Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
And Scientific Research
University of Baghdad
College of Dentistry

COATING OF ORTHODONTIC MINISCREWS WITH CHLORHEXIDINE HEXAMETAPHOSPHATE ANTIMICROBIAL NANOPARTICLES (AN EXPERIMENTAL AND ANIMAL STUDY)

A thesis Submitted to the council of the College of Dentistry at University of Baghdad in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy in Orthodontics

By

Selma Merza Hasan

B.D.S., M.Sc.

Supervised By

Prof. Dr. Akram Faisal Alhuwaizi

B.D.S., M.Sc., Ph.D.

2022 A.D. **1444 A.H.**

ABSTRACT

Introduction: The use of orthodontic miniscrews (OMSs) can be associated with infection that leads to some complications, such as peri-implantitis, peri-mucositis, mobility and loss of these devices. Therefore, this study aimed to coat the orthodontic miniscrews with antimicrobial nanoparticles.

Material and methods: Chlorhexidine hexametaphosphate nanoparticles (CHX-HMP NP) with final concentration 5 mM were used to coat stainless steel and titanium orthodontic miniscrews. Atomic Force Microscope (AFM) and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) were used for nanoparticle characterization; the coated OMSs were examined using Scanning Electron Microscope (SEM) with Energy Dispersive X-ray (EDX) and Field Emission Scanning Electron Microscope (FeSEM). Agar diffusion method was used to measure the antimicrobial activity of these nanoparticles against Gram-positive bacteria (*Streptococcus mutans* and *Streptococcus gordonii*), gram negative bacteria (*A. actinomycetemcomitans* and *prophyromonase gingivalis*) and *Candida albicans* performed by measuring the inhibition zone around each OMS. Antibiofilm formation for nanoparticle against *Streptococcus mutans, A. actinomycetemcomitans* and *Candida albicans* was accomplished using the Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) reader. The cytotoxicity for Human dermal Fibroblast of Neonate (HdFN) of both coated and uncoated OMSs were determined using Methyl Thiazol Tetrazolium (MTT) assay. In vivo study on rabbit was completed to assess the tissue reaction for implanted orthodontic miniscrew (OMS) and the effect of nanoparticle by measuring the inflammatory cells and bone cells.

Results: Characterization of CHX-HMP showed that the nanoparticles had a nanoscale size, so it falls within the range of nanoparticle.

At the present study the FTIR chart showed the presence of C=O in chlorhexidine digluconate and its absence in the mixed nanoparticles indicate the replacement of gluconate by hexametaphosphate, also is characterized by the presence of phosphate and Chlorine groups in the resultant colloidal suspension of the prepared nanoparticles.

The SEM and FeSEM results showed the homogenous distribution of nanoparticles on the coated OMSs. The nanoparticle had efficient antimicrobial and antibiofilm activity against the tested microorganisms. Both coated and uncoated stainless steel and titanium OMSs were non-cytotoxic to the cells. Furthermore, the animal study showed that the antimicrobial nanoparticles were effective in reducing the inflammation in the tissue surrounding the implanted coated OMSs and enhanced bone-remodeling process.

Conclusion: It can be concluded that CHX-HMP NP may be biosafe, an effective antimicrobial agent to inhibit microbial growth and biofilm formation. In addition, it is active in reducing the infection associated with insertion of OMSs and enhance the bone healing as well.

الخلاصـــة

المقدمة:

إن استخدام الزرعات التقويمية الصغيره يعد ذوعلاقة بالاصابة البكتيرية والتي قد تؤدي إلى بعض المضاعفات خلال المعالجة التقويمية، مثل التهاب الغشاء المخاطي المجاور للزرعات والتهاب النسج ما حول الزرعة والمؤدي بدوره إلى حركتها وبالتالي فشلها، من هنا هدفت هذه الدراسة إلى تحري فعالية مادة كلورهكسيدين سداسي الميتافوسفات النانوية (CHX-MHP) كمادة مضادة للاحياء المجهرية عند استخدامها لتغليف للزريعات التقويمية.

المواد وطرق العمل:

تم استخدام زرعات تقويميه صغيره مصنوعة من الفولاذ المقاوم للصدأ وأخرى من التيتانيوم. وغلفت بنوعيها بمادة كلورهكسيدين سداسي الميتافوسفات (CHX-MHP) . استخدم مجهر القوة الذرية (AFM)وجهاز مطياف تحويل فورييه بالاشعة تحت الحمراء (FTIR) لتوصيف وتحديد صفات المادة النانوية المستخدمة في هذه الدراسة. فحصت الزرعات المغلفة وغير المغلفة باستخدام المجهر الالكتروني الماسح (SEM) مع EDX والمجهر الالكتروني الانبعاثي (FeSEM). تم قياس فعالية المادة النانوية المغلفه للزرعات التقويميه ضد بعض انواع البكتيريا موجبة الجرام بما في ذلك *S. mutans* و *S. gordonii* وسلبية الجرام مثل *P. gingivalis* و *A. actinomycetumcomitance* عن طريق زراعة العينات وقياس منطقة التثبيط حول كل نوع من الزرعات التقويمية. كما تم دراسة قابلية الماده النانوية على تثبيط تكوين اللويحه الحيويه ضد جراثيم *S. mutans* و *A. actinomycetem, comitans* وفطرالالبيكان باستخدام قارئ الالايزا. تم تحديد السمية الخلوية لكل من االزرعات التقويمة المغلفة وغير المغلفة باستخدام اختبار MTT. ثم استكملت الدراسة الأرانب الحيه لتقييم رد فعل الأنسجة تجاه الزرعات المغروسه في الفك العلوي للأرنب وتأثير وجود المادة النانوية المغلفه للزرعات من خلال قياس الخلايا الالتهابية وخلايا العظام.

النتائج:

أظهر جهاز القوة الذري أن المادة المضادة للبكتيريا كانت ذات حجم نانوي وبالتالي فهي تقع في نطاق الجسيمات النانوية..أظهرت قراءات جهاز FTIR أن وجود C-O في ديجلوكونات الكلورهيكسيدين وغيابه في الجسيمات النانوية المختلطة قد أشار إلى استبدال الجلوكونات بسداسي ميتافوسفات .أظهرت نتائج المجهر الالكتروني الماسح والمجهر الالكتروني توزعاً متجانساً للجسيمات النانوية على سطح الزرعات المغلفة مقارنة بتلك غير المغلفة. كان للجسيم النانوي نشاط فعال ضد البكتيريا الإيجابية والسلبية الغرام و فطرالالبيكان. تبين ان الزرعات المصنوعة من الفولاذ المقاوم للصدأ والمصنوعة من التيتانيوم

سواء المغلفة أوغير المغلفة غير سام لخلايا HDFN. علاوة على ذلك، أظهرت الدراسة في الجسم الحي للأرانب أن المادة النانوية كانت فعالة في تقليل الالتهاب في الأنسجة المحيطة الزريعات التقويمية المغلفة المزروعة كما أنها عززت عملية إعادة تشكيل العظام.

الأستنتاج:

تعد مادة كلورهكسيدين سداسي الميتافوسفات النانوية مادة قد تكون آمنة وفعالة ضد الميكروبات وفي تثبيط نمو البكتيريا وتكوين اللويحة الحيوية. بالإضافة إلى أنها فعالة في تقليل العدوى البكتيرية المرافقة لعملية إدخال الزرعات التقويمية ضمن العظم.

جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة بغداد
كلية طب الاسنان

طلاء الزرعات التقويمية بمادة كلورهيكسيدين هيكساميتافوسفات النانوية المضاده للبكتريا (دراسة تجريبية وحيوانية)

اطروحه مقدمة الى كلية طب الاسنان – جامعة بغداد كجزء من متطلبات نيل درجة الدكتوراه فلسفه في تقويم الاسنان

من قبل

سلمى مرزه حسن

بكالوريوس طب وجراحة الفم والاسنان

ماجستير تقويم الاسنان

بأشراف الاستاذ

الاستاذ الدكتور اكرم فيصل الحويزي

بكالوريوس طب وجراحة الفم والاسنان

ماجستير تقويم الاسنان

دكتوراه طب الاسنان الوقائي

1444هـ **2022 م**