

اثر بخشی دهانشویه آزمایشی محتوی کلسیم فسفات و زایلنول بر باز معدنی سازی ضایعات معدنی زدایی شده مینایی

مجید اکبری^۱(DDS)، لیلا رضی^۲(DDS)، مریم طاهرآبادی^۳(DDS)، سارا مجیدی نیا^۴(DDS)*

۱- مرکز تحقیقات دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۲- گروه اطفال دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۳- دانشگاه علوم پزشکی مشهد

دریافت: ۹۲/۹/۴، اصلاح: ۹۲/۱۲/۱۵، پذیرش: ۹۳/۲/۲۴

خلاصه

سابقه و هدف: در پوسیدگی های اولیه اگر میزان ر سوب مواد معدنی از میزان برداشت آن بیشتر باشد؛ مینای معدنی زدایی شده بدون حفره می تواند معدنی شده و بدون درمان های ترمیمی به عملکرد خود ادامه دهد. هدف از این مطالعه بررسی اثر بخشی دهانشویه ای نو ترکیب بر باز معدنی سازی ضایعات معدنی زدایی شده مینایی است. **مواد و روشها:** در این مطالعه تجربی، ۳۰ دندان قدامی گاو انتخاب شدند. سپس تاج هر دندان به چهار قطعه تقسیم شد. ۱۲۰ قطعه حاصل ماند گردیدند و به مدت ۴۸ ساعت داخل محلول معدنی زدایی کننده با PH: ۴/۴ قرار گرفتند. سپس نمونه ها به طور تصادفی به چهار گروه ۳۰ تایی تقسیم شدند و به مدت ۱۴ روز به شیوه های مختلف در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه قرار گرفتند. گروه اول در بزاق مصنوعی با تعویض روزانه قرار داشتند. گروه دوم روزی یکبار هربار به مدت یک دقیقه در محلول فلوراید ۰/۰۵ درصد، گروه سوم روزی یکبار هربار به مدت یک دقیقه در محلول دهانشویه نو ترکیب (محتوی کلسیم فسفات و زایلنول) و گروه چهارم روزی یکبار هربار به مدت یک دقیقه در محلول دهانشویه نو ترکیب حاوی ۰/۰۵ درصد فلوراید قرار داده شدند. سپس دوباره به داخل بزاق مصنوعی برگردانده شدند. پس از پایان ۱۴ روز، نمونه ها مورد ارزیابی ریز سختی قرار گرفته و با هم مقایسه شدند.

یافته ها: میانگین ریز سختی در گروه یک $20/53 \pm 5/4 \text{ kg/mm}^2$ ، در گروه دوم $24/9 \pm 8/2 \text{ kg/mm}^2$ ، در گروه سوم $83/4 \pm 37/0 \text{ kg/mm}^2$ و در گروه چهارم برابر $28/04 \pm 11/3 \text{ kg/mm}^2$ بدست آمد. ریز سختی گروه ۳ (دهانشویه نو ترکیب) با سایر گروه ها تفاوت معنی داری داشت ($P < 0/001$) و ریز سختی در سایر گروه ها مشابه هم و پایین تر از دهانشویه نو ترکیب بود.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج این مطالعه استفاده از دهانشویه نو ترکیب حاوی کلسیم فسفات و زایلنول تاثیر چشمگیری در افزایش ریز سختی ضایعات معدنی زدایی شده مینایی دارد.

واژه های کلیدی: دهانشویه، باز معدنی سازی شده، مینا، کلسیم فسفات، پوسیدگی مینایی اولیه.

مقدمه

از سالها پیش مشخص شده است. فلوراید بصورت CaF_2 در سطح مینا رسوب می کند و در دوره های مستعد پوسیدگی فلوراید از این منبع ذخیره آزاد شده و به داخل مینا نفوذ می کند و با ایجاد فلور و آپاتیت منجر به باز معدنی سازی مطلوب تر مینا می شود (۴و۵). اگرچه زمانی که ضایعات سطحی در In Vitro در طول چند هفته باز معدنی سازی می شوند، سالها برای باز معدنی سازی شدن کامل در شرایط in vivo وقت لازم است (۵). نقش موثر فلوراید در باز معدنی سازی شدن مینا به حضور بیولوژیک یونهای کلسیم و فسفات محدود می شود. منابع داخلی کلسیم و فسفات؛ بزاق و به میزان کمتر مایع شیار لثه ای است (۶). افزایش

پوسیدگی دندانی از شایعترین بیماری های مزمن در جهان می باشد که میزان وقوع آن در عصر جدید به شدت افزایش یافته است. تاکنون اقدامات ترمیمی روشی متداول برای درمان ضایعات پوسیدگی اولیه بوده است که بسیار تهاجمی می باشد (۱). کاربرد دهانشویه ها می تواند نقش بسزایی در درمان غیر تهاجمی ضایعات دهانی داشته باشد. مطالعات نشان می دهد که اگر یونهای کلسیم، فسفات و نیز فلوراید در بزاق یا پلاک دندانی به میزان کافی موجود باشد، مینای معدنی زدایی شده بدون حفره می تواند باز معدنی سازی شده و بدون درمان های ترمیمی به عملکرد خود ادامه دهد (۲و۳). اثرات ضد پوسیدگی فلوراید

این مقاله حاصل پایان نامه مریم طاهر آبادی دانشجو دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر سارا مجیدی نیا

آدرس: مشهد، میدان آزادی، دانشکده دندانپزشکی، بخش ترمیمی، تلفن: ۵۱۱-۸۸۲۹۵۰۱

e-mail: sara_majidnia@yahoo.com

پروپ دستگاه ویکرز بتواند کاملاً عمود بر سطح نمونه قرار بگیرد. در هنگام مانت نمونه ها باید سطح پالیش شده از تاثیر آکريل و مونومر محافظت ميشود. برای این منظور قسمت مورد نظر در هنگام مانت با یک تکه موم پوشانده شد و پس از مانت با الکل تمیز شد. نمونه های مانت شده به مدت ۴۸ ساعت داخل محلول معدنی زدایی کننده، $2\text{mm}0\text{IL}-1\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ و $2\text{mm}0\text{IL}-1\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ با $\text{PH}: 4/4$ قرار گرفتند (۱۴). به طوری که سطح نمونه ها بعد از قرار گرفتن در محلول معدنی زدایی کننده نمای سفید گچی پیدا کرده بودند. ۱۲۰ قطعه نمونه حاصل به طور تصادفی به چهار گروه ۳۰ تایی تقسیم شدند و به مدت ۱۴ روز در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه و با شرایط مختلف زیر نگهداری شدند:

گروه ۱: تنها در بزاق مصنوعی (۱۵) $(\text{NaCl}, 0.4 \text{ g}; \text{KCl}, 0.4 \text{ g}; \text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}, 0.78 \text{ g}; \text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}, 0.795 \text{ g}; \text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}, 0.005 \text{ g};$

$\text{NH}_2\text{CONH}_2, 1.0 \text{ g}; \text{distilled water}, 1,000 \text{ mL})$

گروه ۲: بزاق مصنوعی و روزانه یک دقیقه در محلول دهانشویه فلوراید (Oral B, USA) درصد ۰/۰۵

گروه ۳: بزاق مصنوعی و روزانه یک دقیقه در دهانشویه نوترکیب (Ht Co, Iran) که در ترکیب آن زایلیتول و کلسیم و فسفات وجود دارد.

گروه ۴: بزاق مصنوعی و روزانه یک دقیقه در دهانشویه نوترکیب حاوی ۵٪ درصد فلوراید و ترکیب گروه ۳ (Ht Co, Iran)

پس از پایان ۱۴ روز ریز سختی به روش ویکرز توسط دستگاه تست (Germany, Fertz) با نیروی ۵۰ گرم به مدت ۵ ثانیه اندازه گیری شد. بر روی هر نمونه سه نقطه مورد ارزیابی قرار گرفته ابعاد هرم ایجاد شده اندازه گیری و با استفاده از جدول، سختی سطح بر حسب ویکرز مشخص شد و میانگین آنها به عنوان عدد سختی هر نمونه ثبت گردید. سپس داده های حاصل با استفاده از آزمون های ANOVA و Tukey Test تجزیه و تحلیل شدند و $p < 0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

میانگین ریزسختی به ترتیب گروه ۱ (بزاق مصنوعی) $20/53 \pm 5/4$ ، گروه ۲ (دهانشویه سدیم فلوراید ۰/۰۵ درصد) $24/9 \pm 8/2$ ، گروه ۳ (دهانشویه نوترکیب) $83/4 \pm 23/07$ و در گروه ۴ (دهانشویه نوترکیب به اضافه سدیم فلوراید) $28/04 \pm 11/3$ بدست آمد. بیشترین میانگین ریزسختی در گروه ۳ و کمترین میانگین در گروه ۱ بوده است. ریزسختی در گروه های مورد مطالعه تفاوت معنی داری داشت ($p < 0/01$). در مقایسه دو به دو گروه ها از نظر میزان ریز سختی، فقط ریز سختی گروه ۳ با سایر گروه ها تفاوت معنی داری نشان داد ($p < 0/01$).

بحث و نتیجه گیری

نتایج نشان داد که نمونه های درمان شده با دهانشویه نوترکیب بیشترین ریز سختی را دارند. کلسیم فسفات بی شکل موجود در دهانشویه نوترکیب با تمرکز روی سطوح دندان باعث ذخیره یونهای کلسیم و فسفات می شود که این

غلظت کلسیم، گیر فلوراید در پلاک دندان را افزایش می دهد (۷). بنابراین برای اینکه باز معدنی سازی روی دهد سطح مینای دندان بایستی در معرض سطح فوق اشباعی از یونهای کلسیم، فسفات و فلوراید قرار گیرد که به صورت محصولات بیولوژیک عرضه می شوند. کاربرد کلسیم فسفات بی شکل Amorphous (ACP) calcium phosphate بدلیل توانایی آن در تثبیت کلسیم و فسفات در یک وضعیت بی شکل، مانع از تجمع کلسیم و فسفات در حد بحرانی و رسوب آنها می شود. پتانسیل کلسیم فسفات بی شکل در پیشبرد باز معدنی سازی در مدل های پوسیدگی حیوانی در سال ۱۹۹۵ نشان داده شده است اما در درمان ضایعات پوسیدگی اولیه برای اولین بار در سال ۲۰۰۹ استفاده شد (۸ و ۹). کلسیم فسفات بی شکل سبب افزایش خاصیت بافری بزاق می شود که این امر خود باعث سرکوب و کاهش روند معدنی زدایی و یا افزایش باز معدنی سازی و به احتمال بیشتر ترکیبی از هر دو می شود (۱۰). Tantbirojn و همکاران نشان دادند که کاربرد خمیر CPP-ACP بر روی مینای نرم شده متعاقب مصرف کولا می تواند سختی مینا را بصورت معناداری افزایش دهد (۱۱).

یکی دیگر از روش های کنترل پوسیدگی که امروزه بر آن تاکید می شود استفاده از زایلیتول است. مطالعات مختلف نشان داده اند که مصرف زایلیتول رشد پلاک دندان را نسبت به سوکرز، دی گلوکز و دی فروکتوز تا ۵۰ درصد کاهش میدهد. به عبارت دیگر در حضور زایلیتول میکروارگانیسم ها از بستر رشد طبیعی خود محروم میشوند و رشد پلاک دندان و پیشرفت پوسیدگی کاهش می یابد (۱۲). Bader و همکاران در ارزیابی اثر قرص های مکیدی زایلیتول روی پوسیدگی های دندان، نشان دادند که استفاده از زایلیتول بروز پوسیدگی دندان را در افراد بزرگسال با پوسیدگی های فعال کاهش می دهد (۱۳).

با توجه به اثرات شناخته شده مثبت محلول های حاوی کلسیم و فسفات و نیز زایلیتول بر کنترل پوسیدگی های اولیه؛ دهانشویه حکیم یکی از تولیدات داخلی است که با این هدف مراحل اولیه تولید خود را گذرانده است. با توجه به تاکید بر تمرکز بر تولیدات داخل و ضرورت بررسی کیفیت و کارایی آنها در پاسخگویی مناسب این تولیدات، در این مطالعه اثرات یک دهانشویه نوترکیب (که ترکیبی از عوامل فوق می باشد) در مقایسه با دهانشویه فلوراید بر ریز سختی مینا مقایسه شد.

مواد و روشها

در این مطالعه آزمایشگاهی ۳۰ دندان قدامی گاو (بدون ترکهای قابل مشاهده یا نقایص هیپوپلاستیک) انتخاب و پیش از شروع کار در محلول تیمول ۰/۱٪ به مدت ۲۴ ساعت به منظور ضد عفونی شدن قرار داده شده و تا زمان شروع مطالعه در داخل سرم فیزیولوژی در دمای اتاق نگهداری شدند. سپس تاج هر دندان در زیر ناحیه اتصال مینا به سمان (CEJ) جدا شد و سطح فاسیال دندان برای ایجاد سطح صاف و مسطح مینایی با استفاده از سه سایز سمباده ۳۰۰ و ۶۰۰ و ۱۰۰۰ پالیش شدند. سپس تاج هر دندان توسط دیسک متصل به هند پیس و در زیر جریان مداوم آب به چهار قطعه تقسیم شد. برش ها در راستای محور طولی دندان بودند.

سپس این نمونه ها داخل قالبی که سطح فوقانی و تحتانی آن کاملاً موازی بود، بوسیله آکريل فوری مانت شدند به گونه ای که هنگام ارزیابی ریز سختی

از فرم دهانشویه فلوراید و کلسیم فسفات استفاده شد که ترکیب دهانشویه سدیم فلوراید با دهانشویه نوترکیب باعث رسوب محلول گردید و در نتیجه باعث کاهش کارایی دهانشویه شد. از طرف دیگر Linton نشان داد که محلول های سدیم فلوراید با غلظت کمتر برای باز معدنی سازی موثر تر از محلول های با غلظت بالاتر هستند. در این مطالعه در ترکیب با دهانشویه نوترکیب از غلظت بالای فلوراید استفاده گردید که این میزان بیشتر فلوراید احتمالا تمایل به رسوب دادن کلسیم در سطح مینا و بلوکه کردن پرزهای سطح مینا دارد و در نتیجه موجب مسدود شدن فرایند باز معدنی سازی در قسمت های کم عمق می شود (۲۳).

Willmot و همکاران در مطالعه بر روی پوسیدگی های اولیه به این نتیجه رسیدند که اختلاف معنی داری بین استفاده کنندگان از محصولات فلوراید و گروه استفاده کننده از اقدامات بهداشتی بدون استفاده از ترکیبات فلوراید دیده نشد که این یافته موید نتیجه ما مبنی بر عدم اختلاف معنی دار در بهبود ضایعات بین دندان های درمان شده با فلوراید و بزاق مصنوعی (کنترل) می باشد (۲۴). از آنجایی که در بررسی اثر دهانشویه ها بویژه اثر زایلنول (که بیشترین کارایی را بر روی استرپتوکوک موتانس دارد) وجود فلور میکروبی دهان حائز اهمیت می باشد یکی از محدودیتهای این مطالعه آزمایشگاهی بودن آن است که پیشنهاد میگردد در محیطهای مشابه محیط دهان بررسی گردد. در مقایسه با بزاق و یا دهانشویه سدیم فلوراید استفاده از دهانشویه نوترکیب حاوی کلسیم فسفات و زایلنول تاثیر چشمگیری در افزایش ریزسختی ضایعات معدنی زدایی شده مینایی دارد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مشهد به دلیل حمایت مالی از تحقیق تشکر و قدردانی می گردد.

عمل به حفظ حالت فوق اشباع مینا و در نتیجه کاهش معدنی زدایی شدن و افزایش باز معدنی شدن آن کمک می کند. در واقع حضور کلسیم فسفات بی شکل بازگشت تجمعات کلسیم و باز معدنی سازی زودرس لایه زیرین مینایی را تسریع می کند (۱۶و۱۷). Wegehaupt و همکاران نشان داده که کاربرد کلسیم فسفات آمورف نسبت به فلوراید موجب افزایش بیشتر ریزسختی مینایی معدنی زدایی شده، می شود (۱۸). Thaweboon و همکاران نیز در ارزیابی اثرات باز معدنی سازی آدامس های زایلنول حاوی کلسیم فسفات بر ضایعات معدنی زدایی شده مینایی زیرسطحی نتیجه گرفتند که جویدن آدامس های زایلنول حاوی کلسیم فسفات اثر قابل ملاحظه ای بر باز معدنی سازی ضایعات پوسیدگی در دندان دارند (۱۹). با توجه به انحراف معیار نسبتا زیاد در دهانشویه نوترکیب (گروه ۳) در مطالعه حاضر به نظر میرسد رسوب کلسیم فسفات در ساختار مینایی حداقل در طول زمان مطالعه میتواند وابسته به محل برش مینایی متفاوت باشد.

در مطالعه Lata و همکارانش که قدرت رمینرالیزه کنندگی فلوراید و کلسیم فسفات بی شکل بر ضایعات مینایی را بررسی کردند، نتایج نشان داد که قدرت باز معدنی سازی ترکیب کلسیم فسفات بی شکل با فلوراید بیشتر از فلوراید به تنهایی نیست (۲۰). این یافته مشابه مطالعه حاضر می باشد که نشان داد ترکیب دهانشویه نوترکیب حاوی کلسیم فسفات بی شکل با فلوراید اثری مشابه دهانشویه فلوراید به تنهایی دارد. از طرفی نتایج مطالعه Srinivasan برخلاف مطالعه ما نشان می دهد که ترکیب کلسیم فسفات بی شکل با فلوراید پتانسیل باز معدنی سازی بیشتری نسبت به کلسیم فسفات بی شکل به تنهایی دارد (۲۱). Rirattanapong و همکاران دریافتند که خمیر کلسیم فسفات به تنهایی یا همراه با خمیر فلوراید با غلظت ۹۰۰ ppm اثری مشابه بر ریزسختی مینا دارند و هر دو نسبت به بزاق مصنوعی ریزسختی را افزایش می دهند (۲۲). در مطالعه ما

Effect of a New Mouthrinse on Remineralization of Demineralized Enamel

M. Akbari (DDS)¹, L. Raziee (DDS)², M. Taherabadi (DDS)³, S. Majidinia (DDS)^{1*}

1. Dental Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, I.R. Iran

2. Department of Pediatric Dentistry, Dental School, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, I.R. Iran

3. Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, I.R. Iran

J Babol Univ Med Sci; 16(8); Aug 2014; pp: 33-38

Received: Nov 25th 2013, Revised: Mar 6th 2014, Accepted: May 14th 2014.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: If the amount of remineralization is greater than demineralization, the non-cavitated enamel lesion can be remineralized and continues its function without restorative treatments. The aim of this study was to evaluate the efficacy of a new mouthrinse on enamel remineralization.

METHODS: In this experimental study the crowns of thirty bovine incisors were divided into four pieces. One hundred and twenty resulting pieces were submerged in a demineralized solution (pH 4.4) for 48 hours. The enamel specimens were then assigned randomly to four groups (n=30) and stored in an incubator at 37°C for 14 days with different ways. First group was kept in artificial saliva with daily changing. The second group was kept in 0.05% sodium fluoride 1 minute per day, the third group was kept in new mouthwash (containing cesium phosphate and xylitol) 1 minute per day and the fourth group was kept in new mouthwash and 0.05% sodium fluoride 1 minute per day. The samples of the fourth group were kept in artificial saliva during the study period. Vickers microhardness measurements were made at the end of the study period and compared together.

FINDINGS: Mean of microhardness of groups was: group1: 20.35±5.4 kg/mm², group 2: 24.9±8.2 kg/mm², group 3: 83.4±37.07 kg/mm² and group 4: 28.4±11.3 kg/mm². Enamel hardness was significantly different in group 3 (p<0.001). The microhardness was similar in the other groups and was much lower than the new mouthwash group.

CONCLUSION: The new mouthwash containing calcium, phosphate and xylitol significantly improved the microhardness of demineralized enamel.

KEY WORDS: Mouthrinse, Remineralization, Enamel, Calcium phosphate, Early enamel lesion.

Please cite this article as follows:

Akbari M, Raziee L, Taherabadi M, Majidinia S. Effect of a new mouthrinse on remineralization of demineralized enamel. J Babol Univ Med Sci 2014;16(8):33-38.

* Corresponding Author; S. Majidinia (DDS)

Address: Department of Restorative Dentistry, Dental School, Azadi Sq., Mashhad, I.R. Iran

Tel: + 98 511 8829501

E-mail: Sara_majidinia@yahoo.com

References

1. Malterud MI. Minimally invasive restorative dentistry: a biomimetic approach. *Pract Proced Aesthet Dent* 2006;18(7):409-14.
2. Ardu S, Castioni NV, Benbachir N, Krejci I. Minimally invasive treatment of white spot enamel lesions. *Quintessence Int* 2007;38(8):633-6.
3. Diefenderfer KE, Stahl J. Caries remineralization therapy: implications for dental readiness. *Mil Med* 2008;173(Suppl 1):48-50.
4. Ten Cate JM. Current concepts on the theories of the mechanism of action of fluoride. *Acta Odontol Scand* 1999;57(6):325-9.
5. Holmen L, Thylstrup A, Artun J. Surface changes during the arrest of active enamel carious lesions in vivo. A scanning electron microscope study. *Acta Odontol Scand* 1987;45(6):383-90.
6. Featherstone JD. The caries balance: contributing factors and early detection. *J Calif Dent Assoc* 2003;31(2):129-33.
7. Kato K, Nakagaki H, Arai K, Pearce EI. The influence of salivary variables on fluoride retention in dental plaque exposed to a mineral-enriching solution. *Caries Res* 2002;36(1):58-63.
8. Rose RK. Effects of an anticariogenic casein phosphopeptide on calcium diffusion in streptococcal model dental plaques. *Arch Oral Biol* 2000;45(7):569-75.
9. Shen P, Cai F, Nowicki A, Vincent J, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res* 2001;80(12):2066-70.
10. Reynolds EC. Calcium phosphate-based remineralization systems: scientific evidence? *Aust Dent J* 2008;53(3):268-73.
11. Tantbirojn D, Huang A, Ericson MD, Poolthong S. Change in surface hardness of enamel by a cola drink and a CPP-ACP paste. *J Dent* 2008;36(1):74-9.
12. Makinen KK. Sugar alcohols, caries incidence, and remineralization of caries lesions: a literature review. *Int J Dent* 2010;981072.
13. Bader JD, Shugars DA, Vollmer WM, et al. Design of the xylitol for adult caries trial (X-ACT). *BMC Oral Health* 2010;10:22.
14. Magalhaes AC, Furlani Tde A, Italiani Fde M, Iano FG, Delbem AC, Buzalaf MA. Effect of calcium pre-rinse and fluoride dentifrice on remineralisation of artificially demineralised enamel and on the composition of the dental biofilm formed in situ. *Arch Oral Biol* 2007;52(12):1155-60.
15. Iijima M, Hashimoto M, Kohda N, et al. Crystal growth on bioactive glass sputter-coated alumina in artificial saliva. *Dent Mater J* 2013;32(5):775-80.
16. Behnan SM, Arruda AO, Gonzalez-Cabezas C, Sohn W, Peters MC. In-vitro evaluation of various treatments to prevent demineralization next to orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*;138(6):712 e1-7; discussion 712-3.
17. Oshiro M, Yamaguchi K, Takamizawa T, et al. Effect of CPP-ACP paste on tooth mineralization: an FE-SEM study. *J Oral Sci* 2007;49(2):115-20.
18. Wegehaupt FJ, Taubock TT, Stillhard A, Schmidlin PR, Attin T. Influence of extra- and intra-oral application of CPP-ACP and fluoride on re-hardening of eroded enamel. *Acta Odontol Scand* 2012;70(3):177-83.
19. Thaweboon S, Nakornchai S, Miyake Y, et al. Remineralization of enamel subsurface lesions by xylitol chewing gum containing funoran and calcium hydrogenphosphate. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2009;40(2):345-53.
20. Lata S, Varghese NO, Varughese JM. Remineralization potential of fluoride and amorphous calcium phosphate-casein phospho peptide on enamel lesions: An in vitro comparative evaluation. *J Conserv Dent* 2010;13(1):42-6.

- 21.Srinivasan N, Kavitha M, Loganathan SC. Comparison of the remineralization potential of CPP-ACP and CPP-ACP with 900 ppm fluoride on eroded human enamel: An in situ study. Arch Oral Biol 2010;55(7):541-4.
- 22.Rirattanapong P, Vongsavan K, Suratit R, et al. Effect of various forms of calcium in dental products on human enamel microhardness in vitro. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2012;43(4):1053-8.
- 23.Linton JL. Quantitative measurements of remineralization of incipient caries. Am J Orthod Dentofacial Orthop 1996;110(6):590-7.
- 24.Willmot DR. White lesions after orthodontic treatment: does low fluoride make a difference? J Orthod 2004;31(3):235-42; discussion 202.