

## بررسی اثر استفاده توام ازن و فلوراید در پوسیدگیهای اولیه ریشه

دکتر امیر قاسمی<sup>۱</sup> - دکتر حسن تراب زاده<sup>۱</sup> - دکتر محمد ابراهیم<sup>۲</sup> - دکتر مهدی کدخدازاده<sup>۳</sup> - دکتر سید امیر میرمعزی<sup>۴</sup>

۱- دانشیار گروه آموزشی ترمیمی دانشکده و عضو مرکز تحقیقات دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۲- عضو هیئت علمی گروه آموزشی ترمیمی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۳- استادیار گروه آموزشی پریودنتولوژی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۴- دندانپزشک

### چکیده

**زمینه و هدف:** گفته می‌شود که استفاده از ازن در ضایعات پوسیدگی ممکن است باعث کاهش باکتری‌های پوسیدگی‌زا شود. این امر احتمالاً از پیشرفت جلوگیری کرده و در حضور فلوراید، شاید اجازه وقوع ریمینرالیزه شدن را بدهد. هدف از این مطالعه بررسی اثر توام ازن و فلوراید بر پوسیدگیهای اولیه ریشه می‌باشد.

**روش بررسی:** این مطالعه از نوع کارآزمایی بالینی و Split-mouth می‌باشد. برای انجام آن تعداد ۲۳ جفت پوسیدگی اولیه چرمی شکل ریشه به صورت دو طرفه از بیماران مراجعه کننده به دانشکده دندانپزشکی شهید بهشتی انتخاب گردید. پس از برساژ، عدد تشخیصی *DIAGNODENT* (KAVO Inc. USA) برای هر نمونه در سه نقطه تعیین گردید. نیمی از نمونه‌ها که به صورت تصادفی انتخاب گردیده بودند تحت ۱۲ ثانیه ازن تراپی با دستگاه *OZOTOP* (Mectron Swiss Inc) قرار گرفتند. نیمه قرینه جهت گروه کنترل انتخاب گردید و در دو گروه فلوراید تراپی انجام و عدد تشخیصی *DIAGNODENT* دوباره اندازه‌گیری شد. این فرآیند در یک ماه بعد تکرار و عدد تشخیصی *DIAGNODENT* یادداشت شد. سه ماه بعد از درمان اولیه دوباره اطلاعات جمع آوری گردید، نتایج به وسیله آزمون *Paired t test* مورد بررسی آماری قرار گرفت.

**یافته‌ها:** بیشترین کاهش عدد تشخیصی *DIAGNODENT* در گروه استفاده توام فلوراید و ازن در مدت سه ماهه میانگین ۲/۰۴۳۹ بود. در آزمون *Paired t test* در مقایسه *P.V* در ماه سه نسبت به شروع مطالعه در گروه مداخله نسبت به گروه شاهد مقدار  $P.V < 0/001$  بود که با توجه به معیار معنی‌دار بودن ( $P < 0/05$ ) این مطالعه معنی‌دار بود.

**نتیجه‌گیری:** اثر توام فلوراید و ازن در کاهش عدد *DIAGNODENT* در مدت سه ماهه بیش از اثر فلوراید به تنهایی در همین مدت است.

**کلیدواژه‌ها:** ازن - پوسیدگی دندان - لیزرها.

وصول مقاله: ۱۳۸۹/۱۰/۵

اصلاح نهایی: ۱۳۹۰/۵/۲

پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۵/۹

e.mail: amirmirmoezzi@gmail.com

نویسنده مسئول: دکتر سید امیر میرمعزی، دندانپزشک

### مقدمه

فلوراید همراه با رعایت بهداشت دهان و دندان موجب کاهش معنی‌دار در میزان دکلسیفیکاسیون دندان می‌گردد. (۱۱-۲۵)

Ozone (ازن) ماده‌ای است که در درمان پوسیدگی به کار می‌رود. با توجه به بی‌دردی و سهولت استفاده و اثر ضد باکتری ازن (۲۶-۳۰) استفاده از این ماده مورد توجه قرار گرفته است.

پوسیدگی شایعترین بیماری قرن است و شروع آن با تشکیل ضایعات دکلسیفیه می‌باشد، در نتیجه پیشگیری از ضایعات دکلسیفیه می‌تواند تأثیر به‌سزایی در سلامت جامعه داشته باشد. برخی مطالعات نشان داده‌اند استفاده از فلوراید می‌تواند جلوی پیشرفت این ضایعات را گرفته و پدیده ریمینرالیزاسیون (دوباره معدنی‌شدن) بعد از درمان را تسریع بخشد. (۱-۱۰)، ثابت شده استفاده روزانه از دهان‌شوویه

پوسیدگیهای اولیه ریشه این مطالعه با هدف بررسی اثر ازن بر پوسیدگیهای اولیه چرمی شکل ریشه، بدون تشکیل حفره انجام گرفت. همچنین لازم به ذکر است که ضایعات اولیه پوسیدگی ریشه بر اساس Texture به سه نوع نرم، چرمی، سخت تقسیم می‌شوند و ضایعه چرمی شکل و نوع نرم فعال به حساب می‌آیند و نوع چرمی دارای محدوده وسیعی از ظواهر هیستولوژی مختلف است و در آن گیر کردن سُنَد و تشکیل حفره صورت نمی‌گیرد و در مورد آن به صورت معمول درمان با عوامل شیمیایی صورت می‌گیرد. (۳۹)

تشخیص چرمی شکل بودن ضایعه بر اساس مطالعه Banting D.W و همکاران انجام گرفت. (۴۵)

#### روش بررسی

مطالعه از نوع بالینی بود و به صورت Split-mouth بر روی ضایعات پوسیدگی اولیه چرمی شکل ریشه بدون تشکیل حفره واقع در دو سمت دهان انجام شد. تعداد ۲۳ جفت پوسیدگی اولیه چرمی شکل ریشه دو طرفه بدون تشکیل حفره به صورت غیر تصادفی انتخاب و در دو گروه کنترل (درمان به وسیله فلوراید) و گروه مورد درمان (استفاده از فلوراید و Ozotop) به صورت تصادفی قرار گرفت. لازم به ذکر است که سعی شد ضایعات با اندازه مشابه و در دندانهای قرینه (مثلاً در سه پایین راست و سه پایین چپ) انتخاب شوند. جهت تشخیص ضایعات اولیه چرمی شکل ریشه از روش مشاهده و لمس استفاده گردید. (۴۵)، برای اطمینان از صحت تشخیص ضایعات اولیه در مرحله چرمی شکل ریشه از نظر دو نفر از استادان بخش استفاده شد. در هر ضایعه از یک سمت ضایعه مشابهی از سمت مخالف انتخاب گردید.

برساز به وسیله برس مرطوب جهت تمیز کردن ناحیه مورد درمان صورت گرفت و سپس لیزر (KAVO DIAGNODENT USA Inc.) عمود بر سطح باکال در سه ناحیه در مزیال، مرکز، دیستال مورد استفاده قرار گرفت و عدد به دست آمده یادداشت شد. دستگاه قبل از استفاده به وسیله مخروط خود دستگاه کالیبره شد، ضمناً از نوع B دستگاه استفاده گردید.

خواص قابل اعتماد میکروبیولوژیک و متابولیک ازن چه در حالت گازی و چه در حالت مایع، آن را به یک ضدعفونی کننده مفید در زمینه‌های مختلف تبدیل کرده است. (۳۱-۳۵)، ازن چه در حالت گازی و چه در حالت مایع آن نشان داده شده است که یک ضدعفونی کننده قوی و مورد اعتماد بر ضد باکتری و قارچ و پروتوزوا و ویروس‌ها می‌باشد. (۳۶-۳۷)، به طور کلی پذیرفته شده است که توان اکسید کنندگی ازن باعث تخریب دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی باکتری‌ها و قارچ‌ها می‌شود. طی این فرآیند ازن به گلیکوپروتئین‌ها و گلیکولیپیدها و دیگر آمینواسیدها حمله کرده و باعث منع و بلوکه شدن سیستم کنترل آنزیمی سلول می‌شود. (۳۸)، این عمل سبب افزایش نفوذپذیری سلول، عنصر اساسی در قابلیت زیستی سلول، می‌گردد که به انقطاع آبی فعالیت سلول منجر می‌شود. سپس مولکول‌های ازن می‌توانند به راحتی وارد سلول گردند و باعث مرگ میکروارگانیسم شوند. (۳۵-۳۶، ۳۹)، همچنین ازن می‌تواند به بسیاری از بیومولکول‌ها مانند سیستمین و متیونین و هیستیدین باقیمانده از پروتئین‌ها حمله کند. (۳۹)، با اکسید کردن بیومولکول‌های برجسته در بیماریهای دندانی ازن نقش برهم زننده برجسته‌ای بر روی باکتری‌های پوسیدگی‌زا داشته و باعث حذف باکتری‌های اسیدوژنیک می‌گردد. قویترین اسید طبیعی ساخته شده توسط باکتری‌های اسیدژنیک در طی فرآیند پوسیدگی، اسید پیرویک است. ازن می‌تواند این اسید را به اسید استیک دکربوکسیله کند. (۴۰)، نشان داده شده است که رمینالیزاسیون در ضایعات اولیه پوسیدگی می‌تواند تقویت شود وقتی که ساخت اسید استیک، یا دیگر اسیدهای با pKa بالا که در پلاک پیدا می‌شوند، باعث بافر شدن مایع پلاکی شوند. (۴۱)

Brazzelli و همکاران (۴۲) و McComb و همکاران (۴۳) شواهد کافی جهت معنی‌دار بودن اثر ازن بر پوسیدگی را گزارش نکردند در حالی که Huth و همکاران (۴۴) اثر معنی‌دار ازن بر کاهش پوسیدگی را گزارش دادند. با توجه به نتایج متناقض و محدود در مورد ارتباط ازن با

تغییر دیده شد. در آزمون paired t test در مقایسه P.V در ماه سه نسبت به شروع مطالعه در گروه مداخله نسبت به گروه شاهد مقدار  $P.V < 0.001$  تعیین شد که با توجه به معیار معنی‌دار بودن مطالعه ( $P < 0.05$ ) معنی‌دار می‌باشد، یعنی استفاده توأم از فلوراید و ازن نسبت به استفاده از فلوراید به تنهایی در کاهش عدد DIAGNODENT مؤثرتر می‌باشد.

با عنایت به جدول ۱ نتیجه می‌شود که استفاده از فلوراید و ازن به مدت یک‌ماه تغییر معنی‌داری در عدد DIAGNODENT ایجاد نمی‌کند که این تفاوت بین ماه یک و سه را می‌توان به دلیل درمان مجدد توسط ازن و اثر ضد باکتریال شدید آن و ایجاد شرایط مناسب از طریق از بین بردن باکتری‌ها و در نتیجه ایجاد شرایط PH و یونی مناسب جهت برگشت پوسیدگی دانست و نیز ادامه رعایت بهداشت و استفاده از خمیر دندانهای حاوی فلوراید توسط بیمار را نیز می‌توان از عوامل مؤثر به حساب آورد. همچنین با توجه به جدول ۱ نتیجه می‌شود که استفاده از فلوراید و ازن بلافاصله پس از درمان در شروع مطالعه و یک ماه بعد از شروع مطالعه تغییر معنی‌داری در عدد DIAGNODENT ایجاد نمی‌کند، پس نتیجه می‌شود ازن و فلوراید بلافاصله پس از درمان تأثیر معنی‌داری در عدد DIAGNODENT ندارند. همچنین در مقایسه گروه استفاده از فلوراید به تنهایی در سه ماه نسبت به شروع مطالعه در آزمون paired t test مقدار  $P.V < 0.001$  تعیین شد که با توجه به معیار معنی‌دار بودن مطالعه ( $P < 0.05$ ) معنی‌دار می‌باشد یعنی استفاده از فلوراید به تنهایی در کاهش عدد DIAGNODENT مؤثر می‌باشد.

### بحث

در این مطالعه از روش Split-Mouth استفاده شد که به معنی انتخاب نمونه‌های کنترل و مداخله از دو قوس مقابل در دهان یک بیمار می‌باشد از آنجا که این ضایعات مشابه انتخاب شده‌اند، متغیرهایی مثل وسعت ضایعه پوسیدگی و دیگر متغیرهای مداخله‌ای، همسان سازی گشته و تأثیر آنها به حداقل رسیده است. در این مطالعه از نوع پوسیدگی

برای هر ضایعه انتخابی که در گروه تجربی قرار می‌گیرد ضایعه مشابهی به‌عنوان شاهد از سمت مخالف دهان انتخاب می‌شد. گاز ازن به وسیله دستگاه Ozotop (Mectron Swiss Inc.) تأمین گردید. دستگاه Ozotop قادر به تأمین ازن به مقدار 140PPM/2L/MIN می‌باشد. از تیپ CORO دستگاه استفاده گردید. پس از اطمینان از فعال بودن دستگاه سر آن در مجاورت ضایعات قرار گرفت و به نحوی حرکت داده شد که تمام محدوده تحت درمان قرار گیرد. جهت خروج ازن اضافی از ساکشن High vacuum استفاده گردید. گاز ازن (Ozotop) بر اساس دستور کارخانه سازنده در ضایعات انتخاب شده به مدت ۱۲ ثانیه استفاده شده و سپس محلولهای رمینرالیزه کننده در دو طرف به کار رفت. پس از آن عدد DIAGNODENT دوباره خوانده و یادداشت شد. فرآیند در یک ماه بعد تکرار گردید و در ضمن عدد DIAGNODENT در سه ماه بعد یادداشت شد. اعداد مربوط به قبل از درمان و بلافاصله پس از درمان و یک ماه بعد، قبل از درمان مجدد و پس از درمان مجدد و سه ماه بعد از درمان در ضایعات به مدت سه ماه به صورت کمی تعیین و در گروه درمان شده با ازن و درمان نشده با ازن مقایسه گردید. جهت بررسی اثر ازن بر عدد DIAGNODENT از روش paired t test استفاده شد و در آن اختلاف عدد DIAGNODENT در قبل و بلافاصله بعد از درمان با ازن در گروههای مداخله و شاهد و نیز اختلاف عدد DIAGNODENT یک ماه پس از درمان مجدد نسبت به Baseline و سه ماه پس از درمان نسبت به Baseline در گروههای مداخله و شاهد نسبت به هم با آزمون paired t test با در نظر گرفتن جهت معنی‌دار بودن طبق جدول ۱ مورد بررسی قرار گرفت.

### یافته‌ها

بر اساس بررسی انجام شده در عدد DIAGNODENT در گروه درمان توأم به وسیله فلوراید و ازن در مدت سه ماه (با میانگین ۲/۰۴۳۹) بیشترین تغییر و در گروه بلافاصله پس از درمان به وسیله فلوراید (با میانگین ۰/۲۷۵۷) کمترین

جدول ۱: میانگین تغییرات و P.V در گروه شاهد و مداخله

اطلاعات پایه قبل و بعد از درمان		یک ماه بعد، قبل و بعد از درمان		اطلاعات پایه یک ماه بعد از درمان، نسبت به		اطلاعات پایه سه ماه بعد از درمان، نسبت به	
مداخله	شاهد	مداخله	شاهد	مداخله	شاهد	مداخله	شاهد
۰/۴۲۱۳	۰/۲۷۵۷	۰/۴۲۰۴	۰/۲۸۹۱	۰/۸۵۵۲	۰/۶۳۸۳	۲/۰۴۳۹	۱/۳۱۹۱
P.V = ۰/۰۷۶	P.V = ۰/۰۹۴	P.V = ۰/۲۰۵	P.V = ۰/۰۰۱				

خواهد بود. ولی مطالعاتی که در زمینه کارآیی روش درمانی Heal ozone منتشر شده‌اند هنوز به اندازه کافی نیستند که بتوان فواید درمانی آن در درمان ضایعات پوسیدگی اکلوزالی و ریشه‌ای را تأیید کرد. انجام مطالعات متعدد با متدولوژی قوی و مناسب جهت رسیدن به یک نتیجه‌گیری قطعی در این زمینه لازم است. مطالعه حاضر به صورت مروری سیستماتیک و با وارد کردن ده مطالعه انجام شد. برخلاف اینکه مطالعات از این نوع در مورد روشهای درمانی جدید اهمیت خاصی دارند ولی از آنجا که اکثر مطالعات بررسی شده در این مطالعه به صورت خلاصه کنگرها یا مطالعات منتشر نشده بودند تحقیق با نکات ضعف متعددی روبرو می‌باشد.

همچنین در مطالعه‌ای که توسط McComb و همکاران (۴۳) به صورت مرور مقالات انجام شد، این نتیجه به دست آمد که با توجه به ریسک بالای تورش در مطالعات و عدم یکنواختی نتایج به دست آمده هیچ مدرک معتبری وجود ندارد که کارآیی گاز ازن در توقف یا معکوس کردن روند پوسیدگی را ثابت نماید. لذا نیاز اساسی به مطالعات بیشتر و مناسب با متدولوژی قوی قبل از توصیه به کاربرد ازن در درمانهای دندانپزشکی وجود دارد. برخلاف اینکه مطالعه مروری حاضر تعداد زیادی از تحقیقات نامناسب را به دلیل عدم برخورداری از متدولوژی قوی و مناسب حذف کرده بود ولی همان گونه که خود محققان اعلام کرده بودند ریسک تورش در این مطالعه بالا و نمی‌توان نتایج آن را معتبر دانست. برخلاف اینکه مطالعات از این نوع در مورد

چرمی شکل ریشه استفاده شد چرا که بر اساس مطالعات این نوع و نوع سخت بهترین پیش آگهی را نسبت به درمانهای محافظه کارانه دارا می‌باشند. (۳۰، ۴۵-۴۸)، علاوه بر آن جهت تعیین اثر ازن از لیزر DIAGNODENT استفاده شد که می‌توان بی ضرر و غیر مخرب بودن، سهولت استفاده و نشان دادن تغییر به صورت کمی را از دلایل انتخاب این دستگاه جهت این کار ذکر کرد. (۴۹)

از دلایل انتخاب ازن در این مطالعه می‌توان به بی دردی و سهولت استفاده و اثر ضد باکتریال قوی آن اشاره کرد و جهت فراهم کردن ازن از دستگاه Ozotop (Mectron Swiss Inc.) استفاده شد که در دسترس بودن و سهولت استفاده را می‌توان دلیل آن دانست.

نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده توام از فلوراید و ازن تأثیر بیشتری نسبت به استفاده از فلوراید به تنهایی در کاهش عدد DIAGNODENT دارد. این نتایج با نتایج به دست آمده توسط Huth و همکاران (۴۴)، Holmes و همکاران (۳۹) و Knezevic و همکاران (۴۹) همخوانی دارد که می‌توان مشابهاً کلی روش انجام این مطالعات را دلیل آن ذکر کرد. از نقاط قوت این مطالعات می‌توان به استفاده از روش تصادفی در اختصاص نمونه‌های مورد مطالعه به دو گروه، استفاده از روش Split-mouth (استفاده از هر دو ماده در فرد) اشاره کرد. دیگر اینکه در مطالعات Brazzelli و همکاران (۴۲) که به صورت مرور مقالات انجام گرفت نتیجه‌گیری شد که استفاده از هر گونه روش درمانی جدید که بتواند جلو پوسیدگی دندانها را بگیرد مقرون به صرفه

فلوراید و ازن یک درمان بلند مدت می‌باشد که این موضوع مشابه نتیجه‌گیری Knezevic و همکاران (۴۹) می‌باشد. شماره ثبت کارآزمایی بالینی: IRCT138809222844N1

### نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که استفاده از گاز ازن به همراه فلوراید در دوره سه ماهه تأثیر به‌سزایی در کاهش عدد DIAGNODENT دارد، همان‌گونه که فلوراید هم در دوره سه ماهه تأثیر معنی‌داری در کاهش عدد DIAGNODENT دارد، ولی استفاده از ازن به همراه فلوراید یا فلوراید به تنهایی بلافاصله پس از درمان تأثیر معنی‌داری در کاهش عدد DIAGNODENT ندارد. همان‌گونه که استفاده از گاز ازن به همراه فلوراید در دوره یک ماهه تأثیر به‌سزایی در کاهش عدد DIAGNODENT ندارد.

روشهای درمانی جدید اهمیت خاصی در پذیرش یا رد استفاده از آنها دارند. در مقایسه تغییرات در ماه یک و سه مشاهده گردید که در ماه یک، میانگین تغییرات در گروه مداخله و شاهد به ترتیب برابر ۰/۸۵۵۲ و ۰/۶۳۸۳ بود و در ماه سه در گروه مداخله و شاهد برابر ۲/۰۴۳۹ و ۱/۳۱۹۱ بود و در آزمون paired t test میزان  $P.V=0/205$  بود که با توجه به معیار معنی‌دار بودن ( $P < 0/05$ ) معنی‌دار نمی‌باشد. این تفاوت بین ماه یک و سه را می‌توان به دلیل درمان مجدد توسط ازن و اثر ضد باکتریال شدید آن و ایجاد شرایط مناسب از طریق از بین بردن باکتری‌ها و در نتیجه ایجاد شرایط PH و یونی مناسب جهت برگشت پوسیدگی دانست و نیز ادامه رعایت بهداشت و استفاده از خمیر دندانهای حاوی فلوراید توسط بیمار را نیز می‌توان از عوامل مؤثر به حساب آورد. همچنین نتیجه می‌شود که درمان به وسیله

### REFERENCES

- O'Reilly MM, Featherstone JD. Demineralization and remineralization around orthodontic appliances: An in vivo study. Am J Orthod Dentofac Orthop. 1987 Jul; 92(1): 33-40.
- Gorton J, Featherstone JD. In vivo inhibition of demineralization around orthodontic brackets. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2003 Jan; 123(1):10-4.
- Behnan SM, Arruda AO, González-Cabezas C, Sohn W, Peters MC. In-vitro evaluation of various treatments to prevent demineralization next to orthodontic brackets. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2010 Dec; 138(6):712-3.
- Uysal T, Amasyali M, Koyuturk AE, Ozcan S. Effects of different topical agents on enamel demineralization around orthodontic brackets: An in vivo and in vitro study. Aust Dent J. 2010 Sep; 55(3):268-74.
- Qgaard B, Rolla G, Arends J. Orthodontic appliances and enamel demineralization. Part 1. Lesion development. Am J Orthod Dentofac Orthop. 1988 Jul; 94(1):68-73.
- Arends J, Christoffsen J. The nature of early caries lesions in enamel. J Dent Res. 1986 Jan;65(1):2-11.
- Zachrisson EU, Zachrisson S. Caries incidence and orthodontic treatment with fixed appliances. Scand J Dent Res. 1971 March; 79(3):183-192.
- Artun J, Thylstrup A. A 3-year clinical and SEM study of surface changes of carious enamel lesions after inactivation. Am J Orthod Dentofac Orthop. 1989 Apr; 95(4): 327-333.
- Qgaard B. Prevalence of white spot lesions in 19-year-olds. A study on untreated and orthodontically treated persons 5 years after treatment. Am J Orthod Dentofac Orthop. 1989 Nov; 96(5):423-427.
- Qgaard B, Rella C, Arends J, Tencate JM. Orthodontic appliances and enamel demineralization. Part 2. Prevention and treatment of lesions. Am J Orthod Dentofac Orthop. 1988 Aug; 94(2):123-128.

11. Gorelick L, Geiger AM, Gwinnett AJ. Incidence of white spot formation after bonding and banding. *Am J Orthod.* 1982 Feb; 81(2):93-98.
12. Geiger AM, Gorehck L, Gwinnett AJ. Reducing white spot lesions in orthodontic populations with fluoride rinsing. *J Dent Res.* 1992 May; 101(5):403-7.
13. Bailey DL, Adams GG, Tsao CE, Hyslop A, Escobar K. Regression of post-orthodontic lesions by a remineralizing cream. *J Dent Res.* 2009 Dec; 88(12):1148-53.
14. Pratt KC, Hicks J, English JD, Bussa HI Jr, Flaitz CM, Powers JM. Fluoride-releasing orthodontic adhesives and topical fluoride effect on enamel caries formation: an in vitro study. *Am J Dent.* 2010 Jun; 23(3):179-84.
15. Chin MY, Sandham A, Rumachik EN, Ruben JL, Huysmans MC. Fluoride release and cariostatic potential of orthodontic adhesives with and without daily fluoride rinsing. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2009 Oct; 136(4):547-53.
16. Walsh T, Worthington HV, Glenny AM, Appelbe P, Marinho VC, Shi X. Fluoride toothpastes of different concentrations for preventing dental caries in children and adolescents. *Evid Based Dent.* 2010 Jan; 11(1):6-7.
17. Rasines G. Fluoride toothpaste prevents caries in children and adolescents at fluoride concentrations of 1000 ppm and above. *Evid Based Dent.* 2010 Mar; 11(1):6-7.
18. Shannon IL. Prevention of decalcification in orthodontic patients. *J Clin Orthod.* 1981 Oct; 15(10):694-706.
19. Geiger AM, Gorelick L, Gwinnett A), Griswold PG. The effect of a fluoride program on white spot formation during orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 1988 Jan; 93(1):29-37.
20. Sonis AL, Snell W. An evaluation of a fluoride-releasing visible light-activated bonding system for orthodontic bracket placement. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 1989 Apr; 95(4):306-311.
21. Underwood ML, Rawls HR, Zimmermann BF. Clinical evaluation of a fluoride-exchanging resin as an orthodontic adhesive. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 1989 Aug; 96(2):96-99.
22. Chan DCN, Swift EJ, Bishara SE. In vitro evaluation of a fluoride-releasing orthodontic resin. *J Dent Res.* 1990 Sep; 69(9):1576-1579.
23. Qgaard B, Rezk-Lega F, Ruben J, Arends J. Cariostatic effect and fluoride release from a visible light-curing adhesive for bonding of orthodontic brackets. *Am Orthod Dentofac Orthop.* 1992 Apr; 101(4):303-307.
24. Mitchell L. An investigation into the effects of a fluoride-releasing adhesive on the prevalence of enamel surface changes associated with directly bonded orthodontic attachments, *Br J Orthod.* 1992 Aug; 19(3):207-214.
25. Turner PJ. The clinical evaluation of a fluoride-containing orthodontic bonding material. *Br J Orthod.* 1993 Nov; 20(4):307-313.
26. Baysan A, Whiley R, Lynch E. Anti-microbial effects of a novel ozone generating device on micro-organisms associated with primary root carious lesions in-vitro. *Caries Research.* 2000 Nov-Dec; 34(6): 498-501.
27. Azarpazhooh A, Limeback H. The application of ozone in dentistry: A systematic review of literature. *J Dent.* 2008 Feb; 36(2):104-16.
28. Baysan A, Lynch E. The use of ozone in dentistry and medicine. Part 2. Ozone and root caries. *Prim Dent Care.* 2006 Jan; 13(1):37-41.
29. Baysan A, Lynch E. Effect of ozone on the oral microbiota and clinical severity of primary root caries. *A m J Dent.* 2004 Feb; 17(1):56—60.

30. Beighton D, Lynch E, and Health MR. A microbiological study of primary root-carries lesions with different treatment needs. *J Dent Res.* 1993 Mar; 72(3): 623-9.
31. Nagayoshi M, Kitamura C, Fukuizumi T, Nishihara T, Terashita M. Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules. *J Endod.* 2004 Nov; 30(11):778-81.
32. Cardoso MG, de Oliveira LD, Koga-Ito CY, Jorge AO. Effectiveness of ozonated water on *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, and endotoxins in root canals. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol Endod.* 2008 Mar; 105(3):e85-91.
33. Estrela C, Estrela CR, Decurcio DA, Hollanda AC, Silva JA. Antimicrobial efficacy of ozonated water, gaseous ozone, sodium hypochlorite and chlorhexidine in infected human root canals. *Int Endod J.* 2007 Feb;40(2):85-93.
34. Ebensberger U, Pohl Y, Filippi A. PCNA-expression of cementoblasts and fibroblasts on the root surface after extraoral rinsing for decontamination. *Dent Traumatol.* 2002 Oct; 18(5):262-6.
35. Nagayoshi M, Fukuizumi T, Kitamura C, Yano J, Terashita M, Nishihara T. Efficacy of ozone on survival and permeability of oral microorganisms. *Oral Microbiol Immunol.* 2004 Aug; 19(4):240-6.
36. Arita M, Nagayoshi M, Fukuizumi T, Okinaga T, Masumi S, Morikawa M, et al. Microbicidal efficacy of ozonated water against *Candida albicans* adhering to acrylic denture plates. *Oral Microbiol Immunol.* 2005 Aug; 20(4):206-10.
37. Kim JG, Yousef AE, Dave S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: A review. *J Food Prot.* 1999 Sep; 62(9):1071-87.
38. Celiberti P, Pazera P, Lussi A. The impact of ozone treatment on enamel physical properties. *Am J Dent.* 2006 Feb; 19(1):67-72.
39. Holmes J. Clinical reversal of root caries using ozone, double-blind, randomized, controlled 18 month trial. *Gerodontology.* 2003 Dec; 20(2): 106-14.
40. Abu-Naba'a L, Al Shorman H, Holmes J, Petersson L, Tagami J, Lynch E. Evidenced-Based Research into Ozone Treatment in Dentistry. An Overview. Berlin, Germany: Quintessence publishing co; 2004, 73-115.
41. Margolis HC, Moreno EC, Murphy BJ. Importance of high pKA acids in cariogenic potential of plaque. *J Dent Res.* 1985 May; 64(5):786-92.
42. Brazzelli M, McKenzie L, Fielding S, Fraser C, Clarkson J, Kilonzo M, et al. Systematic review of the effectiveness and cost-effectiveness of HealOzone for the treatment of occlusal pit/fissure caries and root caries. *Health Technol Assess.* 2006 May; 10(16): iii-iv, ix-80.
43. McComb D. No reliable evidence that ozone gas stops or reverses tooth decay. *Evid Based Dent.* 2005; 6(2):34.
44. Huth KC, Paschos E, Brand K, Hickel R: Effect of ozone on non-cavitated fissure carious lesions in permanent molars. A controlled prospective clinical study. *Am J Dent.* 2005 Aug; 18(4):223-8.
45. Banting D, The diagnosis of root caries. *J Dent Educ.* 2001 Oct; 65(10): 991-6.
46. Lynch E, Beighton D. A comparison of primary root caries lesions classified according to colour. *Caries Res.* 1994; 28(4): 233-239.
47. Baysan A, Lynch E. Effect of ozone on the oral microbiota and clinical severity of primary root caries. *Am J Dent.* 2004 Feb; 17(1):56-60.
48. Baysan A, Lynch E, Grootveld M. The use of ozone for the management of primary root carious lesions. *Tissue Preservation and Caries Treatment.* Germany, Berlin: Quintessence Book; 2001, 3: 49-67.
49. Knevevic A, Tarle Z. Primary fissure carious lesion reversal using ozone. *Acta Stomatol Croat* 2007 Feb; 41(1): 31-8.