

티트리 성분 함유 의치세정제의 항균 효과

최유리 · 배성숙¹ · 강민경^{1†}

경동대학교 치위생학과, ¹한서대학교 치위생학과

Antibacterial Effect of Tea Tree Ingredient for Denture Cleaners

Yu-Ri Choi, Sung-Suk Bae¹, and Min-Kyung Kang^{1†}

Department of Dental Hygiene, Kyungdong University, Wonju 26495,

¹Department of Dental Hygiene, Hanseo University, Seosan 31962, Korea

The purpose of this study was to evaluate the antibacterial effect of tea tree oil in denture cleaners. A self-curing denture resin was used to make the experimental specimen (12 mm × 2 mm). A saline solution was used as the control. To observe surface changes after cleaning, the microhardness and color of the experimental specimen's surface were analyzed. For the antibacterial activity test, *Candida albicans* was used. The microhardness and color of the surface remained unchanged after cleaning. The result of the antibacterial activity test revealed that the tea tree oil-containing solutions had a more enhanced antibacterial effect than did the saline solution. Therefore, these results suggest that the tea tree oil-containing solution is a promising denture cleaners.

Key Words: Antibacterial effect, *Candida albicans*, Denture cleaners, Tea tree oil

서론

우리나라 인구 중 65세 이상의 인구가 2020년에는 약 15.7%로 증가될 것으로 보여 고령사회로 진입하고 있다¹⁾. 이에 따라 노인인구의 복지에 대한 관심도 높아져, 치의학계에서도 대안 마련이 필요한 상황이며 최근 정책적 제안이 시도되고 있다. 노인환자들의 대부분은 치아 상실로 인해 고통 받고 있으며 의치나 임플란트의 치료를 시행 받고 있다. 최근 정부에서는 75세 이상 환자에 대해 2013년도부터 완전틀니 급여화 사업을 시행하였으며 부분틀니, 그리고 임플란트 보험 급여화로 점차 확대되고 있는 시점이다. 따라서 의치사용자인 노인인구의 증가가 예상되며, 선행연구^{2,3)}에서와 같이 의치관리법 또한 중요하게 다루어져야 하며 따라서 의치를 사용하는 사람은 건강한 구강상태를 유지하기 위해서 의치를 청결히 관리해야 한다. 제대로 관리가 되지

않았을 경우 의치 표면에 치태가 자리 잡게 되고 구강 내 다양한 세균들이 증식하게 된다. 선행 연구들에 의하면 의치 사용 환자에게서 구내염이 빈번히 발생되며 주 원인균인 *Candida albicans*가 구내염 환자의 86%에서 발견되었다고 보고되고 있다. 특히 *C. albicans*균이 대표적으로 나타나며 칸디다증의 주원인으로 확인되고 있다^{4,5)}.

의치를 세정하는 방법으로 물리적, 화학적 방법이 사용되고 있다. 기계적인 방법으로는 칫솔 등을 이용하여 세척하는 방법이 주로 사용되며 화학적인 방법으로는 소독제에 담그거나 세척하는 방법이 사용되고 있었다. 하지만 물리적 방법은 의치에 칫솔질을 제대로 할 수 없는 노약자와 심신 장애자들에게서는 올바른 방법이 시행될 수 없으며, 화학적 방법은 의치 상용 표면을 변화시키거나 맛과 냄새가 좋지 않은 단점이 있다^{6,7)}. 따라서 인체에 무해한 천연재료를 이용한 의치세정제에 대한 관심이 증가되고 있는 실정이다.

Received: August 30, 2016, Revised: September 26, 2016, Accepted: September 29, 2016

ISSN 1598-4478 (Print) / ISSN 2233-7679 (Online)

†Correspondence to: Min-Kyung Kang

Department of Dental Hygiene, Hanseo University, 6, Hanseo 1-ro, Haemi-myeon, Seosan 31962, Korea
Tel: +82-41-660-1575, Fax: +82-41-660-1579, E-mail: kmk0709@hanseo.ac.kr

Copyright © 2016 by Journal of Dental Hygiene Science

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

그리하여 일반적으로 식물에서 추출한 많은 재료들이 향미생물제로 사용되고 있으며, 그중 티트리(*Melaleuca alternifolia*)가 바이러스, 박테리아, 곰팡이 균 제거 등에 효과적이라는 보고가 있다⁸⁾. 티트리의 향미생물 작용은 terpinene-4-ol이 주성분이며 선행연구에 의하면 티트리는 활성산소(H₂O₂)에 의한 인체 피부 섬유아세포의 독성을 감소시켜주는 효과를 나타낸다고 보고되어 있으며 임상적으로 여드름피부에 개선효과가 있는 것으로 나타났다⁹⁾. 특히, 티트리는 의치성 구내염 원인균인 *C. albicans*에도 우수한 항균 효능이 있는 것으로 보고되고 있으나 의치세정제로서 티트리 오일의 항균효과에 대한 연구는 아직 미미한 실정이다^{10,11)}. 따라서 본 연구에서는 천연 티트리 성분 함유물의 의치 세정 항균활성 효과를 평가하고자 의치상용 레진의 표면을 분석하고 *C. albicans* 세균에 대한 항균 평가 과정을 통해 티트리 함유물이 항균제로의 개발 가능성을 확인하고자 한다.

연구대상 및 방법

1. 연구 재료

1) 시편제작

의치상용레진은 자가중합형 의치상용 레진(Jet Denture Repair; Lang Dental, Wheeling, IL, USA)을 사용하였다. 시편제작을 위해 먼저 유리슬라이드 위에 내경 12 mm, 두께 2 mm 폴리에틸렌 몰드를 올려놓고 의치상용 레진의 파우더와 용액을 혼합하여 채워 넣었다. 그리고 다시 유리슬라이드를 덮고 경화한 후 시편을 몰드에서 제거하였다.

2. 연구 방법

1) 의치세정제 제작

티트리 성분이 함유된 의치세정제를 제작하기 위해 증류수에 티트리 오일 성분(Nimi Tea Tree Oil; Nice Day, Seoul, Korea)을 각각 30 vol%, 50 vol% 혼합하였으며, 1 vol% Tween 40 (Q-P1504; Sigma, St. Louis, MO, USA)을 유화제로 첨가하였다. 대조군으로는 생리식염수를 사용하였다.

2) 색차 측정

제작한 의치세정제에 24시간, 48시간 담가 놓은 뒤 각 기간이 끝나는 시점에 분광광도계(spectro photometer, CM-3500d; Minolta, Kyoto, Japan)로 색조측정을 시행하였다.

색조측정을 위해 표준 백색판을 표준으로 설정하고 각 시편의 L*, a*, b* 값을 구한 후 색조차이 값인 ΔE*값을 계산하였다. L*값은 시편의 명도를 나타내며, a*값은 녹색(negative a*) 또는 적색(positive a*)의 정도를 나타낸다. 그리고 b*값은 청색(negative b*)과 황색(positive b*)의 정도를 나타낸다. ΔE*값의 산출 공식은 다음과 같다. 한 개의 시편 당 3번 반복 측정하였다.

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

3) 경도 측정

표면 경도 측정을 위해 제작한 의치세정제에 시편을 24시간, 48시간 담가 놓고 각 기간이 끝나는 시점에 꺼내어 비커스 경도(micro hardness tester, Dmh-2; Matuzawa Seiki, Tokyo, Japan)를 측정하였다. 대면각 136°의 다이아몬드 피라미드 압입자로 0.09 MPa 하중을 20초간 시편 표면 위에 가하였다. 한 개의 시편 당 3번 반복 측정하였다.

4) 항균력 평가

항균력 평가를 위해 사용된 한국생명공학연구원 생물자원센터에서 동결 건조된 *C. albicans* (ATCC 796)를 yeast mold (YM) 배지(yeast mold broth; BD Difco, Franklin Lakes, NJ, USA)에 풀어 활성화시킨 뒤 세균 100 μl와 YM 배지 용액 10 ml를 혼합한 다음 37°C 인큐베이터에서 48시간 동안 보관하여 활성화시켰다. 활성화된 세균을 YM 배지 용액을 이용해 10배씩 4회 희석시켜 5×10⁴ colony forming unit (CFU)/ml 농도로 만들었다. 그리고 멸균된 시편 위에 세균액 3 ml를 넣어 24시간 동안 37°C, 5% CO₂ 인큐베이터에서 배양하였다. 24시간 뒤 1 ml의 YM 배지 용액에 넣어 초음파 세척하여 시편에 부착된 세균을 분리하였다. 그리고 분리된 세균액 100 μl를 고체 배지에 떨어뜨려 인큐베이터에서 48시간 동안 배양한 뒤 CFU 수를 확인하여 항균력을 평가하였다.

5) 통계처리

실험결과는 IBM SPSS Statistics ver. 20.0 (IBM Co., Armonk, NY, USA)을 사용하여 분석하였으며, 시간에 따른 경도와 색 안정성은 paired t-test로, 그룹별 유의성을 검증하기 위해 one-way ANOVA와 paired t-test로 통계 처리하였다. 모든 분석은 95% 신뢰수준에서 시행되었다.

결 과

1. 경도

대조군의 의치시편을 saline에 보관하였고, 실험군의 의치시편은 티트리 용액을 30%군과 50%군으로 나누어 24시간, 48시간 보관한 후 표면 경도를 확인하였다. 의치상 시편은 24시간 동안 saline에서 보관한 대조군의 표면경도와 실험군인 30%군과 50%군의 표면경도 변화를 확인할 수 없었다. 50%에서 표면경도가 조금 낮아진 경향을 보였지만 유의차를 확인할 수 없었다($p > 0.05$). 48시간 동안 보관한 후 표면경도를 확인한 결과 50%가 가장 높은 경도 값을 나타냈으며 대조군 30% 순으로 나타났다. 하지만 대조군과 실험군과의 유의차를 확인할 수 없었으며($p > 0.05$), 24시간, 48시간 시간의 변화에 따라 재료 표면 경도의 유의차 또한 확인할 수 없었다($p > 0.05$; Table 1).

2. 색차색도계

색차색도계를 이용하여 24시간, 48시간 동안 의치상의 표면변화를 확인하기 위해 전체 색 변화량 ΔE^* 값을 확인하였다. Saline에 의치 시편을 보관한 group을 기준 값으로 설정하고 기준값과 비교하여 실험군의 변화를 측정하였다. 대조군과 비교한 실험군의 ΔE^* 값은 1 이하로 나타나 실험군은 색변화를 보이지 않았으며, 30%군은 24시간 동안 보관한 군과 48시간 보관한 군 간의 유의한 색 차이를 보이지 않았다($p > 0.05$). 50%군 또한 24시간, 48시간 동안 보관한 후 시간에 따른 색변화의 유의한 차이를 확인할 수 없었다($p > 0.05$). 따라서 티트리의 의치세정제는 의치표면의 색변화를 나타내지 않았다($p > 0.05$; Table 2).

3. 항균실험

티트리 성분 함유 의치세정제의 항균력을 확인하기 위하여 CFU를 확인하였다. 양성대조군인 saline에서 보관한 시편은 5×10^4 로 나타났으며, 음성대조군인 티트리 원액 100%에서 보관한 시편은 5.45 ± 3.41 로 높은 항균력을 보였다($p <$

0.05). 실험군인 50%군에서는 3.18 ± 2.59 로 원액과 유의차를 확인할 수 없었지만 30%군보다는 높은 항균력을 보였다($p < 0.05$). 30%군에서는 36.81 ± 28.42 로 대조군보다는 항균력을 보였지만 50%군과 티트리 원액 실험군보다는 항균력이 낮았다($p < 0.05$; Fig. 1).

고 찰

노령인구의 증가와 함께 의치 장착환자도 증가되고 있는 추세이다. 이에 따라 의치의 위생관리에 대한 중요성 역시 더욱 강조되고 있다^{12,13}. 그러나 시중에 시판되고 있는 대부분의 구강 및 의치세정제는 화학적 합성 성분으로 제조되고 있으며 특히 의치상 레진의 표면을 변화시키고 구강조직과 접촉 시 함유된 화학성분이 독성작용을 일으키는 문제점이 보고되고 있다¹⁴. 따라서 본 연구의 목적은 천연 식물 중 허브의 일종인 티트리 성분이 함유된 의치세정제를 제조하고 세정액의 항균효과를 평가하고 세정액에 대한 의치상 레진의 물성 변화를 평가하고자 하는 데 있다.

의치 세척 시 세척방법이나 의치세정액이 의치상 레진과 반응하거나 물성을 저해 시키지 않아야 한다. 그러나 선행 연구에 의하면 의치세정제들은 의치상 레진의 물리적 강도나 색조, 표면 형태 등에 영향을 미친다고 보고되고 있다¹⁵. 또한 기계적으로 잘못된 방법으로 의치를 세척하게 되면 의치상을 마모시키게 되며 마모에 의한 흠집은 표면을 거칠게 하여 치태 및 치석의 축적을 가져올 수 있다^{16,17}. 이에 의치세정제에 따른 레진의 경도를 평가하는 것은 매우 중요하다. 또한 의치상 레진의 표면 경도는 저작 시 가해지는 힘에 어느 정도 저항할 수 있는가를 나타내며, 표면 경도가 낮아지면 저작력에 의한 응력 분포가 균등하게 이루어지지 않음을 의미하게 된다¹⁵. Kim 등¹⁸의 연구에서는 Polident와 Cleadent (Block Drug, ON, Canada)를 사용한 경우 열중합형 레진인 Lucitone 199 (Dentsply, York, PA, USA)에서 대조군에 비해 감소된 표면 경도를 관찰할 수 있었다. 그러나 본 연구에서 티트리 함유 의치세정제에 1, 2일간 담가 놓

Table 1. The Result of Micro-Hardness

Group	24 hours	48 hours
Control	162.82±23.57	153.05±31.50
30%	164.16±20.56	148.19±18.41
50%	152.58±17.26	157.68±17.02

Values are presented as mean±standard deviation. Data was analyzed by one-way ANOVA and paired t-test ($\alpha=0.05$). There were no significant difference.

Table 2. Color Changes ΔE^* of Specimens among the Group at the Each Time

Group	24 hours	48 hours
30%	0.85±0.12	0.70±0.06
50%	0.82±0.13	0.71±0.01

Values are presented as mean±standard deviation. Data was analyzed by paired t-test. There were no significant difference.

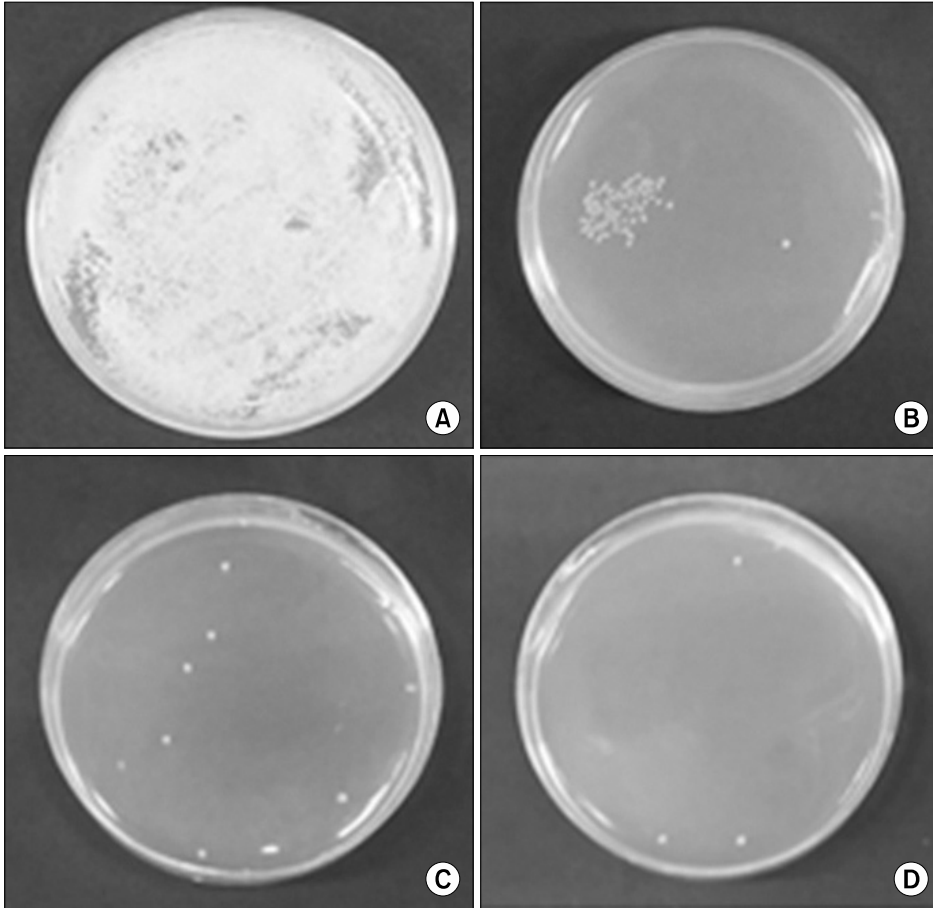


Fig. 1. Agar plates with colony forming unit of *Candida albicans* to determine the antibacterial effects of (A) saline, (B) 30%, (C) 50%, and (D) 100%.

고 의치상 레진의 경도값을 측정된 결과 대조군과 유의한 차이가 없는 것으로 나타나 티트리 오일을 함유한 의치세정제는 의치사용 레진의 표면경도에 영향을 주지 않는 것으로 생각된다.

그리고 색차색도계를 이용하여 의치상용 레진의 색 안정성을 분석한 결과 30%와 50% 티트리가 함유된 실험군 모두 24시간, 48시간 경과에 따른 의치표면의 ΔE^* 값은 유의한 차이를 나타내지 않았다. 즉 티트리 의치세정제는 의치표면의 색변화를 나타내지 않는 것으로 관찰되었다. 의치상 레진의 색조 변화는 심미성에 중요한 요소로 열중합형 레진보다 자가중합형 레진의 경우 색조 변화에 더 큰 영향을 받게 된다¹⁹⁾. 특히, 가정용 차아염소산나트륨의 경우 의치세척제로 사용할 경우 우수한 살균 및 소독 작용이 있으나 의치상 레진을 탈색시키고 금속을 부식시킨다는 단점을 가지며 산소를 유리하는 의치세정제의 경우 아크릴릭 레진을 탈색시킨다는 보고가 있다²⁰⁾. 그리고 Yang 등¹⁵⁾의 연구에서도 hypochlorite계 의치세정제로 세척 시 실제 육안으로 확인 가능한 색조 변화를 보였으며, alkaline peroxide계 Poli-

dent (Block Drug, Jersey City, NY, USA)의 경우 중증도의 변화를 보였다고 보고하였다. 그러나 본 연구의 티트리 오일 함유 세정제는 의치상 레진의 색변화를 관찰할 수 없어 우수한 색 안정성을 나타내었다.

마지막으로 항균력 평가 결과, 대조군에 비해 30%와 50%의 티트리 오일이 함유된 실험군에서 모두 *C. albicans* 세균의 수가 유의하게 감소됨을 관찰할 수 있었다. 의치의 세균성 치태는 의치 환자의 27~67%가 지니고 있으며 다양한 형태의 의치 구내염의 병인이다²¹⁾. 특히 의치상 재료로 사용되는 아크릴릭 레진 표면이나 구강상피에 존재하는 *C. albicans* 세균은 보통 병원성이 아닌 상태로 존재하지만 면역력이 약화된 환자에게 질병을 유발하고 구강상피세포나 의치에 부착하여 기회감염을 일으킨다²²⁾. *C. albicans*로 유발된 의치 구내염 치료를 위해 chlorhexidine gluconate 1~2% 용액을 사용할 수 있지만, 착색을 야기하기 때문에 매일 사용할 수 없다는 제한점을 가지고 있다²³⁾. 이처럼 구강 칸디다증의 치료는 중요하지만 부작용과 내성으로 인해 항진균제의 사용이 제한적이기 때문에 진균 감염의 치료에 효과

적이면서 부작용과 내성이 적은 천연 식물에 대한 연구가 현재 활발히 진행되고 있다^{15,24,25}. Shin 등²⁵은 복분자 추출물을 이용하여 *C. albicans*의 성장억제 효과를 보고하였으며, Kim¹⁴은 황칠나무 추출물을 통한 항진균 효과를 보고하였다. 본 연구에서 사용된 티트리 성분 역시 천연물질로서 *C. albicans*에 뛰어난 항균 효능이 있는 것으로 널리 보고되고 있다^{4,26}. 또한 Kim과 Kim²⁷은 실제 화학요법을 받는 암환자에게 티트리 오일을 첨가한 양치액을 사용한 경우 구강 내 세균수가 감소하였다고 보고하였다.

본 연구의 결과를 통해 티트리 성분을 함유한 의치세정제가 의치상 레진의 물리적 변화 없이 *C. albicans*에 대한 항균 효과를 나타냈음을 관찰할 수 있었다. 따라서 향후 천연 성분이 함유된 의치세정제 개발을 위한 기초 자료로 활용될 수 있을 것이다. 그러나 앞으로 의치세정제로의 활용 및 효능을 평가하기 위해서는 더 연장된 세정제 처리시간에 관한 연구가 필요하며, 인공치나 금속과의 결합강도나 세포독성과 같은 생체적합성에 대한 연구가 추가적으로 수행되어야 할 것으로 생각된다.

요 약

본 연구의 목적은 천연 식물 중 허브의 일종인 티트리 성분이 함유된 의치세정제를 제조하고 레진의 표면을 분석하고 항균 효과를 평가하고자 하였으며, 다음과 같은 결과를 얻었다. 티트리 오일이 각각 30 vol%, 50 vol% 첨가된 실험군 의치세정제를 제조하였으며 실험군 티트리 오일에서 24시간, 48시간 보관한 후 표면 경도를 확인한 결과 대조군 생리식염수와 유의한 차이가 없었으며, 시간에 따른 변화 역시 유의한 차이가 없었다. 의치상의 색상변화를 확인하기 위해 색차색도계를 이용하여 24시간, 48시간에 따른 전체변화량 ΔE^* 값을 확인한 결과 대조군 생리식염수와 유의한 차이가 없어 티트리 의치세정제가 의치표면의 색변화를 나타내지 않았다. 마지막으로 항균력을 평가한 결과 실험군인 티트리 50%군에서는 3.18 ± 2.59 CFU/ml로 원액과 유의차를 확인할 수 없었지만 30%군보다는 높은 항균력을 보였다. 30%군에서는 36.81 ± 28.42 CFU/ml로 대조군보다는 높은 항균력을 보였지만 50%군과 티트리 원액 실험군보다는 낮은 항균력을 나타냈다. 따라서 티트리 오일이 함유된 의치세정제는 의치상용레진에 물리적 기계적 변화 없이 우수한 항진균력을 보여 향후 천연성분인 티트리 오일이 함유된 의치세정제 개발을 위한 기초 자료로 활용될 수 있을 것이라 생각된다.

감사의 글

이 논문은 2016년도 한서대학교 교내 연구지원사업에 의하여 연구되었음.

References

1. Statistics Korea: Statistics Korea news. Retrieved December 7, 2011, from [http://kostat.go.kr/portal/korea/kor_nw/2/1/index.board?bmode=read&aSeq=252623\(2011, December 7\)](http://kostat.go.kr/portal/korea/kor_nw/2/1/index.board?bmode=read&aSeq=252623(2011, December 7)).
2. Dikbas I, Koksal T, Calikkocaoglu S: Investigation of the cleanliness of denture in a university hospital. *Int J Prosthodont* 19: 294-298, 2006.
3. De Freitas KM, Paranhos Hde F: Weight loss of five commercially available denture teeth after toothbrushing with three different dentifrices. *J Appl Oral Sci* 14: 242-246, 2006.
4. Catalán A, Pacheco JG, Martínez A, Mondaca MA: In vitro and in vivo activity of Melaleuca alternifolia mixed with tissue conditioner on Candida albicans. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 105: 327-332, 2008.
5. Carson CF, Cookson BD, Farrelly HD, Riley TV: Susceptibility of methicillin-resistant Staphylococcus aureus to the essential oil of Melaleuca alternifolia. *J Antimicrob Chemother* 35: 421-424, 1995.
6. Kang JK, Kim SH, Yoo EM, Chio HS, Choi YR, Kim KM: Surface changes of denture base resin according to two toothpastes and a kitchen detergent. *J Korean Soc Dent Hyg* 12: 611-620, 2012.
7. Budtz-Jorgensen E: Materials and methods for cleaning dentures. *J Prosthet Dent* 42: 619-623, 1979.
8. Tong MM, Altman PM, Barneston RS: Tea tree oil in the treatment of tinea pedis. *Australasian J Dermatol* 33: 145-149, 1992.
9. Baratta MT, Dorman HJ, Deans SG, Figueiredo AC, Barroso JG, Roberto G: Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. *Flavour Fragr J* 13: 235-244, 1998.
10. Hammer KA, Carson CF, Riley TV: In vitro activity of essential oils, in particular Melaleuca alternifolia (tea tree) oil and tea tree oil products, against Candida spp. *J Antimicrob Chemother* 42: 591-595, 1998.
11. Bassett IB, Pannowitz DL, Barneston RS: A comparative study of tea-tree oil versus benzoylperoxide in the treatment

- of acne. *Med J Aust* 153: 455-458, 1990.
12. Nam YS, Jang JY: Potential factors associated with the quality of life in South Korean senior people: based on oral health. *J Dent Hyg Sci* 13: 281-289, 2013.
 13. Gornitsky M, Paradisi I, Landaverde G, Malo AM, Velly AM: A clinical and microbiological evaluation of denture cleansers for geriatric patients in long term care institution. *J Can Dent Assoc* 68: 39-45, 2002.
 14. Kim RW: Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities of dendropanax moribifera extract for mouthwash and denture cleaner solution. Unpublished master's thesis, Chosun University, Gwangju, 2015.
 15. Yang HJ, Jang BS, Chung DJ, et al.: The effects of denture cleansers and disinfectants on the color, surface hardness, surface roughness of denture base resins. *J Korean Acad Prosthodont* 39: 105-113, 2001.
 16. Jagger DC, Harrison A: Denture cleansing—the best approach. *Br Dent J* 178: 413-417, 1995.
 17. Lee HE, Li CY, Chang HW, Yang YH, Wu JH: Effects of different denture cleaning methods to remove *Candida albicans* from acrylic resin denture based material. *J Dent Sci* 6: 216-220, 2011.
 18. Kim KS, Jeong HY, Kim YL, Cho HW: The effect of denture cleansers on the bond strength and the surface hardness of relined resin to denture base resin. *J Korean Acad Prosthodont* 41: 493-502, 2003.
 19. UnlüA, Altay OT, Sahmali S: The role of denture cleansers on the whitening of acrylic resin. *Int J Prosthodont* 9: 266-270, 1996.
 20. Budtz-Jørgensen E: Materials and methods for cleaning dentures. *J Prosthet Dent* 42: 619-623, 1979.
 21. Budtz-Jørgensen E, Bertram U: Denture stomatitis. I. The etiology in relation to trauma and infection. *Acta Odontol Scand* 28: 72-92, 1970.
 22. Son SH, Baek SM, Park YM: The distribution of oral candida species in patient with prosthetic appliance. *J Dent Hyg Sci* 14: 477-487, 2014.
 23. Odman PA: The effectiveness of an enzyme containing denture cleanser. *Quintessence Int* 23: 187-190, 1992.
 24. Park YM, Kim J, Lim DS: Development of liquid denture cleaner formulation using natural antimicrobial agents. *J Dent Hyg Sci* 6: 309-311, 2006.
 25. Shin AR, Ohk SH, Choi CH, Hong SJ: Growth inhibition effect of *Rubus coreanus* miquel on *Candida albicans*. *J Korean Acad Oral Health* 39: 168-173, 2015.
 26. Jandourda A, Vaishampayan JK, Vazquez JA: Efficacy of melaleuca oral solution for the treatment of fluconazole refractory oral candidiasis in AIDS patients. *AIDS* 12: 1033-1037, 1998.
 27. Kim NC, Kim HJ: The effects of teatree oil gargling on oral cavity micro-organism growth and perceived discomfort of patient receiving chemotherapy. *Korean J Adult Nurs* 17: 276-286, 2005.