

Efficacy of different strategies in protecting enamel against demineralization during fixed orthodontic treatment

Effizienz verschiedener Strategien zum Demineralisationsschutz während der Multibracket-Behandlung

Michael Knösel¹, Linda Forslund², Klaus Jung³, Dirk Ziebolz⁴

Abstract

Background and objective. Sealant application is a common strategy for preventing enamel demineralization during multi-bracket treatment. The aim of this study was to assess the efficacy in enamel demineralization prevention of two fluoride-containing enamel varnishes compared to a non-fluoride varnish, weekly fluoride gel application, and a non-treated control group.

Materials and methods. Enamel specimens obtained from 75 human upper permanent incisors were randomly allocated to five trial groups (each n = 15): A), ProSeal (Reliance), B), Maximum Cure[®] (Reliance), C), CervitecPlus (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein), D) elmex[®] gelée (GABA, Lörrach, Germany), and E), a non-treated control group. Groups A–C received a baseline varnish application, whereas group D specimens received a once weekly gel application for 2 min. Six demineralization cycles per day were carried out for 5 min each using 0.05 M citric acid, with the specimens stored in remineralization solution between cycles. Lesion depth expressed in percentage fluorescence loss (Δ -F in %) compared to baseline (T0) was assessed quantitatively with light-induced fluorescence (QLF) after 3 (T1), 7 (T2), 14 (T3), and 30 (T4) days globally and for each time point, and analyzed for compounds using the Kruskal–Wallis test (α = 5%), and additional one-sample Wilcoxon tests for each time/compound combination (Bonferroni-corrected α -levels α^* = 0.05/4 = 0.0125).

Results. Significant fluorescence loss revealing greater lesion depth was detected in the untreated controls (E) at T3, and in groups A (ProSeal) and C (CervitecPlus) at T4. No significant Δ -F changes were seen in the specimens from groups B (Maximum Cure[®]) and D (elmex[®] gelée).

Zusammenfassung

Hintergrund und Zielsetzung. Zur Prävention von Schmelzdemineralisationen während der Multibracket-Behandlung ist das Aufbringen von Versiegeln üblich. Studienziel ist die Bestimmung der demineralisationsprotektiven Effizienz zweier fluoridhaltiger Versiegelungslacke im Vergleich zu einem nichtfluoridhaltigen Lack, einer wöchentlichen Fluoridgelapplikation und einer unbehandelten Kontrollgruppe.

Material und Methodik. Schmelzproben von 75 humanen, permanenten oberen Inzisivi wurden randomisiert 5 Studiengruppen zugeordnet (jeweils n = 15): A), ProSeal, B), Maximum Cure[®] (beide: Reliance Orthodontic Products, Itasca, IL, USA), C), CervitecPlus (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein), D), elmex[®] gelée (GABA, Lörrach, Deutschland), und E), einer unbehandelten Kontrollgruppe. Gemäß Herstellerangaben erhielten die Gruppen A bis C jeweils eine Baseline-Applikation, Gruppe D dagegen eine wöchentliche Gelapplikation für 2 Minuten. Sechs Demineralisationszyklen/Tag wurden für jeweils 5 Minuten mit 0,05 M Zitronensäure durchgeführt, bei zwischenzeitlicher Lagerung in einer Remineralisationslösung. Läsionstiefen wurden mittels lichtinduzierter Fluoreszenz (QLF) nach 3 (T1), 7 (T2), 14 (T3), und 30 (T4) Tagen als prozentualer Fluoreszenzabfall (Δ -F in %) mit den Baselinewerten (T0) quantitativ abgeglichen. Statistische Analysen erfolgten sowohl global als auch separat für jeden Zeitpunkt mit dem Kruskal–Wallis-Test (α = 5%) und zusätzlichen Wilcoxon-Tests für jede Zeitpunkt/Behandlungs-Kombination (Bonferroni-korrigiert α -Level α^* = 0,05/4 = 0,0125).

Ergebnisse. Signifikante Fluoreszenzverluste (als Zeichen sich vertiefender Läsionen) wurden in der unbehandelten Kontrollgruppe (E) ab T3 und für die Gruppen A (ProSeal) und C (CervitecPlus) ab T4 verzeichnet. Keine signifikanten Δ -F-Veränderungen wurden in den Gruppen B (Maximum Cure[®]) und D (elmex[®] gelée) festgestellt.

Schlussfolgerung. Die Versiegelung mit Maximum Cure[®] scheint ebenso wie die wöchentliche Applikation des Fluoridgels elmex[®] einen effizienten Schutz gegen Demineralisation während der festsitzenden Behandlung zu bieten.

¹ Private Practice, Hannover, Germany

² University Medical Center Göttingen, Germany

³ Department of Medical Statistics, University Medical Center Göttingen, Germany

⁴ Department of Preventive Dentistry, Periodontology and Cariology, University Medical Center Göttingen, Germany

Conclusion. Maximum Cure® sealant seems to offer efficient protection against demineralization during fixed orthodontic treatment, as does weekly application of elmex® fluoride gel.

Keywords

Quantitative light-induced fluorescence (QLF) · Demineralization protection · Fluoride sealants

Introduction

The etiology of white-spot lesions, a negative side-effect of multibracket appliances, has been thoroughly described [5, 17, 19]. In addition to esthetic impairment, especially in the anterior teeth [14], white-spot lesions must be considered an initial carious stage characterized by an outer enamel layer with significantly reduced mineralization [24] and one susceptible to worsening to a state requiring preventive dentistry treatment [9].

As enamel demineralization and the formation of white-spot lesions occur so rapidly [20], within only a few weeks [17], prevention strategies focus primarily on the application of fluoride-releasing varnishes [6, 23], fluoride-releasing bonding materials or cements [7, 8], on the repeated application of highly concentrated fluoride gels [29] or daily rinsing [4, 10, 13, 16] to prevent enamel loss by demineralization. Chlorhexidine applications such as the chlorhexidine-thymol varnish Cervitec (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) are also considered helpful in preventing white-spot lesions, namely by lowering the level of mutans streptococci [22]. Moreover, it is conceivable that the presence of an enamel varnish, even when not releasing fluoride, may be of some value in providing protection against demineralization [1, 25], even when not as effective as a fluoride varnish [30].

Reliable methods with which to score lesion formation are needed to enable demineralization to be objectively assessed. One such approach for characterizing enamel demineralization is to measure lesion depth in terms of percentage fluorescence loss (Δ -F in %) over time compared to baseline measurements using quantitative, light-induced fluorescence (QLF) [15, 18, 26, 27, 32], an approach based on the auto-fluorescence of teeth. Teeth illuminated with high-intensity blue light emit light in the green part of the spectrum. The degree of enamel fluorescence corresponds closely to the mineral content of the enamel [11, 27]. One can, thus, repeatedly measure changes in enamel mineralization with QLF non-destructively, a method unlike micro-radiographic or histological approaches.

Study aims

The present study was designed to evaluate the efficacy of two fluoride-containing enamel sealants (A, ProSeal and B, Maximum Cure®, both supplied by Reliance Orthodontic Products, Itasca, IL, USA) in providing protection against enamel demineralization compared to C) weekly elmex® gelée application (GABA, Lörrach, Germany), and D) a non-fluoride varnish

Schlüsselwörter

Quantitative lichtinduzierte Fluoreszenz (QLF) · Demineralisationsschutz · Fluoridhaltige Versiegler

Einleitung

Die Ätiologie der Bildung von White-Spot-Läsionen, einer unerwünschten Nebenwirkung bei der Verwendung von Multi-bracket-Apparaturen, ist umfassend beschrieben worden [5, 17, 19]. Neben der ästhetischen Beeinträchtigung insbesondere an den Frontzähnen [14] sind White-Spot-Läsionen als eine Vorstufe zur Kariesbildung zu betrachten, die durch einen erheblichen Rückgang der Mineralisation der äußeren Zahnschmelzschicht gekennzeichnet ist [24] und dazu neigt, bis zu einem Stadium fortzuschreiten, in dem eine präventive zahnmedizinische Behandlung erforderlich ist [9].

Da es sich bei der Schmelzdemineralisation und der Bildung der White-Spot-Läsionen bekanntermaßen um einen extrem schnellen Prozess [20] von nur wenigen Wochen Dauer [17] handelt, liegt der Schwerpunkt bei den Präventionsstrategien entweder auf der Applikation von Fluorid freisetzenden Lacken [6, 23], Fluorid freisetzenden Adhäsiven oder Zementen [7, 8] oder auf der wiederholten Applikation von hochkonzentrierten Fluoridgelen [29] oder täglichem Mundspülen [4, 10, 13, 16] zur Prävention des durch die Demineralisation bedingten Schmelzverlustes. Darüber hinaus können Chlorhexidin-Applikationen wie etwa der Chlorhexidin-Thymol-Lack Cervitec (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) als Hilfsmittel zur Prävention von White-Spot-Läsionen verwendet werden, da sie die Konzentration von Streptococcus mutans im Mund senken [22]. Darüber hinaus ist es denkbar, dass die Verwendung eines Schmelzlackes, selbst wenn dieser keine Fluoride freisetzt, einen gewissen prophylaktischen Wert als Demineralisationsschutz besitzt [1, 25], auch wenn dieser nicht so effektiv ist wie der eines fluoridhaltigen Lacks [30].

Für das Scoring der Läsionsbildung und eine objektive Bewertung der Demineralisation werden verlässliche Methoden benötigt. Ein solcher Ansatz zur Charakterisierung der Schmelzdemineralisationen ist die Messung der Progredienz der Läsionstiefe anhand des prozentualen Fluoreszenzabfalls (Δ -F in %) im Vergleich zur Baseline-Messung mittels quantitativer lichtinduzierter Fluoreszenz (QLF; [15, 18, 26, 27, 32]), einem auf der Auto-fluoreszenz der Zähne beruhenden Ansatz. Zähne, die mit einem hochintensiven blauen Licht angestrahlt werden, emittieren Licht im grünen Bereich des Spektrums. Die Schmelzfluoreszenz steht in direktem Verhältnis zum Mineralgehalt des Zahnschmelzes [11]. Die QLF ermöglicht eine wiederholte, nicht destruktive Messung der Veränderungen des Mineralgehalts des Zahnschmelzes. Dadurch unterscheidet sich QLF von mikroradiographischen oder histologischen Ansätzen.

Table 1. Ingredients and concentration range (in %) of tested agents and remineralization solution, according to manufacturers' specifications**Tabelle 1.** Inhaltsstoffe und Konzentrationsbereich (in %) der untersuchten Wirkstoffe und der Remineralisationslösung entsprechend den Herstellerangaben

Group	Product	Application	Content
A	ProSeal, Reliance Orthodontic Products, Itasca, IL, USA	1-component light-cured sealer (varnish) Once at baseline	Ethoxylated bisphenol A diacrylate 10–50% Urethane acrylate ester 10–40% Polyethyleneglycol diacrylate 10–40% Fluoride-containing glass frit 5–40%
B	Maximum Cure®, Reliance Orthodontic Products, Itasca, IL, USA	2-component chemically cured sealer (varnish) Once at baseline	Part A: Bisphenol A diglycidylmethacrylate 50–70% Methyl methacrylate 25–35% Amorphous silica 5–15% Hydrofluoride methacrylate 2–5% Part B: Bisphenol A diglycidylmethacrylate 50–80% Benzoyl peroxide 1–5% Methyl methacrylate 20–40%
C	Cervitec, Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein	Varnish Once at baseline	Ethanol, water, acrylate copolymer, Vinyl acetate copolymer and Chlorhexidine diacetate 1% Thymol 1%
D	elmex® gelée, GABA, Lörrach, Germany	Gel Once every 7 days for 2 min	Water, Amine fluoride (olaflur and dectaflur), Sodium fluoride, Propylene glycol, hydroxyethyl cellulose, Fluoride content: 12,500 ppm
A–E	Artificial saliva (remineralization) solution	Storage solution/between demineralization cycles	4.08 mM H ₃ PO ₄ , 20.1 mM KCl, 11.9 mM Na ₂ CO ₃ , and 1.98 mM CaCl ₂ ; pH 6.7

(CervitecPlus; Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein), in order to evaluate the protective effect of a non-fluoride varnish, and E) a non-treated control group, by means of QLF.

Null hypotheses were that there would be no significant differences among the respective Δ -F values after 3 (T1), 7 (T2), 14 (T3), and 30 (T4) days.

Material and methods

Sample records

Enamel specimens (diameter 3 mm; height 1 mm) were obtained from the labial surface of 75 upper anterior permanent human teeth extracted because of periodontal decay. Decayed, filled, restored, and deciduous teeth were excluded. Teeth were stored in distilled water at 20°C until the trial commenced to prevent desiccation. Specimens were mounted on acrylic base plates (Technovit 2060; Heraeus Kulzer, Wehrheim, Germany) for QLF analysis and subsequently polished up to grade 2400 (Struers, Erkrath, Germany) to provide comparable specimen surfaces. They were examined stereomicroscopically (Motic, Saarbrücken-Eschringen, Germany) at 10× magnification to prevent the inclusion of specimens with a striated surface or exposed dentin. Those specimens included in the study were then randomly allocated to five trial groups (n = 15 each): A)

Zielsetzungen der Studie

Die Zielsetzung der vorliegenden Studie bestand in der Bewertung zweier fluoridhaltiger Zahnschmelzversiegler (A, ProSeal, und B, Maximum Cure®, beide geliefert von Reliance Orthodontic Products, Itasca, IL, USA) hinsichtlich der Bereitstellung von Schutz gegen Schmelzdemineralisation im Vergleich zu C) der wöchentlichen Applikation von elmex® gelée (GABA, Lörrach, Deutschland), D) einem nicht fluoridhaltigen Lack (CervitecPlus, Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) zur Bewertung der Schutzwirksamkeit eines nicht fluoridhaltigen Lacks, und E) einer unbehandelten Kontrollgruppe mittels QLF.

Die Nullhypothesen lauteten, dass es keine signifikanten Unterschiede zwischen den jeweiligen Δ -F-Werten nach 3 (T1), 7 (T2), 14 (T3), und 30 (T4) Tagen geben würde.

Material und Methodik

Protokolle für die Probennahme

Von der labialen Oberfläche von 75 humanen, permanenten oberen Inzisivi, die aufgrund von Parodontose extrahiert worden waren, wurden Zahnschmelzproben (Durchmesser 3 mm; Höhe 1 mm) entnommen. Kariöse oder gefüllte Zähne sowie Milchzähne wurden von der Studie ausgeschlossen. Die Zähne

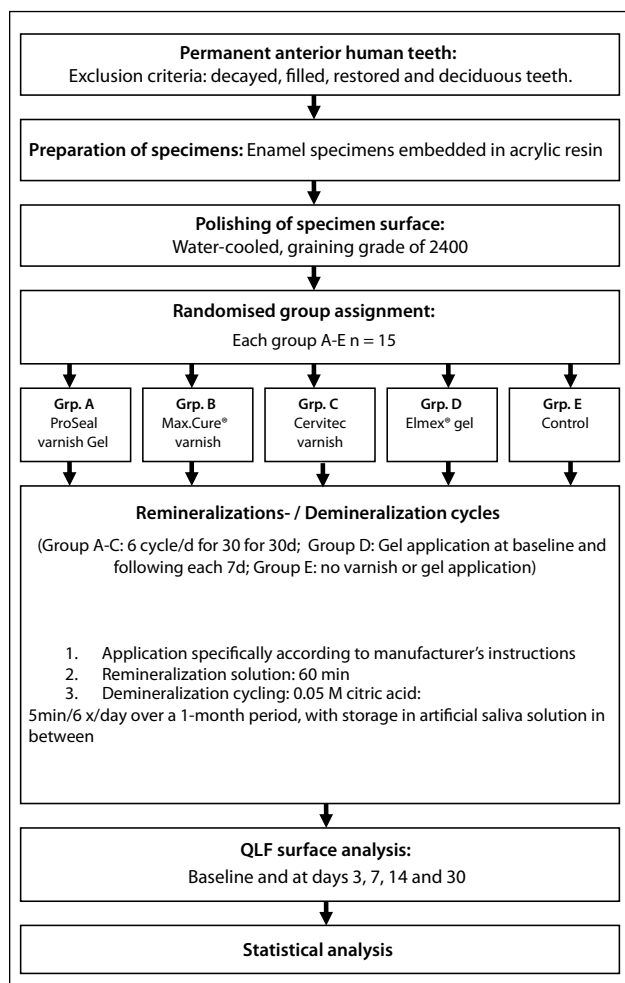


Figure 1. Flow chart of the course of the study. QLF assessments were conducted at T0 (baseline), T1, T2, T3, and T4

Abbildung 1. Flussdiagramm zum Ablauf der Studie. Die QLF-Bewertungen wurden bei T0 (Baseline), T1, T2, T3 und T4 vorgenommen

ProSeal (Reliance Orthodontic Products, Itasca, IL, USA), B) Maximum Cure® (Reliance Orthodontic Products, Itasca, IL, USA), C) CervitecPlus (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein), D) elmex® gelée (GABA, Lörrach, Germany), and E) a non-treated control group.

According to the manufacturer's instructions, groups A–C received a baseline varnish application only, whereas group D specimens received weekly (once every 7 days) gel applications for 2 min. After each gel application to group D specimens, they were rinsed with tap water until the gel was completely removed. In both groups A and B, the specimens' enamel surfaces were etched for 30 s with 37% phosphoric acid gel prior to baseline varnish application, rinsed with tap water for 60 s, and air-dried thoroughly. Then, ProSeal light-curing sealant (group A; light curing for 20 s) and the Maximum Cure® chemically-cured sealant (group B) were applied in a thin, uniform layer to the etched enamel using a brush. Group C specimens received a sin-

wurden bis zu Beginn des Versuchs bei 20°C in destilliertem Wasser aufbewahrt, um ein Austrocknen zu verhindern. Für die QLF-Analyse wurden die Proben auf Acryl-Basisplatten (Technovit 2060; Heraeus Kulzer, Wehrheim, Deutschland) montiert und anschließend bis zum Grad 2400 (Struers, Erkrath, Deutschland) bearbeitet, um vergleichbare Probenoberflächen zu erhalten. Die Proben wurden mit dem Stereomikroskop (Motic, Saarbrücken-Eschringen, Deutschland) bei 10-facher Vergrößerung untersucht, um zu vermeiden, dass Proben mit Riefen oder mit freiliegendem Dentin in die Studie aufgenommen wurden. Anschließend wurden die in die Studie eingeschlossenen Proben randomisiert fünf Studiengruppen (mit jeweils n = 15) zugeordnet: A) ProSeal, B) Maximum Cure® (beide Reliance Orthodontic Products, Itasca, IL, USA), C) CervitecPlus (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein), D) elmex® gelée (GABA, Lörrach, Deutschland) und E) einer unbehandelten Kontrollgruppe.

Entsprechend den Herstelleranweisungen erhielten die Versuchsgruppen A bis C jeweils nur eine Baseline-Applikation, während die Proben der Gruppe D wöchentlich (einmal alle sieben Tage) Gelapplikationen von 2 Minuten Dauer erhielten. Nach der Gelapplikation wurden die Proben der Gruppe D mit Leitungswasser gespült, bis das Gel vollständig entfernt war. Sowohl in Gruppe A als auch Gruppe B wurde die Schmelzoberfläche der Proben vor der Baseline-Applikation 30 Sekunden mit 37%igem Phosphorsäuregel angeätzt, 60 Sekunden mit Leitungswasser gespült und gründlich an der Luft getrocknet. Dann wurden der lighthärtende Versiegler ProSeal (Gruppe A; Lighthärtung 20 s) und der chemisch härtende Versiegler Maximum Cure® (Gruppe B) in einer dünnen, einheitlichen Schicht mit einem Pinsel auf den angeätzten Zahnschmelz aufgetragen. Proben der Gruppe C erhielten eine einzige Applikation des chlorhexidinhaltigen Lacks CervitecPlus. Die Demineralisationszyklen mit 0,05 M Zitronensäure, pH-Wert 2,3 (Merck, Darmstadt, Deutschland) wurden 5 Minuten lang/sechs Mal am Tag über einen Zeitraum von einem Monat durchgeführt; dazwischen wurden die Proben in einer künstlichen Speichelösung aufbewahrt. Inhalt und Art der Anwendung der jeweils getesteten Wirkstoffe sind in Tabelle 1 aufgeführt.

QLF-Analyse

Die Bewertung der Schutzwirkung gegen Schmelzdemineralisation erfolgt anhand der Läsionstiefe, ausgedrückt als prozentualer Fluoreszenzabfall (ΔF in % über eine Fläche A), bezeichnet als $\Delta Q (= \Delta F \times A)$ über einen bestimmten Zeitraum, verglichen mit den Baseline-Werten nach 3 (T1), 7 (T2), 14 (T3), und 30 (T4) Tagen, mit Hilfe quantitativer Messungen der lichtinduzierten Fluoreszenz (QLF; Inspektor Research Systems, Amsterdam, Niederlande) und der entsprechenden Software zur In-vitro-Messung der lichtinduzierten Fluoreszenz (QLF; Inspektor Research Systems, Amsterdam, Niederlande). Da die untersuchte Fläche für alle Proben in diesem In-vitro-Versuch konstant gehalten wurde, sollten die Messungen von ΔQ im Verhältnis zur Untersuchung von ΔF ein lineares Verhalten zeigen und wurden deshalb nicht einer separaten

Table 2. Global comparisons of baseline-corrected ΔF values between the five compounds, separately at each point in time**Table 2.** Globale Vergleiche der um die Baseline korrigierten ΔF -Werte zwischen den 5 Verbindungen, für jeden Zeitpunkt separat

Time	Compound	Median	Interquartile range	Range	p
1	Control	0.00	-3.10-0.00	-13.40-0.00	0.18
	Cervitec	0.00	-0.00-0.00	-5.61-0.00	
	Elmex®	0.00	-3.24-0.00	-17.80-0.00	
	ProSeal	0.00	-6.41-0.00	-18.50-0.00	
	Maximum Cure®	0.00	-6.04-0.00	-11.30-0.00	
2	Control	0.00	-6.64-0.00	-7.81-0.00	0.19
	Cervitec	0.00	-0.00-0.00	-5.91-0.00	
	Elmex®	0.00	-2.76-0.00	-16.50-0.00	
	ProSeal	0.00	-6.17-0.00	-9.44-0.00	
	Maximum Cure®	0.00	-5.87-0.00	-12.00-0.00	
3	Control	-6.18	-6.40-0.00	-6.81-0.00	0.21
	Cervitec	0.00	-6.24-0.00	-7.33-0.00	
	Elmex®	0.00	-0.00-0.00	-14.00-0.00	
	ProSeal	0.00	-7.49-0.00	-11.70-0.00	
	Maximum Cure®	0.00	-6.17-0.00	-10.10-0.00	
4	Control	-6.33	-7.27-0.00	-9.25-0.00	0.60
	Cervitec	-6.23	-6.63-0.00	-8.76-0.00	
	Elmex®	0.00	-6.29-0.00	-19.00-0.00	
	ProSeal	-6.23	-7.14-0.00	-11.90-0.00	
	Maximum Cure®	0.00	-6.72-0.00	-11.60-0.00	

gle application of CervitecPlus chlorhexidine-containing varnish. Demineralization cycles were carried out for 5 min six times a day over a 1-month period using a 0.05 M citric acid, pH 2.3 (Merck, Darmstadt, Germany) with storage in artificial saliva solution when not being treated. Contents and application mode of each agent tested are given in Table 1.

QLF analysis

Efficacy in providing protection against enamel demineralization was assessed by comparing lesion depth as expressed in the percentage of fluorescence loss (ΔF in % over an area (A), referred to as $\Delta Q (= \Delta F \times A)$) over time, compared to baseline values, after 3 (T1), 7 (T2), 14 (T3), and 30 (T4) days, using quantitative measurements of light-induced fluorescence (QLF; Inspektor Research Systems, Amsterdam, The Netherlands) and the corresponding QLF in vitro software (QLF; Inspektor Research Systems, Amsterdam, The Netherlands). Since the area evaluated was kept constant for all specimens in this in vitro trial, ΔQ measurements would display linear behavior in relation to ΔF assessments and were, therefore, not subjected to segregated analysis. The equipment used in this study consisted of a specimen stage, a video camera, a light source, and a PC fitted with an interface card. The specimen stage permits exact and reproducible placement of the enamel

Analyse unterzogen. Der experimentelle Aufbau beinhaltet einen Objektisch, eine Videokamera, eine Lichtquelle und einen mit einer Interface-Karte ausgestatteter PC. Der Objektisch erlaubt eine exakte und reproduzierbare Platzierung der Schmelzproben im Verhältnis zur Lichtquelle und zur Videokamera. Das Umgebungslicht wurde durch einen Spezialvorhang ausgeblendet. Die Messzyklen wurden automatisch durch die systeminterne Software initiiert, nachdem feststand, dass die Probe korrekt positioniert und identifiziert worden war. Während der langsamen Drehung des Objektisches wurde von der Software automatisch die am besten dem Baseline-Bild entsprechende Aufnahme ausgewählt und zusammen mit der Probenkennung, Uhrzeit und Datum gespeichert. Die Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse des mit der lichtinduzierten Fluoreszenz arbeitenden In-vitro-Versuchs wurde durch Verwendung einer Kalibrierungsprobe mit bekannten Maßen sichergestellt. Der Kalibrierungsprozess wurde vollkommen durch die Software unterstützt und vor jedem Messzyklus durchgeführt.

Eine Darstellung der Versuchsanordnung findet sich in Abbildung 1. Alle QLF-Tests wurden durch einen Untersucher (LF) durchgeführt.

Table 3. Global comparisons of baseline-corrected ΔF values between the four points in time, separately for each compound**Tabelle 3.** Globale Vergleiche der um die Baseline korrigierten ΔF -Werte zwischen den 4 Zeitpunkten, für jeden Verbund separat

Compound	Time	Median	Interquartile range	Range	p
Control	1	-0.00	-3.10-0.00	-13.40-0.00	0.25
	2	-0.00	-6.64-0.00	-7.81-0.00	
	3	-6.18	-6.40-0.00	-6.81-0.00	
	4	-6.33	-7.27-0.00	-9.25-0.00	
Cervitec	1	-0.00	-0.00-0.00	-5.61-0.00	<0.01
	2	-0.00	-0.00-0.00	-5.91-0.00	
	3	-0.00	-6.24-0.00	-7.33-0.00	
	4	-6.23	-6.63-0.00	-8.76-0.00	
elmex®	1	-0.00	-3.24-0.00	-17.80-0.00	0.64
	2	-0.00	-2.76-0.00	-16.50-0.00	
	3	-0.00	-0.00-0.00	-14.00-0.00	
	4	-0.00	-6.29-0.00	-19.00-0.00	
ProSeal	1	-0.00	-6.41-0.00	-18.50-0.00	0.71
	2	-0.00	-6.17-0.00	-9.44-0.00	
	3	-0.00	-7.49-0.00	-11.70-0.00	
	4	-6.23	-7.14-0.00	-11.90-0.00	
Maximum Cure®	1	-0.00	-6.04-0.00	-11.30-0.00	0.89
	2	-0.00	-5.87-0.00	-12.00-0.00	
	3	-0.00	-6.17-0.00	-10.10-0.00	
	4	-0.00	-6.72-0.00	-11.60-0.00	

specimens relative to the illumination source and video camera. Ambient light was excluded by a special curtain. Measurement cycles were started automatically by system-immanent software after a guarantee that the specimen had been correctly positioned and identified. While the specimen holder slowly rotated, the software automatically selected the image that best matched the baseline image, and this image was stored with the specimen's identification, time, and date. The accuracy and reproducibility of QLF in vitro results were ensured by using a special calibration specimen with known scales. The calibration process was fully supported by the software and implemented prior to each measurement cycle.

The experimental setup is illustrated in Figure 1. All QLF assessments were performed by one operator (LF).

Statistical analysis

All five groups' ΔF values (differences in relation to the baseline) were globally compared using the Kruskal-Wallis test, separately for each point in time and, vice versa, each group's measurements taken at the four time points were globally compared, also with the Kruskal-Wallis test. For each time/group combination, a one-sample Wilcoxon test was performed to assess whether the values deviated significantly from zero. Global tests were carried out at a significance level

Statistische Analyse

Die ΔF -Werte (Unterschiede gegenüber der Baseline) wurden global zwischen den fünf Gruppen mittels Kruskal-Wallis-Tests und separat für jeden Zeitpunkt gegenüber gestellt. Umgekehrt wurden die Messungen global zwischen den vier Zeitpunkten und separat für jede Gruppe ebenfalls mittels Kruskal-Wallis-Test verglichen. Für jede Zeitpunkt/Gruppen-Kombination wurde ein Wilcoxon-Test mit einer Probe durchgeführt, um festzustellen, ob eine signifikante Abweichung der Werte von Null vorlag. Die globalen Tests wurden mit einem Signifikanzniveau von $\alpha=5\%$ durchgeführt, und für die Tests mit einer Probe wurde die Bonferroni-Korrektur angewendet. Danach wurden die korrigierten Niveaus mit $\alpha^*=0,05/4=0,0125$ angegeben. Die statistische Analyse wurde mit Hilfe der Software R (Version 2.8, <http://www.r-project.org>) durchgeführt.

Ergebnisse

Bei einem globalen Vergleich der um die Baseline korrigierten ΔF -Werte zwischen den fünf Gruppen wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt (Tabelle 2). In der Gruppe mit Cervitec wurde beim globalen Vergleich der Punkte über den Zeitraum hinweg ein signifikanter Unterschied festgestellt (Ta-

Table 4. Individual tests of whether ΔF values deviate significantly from zero, separately for compounds and times. Significance level is $p < 0.0125$ **Tabelle 4.** Einzeltests dahingehend, ob die ΔF -Werte signifikant von Null abweichen, separat für die einzelnen Verbindungen und Zeitpunkte. Das Signifikanzniveau beträgt $p < 0,0125$

Compound	Comparison	p
Control	1 versus 0	0.1003
	2 versus 0	0.0225
	3 versus 0	0.0059
	4 versus 0	0.0059
Cervitec	1 versus 0	1.0000
	2 versus 0	0.3711
	3 versus 0	0.0225
	4 versus 0	0.0092
elmex®	1 versus 0	0.1003
	2 versus 0	0.1003
	3 versus 0	0.3711
	4 versus 0	0.0591
ProSeal	1 versus 0	0.0225
	2 versus 0	0.0225
	3 versus 0	0.0360
	4 versus 0	0.0092
Maximum Cure®	1 versus 0	0.0591
	2 versus 0	0.0591
	3 versus 0	0.0225
	4 versus 0	0.0360

of $\alpha=5\%$ and the Bonferroni correction was applied for the one-sample tests. The corrected levels were then given by $\alpha^* = 0.05/4 = 0.0125$. Statistical analysis was performed using R software (version 2.8, <http://www.r-project.org>).

Results

We observed no significant differences (Table 2) in baseline-corrected ΔF values compared globally between the five groups. The Cervitec group revealed a significant difference (Table 3; $p < 0.01$) when the points were globally compared over time. The individual tests (for each group/time combination) for testing for a difference from zero revealed significant results at T3 and T4 in the control group (both $p = 0.0059$), at T4 in the CervitecPlus group ($p = 0.0092$) and at T4 in the ProSeal group ($p = 0.0092$, Table 4, Figure 2).

Discussion

Fluoride application is known to reduce the development of initial caries or white-spot lesions. The mean depth of enamel

belle 3; $p < 0,01$). Die Einzeltests (für jede Gruppe/Zeit-Kombination) zur Überprüfung eines Unterschiedes gegenüber Null zeigten signifikante Ergebnisse für die Zeitpunkte 3 und 4 in der Kontrollgruppe (beide $p = 0,0059$), für den Zeitpunkt 4 in der Gruppe mit CervitecPlus ($p = 0,0092$) und ebenso für Zeitpunkt 4 in der Gruppe mit ProSeal ($p = 0,0092$; Tabelle 4, Abbildung 2).

Diskussion

Es ist bekannt, dass die Applikation von Fluoriden das Auftreten von Initialkaries und White-Spot-Läsionen reduziert. Nach Applikation von fluoridhaltigen Lacken wurde über eine Reduzierung der durchschnittlichen Tiefe der Demineralisation von bis zu 38% im Vergleich zu einer Kontrollgruppe ohne Fluoridierung berichtet [6]. Die Ergebnisse unserer Studie zeigen, dass ungeschützte Schmelzoberflächen, die Demineralisations-/Remineralisationszyklen ausgesetzt werden, nach 2 Wochen tendenziell erosive Läsionen entwickeln, was frühere Untersuchungen zur Entwicklungsgeschwindigkeit von White-Spot-Läsionen bestätigt [17, 19].

Um eine separate Bewertung der Schutzwirkung von Fluoriden freisetzenden Versiegelungslacken einerseits und einfachen Versiegelungslacken andererseits zu erhalten, wurde eine Gruppe mit dem CervitecPlus-Lack behandelt. Die Prävention der Auswirkungen einer möglichen Demineralisation wird bei CervitecPlus typischerweise durch die antimikrobiellen Bestandteile Chlorhexidin und Thymol realisiert (Tabelle 1). Während ähnlich wie bei den Wirkstoffen/Versiegeln der Gruppen A und B ein gewisses Maß an mechanischem Schutz durch den Lack selbst angenommen werden kann, funktioniert der Oberflächenschutz bei CervitecPlus über eine Reduzierung der bakteriellen Aktivität anstatt über eine Freisetzung von Fluoriden [2].

In der vorliegenden In-vitro-Simulation wurden die Proben keinen Mikroben ausgesetzt, und es war daher keine bakterielle Einwirkung wie etwa durch *Streptococcus mutans* zu erwarten. Die Schutzwirkung durch den Chlorhexidin-Lack bezüglich der Proben der Gruppe C erklärt sich eher über einen mechanischen Abdeckungseffekt durch den Lack selbst als über einen Remineralisationseffekt aufgrund der Freisetzung von Fluoriden durch die in den Gruppen A, B und D applizierten Wirkstoffe.

Entsprechend den Anweisungen des Herstellers sollte CervitecPlus im Allgemeinen in Abständen von drei Monaten angewendet werden. Die Tatsache, dass in Gruppe C nach 3 Wochen mittels QLF Schmelzläsionen entdeckt wurden, kann jedoch als ein Abblättern oder eine Auflösung der Lackschicht interpretiert werden. Das wiederum verweist auf bestimmte Intervalle zwischen den Applikationen, die reduziert werden müssen, wenn ein durchgehender oder fortgesetzter Schutz gewährleistet sein soll [2].

Interessanterweise kann das Gleiche von dem ProSeal-Lack behauptet werden. Trotz der Freisetzung von Fluoriden zeigten die Ergebnisse im Vergleich zum fluoridfreien Cervitec-Lack keinen signifikant besseren Demineralisationsschutz (Tabelle 4).

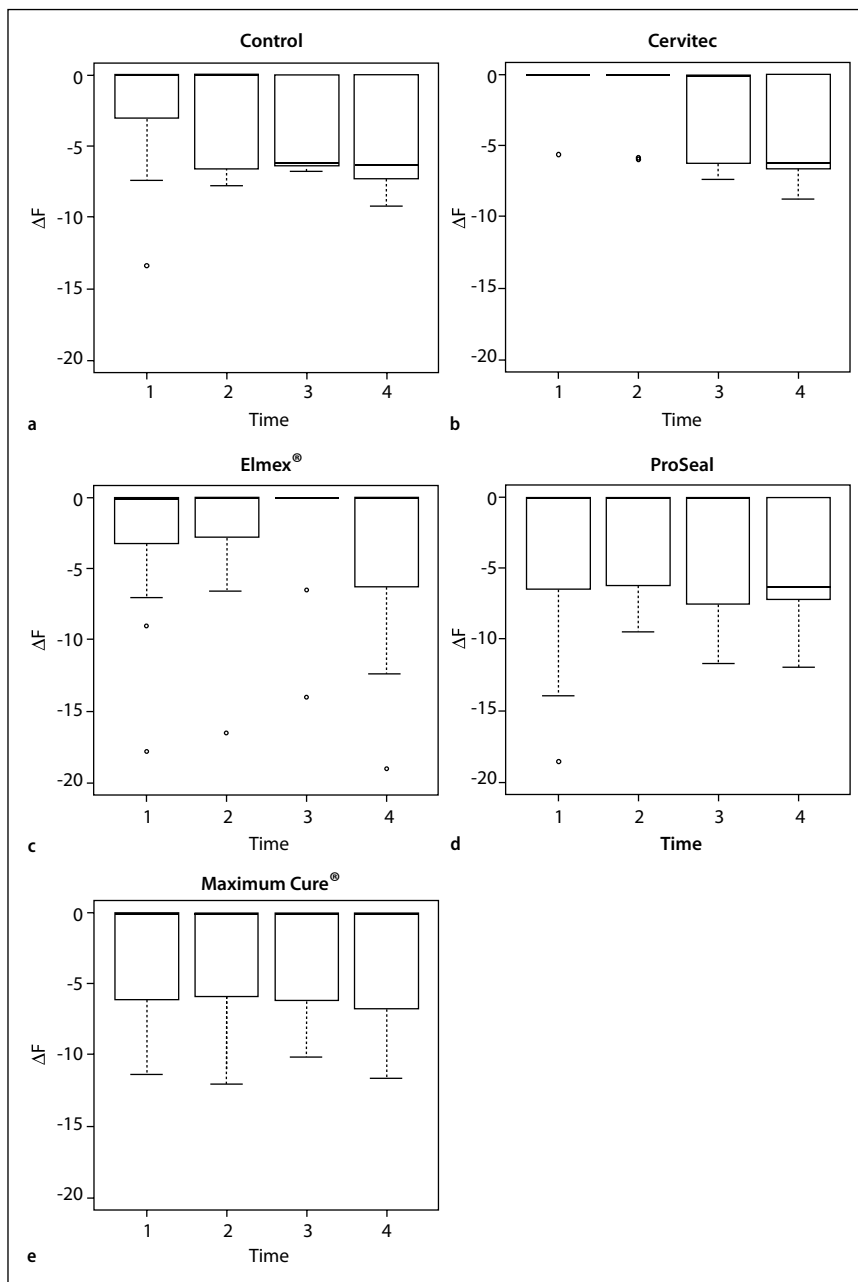


Figure 2. Progress of demineralization assessed by lesion depth expressed in percentage fluorescence loss (ΔF in %). Decreasing ΔF indicates increased lesion depth

Abbildung 2. Fortschreiten der Demineralisation, bewertet anhand der Läsionstiefe, ausgedrückt als prozentualer Fluoreszenzabfall (ΔF in %). Ein abnehmender ΔF -Wert verweist auf eine höhere Läsionstiefe

demineralization has been reported to be up to 38% less after fluoride-varnish application compared to a control group without fluoridation [6]. The results of our study indicate that enamel surfaces which are unprotected and exposed to demineralization–remineralization cycles tend to develop erosive lesions after 2 weeks, thereby, corroborating previous investigations on the speed of white-spot lesion development [17, 19].

To separately evaluate the protective effects of fluoride release and varnish alone, one group was treated with CervitecPlus varnish. Potential demineralization effects by CervitecPlus are generally prevented by the antimicrobial components chlorhexidine and thymol (Table 1). Whereas some mechanical protec-

Beim Vergleich der beiden in den Gruppen A und B verwendeten Versiegler wurde für den chemisch härtenden Versiegler Maximum Cure® eine effizientere Inhibition der Schmelzdemineralisation festgestellt. In der zu diesem Thema veröffentlichten Fachliteratur scheint Uneinigkeit darüber zu bestehen, ob lichthärtende oder chemisch härtende Lacke für einen angemessenen Schutz gegen Schmelzdemineralisation besser geeignet sind [12]. Während einige Autoren über eine Inhibition der Entkalkung und der Bildung von White-Spot-Läsionen durch den lichthärtenden Lack ProSeal berichtet haben [28], konnten andere mit ProSeal keinen signifikanten Schutz gegen die Entkalkung erzielen [3, 31]. In unserer Studie war das erstaunliche

tion provided by the varnish itself can be taken for granted (as with the agents/sealants of groups A and B), the enamel surface protection strategy associated with CervitecPlus utilizes a reduction in bacterial activity rather than fluoride release [2].

In the present in vitro simulation, the specimen was not exposed to microbes; thus, there were no bacterial effects caused by *Streptococcus mutans*, for example. The protection provided by the chlorhexidine varnish in the group C specimens is more the varnish's mechanical covering effect itself rather than the re-mineralizing effect from the fluoride release provided by the agents applied to groups A, B, and D.

According to the manufacturer's instructions, CervitecPlus is generally recommended to be applied at 3-month intervals. However, the fact that we detected enamel lesions in group C by QLF after 3 weeks can be interpreted that exfoliation or dissolving of the varnish layer had occurred and that, to ensure continuous protection, certain application intervals may be reduced [2].

Interestingly, the same can be said about ProSeal varnish. Despite its release of fluoride, results did not reveal distinctly better protection against demineralization than the non-fluoride varnish Cervitec (Table 4).

When comparing the two sealants used in groups A and B, we observed that the chemically-cured varnish Maximum Cure® was more efficient at inhibiting enamel demineralization. There appears to be some controversy in the literature as to which varnish—light cured or chemically cured—offers adequate protection against enamel demineralization [12]. Whereas some authors report that the light-cured varnish ProSeal inhibits decalcification and white-spot lesion formation [28], others failed to observe significant protection against decalcification by ProSeal [3, 31]. In our study, a striking result we noticed was that chemically cured sealants (as represented by Maximum Cure®), which are often described as inferior to light-cured varnishes in offering protection against demineralization, do indeed seem to provide advantages in relation to efficacy of protection due to the varnish's durability. The differences in decline in protective efficacy may be attributable to the curing method: the long-lasting durability of chemically cured sealants may be due to the prevention of oxygen interference during polymerization, but could also be due to their ingredients, as Maximum Cure® has more filler material than ProSeal (Table 1).

Our having found that weekly elmex® gel application provides reliable protection against demineralization is in line with previous research results, according to which daily rinsing with neutral 0.2% sodium fluoride inhibits lesion development by about 60%, whereas rinsing with 0.6% fluoride can prevent the formation of white-spot lesions completely [19, 21]. The effectiveness of repeated applications of low concentrations of fluoride solutions has also been highlighted in previous investigations [16]. Both weekly use of an over-the-counter fluoride agent and the application of Maximum Cure® sealant provided effective protection against demineralization; however, the latter has the advantage of being independent of patient compliance.

A strong and significant linear correlation between percentage fluorescence loss measured by QLF and the depth of enamel

Ergebnis, dass die chemisch härtenden Versiegler (repräsentiert durch den Versiegler Maximum Cure®), die oft als den lichthärtenden Lacken unterlegen beschrieben werden, was den Schutz gegen die Demineralisation anbelangt, im Sinne der Haltbarkeit des Lackes anscheinend tatsächlich einen wirksameren Schutz zu bieten scheinen. Die Unterschiede beim Rückgang der Wirksamkeit des Schutzes können auf die Art der Härtung zurückgeführt werden: Die größere Haltbarkeit der chemisch härtenden Versiegler ist möglicherweise auf die Verhinderung des Einflusses von Sauerstoff während des Polymerisierungsprozesses zurückzuführen, unter Umständen aber auch auf die Bestandteile, wobei Maximum Cure® im Vergleich zu ProSeal einen höheren Anteil an Füllstoffen aufweist (Tabelle 1).

Die Feststellung, dass die wöchentliche Applikation von elmex® gelée einen verlässlichen Schutz gegen die Demineralisation bietet, deckt sich mit vorausgehenden Forschungsergebnissen, denen zufolge tägliches Spülen mit neutraler 0,2%iger Natriumfluoridlösung die Bildung von Läsionen um etwa 60% verringert, während das Spülen mit 0,6%iger Natriumfluoridlösung sie komplett verhindern kann [19, 21]. Die Wirksamkeit einer wiederholten Applikation von niedrig konzentrierten Fluoridlösungen wurde auch in früheren Studien hervorgehoben [16]. Sowohl die wöchentliche Applikation eines rezeptfreien Fluoridwirkstoffes als auch die Applikation des Versieglers Maximum Cure® boten einen wirksamen Schutz gegen die Demineralisation. Das letztgenannte Verfahren hat den Vorteil, von der Compliance des Patienten unabhängig zu sein.

Über eine starke und signifikante lineare Korrelation zwischen dem mittels QLF gemessenen prozentualen Fluoreszenzabfall und der Tiefe der Schmelzdemineralisation als Grundlage für die Detektion und langfristige Überwachung von Läsionen in vitro wurde bereits berichtet [18, 26, 27, 32]. Tatsächlich stützen die plausiblen Ergebnisse dieser Studie die bereits veröffentlichten Beobachtungen: Das Verfahren der QLF macht das Fortschreiten der Schmelzdemineralisation als eine Funktion des Fluoreszenzabfalls beobachtbar.

Schlussfolgerungen

Aus der vorliegenden Studie können die folgenden Schlussfolgerungen gezogen werden:

- Ohne Schutz des Zahnschmelzes kann es in einer künstlichen kariogenen Umgebung innerhalb von nur zwei Wochen zur Demineralisation und zur Bildung von White-Spot-Läsionen kommen.
- Der Fluorid freisetzende Versiegler ProSeal und der kein Fluorid freisetzende Lack CervitecPlus konnten für einen Zeitraum von weniger als 30 Tagen ein gewisses Maß an Schutz bieten; danach sollte eine erneute Applikation erfolgen, um einen fortgesetzten Schutz zu gewährleisten.
- Maximum Cure® scheint während der Behandlung mit einer festsitzenden kieferorthopädischen Apparatur einen effizienten Schutz gegen Demineralisation zu bieten; entsprechendes gilt für die Applikation des elmex® Fluoridgels.

demineralization has been reported as being the basis for detecting and longitudinally monitoring in vitro lesions [18, 26, 27, 32]. Indeed, the plausible results from our study support previously published findings: this method of quantitative light-induced fluorescence enabled us to detect the progress of enamel demineralization as a function of fluorescence loss.

Conclusion

The following conclusions can be drawn from this study.

- In the absence of enamel protection, demineralization and white-spot lesions can occur within just 2 weeks in an artificial cariogenic environment.
- The fluoride-releasing sealant ProSeal and non-fluoride-releasing varnish CervitecPlus provided some protection against demineralization for less than 30 days; thus, renewed application should occur to provide prolonged protection.
- Maximum Cure[®] sealant seems to offer efficient protection against demineralization during fixed orthodontic treatment, as does the weekly application of the fluoride gel elmex[®].

Conflict of interest

The corresponding author states that there are no conflicts of interest.

References

1. Ablal MA, Kaur JS, Cooper L et al (2009) The erosive potential of some alcopops using bovine enamel: an in vitro study. *J Dent* 37:835–839
2. Autio-Gold J (2008) The role of chlorhexidine in caries prevention. *Oper Dent* 33:710–716
3. Banks PA, Richmond S (1994) Enamel sealants: a clinical evaluation of their value during fixed appliance therapy. *Eur J Orthod* 16:19–25
4. Benson PE, Parkin N, Millett DT et al (2004) Fluorides for the prevention of white spots on teeth during fixed brace treatment. *Cochrane Database Syst Rev* 3:CD003809
5. Benson PE, Pender N, Higham SM (1999) An in situ caries model to study demineralization during fixed orthodontics. *Clin Orthod Res* 2:143–153
6. Demito CF, Vivaldi-Rodrigues G, Ramos AL, Bowman SJ (2004) The efficacy of a fluoride varnish in reducing enamel demineralization adjacent to orthodontic brackets: an in vitro study. *Orthod Craniofac Res* 7:205–210
7. Donly KJ, Istre S, Istre T (1995) In vitro enamel remineralization at orthodontic band margins cemented with glass ionomer cement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 107:461–464
8. Dubroc GC Jr, Mayo JA, Rankine CA (1994) Reduction of caries and of demineralization around orthodontic brackets: effect of a fluoride-releasing resin in the rat model. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 106:583–587
9. Featherstone JD (2000) The science and practice of caries prevention. *J Am Dent Assoc* 131:887–899
10. Geiger AM, Gorelick L, Gwinnett AJ, Benson BJ (1992) Reducing white spot lesions in orthodontic populations with fluoride rinsing. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 101:403–407
11. Gmur R, Giertsen E, Veen MH van der et al (2006) In vitro quantitative light-induced fluorescence to measure changes in enamel mineralization. *Clin Oral Invest* 10:187–195
12. Hu W, Featherstone JDB (2005) Prevention of enamel demineralization: an in vitro study using light-cured filled sealant. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 128:592–600
13. Kalha A (2004) Some evidence that fluoride during orthodontic treatment reduces occurrence and severity of white spot lesions. *Evid Based Dent* 5:98–99

Interessenkonflikt

Der korrespondierende Autor erklärt für sich und seine Koautoren, dass kein Interessenkonflikt besteht.

14. Knösel M, Attin R, Becker K, Attin T (2007) External bleaching effect on the color and luminosity of inactive white-spot lesions after fixed orthodontic appliances. *Angle Orthod* 77:646–652
15. Kühnisch J, Heinrich-Weltzien R (2004) Quantitative light-induced fluorescence (QLF): a literature review. *Int J Comput Dent* 7:325–338
16. Linton JL (1996) Quantitative measurements of remineralization of incipient caries. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 110:590–597
17. Melrose CA, Appleton J, Lovius BB (1996) A scanning electron microscopic study of early enamel caries formed in vivo beneath orthodontic bands. *Br J Orthod* 23:43–47
18. Nakata K, Nikaido T, Ikeda M et al (2009) Relationship between fluorescence loss of QLF and depth of demineralization in an enamel erosion model. *Dent Mater J* 28:523–529
19. Øgaard B, Rolla G, Arends J (1988a) Orthodontic appliances and enamel demineralization. Part 1. Lesion development. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 94:68–73
20. Øgaard B, Rolla G, Arends J, ten Cate JM (1988b) Orthodontic appliances and enamel demineralization. Part 2. Prevention and treatment of lesions. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 94:123–128
21. Øgaard B (1989) Cariologic aspects of orthodontic treatment. *Nor Tannlaegeforen Tid* 99:802–805
22. Øgaard B, Larsson E, Glans R et al (1997) Antimicrobial effect of a chlorhexidine-thymol varnish (Cervitec) in orthodontic patients. A prospective, randomized clinical trial. *J Orofac Orthop* 58:206–213
23. Øgaard B, Larsson E, Henriksson T et al (2001) Effects of combined application of antimicrobial and fluoride varnishes in orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 120:28–35
24. Palamara J, Phakey PP, Rachinger WA, Orams HJ (1986) Ultrastructure of the intact surface zone of white spot and brown spot carious lesions in human enamel. *J Oral Pathol Med* 15:28–35
25. Pretty IA, Edgar WM, Higham SM (2003) The erosive potential of commercially available mouthrinses on enamel as measured by Quantitative Light-induced Fluorescence (QLF). *J Dent* 31:313–319
26. Pretty IA, Edgar WM, Higham SM (2002) Detection of in vitro demineralization of primary teeth using quantitative light-induced fluorescence (QLF). *Int J Paediatr Dent* 12:158–167
27. Pretty IA, Edgar WM, Higham SM (2004) The validation of quantitative light-induced fluorescence to quantify acid erosion of human enamel. *Arch Oral Biol* 49:285–294
28. Salar DV, Garcia-Godoy F, Flaitz CM, Hicks MJ (2007) Potential inhibition of demineralization in vitro by fluoride-releasing sealants. *J Am Dent Assoc* 138:502–506
29. Tezel H, Ergucu Z, Onal B (2002) Effects of topical fluoride agents on artificial enamel lesion formation in vitro. *Quintessence Int* 33:347–352
30. Vieira A, Ruben JL, Huysmans MC (2005) Effect of titanium tetrafluoride, amine fluoride and fluoride varnish on enamel erosion in vitro. *Caries Res* 39:371–379
31. Wenderoth CJ, Weinstein M, Borislow AJ (1999) Effectiveness of a fluoride-releasing sealant in reducing decalcification during orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 166:629–634
32. Wu J, Donly ZR, Donly KJ, Hackmyer S (2010) Demineralization depth using QLF and a novel image processing software. *Int J Dent*

Correspondence address

Priv.-Doz. Dr. med. dent. Michael Knösel
Private Practice Hannover
Kirchröder Str. 77
Hannover
Germany
e-mail: mknoesel@yahoo.de