

## 불소유리 가철성 교정장치의 항균효과에 관한 연구

장 기 택

서울대학교 치과대학 소아치과학교실 및 치학연구소

Abstract

### A STUDY ON THE ANTIMICROBIAL EFFECT OF FLUORIDE-RELEASING REMOVABLE ORTHODONTIC APPLIANCES

Ki-Taeg Jang, D.D.S., Ph.D.

*Department of Pediatric Dentistry, College of Dentistry & Dental Research Institute, Seoul National University*

To study the antimicrobial effect of fluoride-releasing removable orthodontic appliances, 0 wt%(Group 1), 5 wt%(Group 2) and 10 wt%(Group 3) of  $\text{CaF}_2$  were added to orthodontic resin. The specimens were then put in media in which *S. mutans* and *Lactobacillus*, known cariogenic bacteria, were cultured. Inhibiting zones were measured 24, 48 and 72 hours later. The following conclusions were reached:

1. In the *Lactobacillus* media, no zone of inhibition was observed regardless of the time passed.
2. In the *S. mutans* media, zones of inhibition were observed after 48 hours.
3. *S. mutans* showed greater inhibition in Group 3 compared to Group 2, after 72 hours rather than 48 hours( $p < 0.01$ ).

**Key words** : Antimicrobial effect, Fluoride, *Lactobacillus*, *S. mutans*

이 연구는 서울대학교 발전기금 일반학술 연구비 지원에 의해 수행되었음.

## I. 서 론

치아우식증은 대표적인 다인성 감염질환으로 이를 예방하기 위해 치아를 둘러싼 미생물 환경을 변화시키고 미생물 성장에 필요한 영양소를 제거하는 방법이 있다.

불소가 치아우식증을 예방할 수 있다는 사실이 알려진 후, 여러 학자에 의해 불소에 관한 수많은 연구가 있어왔다. 그 중 불소가 항우식 효과를 나타내는 정확한 작용 기전에 대해서는 아직까지 논란이 있지만 다음과 같은 이론들이 알려져 있다<sup>1)</sup>. 첫째로 불소가 치아형성기의 법랑질 구조에 흡수되어 불화인회석을 형성, 치질의 내산성을 증가시킨다는 것과, 둘째로 법랑질 표면의 탄산염과 치환되어 불화칼슘이나 불화마그네슘의 막을 형성하여 항우식 효과를 나타낸다는 것, 셋째로 탈회된 치질의 재석회화과정을 촉진시킨다는 것이다. 이외에도 불소자체의 항균효과 및 소와 및 열구를 낮게 해주어 치아형태를 개선시키는 효과 등의 이론도 있다<sup>2)</sup>.

불소가 구강 내 세균층에 미치는 영향에 대한 최근의 연구에 의하면 세포막을 가로지르는 정상적인 양성류(proton current)를 역류시켜 치태세균의 내산성을 저하시킨다는 주장과 불소가 직접 당분해 효소를 억제한다는 주장이 있다<sup>3,4)</sup>. 특히, *S. mutans*는 proton translocating ATPase가 직접 장애를 받기 때문에 불소가 효과적인 것으로 알려져 있다<sup>5)</sup>. 불소의 이러한 효과 때문에 적정량의 불소를 섭취하는 것이 권장되지만 우리 나라와 같이 대부분의 국민이 적절한 양의 불소를 자연적으로 공급받지 못하는 경우 불소의 보조적인 사용이 추천될 수 있다<sup>6)</sup>.

부정교합을 가진 환자는 불규칙한 치아배열로 인해 치태의 잔류가 증가하게 되며 교정장치의 삽입으로 더욱 치아우식증 발생률이 높아질 수 있는데, 교정장치나 보철, 보정장치를 사용하는 환자에서 치아의 탈회, 치아우식증 발생 및 치주질환의 발생 빈도가 높은 이유는 교정장치로 인해 구강의 자정작용이 감소되며 치태를 효과적으로 제거하기 어렵기 때문이다. 특히 가철성 교정장치를 장착한 환자에서는 장치와 치아 사이에 치태의 잔류가 증가하게 되고 구강내 타액분비와 흐름이 변

화하여 자정효과를 기대하기 어렵다. Lundström과 Krasse 등<sup>8,9)</sup>, Scheie 등<sup>10)</sup>, Cobett 등<sup>11)</sup>, Balenseifen과 Madonia<sup>12)</sup>은 고정성 교정장치 장착 후 우식 유발균인 *S. mutans*가 증가함을 보고하였고, 양<sup>13)</sup>은 가철성 교정장치 장착 후 세균수가 증가함을 보고하였다. 따라서 교정장치를 장착하는 환자에서 구강 위생 교육을 철저히 할 것은 물론 불소보조제 사용이나 불소양치, 불소국소도포 등이 각별히 요구되나<sup>14)</sup> 이는 환자의 협조도가 관건이며 이외에 술자의 세심한 주의 및 추가비용의 문제, 그리고 양<sup>15)</sup>의 연구에서처럼 단기간의 불화물의 사용은 가철성 교정장치 장착 환자에서 별다른 효과를 기대할 수 없다는 것은 분명 문제가 될 수 있다. 이에 Cooley와 McCourt<sup>15,16)</sup>은 불소를 방출하는 glass ionomer를 가철성 교정장치에 삽입할 경우 교정 치료를 받는 환자의 치아우식증을 예방할 수 있다고 하였으며, Corpron 등<sup>17)</sup>은 불소를 유리하는 copolymer, 소위 불소방출장치(Fluoride-releasing device)를 부착한 가철성 교정장치에 법랑질 절편을 심어 구강내에서 실험하였을 때 이들 법랑질의 불소의 농도, 내산성 및 미세경도가 증가한 것을 보고하였다. 그러므로 장치를 제작할 때 불소를 포함시키는 것이 환자의 협조와 관계없이 장기간 불소를 공급하는 하나의 방법이 될 수 있으며 불소의 항균효과나 재석회화 작용으로 가철성 교정장치의 부작용을 감소시킬 수 있으리라 생각된다.

Miethke 등<sup>18)</sup>은 레진 monomer에 일정량의 불화물을 섞어 중합하면 구강내에서 지속적인 불소의 유리로 항우식효과를 발휘하지만 레진의 강도에는 큰 영향을 미치지 않는다고 하였고 장 등<sup>19)</sup>은 NaF와 CaF<sub>2</sub>를 첨가한 실험에서 지속적인 불소 방출과 굴곡강도에서 CaF<sub>2</sub>가 더 나은 것으로 보고한 바 있다. 특히 이들 장치는 타액의 분비가 적은 밤에 계속 장착함으로써 항우식 효과는 더 크다고 할 수 있다.

이러한 불소 방출장치를 고안한 연구자들의 관심은 주로 탈회과정에 대한 치질의 저항성 증가, 재광화 과정의 강화와 같이 직접 치질에 작용하는 불소의 효과에 집중되었으나 가철성 교정장치에 포함된 불소가 전술한 바와 같은 우식세균의 치면 부착, 군집 형성과 대사과정에 어떤 영향을 미치는지에 대한 연구는 거의 없는 편이어서 본 실험

에서 가철성 교정장치용 레진에 CaF<sub>2</sub>를 섞어서 만든 시편을 우식 유발균인 *S. mutans*와 *Lactobacillus*를 배양한 배지에 적용하여 항균효과를 알아보고자 하였다.

## II. 연구 재료 및 방법

가철성 교정장치용 레진은 Orthodontic Resin (Caulk, USA)을, 불소는 CaF<sub>2</sub>(Sigma, USA)를 사용하였다.

1) Resin monomer에 CaF<sub>2</sub>를 다음과 같이 섞어서 3군으로 나눈다.

- 1군 ; No fluoride (대조군)
- 2군 ; CaF<sub>2</sub> 5 wt%
- 3군 ; CaF<sub>2</sub> 10 wt%

2) 시편 제작

1mm두께에 5mm의 직경을 가진 mold를 이용하여, 제조사의 지시에 따라 레진 monomer 12cc에 liquid 5cc의 비율로 섞어 각 군당 20개씩의 원판형 시편을 제작하였다.

3) 시편의 각 세균에 대한 증식 억제대 측정

*S. mutans*를 선택적으로 배양하기 위해 MS(Mitis salivarius)배지에 bacitracin이 첨가된 MSB배지를 이용하였고 *Lactobacillus*를 선택적으로 배양하기 위해서는 Rogosa SL배지에 acetic acid를 첨가하여 사용하였다. 각각의 배지에서 *S. mutans*와 *Lactobacillus*를 37°C 항온기에서 각각 배양한 후, 균 배양액의 ml 당 세균수가 1×10<sup>8</sup> CFU 되도록 BHI 액체배지로 희석하여 이를 시험균액으로 사용하였다.

*S. mutans*의 증식억제대를 측정하기 위해서는 MSB agar배지를, *Lactobacillus*의 증식억제대를 측정하기 위해서는 BHI 배지를 petri dish에 약 20ml씩 넣고 표면이 petri dish 바닥에 수평이 되도록 응고시켜 사용하였다. 그 후 희석된 시험균액을 micro pipet으로 0.1ml씩 채취하여 균등하게 도말하고 각 군의 시편 1개씩 3개를 평판배지 상에 겹치지 않도록 위치시켰다. 이 모든 술식은 무균조작하며 1종류의 균주당 10개의 배지를 사용하였다. 이와 같이 제작된 배지중, *S. mutans*평가용 MSB agar 배지는 anaerobic jar에 CO<sub>2</sub> envelope를 넣고 *Lactobacillus*평가용 BHI배지는 anaerobic jar에 anaerobic envelope(CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O)를 넣어서 37°C 항온기에서 배양하였다. 세균증식억제대는 Vernier Caliper를 사용하여 최대직경을 0.1mm단위까지 2회 측정하여 평균값을 기록하고 측정은 배양 후 24시간, 48시간, 72시간에 행하였다. 각 군의 총 시편의 측정치로 평균과 표준편차를 구하고 t-검정을 행하였다.

## III. 연구 결과

각 균주의 배지에 대한 시편의 세균증식억제대는 표와 같다(Table 1, 2).

*S. mutans* 배지에서는 24시간에서는 세균증식억제대가 관찰되지 않았으나 48시간 이후부터 세균증식억제대가 관찰되었다. *Lactobacillus* 배지에서는 모든 시편과 시간대에서 모두 세균증식억제대가 관찰되지 않았다. *S. mutans*는 CaF<sub>2</sub> 농도 5%에서 보다는 10%에서 더 큰 세균증식억제대를 보였으며, 48시간 보다는 72시간에서 더 큰 세균증식억제대를 나타내어 시간의 경과에 따라 더 큰 항균효과를 보여주었다(p<0.01).

**Table 1.** Inhibition zone(mm) of *S. mutans* according to time and concentrations of CaF<sub>2</sub>

CaF <sub>2</sub>	0%	5%	10%
24hrs	0±0	0±0	0±0
<i>S. mutans</i> 48hrs	0±0	7.95±0.55	11.1±0.74
72hrs	0±0	8.7±0.48	12.2±0.75

**Table 2.** Inhibition zone(mm) of *Lactobacillus* according to time and concentrations of CaF<sub>2</sub>

CaF <sub>2</sub>	0%	5%	10%
24hrs	0±0	0±0	0±0
<i>Lactobacillus</i> 48hrs	0±0	0±0	0±0
72hrs	0±0	0±0	0±0

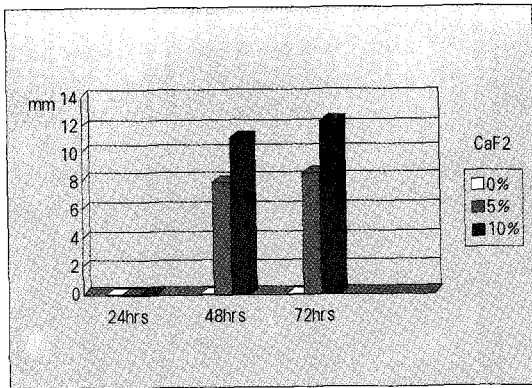


Fig. 1 Inhibition zone(mm) of *S. mutans* according to time and concentrations of CaF<sub>2</sub>

#### IV. 총괄 및 고안

가철성 교정장치를 장착하는 어린이들은 장치와 치아 사이에 치태와 음식물 잔사가 침착되어 치아우식 발생의 초기 증상인 백반현상이 많이 관찰되고 구강위생이 불량할 경우 치은염과 연조직의 염증도 동반하게 된다. 이러한 교정치료 환자의 구강위생을 개선하기 위해 많은 방법이 고안되었는데 크게 네 가지로 나눌 수 있다. 첫째, 구강위생 교육으로써 치태착색제 등으로 동기를 부여하고 올바른 잇솔질 방법을 교육하며 치실과 치간칫솔을 사용하게 한다. 또한 전동칫솔을 이용하도록 지시할 수 있으며 전문가에 의한 prophylaxis를 시행한다. 둘째로는 식이 조절로 식이 상담을 통해 당분이 많이 포함된 간식과 음식을 줄이게 한다. 셋째로는 물리적 방법으로 치아우식증을 예방할 뿐 아니라 초기우식병소가 진행되는 것도 막을 수 있는 치면열구전색법을 시행한다. 넷째, 항우식 작용이 있는 불소와, 세균이 치아에 부착되는 것을 방지하고 세균의 증식을 억제하는 chlorhexidine을 사용한다<sup>20)</sup>. 이 중 가장 대표적인 방법은 역시 어떤 형태로든 불소를 공급하는 것이라고 할 수 있다. 특히 가철성 교정장치 장착하는 환자에게 불소를 공급하는 방법으로 Cooley와 McCourt<sup>6)</sup>, Corpron 등<sup>17)</sup>, Miethke 등<sup>18)</sup>, 장 등<sup>19)</sup>은 불소를 방출하는 교정장치를 장착시키면 우식 예방에 큰 효과를 볼 수 있다고 하였다. 특히 이들 장치는 타액의 분비가 적은 밤에 계속 장착함으로 항우식 효과는 더 크다고 할 수 있고 장치와 치아를

포함한 조직면에서 국소적인 항우식 효과를 극대화시킬 수 있다고 생각한다. 본 연구는 불소의 치질에 대한 효과보다 미생물, 특히 우식 발생의 대표적인 세균인 *S. mutans*와 *Lactobacillus*에 대해 항균효과를 가지는지에 초점을 맞춘 것이다.

항우식 작용을 일으킬 수 있는 불소의 최소 농도에 대한 학자들의 연구를 살펴보면, Bibby와 Van Kesteren은 생체 외 실험에서 1ppm의 불소로 세균의 산 형성능력이 억제된다고 하였고, Lilienthal은 산 형성의 억제를 위해서는 적어도 19 ppm 정도의 불소 농도가 필요하다고 하였고<sup>21)</sup>, Jenkins는 같은 불소 농도에서 pH가 낮을수록 산 형성이 억제된다고 하였으며<sup>22)</sup>, Zwemer, Briner와 Francis 등은 생체 내 실험을 통해 불화나트륨으로 처리된 법랑질 표면에서 세균의 산 형성이 억제됨을 보고하였다<sup>23,24)</sup>.

우식발생의 측면에서 보면 산 형성의 억제가 가장 중요한 사항이나 이번 연구에서는 기초적으로 우식세균의 억제의 관점에서 불소를 포함시킨 가철성 교정장치로부터 유리되는 불소가 과연 항균효과를 나타내는가를 살펴보았다.

불소가 구강 내 세균의 집락과 성장 증식을 억제하는 적정 농도에 관한 *in vitro* 실험에서 20ppm 정도의 불소농도로는 산 형성 세균의 성장 증식을 억제하지 못한다는 보고<sup>25)</sup>도 있으나 이번 연구 결과, *Lactobacillus*에 대해서는 효과가 없었지만 *S. mutans*에 대해서는 항균효과가 있었고 이는 Hamilton과 Bowden<sup>26)</sup>이 각 세균의 불소에 대한 감수성의 차이를 비교, 평가하여 *S. mutans*가 *Lactobacillus*에 비해 20 - 40배 정도 높은 감수성을 보였다는 보고와 어느 정도 일치한다고 하겠다.

Miethke 등<sup>18)</sup>은 CaF<sub>2</sub>를 10% 섞은 가철성 교정장치를 500ml 증류수에 넣고 불소유리농도를 측정된 결과 6주 후에도 10ppm 정도의 일정한 농도를 나타냈다고 보고하였고 장 등<sup>19)</sup>은 CaF<sub>2</sub> 5%인 경우 48시간 후에는 1.99ppm, 4주 후에는 0.74ppm, 10%인 경우 48시간 후에는 2.81ppm, 4주 후에는 1.25ppm이었다고 보고한 바 있다. 시편에서 방출되는 불소의 양은 시편의 크기와 유리되는 용매의 양에 따라 차이가 있는데, 이번 실험에서 시편 주변의 불소농도는 구강내나 용매에 담가두는 것 보다 매우 높을 것으로 생각되며 결과적으로 *S. mutans*에 항균

효과를 나타내기에는 충분한 농도지만 *Lactobacillus*에는 항균효과를 갖기에 부족한 농도가 유리된다고 생각할 수 있다.

레진으로부터 방출되는 불소이온은 처음에는 표층으로부터 나오고 후에 깊은 층에서 유리되므로 장 등의 연구에서 사용된 시편보다 부피가 크고 표면적이 넓으며 얇은 두께를 가진 상악 교정장치에서는 훨씬 많은 불소의 방출이 기대된다<sup>19)</sup>. Miethke 등<sup>18)</sup>은 *in vivo* 실험에서 10% CaF<sub>2</sub>를 포함한 장치를 10개월간 장착한 환자의 타액에서 아주 낮은 농도의 불소가 검출되었지만 이는 환자의 계속적인 연하 작용에 의한 것으로 여겨지며 이후 증류수에 넣어서 불소농도를 조사한 결과 처음 1주는 8ppm, 이후에는 5ppm으로 낮아졌지만 지속적인 불소의 유리가 나타났고 구강 내 장치와 치아 사이의 타액 내에서는 불소 농도가 더 높게 나타난다고 하였다.

불소가 실제로 어떠한 기전으로 세균의 성장을 억제하는가에 관한 연구는 아직 확실한 결론을 내리지 못한 채 계속 시행되어왔는데<sup>3,6)</sup> Bibby와 Kesteren은 저농도의 불소가 구강내 Streptococci와 Lactobacilli의 탄수화물대사를 억제한다고 보고한 바 있다<sup>20)</sup>. 현재까지 밝혀진 바에 의하면, 불소는 세포내의 세포질을 산성화하여 양자류(proton gradient)와 효소활성화를 억제하여 항균효과를 나타낸다는 설과 membrane-bound proton pumping H/ATPase를 억제하여 양자류(proton gradient)의 형성을 억제한다는 설이 있는데<sup>20)</sup> 불소의 이러한 작용으로 탄수화물의 대사가 억제되고 세균의 성장 및 증식이 장애를 받는 것으로 알려져 있다.

가철성 교정장치용 레진의 주성분인 polymethyl methacrylate에 포함되는 불소가 레진의 강도에 영향을 주는가에 대해서는 Miethke 등<sup>18)</sup>은 불소를 포함한 아크릴릭 레진의 stress resistance가 정상범위에 있어 임상적 사용에 문제가 없다고 하였고 특히 장 등<sup>19)</sup>의 연구에서는 4주간의 불소 방출 후 굴곡 강도를 측정된 결과 1군에 비해 NaF를 첨가한 경우는 약간의 감소를 나타냈으나 CaF<sub>2</sub>를 첨가한 경우는 굴곡 강도의 차이가 불소를 첨가하지 않았을 때와 유의한 차이를 보이지 않았다고 하였는데, 이는 불소를 포함하는 자체는 레진 중합반응에 큰 영향을 미치지 않으며 지속적인 불소 방

출로 인한 레진 내의 미세한 동공의 생성으로, 보다 많은 양의 불소 방출을 보인 NaF군이 굴곡강도가 많이 감소된 것으로 사료되며 적은 양을 지속적으로 방출하는 CaF<sub>2</sub>군의 경우 강도의 변화가 적어 임상적으로 사용하는 것은 큰 문제가 없을 것이라고 보고하였다. 이런 연구결과에 따라 본 연구에서는 CaF<sub>2</sub>를 첨가한 시편으로 우식 유발 균주인 *S. mutans*와 *Lactobacillus*에 대한 항균효과를 알아보려고 한 것으로, 결과적으로 *S. mutans*에는 항균효과가 어느 정도 있음을 알 수 있었으며 이러한 불소 방출 교정장치에서 유리되는 불소가 미량으로, 전체적인 투여 효과보다는 국소적인 효과가 기대되고 특히 장치와 치아 사이의 자정작용이 불가능해서 우식 유발균이 많이 부착되는 부위에 특히 *S. mutans*에 대한 항균효과를 발휘하리라고 생각되어지나, 임상적으로 널리 사용하기 위해서는 보다 많은 실험과 연구가 선행되어야 할 것으로 생각되는 바이다.

## V. 결 론

저자는 불소유리 교정장치의 항균효과를 알아보려고 가철성 교정장치용 레진에 CaF<sub>2</sub>를 0 wt%(1군), 5 wt%(2군) 10 wt%(3군) 첨가하여, 세 군으로 나누어 만든 시편을 우식 유발균인 *S. mutans*와 *Lactobacillus*를 배양한 배지에 적용, 각 균주의 배지에 대한 시편의 세균증식억제대를 24시간, 48시간, 72시간 배양 후 측정, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. *Lactobacillus* 배지에서는 각 군의 모든 시간대에서 세균증식억제대가 관찰되지 않았다.
2. *S. mutans* 배지에서는 48시간 이후부터 세균증식억제대가 관찰되었으며 48시간보다 72시간에서 더 큰 세균증식억제대를 나타내었다(p<0.01).
3. *S. mutans*는 2군보다는 3군에서 더 큰 세균증식억제대를 나타내었다(p<0.01).

## 참 고 문 헌

1. Love W : Fluoride therapy in clinical practice. Dental clinic of North America 28 : 611-629, 1984.
2. Aasenden R, Peebles IC : Effects of fluorine sup-

- plementation from birth on human deciduous and permanent teeth. Archs Oral Biol 19 : 321-326, 1974.
3. Bender GR, Sutton SVW, Marquis RE : Acid tolerance, proton permeabilities, and membrane ATPase of oral *Streptococci*. Infect Immune 53 : 331-338, 1986.
  4. Bender GR, Marquis RE : Membrane ATPase and Acid tolerance of *Actinomyces viscosus* and *Lactobacillus casei*. Appl Environ Microbiol 53 : 2124-2128, 1987.
  5. Dahl BL, Tronstad L : Biological tests of an experimental glass ionomer cement. J Oral Rehabil 3 : 19-29, 1976.
  6. Maquis RE : Diminished acid tolerance of plaque bacteria caused by fluoride. J Dent Res 69(Sp.Iss.) : 672-675, 1990.
  7. Pinkham JR : Pediatric Dentistry : Infancy through adolescence(2nd ed). WB Saunders Co., Philadelphia, 1994.
  8. Lundström F, Krasse B : *Streptococcus mutans* and *Lactobacilli* frequency in orthodontic patients : the effect of chlorhexidine treatments. European J Ortho 9 : 109-116, 1987.
  9. Lundström F, Krasse B : Caries incidence in orthodontic patients with high level of *Streptococcus mutans*. European J Ortho 9 : 117-121, 1987.
  10. Scheie AA, Arneberg P, Krogstad O : Effect of orthodontic treatment on prevalence of *Streptococcus mutans* in plaque and saliva. Scand J Dent Res 92 : 211-217, 1984.
  11. Cobett JA, Brown LR, Keene HJ, Horton IM : Comparison of *Streptococcus mutans* concentration in non-banded and banded orthodontic patients. J Dent Res 60 : 1936-1942, 1981.
  12. Balenseifen JW, Madonia JV : Study of dental plaque in orthodontic patients. J Dent Res 49 : 320-324, 1970.
  13. 양규호 : 가철성 교정장치 장착아동에서 치아우식세균에 대한 불화물과 chlorhexidine의 항균효과. 대한소아치과학회지 20 : 615-630, 1993.
  14. Schwaninger B, Vickers N : Developing an effective oral hygiene program for the orthodontic patients. Am J Ortho 75 : 447-454, 1979.
  15. Cooley RL, McCourt JW : F release from light-cure fluoride containing material. J Dent Res 69 : 366, 1990.
  16. Cooley RL, McCourt JW : F release from light-cured glass ionomer cement : 8 month report. Quint int 21 : 41-45, 1990.
  17. Corpron RE, Clark JW : Intraoral effects of fluoride releasing device on acid softened enamel. JADA 113 : 383-386, 1986.
  18. Miethke RR, Newesely H : Continuous fluoride release from removable appliances. J Clinic Orthod 22 : 490-491, 1988.
  19. 장기택, 이상훈, 김종철 등 : 불소를 포함시킨 가철성 교정장치용 resin의 불소 방출과 굴곡강도에 관한 연구. 대한소아치과학회지 24 : 428-435, 1997.
  20. 김선미, 양규호 : 교정치료환자의 구강위생. 대한소아치과학회지 21 : 12-18, 1994.
  21. Lilienthal B : The effect of fluoride on acid formation by salivary sediment. J Dent Res 35 : 197-204, 1956.
  22. Jenkins GN : The effect of pH on the fluoride inhibition of salivary acid production. Arch Oral Biol 1 : 33-41, 1959.
  23. Zwemer JD : Lactic acid formation by *Lactobacilli* exposed to fluoridized enamel. J Dent Res 36 : 182-191, 1957.
  24. Briner WW, Francis MD : The effect of enamel fluoride on acid production by *Lactobacillus casei*. Arch Oral Biol 4 : 541-550, 1962.
  25. Tylstrup A, Fejerskov O : Textbook of clinical cariology. Munksgaard, Copenhagen, 254, 1994.
  26. Hamilton IR, Bowden GH : Effect of fluoride on oral microorganisms. In : Fluoride in dentistry. J Ekstrand Eds, Munksgaard, Copenhagen, 77-103, 1988.
  27. Bibby BG, Van Kesteren M : The effect of fluoride on mouth bacteria. J Dent Res 19 : 391-402, 1940.
  28. Hamilton IR : Biochemical effects of fluoride on oral bacteria. J Dent Res 69(Sp.Iss.) : 660-667, 1990.