

بررسی اثر محلول کلرهگزیدین ۰/۲ درصد بر میزان آلودگی باکتریایی مسواک

دکتر نصرت نوربخش^۱، دکتر رومینا مظاهری^{*}، دکتر اردشیر طالبی^۲، دکتر محبت صادقیان^۳

چکیده

مقدمه: یکی از مهم‌ترین روش‌ها برای حفظ بهداشت دهان و دندان، مسواک زدن می‌باشد. در این راستا رعایت بهداشت مسواک می‌تواند نقش مؤثری در حفظ سلامت حفره دهانی داشته باشد. عوامل زیادی بر آلودگی مسواک مؤثر هستند و باید به طریقی این آلودگی را کاهش داد. هدف از این پژوهش بررسی اثر محلول کلرهگزیدین ۰/۲ درصد بر آلودگی میکروبی مسواک‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها: این پژوهش به طریق تجربی انجام شد. بدین صورت که ۸۴ مسواک مشابه و استریل در دو مرحله در اختیار ۴۲ نفر گذاشته شد. در مرحله اول روش عادی مسواک زدن انجام شد و در مرحله دوم از افراد خواسته شد که پس از مسواک زدن، مسواک خود را درون محلول کلرهگزیدین ۰/۲ درصد قرار دهند. در پایان هر دو مرحله سر مسواک‌ها تحت شرایط استریل جدا شد و در محلول سالیین بافر فسفات (PBS) قرار داده شد و برای کشت میکروبی به آزمایشگاه فرستاده شد. داده‌ها با استفاده از آزمون Wilcoxon با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۰/۰۵ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته‌ها: بین میزان آلودگی مسواک‌ها در مرحله اول و دوم تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p \text{ value} = ۰/۰۰۹$). در مرحله اول (قبل از استفاده از کلرهگزیدین) ۲۱/۴ درصد مسواک‌ها آلودگی داشتند و در مرحله دوم (بعد از استفاده از کلرهگزیدین) تنها ۲/۴ درصد مسواک‌ها دارای آلودگی بودند.

نتیجه‌گیری: با توجه به محدودیت‌های این پژوهش می‌توان ادعا نمود که کاربرد محلول کلرهگزیدین ۰/۲ درصد در کاهش آلودگی باکتریایی مسواک‌ها مؤثر می‌باشد. این ماده به راحتی در دسترس عموم قرار داشته، می‌توان از آن در مصارف خارج دهانی نیز بهره جست.

کلید واژه‌ها: مسواک، آلودگی باکتریایی، کلرهگزیدین، شمارش تعداد کلونی.

* استادیار، گروه کودکان، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان، اصفهان، ایران. (مؤلف مسؤول) romina.mazaheri@gmail.com

۱: استادیار، گروه کودکان، دانشکده دندان‌پزشکی، مرکز تحقیقات دندان‌پزشکی دکتر ترابی نژاد، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۲: دانشیار، گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۳: دندان‌پزشک، اصفهان، ایران.

این مقاله در تاریخ ۸۸/۱/۲۳ به دفتر مجله رسیده، در تاریخ ۸۹/۲/۲۵ اصلاح شده و در تاریخ ۸۹/۳/۴ تأیید گردیده است.

مجله دانشکده دندان‌پزشکی اصفهان
۱۳۸۹: (۲) ۹۳ تا ۹۸

مقدمه

یکی از مهم‌ترین روش‌ها برای حفظ بهداشت دهان و دندان مسواک زدن می‌باشد. در این راستا رعایت بهداشت مسواک ممکن است نقش مؤثری در حفظ سلامت حفره دهانی داشته باشد. عوامل زیادی بر آلودگی مسواک مؤثر هستند. به عنوان مثال استفاده مکرر و طولانی مدت از یک مسواک ممکن است باعث آلودگی آن به انواع میکروارگانیسم‌هایی گردد که قادرند در حفره دهان کلونی ایجاد نمایند [۱]. با افزایش طول مدت مصرف مسواک، درصد آلودگی آن و در نتیجه آلودگی مجدد دهان و دندان افزایش می‌یابد که همین امر ممکن است به بیماری‌های لثه و استوماتیت منجر گردد [۱]. به علاوه بسته به نوع فیلامنت‌ها، میزان آلودگی منتقل شده نیز متغیر می‌باشد [۲]. میکروارگانیسم‌های متنوعی در مسواک یافت شده‌اند که از آن جمله می‌توان به استرپتوکوک موتانس، ویروس هرپس و کاندیدا آلبیکانس اشاره نمود [۳-۶].

در بعضی از پژوهش‌ها توصیه شده است که فرد به صورت ماهانه و یا پس از هر بیماری یا استفاده از داروهای سرکوب کننده ایمنی مسواک خود را تعویض نماید [۷]. خشک نگه داشتن مسواک حداقل به مدت ۵ روز و نگهداری آن در یک محفظه سوراخدار از جمله دیگر روش‌های مؤثر است اما به طور کامل بر حذف آلودگی باکتریایی مؤثر نمی‌باشد [۸]. قرار دادن مسواک در محلول‌های ضد عفونی کننده‌ای مانند هیپوکلریت سدیم و یا کلرهگزیدین را می‌توان به عنوان روش تازه‌ای در حفظ بهداشت مسواک مد نظر قرار داد. کلرهگزیدین با اتصال به گروه‌های گلیکوپروتئینی و فسفوپروتئینی موجود در مخاط حفره دهانی و پلاک‌های دندانی وارد واکنش شده، از یک سو بر فعالیت باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و بعضی از انواع ویروس‌ها (HIV, HBV) مؤثر است و از سوی دیگر مانع فعالیت متابولیک پلاک‌های میکروبی می‌شود [۹]. کلرهگزیدین در انواع مختلف دهان شویه، ژل، اسپری و قرص‌های مکیدی موجود است که البته فرم ژل مؤثرترین نوع آن می‌باشد [۱۰]. با این حال به نظر می‌رسد استفاده از محلول، روش کاربردی‌تری جهت استریل نگه داشتن مسواک است. هدف از انجام پژوهش حاضر نیز بررسی اثر محلول کلرهگزیدین بر رشد و تنوع کلونی‌های میکروبی مسواک مصرفی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش از نوع تجربی- مداخله‌ای بود. تعداد ۴۲ نفر داوطلب (۷۳/۸ درصد زن و ۲۶/۲ درصد مرد) با میانگین سنی ۴۰ سال (با محدوده سنی ۳۵ تا ۴۵ سال) به روش نمونه‌گیری آسان و تصادفی از بین مراجعه کنندگان به دانشکده دندان پزشکی اصفهان انتخاب شدند. پس از ارایه توضیحات کافی جهت انجام پژوهش، کلیه شرکت کنندگان فرم رضایت نامه را امضا نمودند. معیار ورود به پژوهش، داشتن بهداشت دهان معمولی و حداقل روزی یک بار استفاده از مسواک بود. به علاوه افرادی که دارای ناراحتی پریودنتال پیشرفته (با استفاده از ایندکس پریودنتال) بودند و یا به هر دلیلی مورد درمان با آنتی بیوتیک قرار داشتند و نیز کسانی که از دستگاه‌های ارتودنسی، پروتز پارسیل و یا کامل استفاده می‌کردند، وارد پژوهش نگردیدند [۱۱، ۱۲]. همچنین پروتکل پژوهش در کمیته اخلاق دانشکده دندان پزشکی مورد تأیید قرار گرفت.

در این پژوهش از مسواک Oral-B نوع advantage (Oral-B laboratories, Ireland) و خمیر دندان Crest (Procter & Gamble, Germany) complete نوع استفاده شد. در ابتدای پژوهش یک عدد مسواک نو درون پاکت استریلی قرار داده شد و به مدت ۲۰ دقیقه درون اتوکلاو در دمای 121°C قرار گرفت. سپس سر مسواک کشت داده شد و هیچ گونه رشد میکروبی مشاهده نگردید. سایر مسواک‌ها نیز به همین صورت استریل شده، در پاکت بسته قرار داده شدند تا هنگام استفاده توسط خود افراد مورد پژوهش باز شوند.

پژوهش در دو مرحله انجام گرفت. در مرحله اول از افراد خواسته شد تا بهداشت دهانی معمول خود را ادامه دهند. هر فرد پس از هر بار استفاده از مسواک آن را زیر شیر آب با دقت بشوید به طوری که خرده‌های غذایی یا خمیر دندان لابلای موهای مسواک باقی نمانده باشد. سپس مسواک را بدون آنکه با جایی تماس پیدا کند در هوا تکان دهد تا آب آن خارج گردد. پس از آن مسواک را از طرف دسته آن در یک لیوان قرار دهد؛ به طوری که سر برس‌های مسواک در هوای آزاد قرار گیرد. محل نگهداری مسواک الزاماً آشپزخانه یا اتاق خواب تعیین گردید. از همه افراد خواسته شد که پس از اتمام دوره ۲۱ روزه، پس از آخرین بار مسواک زدن، مسواک خود را در هوای آزاد

قرار دهند تا خشک شود و سپس آن را درون پاکت‌های استریل که در اختیارشان گذاشته شده بود قرار دهند. در پایان ۲۱ روز همه مسواک‌ها جمع آوری شد و پس از گذشت ۱۸ ساعت از آخرین دفعه استفاده، سر مسواک‌ها در شرایط استریل جدا گردید و هر کدام درون لوله استریلی که حاوی ۱۰ میلی لیتر سالین بافر فسفات (PBS = دی سدیم هیدروژن فسفات + کلرید سدیم + پتاسیم دی هیدروژن فسفات. تهیه شده از کارخانه Merck آلمان + آب مقطر دیونیزه دوبار تقطیر) استریل بود انداخته شد. سپس هر لوله به شدت تکان داده شد و لوله‌ها جهت انجام کشت به آزمایشگاه منتقل گردید.

در مرحله دوم پژوهش یک مسواک استریل دیگر از همان نوع و به همان طریق قبلی به همراه دو بطری ۲۵۰ سی سی از محلول کلرهگزیدین ۰/۲ درصد بهسا (ساخت شرکت داروسازی بهسا، اراک - ایران)، در همان زمان که مسواک‌های مرحله اول از هر فرد گرفته می‌شد، به وی تحویل داده می‌شد. تفاوت این مرحله با مرحله قبل این بود که از افراد خواسته شد که سر مسواک‌ها را پس از شستن کامل و تکان دادن در هوا درون یک استکان تمیز حاوی محلول کلرهگزیدین قرار دهند، به طوری که تمامی برس‌های سر مسواک درون محلول قرار گیرد. سپس استکان را در محیط قبلی (آشپزخانه یا اتاق خواب) نگهداری کنند. به علاوه به همه آنها توصیه گردید که هر ۲۴ ساعت یک بار محلول را دور ریخته، استکان را بشویند و محلول تازه در آن بریزند. در آخر از همه افراد خواسته شد که پس از اتمام دوره ۲۱ روزه مسواک خود را پس از آخرین بار استفاده و قرار دادن در محلول (به مدت ۱۲ ساعت)، از محلول بیرون آورند و از طرف دسته درون یک لیوان قرار دهند تا مسواک خشک شود و سپس آن را درون پاکت‌های استریل قرار دهند. در نهایت مسواک‌ها به طریقه قبلی جمع آوری شده، سر آنها جدا گشت و درون لوله‌های استریل حاوی ۱۰ میلی لیتر سالین بافر فسفات قرار داده شد. این بار هم لوله‌ها خوب تکان داده شد و برای انجام کشت به آزمایشگاه منتقل گردید.

روش کشت و محیط‌های کشت: در این پژوهش از محیط کشت Eosin Methylen Blue (EMB) برای باکتری‌های گرم منفی و از محیط‌های کشت بلاد آگار و شکلات آگار برای باکتری‌های گرم مثبت استفاده شد؛ بدین صورت که هر بار

۰/۱ میلی لیتر از محلول درون لوله‌ها توسط sampler به محیط‌های کشت مذکور منتقل گردید. محیط‌های کشت به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت درون انکوباتور قرار گرفتند. پس از آن در مورد کلونی‌های به دست آمده، رنگ آمیزی گرم انجام گرفت و نوع کلونی‌ها از طریق مشاهده مورفولوژی و واکنش گرم مشخص گردید. به علاوه از آزمون‌های تکمیلی اکسیداز، کاتالاز و آزمون‌های اختصاصی Billscolin، مانیتول سالت آگار، TSI و کوآگولاز و همولیز نیز استفاده گردید. در نهایت با استفاده از نرم افزار SPSS^{۱۲} و آزمون آماری Wilcoxon، داده‌ها در سطح اطمینان ۰/۹۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

در این پژوهش ۸۴ مسواک مورد بررسی و کشت آزمایشگاهی قرار گرفت و یافته‌های زیر حاصل گردید.

- در مرحله اول (قبل از کاربرد کلرهگزیدین)، ۹ مسواک از ۴۲ مسواک (۲۱/۴ درصد) آلودگی داشتند که ۱۶/۷ درصد آن مربوط به زنان و ۴/۷ درصد آن مربوط به مردان بود.
- در مرحله دوم آزمایش (پس از کاربرد کلرهگزیدین) نیز همان تعداد مسواک مورد بررسی قرار گرفت و فقط یک مسواک (۲/۴ درصد) آلودگی داشت که مربوط به یکی از مردان بود. قابل ذکر است که مسواک آلوده در مرحله دوم، هیچ آلودگی در مرحله اول نداشت. نمودار ۱، میزان آلودگی مسواک‌ها را قبل و بعد از استفاده از کلرهگزیدین نشان می‌دهد.

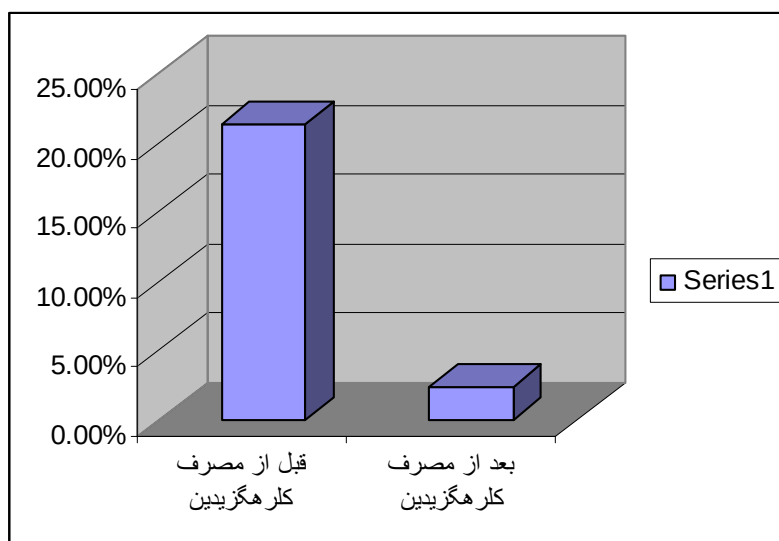
- در مسواک‌های آلوده در مرحله اول (۲۱/۴ درصد)، کلونی‌های مختلفی به دست آمد که عبارت بود از: استافیلوکوک کواگولاز منفی در ۷/۱ درصد موارد، باسیل گرم منفی غیر تخمیری در ۴/۸ درصد موارد، استرپتوکوک ویریدانس در ۴/۸ درصد موارد، استرپتوکوک آلفا همولیتیک در ۲/۴ درصد موارد و استرپتوکوک غیر همولیتیک در ۲/۳ درصد موارد.

در مسواک آلوده در مرحله دوم (۲/۴ درصد) فقط باسیل گرم منفی غیر تخمیری مشاهده گردید.

جدول ۱ میزان آلودگی دو گروه مسواک مورد پژوهش را با توجه به نوع باکتری بدون کاربرد محلول کلرهگزیدین ۰/۲

درصد و با کاربرد آن نشان می‌دهد. تعداد کلونی (CFU) کمتر از ۱۰۰۰۰ بیانگر آلودگی کم، بین ۱۰۰۰۰ تا ۳۰۰۰۰ بیانگر آلودگی متوسط و بیشتر از ۳۰۰۰۰ بیانگر آلودگی زیاد می‌باشد [۱۳].

• با استفاده از آزمون Wilcoxon تعداد کلونی قبل و بعد از استفاده از کلرهگزیدین مورد مقایسه قرار گرفت و مشخص گردید استفاده از کلرهگزیدین در کاهش آلودگی میکروبی مسواک‌ها مؤثر بوده است ($p \text{ value} = ۰/۰۰۹$).



نمودار ۱. میزان آلودگی دو گروه مسواک مورد پژوهش بدون کاربرد کلرهگزیدین ۰/۲ درصد و با کاربرد آن

جدول ۱. میزان آلودگی دو گروه مسواک مورد پژوهش با توجه به نوع باکتری بدون کاربرد محلول کلرهگزیدین ۰/۲ درصد و با کاربرد آن

نوع میکروب		بدون کاربرد کلرهگزیدین		با کاربرد کلرهگزیدین	
		درصد مسواک‌های آلوده	میزان آلودگی	درصد مسواک‌های آلوده	میزان آلودگی
استرپتوکوک ویریدانس		۴/۸	* زیاد	۰	—
استافیلوکوک کواگولاز منفی		۷/۱	متوسط	۰	—
باسیل گرم منفی غیر تخمیری		۴/۸	کم	۲/۴	کم
استرپتوکوک آلفا همولیتیک		۲/۴	زیاد	۰	—
استرپتوکوک غیر همولیتیک		۲/۳	زیاد	۰	—

* تعداد کلونی (CFU) کمتر از ۱۰۰۰۰ بیانگر آلودگی کم، بین ۱۰۰۰۰ تا ۳۰۰۰۰ بیانگر آلودگی متوسط و بیشتر از ۳۰۰۰۰ بیانگر آلودگی زیاد می‌باشد.

بحث

استفاده مکرر و طولانی مدت از یک مسواک ممکن است به آلودگی آن با انواع میکروارگانیسم‌هایی منجر گردد که قادرند در حفره دهان ایجاد کلونی نمایند [۱]. Efstratiou و همکاران [۱۴] نشان دادند که بلافاصله پس از مسواک زدن میزان زیادی از آلودگی میکروبی در مسواک مشاهده می‌شود. در پژوهش حاضر نیز در مرحله اول، ۲۱/۴ درصد از مسواک‌های مورد بررسی به انواع استافیلوکوک‌ها، استرپتوکوک‌ها و باسیل‌های گرم منفی آلوده بودند که این یافته‌ها هماهنگ با پژوهش‌های پیشین بود [۱۵، ۶-۳].

پژوهش‌های مختلف نشان داده‌اند که نحوه شستشو و نگهداری مسواک در میزان آلودگی آن نقش عمده‌ای دارد [۱۷، ۱۶]. در این پژوهش نیز سعی بر آن شد که شرایط مطلوب نگهداری و شستشو (نظیر شستشوی دقیق مسواک بعد از هر بار استفاده، قرار دادن سر مسواک در هوای آزاد و نگهداری آن در مکان مناسبی مانند آشپزخانه یا اتاق خواب و ...) توسط همه افراد مورد پژوهش کاملاً رعایت گردد. با این وجود باز هم آلودگی در ۲۱/۴ درصد مسواک‌ها در مرحله اول پژوهش کاملاً مشهود بود.

Suido و همکاران [۱۱] برای اولین بار از کلرهگزیدین به عنوان ماده‌ای جهت کاهش آلودگی مسواک استفاده کردند. آنها پیشنهاد نمودند که آغشته نمودن تارهای مسواک به کلرهگزیدین قبل از استفاده ممکن است نتایج مفیدی به همراه داشته باشد. در پژوهش حاضر نیز اثر محلول کلر هگزیدین ۰/۲ درصد بر آلودگی میکروبی مسواک‌ها مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید که بین میزان آلودگی مسواک‌ها در مرحله اول (۲۱/۴ درصد) و مرحله دوم (۲/۴ درصد) تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($p \text{ value} = 0.009$). در واقع یافته‌های این پژوهش نشان داد که نگهداری مسواک در محلول کلرهگزیدین ۰/۲ درصد در کاهش آلودگی مسواک‌ها مؤثر بوده، مانع رشد کلونی‌های میکروبی می‌شود. جالب توجه است حتی مسواک‌هایی که در مرحله اول (قبل از استفاده از کلر هگزیدین) آلودگی زیادی داشتند، در مرحله دوم (بعد از استفاده از کلرهگزیدین) هیچ آلودگی نشان ندادند. Nelson و همکاران [۱۲] نیز در این زمینه به نتایج مشابهی دست یافت. وی اعلام داشت که محلول کلرهگزیدین گلوکونات ۰/۱۲ درصد و هیپوکلریت سدیم ۰/۱

درصد هر دو در حذف آلودگی‌های میکروبی بسیار مؤثر می‌باشند. Yokosuka و همکاران [۱۵] بیان داشتند که اگرچه آغشته نمودن فیلامنت‌های مسواک به کلرهگزیدین راه مؤثری به نظر می‌رسد، اما خاصیت ضد باکتریایی فیلامنت‌های آغشته به کلرهگزیدین برای مدت زیادی پایدار نمی‌باشد. نشان داده شده است که این اثر برای سر مسواک حداکثر ۸ روز و برای دسته مسواک حداکثر ۲۰ روز دوام دارد [۱۵، ۱۱]. استفاده از کلرهگزیدین در مسواک‌های Interdental نیز نتایج مفیدی در کاهش تعداد باکتری‌ها پس از یک تا دو هفته استفاده نشان داده است [۱۱].

اگرچه امروزه پیشگیری مقدم بر درمان می‌باشد و لیکن کمتر کسی به آلودگی مسواک‌ها توجه دارد و متأسفانه در سیستم آموزش بهداشت دهان و دندان نیز تنها به چگونه مسواک زدن و نخ دندان کشیدن توجه می‌شود؛ در حالی که استفاده از مسواک آلوده ممکن است یکی از راه‌های انتقال بیماری‌های دهان و دندان بوده [۶]، خطری جدی نیز برای سلامت فرد به خصوص افراد دارای درصد خطر زیاد مانند بیماران قلبی و ... باشد. بنابراین پیشنهاد می‌شود در کنار سایر روش‌های بهداشتی، نحوه نگهداری و تمیز نمودن مسواک نیز مورد توجه ویژه قرار گیرد و در این مورد توجه لازم مبذول گردد. در ضمن توصیه می‌گردد تا در پژوهش‌های آتی تأثیر و مقایسه دیگر وسایل و مواد ضد عفونی کننده که به راحتی در دسترس مردم می‌باشد، مانند هیپوکلریت سدیم، مایکروویو و ... مورد بررسی قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

با توجه به محدودیت‌های این پژوهش می‌توان ادعا نمود که استفاده از محلول کلرهگزیدین در کاهش آلودگی میکروبی مسواک‌ها مؤثر بوده، در مقایسه با شستشوی صرف مسواک راه مناسب‌تری برای حذف آلودگی می‌باشد. این ماده به راحتی در دسترس عموم قرار داشته، می‌توان از آن در مصارف خارج دهانی نیز بهره جست.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان که هزینه‌های این طرح به شماره ۸۲۱۱۶ را تقبل کردند تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Wetzel WE, Schaumburg C, Ansari F, Kroeger T, Sziegoleit A. Microbial contamination of toothbrushes with different principles of filament anchoring. *J Am Dent Assoc* 2005; 136(6): 758-65.
2. Netuschil L, Michou AM, Rieth P. Bristles of natural and synthetic nature and their deposits: comparative bacteriological investigations [in German]. *Kariesprophylaxe* 1981; 3: 25-30.
3. Svanberg M. Contamination of toothpaste and toothbrush by *Streptococcus mutans*. *Scand J Dent Res* 1978; 86(5): 412-4.
4. Dayoub MB, Rusilko D, Gross A. Microbial contamination of toothbrushes. *J Dent Res* 1977; 56(6):706.
5. Glass RT, Jensen HG. More on the contaminated toothbrush: the viral story. *Quintessence Int* 1988; 19(10): 713-6.
6. Glass RT. The infected toothbrush, the infected denture, and transmission of disease: a review. *Compendium* 1992; 13(7): 592-8.
7. Glass RT, Lare MM. Toothbrush contamination: a potential health risk? *Quintessence Int* 1986; 17(1): 39-42.
8. Dayoub MB, Rusilko D, Gross A. Microbial contamination of toothbrushes. *J Dent Res* 1977; 56(6): 706.
9. Zorko M, Jerala R. Alexidine and chlorhexidine bind to lipopolysaccharide and lipoteichoic acid and prevent cell activation by antibiotics. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62(4): 730-7.
10. Aysegul O, Elgin IE, Gulcin A, Nedim S. The efficacy of chlorhexidine spray vs mouthwash in the microbial contamination of child toothbrushes. *J Dent Child (Chic)* 2007; 74(3): 177-81.
11. Suido H, Offenbacher S, Arnold RR. A clinical study of bacterial contamination of chlorhexidine-coated filaments of an interdental brush. *J Clin Dent* 1998; 9(4): 105-9.
12. Nelson FP, Macari S, Faria G, Assed S, Ito IY. Microbial contamination of toothbrushes and their decontamination. *Pediatr Dent* 2000; 22(5): 381-4.
13. Nourbakhsh N, Talebi A, Heidari A. Study of bacterial contamination of toothbrushes and its related factors. *Journal of dental Shahid Beheshti University of Medical Sciences* 2004; 23(2): 342-54.
14. Efstratiou M, Papaioannou W, Nakou M, Ktenas E, Vrotsos IA, Panis V. Contamination of a toothbrush with antibacterial properties by oral microorganisms. *J Dent* 2007; 35(4): 331-7.
15. Yokosuka N, Tanaka T, Ebisudani K, Iwai T. Studies on bacterial contamination of chlorhexidine coated filaments of the toothbrush. *Nippon Shishubyo Gakkai Kaishi* 1989; 31(3): 960-9.
16. Kozai K, Iwai T, Miura K. Residual contamination of toothbrushes by microorganisms. *ASDC J Dent Child* 1989; 56(3): 201-4.
17. Quirynen M, De Soete M, Pauwels M, Gizani S, Van Meerbeek B, Van Steenberghe D. Can toothpaste or a toothbrush with antibacterial tufts prevent toothbrush contamination? *J Periodontol* 2003; 74(3): 312-22.