

칫솔 세척 온도가 *Streptococcus mutans* 세균 감소에 미치는 영향

김현석, 김재현, 박고은, 윤여준, 윤혜지, 조현우, 이은영, 노지연*

연세대학교 원주의과대학 치위생학과

Effect of Rinsing Temperature of Toothbrush to Reduction of *Streptococcus mutans*

Hyun-Seok Kim, Jae-Hyun Kim, Go-Eun Park, Yeo-Joon Yoon,

Hye-Ji Yoon, Hyun-Woo Cho, Eun Young Lee, Jiyeon Roh*

Department of Dental Hygiene, Yonsei University College of Medicine,

Wonju, 26426, Korea

ABSTRACT

The toothbrush is essential for removing dental plaque and the proper toothbrush hygiene care is important to optimize oral health. The majority of the microorganisms transferred to the toothbrush from the oral cavity or another toothbrush. However, recommended toothbrush hygiene care had a limitation to adapt in daily basis. In this study we conducted the toothbrush hygiene care by controlling the rinsing temperature, which the oral bacteria are sensitive. In brief, the contaminated toothbrush by *Streptococcus mutans* were washed ordinary methods and finally washed in three different conditioned, 1) Tap, 2) Ice and 3) Hot. The treated toothbrush was rinsed in sterilized deionized water and smeared on the agar plate. After 24 hours, the CFU was counted. The tests were conducted three times. The statistical analysis was using one-way ANOVA following by Tukey. From the results, the Hot group showed the significant difference when compare to 'Ice' and 'Tap' and all groups were significantly differences ($p < 0.05$). Although there were limitations in this study such as using one bacteria and the 'Hot' groups could damage the brush. However, there was significant meaning to hygiene care of a toothbrush in daily basis without further sanitizer. The further study on general toothbrush hygiene care with clinical evidence was suggested.

Key words : Toothbrush care, Residual bacteria, Rinsing temperature, *Streptococcus mutans*

색인 : 칫솔관리, 칫솔 내 잔존 균, 세척온도, *Streptococcus mutans*

교신저자: 노지연

우편번호 26426 강원도 원주시 일산로 20 연세대학교 원주의과대학 치위생학과

Tel: (033) 735-0397, Fax: (033) 735-0391, E-mail: hindhorn@gmail.com

투고일: 2016. 12. 27. 심사일: 2017. 01. 09. 게재확정일: 2017. 02. 02.

감사의 글: 본 논문은 2016년도 연세대학교 원주의과대학 학생연구비 지원을 받아 수행된 연구입니다.

1. 서론

적절한 구강건강 관리를 위해서는 다양한 도구를 필요로 하고 그 중 칫솔은 가장 기본적인 구강 관리용품이다(1). 그러나 칫솔은 소모되는 의약외품 중의 하나로 사용하는 사람의 여러 조건에 따라 칫솔모의 손상정도가 다르다. 변형된 칫솔모는 구강 관리효율성을 감소시키며 일부 논문에서는 구강 조직의 손상을 일으킬 수도 있다고 보고하고 있다(2).

미국 치과의사협회를 포함한 칫솔관련 회사에서는 칫솔의 주기적인 교체를 권하고 있을 뿐만 아니라 매일매일의 칫솔 관리방법에 대해 다음과 같이 제안하고 있다. 칫솔 사용 후 흐르는 물에 세척하여 물기를 최대한 제거하며, 환기가 잘 되는 곳에 칫솔모를 위로 세워서 보관해야 한다고 설명하고 있다. 또한 칫솔은 독립적으로 보관하며 공용으로 나누어 쓰지 않도록 제안하였다(3).

구강 내에는 700종 이상의 다양한 세균들이 존재하고 있으며, 주변 환경에 따라 균의 성질 또한 조금씩 다르다(4). 일반적으로 *S. mutans*균은 우식이 진행중인 치아에서 많이 발견되고, *Actinobacillus actinomycetecomitans*균은 치주질환이 진행중인 구강에서 높은 농도를 보인다. 구강 내 존재하는 세균의 분포에 대한 여러 논문에서, 신생아의 구강 내의 상주균의 분포는 엄마의 구강환경과 밀접한 관련성을 가진다고 하였고(5-7), 전신질환의 경우 각 질환마다 다양한 분포의 세균들이 사용하는 칫솔에서 발견된다고 보고되었다(8, 9).

구강 내 균은 칫솔모에 옮겨 붙을 수 있을 뿐만

아니라 칫솔모 내의 잔존한 세균이 습한 환경에서 잘못 보관될 경우 원래보다 균이 증식할 수 있다고 보고된 바도 있다(10). 일상생활에서는 세균을 사멸시키는 멸균방법을 수행하는데 한계가 있으므로, 기본적인 칫솔 관리법 외에 추가적으로 소독액 등 화학약품을 사용하거나 또는 실험실 내에서 다양한 방법으로 칫솔 내 잔존균을 제거하기 위한 방법들 또한 제시되고 있다. Gujjari 등은 자외선과 전자 레인지 사용으로 칫솔 내 잔존균을 제거하는 방법을 제안하였고, 유효한 효과를 보였다고 하나 장시간 노출시 칫솔의 손상이 올 수 있음을 경고하였다(11). 임 등은 헥사메딘 용액을 이용할 경우 칫솔 내 잔존균을 제거할 수 있다고 보고하였지만, 약물의 사용에 대한 거부감과 주의사항을 인지해야만 한다(10). 또한 미국 치과의사협회에서는 FDA승인을 받은 소독액 또는 소독기능성 치약제품 등을 소개하여 그 효과를 보고하였으나 아직 국내에서 제품에 대한 구입이 일반적이지 않다(3).

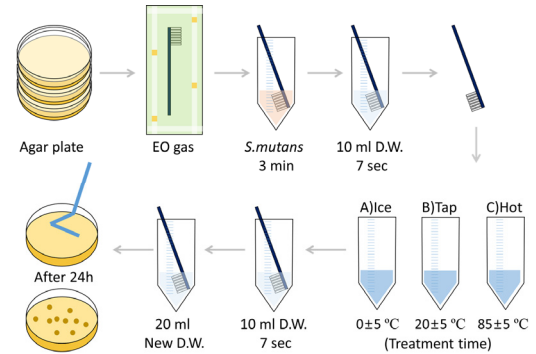
칫솔의 관리방법에 대한 평가는 임상이나 실험 연구에서 다양한 결과를 보이지만 제약이 많고, 효과적인 칫솔 관리에 대한 근거 또한 매우 오래된 방법들로 일상적으로 적용하기에는 한계가 있다. 따라서 일상적으로 쉽게 접근할 수 있는 온도의 변화로 칫솔 내의 잔존균, 특히 구강 내 가장 우세한 대표적인 상주균인 *S. mutans*를 이용하여 세균의 감소를 위한 효율적인 관리하는 방법을 고안해 보았다. 칫솔을 냉온, 상온, 고온에 세척 후 칫솔모에 남은 잔존균의 양을 고체배지에 배양하여 측정하였다.

2. 연구재료 및 방법

냉동된 *Streptococcus mutans*를 37℃에서 24시간 활성화 시켜 실험 바로 사용할 수 있도록 준비해 두었다. 일반적으로 사용하는 미세모 칫솔(Atomi, Korea)을 구입하여 Ethylene oxide gas 멸균을 실시하였고, 칫솔은 무작위로 선택하여 실험을 진행하였다. 세균 배양을 위하여 Brain heart infusion 37g과 agar 15g을 1000ml 3차 증류수에 혼합하여 121℃ 15분 동안 고온가압멸균하였다. 멸균이 끝난 후, 60℃에 다다르면 지름 90mm의 petri dish에 15ml씩 분주하여 상온에서 24시간 경화시킨 수고체 배지를 제작하였다.

멸균한 칫솔을 실험 직전에 꺼내 *S. mutans* 군에 침적하여 3분 동안 오염시키고, 떨어지는 물기가 없도록 칫솔을 제거하여 10 ml의 멸균 증류수에 7초간 세척하였다. 세척이 끝난 후, 세 가지 온도 조건(Iced tap water(Ice): 0±5℃, Room temperature Tap water(Tap): 20±5℃, Hot tap water(Hot): 85±5℃) 중 하나를 선택하여 10초간 흔들어 세척을 하고 50초간 유지시켰다. 그리고 세척시간을 포함하여 1분이 지나 칫솔을 꺼냈다. 새로운 상온의 멸균 증류수(20 ml)에 칫솔을 옮기고 칫솔 내 잔존 세균을 모두 제거하였다. 그리고 100 µl를 채취하여 고체 배지에 도말하였다. 도말한 고체 배지는 37℃ 세균배양기에서 24시간동안 배양한 후 생성된 colony수를 측정하였다. 실험은 세 가지 온도 조건에서 동일하게 3번 이상 반복되었고, 각 단계의 실험자는 고정하여 진행되었다. 실험 진행에 대

한 요약은 <그림 1>에 제시되어 있다.



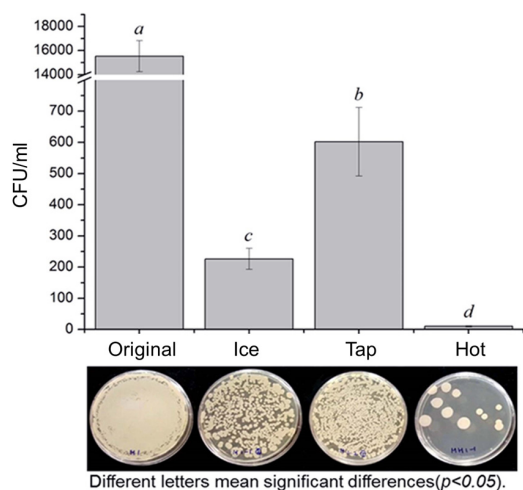
<그림 1> 실험의 전반적인 흐름모식도. EO gas는 ethylene oxide gas를 뜻하고, D.W.는 멸균 증류수를 뜻함. A)Ice는 0±5℃의 물, B)Tap은 20±5℃의 물, C)Hot는 85±5℃의 수돗물을 사용한 실험군임.

실험의 모든 실험의 대조군으로는 기존 세균 원액(original)으로 설정하였다. 원액의 세균 수는 serial dilution 후 각 고체배지에 도말하여 원액의 세균 수를 측정하였다. 측정된 세균 수는 평균과 표준편차로 정리한 후, SPSS 18.0을 이용하여 일원분산분석(One-way ANOVA)과 사후검정(Tukey)을 이용하여 통계적으로 분석하였고 유의수준은 0.05로 설정하였다.

3. 연구결과

본 실험의 결과는 <그림 2>에 제시되어 있다.

원액의 *S. mutans* 수는 1.5×10^4 CFU/ml로 측정되었다. Ice에서 세척한 *S. mutans*의 잔존세균 평균수는 226.2 ± 33.7 CFU/ml, Room temperature Tap water에서 601.9 ± 109.9 CFU/ml, Hot water에서 10.2 ± 1.6 CFU/ml이었다. 각 실험군들은 모두 원액의 세균수와 비교하였을 때 확연하게 감소된 결과를 보였으며, 통계적으로 유의하였다 ($p < 0.05$). 칫솔모 내 잔여세균수가 많은 그룹 순으로 결과는 Tap, Ice, Hot군으로 감소하였다.



〈그림 2〉 실험군 별로 *S. mutans*의 CFU 그래프와 사진. 동일한 알파벳은 통계적 유의차가 없음을 나타냄 ($p < 0.05$ versus original test group).

4. 고 안

구강 내 세균과 전신건강과의 관련성에 대한 다양한 연구가 이루어지면서, 구강 내의 세균을 제거

하기 위한 기본적인 도구인 칫솔 관리에 대한 연구가 진행되었다(4). Glass 등은 전신질환을 가진 환자에서는 칫솔 내에서도 동일한 균이 발견된다고 보고되었고, 이런 환자들에서는 한 달 주기 또는 치유된 후 칫솔을 반드시 교체해야 한다고 제안한 바도 있다(12). 세균의 이동과 관련해서 Karibasappa 등은 변기와 샤워시설이 함께 있는 장소에 칫솔을 보관할 경우 칫솔모 내에서 대장균이 발견되었다 보고했고, 이를 근거로 칫솔의 보관 장소의 중요성도 강조하였다(13). 또한 김 등은 칫솔 우식원균은 구강 내 치면의 우식원균 감염과 유사한 분포를 확인하였다(14).

이와 관련하여 진행된 실험 및 문헌에서 칫솔 내 잔존균에 대한 실험은 구강이라는 특수한 환경으로 다양한 변수와 실험적인 방법들에 의해 연구 방법 및 결과를 비교하는데 한계가 있었다. 기존의 실험에서는 타액에 오염시킨 후 진행을 한 경우도 있었고, 사용된 칫솔 내의 균을 검사하기도 하였다. 또한 칫솔을 수거한 후 즉시 세균을 채취하는 방법을 적용한 경우도 있다(8, 10, 11, 15-18). 그 중, 본 논문에서는 다양한 변수 중 온도에 대한 제한을 두기 위해 모든 실험 단계의 시간적인 부분은 일반적인 칫솔질 및 세척과정을 참고로 진행하였다. 물론 각 단계별 시간을 일반화 시키는데 있어서 한계가 있지만 실험 과정 중 실험자를 통일 하였고 각 과정을 세 번 이상 반복하여 편차와 실험적 오류를 최소화하였다.

세균의 성장과 관련된 환경적인 요인들 중 온도는 매우 중요한 요인 중의 하나이다. 각각의 세균이 성장하는데 최대의 활동을 보이는 온도가 존재

하며, 이는 균에 따라 각기 다른 값을 갖는다. 그 중, 체내에서 발견되는 균의 일반적인 성장 온도는 체온과 유사한 37도 부근이다(19-21). 따라서 온도에 따라 균의 세척 및 성장에 차이가 있을 것이라 생각되어 칫솔 세척 온도조건을 달리 하였다. 칫솔질을 하는 상온의 일반 수도물 온도와 세균 성장을 저지할 수 있는 저온과 고온을 각각의 실험 변수로 설정 하였다.

본 실험의 결과에서 뜨거운 물로 세척한 실험군이 가장 유의하게 적은 잔존 세균수를 보였고, 이를 토대로 칫솔 내 잔존균의 수를 온도변수로만 조절을 한다면 Hot 실험군이 가장 효과적인 방법으로 제안될 수 있다. 그러나 본 실험에서 진행한 시간보다 장시간 노출시 칫솔 재질에 따라 모양의 변화를 야기할 수 있다고 판단되었다. 두 번째로 Ice 실험군은 Hot 실험군 보다는 작지만, 상온의 실험군보다 통계적으로 유의한 결과 값을 보였다. 두 실험군 모두 완전히 세균을 없애는데 제한적이라 잔여균이 다시 성장을 할 수 있다는 제한점이 있었다. 그러나 이는 세균의 성장시간과 칫솔질을 하는 시간 간격을 고려해 봤을 때, 다시 성장하는 환경을 충분히 차단할 수 있다고 판단하였다. 또한 세균이 자랄 수 있는 실험실 인큐베이터 온도 조건이 아닌 일반적으로 칫솔이 보관되는 환경적인 부분까지 고려한다면 일상에서의 칫솔 보관에 충분히 긍정적인 것으로 판단되었다.

칫솔 내 잔존하는 균을 제거하는 방법으로는 단순한 세척과 물기를 터는 방법, 또는 손가락으로 문질러 찍는 방법 등 다양한 방법으로 세척을 하였을 경우 세균 수에 대한 통계적인 유의성은 없었으

나 상관성이 있음을 확인하였다(16, 22). 따라서 온도를 제외한 나머지 습기 등에 대한 모든 요인은 배제하기 위하여 최대한의 물기를 제거하였다.

칫솔 내 세균의 활성여부에 대한 평가방법은 칫솔모 내의 균을 동일하게 제거한 후 아가배지에 도말하여 CFU를 측정하였다. 오 등은 칫솔모 내 세균을 20회 문질러 균의 ATP측정방법 이용하였고, 일부는 위상차 현미경으로 관찰(oxyluciferin)양을 상대적으로 측정하였으나 결과값에 대한 유의차를 발견하지 못하였다(16).

임 등은 칫솔 관리방법에 따른 살균 효과를 습기, 햇빛, 자외선, 헥사메딘 용액 이용한 관리 시 습기가 증가할수록 세균수의 증가함을 확인하였고, 햇빛 2시간에 살균시 20분 살균그룹에 비해 증가하였고, 자외선은 2시간 살균그룹이 햇빛 2시간 군과 유사한 결과를 보였다. 그리고 약물을 이용한 군에서는 헥사메딘 용액의 10와 30초 침적 그룹에서 유의한 감소결과를 보인다고 보고하였다(10). 그러나 위 방법은 일상적으로 적용하기 어려운 부분이 있었고, 일부 약물의 사용은 부작용의 어려움이 있었다. 그리고 그 외에도 다양한 소독제의 사용을 권장하였는데, 이 또한 아직 실용화 하는데 있어서 제약이 있다(23).

기존 연구와는 달리 일상에서 쉽게 접근하기 위한 방법을 적용한 본 실험은 *S. mutans*를 이용한 실험실 내에서 통제된 실험으로 일반화 하는데 있어서 제한점이 있었다. 또한, 완전한 멸균을 하지 못했기에 최소의 세균이 다시 성장을 할 수 있다는 가능성이 있었다. 그리고 가장 유의하게 적인 세균의 값을 보인 실험 군에서는 높은 온도가 칫솔모에

손상을 줄 수 있는 문제점도 존재했다. 그러나 다른 논문과는 달리 칫솔 내 잔존균을 일상적으로 쉽게 접근할 수 있는 방법을 고안하였기에 실험적 의의를 가진다고 본다.

구강과 전신의 상관관계에 대한 여러 근거가 제시되면서 칫솔에 대한 관리 또한 체계적인 방법이 제시되어야 할 것이다. 그리고 인체에 무해하면서도 효과적인 칫솔 내 잔존세균 관리방법에 대한 지속적인 연구 또한 필요하다고 판단된다.

5. 결 론

본 연구에서는 매일 사용하는 칫솔 내의 잔존 세균수를 감소하는 방법으로 일상에서 쉽게 접할 수 있는 칫솔 세척 온도를 달리하여 실험을 진행하였고, 그 결과 칫솔 세척 온도로도 칫솔 내의 잔여 세균 수를 감소할 수 있다는 실험 결과를 얻었다. 그리고 칫솔의 마무리 세척 과정에서 뜨거운 물로 세정을 하는 것이 실험상에서의 잔여 세균 수가 가장 낮았다. 물론, 실험실 내에서의 다른 조건을 통제하여 시행하였다는 점에 있어 실험의 한계를 보였을 수 있고, 뜨거운 물에 장시간 노출이 되었을 때, 칫솔의 변형이 있을 수도 있다는 위험성이 있다. 그러나 다른 기존의 실험과는 달리 일상에서 칫솔을 관리하는 손쉬운 방법을 제안하였다는 점에 있어 유의미하다고 사료된다.

참고문헌

1. Walsh M, Darby ML. Dental Hygiene: Theory and Practice. 4th edition. Missouri: Elsevier Health Sciences; 2014.
2. Glaze PM, Wade AB. Toothbrush age and wear as it relates to plaque control. J Clin Periodontol 1986;13: 52-56.
3. JADA. Toothbrush care, cleaning and replacement. J Am Dent Assoc 2006;137:415.
4. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity. J Clin Microbiol 2005;43:5721-5732.
5. Kononen E. Development of oral bacterial flora in young children. Ann Med 2000;32:107-112.
6. Berkowitz RJ, Jordan HV, White G. The early establishment of Streptococcus mutans in the mouths of infants. Arch Oral Biol 1975;20:171-174.
7. Berkowitz RJ. Mutans Streptococci: Acquisition and Transmission. Pediatr Dent 2006;28:4.
8. Glass RT, Lare MM. Toothbrush contamination: a potential health risk? Quintessence Int. 1986;17:39-42.
9. William A. Rutala DJW, the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities, USA: CDC: 2008. 2008. 1-158.
10. 임미향, 정수지, 이경희. 칫솔 관리방법에 따른 살균효과. 응용미약자기에너지학회지 2013;1:1-4.
11. Gujjari S, Gujjari A, Patel P, Shubhashini P. Comparative evaluation of ultraviolet and microwave sanitization techniques for toothbrush decontamination.

- J Int Soc Prevent Communit Dent 2011;1:20-26.
12. Kozai K, Iwai T, Miura K. Residual contamination of toothbrushes by microorganisms. ASDC J Dent Child 1989;56:201-204.
13. Karibasappa G, Nagesh L, Sujatha B. Assessment of microbial contamination of toothbrush head: An *in vitro* study. Indian J Dent Res 2011;22:2-5.
14. 백대일, 김현덕, 진보형, 박용덕, 신승철, 조자원 외 9인. 임상예방치학. 제 5판. 대한민국: 고문사; 2011.
15. Michelle R. Frazelle CLM. Toothbrush Contamination: A Review of the Literature. Nur Res Pract 2012; 2012:6.
16. 오정현. 칫솔 관리방법에 따른 세균량 조사연구[석사학위논문]. 천안: 단국대학교 보건복지대학원; 2013.
17. Caudry SD, Klitorinos A, Chan EC. Contaminated toothbrushes and their disinfection. J Can Dent Assoc. 1995;61:511-6.
18. Malmberg E, Birkhed D, Norvenius G, Noren JG, Dahlen G. Microorganisms on toothbrushes at day-care centers. Acta Odontol Scand 1994;52:93-8.
19. Ratkowsky DA, Olley J, McMeekin TA, Ball A. Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures. J Bacteriol 1982;149:1-5.
20. D'Amico S, Collins T, Marx J-C, Feller G, Gerday C. Psychrophilic microorganisms: challenges for life. EMBO Reports 2006;7:385-9.
21. Marsh CL, Larsen DH. Characterization of some thermophilic bacteria from the hot springs of Yellowstone National Park. J Bact 1953;65:193-7.
22. Jeong YK, Seong YR, Cho KS, Seong HK, Kim JB. Bacteriological contamination of home toothbrushes and hygiene improvement. J Korean Acad Dent Health 1992;16(1):3.
23. Warren DP, Goldschmidt MC, Thompson MB, Adler-Storthz K, Keene HJ. The effects of toothpastes on the residual microbial contamination of toothbrushes. J Am Dent Assoc 2001;132:1241-5.