

بررسی تأثیر دهانشویه کلر هگزیدین حاوی سدیم پرپورات بر ژنویت، پلاک و رنگ پذیری سطح دندان

دکتر پرویز ترک زبان*، دکتر علی زرنندی**، دکتر مازیار خاتمی***، دکتر فرناز جعفری****

IRCT: 201102245900N1

دریافت: ۹۰/۱/۲۹، پذیرش: ۹۰/۴/۱۲

چکیده:

مقدمه و هدف: کلر هگزیدین از گروه آنتی سپتیک ها بوده و از تشکیل پلاک و ژنویت جلوگیری می کند، مهمترین عارضه جانبی کلر هگزیدین ایجاد تغییر در رنگ دندان است. هدف از این مطالعه بررسی میزان رنگ ایجاد شده در اثر استفاده از کلر هگزیدین و نقش سدیم پرپورات در کارائی کلر هگزیدین از نظر رنگ زدایی، میزان کاهش پلاک و التهاب لثه بود. **روش کار:** در این مطالعه کارآزمایی بالینی ۴۰ بیمار (۲۰ تا ۳۰ سال) مراجعه کننده به بخش پریو دانشکده دندانپزشکی همدان که التهاب لثه خفیف تا متوسط داشتند بطور تصادفی در دو گروه با طرح مطالعه موازی و دو سویه کور مورد بررسی قرار گرفتند. در شروع مطالعه بیماران تحت جرم گیری، پالیش و صاف کردن سطح ریشه قرار گرفتند و بمدت دو هفته بطور روزانه مسواک زدند، پس از ۲ هفته شاخص پلاک دندانی (Plaque Index; PI)، شاخص لثه ای (Gingival Index; GI) و شاخص خونریزی از لثه (Bleeding Index; BI) تعیین گردیدند. در گروه کنترل دهانشویه کلر هگزیدین گلوکونات ۰/۲ درصد و در گروه آزمایش دهانشویه کلر هگزیدین گلوکونات ۰/۲ درصد حاوی سدیم پرپورات (محلول ۰/۲ درصد) مورد استفاده قرار گرفت. در طی این مدت بیماران مسواک نزدند و پس از ۱۴ روز شاخص های فوق و همچنین شاخص رنگ اندازه گیری گردید. میزان تغییر رنگ بزاق غیر تحریکی بیمار بعد از مصرف دهانشویه کلر هگزیدین و دهانشویه ترکیبی به صورت *in vitro* توسط دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه گیری شد. داده ها به کمک آزمون آماری t-test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. **نتایج:** شاخصهای PI و BI و GI در دو گروه تفاوت معنی داری نداشتند، هرچند که میزان کاهش در PI و GI و BI در گروه آزمایش اندکی بیشتر بود. در بررسی شدت و وسعت رنگ در ناحیه تنه ای و لثه ای کاهش معنی داری در گروه آزمایش در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ($P < 0.05$). **نتیجه نهایی:** کاربرد دهانشویه کلر هگزیدین حاوی سدیم پرپورات باعث کاهش قابل ملاحظه ای در شدت و وسعت رنگ پذیری دندان (stain) شده اما تأثیری بازدارنده بر خاصیت کاهش پلاک و التهاب لثه کلر هگزیدین ندارد.

کلید واژه ها: التهاب لثه / پلاک دندانی / رنگ پذیری / سدیم پرپورات / کلر هگزیدین

مقدمه:

اریکسن و همکارانش نشان دادند کاربرد اکسید کننده پراکسی مونوسولفات ۱ درصد ضمن حفظ ظرفیت کنترل پلاک کلر هگزیدین، رنگ را کاهش داده است (۳). محققین به منظور مطالعه رنگ پذیری دندان های ناشی از مصرف کلر هگزیدین و مواد غذایی رنگ زا مدل های مختلف مطالعاتی را مورد بررسی قرار داده اند. البته موفقیت در

کلر هگزیدین از گروه آنتی سپتیک ها بوده و از تشکیل پلاک و ژنویت جلوگیری می کند (۱) مهمترین عارضه جانبی کلر هگزیدین ایجاد تغییر در رنگ دندان است. مواد اکسید کننده (پراکسید هیدروژن)، پرپورات ها و کاربامید پر اکسید برای سفید کردن دندانها بکار میرود (۲).

* استادیار گروه پریودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

** دستیار گروه پریودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان (zarandi.ali@umsha.ac.ir)

*** پریودنتیست

**** اندودنتیست

دو هفته پس از استفاده از دهانشویه، شاخص‌های پلاک، لته‌ای و خون‌ریزی از لته مجدداً بررسی می‌شود و در این مرحله علاوه بر اینها شاخص رنگ که توسط لوبین طراحی شده نیز بررسی می‌شود (۱۰). در این شاخص که هم شدت و هم گسترش میزان رنگ خارجی بررسی می‌شود سطح فاسیال دندانهای قدامی به دو قسمت لته‌ای و تنه‌ای تقسیم می‌گردد.

شدت (severity) آن به صورت زیر تقسیم می‌شود.

- نمره صفر: هیچ رنگ ندارد
 - نمره یک: رنگ خفیف (زرد تا قهوه‌ای روشن یا خاکستری)
 - نمره دو: رنگ متوسط (قهوه‌ای متوسط)
 - نمره سه: رنگ شدید (قهوه‌ای تیره تا سیاه)
- وسعت (extent) آن به صورت زیر تقسیم می‌شود.
- نمره صفر: هیچ رنگیزه ندارد
 - نمره یک: حداکثر ۱/۳ ناحیه را می‌پوشاند.
 - نمره دو: ۱/۳ تا ۲/۳ ناحیه را می‌پوشاند.
 - نمره سه: بیش از ۲/۳ ناحیه را می‌پوشاند.

بررسی آزمایشگاهی (in vitro) رنگ‌پذیری: ابتدا یک بلاک شیشه‌ای ساخته می‌شود و بزاق غیرتحریکی از یک فرد سالم تهیه می‌گردد. به این صورت که بیمار بدون حرکت می‌نشیند و تلاشی برای ترشح بزاقش نمی‌نماید. بیمار بزاقش را بمدت ۶۰ ثانیه بدون قورت دادن در کف دهانش جمع کرده و در ویال ۵۰ میلی‌لیتری خالی می‌کند. بیمار این عمل را ۴ بار دیگر تکرار می‌کند. در نهایت بزاق غیرتحریکی ترشح شده در ۵ دقیقه جمع‌آوری می‌شود (۱۱). بلاک شیشه‌ای چهاروجه در بزاق به مدت دو دقیقه قرارداده می‌شود سپس شسته شده مجدداً در محلول کلرهگزیدین و کلرهگزیدین حاوی پربورات سدیم به مدت دو دقیقه قرار داده می‌شود سپس بلاک‌ها خارج شده درون محلول چای قرار داده می‌شود. پس از گذشت ۶۰ دقیقه بلاک شیشه‌ای شسته شده و در دستگاه اسپکتروفوتومتری قرارداده می‌شود تا دانیسیته نوری آن اندازه‌گیری شود و از مقایسه قبل و بعد می‌توان رنگ‌پذیری را بررسی کرد (۱۲).

آنالیز آماری: جهت آنالیز اطلاعات از آزمون آماری paired t-test استفاده گردید و سطح معنی‌دار بودن $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

ارائه یک روش مؤثر به منظور کاهش این اثر نامطلوب کلرهگزیدین هنوز نتایج کاملاً موفقی ببار نیاورده است (۷-۴).

هدف از این مطالعه بررسی اثر رنگ‌زدایی، ضدپلاک و ضد ژئویت کاربرد کلرهگزیدین حاوی سدیم پربورات در مقایسه با کلرهگزیدین به تنهایی هنگامی که به صورت دهانشویه بکار می‌روند بود.

روش کار:

در این مطالعه کارآزمایی بالینی ۴۰ بیمار (۲۰ تا ۳۰ سال) مراجعه‌کننده به بخش پریو دانشکده دندانپزشکی همدان که التهاب لته خفیف تا متوسط داشتند بطور تصادفی در دو گروه با طرح مطالعه موازی و دو سویه کور مورد بررسی قرار گرفتند.

معیارهای ورود به مطالعه شامل بیماران دارای حداقل ۱۲ دندان قدامی، عدم حساسیت به کلرهگزیدین، عدم استعمال دخانیات، نداشتن سابقه مصرف آنتی‌بیوتیک طی سه ماه گذشته، عدم وجود بارداری، عدم استفاده از وسایل ارتودنسی و یا پروتز متحرک، عدم وجود رنگیزه غیرقابل برداشتن (ناشی از تترا سایکلین یا فلوراید) و داشتن برکه رضایت‌نامه آگاهانه بود.

کلیه بیماران در جلسه اول تحت جرم‌گیری و پالایش قرار گرفته و به مدت دو هفته از مسواک و نخ دندان به طور روزانه استفاده می‌کنند. پس از دو هفته اندازه‌گیری بالینی در ۱۲ دندان قدامی براساس شاخص‌های زیر صورت گرفت. شاخص لته‌ای توسط معیار لو و سایلنس (۸) و شاخص پلاک توسط شاخص سایلنس و لو (۹) اندازه‌گیری شدند.

شاخص خونریزی از لته که پس از ۱۰ ثانیه پروب ملایم شیار لته‌ای به صورت زیر بررسی می‌شود:

- نمره یک: عدم وجود خون‌ریزی
- نمره دو: وجود خون‌ریزی

پس از بررسی شاخص‌ها، بیماران به مدت ۲ هفته از روش کنترل پلاک مکانیکی و مسواک زدن استفاده نکرده و در این مدت از دهانشویه استفاده کردند. در گروه کنترل شستشو با دهانشویه کلرهگزیدین ۰/۲٪ دوبار در روز و در گروه آزمایش شستشو با کلرهگزیدین در ترکیب با پربورات سدیم دوبار در روز بود.

نتایج:

جدول ۱ اطلاعات مربوط به شاخص لثه ای (Gingival Index; GI)، شاخص پلاک (Plaque Index; PI)، شاخص خونریزی (Bleeding Index; BI) و شاخص شدت و وسعت رنگ (Stain: extent, severity) قبل و بعد از استفاده از دهانشویه کلر هگزیدین را نشان می دهد.

جدول ۱: پارامترهای کلینیکی و شاخص رنگ قبل و بعد از استفاده از دهانشویه کلر هگزیدین (n=20)

ارزش P	میانگین ± انحراف معیار	شاخص پلاک دندان
<0/05	1/7375 ± 0/73105	قبل از استفاده
<0/05	0/9025 ± 0/59260	بعد از استفاده
<0/05	1/9575 ± 0/58743	شاخص لثه ای
<0/05	0/96 ± 0/58255	قبل از استفاده
<0/05	1/5200 ± 0/50430	بعد از استفاده
<0/05	1/1250 ± 0/31933	شاخص خونریزی از لثه
<0/05	1/1250 ± 0/31933	قبل از استفاده
<0/05	1/1250 ± 0/31933	بعد از استفاده
<0/05	1/1250 ± 0/31933	شاخص شدت رنگ لثه ای
<0/05	1/585 ± 0/94884	قبل از استفاده
<0/05	1/585 ± 0/94884	بعد از استفاده
<0/05	1/585 ± 0/94884	شاخص شدت رنگ تنه ای
<0/05	1/585 ± 0/94884	قبل از استفاده
<0/05	1/585 ± 0/94884	بعد از استفاده
<0/05	1/585 ± 0/94884	شاخص وسعت رنگ لثه ای
<0/05	1/585 ± 0/94884	قبل از استفاده
<0/05	1/585 ± 0/94884	بعد از استفاده
<0/05	1/585 ± 0/94884	شاخص وسعت رنگ تنه ای
<0/05	1/585 ± 0/94884	قبل از استفاده
<0/05	1/585 ± 0/94884	بعد از استفاده

جدول ۲: پارامترهای کلینیکی و شاخص رنگ قبل و بعد از استفاده از دهانشویه ترکیبی (کلر هگزیدین + سدیم پربورات) (n=20)

ارزش P	میانگین ± انحراف معیار	شاخص پلاک دندان
<0/05	1/525 ± 0/48842	قبل از استفاده
<0/05	0/59 ± 0/44474	بعد از استفاده
<0/05	1/8750 ± 0/67541	شاخص لثه ای
<0/05	0/6650 ± 0/50708	قبل از استفاده
<0/05	0/6650 ± 0/50708	بعد از استفاده
<0/05	1/4700 ± 0/50378	شاخص خونریزی از لثه
<0/05	0/02 ± 0/04104	قبل از استفاده
<0/05	0/02 ± 0/04104	بعد از استفاده
<0/05	1/16 ± 0/66760	شاخص شدت رنگ لثه ای
<0/05	1/16 ± 0/66760	قبل از استفاده
<0/05	1/16 ± 0/66760	بعد از استفاده
<0/05	1/62 ± 0/49694	شاخص شدت رنگ تنه ای
<0/05	1/62 ± 0/49694	قبل از استفاده
<0/05	1/62 ± 0/49694	بعد از استفاده
<0/05	1/68 ± 0/45491	شاخص وسعت رنگ لثه ای
<0/05	1/68 ± 0/45491	قبل از استفاده
<0/05	1/68 ± 0/45491	بعد از استفاده
<0/05	1/855 ± 0/32843	شاخص وسعت رنگ تنه ای
<0/05	1/855 ± 0/32843	قبل از استفاده
<0/05	1/855 ± 0/32843	بعد از استفاده

جدول ۳ میزان تغییرات پارامترهای کلینیکی و شاخص رنگ را بعد از استفاده از هر کدام از دهانشویه ها با هم مقایسه می کند.

جدول ۳: اختلاف بین اندازه پارامترهای کلینیکی و شاخص رنگ بعد از استفاده از هر کدام از دهانشویه ها

ارزش P	میانگین ± انحراف معیار	شاخص پلاک دندان
0/614	0/835 ± 0/65737	کلر هگزیدین
0/614	0/935 ± 0/58267	کلر هگزیدین ترکیبی
0/286	0/9975 ± 0/555	شاخص لثه ای
0/286	1/21 ± 0/67971	کلر هگزیدین
0/286	1/21 ± 0/67971	کلر هگزیدین ترکیبی
0/733	0/395 ± 0/49892	شاخص خونریزی از لثه
0/733	0/45 ± 0/5135	کلر هگزیدین
0/733	0/45 ± 0/5135	کلر هگزیدین ترکیبی
0/155	-1/535 ± 0/94216	شاخص شدت رنگ لثه ای
0/155	-1/16 ± 0/66760	کلر هگزیدین
0/155	-1/16 ± 0/66760	کلر هگزیدین ترکیبی
<0/05	-1/585 ± 0/94884	شاخص شدت رنگ تنه ای
<0/05	-0/62 ± 0/49694	کلر هگزیدین
<0/05	-0/62 ± 0/49694	کلر هگزیدین ترکیبی
<0/05	-1/5750 ± 0/60339	شاخص وسعت رنگ لثه ای
<0/05	-0/68 ± 0/45491	کلر هگزیدین
<0/05	-0/68 ± 0/45491	کلر هگزیدین ترکیبی
<0/05	-1/32 ± 0/58002	شاخص وسعت رنگ تنه ای
<0/05	-0/855 ± 0/32843	کلر هگزیدین
<0/05	-0/855 ± 0/32843	کلر هگزیدین ترکیبی

همچنانکه ملاحظه می گردد شاخص لثه ای، شاخص پلاک و شاخص خونریزی بطور معنی دار بدنال استفاده از دهانشویه کلر هگزیدین بهبود یافتند (P<0/05). شدت و وسعت تغییر رنگ در ناحیه لثه ای و تنه ای دندان در ابتدا صفر بود که پس از دو هفته مصرف کلر هگزیدین به طور معنی داری افزایش یافت.

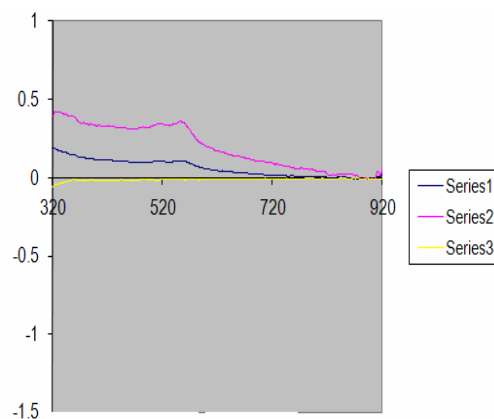
جدول ۲ اطلاعات مربوط به شاخص لثه ای، شاخص پلاک، شاخص خونریزی و شاخص رنگ را قبل و بعد از استفاده از دهانشویه ترکیبی نشان می دهد. همانطور که مشاهده می شود کلیه شاخص های لثه ای بطور معنی دار بدنال استفاده از این دهانشویه ترکیبی بهبود یافتند و شاخص رنگ هم بطور معنی دار افزایش یافت.

Bocasan (یک دهانشویه اکسید کننده) مقایسه شد، آنها کاهش پلاک و ژئوویت را در مورد دهانشویه حاوی اکسید کننده Bocasan مشاهده کردند (۱۳) اگرچه در مطالعه دیگری تنها کاهش اندکی در نواحی خونریزی دهنده و بدون کاهش پلاک پس از استفاده از دهانشویه حاوی پراکسید هیدروژن نشان داده شد. در مطالعه حاضر شاخص خونریزی از لثه در گروه دهانشویه ترکیبی نسبت به دهانشویه کلرهگزیدین کاهش بیشتری داشت لیکن این اختلاف معنی دار نبود که این نتیجه موافق نتایج مطالعات قبلی بود (۱۴،۱۵) که نشان داده بودند دهانشویه های اکسید کننده اثر آنتی باکتریال بیشتری نسبت به کلرهگزیدین دارند. موران و همکارانش به مقایسه دو دهانشویه اکسیدکننده پراکسی بورات و پراکسی کربنات با کلرهگزیدین پرداختند و گزارش کردند که کلرهگزیدین بهترین نتایج را بر کاهش تشکیل پلاک به همراه داشت و در ضمن نتایج پراکسی کربنات بهتر از پراکسی بورات بود (۱۶). محققان نشان داد که پراکسی کربنات دارای نسبت بالاتری از اکسیژن فعال (۱۱/۴٪) نسبت به پراکسی بورات (۱۰/۶٪) است (۱۷) که شاید توضیحی بر این تفاوت اثر باشد. در مطالعه حاضر اثرات ضدپلاک دهانشویه ترکیبی تا حدودی بهتر از اثرات ضد پلاک کلرهگزیدین بود هرچند این اختلاف معنی دار نبود.

اثرات ضد رنگ پراکسید هیدروژن به همراه کلرهگزیدین بصورت invitro در سال ۱۹۷۱ توسط نوردبو و همکارانش گزارش شد (۱۸) و این نتایج در سال ۱۹۹۷ به تأیید ادی و همکارانش رسید (۱۹). در مطالعه ما نیز اثرات ضد رنگدانه ای سدیم پربورات به همراه کلرهگزیدین در invitro نشان داده شد. بطوریکه به طور واضح میزان دانسیته اپتیکال در دهانشویه ترکیبی در مقایسه با دهانشویه کلرهگزیدین کمتر بود. اریکسن و همکارانش در یک مطالعه invivo بر روی ۵۰ نفر از ترکیب کلرهگزیدین ۲/۰٪ و پراکسی مونوسولفات ۱٪ استفاده کردند و آنها مشاهده کردند که اثرات ضدپلاک کلرهگزیدین در این ترکیب حفظ شد و در ضمن کاهش مشخص در رنگدانه خارجی صورت گرفت (۳). نتایج مطالعه ما در invitro نشان داد که یک کاهش معنی دار در رنگدانه خارجی در دهانشویه ترکیبی نسبت به دهانشویه کلرهگزیدین دیده می شود گراندمان و همکارانش نیز در سال ۲۰۰۰ به اثرات مفید استفاده از ترکیب کلرهگزیدین و سدیم پربورات

اگرچه دهانشویه ترکیبی (کلرهگزیدین حاوی سدیم پربورات) در مقایسه با دهانشویه کلرهگزیدین باعث کاهش بیشتری در شاخص پلاک شد ولی این اختلاف معنی دار نبود ($P=0/614$). دهانشویه ترکیبی شاخص لثه ای را نسبت به دهانشویه کلرهگزیدین بیشتر کاهش داد ولی این تغییر معنی دار نبود ($P=0/286$). دهانشویه ترکیبی بهبود بیشتری در شاخص خونریزی ایجاد کرد ولی این میزان معنی دار نبود ($P=0/733$). اگرچه دهانشویه ترکیبی افزایش کمتری در شدت رنگ در ناحیه لثه ای ایجاد کرد ولی این تفاوت معنی دار نبود ($P=0/155$). دهانشویه ترکیبی به طور معنی دار باعث افزایش کمتری در شدت رنگ در ناحیه تنه ای و وسعت رنگ در ناحیه تنه ای و لثه ای دندان ها شد ($P<0/05$).

نتایج *In vitro*: نمودار ۱ بیانگر نتایج حاصل از دانسیته نوری ۳ ماده شیشه، شیشه آغشته به کلرهگزیدین و شیشه آغشته به دهانشویه ترکیبی می باشد که توسط نرم افزار دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج حدود ۳۲۰-۹۰۰ nm ثبت شده است. شیشه که به عنوان مقیاس در نظر گرفته شده دارای دانسیته نوری حدود صفر در این طول موج می باشد. کلرهگزیدین دارای بیشترین میزان دانسیته نوری است و دهانشویه ترکیبی دارای دانسیته نوری حد واسط شیشه و شیشه آغشته به دهانشویه کلرهگزیدین می باشد.



نمودار ۱: دانسیته نوری شیشه (series 3) شیشه با اثر کلرهگزیدین (series 2) و شیشه با اثر دهانشویه ترکیبی (series 1) در طول موج 320-920 nm

بحث:

در حال حاضر اطلاعات متناقضی در مورد اثر عوامل اکسید کننده بر ژئوویت وجود دارد. در مطالعه ون اشتروم و همکاران در سال ۱۹۷۹ اثرات دهانشویه Amosar با

- nancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand* 1964; 22: 121-27.
10. Lobene RR. Effect of dentifrices on tooth stain with controlled brushing. *J Am Dent Assoc* 1968; 77: 849-55.
 11. Lal P, Bajpai R, Khurana R, Das KJ. Changes in salivary flow rates in head and neck cancer after chemoradiotherapy. *J Cancer Res Ther* 2010; 6(4):458-62.
 12. Addy M, Prayitno S, Taylor L, Cadogan S. An in vitro study of the role of dietary factors in the aetiology of tooth staining associated with the use of chlorhexidine. *J Periodontol Res* 1979; 14: 403-410.
 13. Wennstrom J, Lindhe J. Effect of hydrogen peroxide of developing plaque and gingivitis in man. *J Clin Periodontol* 1979; 6: 115-130.
 14. Dona BL, Grundemann L, Steinfort J, Timmerman MF, Van der Weijden GA. The inhibitory effect of combining chlorhexidine and hydrogen peroxide on 3-day plaque accumulation. *J Clin Periodontol* 1998;25: 879-883.
 15. Grundemann L, Timmerman M, Ijzerman Y, Van der Velden U, Van der Weijden G. Stain, plaque and gingivitis reduction by combining chlorhexidine and peroxyborate. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 9-15.
 16. Moran J, Addy M, Wade W, Milson S, McAndrew R, Newcombe RG. The effect of oxidizing mouthrinses compared with chlorhexidine on salivary bacterial counts and plaque regrowth. *J Clin Periodontol* 1995; 22: 750-755.
 17. Hoyos DF, Murray JJ, Straw L. The effect of chlorhexidine gel on plaque and gingivitis in children. *Br Dental J* 1977; 142: 366-369.
 18. Nordbe H. Discoloration of human teeth by a combination of chlorhexidine and aldehydes or ketones in vitro. *Scand J Dental Res* 1971; 79: 356-361
 19. Addy M, Greenman J, Renton- Harper P, Newcombe RG, Doherty FM. Studies on stannous fluoride tooth paste and gel 2: Effect on salivary bacterial counts and plaque re-growth in vivo. *J Clin Periodontol* 1997; 24: 86-91.

در کاهش اثرات رنگ زائی کلرهگزیدین در کنار حفظ اثرات ضد پلاک آن اشاره کرده اند(۱۵).

نتیجه نهایی:

کاربرد دهانشویه کلرهگزیدین حاوی سدیم پربورات باعث کاهش قابل ملاحظه ای در میزان رنگ پذیری شده اما تأثیری بازدارنده بر خاصیت کاهش پلاک و التهاب لثه کلرهگزیدین ندارد.

منابع:

1. Loe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol* 1965; 36:177-87.
2. Christensen GJ. Tooth bleaching home use product in vivo assays for presence of gel in trays. *Clin Res Assoc Newsletter* 1989; 19: 19-23.
3. Eriksen HM, Solheim H, Nordbo H. Chemical plaque control and prevention of extrinsic tooth discoloration in vivo. *Acta Odontol Scand* 1983; 41: 87-91.
4. Ponteract H, Courtney M, Smith S, Newcombe RG, Addy M. Development of methods to enhance extrinsic tooth discoloration for comparison of tooth pastes 1. *Studies in vitro. J Clin Periodontol* 2004; 31: 1-6.
5. Ponteract H, Courtney M, Smith S, Newcombe RG, Addy M. Development of methods to enhance extrinsic tooth discoloration for comparison of tooth pastes 2. *Two- product clinical study. J Clin Periodontol* 2004; 31: 7-11.
6. Carpenter GH, Pramanik R, Proctor GB. An in vitro model of chlorhexidine-induced tooth staining. *J Periodontal Res* 2005; 40(3):225-30.
7. Claydon NC, Moran J, Bosma ML, Shirodaria S, Addy M, Newcombe R. Clinical study to compare the effectiveness of a test whitening toothpaste with a commercial whitening toothpaste at inhibiting dental stain. *J Clin Periodontol* 2004; 31(12):1088-91.
8. Loe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy I. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand* 1963; 21:533-51.
9. Silness J, Loe H. Periodontal disease in preg