

## 令和6年度看護研究Ⅱ

# 浸漬洗浄液による使用済み歯ブラシの 細菌汚染の比較検討

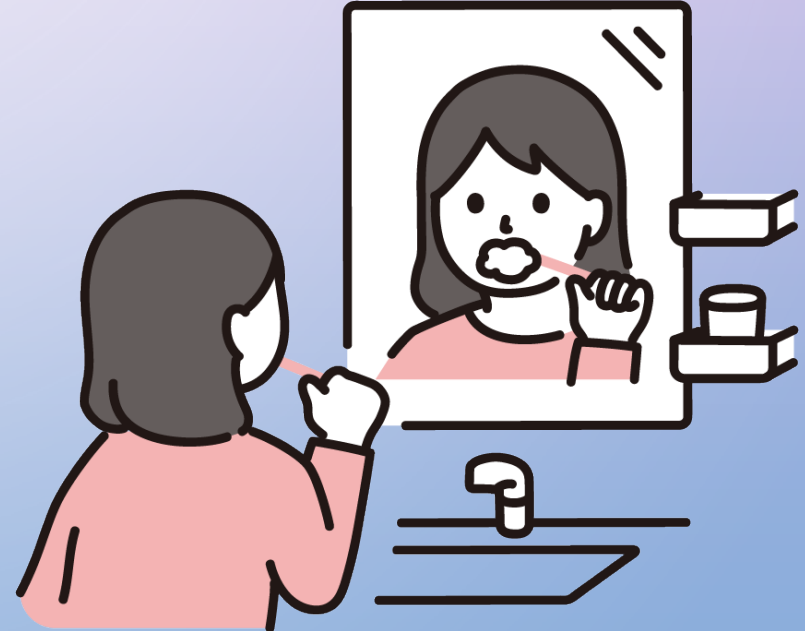
— 実用可能性の視点から —



はじめに

# 口腔ケアの重要性

- 我々は日常的に歯磨きを行い、口腔内の清潔を保っている。
- 口腔内の清潔を保つことは、  
歯科疾患の予防や全身の  
健康の維持・増進のために重要。



# 実習での体験

- 放射線治療を行っている患者。
- 口腔内の感染が起こりやすい。
- 口腔内保湿を1日中同様のスポンジブラシを用いて3回実施。
- 清潔とは言えない洗浄管理方法。
  - ➡ 患者は**易感染状態**であるため、スポンジブラシを**清潔に保つ**ことが重要と考えた。

# 口腔内環境について

- 易感染宿主では口腔常在菌が感染症を引き起こすことが明らかになっている<sup>1)</sup>。
- 日常的な口腔清掃の励行は、口腔の健康の保持・増進につながる<sup>2)</sup>。



# 口腔清掃用具の使用状況

- 口腔清掃用具は様々ある。
- 歯間ブラシやスポンジブラシは使い捨て。
- 舌ブラシは使用している人が少ない。
- **歯ブラシ**は広く使用されているものである。



**歯ブラシ**を対象



# 歯ブラシを対象としたこれまでの研究

- 先行研究ではう蝕の原因菌である *S.mutans* を指標として用いており<sup>3)</sup>、人が実際に使った歯ブラシを対象にしたものではない。
- **使用済み歯ブラシ**で同様の効果が得られるかは不明。



**使用済み歯ブラシ**による研究

# 口腔清掃用具の汚染と洗淨

- 汚染された歯ブラシは**菌血症**を引き起こしうる<sup>3)</sup>。
- 残存菌を水洗後に減少させることは難しい<sup>2)</sup>。  
→水洗の段階での除菌が重要
- 衛生的に保管する有効な手段は、歯ブラシ乾燥器による乾燥、温水・含嗽剤・食酢浸漬<sup>3)</sup>。



**浸漬による洗淨**を行う



# 浸漬液

- 含嗽剤（イソジン、パブロン、ライオール）や食酢は著しく生菌を減少させた<sup>3)</sup>。
- 患者が自宅で行いやすいように含嗽液は**認知度の高い**ものを選出。



含嗽液（イソジン<sup>®</sup>、リステリン<sup>®</sup>、モンダミン）・食酢・湯（80℃）・水を浸漬液とした。

# 研究目的

浸漬液による使用済み歯ブラシの  
残留細菌汚染と実用性を検討し、  
歯ブラシの効果的な洗浄方法を  
明らかにすること

# 方法

# 調査日と被験者

## 1. 調査日

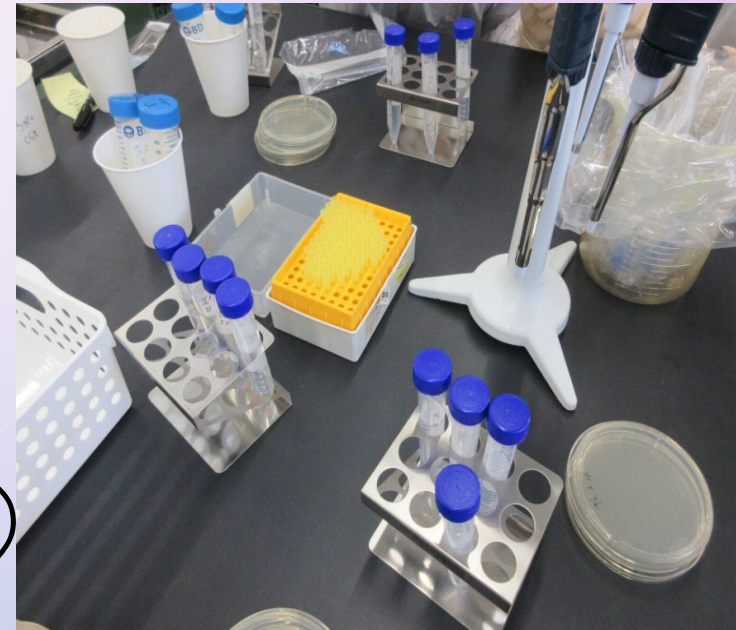
- 予備実験：2024年7月31日、2024年9月24日
- 本実験：2024年9月26日～2024年10月2日

## 2. 被験者

- 名古屋市立大学看護学部  
感染予防看護学ゼミ 4年生7名

# 使用物品1

- ディスポーザブル白衣
- ディスポーザブル手袋
- ディスポーザブルマスク
- 普通寒天培地 (パールコア<sup>®</sup>、栄研)
- 200 $\mu$ L分注器 (PIPETMAN<sup>®</sup>、GILSON)
- 200 $\mu$ Lチップ (理科研)
- 1,000 $\mu$ L分注器 (PIPETMAN<sup>®</sup>、GILSON)



# 使用物品2

- 1,000 $\mu$ Lチップ (理科研)
- 滅菌蒸留水
- 50mLポリプロピレン コニカル・チューブ (FALCON<sup>®</sup>)
- 15mL クラリファインドポリプロピレン コニカルチューブ (FALCON<sup>®</sup>)
- 歯科用歯ブラシふつう (ストリックスデザイン)
- イソジンうがい薬<sup>®</sup> 50mL  
(シオノギヘルスケア株式会社)

# 使用物品3

- リステリン®トータルケアプラス 1000mL  
(ジョンソン・エンド・ジョンソン)
- モンダミン ペパーミント 1080mL (アース製薬)
- 食酢(穀物酢、ミツカン)
- 水道水
- WATER BATH SHAKER(TAITEC)
- 紙コップ





# 使用物品4

- デジタル温度計 (株式会社エー・アンド・デイ)
- 室温計 (TANITA)
- ディスポコンラージ棒 (アズノール)
- 薬品用冷蔵庫 (日本フリーザバイオマルチクーラー)
- 孵卵器 (EYELA)

# 使用物品5

- VORTEX-GENIE2® (SCIENTIFICINDUSTRIES)
- MULTI TIMER (SATO)
- HI-POWER MAGNATIC STIRRER
- オートクレーブ (LSX-300、TOMY)
- 1,000mL ビーカー
- 500mLメスシリンダー

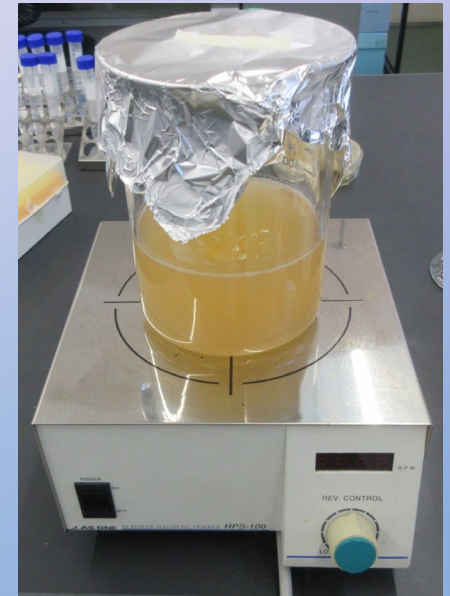
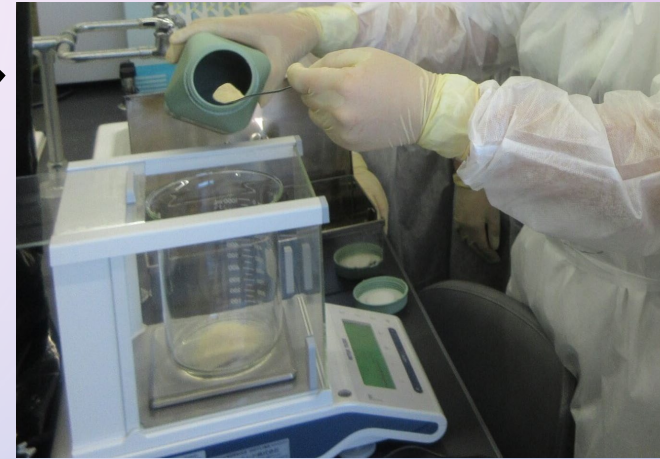




# 実験の準備

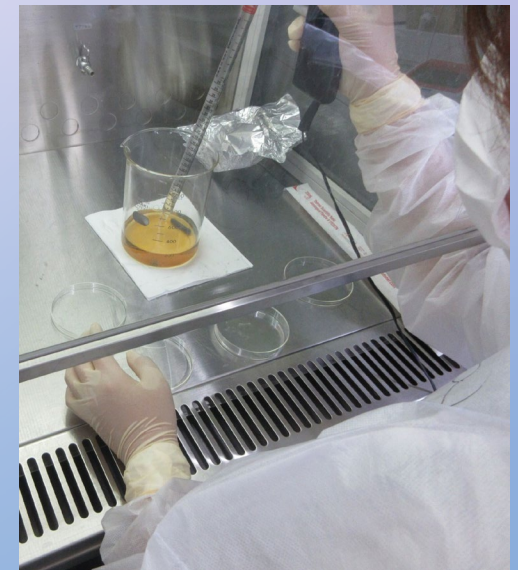
# 培地の作成1

- ①ビーカー(1,000mL)と天秤を用いて、普通寒天培地を14.0g秤量した。
- ②メスシリンダーで計量した400mLの蒸留水をビーカーに入れ、マグネチックスターラーを投入した。
- ③アルミホイルでビーカーに蓋をし、化学的インジケータを貼付して作成日と培地名を記入した後、撹拌した。



# 培地の作成2

- ④ビーカーをオートクレーブに入れ、  
121°Cで20分間かけて滅菌した。
- ⑤滅菌終了後、エタノールで消毒  
したクリーンベンチ内でシャーレに  
20mLずつ分注した。
- ⑥培地を孵卵器に24時間入れて  
無菌試験を行った。



# 被験者の条件・準備

- 実験の1時間半前までに、食事・歯磨きを済ませ、それ以降は絶食とした。
- ただし、飲料はお茶・水のみ限定した。
- 抗菌薬を必要とする被験者を実験から除外した。

# 定義

- 含嗽：水道水を適量口に含み、ブクブク含嗽を3秒行うこと。
- 歯磨き：歯磨きのうた「イ～ハ～」動画【みがきかた編】/ 2分51秒/ライオン<sup>4)</sup>の動画を見て行うこと。
- 浸漬洗浄：浸漬液に浸漬し、5分間静置すること。

# 予備実験



# 予備実験1回目

• 予備実験1回目 2024年7月31日

## 1) 目的

- ① **浸漬方法** (10秒間静置した、10回歯ブラシの毛先を内壁に擦り付けた、10秒間震盪した) を決定する。
- ② 正確にコロニー数を算出することができる **希釈濃度** を決定する。
- ③ 7種類の浸漬液 (イソジン、リステリン、モンダミン、食酢、湯 (50°C)、湯 (80°C)、水) から本実験に用いる **浸漬液** を決定する。

# 予備実験1回目

2) 使用物品 3) 被験者の条件・準備 4) 定義

本実験と同様

5) 実施

歯磨き後歯ブラシを3通りの方法で滅菌蒸留水に浸漬した。被験者7名それぞれが異なる7種類の浸漬液に5分間浸漬した。希釈濃度を1倍と10倍にした。これを35°C、48時間好気培養した後、コロニー数を算出した。

(表2-1)

# 表2-1 予備実験1回目における被験者の条件

被験者	浸漬方法	希釈	浸漬液
1	静置	1倍	イソジン
2	静置	1倍	リステリン
3	静置	10倍	モンダミン
4	擦り付ける	1倍	食酢
5	擦り付ける	10倍	水
6	震盪	10倍	湯(50℃)
7	震盪	1倍	湯(80℃)

# 予備実験1回目

## 6) 結果

浸漬洗浄前後のコロニー数を算出した。(表2-2)

## 7) 考察

滅菌蒸留水に3通りの方法で浸漬したが、擦りつける方法や震盪する方法では、手技が複雑で、個人差が出やすい。

➡ 本実験は**手技が容易で個人差が出にくい静置**で行うこととした。

## 表2-2 予備実験1回目の結果

	イソジン	リステリン	モンダミン	食酢	水	湯(50°C)	湯(80°C)
浸漬洗浄前 1回目	2,892	1,652	<u>1,246</u>	3,808	<u>2,009</u>	<u>2,784</u>	1,158
浸漬洗浄前 2回目	3,119	1,343	<u>1,199</u>	3,029	<u>1,133</u>	<u>1,569</u>	691
浸漬洗浄後	0	0	<u>233</u>	653	<u>553</u>	<u>941</u>	0

(単位 : colony forming unit)

- ・二重線は10倍希釈したコロニー数を示す
- ・イソジン、リステリン、モンダミンは滅菌蒸留水に10秒間静置した
- ・食酢、水は10回歯ブラシの毛先をコニカルチューブの内壁に擦り付けた
- ・湯(50°C)と湯(80°C)は10秒間震盪した

# 予備実験1回目

- 希釈は1倍も10倍もどちらもコロニー数が多く、計測時の正確性に欠ける。
  - ➡ 予備実験2回目を行い**希釈濃度**について再度考察。
- 5分間の浸漬中に湯の温度が下がることが分かった。温水による消毒では50°C以上で効果が現われる<sup>3)</sup>。
  - ➡ 本実験では50°Cの湯を浸漬液から除外。  
予備実験2回目を行い、80°Cの湯の5分間の**温度推移**をみる。

# 予備実験2回目

予備実験2回目 2024年9月24日

## 1) 目的

①より正確にコロニー数を算出することができる  
**希釈濃度**を決定する。

②湯の温度推移から使用する**湯の温度**を決定する。

2) 使用物品 3) 被験者の条件・準備 4) 定義

本実験と同様

# 予備実験2回目

## 5) 実施

- 希釈濃度を**10倍と100倍**にした。これを35°C、48時間好気培養した後、コロニー数を算出した。
- 紙コップに**80°C**の湯を60mL入れ、湯の温度推移を経時的に計測した。



# 予備実験2回目

## 6) 結果

- 100倍希釈した検体の浸漬洗浄前後のコロニー数を算出した。(表2-3)
- 水の温度変化は、1分後75.0°C、2分後70.6°C、3分後67.2°C、4分後64.5°C、5分後61.6°Cであった。

# 表2-3 予備実験2回目 100倍希釈時の結果

被験者	浸漬液	浸漬洗浄前	浸漬洗浄後
1	イソジン	537	0
2	リステリン	349	0
3	モンダミン	589	117
4	食酢	591	11
5	水	529	151
6	湯(80℃)	1,034	0
7	イソジン	309	0

(単位:colony forming unit)

# 予備実験2回目

## 7) 考察

- 希釈は100倍にすることで、より正確にコロニー数を算出することができた。
  - ➡ 本実験でも**100倍希釈**することとした。
- 5分後の湯の温度は61.6°Cであり50°Cを下回らなかった。
  - ➡ 本実験でも**80°Cの湯**を用いることとした。

# 本実験

# 実施の概要

- 被験者7名が6種類の浸漬液を用いた。交絡を最小限にするため、6種類の浸漬液をクロスオーバー法を用いて割り当てた。被験者は1～7に無作為に振り分け、匿名化を図った。

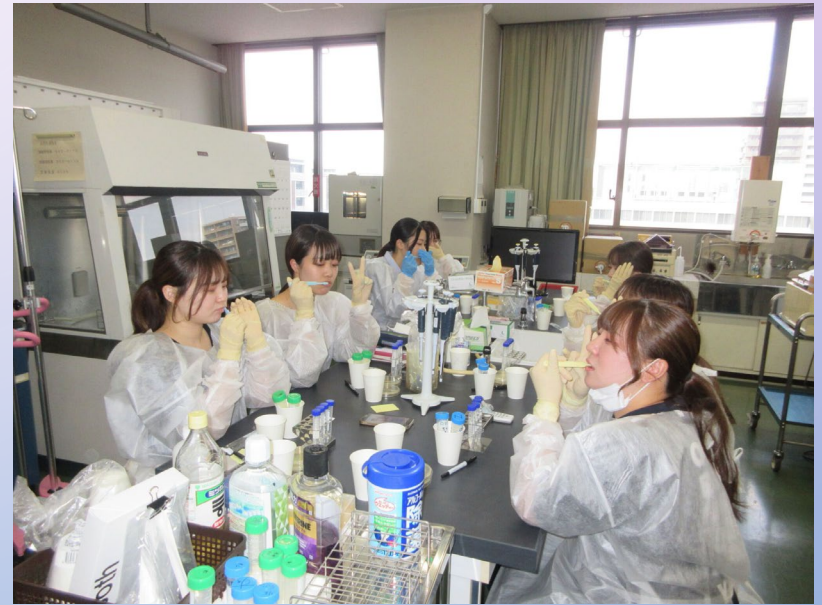
# 表1-1 本実験実施日程

被験者	日時	9月26日		9月30日		10月2日	
		午前	午後	午前	午後	午前	午後
1		A	B	C	D	E	F
2		B	C	D	E	F	A
3		C	D	E	F	A	B
4		D	E	F	A	B	C
5		E	F	A	B	C	D
6		F	A	B	C	D	E
7		A	B	C	D	E	F

・Aはイソジン、Bはリステリン、Cはモンダミン、Dは食酢、Eは水、Fは湯(80℃)を示す

# 手順1

- ① 種類を統一したおにぎりを食べた。(明太子)
- ② 定義通り含嗽を実施した。
- ③ 定義通り歯磨きを実施した。
- ④ 歯ブラシをコニカルチューブ内の滅菌蒸留水10mLに浸漬し、10秒間静置した。
- ⑤ 静置後、コニカルチューブの内壁に歯ブラシを2回軽く当て、水気を切った。



## 手順2

⑥ 歯ブラシを紙コップ内の浸漬液60mLを用いて浸漬洗浄した。

⑦ 静置後、紙コップの内壁に歯ブラシを2回軽く当て、水気を切った。

⑧ 歯ブラシをコニカルチューブ内の滅菌蒸留水10mLに浸漬し、10秒間静置した。





## 手順3

- ⑨ 静置後、コニカルチューブの内壁に歯ブラシを2回軽く当て、水気を切った。
- ⑩ 歯磨き直後の検体である④の内容液を10秒間攪拌し、均一にした。
- ⑪ ⑩から分注器を用いて内容液を1,000 $\mu$ L採取し、コニカルチューブ内の滅菌蒸留水9mLに注入し、合計10mLとした(10倍希釈)。
- ⑫ ⑪の内容液を10秒間攪拌し、均一にした。

## 手順4

⑬ ⑫から分注器を用いて内容液を1,000 $\mu$ L採取し、コニカルチューブ内の滅菌蒸留水9mLに注入し、合計10mLとした。(100倍希釈)

⑭ ⑬の内容液を10秒間攪拌し、均一にした。

⑮ 浸漬洗浄後の検体である⑧の内容液も⑩～⑭を同様に行った。

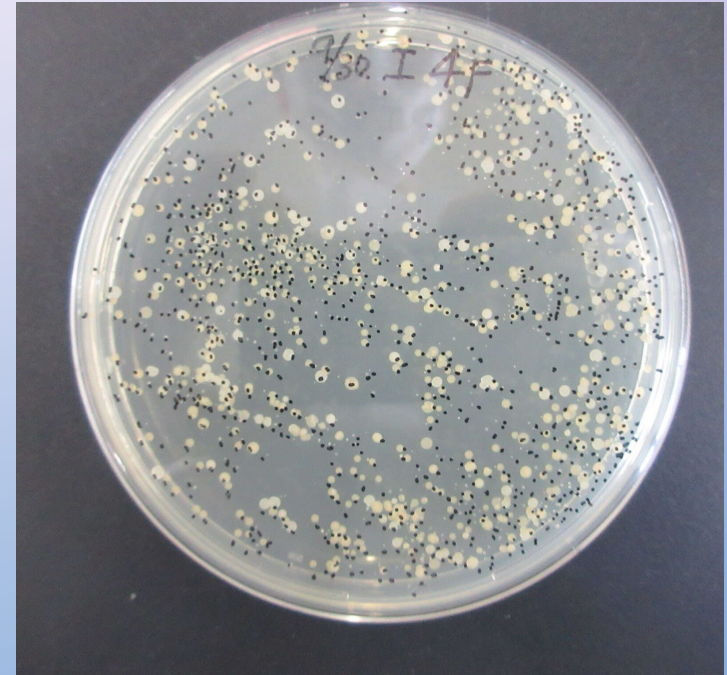
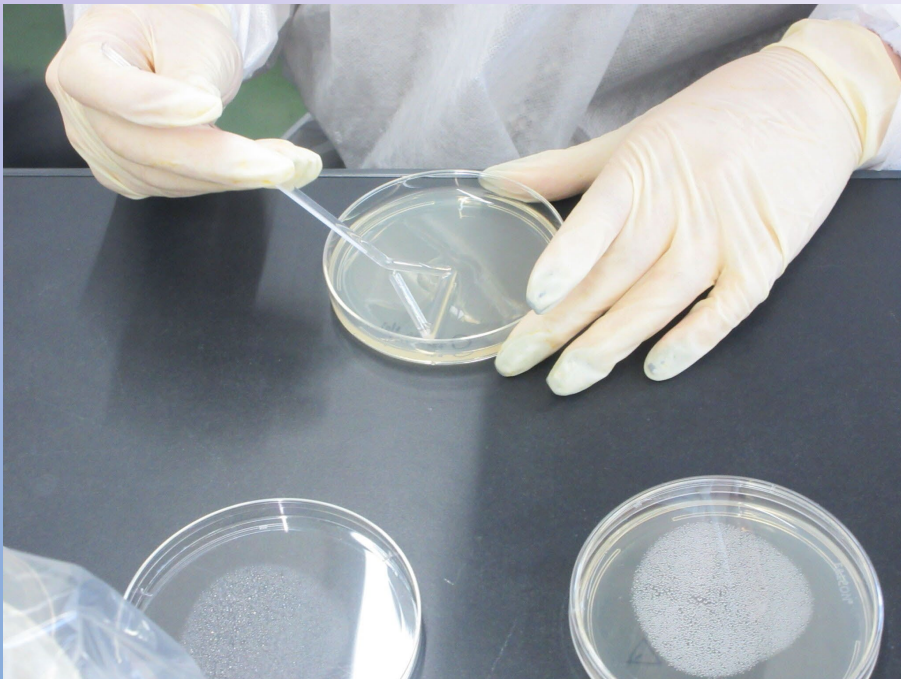
⑯ ⑭⑮から100 $\mu$ L採取し、普通寒天培地に接種した。



# 手順5

①⑦ ディスポコンラージ棒を用いて菌液を塗り広げた。

①⑧ ①⑦の普通寒天培地を35°C、48時間好気培養した後、コロニー数を算出した。



# 準備

- 室温と湿度を測定した。  
身だしなみ(髪を一つにまとめ、ディスポーザブルマスク、ディスポーザブル手袋、ディスポーザブル白衣を着用した)を確認した。



# 分析方法

- Microsoft<sup>®</sup> Excel<sup>®</sup> for Microsoft 365 MSOを用いて、細菌数を集計した。菌数算定はコロニー形成単位である colony forming unit (cfu) を計測した。
- 減少率は、 $(\text{浸漬洗浄前細菌数} - \text{浸漬洗浄後細菌数}) / \text{浸漬洗浄前細菌数} \times 100$  で算出した。
- 統計学的分析にはIBM SPSS Statistics 28を用いた。

# 分析方法

- 6種類の浸漬液の洗浄前の比較をFriedman検定
- 6種類の浸漬液の洗浄前後の比較をWilcoxonの符号付き順位検定
- 6種類の浸漬液の洗浄後の比較をFriedman検定後、多重比較をBonferroni法
- 有意確率は $p < 0.05$ を統計学的に有意差あり

# 倫理的配慮

本研究は名古屋市立大学看護学部408実験室において、被験者となる看護学生に研究の目的・方法を説明し、同意を得た上で行った。被験者が心身の負担となる不利益を被らないよう配慮した。クロスオーバー表を用いて被験者7名を匿名化した。

# 結果



# 表3-1 実験日の室温と湿度

日付	室温(°C)	湿度(%)
9月26日午前	25.1	65.0
9月26日午後	25.0	64.0
9月30日午前	24.8	63.0
9月30日午後	24.7	62.0
10月2日午前	25.0	61.0
10月2日午後	25.5	57.0

表3-2 浸漬洗浄液の違いによる歯ブラシ洗浄前後のコロニー数と減少率

n=7

浸漬液・ 検体 被験者	イソジン			リステリン			モンダミン			食酢			湯(80℃)			水		
	浸漬洗浄 前	浸漬洗浄 後	減少率 (%)	浸漬洗浄 前	浸漬洗浄 後	減少率 (%)	浸漬洗浄 前	浸漬洗浄 後	減少率 (%)	浸漬洗浄 前	浸漬洗浄 後	減少率 (%)	浸漬洗浄 前	浸漬洗浄 後	減少率 (%)	浸漬洗浄 前	浸漬洗浄 後	減少率 (%)
1	193	0	100	168	0	100	236	47	80.08	232	7	96.98	288	0	100	157	52	66.88
2	435	0	100	302	0	100	353	66	81.30	424	2	99.53	633	0	100	359	49	86.35
3	233	0	100	513	0	100	248	22	91.13	421	4	99.05	398	0	100	263	95	63.88
4	326	0	100	388	0	100	581	119	79.52	587	6	98.98	965	0	100	273	58	78.75
5	262	0	100	226	0	100	486	107	77.98	384	0	100	184	0	100	386	63	83.68
6	478	0	100	1,287	2	99.84	596	123	79.36	796	9	98.87	766	0	100	846	176	79.20
7	474	1	99.79	570	0	100	708	44	93.79	451	1	99.78	572	0	100	693	82	88.17
中央値	326	0	100	388	0	100	486	66	80.08	424	4	99.05	572	0	100	359	63	79.20
最小値	193	0	99.79	168	0	99.84	236	22	77.98	232	0	96.98	184	0	100	157	49	63.88
最大値	478	1	100	1,287	2	100	708	123	93.79	796	9	100	965	0	100	846	176	88.17

(単位:colony forming unit)  
50

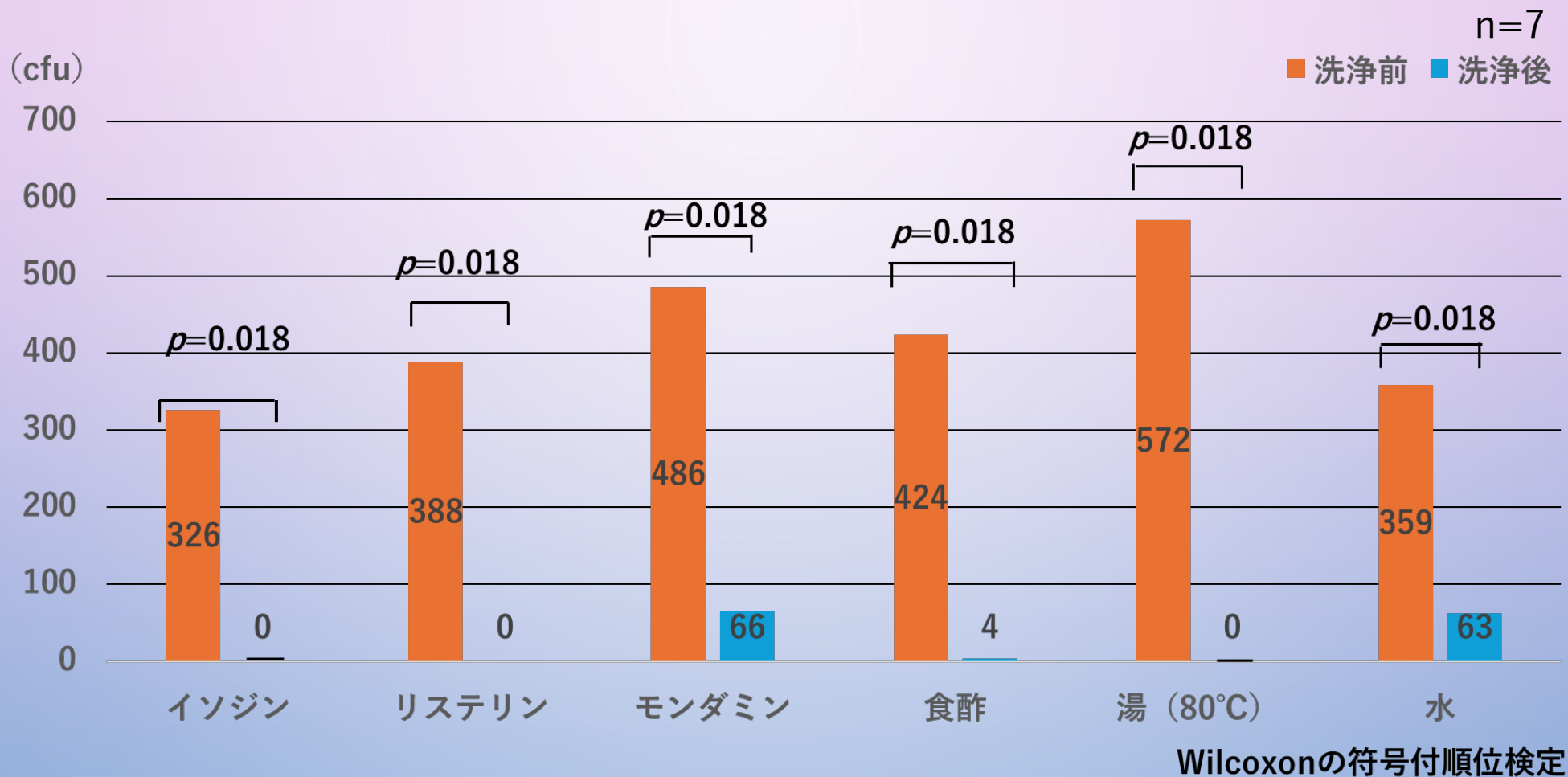
# 歯ブラシ浸漬洗浄前のコロニー数の比較

- 6種類の浸漬液について、浸漬洗浄前のコロニー数の中央値を比較した。



- 統計学的に有意な差はみられなかった。(p=0.518)

# 図1 歯ブラシ浸漬洗浄前後のコロニー数(中央値)の比較



すべての浸漬液で洗浄後のコロニー数が有意に減少

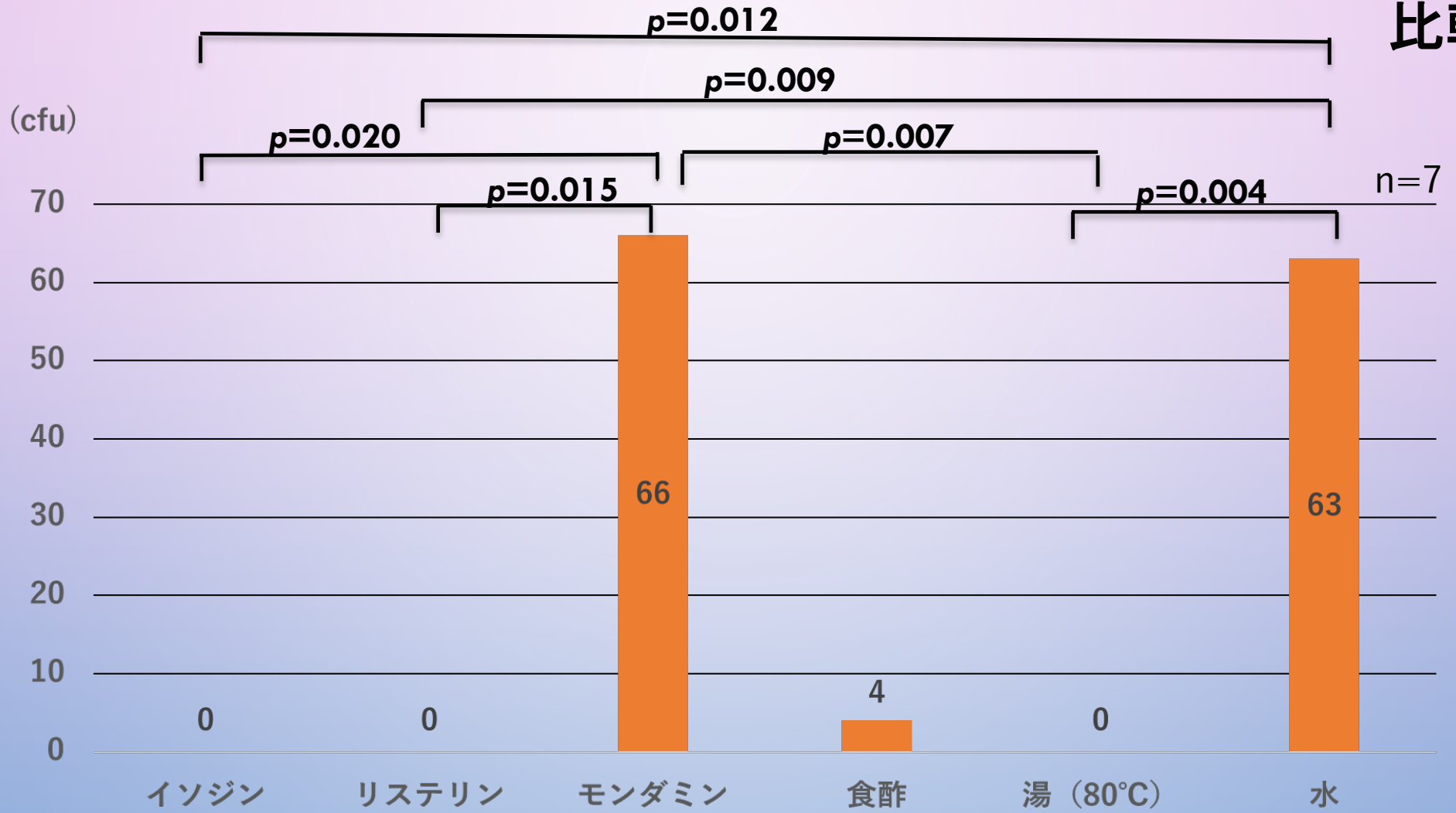
# 歯ブラシ浸漬洗浄後のコロニー数の比較

- 6種類の浸漬液について、浸漬洗浄後のコロニー数の中央値を比較した。



- 統計学的に有意な差がみられた ( $p=0.000$ )。

図2 各浸漬液の歯ブラシ浸漬洗浄後のコロニー数(中央値)の比較



Friedmanの検定

洗浄後のコロニー数はイソジン、リステリン、食酢、湯 (80°C) がモンダミン、水より有意に少なかった

# 考察

# 1. 歯ブラシ浸漬洗淨前後の比較

歯ブラシ浸漬洗淨前のコロニー数は統計学的有意差なし  
→各浸漬液の洗淨前の歯ブラシの細菌数に差はなく、歯  
ブラシ浸漬洗淨後の**コロニー数や減少率に影響しない**。

抗菌コートのある歯ブラシの毛束下部ではいずれの使用期間  
においても乾燥時間の経過に伴い付着菌数の減少傾向  
が認められた<sup>5)</sup>。

→本実験では、抗菌コートのない歯ブラシを使用し**浸漬  
洗淨によるコロニー数の減少のみを比較**。

 6種類の浸漬液の効果を比較した。



- 使用後の歯ブラシを含嗽剤や食酢に浸漬することは殺菌に有効である<sup>3)</sup>。

➡ 図1より、6種類の浸漬液全てにおいて、浸漬洗浄前後のコロニー数に統計学的に有意な差がみられ、**洗浄後のコロニー数が減少した今回の実験結果と一致。**

- 歯間ブラシについて、使用後は水洗の段階で、できる限り除菌を行ってから保管することが重要であると考えられる<sup>2)</sup>。

➡ 表3-2より、6種類の浸漬液の中で**水**の減少率が最も低かったが、**79.2%減少**させることができている、**水に5分浸漬することは十分効果がある。**



**使用後の歯ブラシを浸漬洗浄することは、付着菌数の減少に効果的である。**

## 2. 浸漬液ごとの歯ブラシ浸漬洗浄後の比較

- モンダミンはイソジン、リステリン、湯(80°C)と有意に差があり、コロニー数が多い。
  - ➡ イソジン、リステリン、湯(80°C)はモンダミンよりも有意に細菌数が減少したため、洗浄効果が高い。
- 水はイソジン、リステリン、湯(80°C)と有意に差があり、コロニー数が多い。
  - ➡ イソジン、リステリン、湯(80°C)は水よりも有意に細菌数が減少したため、洗浄効果が高い。

- 減少率について、イソジン、リステリン、食酢、湯(80°C)は約100%、モンダミン、水は約80%であった。
  - モンダミンと水に有意な差はみられなかった。
- ➡ 洗浄効果は同程度。
- イソジン、リステリン、食酢、湯(80°C)をそれぞれ比較して有意な差はみられなかった。
- ➡ 洗浄効果は同程度。



モンダミン、水と比較してイソジン、リステリン、食酢、湯(80°C)の殺菌効果が高いと考える。

- 成熟した歯垢(1mgあたり $10^8$ 個以上の菌を含む)では、アクチノマイセツ属を主体とするグラム陽性の線維状ないし桿状の菌が総数の30~50%にも達する<sup>6)</sup>。
  - 口腔は温度、湿度、栄養などの微生物の棲息に適した条件が揃っているうえに、歯牙という硬組織が軟組織の中に植立するという解剖学的特徴をもち、また、義歯や人工歯冠などの異物が多々存在しており、微生物の繁殖する場が多く存在する<sup>7)</sup>。
- ➡ 口腔内には多様な細菌が多数が存在しており、増殖しやすい。

- 本実験でも、浸漬前の歯ブラシの細菌数は多かった。
- イソジン、リステリン、食酢、湯(80°C)に浸漬した歯ブラシのコロニー数は0や1桁であった。



イソジン、リステリン、食酢、湯(80°C)は**殺菌効果が高い**。

- 免疫力、創傷治癒能力、生体防御機能などが低下した宿主では、これらの口腔細菌が重篤な感染症の原因となりえる<sup>6)</sup>。

➡ 易感染患者の場合、口腔常在菌がこれほど多いと感染の原因となりえる可能性がある。



**洗浄効果が高い浸漬液を使用した除菌が重要である。**

### 3. 効果的な浸漬洗浄方法の検討

#### 4つの浸漬液（イソジン、リステリン、食酢、湯（80℃））

- ・温水による消毒は50℃で効果が現れ80℃で殺菌が完全、含嗽剤や食酢への浸漬も有効<sup>3)</sup> *S.mutans*が対象
- ・本実験では人が使用した歯ブラシ対象  
➡ 同様の効果が得られた。



4つの浸漬液の洗浄効果は同程度であり、**口腔常在菌**に対しても洗浄効果がある。

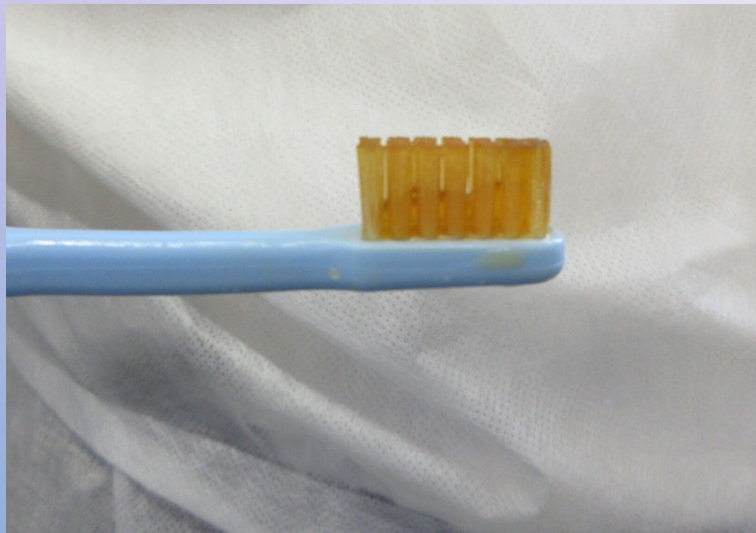


# より実用可能性の高い浸漬液の検討

イソジン	着色と強い匂いあり 再使用困難 購入の必要あり
リステリン	着色と匂いあり 水で流すと消失 購入の必要あり
食酢	強い匂いあり 再使用困難 一般家庭にある場合多い
湯 (80°C)	手軽で着色や匂いなし 再使用可能 温度調節が可能で、 <b>負担軽減の観点</b> からも良い

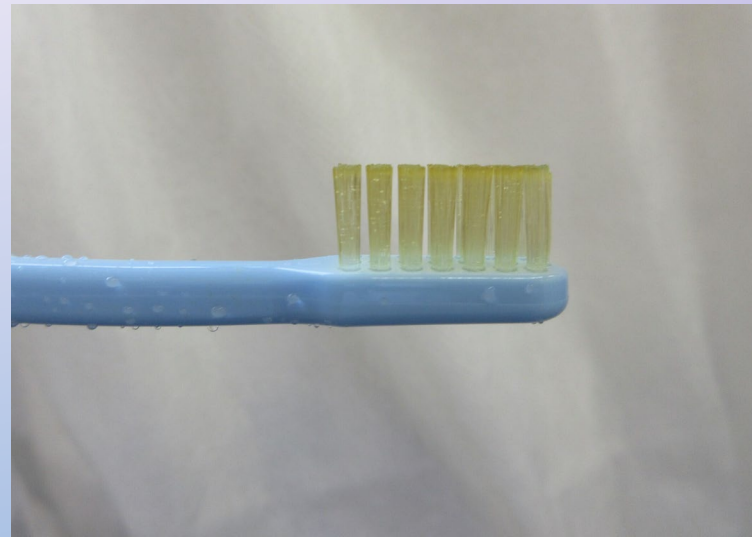


**湯(80°C)での5分間の歯ブラシの浸漬洗浄が  
最も効果的かつ実用可能性の高い方法**



イソジン浸漬洗浄後

水洗後



# 研究の限界1

- 被験者の数が7名と少数であったため得られた結果を一般化しにくい。
- 被験者は健康な20代の女性のみであったため異なる年齢層や健康状態のものが行った場合に得られる結果とは異なる可能性がある。

# 研究の限界2

- う蝕や細菌感染症、ウイルス性感染症の原因となるものに同様の結果が得られるか不明である。
- 繰り返し使用した歯ブラシでは異なる結果が出る可能性がある。
- 歯ブラシを浸漬液へ静置する以外の洗浄方法によって結果が異なる可能性がある。

# 結論

- ▶ 使用済み歯ブラシを5分間浸漬洗浄することは付着菌数の減少に効果的である。
- ▶ 口腔常在菌に対して、6種類の浸漬液のうちモンダミン、水と比べてイソジン、リステリン、食酢、湯(80°C)は洗浄効果が特に高いことが明らかになった。

▶ イソジン、リステリン、食酢については浸漬洗浄後の使用感やコスト面から継続実施を妨げる可能性がある。



**湯(80°C)を用いた5分間の浸漬洗浄**が最も効果的かつ  
实用可能性の高い使用済み歯ブラシの洗浄方法である。

# 謝辞

本研究を行うにあたり、多くの方々にご指導とご協力をいただき、心より御礼申し上げます。感染予防看護学ゼミの仲間、物品の手配からレポートの作成など、ご指導とご教授をいただきました名古屋市立大学看護学部感染予防看護学ゼミ担当の矢野久子教授、安岡砂織准教授、吉川寛美講師、中嶋未佳助手に深く感謝いたします。



# 引用文献

- 1) 茂木健司, 笹岡邦典, 樋口有香子他: 各種口腔ケアの効果に関する検討-口腔常在菌数を指標として-第1報 含嗽剤の薬剤効果, THE KITAKANTO MEDICAL JOURNAL, 57, 239-244, 2007.
- 2) 勝野由梨奈, 佐藤勉, 合場千佳子: 歯間ブラシの細菌汚染と洗浄方法・保管方法との関連について, 日本口腔保健学雑誌, 9(1), 58-62, 2019.
- 3) 戸嶋美和, 藤田純子, 夏野徹也, 他: 歯ブラシの細菌汚染とその対策, 歯学, 80(6), 1405-1414, 1993.
- 4) ライオンホームページ: 歯磨きのうた「イ〜ハ〜」動画【みがきかた編】  
<https://www.lion.co.jp/ja/sustainability/community/oral/> (閲覧日: 2024年10月2日)
- 5) 横須賀直美, 田中敏之, 胡谷佳津志, 他: クロルヘキシジンコート歯ブラシの細菌汚染に関する研究, 日歯周誌, 31(3), 960-969, 1989.
- 6) 吉田真一: 常在微生物叢, 戸田新細菌学, (吉田真一, 柳雄一, 吉開泰信), 210-212, 南山堂, 東京, 2013.
- 7) 栗田浩: 口腔内潜在性感染と口腔ケア, 信州医誌, 51(5), 273-280, 2003.