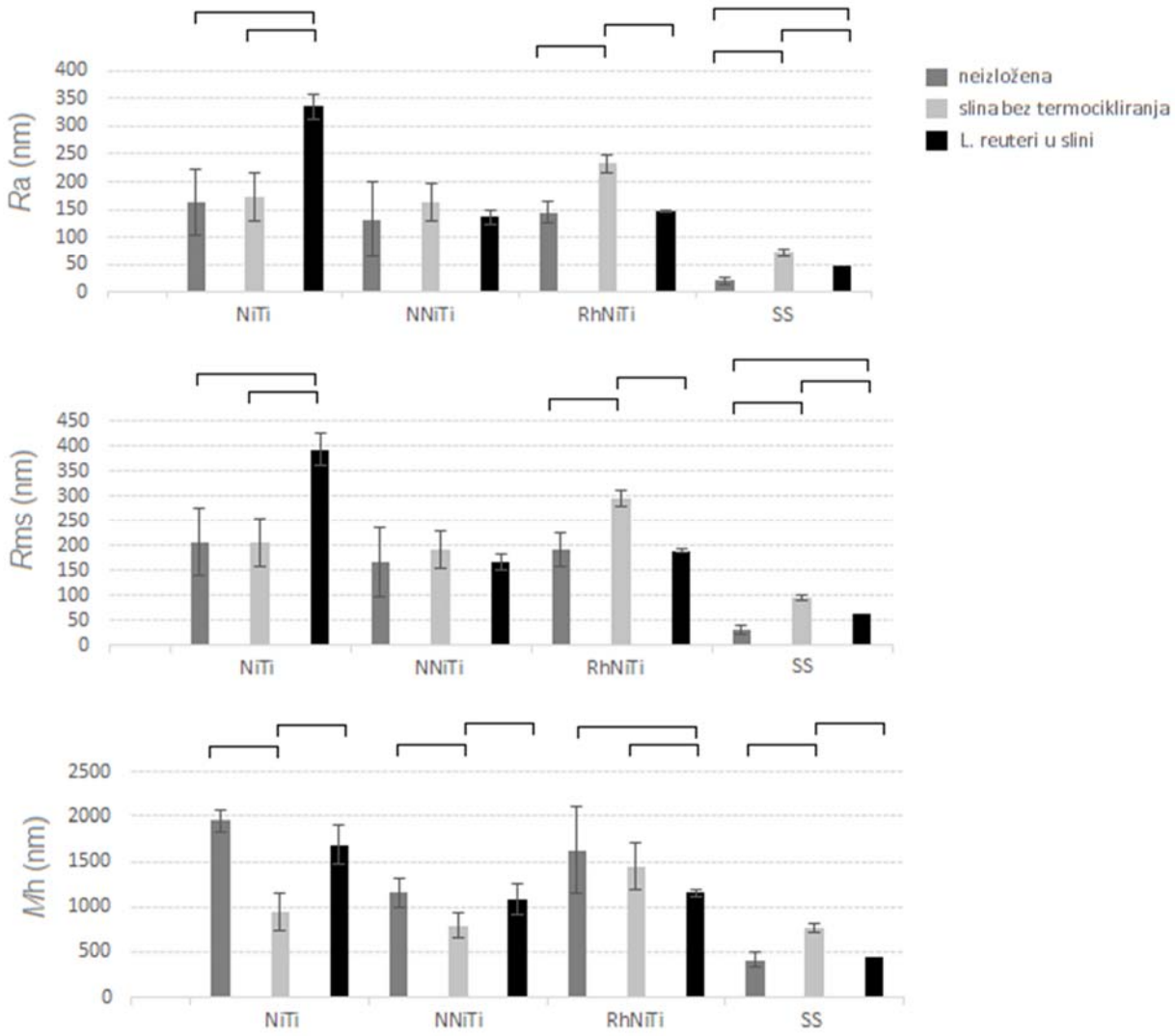
*mediji koji imaju isto slovo u eksponentu ne razlikuju se statistički značajno na temelju ANOVA-e i Student-Newman-Keuls post hoc testa; **statistička značajnost; ***snaga efekta.

Tablica 11. Usporedba parametara površinske hrapavosti uslijed ekspozicije čistoj kulturi probiotičkih bakterija u usporedbi s neizloženim žicama te samo izloženima slini bez termocikliranja

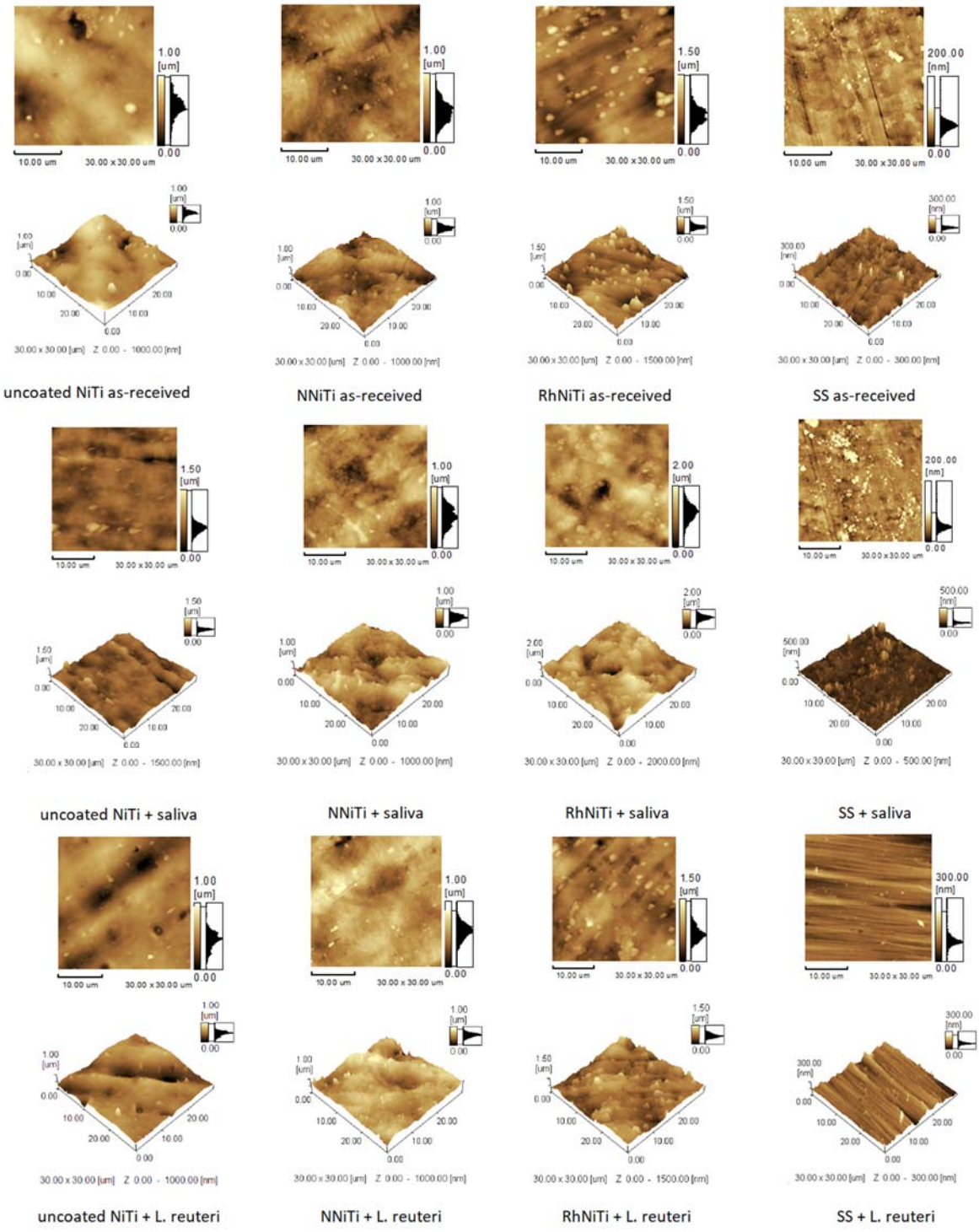
Tip žice	Stanje / medij	R_a [nm] (aritmetička sredina ± standardna devijacija)	R_{ms} [nm] (aritmetička sredina ± standardna devijacija)	M_h [nm] (aritmetička sredina ± standardna devijacija)
NiTi	neizložena	162.4±52.1[a]	207.1±68.4[a]	1953.1±1356.1[a]
	slina	174.1±59.1[a]	207.0±67.9[a]	942.4±118.9[b]
	L. reuteri u slini	334.8±43.0[b]	392.7±48.6[b]	1689.6±211.4[a]
NNiTi	neizložena	132.4±23.6	166.1±31.7	1157.2±210.3[a]
	slina	163.3±67.5	190.7±69.9	796.2±158.8[b]
	L. reuteri u slini	136.4±34.2	166.9±38.0	1087.0±134.5[a]
RhNiTi	neizložena	145.5±12.2[a]	191.9±15.7[a]	1630.0±174.9[a]
	slina	232.7±18.3[b]	294.5±35.4[b]	1446.1±479.1[a]
	L. reuteri u slini	146.8±15.7[a]	189.3±16.2[a]	1161.6±261.6[b]
SS	neizložena	21.8±2.2[a]	30.4±4.2[a]	416.3±37.2[a]
	slina	72.6±6.0[b]	95.3±10.1[b]	764.0±78.7[b]
	L. reuteri u slini	48.9±5.7[c]	61.7±5.7[c]	442.0±43.1[a]

*mediji koji imaju isto slovo u eksponentu ne razlikuju se statistički značajno.

Kada se promatra samo utjecaj probiotičke bakterije *L. reuteri* u slini, vidljivo je da čista bakterija povećava površinsku hrapavost neobloženih NiTi povrh utjecaja same sline u parametrima R_a i R_{ms}, Tablica 11, Slika 27 i 28.



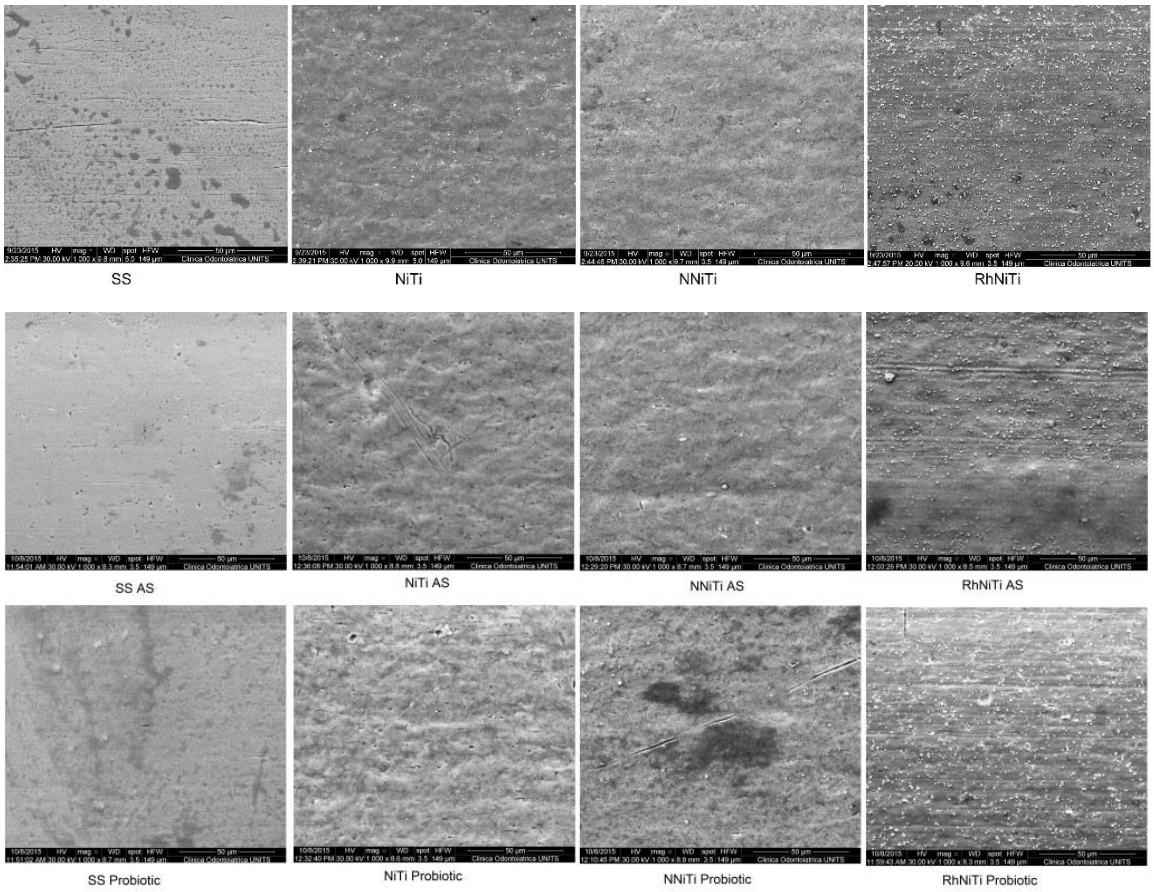
Slika 27. Usporedbe parametara površinske hrapavosti između tipova žica i eksperimentalnih stanja (neizložene, slina 28 dana bez termocikliranja i *L. reuteri* u slini).



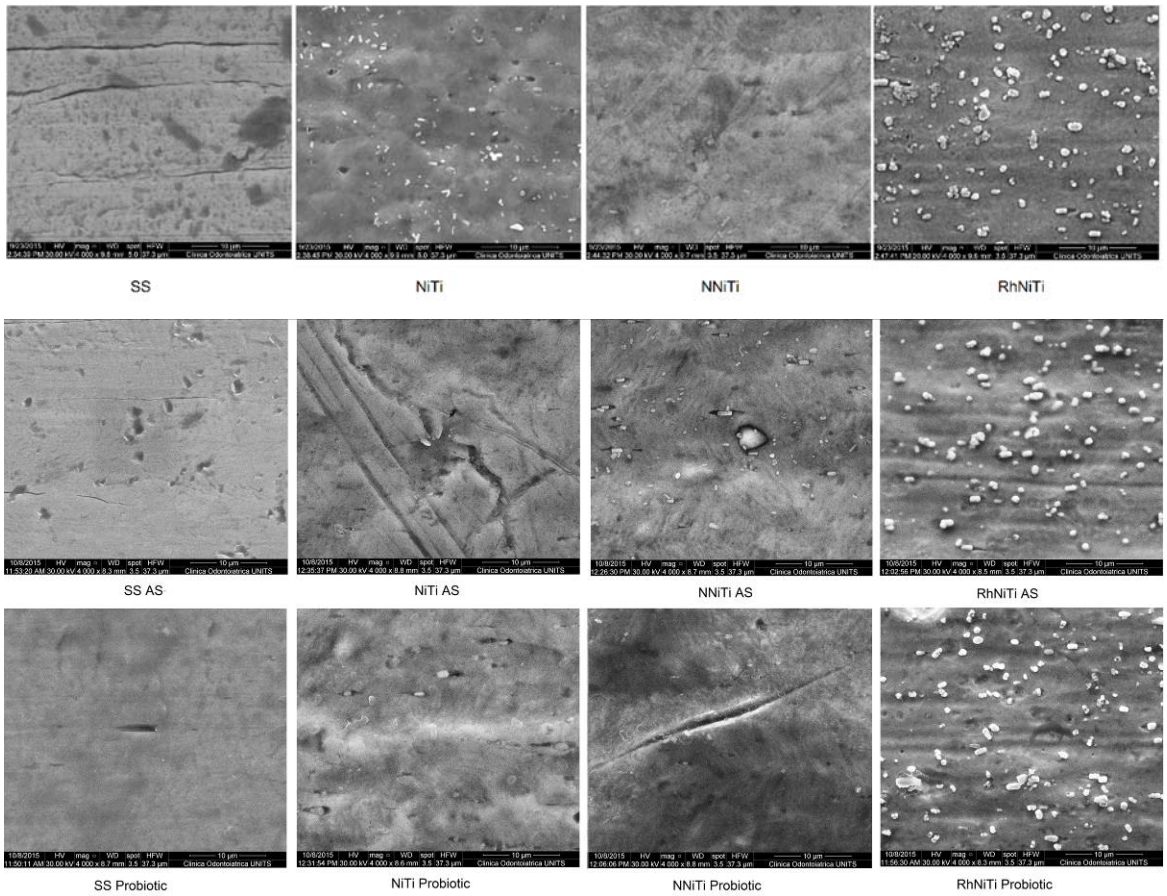
Slika 28. Dvodimenzionalne i trodimenzionalne snimke AFM prikazuju reprezentativne neizložene žice te žice izložene slini i kulturi probiotičkih bakterija *L. reuteri*.

SEM pri povećanjima od 1.000 puta i 4.000 puta potvrđuje AFM nalaze, Slika 29 i 30. Čelik ima najglađu, a RhNiTi najhrapaviju površinu prije ekspozicije. Površina RhNiTi je zrnata, što

bi odgovaralo nanesenim komadićima rodija. Površina NNiTi izgleda nešto glađa nego neobložene NiTi. Na pojedinim dijelovima vidljive su hrapavosti i prije izlaganja što upućuje na mehanička oštećenja u procesu proizvodnje, prijevoza, manipulacije žicama ili tijekom termocikliranja. Čelik nakon ekspozicije umjetnoj slini i probiotičkom pripravku *BioGaia* nije vidno hrapavije površine, dok NNiTi izgleda hrapavije nakon sline nego nakon probiotičkog pripravka, a RhNiTi hrapavije nakon probiotičkog pripravka.

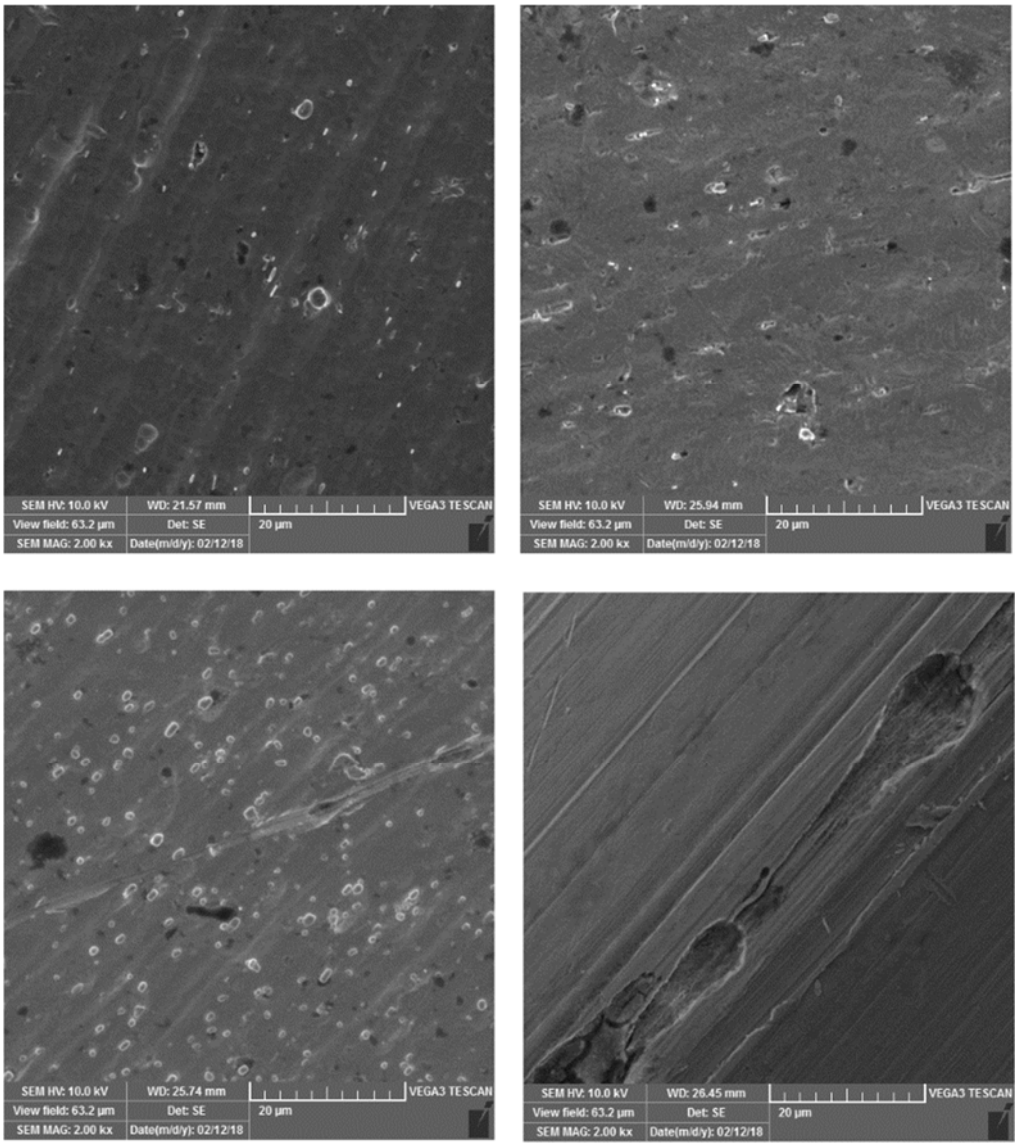


Slika 29. SEM povećanje 1.000 puta neeksponirane (prvi red), nakon izlaganja umjetnoj slini (drugi red) te nakon umjetne sline i probiotičkog pripravka *BioGaia* (treći red).

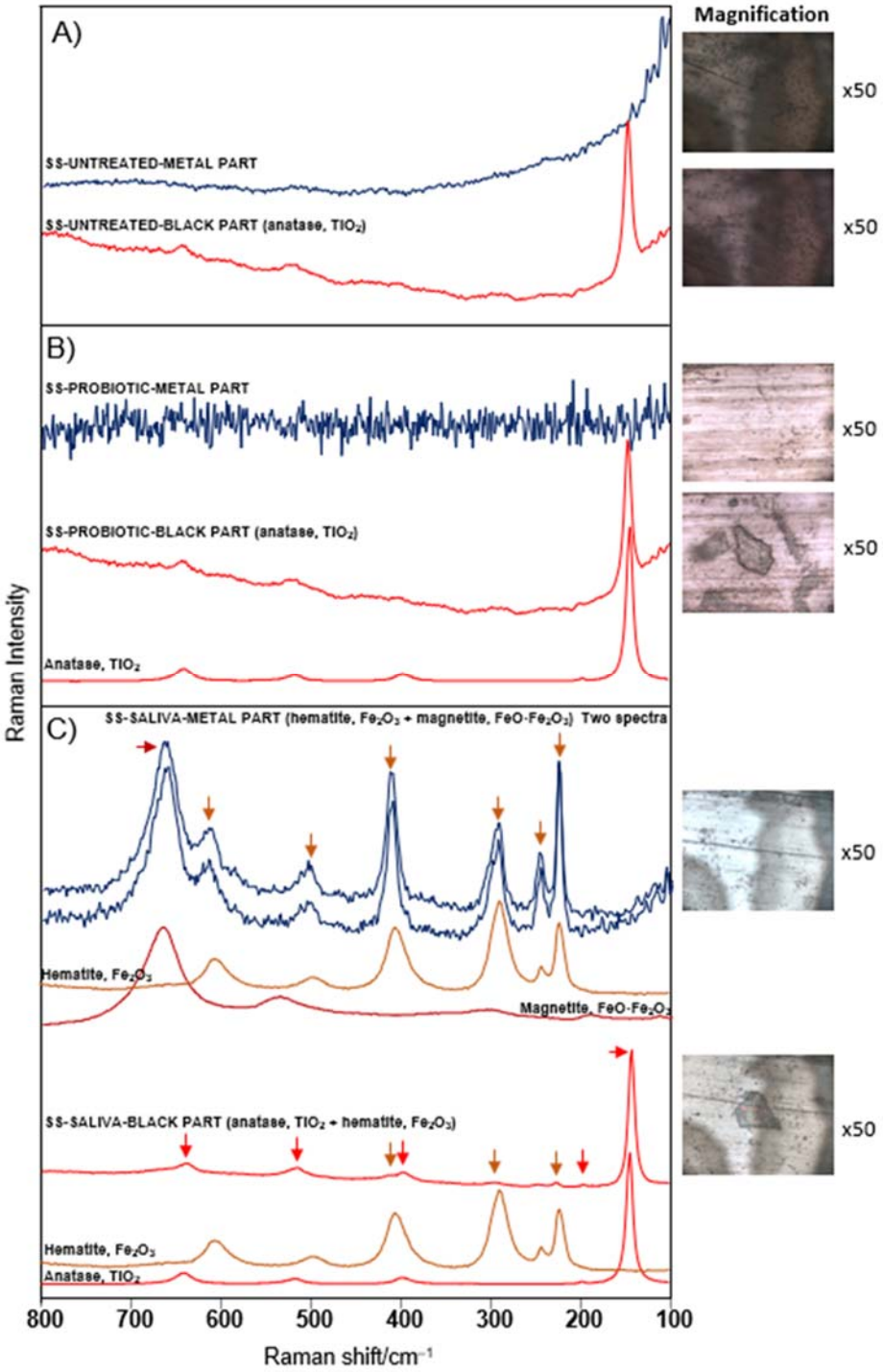


Slika 30. SEM povećanje 4.000 puta neeksponirane (prvi red), nakon izlaganja umjetnoj slini (drugi red) te nakon umjetne sline i probiotičkog pripravka *BioGaia* (treći red).

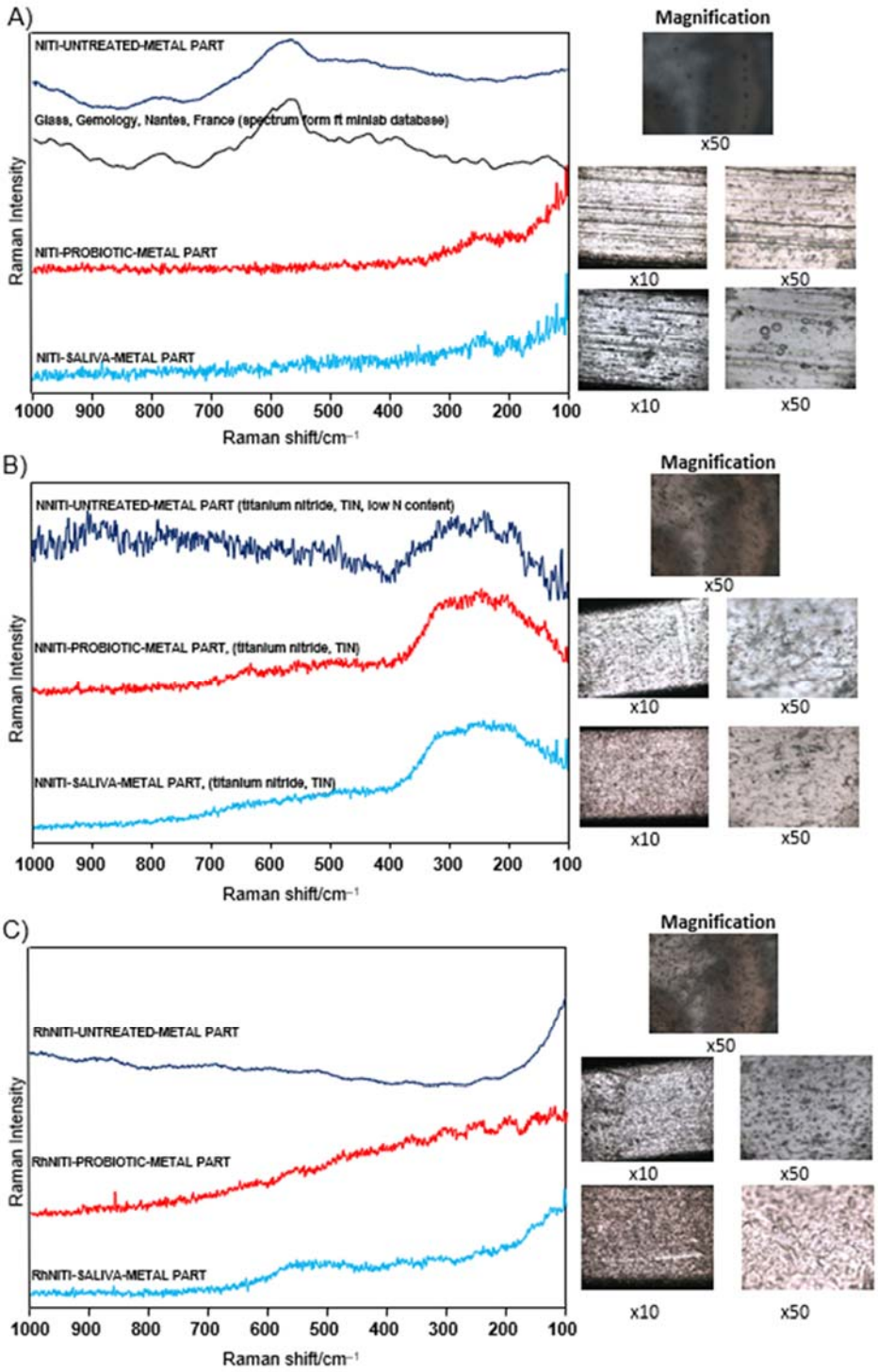
Nakon izlaganja čistim bakterijama ni na jednoj žici nisu jasno vidljive kolonije iako je prilikom pokusa bilo uočljivo stvaranje biofilma, odnosno sluzavih nakupina oko same žice, Slika 31.



Slika 31. SEM povećanje 2.000 puta površine žica nakon ekspozicije samo probiotičkim bakterijama – neobložena i nitrirana NiTi (prvi red), rodinirana NiTi i čelik (drugi red).



Slika 32. Ramanovi spektri SS žičanih lukova: neeksponirani (A), eksponirani probiotičkim bakterijama (B) i slini (C); svaki je spektar izdvojen iz središta slike povećane 50 puta postavljene desno od pripadajućeg spektra; spektar minerala anatasa (TiO_2) (B, C), hematita i magnetita (C) stavljene su za usporedbu.



Slika 33. Ramanovi spektri NiTi (neeksponirani, eksponirani probiotičkim bakterijama i slini) (A), NNiTi (neeksponirani, eksponirani probiotičkim bakterijama i slini) (B) te RhNiTi (neeksponirani, eksponirani probiotičkim bakterijama i slini) (C); svaki je spektar izdvojen iz središta slike povećane 50 puta postavljene desno od pripadajućeg spektra.

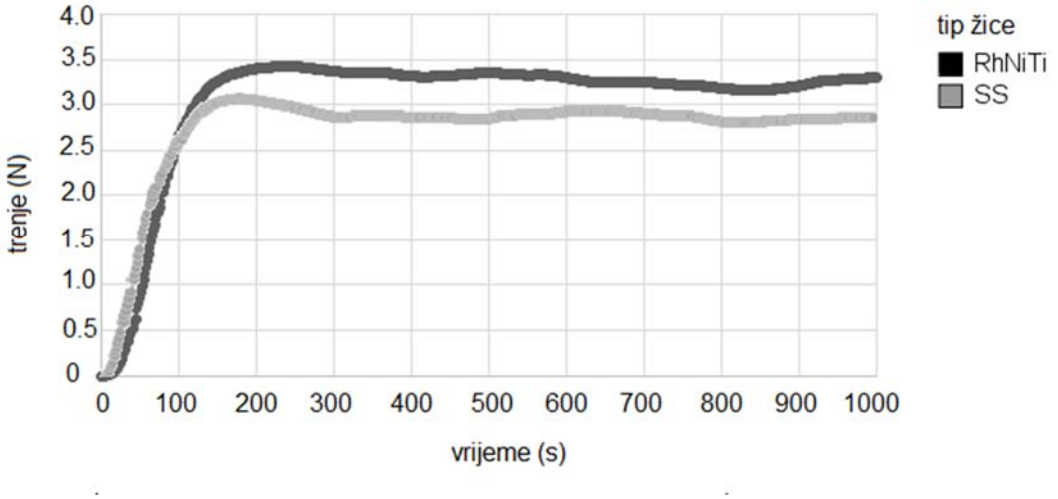
Dva Ramanova spektra pažljivo su izdvojena sa svih neeksponiranih i eksponiranih čeličnih lukova, Slika 32, kao rezultat opažene različite morfologije površine (rezultati AFM-a) koja je bila vidljiva čak i optičkim mikroskopom pri povećanju od 50 puta, Slika 32. Mogu se vidjeti čisti metalni dijelovi te zrnate crne točke kod svakog od neeksponiranih uzoraka te kod eksponiranih slini i bakterijama, Slika 32, čiji Ramanovi spektri pokazuju znatne razlike. Ramanovi spektri iz crnih točaka nalikuju Ramanovu spektru minerala anatasa, polimorfne modifikacije TiO_2 (87). Probiotičke bakterije ne induciraju dodatnu kemijsku preobrazbu čelika, Slika 32 B, u usporedbi s neeksponiranim čelikom, Slika 32 A. S druge strane, čelik eksponiran slini pokazuje dva oksidacijska procesa, Slika 32 C. Prvi proces uključuje kemijsku promjenu površine metalnog dijela u željezne okside (hematit i magnetit) koji su zabilježeni na dvije nasumice odabrane točke na površini odakle su prikupljeni Ramanovi spektri, Slika 32 C. Drugi se oksidacijski proces događa na crnim točkama gdje je prisutan sloj TiO_2, a povezan je s dodatnom suptilnom oksidacijom željeza u hematit, Slika 32 C (88).

Na neeksponiranim neobloženim NiTi detektiran je staklasti lak na metalnoj površini, Slika 33 A, koji nalikuje Ramanovu spektru stakla (89). Na neeksponiranim nitriranim NiTi registriran je zaštitni sloj titanijev nitrid (TiN), s niskim udjelom dušika, Slika 33 B (90).

Na neeksponiranim RhNiTi nije detektiran Ramanov signal ni jedne tvari, Slika 33 C. Eksponiranje tih triju vrsta NiTi lukova slini i probiotičkim bakterijama nije ukazalo na promjene u Ramanovim spektrima, odnosno na kemijsku modifikaciju površine iako su morfološke promjene vidljive na optičkom mikroskopu, Slika 33.

4.3. Trenje

Svaki je uzorak mjeren dva puta, najveća vrijednost sile trenja svaki je put zabilježena u njutnima (N), a prosjek dvaju mjerenja uzet je kao mjera sile trenja po uzorku. Reprezentativne krivulje prikazane su na slici 34.



Slika 34. Reprezentativne krivulje ovisnosti sile trenja o vremenu

Tablica 12. Ponovljivost mjerenja sila trenja na istoj žici i ponovljivost očitanja

	Aritmetička sredina ± standardna devijacija	Prosječna razlika ± standardna devijacija	p	ICC	95% CI	p
Trenje mjesto 1	2,96±0,28					
Trenje mjesto 2	3,05±0,29	-0,093±0,258	0,007	0,559	0,347-0,833	<0,001
Trenje prvo očitanje	2,86±0,95					
Ponovljeno očitanje	2,86±0,95	-0,001±0,004	0,236	1,0	1,0-1,0	<0,001

Mjerenja sila trenja na dvama mjestima na istoj žici ukazuju na značajno slaganje (ICC = 0,559 (95 % CI: 0,347 – 0,833); p < 0,001), međutim razlike između dvaju mjerenja značajne su uz

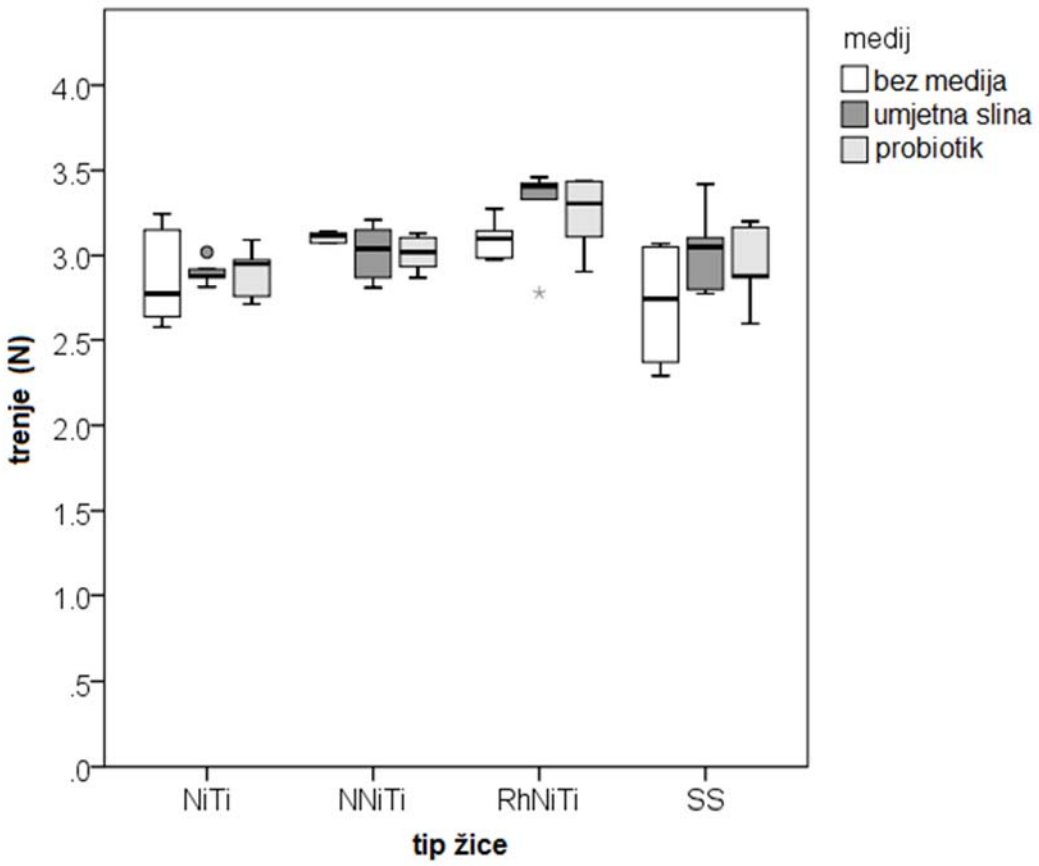
prosječnu razliku od 0,09 N, Tablica 12. Ponovljivost očitanja pri mjerenju bila je izvrsna (ICC = 1,0; $p < 0,001$), Tablica 13.

Tablica 13. Usporedba trenja između nekorodiranih i korodiranih žica

Tip žice	medij	Aritmetička sredina ± standardna devijacija	p*	η2**
NiTi	bez medija	2,88±0,30		
	umjetna slina	2,90±0,08		
	probiotik	2,90±0,16	0,979	0,004
NNiTi	bez medija	3,06±0,12		
	umjetna slina	3,02±0,17		
	probiotik	3,01±0,11	0,809	0,035
RhNiTi	bez medija	3,10±0,12		
	umjetna slina	3,28±0,29		
	probiotik	3,24±0,23	0,422	0,134
SS	bez medija	2,70±0,37		
	umjetna slina	3,03±0,27		
	probiotik	2,94±0,25	0,244	0,209

*statistička značajnost; **snaga efekta.

Dvofaktorska ANOVA ukazuje da tip žice objašnjava značajan udio varijabilnosti trenja ($p = 0,001$; $\eta2 = 0,295$), ali ne i medij, kao ni kombinacija žice i medija. Pojedinačne jednofaktorske ANOVA-e potvrđuju da medij ne utječe na promjenu trenja unutar istog tipa žice, Tablica 13. Razlike u trenju između žica na granici su statističke značajnosti, a vidljiva je tendencija da čelična žica producira najmanje, a rodinirana nikal-titanijeva najveće trenje. Nalaz je sličan prije korozije i nakon korozije, Slika 35.



Slika 35. Usporedba sila trenja između tipova žica i eksperimentalnih stanja.

4.4. Mikrotvrdoća

Tablica 14. Ponovljivost mjerenja na istoj žici i ponovljivost očitanja

	Aritmetička sredina ± standardna devijacija	Prosječna razlika ± standardna devijacija	p	ICC	95% CI	p
Mikrotvrdoća mjesto 1	373,8±81,0					
Mikrotvrdoća mjesto 2	374,7±65,8	-0,9±60,6	0,944	0,672	0,372-0,844	<0,001
Mikrotvrdoća prvo očitanje	373,83±82,8					
Mikrotvrdoća ponovljeno očitanje	358,0±77,7	-15,8±42,0	0,218	0,856	0,579-0,956	<0,001

Mjerenja tvrdoće na dvama mjestima na istoj žici ukazuju na značajno slaganje (ICC = 0,672 (95 % CI: 0,372 – 0,844); $p < 0,001$), a razlike između dvaju mjerenja nisu značajne, Tablica 14. Ponovljivost očitanja pri mjerenju bila je vrlo dobra (ICC = 0,856; $p < 0,001$), Tablica 14.

Tablica 15. Usporedba mikrotvroće između nekorodiranih i korodiranih žica

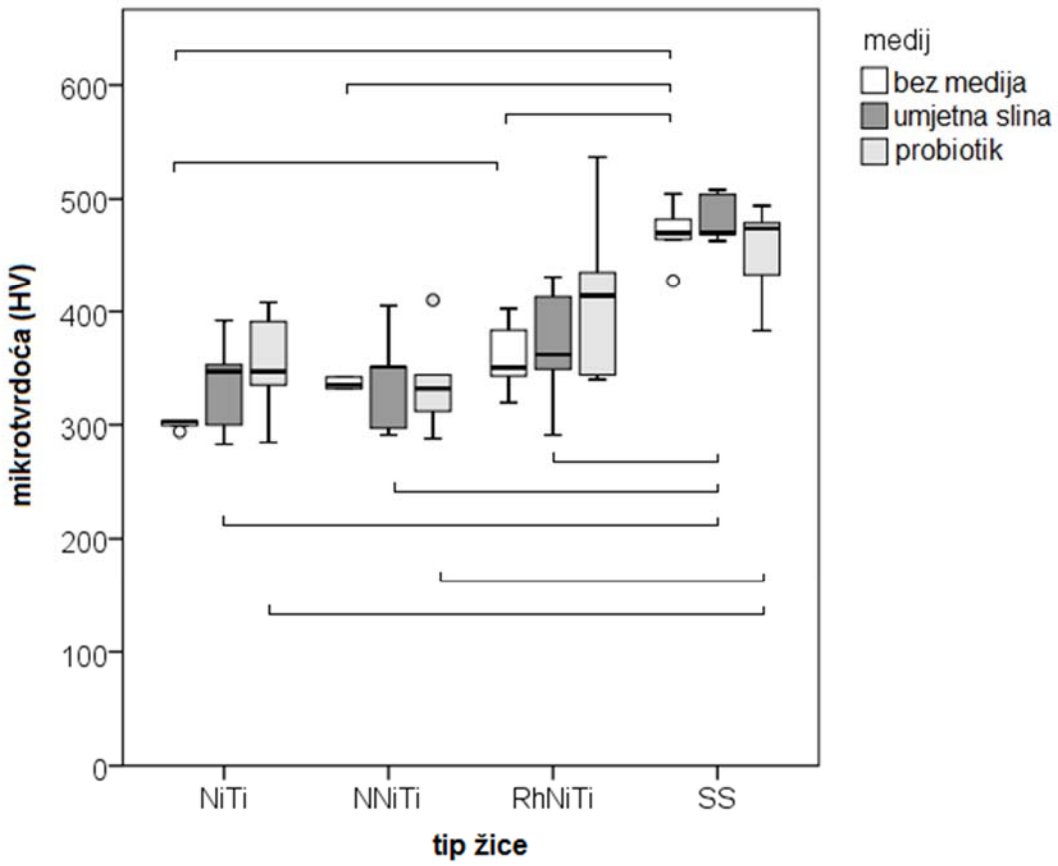
Tip žice	Medij	Aritmetička sredina ± standardna devijacija	p*	η2**
NiTi	bez medija	305,2±12,5		
	umjetna slina	335,0±43,7		
	probiotik	353,2±48,6	0,180	0,249
NNiTi	bez medija	343,7±49,1		
	umjetna slina	339,0±46,7		
	probiotik	337,2±45,9	0,975	0,004
RhNiTi	bez medija	359,8±33,1		
	umjetna slina	369,2±55,5		
	probiotik	414,0±80,5	0,340	0,164
SS	bez medija	469,7±28,2		
	umjetna slina	482,8±21,4		
	probiotik	452,6±45,0	0,380	0,149

*statistička značajnost; **snaga efekta.

Dvofaktorska ANOVA ukazuje da tip žice objašnjava značajan udio varijabilnosti mikrotvrdoće ($p < 0,001$; $\eta2 = 0,638$), ali ne i medij, kao ni kombinacija žice i medija. Pojedinačne jednofaktorske ANOVA-e potvrđuju da medij ne utječe na promjenu tvrdoće unutar istog tipa žice, Tablica 15.

Čelična nekorodirana žica ima značajno veću tvrdoću od nikal-titanijevih, a rodinirana veću od neobložene ($p < 0,001$; $\eta2 = 0,807$), Slika 36. Nitrirana se ne razlikuje značajno od neobložene i rodinirane.

Nakon korozije u umjetnoj slini čelična je žica i dalje značajno tvrđa od nikal-titanijevih između kojih nema razlika ($p < 0,001$; $\eta2 = 0,702$). Nakon korozije u umjetnoj slini s dodatkom probiotika čelična žica i dalje ima veću tvrdoću od nitrirane i neobložene nikal-titanijeve žice, ali ne i od rodinirane ($p = 0,019$; $\eta2 = 0,454$).



Slika 36. Usporedba mikrotvrdoće između tipova žica i eksperimentalnih stanja; dijagrami s pravokutnikom prikazuju medijan, interkvartilni raspon te maksimalne i minimalne vrijednosti; horizontalnim su crtama povezani mediji i materijali koji se značajno razlikuju.

5. RASPRAVA

5.1. Korozijski procesi

Naše istraživanje upućuje da probiotički pripravak koji se oralno primjenjuje s ciljem poboljšanja oralnoga zdravlja i održavanja povoljne mikrobne flore, u određenoj mjeri utječe na koroziju dviju najčešće korištenih slitina u ortodontskim napravama – nehrđajućeg čelika i NiTi. Korozijski procesi mogu biti opći i lokalizirani. No, čista probiotička bakterija ima manji utjecaj nego probiotički pripravak.

Pretpostavka da će, uz korozivno djelovanje sline, probiotički pripravak dodatno povećati opću i lokaliziranu koroziju, nije se pokazala u cijelosti točna. Na NiTi slitinama neobložene površine i na čeliku probiotički pripravak uzrokuje veću sklonost prema lokaliziranoj koroziji, ali manju prema općoj koroziji. Opća je korozija najčešća vrsta koja pogađa sve metale, a pojavljuje se na cijeloj površini metala (91). Biokorozija, odnosno mikrobiološki poticana korozija, kompleksan je tip okolišno asistirane korozije koju karakterizira ubrzana degradacija metala i slitina zbog prisutnosti biofilma na površini (74). Biofilm čine skupina mikroorganizama i njihovi izvanstanični produkti. Mikrobna aktivnost i ekstracelulatrni enzimi unutar biofilma formiranog na površini metala ili slitina utječu na elektrokemijsku kinetiku te mogu ubrzati, ali i u usporiti koroziju (63).

Korozivno djelovanje probiotičkih bakterija nije u potpunosti istraženo. Dokazano je da probiotičke bakterije imaju sposobnost mijenjanja okoline te snižavanja pH čime smanjuju potencijalnu adheziju patoloških bakterija na površine, dok određene bakterijske vrste apsorbiraju i probavljaju metale iz slitina što implicira što implicira mogući utjecaj probiotika na koroziju metalnih slitina (20, 92, 93).

Površina NiTi prijemčiva je na sumpor-oksidirajuće i sulfat-reducirajuće bakterije pri čemu je njihov rast stimuliran slinom, posebice niskog pH, koja je karakteristična za gingivitis (94). Nizak pH pogoduje razvoju mangan-oksidirajućih i željezo-oksidirajućih bakterija koje oksidiraju te metale otpuštajući pritom ione metala u slinu gdje reagiraju s kloridnim ionima te stvaraju nove korozivne produkte kao što su $FeCl_3$ i $MnCl_2$. Osim navedenih bakterija mikrobiološki potaknutu koroziju mogu uzrokovati i nitro-reducirajuće bakterije i metanogene bakterije (95, 96).

Naša je hipoteza bila i da probiotik ima veći utjecaj na čelik nego na NiTi, no nije potvrđena. Probiotički pripravak, naime, uzrokuje pojavu lokalizirane korozije i kod čeličnih i kod neobloženih NiTi žica. No, to nije posljedica primarno probiotičke bakterije, nego dodatnih tvari iz probiotičkog pripravka. Dosadašnja su istraživanja ukazivala da je pojava i jamičaste i

lokalizirane korozije izraženija kod čeličnih nego kod NiTi žica (97, 98). Smatra se da titanijeve žice zbog stvaranja pasivnog TiO_2 filma na svojoj površini imaju veću korozivnu otpornost nego čelične na kojima se stvara Cr_2O_3 pasivni film ako na njih tvornički nije nanesena neka druga prevlaka (99).

Međutim, pasivni TiO_2 film u oralnoj šupljini može degradirati pod utjecajem florida, mliječne kiseline, karbamid-peroksida i vodikova peroksida (100, 101). Također, u prisutnosti oralnih bakterija pasivni oksidni film na titanijevim slitinama može oslabiti te metal postaje podložniji koroziji. Oralne bakterije koje koloniziraju titanijeve površine na njima razvijaju biofilm te dolazi do slabljenja oksidnog filma i razvoja jamičaste korozije (102, 103).

Metal podliježe reakcijama oksidacije i redukcije u mediju koji ga okružuje, a ovisno o vrsti metala korozija će biti različitog intenziteta. Lokaliziranu koroziju obilježava to da je intenzitet korozije pojačan na lokalnoj razini. Pojavit će se ako postoji nehomogenost u sastavu materijala ili okoline. Granice zrna u metalu mogu biti mjesto gdje počinje korozija zbog svoga stanja povišene energije. Pukotine su također osjetljive na koroziju, s obzirom na to da je kemijski sastav u njima drukčiji od okolnog medija. Usna je šupljina idealno okružje za razvoj korozije, a već je istaknuto da određene bakterijske vrste mogu uzrokovati koroziju titanijevih materijala (71, 102, 104). Naše istraživanje upućuje na to da bi pojava lokalizirane korozije tek u manjoj mjeri mogla biti potaknuta probiotičkim bakterijama iz pripravka *BioGaia*. Vjerojatnije je da je korozija posljedica taloženja netopivih komponenti pastile na ortodontsku žicu, pri čemu se pojavljuje ispod naslaga, nego da je rezultat redoks-procesa koji kataliziraju bakterije. Konstrukcija ortodontske naprave omogućuje idealne uvjete za adheziju bakterija te razvoj biofilma u kojemu nastaje složen mehanizam interakcije između aerobnih i anaerobnih bakterija, što pogoduje nastanku korozije. Korozivno djelovanje probiotičkih pripravka i *L. reuteri* na ortodontske lukove dosad nije istraženo. Ni mehanizam djelovanja probiotika nije potpuno objašnjen, ali dokazano je da oba sprječavaju adheziju patoloških bakterija na površine, mijenjaju pH okoline, a time i uvjete za život patogenih mikroorganizama, izlučuju antimikrobne tvari te utječu na imunološki odgovor domaćina (105). Upravo su promjene uvjeta u okolini, zbog metaboličkih produkata probiotičkih bakterija, drugi mogući način nastanka korozije na NiTi slitini.

Očekivali smo da će vrsta obloge promijeniti sklonost prema koroziji te da će nitriranje površine smanjivati, a rodiniranje povećavati tu sklonost. Kako smo i pretpostavili, ovo istraživanje potvrđuje da oblaganje površine mijenja sklonost prema koroziji. Općenito, nitriranje površine poboljšava korozijsku otpornost, a rodiniranje je smanjuje. Probiotički pripravak utječe i na

opću i na lokaliziranu koroziju, a utjecaj je modificiran vrstom obloge. Na rodiniranoj je žici vidljivo povećanje i opće korozije i pojave lokalizirane korozije nakon primjene probiotičkog pripravka. No, treba naglasiti da se kod rodinirane žice lokalizirana korozija javlja i u čistoj slini. Na neobloženoj žici probiotički pripravak smanjuje opću koroziju, ali povećava lokaliziranu. U slučaju nitrirane žice probiotik neće u većoj mjeri mijenjati ni opću ni lokaliziranu koroziju u odnosu na samu slinu. Kod čelične žice u prisutnosti probiotika lakše dolazi do lokaliziranog korozijskog oštećenja nego u samoj slini. Čiste bakterije imaju manji utjecaj na koroziju od probiotičkog pripravka. Najveći se utjecaj vidi kod čelika, ali ne dolazi do smanjenja korozijske otpornosti tih žica nego do njezina poboljšanja.

Impedancijski spektri indiciraju da na neobloženoj NiTi, zbog kraćeg ili dužeg izlaganja slini, postoji površinski oksidni sloj, dok kod čelične i rodinirane, nakon kraćeg ili dužeg izlaganja slini, te kod nitrirane, nakon dužeg izlaganja, ukazuju na postojanje poroznog sloja iznad kompaktnoga unutarnjeg sloja. U literaturi već postoje podatci o sličnom dodatnom sloju za rodinirane žice (106). I nakon izlaganja probiotičkom pripravku sve žice pokazuju postojanje dodatnog sloja. Pojava dodatnoga električnog ekvivalentnog kruga može se pripisati ili taloženju ispitivanog pripravka ili adsorpciji neke od prisutnih aktivnih tvari na dio površine žice. Može se pretpostaviti da se taj dodatni električni ekvivalentni krug javlja zbog prisutnosti vanjskog poroznog filma rodija i zlata na rodiniranoj žici, odnosno tvornički nanesenoga zaštitnog filma TiO_2 na čeličnoj žici na što ukazuju rezultati Ramanove spektroskopije. Ne može se također isključiti mogućnost da kod uzoraka koji su bili u mediju s bakterijama, taj dodatni krug nije posljedica postojanja biofilma. Izgleda da se na RhNiTi najlakše stvara biofilm.

Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti da je ispitivani probiotički pripravak najsigurniji za primjenu na nitriranim žicama, a za neobložene žice postoji velika mogućnost da se pojave lokalizirana korozijska oštećenja koja bi potaknula otpuštanje iona nikla u usnu šupljinu. Dosadašnja istraživanja na tim vrstama žica pokazala su slične rezultate. Smanjena korozijska otpornost rodiniranih žica objašnjena je pojavom mikrogalvanskih članaka između plemenite prevlake i manje plemenite podloge (NiTi slitine) koji se pojavljuju zbog defekata u samoj prevlaci (5).

5.2. Promjene mehaničkih svojstava

Ovo istraživanje ukazuje da oralni probiotički pripravak u maloj mjeri utječe na mijenjanje mehaničkih svojstava i morfologije površine čelika i NiTi. Ne utječe značajno na mikrotvrdoću i trenje, ali donekle povećava površinsku hrapavost, a obloga modificira utjecaj.

Ostvareni rezultati pokazuju da je probiotik uzrokovao veće promjene na NiTi slitini nego na čeliku. Probiotički pripravak nije značajno utjecao na površinsku hrapavost, kao ni na trenje ni na mikrotvrdoću čeličnih žica, iako postoji lagana tendencija k povećanju hrapavosti i trenja i nakon ekspoziciji i slini i probiotiku. Izgleda da čista bakterija čak usporava korozivni učinak sline, barem u razdoblju od mjesec dana koliko je trajalo izlaganje u ovom istraživanju. Kemijska analiza površine ukazuje da se kod ortodontskih čeličnih lukova nalazi tvornički nanesen premaz titanij-dioksida koji se upotrebljava za antimikrobnu aktivnost (107 – 109).

Slina je samostalno agresivniji medij za čelik od sline s probiotičkom bakterijom *L. reuteri* jer inducira oksidaciju željeza u hematit i magnetit što bi se moglo pripisati njezinoj pH-vrijednosti koja favorizira oksidaciju ometajući taj proces u prisutnosti bakterija.

Ovo istraživanje ukazuje da je površinska hrapavost neobloženih NiTi žica promijenjena nakon izlaganja probiotičkom pripravku, a i čistim probiotičkim bakterijama. Elektrokemijska analiza ukazuje da se tu radi o pojavi lokalizirane korozije.

Istraživanja su dokazala povezanost korozije slitina i povećanja površinske hrapavosti koje neposredno utječe na mehanička svojstva žica te može rezultirati pucanjem ortodontske naprave (110). Površinska hrapavost utječe na koeficijent trenja, što je bitan čimbenik u ortodontskom pomaku zuba (111-113). Pojavljuje se pri sklizanju žice kroz bravicu. Što je trenje između bravice i žice veće, više se sile troši na svladavanje otpora trenja, a to u konačnici usporava pomak zuba i produljuje ortodontsku terapiju. Iako je površinska hrapavost NiTi slitina povećana nakon ekspozicije slini i probioticima, u našem istraživanju to nije značajno promijenilo trenje niti mikrotvrdoću.

Modifikacija površine materijala provodi se radi poboljšavanja mehaničkih svojstava ili estetike, ali treba imati na umu da se ne smije smanjiti otpornost na koroziju, kao ni promiljeti biokompatibilnost u ljudskom tijelu. U dosadašnjim je uočena povećana površinska hrapavost rodiniranih NiTi žica u odnosu na neobložene te NiTi žice s polimernom prevlakom (114, 115).

Ovo istraživanje potvrđuje da oblaganje površine NiTi slitine može modificirati utjecaj probiotičkog pripravka i čiste probiotičke bakterije. Probiotički pripravak smanjuje površinsku hrapavost kod nitrirane NiTi slitine u odnosu na utjecaj same sline, a povećava površinsku

hrapavost kod rodinirane. Međutim, utjecaj probiotičkog pripravka na trenje i mikrotvrdoću nije modificiran oblogom površine. Jedan je dio toga utjecaja uzrokovan čistom probiotičkom bakterijom (kod nitrirane), a drugi je uvjetovan dodatkom pripravku, a ne čistom bakterijom (kod rodinirane). Izgleda da bakterije pridonose povećavaju površinske hrapavosti neobložene NiTi povrh utjecaja sline, ali ne i kada je slitina obložena rodijem ili nitridom. To bi se moglo objasniti kombinacijom dviju kompleksnih pojava – bakterijskom adhezijom koja rezultira stvaranjem filma što usporava koroziju (ili samo zaglađuje površinu) i bakterijski induciranom precipitacijom korozivnih produkata na površinske poroznosti. Učinak bi mogao biti kratkotrajan jer zreli biofilm uglavnom propagira koroziju metala, ali je može i usporiti (63, 116). Kemijska analiza površine ukazuje da eksponiranje NiTi slitine, bez obzira na površinsku obradu, ne dovodi do kemijskih promjena, iako su vidljive morfološke promjene površine.

Prethodno smo objavili rezultate dobivene analizom površine žica s pomoću profilometra gdje je prikazano da probiotički pripravak *BioGaia* ne mijenja značajno površinsku mikrogeometriju NiTi slitina u usporedbi s čistom slinom u razdoblju od mjesec dana (117). No, metoda analize profilometar inferiornija je jer procjenjuje hrapavost na mikrorazini, dok AFM mjeri na nanorazini (118). Tri su ispitivana parametra hrapavosti katkad pokazala različite rezultate. Parametri R_a i R_{ms} ukazali su na to da probiotičke bakterije povećavaju površinsku hrapavost povrh utjecaja sline kod neobložene žice, ali prema M_h slina i probiotičke bakterije smanjuju hrapavost. *M*h nije izravna mjera hrapavosti, nego ovisi o svojstvima materijala na kompleksniji način. Iako se R_a najčešće rabi za kvantifikaciju površinske hrapavosti, R_{ms} je precizniji, relevantniji i osjetljiviji od njega (119). Budući da je preciznost svih mjerenja u ovom radu bila dobra, primijenjena je za kontrolu slučajne pogrješke. Razlike u nalazima hrapavosti neobloženih žica u pokusu s bakterijama i pokusu s probiotičkim pripravkom posljedica su različite tehnologije snimanja.

Ne postoji idealna slitina koja bi mogla pokriti potrebe svih faza ortodontske terapije. U fazi horizontalne i vertikalne nivelacije bolje je imati elastičnu slitinu, manje tvrdoće, a ne prevelike hrapavosti i trenja. U radnoj je fazi bolje imati kruću i tvrđu slitinu, niske hrapavosti i trenja, dok je u završnoj fazi potrebna slitina umjerene krutosti i tvrdoće koja može biti i hrapavija i imati više trenje. Površinska je hrapavost najveća kod rodinirane žice, a najmanja kod čelične, dok je kod nitrirane nešto niža od neobložene. Rodiniranje povećava površinsku hrapavost, a nitriranje malo smanjuje, ali i dalje je veće nego kod čelične. Ekspozicija slitina oralnom mediju donekle mijenja njihova svojstva. Tako slina povećava hrapavost NiTi, ali ne i čelika, no ne utječe značajno na trenje i tvrdoću.

Rodiniranje površine zbog povećane površinske hrapavosti povećava adherenciju biofilma probiotičkih bakterija te korozijskih oštećenja, a nitriranje donekle smanjuje. Kako probiotički pripravak ne mijenja značajno hrapavost, tvrdoću i trenje čelika koji dugo stoji u ustima i kod kojeg je važno nisko trenje, radi klizanja zubi pri zatvaranju ekstrakcijskih prostora, probiotički se pripravak može upotrebljavati u ortodontskoj terapiji bez opasnosti od utjecaja na biomehaniku. Pripravak ne mijenja značajno ni trenje ni tvrdoću NiTi slitine, bez obzira na vrstu obloge, stoga je on siguran za primjenu i kod tog materijala te vjerojatno ne bi imao utjecaj na tijek i ishod ortodontske terapije.

6. ZAKLJUČAK

- U čistoj umjetnoj slini čelične žice pokazuju veću sklonost općoj i lokaliziranoj koroziji od NiTi žica kod kojih nitiranje površine poboljšava, a rodiniranje smanjuje korozijsku otpornost.
- Probiotičke bakterije *L. reuteri* i pripravak *BioGaia* utječu na brzinu opće korozije, kao i na mogućnost pojave lokalizirane korozije, a učinak je ovisan o tipu slitine i oblozi.
- Probiotički pripravak *BioGaia* povećava opću koroziju kod rodinirane žice te uzrokuje pojavu lokalizirane korozije kod neobložene NiTi i čelične žice.
- Čista bakterija ima manji utjecaj na opću i lokaliziranu koroziju od probiotičkog pripravka. Najizraženiji je utjecaj na čelične žice kod kojih u prisutnosti bakterija dolazi do poboljšanja otpornosti prema općoj korozija i nastanka pasivnoga oksidnog filma boljih zaštitnih svojstava od onog u čistoj slini.
- Bakterije povećavaju površinsku hrapavost neobložene NiTi povrh utjecaja sline, ali smanjuju utjecaj sline na indukciju hrapavosti kada je slitina obložena rodijem ili nitridom.
- Kod čelika bakterije već usporavaju utjecaj sline na indukciju hrapavosti.
- Probiotički pripravak inducira veću površinsku hrapavost kod svih NiTi, ali bez utjecaja na trenje ili mikrotvrdoću.
- Probiotički pripravak ne utječe značajno na mehanička svojstva čelika.
- Dodatne tvari iz probiotičkog pripravka utječu na koroziju povrh utjecaja same probiotičke bakterije.
- Ne može se očekivati znatan utjecaj probiotika na ortodontsku biomehaniku.

7. LITERATURA

1. Špalj S, Katalinić A, Varga S, Radica N. Ortodontski priručnik. Rijeka: Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci; 2012. p. 1-2, 88.
2. Eliades T, Brantley WA. Orthodontic applications of biomaterials. New York: Elsevier; 2017.
3. Proffit WR, Fields HW, Sarver DM. Ortodoncija. Jastrebarsko: Naklada Slap; 2010.
4. Weltman B, Vig KW, Fields HW, Shanker S, Kaizar EE. Root resorption associated with orthodontic tooth movement: a systematic review. Am J Orthod Dentofac Orthop. 2010;137:462-76.
5. Lijima M, Yuasa T, Endo K, Muguruma T, Ohno H, Mizoguchi I. Corroion behavior of ion implanted nickel-titanium orthodontic wire in fluoride mouth rinse solutions. Dent Mater J. 2010;29:53-8.
6. Katić V, Curković HO, Semenski D, Baršić G, Marušić K, Spalj S. Influence of surface layer on mechanical and corrosion properties of nickel-titanium orthodontic wires. Angle Orthod. 2014;84:1041-8.
7. Katić V, Mandić V, Ježek D, Baršić G, Špalj S. Influence of various fluoride agents on working properties and surface characteristics of uncoated, rhodium coated and nitrified nickel-titanium orthodontic wires. Acta Odontol Scand. 2015;73:241-9.
8. Lucchese A, Bondemark L, Marcolina M, Manuelli M. Changes in oral microbiota due to orthodontic appliances: a systematic review. J Oral Microbiol. 2018;10:1476645.
9. Arneberg P, Giertsen E, Emberland H, Ogaard B. Intra-oral variations in total plaque fluoride related to plaque pH. A study in orthodontic patients. Caries Res. 1997;31:451-6.
10. Heymann GC, Grauer D. A contemporary review of white spot lesions in orthodontics. J Esthet Restor Dent. 2013;25:85-95
11. Gorelick L, Geiger A, Gwinnett A. Incidence of white spot formation after bonding and banding. Am. J. Orthod. 1982;81:93-8.
12. Boke F, Gazioglu C, Akkaya S, Akkaya M. Relationship between orthodontic treatment and gingival health: A retrospective study. Eur J Dent. 2014;8:373–80.
13. Boyd RL, Baumrind S. Periodontal implications of orthodontic treatment in adults with reduced or normal periodontal tissue versus those of adolescents. Angle Orthod. 1992;62:117-26.
14. Van Gastel J, Quirynen M, Tenghles W, Carels C. The relationships between malocclusion, fixed orthodontic appliances and periodontal disease. A review of the literature. Aust Orthod J. 2007;23:121-9.

15. Ahlström MG, Thyssen JP, Menné T, Johansen JD. Prevalence of nickel allergy in Europe following the EU Nickel Directive - a review. Contact Dermatitis. 2017;77:193-200.
16. Uter W, Amario-Hita JC, Balato A, Ballmer-Weber B, Bauer A, Belloni Fortina A, et al. European Surveillance System on Contact Allergies (ESSCA): results with the European baseline series, 2013/14. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2017;31:1516-25.
17. Saint-Georges V, Peternel S, Kaštelan M, Pavlić A, Špalj S. High prevalence of hypersensitivity to nickel: should orthodontists worry? Book of Abstracts 117th Annual Session of American Association of Orthodontists. San Diego; 2017.
18. Yamaguchi M., Kasai K. The effects of orthodontic mechanics on the dental pulp. Semin. Orthod. 2007;13:272-80.
19. de Vrese M, Schrezenmeir J. Probiotics, prebiotics, and synbiotics. Adv Biochem Eng Biotechnol. 2008;111:1-66.
20. Gueimonde M, Salminen S. New methods for selecting and evaluating probiotics. Dig Liver Dis. 2006;38 Suppl 2:242-7.
21. Parvez S, Malik KA, Ah Kang S, Kim HY. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. J Appl Microbiol. 2006;100:1171-85.
22. Allaker RP, Stephen AS. Use of probiotics and oral health. Curr Oral Health Rep. 2017;4:309-18.
23. Rosan B, Lamont RJ. Dental plaque formation. Microbes Infect. 2000;2:1599–607.
24. Devine DA, Marsh PD. Prospects for the development of probiotics and prebiotics for oral applications. J Oral Microbiol. 2009;1:1-11.
25. Schmitter T, Fiebich BL, Fischer JT, Gajfulin M, Larsson N, Rose T, Goetz MR. Ex vivo anti-inflammatory effects of probiotics for periodontal health. J Oral Microbiol. 2018;10:1502027.
26. Näse L, Hatakka K, Savilahti E, Saxelin M, Pönkä A, Poussa T, et al. Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, Lactobacillus rhamnosus GG, in milk on dental caries and caries risk in children. Caries Res. 2001;35:412-20.
27. Krasse P, Carlsson B, Dahl C, Paulsson A, Nilsson A, Sinkiewicz G. Decreased gum bleeding and reduced gingivitis by the probiotic Lactobacillus reuteri. Swed Dent J. 2006;30:55-60.
28. Della Riccia DN, Bizzini F, Perilli MG, Polimeni A, Trinchieri V, Amicosante G, Cifone MG. Antiinflamatory effects of lactobacillus brevis (CD2) on periodontal disease. Oral Dis. 2007;13:376-85.

29. Tsubura s, Mizunuma H, Ishikawa S, Oyake I, Okabayashi M, Katoh K, et al. The effect of Bacillus subtilis mouth rinsing in patients with periodontitis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2009;28:1353-6.
30. Muniz FW, Friedrich SA, Silveira CF, Rösing CK. The impact of chewing gum on halitosis parameters: a systematic review. J Breath Res. 2017;11:014001.
31. Talarico TL, Casas IA, Chung TC, Dobrogosz WJ. Production and isolation of reuterin, a growth inhibitor produced by Lactobacillus reuteri. Antimicrob Agents Chemother. 1988;32:1854-8.
32. Kabuki T, Saito T, Kawai Y, Uemura J, Itoh T. Production, purification and characterization of reutericin 6, a bacteriocin with lytic activity produced by Lactobacillus reuteri LA6. Int J Food Microbiol. 1997;34:145-56.
33. Gänzle MG, Höltzel A, Walter J, Jung G, Hammes WP. Characterization of reutericyclin produced by Lactobacillus reuteri LTH2584. Appl Environ Microbiol. 2000;66:4325-33.
34. Jones S, Versalovic J. Probiotic Lactobacillus reuteri biofilms produce antimicrobial and anti-inflammatory factors. BMC Microbiol. 2009;9:1-9.
35. Jørgensen MR, Kragelund C, Jensen PØ, Keller MK, Twetman S. Probiotic Lactobacillus reuteri has antifungal effects on oral Candida species in vitro. J Oral Microbiol. 2017;9:1274582.
36. Nikawa H, Makihira S, Fukushima H, Nishimura H, Ozaki Y, Ishida K, Darmawan S, Hamada T, Hara K, Matsumoto A, Takemoto T, Aimi R. Lactobacillus reuteri in bovine milk fermented decreases the oral carriage of mutans streptococci. Int J Food Microbiol. 2004;95:219-23.
37. Stensson M, Koch G, Coric S, Abrahamsson TR, Jenmalm MC, Birkhed D, et al. Oral administration of Lactobacillus reuteri during the first year of life reduces caries prevalence in the primary dentition at 9 years of age. Caries Res. 2014;48:111-7.
38. Marttinen A, Haukioja A, Karjalainen S, Nylund L, Satokari R, Öhman C, et al. Short-term consumption of probiotic lactobacilli has no effect on acid production of supragingival plaque. Clin Oral Investig. 2012;16:797-803.
39. Keller MK, Twetman S. Acid production in dental plaque after exposure to probiotic bacteria. BMC Oral Health. 2012;12:44.
40. Cagetti MG, Mastroberardino S, Milia E, Cocco F, Lingström P, Campus G. The use of probiotic strains in caries prevention: a systematic review. Nutrients. 2013;5:2530-50.

41. Laleman I, Detailleur V, Slot DE, Slomka V, Quirynen M, Teughels W. There is insufficient evidence that probiotics can prevent caries, but they can reduce the mutans streptococci counts. Probiotics reduce mutans streptococci counts in humans: a systematic review and meta-analysis. Clin Oral Investig. 2014;18:1539-52.
42. Keller MK, Bardow A, Jensdottir T, Lykkeaa J, Twetman S. Effect of chewing gums containing the probiotic bacterium Lactobacillus reuteri on oral malodour. Acta Odontol Scand. 2012;70:246-50.
43. Fujiwara N, Murakami K, Nakao M, Toguchi M, Yumoto H, Amoh T, Hirota K, Matsuo T, Sano S, Ozaki K, Miyake Y. Novel reuterin-related compounds suppress odour by periodontopathic bacteria. Oral Dis. 2017;23:492-7.
44. Twetman S, Keller MK, Lee L, Yucel-Lindberg T, Pedersen AML. Effect of probiotic lozenges containing Lactobacillus reuteri on oral wound healing: a pilot study. Benef Microbes. 2018. doi: 10.3920/BM2018.0003.
45. Jørgensen MR, Keller MK, Kragelund C, Hamberg K, Ericson D, Nielsen CH, Twetman S. Lactobacillus reuteri supplements do not affect salivary IgA or cytokine levels in healthy subjects: A randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over trial. Acta Odontol Scand. 2016;74:399-404.
46. Iniesta M, Herrera D, Montero E, Zurbriggen M, Matos AR, Marín MJ, Sánchez-Beltrán MC, Llama-Palacio A, Sanz M. Probiotic effects of orally administered Lactobacillus reuteri-containing tablets on the subgingival and salivary microbiota in patients with gingivitis. A randomized clinical trial. J Clin Periodontol. 2012;39:736-44.
47. Montero E, Iniesta M, Rodrigo M, Marín MJ, Figuero E, Herrera D, Sanz M. Clinical and microbiological effects of the adjunctive use of probiotics in the treatment of gingivitis: A randomized controlled clinical trial. J Clin Periodontol. 2017;44:708-16.
48. Ikram S, Hassan N, Raffat MA, Mirza S, Akram Z. Systematic review and meta-analysis of double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trials using probiotics in chronic periodontitis. J Investig Clin Dent. 2018. doi: 10.1111/jicd.12338.
49. Dassi E, Ferretti P, Covello G; HTM-CMB-2015, Bertorelli R, Denti MA, De Sanctis V, Tett A, Segata 3. The short-term impact of probiotic consumption on the oral cavity microbiome. Sci Rep. 2018;8:10476.
50. Gruner D, Paris S, Schwendicke F. Probiotics for managing caries and periodontitis: Systematic review and meta-analysis. J Dent. 2016;48:16-25.

51. Yoo JI, Shin IS, Jeon JG, Yang YM, Kim JG, Lee DW. The effect of probiotics on halitosis: a systematic review and meta-analysis. Probiotics Antimicrob Proteins. 2017. doi: 10.1007/s12602-017-9351-1.
52. Jarić B, Rešetić A. Korozija: elektrokemijske osnove i katodna zaštita. Zagreb: Korexpert; 2003.
53. Upadhyay D, Panchal MA, Dubey RS, Srivastava VK. Corrosion of alloys used in dentistry: A review. Mater Sci Eng A. 2006;432:1–11.
54. Palaghias G. The role of phosphate and carbonic acid-bicarbonate buffers in the corrosion processes of the oral cavity. Dent Mater. 1985;1:139-44.
55. Piljac I. Senzori fizikalnih veličina i elektroanalitičke metode. Zagreb: Mediaprint – Tiskara Hrastić; 2010. p. 318–20.
56. House K, Sernetz F, Dymock D, Sandy JR, Ireland AJ. Corrosion of orthodontic appliances--should we care?. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2008;133:584-92.
57. Serdarević NL. Korozija ortodontskih žica u umjetnoj slini [završni rad]. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije; 2014.
58. Kim H, Johnson JW. Corrosion of stainless steel, nickel-titanium, coated nickel titanium, and titanium orthodontic wires. Angle Orthod 1999;69:39-44.
59. Karov J, Hinberg I. Galvanic corrosion of selected dental alloys. J Oral Rehabil. 2001;28:212-9.
60. von Fraunhofer JA. Corrosion of orthodontic devices. Semin Orthod. 1997;3:198-205.
61. Dong H, Ju X, Yang H, Qian L, Zhou Z. Effect of ceramic conversion treatments on the surface damage and nickel ion release of NiTi alloys under fretting corrosion conditions. J Mater Sci Mater Med. 2008;19:937-46.
62. Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: normal composition, flow, and function. J Prosthet Dent. 2001;85:162-9.
63. Beech IB, Sunner J. Biocorrosion: towards understanding interactions between biofilms and metals. Curr Opin Biotech. 2004;15:181-6.
64. Beech IB, Sunner JA, Hiraoka K. Microbe-surface interactions in biofouling and biocorrosion processes. Int Microbiol. 2005;8:157-68.
65. Geiser M, Avci R, Lewandowski Z. Microbially initiated pitting on 316L stainless steel. Int Biodeterior Biodegrad. 2002;49:235-43.
66. Videla HA. Microbially induced corrosion: an updated overview. Int Biodegr. 2001;48:176-201.

67. Characklis WC. Fouling biofilm development: a process development. Biotech Bioeng. 1981;23:1923-60.

68. Papadopoulou K, Eliades T. Microbiologically-influenced corrosion of orthodontic alloys: a review of proposed mechanisms and effects. Aust Orthod J. 2009;25:63-75.

69. Matasa CG. Biomaterials in orthodontics. In: Graber TM, Vanarsdall R, eds. Orthodontics: Current principles and techniques. St. Louis: CV Mosby; 2000:305-38.

70. Chang JC, Oshida Y, Gregory RL, Andres CJ, Barco TM, Brown DT. Electrochemical study on microbiology-related corrosion of metallic dental materials. Biomed Mater Eng. 2003;13:281-95.

71. Souza JCM, Ponthiaux P, Henriques M, Oliveira R, Teughels W, Celis JP, Rocha LA. Corrosion behaviour of titanium in the presence of Streptococcus mutans. J Dent. 2013;41:528-34.

72. Bahije L, Benyahia H, Hamzaoui SE, Touhami ME, Bengueddour R, Rerhrhaye W, Abdallaoui F, Zaoui F. Behavior of NiTi in the presence of oral bacteria. Corrosion by Streptococcus mutans, Int Orthod. 2011;9:110-9.

73. Zhang SM, Qiu J, Tian F, Guo XK, Zhang FQ, Huang QF. Corrosion behavior of pure titanium in the presence of Actinomyces naeslundii. J Mat Sci Mater Med. 2013;24:1229-37.

74. Li K, Whitfield M, Van Vliet KJ. Beating the bugs: roles of microbial biofilms in corrosion. Corros Rev. 2013;31:73–84.

75. Pečar D, Slemnik M, Goršek A. Testing the corrosion resistance of stainless steels during the fermentation of probiotic drink. J Sci Food Agric. 2011;91:1293-7.

76. Jose JE, Padmanabhan S, Chitharanjan AB. Systemic consumption of probiotic curd and use of probiotic toothpaste to reduce Streptococcus mutans inplaque around orthodontic brackets. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2013;144:67-72

77. Cildir SK, Germec D, Sandalli N, Ozdemir FI, Arun T, Twetman S, et al. Reduction of salivary mutans streptococci in orthodontic patients during daily consumption of yoghurt containing probiotic bacteria. Eur J Orthod. 2009;31:407-11.

78. Bass JK, Fine HF, Cisneros GJ. Nickel hypersensitivity in the orthodontic patient. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1993;103:280-285.

79. Kerosuo H, Kullaa A, Kerosuo E, Kanerva L, Hensten-Pettersen A. Nickel allergy in adolescents in relation to orthodontic treatment and piercing of ears. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1996;109:148-54.

80. Spalj S, Mlacovic Zrinski M, Tudor Spalj V, Ivankovic Buljan Z. In-vitro assessment of oxidative stress generated by orthodontic archwires. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2012;141:583-9.

81. Iijima M, Endo K, Ohno H, Yonekura Y, Mizoguchi I. Corrosion behavior and surface structure of orthodontic Ni-Ti alloy wires. Dent Mater J. 2001;20:1103–113.

82. Setcos JC, Babaei-Mahani A, Silvio LD, Mjor IA, Wilson NH. The safety of nickel containing dental alloys. Dent Mater. 2006;22:1163-8.

83. Eliades T, Athanasiou AE. In vivo aging of orthodontic alloys: implications for corrosion potential, nickel release, and biocompability. Angle Orthod. 2002;72:222-37.

84. Katic V, Curkovic L, Ujevic Bosnjak M, Spalj S. Determination of corrosion rate of orthodontic wires based on nickel-titanium alloy in arteficial saliva. Materialwiss Werkst. 2014;45:99-105.

85. Igarashi K, Lee IK, Schachtele CF. Effect of dental plaque age and bacterial composition on the pH of artificial fissures in human volunteers. Caries Res. 1990;24:52-8.

86. Kao CT, Ding SJ, He H, Chou MY, Huang TH. Cytotoxicity of orthodontic wire corroded in fluoride solution in vitro. Angle Orthod. 2007;77:349-54.

87. Ohsaka T, Izumi F, Fujiki Y. Raman spectrum of anatase, TiO_2. J Raman Spectrosc. 1978;7:321–4.

88. de Faria DLA, Silva SV, de Oliveira MT. Raman microspectroscopy of some iron oxides and oxyhydroxides. J Raman Spectrosc. 1997;28:873-8.

89. HORIBA's spectral database, FTMinlab - inorganics, minerals and gemstones (FT-Raman) pigments – pigments and dyes. [Internet]. Kyoto:Horiba; c1996-2018 [cited 2018 Sept 23]. Available from: http://www.horiba.com/us/en/scientific/products/raman-spectroscopy/accessories/raman-spectral-libraries/.

90. Chen CC, Liang XT, Tse WS, Chen IY, Duh JG. Raman spectra of titanium nitride thin films. Chin J Phys. 1994;32:205-10.

91. House K, Sernetz F, Dymock D, Sandy JR, Ireland AJ. Corrosion of orthodontic appliances--should we care? Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2008;133:584-92.

92. Reid G, Jass J, Sebulsky MT, McCormick JK. Potential uses of probiotics in clinical practice. Clin Microbiol Rev. 2003;16:658-72.

93. Meurman JH. Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? Eur J Oral Sci. 2005;113:188-96.

94. Cwalina B, Dec W, Michalska JK, Jaworska-Kik M, Student S. Initial stage of the biofilm formation on the NiTi and Ti6Al4V surface by the sulphur-oxidizing bacteria and sulphate-reducing bacteria. J Mater Sci Mater Med. 2017;28:173.

95. Uchiyama T, Ito K, Mori K, Tsurumaru H, Harayama S. Iron-corroding methanogen isolated from a crude-oil storage tank. Appl Environ Microbiol. 2010;76:1783-8.

96. Xu D, Li Y, Song F, Gu T. Laboratory investigation of microbiologically influenced corrosion of C1018 carbon steel by nitrate reducing bacterium Bacillus licheniformis. Corros Sci. 2013;77:385-90.

97. Pulikkottil VJ, Chidambaram S, Bejoy PU, Femin PK, Paul P, Rishad M. Corrosion resistance of stainless steel, nickel-titanium, titanium molybdenum alloy, and ion-implanted titanium molybdenum alloy archwires in acidic fluoride-containing artificial saliva: An in vitro study. J Pharm Bioallied Sci. 2016;8 Suppl 1:S96-9.

98. Suarez C, Vilar T, Sevilla P, Gil J. In vitro corrosion behaviour of lingual orthodontic archwires. Int J Corrosion. 2011:2011;482-5.

99. Lin MC, Lin SC, Lee TH, Huang HH. Surface analysis and corrosion resistance of different stainless steel orthodontic brackets in artificial saliva. Angle Orthod. 2006;76:322-9.

100. Nakagawa M, Matsuya S, Shiraishi T, Ohta M. Effect of fluoride concentration and pH on corrosion behavior of titanium for dental use. J Dent Res. 1999;78:1568-72.

101. Mabilleau G, Bourdon S, Joly-Guilou ML, Filmon R, Baslé MF, Chappard D. Influence of fluoride, hydrogen peroxide and lactic acid on the corrosion resistance of commercially pure titanium. Acta Biomater. 2006;2:121-9.

102. Zhang SM, Qiu J, Tian F, Guo XK, Zhang FQ, Huang QF. Corrosion behavior of pure titanium in the presence of Actinomyces naeslundii. J Mater Sci Mater Med. 2013;24:1229-37.

103. Zhang Y, Zheng Y, Li Y, Wang L, Bai Y, Zhao Q, et al. Tantalum nitride-decorated titanium with enhanced resistance to microbiologically induced corrosion and mechanical property for dental application. PLoS One. 2015;10:e0130774.

104. Fukushima A, Mayanagi G, Nakajo K, Sasaki K, Takahashi N. Microbiologically induced corrosive properties of the titanium surface. J Dent Res. 2014;93:525-9.

105. Stamatova I, Meurman JH. Probiotics: health benefits in the mouth. Am J Dent. 2009;22:329-38.

106. Katic V, Ivankovic Buljan Z, Spalj S, Otmacic Curkovic H. Corrosion behavior of coated and uncoated nickel- titanium orthodontic wires in artificial saliva with short-term prophylactic fluoride treatment. Int J Electrochem Sci. 2018:13;4160-70.

107. Özyildiz F, Uzel A, Hazar AS, Güden M, Ölmez S, Aras I, Karaboz I. Photocatalytic antimicrobial effect of TiO2 anatase thin-film–coated orthodontic arch wires on 3 oral pathogens. Turk J Biol. 2014;38:289-95.

108. Liu J, Lou Y, Zhang C, Yin S, Li H, Sund D, Sun X. Improved corrosion resistance and antibacterial properties of composite arch-wires by N-doped TiO2 coating. RSC Adv. 2017;7:43938–49.

109. Ghasemi T, Arash V, Rabiee SM, Rajabnia R, Pourzare A, Rakhshan V. Antimicrobial effect, frictional resistance, and surface roughness of stainless steel orthodontic brackets coated with nanofilms of silver and titanium oxide: a preliminary study. Microsc Res Tech. 2017;80:599-607.

110. Chaturvedi TP. Corrosion of orthodontic brackets in different spices: in vitro study. Indian J Dent Res. 2014;25:630-4.

111. Tselepis M, Brockhurst P, West VC. The dynamic frictional resistance between orthodontic brackets and arch wires. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1994;106:131-8.

112. Kusy RP, Tobin EJ, Whitley JQ, Sioshansi P. Frictional coefficients of ion-implanted alumina against ion-implanted beta-titanium in the low load, low velocity, single pass regime. Dent Mater. 1992;8:167-72.

113. Doshi UH, Bhad-Patil WA. Static frictional force and surface roughness of various bracket and wire combinations. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2011;139:74-9.

114. Iijima M, Muguruma T, Brantley W, Choe HC, Nakagaki S, Alapati SB, Mizoguchi I. Effect of coating on properties of esthetic orthodontic nickel-titanium wires. Angle Orthod. 2012;82:319-25.

115. Rongo R, Ametrano G, Gloria A, Spagnuolo G, Galeotti A, Paduano S, Valletta R, D'Antò V. Effects of intraoral aging on surface properties of coated nickel-titanium archwires. Angle Orthod. 2014;84:665-72.

116. Garrett TR, Bhakoob M, Zhang Z. Bacterial adhesion and biofilms on surfaces. Prog Nat Sci. 2008;18:1049-56.,

117. Musa Trolic I, Turco G, Contardo L, Serdarevic NL, Otmacic Curkovic H, Spalj S. Corrosion of nickel-titanium orthodontic archwires in saliva and oral probiotic supplements. Acta Stomatol Croat. 2017;51:316-5.

118. Jouini N, Gautier A, Revel P, Mazeran PE, Bigerelle M. Multi-scale analysis of high precision surfaces by Stylus Profiler, Scanning White-Light Interferometry and Atomic Force Microscopy. Int J Surf Sci Eng. 2009;3:310-27.

119. Gadelmawla ES, Koura MM, Maksoud TMA, Elewa IM, Soliman HH. Roughness parameters. J Mater Process Technol. 2002;123:133-45.

8. ŽIVOTOPIS

Ines Musa Trolić rođena je 10. svibnja 1977. u Mostaru, Bosna i Hercegovina, gdje je završila osnovnu školu i 1996. godine Gimnaziju fra Grge Martića. Na Stomatološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu diplomirala je 25. studenoga 2002. Pripravnički staž za doktore stomatologije obavila je u Domu zdravlja Centar u Zagrebu. Pred povjerenstvom Ministarstva zdravstva i socijalne skrbi Republike Hrvatske 12. veljače 2004. položila je stručni ispit. Na specijalizaciji iz ortodoncije bila je na Klinici za stomatologiju KBC-a Zagreb od 1. studenoga 2004., a specijalistički je ispit položila 9. siječnja 2008. Doktorski studij Dentalna medicina na Stomatološkom fakultetu u Zagrebu upisala je 2013. godine. Od 2015. istraživač je na projektu Hrvatske zaklade za znanost *Imunosne i regenerativne implikacije korozije dentalnih materijala u djece i adolescenata* (IP-2014-09-7500), čiji je voditelj projekta Stjepan Špalj. Javnu obranu teme doktorskog rada imala je 2017. Živi u Mostaru, radi kao ortodont u Poliklinici Musa. Osim ortodoncijom intenzivno se bavi digitalnom stomatologijom te primjenom intraoralnih skenera, CAD-CAM sustava i CBCT-a u protetici, ortodonciji i implantologiji. Izabrana je 2017. godine u zvanje naslovni asistent na Katedri bolesti glave i vrata na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Mostaru. Aktivno se služi engleskim, a pasivno njemačkim jezikom. Udana je i majka dvoje djece.

Popis djela

Izvorni znanstveni radovi:

• **Musa Trolic I**, Todoric Z, Pop Acev D, Makreski P, Pejova B, Spalj S. Influence of saliva and probiotic bacteria on the surface of stainless steel and nickel-titanium alloy (submitted for publication) J Mater Eng Perform. 2018. (CC, Q2, IF 1,340)

• **Musa Trolic I**, Turco G, Contardo L, Perissinotto F, Katic V, Spalj S. Changes in mechanical properties of dental alloys induced by oral probiotic supplements in saliva (submitted for publication) Materialwis Werkst. 2018. (CC, Q3, IF 0,625)

• **Musa Trolic I**, Turco G, Contardo L, Serdarevic NL, Otmacic Curkovic H, Spalj S. Corrosion of nickel-titanium orthodontic archwires in saliva and oral probiotic supplements. Acta Stomatol Croat. 2017;51:316-5. (Scopus; Q4)

• Spalj S, Katic V, Rincic Mlinaric M, **Musa Trolić I**, Zurga P, Bulog A. Corrosion of orthodontic biomaterials - effect of pH, fluoride and hydrofluoric acid concentration from remineralization agents on elastic properties of orthodontic nickel-titanium archwires. Stomatol Vjesn. 2018;7:6-12.

Kongresna priopćenja:

• Otmacic Curkovic H, Serdarevic NL, **Musa Trolic I**, Spalj S, Todoric Z, Budimir A. Corrosion of orthodontic archwires in artificial saliva in the presence of Lactobacillus reuteri. Eurocorr 2018 – Congress of European Federation of Corrosion. Krakov, Poljska, 9-13.9.2018.

• **Musa Trolić I**, Turco G, Contardo L, Katić V, Ivanković Buljan Z, Špalj S. Microbiologically induced corrosion: influence of the probiotics on microhardness and surface microgeometry of the orthodontic appliance 3rd International Congress of the School of Dental Medicine Universtiy of Zagreb. Zagreb, Hrvatska, 3.-4.3.2017.

• Špalj S, **Musa Trolić I**, Katić V, Turco G, Contardo L. Mechanical properties of orthodontic archwires: influence of type of alloy and surface coating. Abstract book of the 4th International Conference on Biodental Engineering. Porto, Portugal, 21.-23.6.2016.

• Špalj S, **Musa Trolić I**, Lajnert V. Oral Impacts on Daily Performances – psychometric characteristics in Croatia and discriminative ability for orthodontic use. 12th National Congress Italian Academy of Orthodontics. Rim, Italija, 30.4-1.5.2015.

• **Musa Trolić I**, Serdarević NL, Otmačić Ćurković H. Probiotics and corrosion behaviour of orthodontic nickel-titanium archwires. 12th National Congress Italian Academy of Orthodontics. Rim, Italija, 30.4-1.5.2015.