

Bactericidal Effect of the Aos Denti Germ for Denture Cleansing Effervescent Tablet against Oral Microorganisms

Min Ah Park, So Young Jung, Seong Eun Heo and Il Kown Bae*

Department of Dental Hygiene, College of Health and Welfare, Silla University, Busan, Korea

(received February 29, 2016; revised May 30, 2016; accepted May 31, 2016)

Human mouth environment is known to include a variety of bacteria, including *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Actinomyces* spp., *Lactobacillus* spp., *Candida* spp., *Enterobacteriaceae*, et al. Human oral microorganisms can cause dental caries, gingivitis, periodontitis, respiratory tract infection, and cardiovascular disease. Thus, right denture cleaning is essential to oral and general human health. The aim of this study was to evaluate the bactericidal effect of a sodium dichloroisocyanurate-based effervescent tablet (Aos Denti Germ, Aos Company, Chungbuk, Korea) against oral microorganisms. A total of 5 species *Streptococcus* spp. (*Streptococcus anginosus*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, and *Streptococcus sobrinus*), *Actinomyces oris*, *Candida albicans*, and *Escherichia coli* were used in this study. All strains were exposed to the distilled water prepared with effervescent tablet. After the exposure, the mixture of strains and effervescent tablet was inoculated onto blood agar or MacConkey agar plate and cultured at 36°C. All strains were killed immediately on exposure to effervescent tablet. The results suggested that

effervescent tablet could be used as an effective denture cleanser for dental hygiene.

Key words: Biocidal effect, denture cleanser, effervescent tablet, oral microorganism, sodium dichloroisocyanurate

서 론

우리나라의 노령화 지수는 약 94.8%로 14세 이하의 인구와 65세 이상의 노령인구 비율이 거의 1:1 수준이며 2060년에는 394.0%에 이를 것으로 전망되고 있다[1]. 이러한 인구의 급격한 노령화는 의치세정제, 보청기 등 실버 산업의 시장규모 확대에 영향을 미칠 것으로 예상된다. 또한 2013년 국민건강통계 자료에 따르면, 70세 이상 노인의 자연치아 보유개수는 남자 약 16.1개, 여자 약 14.2개로 평균 16개를 보유하고 있는 것으로 나타났다[2]. 노인의 영구치 상실은 저작기능의 감소로 인한 식생활이 변화하는 등 건강에 직접적인 영향을 미쳐 삶의 질 저하로도 이어진다. 이러한 문제를 해결 할 수 있는 방법으로 2013년부터 총의치를 시작으로 국소의치 및 임플란트가 보철급여화로 전환되어 영구치 상실로 인한 보철치료의 필요성이 절실한 노인환자에 많이 적용되고 있다. 하지만 의치장착 노인환자의 비율이 늘어난 반면 노인환자의 의치관리에 대한 인지도는 낮은 것으로 나타났는데, 이 등[3]에 따르면 총의치와 국소의치 장착자가 의치를 관리하는 방법으로는 ‘그냥 물로 헹군다’가 47.7%로 가장 흔하였고 ‘치약을 사용한다’는 35.4%, ‘전문 의치세정제를 사용한다’는 12.3%로 확인되

*Correspondence to: Il Kown Bae, Department of Dental Hygiene, College of Health and Welfare, Silla University, 140, Baegyong-daero 700 beon-gil, Sasang-gu, Busan, Korea
Tel. : +82-51-990-5430, Fax. : +82-51-999-5707
E-mail : ikbae@silla.ac.kr
ORCID : 0000-0003-1633-3240

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

어 의치에 대한 인식도가 낮음을 알 수 있었다.

의치장착환자는 일반인과 마찬가지로 항상 구강환경을 청결하게 유지해야 하는데, 이는 의치 역시 영구치와 마찬가지로 의치표면에 치면 세균막이 부착되고 치석이 형성되며 심지어 의치로 인한 구강점막의 상처는 구강 내 상재세균에 의한 기회 감염증으로 이어질 수 있기 때문이다. 구강 내에서 가장 흔히 분리되는 세균은 알균(*cocci*)의 형태를 띤 *Streptococcus*, *Staphylococcus*이며 그 외에 *Actinomyces*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Candida* 등이 있다[4]. 구강환경에 존재하는 *Streptococcus* spp.는 *mitis* group, *anginosus* group, *mutans* group, *salivarius* group, *milleri* group 및 *sanguinis* group으로 구분되며 이들은 구강점막의 궤양과 원발성 균혈증의 주요 원인균으로 알려져 있다[5,6]. 의치장착환자의 구강환경에 존재하는 다양한 세균의 증식을 억제하기 위해서는 효율적인 의치관리가 매우 중요하다. 현재 사용되고 있는 의치관리법은 잇솔질 및 초음파세척기를 이용한 물리적인 방법과 발포성 의치세정제를 이용한 화학적인 방법으로 구분될 수 있다. 특히 시중에 판매중인 발포성 의치세정제는 노인을 비롯한 신체장애자들도 쉽게 사용할 수 있는 것으로 알려져 점차 그 사용빈도가 증가하고 있다.

이발포성 의치세정제는 이염화이소시아눌산나트륨(*sodium dichloroisocyanurate*)이 용액 내에서 차아염소산을 방출하면서 생성된 염소에 의해 용액 내 세균, 진균, 바이러스 등의 미생물을 사멸시키는 것으로 알려져 있다[7].

본 연구에서는 국내에서 개발된 발포성 의치세정제인 AOS Denti Germ(이하 아오스덴티점, AOS Company, Chungbuk)을 대상으로 주요 구강미생물에 대한 살균 소독능을 측정하여 의치세정제로서의 사용가능성 여부를 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

균주 및 배지

본 연구는 *Streptococcus anginosus* (KCOM 1348), *Streptococcus mitis* (KCOM 1050), *Streptococcus mutans* (KCOM 1147), *Streptococcus oralis* (KCOM 1505), *Streptococcus sobrinus* (KCOM 1185), *Candida albicans* (ATCC 90028) 및 *Actinomyces oris* (KCOM 1471)를 대상으로 하였으며 오염지표균으로 *Escherichia coli* (ATCC 25922)을 사용하였다(Table 1). 이들 균주는 한국구강미생물자원은행(Korean Collection for Oral Microbiology, Gwangju, Korea) 및 ATCC (American Type Culture for Collection)에서 분양받아 사용하였다.

Brain heart infusion 액체배지(BBL, Cockeysville, MI, USA)와 Luria-Bertani 액체배지(BBL)에서 접종한 시험균주를 36°C 항온기에서 18시간 진탕배양 한 후, 새로운 배지에 1% 접종하여 McFarland No. 0.5의 탁도까지 재배양한 배양액 1 ml을 시험세균으로 사용하였다. 발포성의 살균소독력 측정은 ① 수조에 멸균된 증류수 3,000 ml을 채우고 ② 준비된 세균배양액 1 ml을 투입한 후 magnetic spin bar를 이용하여 1분간 희석시킨 다음 ③ 살균소독용 발포정을 완전히 녹인 후, magnetic spin bar를 이용하여 희석시켰다. 각 단계마다 수조의 중앙부에서 용액 1 ml을 채취하여 eppendorf tube에 옮기고 이중 200 µl를 그람양성균은 혈액한천배지(Micromedia, Busan)에 그람음성균은 MacConkey 한천배지(BBL)에 접종하여 24~48시간 평판배양한 후, 증균된 집락을 관찰하였다.

발포성 의치세정제의 성분

본 연구에서 사용된 발포성 의치세정제는 아오스덴티점(AOS Denti Germ, Chungbuk, Korea)이다. 아오스덴티점의 성분은 이염화이소시아눌산나트륨(*sodium dichloroisocyanurate*), 아디핀산(*adipic acid*), 탄산칼슘(*calcium carbonate*), 탄산수소나트륨(*sodium hydrogen carbonate*), 구연산(*citric acid*), 하이드록시프로필메틸셀룰로오스(*hydroxypropyl methylcellulose*) 등으로 구성되었다.

Streptococcus spp.의 수종 항생제에 대한 감수성 검사

미국의 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 기준에 따라서 penicillin, cefotaxime, vancomycin, erythromycin, tetracycline, chloramphenicol, clindamycin, trimethoprim-sulfamethoxazole 등은 Rosco Diagnostica A/S 사(Taastrup, Denmark)의 항생제 디스크를 이용하여 디스크확산법으로 확인하였으며 최소억제농도(minimum inhibitory concentration, MIC) 측정은 etest (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)를 이용하였다[8].

결과

본 연구에서는 국내에서 개발되어 직접 제조된 아오스덴티점(AOS Denti Germ)의 의치세정제로서 적용가능 여부를 평가하기 위하여 오염지표균인 *E. coli* ATCC 25922와 구강미생물인 *S. anginosus* KCOM 1348, *S. mitis* KCOM 1050, *S. mutans* KCOM 1147, *S. oralis* KCOM 1505, *S. sobrinus* KCOM 1185, *A. oris* KCOM 1471 및 *C. albicans* ATCC 90028를 대상으로 이들 세균에 대한 살균능을 확인하였다

(Table 1).

본 연구의 대상이 된 구강미생물 가운데 *S. anginosus*, *S. mitis*, *S. mutans*, *S. oralis* 및 *S. sobrinus* 균주는 penicillin, cefotaxime, vancomycin, erythromycin, tetracycline, chloramphenicol, clindamycin 및 trimethoprim-sulfamethoxazole 항균제에 대한 MIC 값은 각각 0.016-0.064 µg/ml, 0.25-0.75 µg/ml, 0.38-1.0 µg/ml, 0.047-0.16 µg/ml, 0.19-0.75 µg/ml, 2.0-4.0 µg/ml, 0.094-12.0 µg/ml 및 0.01-4.0 µg/ml이었다(Table 2).

Streptococcus spp. 5균종을 이용한 3회에 걸친 살균능 평가는 탁도 McFarland No. 0.5 조건에서 *S. anginosus* 약 571개의 집락(1차 504개, 2차 500개, 3차 710개), *S. mitis* 약 564개의 집락(1차 888개, 2차 508개, 3차 296개), *S. oralis* 약 365개의 집락(1차 333개, 2차 298개, 3차 464개), *S. mutans* 약 334개의 집락(1차 724개, 2차 138개, 3차 139개), *S. sobrinus* 약 326개의 집락(1차 560개, 2차 272개, 3차 146개)이 아오스텐디점을 투입한 후, 즉시 사멸하는

것을 확인하였다(Table 3, Fig. 1).

또한 *A. oris* KCOM 1471, *C. albicans* ATCC 90028 및 *E. coli* ATCC 25922 균주는 탁도 McFarland No. 0.5 조건에서 3회에 걸친 살균능 평가에서 각각 약 365개의 집락(1차 333개, 2차 298개, 3차 464개), 약 37개의 집락(1차 43개, 2차 28개, 3차 39개), 약 146개의 집락(1차 120개, 2차 163개, 3차 154개)가 아오스텐디점을 투입한 후, 즉시 사멸하는 것을 확인하였다(Table 3)

고찰

대부분 의치 장착환자의 의치관리 행위는 부드러운 칫솔이나 세치제를 사용한 세척 및 일부에서는 단순히 흐르는 물로만 세척하는 것으로 알려져 있다[9]. 일반적으로 의치 장착으로 인한 부작용을 방지하고 건강한 구

Table 1. Description of strains used in this study

| Strains | Identification | Source of origin | Other information |
|------------|--------------------------------|--------------------------|--------------------------------|
| ATCC 25922 | <i>Escherichia coli</i> | | serotype O6 |
| ATCC 90028 | <i>Candida albicans</i> | | fluconazole sensitive |
| KCOM 1348 | <i>Streptococcus anginosus</i> | mandibular osteomyelitis | Genbank accession no. KC569574 |
| KCOM 1050 | <i>Streptococcus mitis</i> | maxillary sinusitis | Genbank accession no. GU045390 |
| KCOM 1147 | <i>Streptococcus mutans</i> | dental plaque | Genbank accession no. DQ677740 |
| KCOM 1505 | <i>Streptococcus oralis</i> | acute pulpitis | Genbank accession no. KC589363 |
| KCOM 1185 | <i>Streptococcus sobrinus</i> | dental plaque | Genbank accession no. DQ677796 |
| KCOM 1471 | <i>Actinomyces oris</i> | acute pulpitis | |

ATCC, American Type Culture for Collection; KCOM, Korean Collection for Oral Microbiology

Table 2. Antimicrobial susceptibilities of five species of *Streptococcus*

| | penicillin | | cefotaxime | | vacomycin | | erythromycin | | tetracycline | | chloramphenicol | | clindamycin | | trimethoprim-sulfamethoxazole | |
|----------------------------------|------------|-------------|------------|-------------|-----------|-------------|--------------|-------------|--------------|-------------|-----------------|-------------|-------------|-------------|-------------------------------|-------------|
| | DDT (mm) | MIC (µg/ml) | DDT (mm) | MIC (µg/ml) | DDT (mm) | MIC (µg/ml) | DDT (mm) | MIC (µg/ml) | DDT (mm) | MIC (µg/ml) | DDT (mm) | MIC (µg/ml) | DDT (mm) | MIC (µg/ml) | DDT (mm) | MIC (µg/ml) |
| <i>S. anginosus</i> KCOM 1348 | 26 | 0.016 | 24 | 0.50 | 24 | 1.00 | 27 | 0.047 | 24 | 0.38 | 23 | 2 | 25 | 0.094 | 23 | 0.19 |
| <i>S. mitis</i> KCOM 1050 | 24 | 0.032 | 9 | 0.75 | 26 | 0.50 | 24 | 0.16 | 28 | 0.19 | 26 | 4 | 6 | 12 | 21 | 0.01 |
| <i>S. mutans</i> KCOM 1147 | 42 | 0.016 | 43 | 0.25 | 26 | 0.75 | 37 | 0.094 | 26 | 0.75 | 29 | 3 | 33 | 0.032 | 25 | 1.00 |
| <i>S. oralis</i> KCOM 1505 | 21 | 0.064 | 24 | 0.25 | 28 | 0.38 | 28 | 0.047 | 26 | 0.50 | 26 | 4 | 27 | 0.094 | 24 | 4.00 |
| <i>S. sobrinus</i> KCOM 1185 | 38 | 0.047 | 37 | 0.38 | 27 | 0.75 | 35 | 0.047 | 27 | 0.50 | 29 | 2 | 34 | 0.032 | 25 | 0.38 |

DDT, double disk synergy test; MIC, minimum inhibitory concentration

Table 3. Bactericidal effect of a sodium dichloroisocyanurate-based effervescent tablet against oral microorganisms

| Strains | Test no. | Distilled Water | D.W. with bacteria (n) | After dissolution of effervescent tablet |
|-------------------------------|----------|-----------------|------------------------|--|
| <i>S. anginosus</i> KCOM 1348 | 1 | 0 | 504 | 0 |
| | 2 | 0 | 500 | 0 |
| | 3 | 0 | 710 | 0 |
| <i>S. mitis</i> KCOM 1050 | 1 | 0 | 888 | 0 |
| | 2 | 0 | 508 | 0 |
| | 3 | 0 | 296 | 0 |
| <i>S. mutans</i> KCOM 1147 | 1 | 0 | 724 | 0 |
| | 2 | 0 | 138 | 0 |
| | 3 | 0 | 139 | 0 |
| <i>S. oralis</i> KCOM 1505 | 1 | 0 | 380 | 0 |
| | 2 | 0 | 597 | 0 |
| | 3 | 0 | 360 | 0 |
| <i>S. sobrinus</i> KCOM 1185 | 1 | 0 | 560 | 0 |
| | 2 | 0 | 272 | 0 |
| | 3 | 0 | 146 | 0 |
| <i>A. oris</i> KCOM 1471 | 1 | 0 | 333 | 0 |
| | 2 | 0 | 298 | 0 |
| | 3 | 0 | 464 | 0 |
| <i>C. albicans</i> ATCC 90028 | 1 | 0 | 43 | 0 |
| | 2 | 0 | 28 | 0 |
| | 3 | 0 | 39 | 0 |
| <i>E. coli</i> ATCC 25922 | 1 | 0 | 120 | 0 |
| | 2 | 0 | 163 | 0 |
| | 3 | 0 | 154 | 0 |

KCOM, Korean Collection for Oral Microbiology; ATCC, American Type culture for Collection, D.W.. Distilled water; n, number.

강건강을 유지하기 위하여 의치의 표면에 정착한 치태를 제거하는 칫솔질이 가장 효과적인 것으로 생각되어 왔으나 일부의 연구에서는 이러한 기계적인 방법으로는 침착된 치태를 완벽하게 제거할 수 없다고 하였다[10]. 또한 고령의 의치 장착환자는 노안으로 인한 시력저하와 자연스럽게 못한 손동작으로 인해 의치 세정능력이 일반인에 비해 떨어지거나 혹은 의치 세정에 대한 의식이 없는 환자가 많아 상대적으로 의치의 위생상태가 좋지 못하다. 따라서 고령의 의치 장착환자가 쉽게 이용할 수 있으면서 의치나 구강건강에 영향이 없고 의치에 정착한 미생물을 효과적으로 제거할 수 있는 세정방법이 고려되어야 한다.

국내에서 판매되고 있는 의치세정제는 매우 다양한데, 수

입제품인 폴리덴트, 덴픽스, 보니플러스 등과 국산의 클리덴트가 판매되고 있으나 국내에서 직접 제조된 제품은 없다. 또한 이들 제품을 대상으로 다양한 구강미생물에 대한 살균능을 측정한 연구는 흔치 않다. 본 연구에서는 국내에서 개발되어 직접 제조된 아오스덴티점(AOS Denti Germ)의 의치세정제로서 적용가능 여부를 평가하기 위하여 오염지표균인 *E. coli*와 구강미생물인 *Streptococcus* spp. 5종(*S. anginosus*, *S. mitis*, *S. mutans*, *S. oralis*, *S. sobrinus*), 방선균의 일종인 *A. oris* 및 진균인 *C. albicans*를 대상으로 이들에 대한 살균능을 확인하였다. 또한 이들 세균의 균종은 matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS, Bruker Daltonics, Bremen, Germany)를 통하여 검증하였다(테이터는 제시 안함).

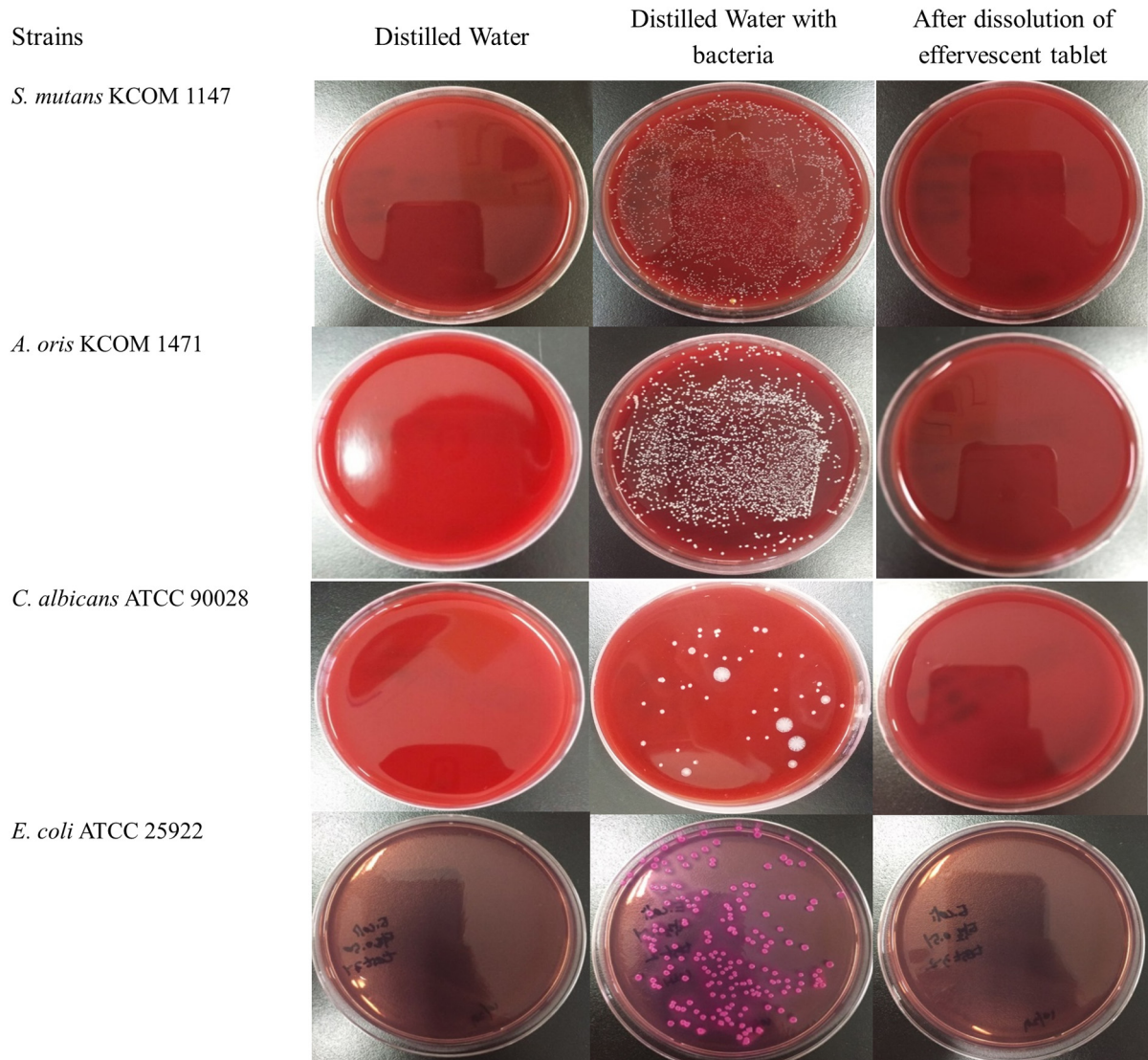


Fig. 1. Growth colonies of *S. mutans* (KCOM 1147), *A. oris* (KCOM 1471), *C. albicans* (ATCC 90028) and *E. coli* (ATCC 25922) from spreads plated by the plate spreading method on the blood and MacConkey agar plates.

*S. anginosus*는 *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus constellatus* 등과 함께 *anginosus* group에 속하고 사람의 입안과 장관 및 비노생식기 상재세균으로 드물게 화농성 감염증을 유발하기도 한다[5,11,12]. 본 연구를 위해 선별된 *S. anginosus* KCOM 1348 균주는 악골 골수염(mandibular osteomyelitis)의 원인균으로 penicillin, cefotaxime, vancomycin, erythromycin, tetracycline, chloramphenicol, clindamycin, trimethoprim-sulfamethoxazole 등 시험 항균제 모두에 감수성을 보였으며(Table 2), 아오스텐디점을 이용한 살균능 평가에서 모두 사멸하는 것으로 확인되었다(Table 3, Fig. 1).

*S. mitis*와 *S. oralis*는 *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus parasanguinis* 등과 함께 *mitis* group으로 구강에 상재하는 세균이지만 항암

제 사용으로 인한 면역저하환자에 혈액감염의 원인이 되는 등 침습성 감염을 일으키기도 한다[5,13,14]. 영국에서는 이 세균의 균혈증 빈도가 2002-2004년에 인구 10만 명당 1.9사례였으나 2008년에는 인구 10만 명당 2.4사례로 급격히 증가하는 양상을 보였다고 한다[15]. 본 연구를 위해 선별된 *S. mitis* KCOM 1050와 *S. oralis* KCOM 1505는 각각 상악동염(maxillary sinusitis)과 급성 치수염(acute pulpitis)의 원인균이었다. *S. oralis* (KCOM 1505)는 시험항균제 모두에 감수성을 보였고 *S. mitis* KCOM 1050 균주는 clindamycin 항균제를 제외한 모든 항균제에 감수성을 보였다. Clindamycin 내성균주는 디스크확산법(6 mm)과 MIC (12 µg/ml)측정에서 모두 내성으로 확인되었다(Table 1, 2). 이는 *S. mitis* (KCOM 1050)

에 의한 상악동염 치료 시 clindamycin을 치료항균제로 사용했을 것으로 유추할 수 있다. *S. mitis* KCOM 1050와 *S. oralis* KCOM 1505는 아오스텐디점을 이용한 살균능 평가에서 모두 사멸하는 것으로 확인되었다(Table 3).

Mutans group 연쇄구균은 사람에서 주로 서식하는 *S. mutans*와 *S. sobrinus*, 이외에도 동물에서 주로 존재하는 *Streptococcus rattus*, *Streptococcus cricetus*, *Streptococcus macacae*, *Streptococcus downei* 등이 존재하며, 이들은 치아우식의 주요 원인균이다[5,16,17]. 본 연구를 위해 선별된 *S. mutans* KCOM 1147와 *S. sobrinus* KCOM 1185는 모두 한국인의 치태(dental plaque)에서 분리된 세균으로 penicillin, cefotaxime, vancomycin, erythromycin, tetracycline, chloramphenicol, clindamycin, trimethoprim-sulfamethoxazole 등 시험항균제 모두에 감수성으로 확인되었으며 아오스텐디점을 이용한 살균능 평가에서 집락을 확인할 수 없었다(Table 3).

*A. oris*는 방선균으로 통성혐기성의 그람양성간균이다. 이 세균은 치아우식의 초기 정착균으로 이 세균이 보유한 peptidoglycan은 치주염 발생 시 뼈소실에 관여하는 것으로 알려져 있다[18,19]. 본 연구를 위해 선별된 *A. oris* KCOM 1471 균주는 급성치주염(acute pulpitis)에서 분리된 균주이며, 아오스텐디점을 이용한 살균능 평가에서 모두 사멸하는 것으로 확인되었다(Table 3).

*C. albicans*는 HIV 감염환자, 당뇨환자, 방사선 치료를 받는 두경부암 환자 등 면역력이 저하된 사람에게 구강 칸디다증을 흔히 일으키는 진균으로 알려져 있다[20-23]. 본 연구를 위해 선별된 *C. albicans* ATCC 90028는 진균에 의한 감염증 치료제인 fluconazole에 감수성인 표준균주로 탁도 McFarland No. 0.5 조건에서 3회에 걸친 살균능 평가에서 43개, 28개 및 39개 균주가 아오스텐디점을 투입한 후, 즉시 사멸하는 것을 확인하였다. 이는 전 등 [24] 이 보고한 *C. albicans*에 대한 의치세정제의 항진균능 검사결과에서 나타난 사멸소요 시간인 60분보다 빠른 것으로 아오스텐디점은 일반세균과 비교하여 세포벽의 구조와 증식메커니즘이 다른 진균에서도 동일한 살균능을 발휘할 수 있음을 확인하였다(Table 3).

또한 장내 그람음성간균의 치료지침을 위한 미국의 CLSI 기준에 적용된 표준균주이고 대표적인 오염지표균인 *E. coli* ATCC 25922 균주도 아오스텐디점을 이용한 살균능 평가에서 모두 사멸하였다(Table 3).

본 연구의 결과, 국내에서 개발된 의치세정제인 아오스텐디점은 구강 내 일반 상재균, 치주질환의 원인균 및 오염지표균뿐 아니라 진균에도 살균능을 발휘하는 것으로 확인되어 본 제품이 의치세정제로 활용 가능할 것으로 여겨진다.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Seo WJ, Lee JY. Projected population 2010-2060. Statistical Office, 2015.
2. Korea Centers for Disease Control and Prevention. Korea Health Statistics 2013: Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES VI-1), 2013.
3. Lee TJ, Jung JO, Lee KH. A study on the actual condition of dental prosthesis of the elderly in Seoul and Gyeonggi-do. J Kor Dent Tech Association. 2011;33:369-378.
4. Marsh PD, Martin MV, Lewis MAO, Williams D. Oral Microbiology, 1st ed., Elsevier Health Sciences: Philadelphia, PA, USA, 2009.
5. Kawamura Y, Hou XG, Sultana F, Miura H, Ezaki T. Determination of 16S rRNA sequences of *Streptococcus mitis* and *Streptococcus gordonii* and phylogenetic relationships and members of the genus *Streptococcus*. Int J Syst Bacteriol. 1995;45:406-408.
6. Kholly KE, Genco RJ, Van Dyke TE. Oral infections and cardiovascular disease. Trends Endocrinol Metab. 2015;26:315-321. doi:10.1016/j.tem.2015.03.001.
7. Lee DS, Chang YM, Hong KH, Park SK, Park SK, Kwon YK, Chang SY, Kim BS, Kim MC. Study on the management of food additives sanitizers and disinfectants. The Annual Report of KFDA. 2005;9:1-11.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-Fourth Information Supplement. 24thed, M100-S24. CLSI, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
9. Axe AS, Varghese R, Bosma M, Kitson N, Bradshaw DJ. Dental health professional recommendation and consumer habits in denture cleansing. J Prosthet Dent. 2015;115:183-188. doi: 10.1016/j.prosdent.2015.08.007.
10. Kim WY, Lee MS, Park JB, Herr Y. Scanning electron microscopic study of the effect of tetracycline-HCl on the change of implant surface microstructure according to application time. J. Periodontal & Implant Sci. 2002;32:523-537. doi.org/10.5051/jkape.2002.32.3.523.
11. Whitley RA, Beighton D, Winstanley TG, Fraser HY, Hardie JM. *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus constellatus*, and *Streptococcus anginosus* ("*Streptococcus milleri* group"): association with different body sites and clinical infections. J Clin Microbiol. 1992;30:243-244.
12. Claridge JE, Attorri S, Musher DM, Hebert J, Dunbar S. *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus constellatus* and *Streptococcus anginosus* ("*Streptococcus milleri* group") are of different clinical importance and are not equally associated with abscess. Clin Infect Dis. 2001;32:1511-1515. doi:

- 10.1086/320163.
13. Han XY, Kamana M, Rolston KV. Viridans streptococci isolated by culture from blood of cancer patients: clinical and microbiologic analysis of 50 cases. *J Clin Microbiol.* 2006;44:160-165. doi: 10.1128/JCM.44.1.160-165.2006.
 14. Montejo M, Aguirrebengoe K. *Streptococcus oralis* meningitis after dental manipulation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998;85:126-127. doi: 10.1016/S1079-2104(98)90413-9.
 15. Mitchell J. *Streptococcus mitis*: walking the line between commensalism and pathogenesis. *Mol Oral Microbiol.* 2011;26:89-98. doi: 10.1111/j.2041-1014.2010.00601.x.
 16. Tanzer JM, Livingston J, Thompson AM. The microbiology of primary dental caries in humans. *J Dent Educ.* 2001; 65:128-137.
 17. Aas JA, Griffen AL, Dardis SR, Lee AM, Olsen I, Dewhirst FE. Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults. *J Clin Microbiol.* 2008; 46:1407-1417. doi: 10.1128/JCM.01410-07.
 18. Ellen RP. Establishment and distribution of *Actinomyces viscosus* and *Actinomyces naeslundii* in the human oral cavity. *Infect Immun.* 1976;14:1119-1124.
 19. Sato T, Watanabe K, Kumada H, Toyama T, Tani-Ishii N, Hamada N. Peptidoglycan of *Actinomyces naeslundii* induces inflammatory cytokine production and stimulates osteoclastogenesis in alveolar bone resorption. *Arch Oral Biol.* 2012;57:1522-1528. doi: 10.1016/j.archoralbio.2012.07.012.
 20. Nikawa H, Hamada T, Yamamoto T. Denture plaque-past and recent concerns. *J Dent.* 1998;26:299-304. doi:10.1016/S0300-5712(97)00026-2.
 21. Bensadoun RJ, Patton LL, Lalla RV, Epstein JB. Oropharyngeal candidiasis in head and neck cancer patients treated with radiation: update 2011. *Support Care Cancer.* 2011;19:737-744. doi: 10.1007/s00520-011-1154-4.
 22. Sangeorzan JA, Bradley SF, He X, Zarins LT, Ridenour GL, Tiballi RN, Kauffman CA. Epidemiology of oral candidiasis in HIV-infected patients: colonization, infection, treatment, and emergence of fluconazole resistance. *Am J Med.* 1994;97:339-346. doi:10.1016/0002-9343(94)90300-X.
 23. Willis AM, Coulter WA, Fulton CR, Hayes JR, Bell PM, Lamey PJ. Oral candidal carriage and infection in insulin-treated diabetic patients. *Diabet Med.* 1999;16:675-679. doi: 10.1046/j.1464-5491.1999.00134.x.
 24. Chun SS, Chung CH, Lee ZH. Determination of antifungal ability of denture cleansing agents to *Candida albicans*. *Oral Biol Res.* 1992;16:321-332.