



Analisis Kontaminasi Mikroba Pada Sikat Gigi Bertutup Dan Tidak Bertutup

Titi Lasmini

Akademi Kesehatan John Paul II Pekanbaru, Indonesia
*e-mail korespondensi: lasmini.titi@gmail.com

Abstract. *The aims of this study were to compare the colony count and to identify the microorganisms contaminating covered and uncovered toothbrushes. Twenty toothbrushes were distributed among university students divided into two groups according to covered and uncovered toothbrushes then collected after 5 weeks of use. Microbial enumeration (CFU/mL) was done with pour plate methods and identification of microorganisms isolated from the samples was done by macroscopic, microscopic and biochemical reaction test. Dependent T-test showed that there was statistically significant difference ($P < 0.05$) on the colony count of both toothbrushes between before and after 5 weeks of use. Independent T-test showed that the mean difference of colony count between covered and uncovered toothbrushes was not statistically significant ($P > 0.05$). Isolation and identification of the bacterial isolates revealed that covered and uncovered toothbrushes were both contaminated by *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulase negative (CoNS)*, *Klebsiella sp.*, *E. coli*, *Enterobacter sp.*, *Serratia marcescens* and *Pseudomonas sp.* Fungi contamination also found on both toothbrushes identified as *Candida sp.*, *Trichosporon sp.*, *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Fusarium sp.* and black mold. It can be concluded that there was no statistically significant difference on the colony count between covered and uncovered toothbrushes and contamination by bacteria and fungi were found on both toothbrushes.*

Keyword: *Oral health; Toothbrushes; Microorganisms*

Abstrak. Tujuan penelitian ini adalah untuk membandingkan jumlah koloni dan untuk mengidentifikasi mikroorganisme pengkontaminasi sikat gigi bertutup dan tidak bertutup. Dua puluh sikat gigi didistribusikan kepada mahasiswa yang dibagi kedalam dua kelompok berdasarkan kelompok sikat gigi bertutup dan tidak bertutup kemudian sikat gigi dikumpulkan setelah pemakaian 5 minggu. Enumerasi mikroba (CFU/mL) dilakukan dengan metode cawan tuang dan identifikasi mikroorganisme yang berhasil diisolasi dari sampel dilakukan secara makroskopis, mikroskopis, dan uji reaksi biokimia. *Dependent T-test* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah koloni yang signifikan secara statistik ($P < 0,05$) pada kedua sikat gigi anara sebelum dan sesudah digunakan selama 5 minggu. Uji *Independent T-test* menunjukkan bahwa perbedaan rerata jumlah koloni antara sikat gigi bertutup dan tidak bertutup tidak berbeda signifikan secara statistic ($P > 0,05$). Isolasi dan identifikasi isolat bakteri menunjukkan bahwa sikat gigi bertutup dan tidak bertutup keduanya terkontaminasi oleh bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulase negative (CoNS)*, *Klebsiella sp.*, *E. coli*, *Enterobacter sp.*, *Serratia marcescens* and *Pseudomonas sp.* Kontaminasi fungi juga ditemukan pada kedua jenis sikat gigi yang diidentifikasi sebagai *Candida sp.*, *Trichosporon sp.*, *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Fusarium sp.* dan *black mold*. Berdasarkan hasil temuan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan secara statistic antara rerata jumlah koloni



mikroba sikat gigi bertutup dan tidak bertutup, dan kontaminasi oleh bakteri dan jamur juga ditemukan pada kedua jenis sikat gigi.

Kata kunci: Kesehatan Mulut; Sikat Gigi; Mikroorganisme

PENDAHULUAN

Sikat gigi merupakan alat atau instrument konvensional yang paling umum digunakan untuk menjaga kesehatan rongga mulut dan gigi [1]. Menyikat gigi merupakan praktik *oral hygiene* yang paling utama dilakukan oleh masyarakat di dunia [2]. Tujuan menyikat gigi adalah untuk menghilangkan plak gigi yang dapat menyebabkan berbagai penyakit mulut dan gigi seperti gigi berlubang, periodontitis dan halitosis [3]. Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) pada tahun 2018 menyatakan bahwa 57,6% penduduk Indonesia mengalami masalah gigi dan mulut. Masalah gigi yang paling banyak diderita adalah gigi rusak/berlubang/sakit, sedangkan masalah kesehatan mulut yang paling banyak diderita adalah gusi bengkak dan atau keluar abses (bisul). Proporsi kasus karies gigi ditemukan pada 88,8% penderita masalah gigi, dan proporsi periodontitis ditemukan pada 74,1% orang yang mengalami masalah kesehatan mulut [4]. Timbulnya berbagai masalah kesehatan gigi dan mulut ini dapat disebabkan oleh praktik *oral hygiene* yang tidak benar.

Praktik *oral hygiene* yang baik dan benar menurut *Federation Dentaire Internationale* (FDI) sebaiknya dilakukan 2 kali dalam sehari yaitu pada pagi hari setelah sarapan dan malam hari sebelum tidur (FDA dan riskesdas 2018). *American Dental Association* (ADA) merekomendasikan agar selalu mengganti sikat gigi setiap 3-4 bulan sekali atau jika bulu sikat telah rusak sebelum 3 bulan agar sikat gigi tetap efektif untuk menghilangkan biofilm plak gigi [5]. Sikat gigi yang masih baru bukanlah habitat yang sesuai untuk pertumbuhan mikroorganisme seperti bakteri dan jamur, namun pada beberapa kasus sikat gigi yang masih baru telah terkontaminasi oleh mikroba dalam jumlah kecil. Hal tersebut disebabkan belum adanya regulasi yang mengatur bahwa sikat gigi baru harus dibungkus dalam wadah steril [6]. Kontaminasi pada sikat gigi mulai terjadi sejak pertama kali sikat gigi digunakan dan semakin meningkat seiring dengan penggunaannya yang berulang [1].

Sikat gigi dapat terkontaminasi oleh mikroorganisme dari rongga mulut, aerosol dari toilet, tangan, atau tempat penyimpanan [7]. Sumber kontaminasi pada sikat gigi juga dapat berasal dari kontak langsung antar sikat gigi yang digunakan oleh anggota keluarga, atau dari wadah penyimpanan sikat gigi yang biasanya lembab yang diletakkan di atas wastafel atau berada dalam kabinet di kamar mandi [2]. Sikat gigi dapat dengan cepat terkontaminasi oleh mikroorganisme rongga mulut termasuk bakteri, virus, dan jamur. Beberapa mikroorganisme rongga mulut yang dapat ditemukan pada sikat gigi diantaranya bakteri pathogen gigi seperti *Streptococcus mutans* dan jamur pathogen seperti *Candida albicans*. Meskipun merupakan transient flora pada rongga mulut, *Staphylococcus* juga sering ditemukan pada rongga mulut [8]. Lingkungan kamar mandi juga merupakan habitat yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme. Sikat gigi yang disimpan di kamar mandi dapat terkontaminasi oleh *S. mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, dan *C. albicans* [9].

Bakteri yang menempel, terakumulasi, dan bertahan hidup di sikat gigi dapat menyebabkan re-infeksi, atau ditransmisikan antar individu dan menjadi faktor resiko terjadinya penyakit periodontal [7]. Oleh sebab itu, perlu dilakukan penelitian tentang derajat kontaminasi sikat gigi oleh berbagai mikroorganisme yang dapat berpotensi mempengaruhi kesehatan mulut secara keseluruhan.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan antara lain alat gelas (Pyrex), *glass rod spreader* Pipet Mikro 100-1000 μL (Eppendorf), vortex, Inkubator (Memmert), Oven (Memmert), Otoklaf (GEA), Mikroskop (Olympus CX-23), selotip, Jarum Ose, Bunsen.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu 10 sikat gigi tertutup dan 10 sikat gigi tidak tertutup, Media *Nutrient Agar* (Oxoid), *Mannitol Salt Agar* (Oxoid), *McConkey Agar* (Oxoid), *Sabouroud Dextrose Agar* (Oxoid), *Triple Sugar Iron Agar* (Hi-Media), *Sulfur Indole Motility* (Oxoid), *Simmon Citrate* (Oxoid), *Buffered Peptone Water* (Oxoid), Indikator *Bromothymol Blue* (Merck), *Methylene blue* (Merck), Reagen Kovac's (Merck), Reagen H_2O_2 10% (Merck), Reagen Pewarnaan Gram, Glukosa, Sukrosa, Laktosa, Maltosa, Mannitol, Larutan garam fisiologis 0,9%, Alkohol 70%, Spiritus, Serum.

Enumerasi mikroba

Sikat gigi dipotong pada bagian kepala sikat menggunakan gunting yang telah dipanaskan. Kepala sikat gigi dimasukkan kedalam Erlenmeyer yang berisi 10 mL larutan garam fisiologis 0,9% lalu dibiarkan terendam selama 20 menit, lalu divortex selama 1 menit agar mikroba terlepas dan tersuspensi dalam larutan (pengenceran 10^{-1}). Prosedur pengenceran dilakukan hingga diperoleh pengenceran sampel 10^{-7} . Sampel dari masing-masing tabung pengenceran diambil sebanyak 0,1 mL kemudian dimasukkan kedalam cawan petri steril (duplo), kemudian media *Nutrient Agar* (NA) cair dengan suhu $\pm 45^\circ\text{C}$ dituang ke masing-masing cawan petri sebanyak 25-30 mL. Cawan petri digoyang memutar sehingga sampel uji dan medium tercampur merata kemudian dibiarkan hingga membeku, lalu diinkubasi secara aerobik pada suhu 37°C selama 2×24 jam dengan posisi cawan petri terbalik [8]. Koloni yang tumbuh dihitung menggunakan alat *colony counter* dan jumlah mikroba dinyatakan dalam *colony forming unit* per mili sampel (CFU/ml). Perbandingan jumlah koloni mikroba pada kedua jenis sikat gigi kemudian dianalisis dengan uji *Dependent T-Test* dan *Independent T-Test* menggunakan software SPSS versi 22.

Isolasi dan Identifikasi Bakteri dan jamur

Sampel air rendaman sikat gigi diambil dengan mikropipet sebanyak 100 μL dan dituang ke atas masing-masing media *Mannitol Salt Agar*, *MacConkey Agar*, *Sabouroud Dextrose Agar* (SDA) kemudian disebar merata menggunakan *glass rod spreader*. Seluruh cawan petri isolasi bakteri diinkubasi pada suhu 37°C selama 2×24 jam sedangkan kultur jamur diinkubasi pada suhu 25°C selama 5×24 jam. Koloni bakteri dan jamur yang tumbuh dan memiliki ciri yang berbeda dipurifikasi, selanjutnya dilakukan karakterisasi dan identifikasi. Karakterisasi dan identifikasi bakteri dilakukan secara makroskopis dengan mengamati bentuk, warna, tepian,

elevasi, dan konsistensi koloni. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan Gram, kemudian dilanjutkan dengan uji reaksi biokimia yang meliputi uji katalase, koagulase, fermentasi gula pada TSI agar, produksi sulfur, produksi indol, motilitas, penggunaan Citrate, dan fermentasi karbohidrat.

Karakterisasi dan identifikasi *yeast* dilakukan secara makroskopis melalui pengamatan koloni, mikroskopis dengan pewarnaan sederhana *methylene blue* dan uji *germ tube*, sedangkan kapang diidentifikasi secara mikroskopis dengan metode *tape touch*. Selotip ditempelkan pada permukaan koloni kapang, kemudian direkatkan pada gelas objek bebas lemak yang telah ditetesi *methylene blue*. Preparat diamati dengan mikroskop pada perbesaran 400×.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Enumerasi mikroba

Jumlah koloni mikroba dihitung pada sikat gigi sebelum dan sesudah digunakan selama 5 minggu. Untuk mengevaluasi ada tidaknya kontaminasi pada sikat gigi yang masih baru atau terjadinya kontaminasi selama pembilasan sikat gigi, 10 buah sikat gigi bertutup dan 10 sikat gigi tidak bertutup yang masih baru langsung diproses tanpa penundaan setelah dibuka dari bungkusnya. Hasil enumerasi mikroba menunjukkan bahwa pada sikat gigi yang masih baru ditemukan koloni mikroba dengan rata-rata 160 CFU/ml pada sikat gigi bertutup dan 130 CFU/ml pada sikat gigi tidak bertutup. Jumlah koloni mikroba yang ditemukan pada kedua jenis sikat gigi yang telah digunakan setelah 5 minggu meningkat sebanyak 1299340 CFU/ml pada sikat gigi bertutup dan 864570 CFU/ml pada sikat gigi tidak bertutup. Peningkatan jumlah koloni mikroba tampak lebih tinggi pada sikat gigi bertutup. Hal tersebut terjadi karena tutup pada sikat gigi menyebabkan kepala sikat gigi menjadi lembab dalam waktu lama dan sulit mengering. Kondisi basah dan lembab memberikan lingkungan yang mendukung pelekatan dan viabilitas mikroorganisme pada bulu sikat gigi [1].

Perbandingan jumlah koloni total antara sebelum dan sesudah sikat gigi digunakan dianalisis secara statistik dengan uji t-berpasangan (*dependent sample T-test*). Hasil perbandingan rerata jumlah koloni disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisa uji *dependent sample t-test*

Sikat Gigi	Perlakuan	Mean difference	Sig.(2-tailed)	Lower	Upper
Bertutup	Sebelum	1299340.00	0.003	2021383.756	577296.244
	Sesudah				
Tidak Bertutup	Sebelum	864570.00	0.000	1228169.016	500970.984
	Sesudah				

Pengujian perbandingan jumlah koloni dengan uji *dependent sample t-test* pada sikat gigi bertutup sebelum dan sesudah digunakan diperoleh nilai signifikan (P) 0,003, sedangkan pada sikat gigi tidak bertutup diperoleh nilai signifikan (P) 0,000 (Tabel 4.3). Hasil uji statistik pada kedua jenis sikat gigi antara sebelum dan sesudah digunakan diperoleh nilai $P < 0,05$ sehingga dinyatakan bahwa terdapat

perbedaan rerata jumlah koloni total yang bermakna antara sebelum dan sesudah sikat gigi digunakan selama 5 minggu baik pada sikat gigi bertutup maupun tidak bertutup. Perbandingan rerata jumlah koloni total antara kedua sikat gigi setelah digunakan selama 5 minggu dianalisa dengan uji t-tidak berpasangan (*independent sample t-test*) (Tabel 2).

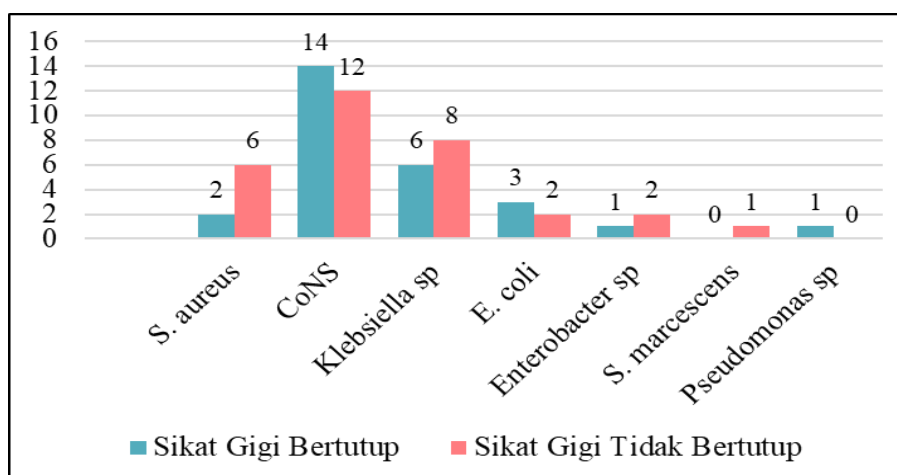
Tabel 2. Hasil analisa uji *independent sample t-test*

	Levene's Test		t-test for Equality of Means		
	Sig	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
				Lower	Upper
Equal variances assumed	0.038	0.239	434770.000	316034.812	1185574.812

Hasil uji *Levene's Test for Equality of Variances* terhadap jumlah koloni mikroba total antara sikat gigi bertutup dan tidak bertutup didapatkan nilai sig (P) 0,038, maka varian data dinyatakan berbeda. Hasil uji *independent sample t-test* untuk varian berbeda (*Equal variances assumed*) diperoleh nilai Sig=0,239 (P>0,05) sehingga dinyatakan bahwa secara statistik tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara rerata jumlah koloni mikroba sikat gigi bertutup dan tidak bertutup setelah digunakan 5 minggu.

Isolasi dan Identifikasi Bakteri dan Jamur

Hasil isolasi bakteri pada media agar ditemukan adanya pertumbuhan bakteri gram positif pada media *Mannitol Salt Agar* dan bakteri Gram negatif pada media *MacConkey agar*. Jumlah isolat dan hasil identifikasi bakteri dapat dilihat pada gambar 1.



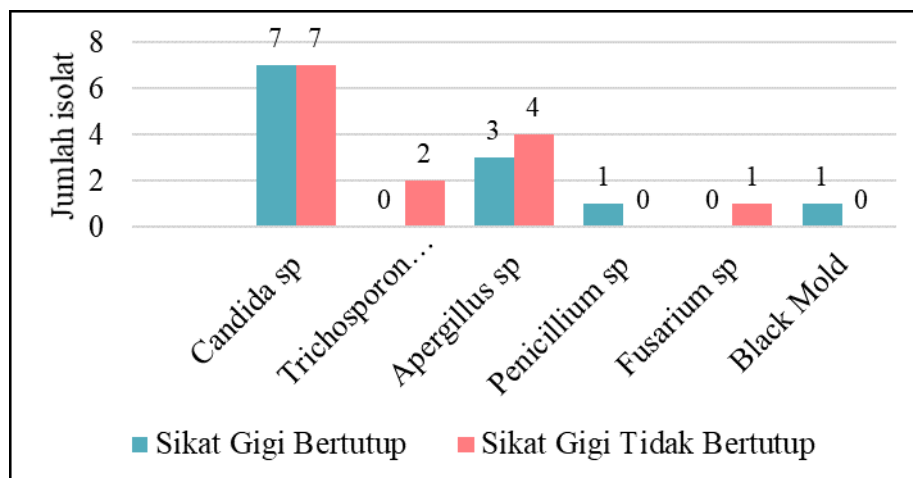
Gambar 1. Isolasi bakteri yang ditemukan pada sikat gigi bertutup dan tidak bertutup

Hasil isolasi bakteri dari sikat gigi bertutup dan tidak bertutup yang telah digunakan selama 5 minggu menunjukkan bahwa kontaminasi bakteri ditemukan

pada seluruh sikat gigi yang diperiksa (100%). Isolat bakteri yang diperoleh dari sikat gigi tidak bertutup berjumlah lebih banyak yaitu 31 isolat, sedangkan dari sikat gigi bertutup diperoleh 27 isolat. Bakteri yang paling banyak ditemukan pada sikat gigi tidak bertutup adalah *Coagulase Negative Staphylococcus/CoNS* (n=14; 51,86%), diikuti oleh *Klebsiella sp* (n=8; 25,81%), *Staphylococcus aureus* (n=6; 19,35%), *Escherichia coli* (n=2; 6,45%), *Enterobacter sp* (n=2; 6,45%) dan *Serratia marcescens* (n=1; 3,23%). Pada sikat gigi bertutup juga diperoleh bakteri *Coagulase Negative Staphylococcus/CoNS* (n=14; 51,86%) sebagai isolat bakteri yang paling banyak diperoleh, diikuti oleh *Klebsiella sp* (n=6; 22,22%), *E. coli* (n=3; 11,11%), *S. aureus* (n=2; 7,41%), *Enterobacter sp* (n=1; 3,70%) dan *Pseudomonas sp* (n=1; 3,70%).

Hasil temuan dalam penelitian ini menyatakan bahwa kontaminasi oleh bakteri *Enterobacteriaceae* yaitu *Klebsiella sp*, *E. coli*, *Enterobacter sp*, dan *S. marcescens* pada sikat gigi tidak bertutup lebih tinggi dari pada sikat gigi bertutup. Hal tersebut dapat terjadi karena pada sikat gigi yang tidak bertutup, tidak terdapat pelindung bulu sikat sehingga lebih mudah untuk terkontaminasi oleh bakteri. Proses penyiraman toilet menghasilkan bioaerosol yang dapat menyebar dan melekat pada berbagai permukaan benda yang ada di kamar mandi termasuk sikat gigi, sehingga memungkinkan terjadinya kontaminasi bakteri enterik pada sikat gigi [1]. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang juga menemukan bakteri *Enterobacteriaceae* yaitu *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, dan *Serratia spp.* [3] dan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* dan *Candida* pada sikat gigi yang disimpan di kamar mandi [10].

Berbagai mikroorganisme yang ditemukan pada penelitian ini dapat bersifat pathogen dan menyebabkan berbagai penyakit yang berbeda. Meskipun *S. aureus* merupakan flora normal rongga mulut tetapi dapat menimbulkan penyakit pada rongga mulut atau menyebabkan infeksi oportunistik pada individu yang kesehatannya terganggu [3]. Bakteri *Coagulase Negative Staphylococcus* (CoNS) juga merupakan bakteri yang sering ditemukan pada kulit dan membran mukosa. Meskipun merupakan flora normal tetapi CoNS juga dapat bersifat oportunistik dan menyebabkan infeksi nosokomial [11]. *Klebsiella* dan *E. coli* merupakan bakteri penyebab diare dan septikemia, *Pseudomonas* menyebabkan otitis supuratif dan infeksi saluran kemih [9].



Gambar 2. Isolat Jamur yang ditemukan pada sikat gigi bertutup dan tidak bertutup

Isolasi jamur pada media SDA menunjukkan bahwa kontaminasi jamur ditemukan pada semua sikat gigi yang diperiksa. Jamur yang paling sering ditemukan pada kedua jenis sikat gigi adalah *Candida sp*, diikuti dengan *Aspergillus sp*. Jamur *Candida* merupakan flora normal pada rongga mulut sehingga dapat dikatakan wajar ditemukan pada sikat gigi. *Candida* merupakan jamur yang paling sering menyebabkan infeksi pada pasien dengan gangguan sistem imun dan berperan dalam periodontitis dan karies [12]. Kontaminasi oleh jamur *Aspergillus*, *Penicillium* dan *Fussarium* pada sikat gigi kemungkinan dipengaruhi oleh faktor tempat penyimpanan sikat gigi yaitu di kamar mandi. Kamar mandi pada umumnya basah dan lembab sehingga menjadi lingkungan yang baik untuk mendukung pertumbuhan jamur. Jamur *Aspergillus*, *Penicillium* dan *Fussarium* merupakan jamur kontaminan dan memiliki konidia yang mudah menyebar di udara sehingga konidia jamur dapat berpindah tempat dengan mudah dan melekat di berbagai tempat.

Faktor pendukung kelangsungan hidup dan poliferasi jamur yaitu sikat gigi yang masih basah diletakkan ditempat yang tertutup dan kurangnya menjaga kebersihan pada sikat gigi. Kamar mandi bukanlah tempat terbaik untuk menyimpan sikat gigi. Tutup kepala sikat tidak boleh digunakan karena membuat kepala sikat gigi menjadi hangat dan lembab, sehingga sangat mendukung pertumbuhan mikroorganisme terutama jamur. Sikat gigi harus dijaga kebersihannya dan disimpan ditempat yang cepat kering tanpa bersentuhan dengan sikat gigi yang lain [13].

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa jumlah rerata koloni total (cfu/ml) pada sikat gigi bertutup lebih tinggi dari pada sikat gigi tidak bertutup, namun perbedaannya tidak signifikan secara statistik ($P>0,05$). Jumlah isolat bakteri yang ditemukan pada sikat gigi tidak bertutup lebih banyak dibanding sikat gigi bertutup, dengan bakteri paling sering dijumpai pada kedua jenis sikat gigi yaitu *Coagulase Negative Staphylococcus (CoNS)*. Isolat Jamur juga ditemukan pada kedua jenis sikat gigi dengan jamur paling sering dijumpai yaitu jamur *Candida sp*. Bakteri dan jamur pada sikat gigi dapat ditransmisikan dan meningkatkan resiko infeksi sehingga penyimpanan dan pemeliharaan hygiene sikat gigi perlu diperhatikan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih peneliti sampaikan kepada Yayasan John Paul II Pekanbaru yang telah memberi dukungan dalam bentuk bantuan dana penelitian dan memfasilitasi kebutuhan dalam penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

- [1] R. L. Merino-Alado *et al.*, "Isolation of fungi and gram negative bacteria from toothbrushes and bathroom bioaerosols," *Pesqui. Bras. Odontopediatria Clin. Integr.*, vol. 18, no. 1, pp. 1-10, 2018, doi: 10.4034/PBOCI.2018.181.43.
- [2] C. A. Ferreira, G. D. Savi, A. P. Panatto, J. da S. Generoso, and T. Barichello, "Microbiological evaluation of bristles of frequently used toothbrushes," *Dental Press J. Orthod.*, vol. 17, no. 4, pp. 72-76, 2012, doi: 10.1590/s2176-



- 94512012000400016.
- [3] S. Peševska *et al.*, "Bacterial contamination of the toothbrushes," *J. Int. Dent. Med. Res.*, vol. 9, no. 1, pp. 6–12, 2016.
 - [4] Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, "Laporan_Nasional_RKD2018_FINAL.pdf," *Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*. p. 198, 2018, [Online]. Available: http://labdata.litbang.kemkes.go.id/images/download/laporan/RKD/2018/Laporan_Nasional_RKD2018_FINAL.pdf.
 - [5] ADA, "Toothbrushes," 2019. <https://www.ada.org/en/member-center/oral-health-topics/toothbrushes#>.
 - [6] O. Bello, A. Osho, S. Bankole, and T. Bello, "Antibiotic Susceptibility Profiles and Bacteriological Risks Associated With Used Toothbrushes: A Case Study of Some Apparently Healthy University Students in Southwestern Nigeria," *Am. Int. J. Biol.*, vol. 1, no. 1, pp. 1–12, 2013.
 - [7] O. Samuel and O. Ifeanyi, "Bacterial Contamination of Used Manual Toothbrushes Obtained from Some Students of Nnamdi Azikiwe University Awka, Nigeria," *Univers. J. Microbiol. Res.*, vol. 3, no. 4, pp. 56–59, 2015, doi: 10.13189/ujmr.2015.030404.
 - [8] R. L. Sammons, D. Kaur, and P. Neal, "Bacterial survival and biofilm formation on conventional and antibacterial toothbrushes," *Biofilms*, vol. 1, no. 2, pp. 123–130, 2004, doi: 10.1017/s1479050504001334.
 - [9] G. N. Karibasappa, L. Nagesh, and B. K. Sujatha, "Assessment of microbial contamination of toothbrush head: An in vitro study," *Indian J. Dent. Res.*, vol. 22, no. 1, pp. 2–5, 2011, doi: 10.4103/0970-9290.79965.
 - [10] J. Rao Sukhabogii *et al.*, "Microbial contamination of tooth brushes stored in different settings before and after disinfection with chlorhexidine—a comparative study," *J. Young Pharm.*, vol. 7, no. 4, pp. 486–492, 2015, doi: 10.5530/jyp.2015.4s.11.
 - [11] K. Becker, C. Heilmann, and G. Peters, "Coagulase-negative staphylococci," *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 27, no. 4, pp. 870–926, 2014, doi: 10.1128/CMR.00109-13.
 - [12] A. J. Kurnatowska, "Activity of hydrolytic enzymes of *Candida albicans* strains isolated from patients with periodontal and membrane mucosae of oral cavity diseases," *Mycopathologia*, vol. 141, no. 2, pp. 105–109, 1998, doi: 10.1023/A:1006943423595.
 - [13] M. Mobin, C. D. M. Borba, C. A. M. Filho, F. I. Tapety, I. D. M. S. Noleto, and J. B. M. Teles, "Analysis of fungal contamination and disinfection of toothbrushes," *Acta Odontol. Latinoam.*, vol. 24, no. 1, pp. 86–91, 2011.