

مقایسه اثر ضد میکروبی درونی شش نوع آلرژینات بر میکروارگانیسم‌های فلور دهان

دکتر حمیرا انصاری لاری^۱- دکتر سید محمد رضا سازور^۱- دکتر پارسا آتش رزم^۱- دکتر حسین رستگاریان^۲-

دکتر سعید ایپکچی^۳- دکتر نیما محروم نژاد^۴

۱- استادیار گروه آموزشی پروتئین‌های دندانی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران

۲- استادیار گروه آموزشی میکروبیولوژی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران

۳- دندانپزشک

۴- دندانپزشک، مرکز تحقیقات کراینوماگزیلوفاسیال بیمارستان دکتر شریعتی دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

زمینه و هدف: انتقال میکروارگانیسم‌ها از طریق قالب‌های دهانی بیماران از مهمترین نگرانیهای کلینیسین‌ها و تکنیسین‌ها می‌باشد. این مطالعه با هدف مقایسه اثر ضد میکروبی درونی آلرژینات‌های ایرالرژین، پلاست آلرژین، تروپیکالرژین، هیدروگام و ارتپرینت بر روی سه میکروارگانیسم فلور دهانی صورت گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی-آزمایشگاهی ۱۲۶ نمونه با خصامت یک میلی‌متر و قطر پنج میلی‌متر و وزن 2 ± 0.3 میلی‌گرم از پلیت‌های سنت شده آلرژینات‌های مورد بررسی تهیه شده و جداگانه به محیط‌های کشت میکروبی تازه استافیلوكوکوس اورئوس، پسودوموناس آئروژینوزا و کاندیدا آلبیکانس منتقل شدند. پلیت‌ها حاوی نمونه‌ها در انکوباتور به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت. سپس قطر منطقه مهار رشد باکتری‌ها اندازه‌گیری و به صورت یکسو کور ثبت شد. داده‌ها توسط آزمون آماری Friedman و ANOVA مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: در گروه استافیلوكوکوس اورئوس آلرژینات ایرالرژین و تروپیکالرژین به طور معنی‌داری منطقه مهار رشد بیشتر از سایر آلرژینات‌ها بود. در گروه پسودوموناس آئروژینوزا، منطقه مهار رشد آلرژینات تروپیکالرژین به طرز معنی‌داری بیشتر از ایرالرژین و ایرالرژین بیشتر از دیگر آلرژینات‌های مورد بررسی بود و در گروه کاندیدا آلبیکانس آلرژینات پلاست آلرژین به شکل معنی‌داری دارای منطقه مهار رشد وسیعتری نسبت به سایر آلرژینات‌ها بود. ($P < 0.05$)

نتیجه‌گیری: ماده ضد عفونی درونی فعلی برخی از آلرژینات‌های مورد بررسی می‌تواند باعث مهار رشد میکروارگانیسم‌های فلور دهان گردد ولی همچنان ضد عفونی کردن قالب‌های آلرژیناتی با سایر روشها ضروری است.

کلید واژه‌ها: مواد قالب‌گیری آلرژینات - ضد عفونی - استافیلوكوکوس اورئوس - پسودوموناس آئروژینوزا - کاندیدا آلبیکانس.

اصلاح نهایی: ۱۳۸۸/۱۲/۱۲
وصول مقاله: ۱۳۸۹/۵/۲۵
پذیرش مقاله: ۱۳۸۹/۵/۶

نویسنده مسئول: دکتر نیما محروم نژاد، مرکز تحقیقات کراینوماگزیلوفاسیال بیمارستان دکتر شریعتی دانشگاه علوم پزشکی تهران

e.mail:nima_mnj@yahoo.com

مقدمه

کردن قالب‌های دندانی معرفی شده است ولی آنچه در به کارگیری این روشها مورد توجه می‌باشد لزوم حفظ دقت و ثبات ابعادی قالب‌های تهیه شده است. (۳-۲) مواد قالب‌گیری هیدروکلوفید غیرقابل برگشت (آلرژینات) یکی از پرمصرف‌ترین مواد قالب‌گیری دندانپزشکی است. ضد عفونی کردن این ماده با توجه به خصوصیاتی مانند هیدروفیل بودن و نفوذ

انتقال عفونت از طریق ابزار و مواد مورد استفاده در دندانپزشکی بین بیماران و شاغلان حرفه‌ای دندانپزشکی یکی از نگرانیهای روز افزون این گروه شغلی می‌باشد. قالب‌های دندانی تهیه شده از بیماران را به صورت بالقوه می‌توان یکی از حاملهای این پاتوژن‌ها دانست. (۱)، روش‌های مختلفی با توجه به نوع ماده قالب‌گیری جهت ضد عفونی

پلیت‌های استریل ریخته شد تا به ضخامت یک میلی‌متر برسد. دیسک‌های آلژیناتی که توسط فرز ۵۰ - Trepbine (Thommen Medical) با قطر پنج میلی‌متر تهیه شدند. به منظور کنترل هوموژن بودن نمونه‌ها جرم قابل قبول برای هر نمونه در آزمون 2 ± 30 میلی‌گرم مشخص گردید.

محیط کشت میکروبی مورد استفاده برای میکروارگانیسم‌های استافیلوکوکوس اورئوس و پسودوموناس آئروژینوزا (Mueller-Hinton) و محیط کشت کاندیدا آلبیکانس (Cornmeal Agar) بود. محیط‌های میکروبی به این صورت تهیه شده‌اند که میکروب‌های مورد نظر از محیط کشت مادر تازه فعال شده جهت کنترل غلظت به لوله آزمایش حاوی یک میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی منتقل شد و سپس از سوسپانسیون مذکور با غلظت و حجم یکنواخت به روی محیط کشت مربوطه در هر پتري دیش تلقیح شدند. با هدف قابل مقایسه بودن این نتایج با نتایج تحقیقاتی بین‌المللی American Type (ATCC) به ترتیب استافیلوکوکوس اورئوس: ۲۵۹۲۳، پسودوموناس آئروژینوزا: ۲۷۸۵۳ و کاندیدا آلبیکانس: ۱۰۲۳۱ استفاده شده است.

۱۸ دیسک آلژیناتی با ضخامت یک میلی‌متر و قطر پنج میلی‌متر و جرم 2 ± 30 میلی‌گرم از هر پلیت‌های تنظیم شده آلژینات‌های ایرالژین (ساخت شرکت گلچای)، پلاست آلژین (ساخت شرکت Septodont)، زانتالژین (ساخت شرکت Heraeus Kulzer)، تروپیکالژین، هیدروگام و ارتوپرینت و هیدروگام (ساخت شرکت Zhermack) در شرایط استریل تهیه و به محیط کشت منتقل شدند. به این ترتیب در هر پتري دیش شش نمونه دیسک آلژیناتی و جمماً ۱۰۸ نمونه دیسک آلژیناتی در سه محیط کشت داده شده میکروبی قرار گرفت. جهت کنترل سیر تحقیقاتی از گروه کنترل منفی که دیسک کاغذی استریل می‌باشد و اثر ضد میکروبی ندارد استفاده شده است. این دیسک‌های کاغذی به همراه نمونه‌ها در هر محیط کشت گذاشته شد و عملیات کدگزاری دیسک‌ها به صورت تصادفی انجام پذیرفت. در انتها پلیت‌های حاوی

میکروارگانیسم‌ها به داخل آن، محدودیت فاصله زمانی بین تهیه قالبها و ریخته شدن کست گچی آن و احتمال تغییرات ابعادی در اثر ضد عفونی کردن قالبها می‌باشد در کوتاه‌ترین زمان و کمترین اثر بر خصوصیات فیزیکی ماده قالب‌گیری صورت پذیرد. (۴-۵)، جهت ضد عفونی کردن قالب‌های آلژیناتی می‌توان از روشهایی مانند اسپری کردن، غوطه‌ور ساختن در ماده ضد عفونی کننده، استفاده از مواد ضد عفونی به جای آب در هنگام مخلوط سازی و دیگری افزودن ماده ضد عفونی به ماده اولیه آلژینات می‌توان بهره برد. (۶-۷)، مطالعات اندکی در مورد روش اخیر وجود دارد. به طور معمول $1\%-2\%$ وزن کلی ماده آلژینات را می‌تواند ترکیبات ضد عفونی کننده تشکیل دهد. (۸)، این مطالعه با هدف مقایسه اثر ضدمیکروبی درونی (افزوده شده به ماده اولیه) آلژینات‌های ایرالژین، پلاست آلژین، زانتالژین، تروپیکالژین، هیدروگام و ارتوپرینت بر روی سه میکروارگانیسم فلور دهانی که بر اساس حداکثر میزان مقاومت به مهار رشدی انتخاب شده بودند، صورت گرفت. (۹)

روش بررسی

این مطالعه تجربی به صورت آزمایشگاهی و یک سوکور با استفاده از Agar Well Technique به منظور بررسی قدرت مهار رشد میکروارگانیسم‌های کاندیدا آلبیکانس، استافیلوکوکوس اورئوس و پسودوموناس آئروژینوزا توسط آلژینات‌های ایرالژین، پلاست آلژین، زانتالژین، تروپیکالژین، هیدروگام و ارتوپرینت انجام گرفته است.

در مطالعه Pilot جهت تعیین تعداد نمونه‌ها و بررسی دقت روش کار با سه نمونه در هر گروه انجام شد که با توجه به حداکثر اختلاف میزان منطقه مهار رشد برابر با $5/2$ میلی‌متر و در نظر گرفتن خطای معیار $1/5$ در شش گروه مورد مطالعه با گزینه مقایسه چندگانه نرم افزار MiniTab تعداد حداقل شش نمونه در هر گروه با خطای آماری برابر $0/2$ مشخص گردید.

پودر آلژینات‌ها طبق دستورالعمل کارخانه با سرم فیزیولوژی استریل ترکیب شده و به صورت ژل در

نگردید. در نمونه‌های میکروسکوپی جهت تایید نوع باکتری در همه نمونه‌های تصادفی، از هر محیط کشت باکتری‌ها دقیقاً مطابق باکتری‌های کشت داده شده بودند.

آلژینات‌های ایرالژین و تروپیکالژین در طی این مطالعه بیشترین میزان مهار رشد باکتری استافیلوكوکوس اورئوس (جدول ۱) و آژینات تروپیکالژین و سپس ایرالژین بیشترین میزان مهار رشد پسودوموناس آئروژینوزا را دارا بودند. گروه آژینات پلاست آژین در مقایسه با سایر آلژینات‌های مورد مطالعه تنها آلژیناتی بود که قادر به مهار رشد کاندیدا آلبیکانس بود. از نظر آماری در گروه استافیلوكوکوس اورئوس آژینات ایرالژین و تروپیکالژین به طرز معنی‌داری منطقه مهار رشد بیشتر از سایر آلژینات‌ها بود. در گروه پسودوموناس آئروژینوزا منطقه مهار رشد آژینات تروپیکالژین به طرز معنی‌داری بیشتر از ایرالژین و ایرالژین بیشتر از دیگر آلژینات‌های مورد بررسی بود و در گروه کاندیدا آلبیکانس، آژینات پلاست آژین به شکل معنی‌داری دارای منطقه مهار رشد و سیعتری نسبت به سایر آلژینات‌ها بود. ($P < 0.05$)

بحث

امروزه با توجه اهمیت کنترل عفونت در واحدهای دندانپزشکی و لزوم فقدان عفونت در مواد و ابزاری که بین واحدهای شغلی دندانپزشکی نقل و انتقال می‌یابند، ضدغوفنی کردن قالبهای دندانی به عنوان بخشی از این چرخه الزامي است.

تمامی روش‌های معرفی شده جهت ضدغوفنی قالبها دارای محدودیتها و فوایدی می‌باشند. اسپری کردن علی‌رغم کاهش احتمال تغییرات ابعادی بسیار سطحی بوده و قادر به نفوذ کافی به درون آژینات نمی‌باشد. غوطه ور سازی نیز به علت پدیده Imbibitions و تورم ناشی از جذب آب احتمال تغییرات در خصوصیات فیزیکی را افزایش می‌دهد. (۵)، به کارگیری ماده ضد عفونی به جای آب نیز مؤثر بوده ولی کنترل نسبت صحیح آن مشکل می‌باشد. افزودن ماده ضد عفونی به ترکیب اولیه با توجه به قابلیت کنترل نسبت مواد و

نمونه‌ها در انکوباتور به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت و قطر منطقه مهار رشد میکروبی پس از ۴۸ ساعت با وسیله کولیس (با دقت ۰/۰۵ میلی‌متر) توسط آزمونگر دیگری اندازه‌گیری و ثبت گردید سپس اطلاعات مربوطه کدبرگردانی شدند. جهت کنترل آلوودگی، از میکروارگانیسم‌های رشد یافته نمونه‌های تصادفی تهیه، رنگ آمیزی و مورد بررسی قرار گرفت. قطر منطقه مهار رشد میکروبی توسط نرم افزار Spss ویرایش ۱۱/۵ و آزمون آماری ANOVA یا Friedman مورد ارزیابی قرار گرفت. در گروه استافیلوكوکوس اورئوس و پسودوموناس آئروژینوزا با توجه به تبعیت داده‌ها از توزیع نرمال (P.V) حاصل از مقایسه رزیجوال‌ها با توزیع نرمال در آزمون K-S بزرگتر از ۰/۰۵ بود. از آزمون ANOVA یک طرفه جهت مقایسه استفاده شد و برای مقایسه دو به دو گروه‌ها به دلیل عدم یکسانی واریانس‌ها از آزمون Post-Hoc Tamhane نوع استفاده شد. در گروه کاندیدا آلبیکانس با توجه به این که توزیع داده‌ها نرمال نبود از آزمون Friedman و مقایسه دو به دو با Bonferroni correction خطای نوع اول به روش Adjustment استفاده گردید.

یافته‌ها

از مجموع ۱۲۶ نمونه تهیه شده در سه محیط کشت باکتریایی که در مطالعه حاضر مورد آزمون قرار گرفته است، ۱۸ نمونه به عنوان دیسک کنترل منقی شامل دیسک‌های کاغذی استریل و ۱۰۸ نمونه دیسک آژیناتی ایرالژین، پلاست آژین، زانتالژین، تروپیکالژین، هیدروگام و ارتوپرینت بودند که در سه محیط کشت داده شده میکروبی استافیلوكوکوس اورئوس، پسودوموناس آئروژینوزا و کاندیدا آلبیکانس مورد مطالعه قرار گرفتند و پس از ۴۸ ساعت منطقه مهار رشد باکتریایی مورد ارزیابی و ثبت قرار گرفت. در اطراف هیچ‌کدام از نمونه‌های کنترل منقی مهار رشد باکتریایی مشاهده نشد و در فاصله ۴۸ ساعت پس از کشت جهت کنترل آلوودگی و رشد باکتری غیر مرتبط مشاهده

جدول ۱: میانگین قطر منطقه مهار رشد میکروارگانیسم‌های مورد بررسی (میلی‌متر) و انحراف معیار بر حسب نوع آلژینات‌ها

نوع آلژینات	استافیلوکوکوس اورئوس (X ± SD)	پسودوموناس آئروژینوزا (X ± SD)	کاندیدا آلبیکانس (X ± SD)
ایرالژین	۱۰/۸ ± ۱/۴	۶/۹ ± ۰/۹	۵/۰ ± ۰/۰
پلاست آلژین	۵/۲ ± ۰/۳	۵/۶ ± ۰/۵	۷/۷ ± ۰/۶
زانکالژین	۵/۲ ± ۰/۲	۵/۶ ± ۰/۴	۵/۰ ± ۰/۰
تروپیکالژین	۱۱/۱ ± ۱/۳	۹/۹ ± ۰/۶	۵/۰ ± ۰/۰
هیدروگام	۵/۳ ± ۰/۳	۵/۳ ± ۰/۳	۵/۰ ± ۰/۰
ارتپیرینت	۵/۵ ± ۰/۶	۵/۳ ± ۰/۳	۵/۱ ± ۰/۱

مطالعه حاضر به جز در گروه کاندیدا آلبیکانس در مورد نتایج آلژینات‌های تروپیکالژین و ایرالژین در گروه استافیلوکوکوس اورئوس با نتایج Samaranayake و همکاران مطابقت دارد. البته در تحقیق Samaranayake دو عامل مؤثر، چسبندگی و میزان مهار میکروارگانیسم‌ها، بر نتایج به صورت مجزا بررسی نشده و برآیند آنها بر یافته‌ها نشان داده شده است در حالی که در مطالعه حاضر اثر مهار رشد منحصرأ بررسی شده است. (۱۰)

Tobias و همکاران افزودن ماده دی دسیل دی متیل آمینیوم کلراید را بر آلژینات مورد بررسی قرار دادند که نتایج آنان در گروه کاندیدا آلبیکانس علی‌رغم مشابهت نوع ماده آنتی باکتریال افزوده شده با تحقیق Samaranayake متفاوت بوده است و مشابه نتایج این مطالعه به جز آلژینات پلاست آلژین است و همکاران باکتری مقاومی همچون گروه می‌باشد. Tobias و همکاران باکتری مقاومی همچون گروه پسودوموناس آئروژینوزا نیز مورد آزمایش قرار دادند و ماده افزوده مورد بررسی قادر به مهار این باکتری نبود ولی در مطالعه حاضر آلژینات تروپیکالژین به طور

معنی‌داری این میکروارگانیسم را مهار کرد. (۱۱) Flanagan و همکاران اثر آنتی باکتریال دو آلژینات بدون اضافه کردن کلرهگزیدین و آمونیوم چهارتایی مورد بررسی قرار دادند و نتایج آنها نشان داد که آلژینات دارای آمونیوم چهارتایی مؤثرتر از سایر گروههای مورد مطالعه بود و تمامی میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه را مهار کرد. آلژینات دارای کلرهگزیدین تمام باسیلهای گرم منفی و

حضور ماده در تمامی سطوح ماده روش کاربردیتری می‌تواند باشد. مطالعه حاضر نشان داد که آلژینات تروپیکالژین در شرایط آزمایشگاهی به طور مؤثری قادر به مهار رشد میکروارگانیسم‌های دهان به جز کاندیدا آلبیکانس آلژینات پلاست آلژین تنها آلژینات مؤثر در مهار کاندیدا آلبیکانس است البته این آلژینات قادر به مهار سایر میکروارگانیسم‌ها نیست. در این مطالعه نحوه مهار رشد میکرو ارگانیسم‌ها یکنواخت نبود به این صورت که آلژینات پلاست آلژین که قادر به مهار کاندیدا آلبیکانس بود ولی قادر به مهار سایر میکروارگانیسم‌ها نبوده است و آلژینات تروپیکالژین عکس این نتایج را ایجاد کرده است. عدم یکنواختی واکنش یک ماده ضد عفونی درونی واحد علی‌رغم نزدیکی حداقل غلظت مهار رشد استافیلوکوکوس اورئوس و کاندیدا آلبیکانس احتمالاً به علت تأثیر متقابل ترکیبات اصلی آلژینات و ماده ضد عفونی کننده و قدرت انتشار ماده ضد عفونی کننده در داخل محیط کشت بوده است.

در مطالعه Samaranayake و همکاران با استفاده از روش Colony-forming units نشان داده شد که اتصال باکتری‌های فلور دهان به مواد قالب‌گیری آلژینات دو تا پنج برابر بیش از دیگر مواد قالب‌گیری الاستومریک می‌باشد. در مطالعه C.albicans , E.coli , S.aureus مذکور چهار نوع باکتری , S.mutans مورد بررسی قرار گرفتند که قدرت اتصال آنها به مواد قالب‌گیری آلژیناتی طبق ترتیب ذکر شده افزایش قابل توجهی را نشان داد. میزان باکتری موجود در قالبها در طی زمان پنج ساعت به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد. نتایج

بالاترین میزان مقاومت به مهارکننده‌های رشدی متداول می‌باشد، از میان میکروارگانیسم‌های فلور دهان، انتخاب شدند. البته از آنجایی که عملکرد هر میکروارگانیسم در مواجه با ترکیبات مهار کننده کامپاند، تابعی خطی از قدرت مهار رشدی مواد خالص یا تأثیر تجمعی ترکیبات نمی‌باشد، لذا از ارزش بررسی سایر میکروارگانیسم‌ها کاسته نخواهد شد. (۹)

مطالعات نشان می‌دهد که میکروارگانیسم‌ها توسط بzac دهانی وارد توده ماده قالب‌گیری می‌شوند. (۱۵-۱۲) و احتمال عدم ضد عفونی این قالبها نیز وجود دارد. (۱۶) بنابراین آلژینات‌های دارای مواد ضد عفونی کننده می‌توانند در بیشتر موارد باکتری‌های فلور دهان را غیرفعال سازند. (۸) حضور مواد ضد میکروبی در آلژینات باعث کاهش حجم میکروبی موجود در سطح و عمق آلژینات می‌شود و به کارگیری مواد ضد میکروبی در محتوی آلژینات باعث مؤثرتر شدن ضد عفونی بعدی و کاهش زمان تماس قالبها با مواد ضد عفونی کننده و کاهش احتمال تغییرات ابعادی قالبها شود. نتایج این مطالعه می‌تواند به عنوان پایه مطالعات در جهت یافتن ماده ضد میکروبی درونی مناسب و نسبت ترکیبی آن با ماده پایه آلژینات به منظور فراهم کردن کنترل کامل عفونت و امکان حفظ سازگاری نسجی مورد استفاده قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

ماده ضد عفونی درونی فعلی برخی از آلژینات‌های مورد بررسی می‌تواند باعث مهار رشد میکروارگانیسم‌های فلور دهان گردد ولی همچنان ضد عفونی کردن قالب‌های آلژیناتی با سایر روشهای ضروری است.

بیشتر کوکسی‌های گرم مثبت را از میان برد و این در حالی است که همان آلژینات‌ها بدون ماده آنتی میکروبیال اثر ضد میکروبی معناداری نداشتند. (۱۲) در مطالعه Cserna نشان داده شد که آلژینات‌های حاوی کلرهگزیدین و آمونیوم چهارتایی در کاهش رشد سطحی باکتری‌های مورد مطالعه مؤثر بودند. در مطالعه حاضر میزان قدرت مهار باسیل‌های گرم منفی برای قویترین آلژینات در مهار رشد میکروارگانیسم‌ها کمتر از کوکسی گرم مثبت مورد آزمایش بوده است. (۱۳)

در مطالعات Wang و همکاران نتایج مشابهی از اثر آلژینات‌های حاوی کلرهگزیدین بر هشت نوع باکتری‌های *S. mutans*, *A. viscosis*, *P. gingivalis*, *L. acidophilus*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E.coli*, *P.aeruginosa* شد و آلژینات‌های بدون ماده ضد عفونی کننده کمکی اثرات ضد میکروبی معناداری روی هشت نوع میکروارگانیسم مورد مطالعه نداشتند و افزایش غلظت ماده آنتی باکتریال تا حد یک گرم در لیتر اثر معنی‌داری بر کاهش دقت ابعادی و خصوصیات مکانیکی آلژینات مورد بررسی نداشته است. Wang و همکاران میکروارگانیسم کاندیدا آلبیکانس را مورد بررسی قرار ندادند و در گروه پسودوموناس آئروژینوزا قبل از غلظت نهایی مورد بررسی آلژینات قادر به مهار این باکتری نبود. در مطالعه حاضر نمونه آلژینات‌های تروپیکاژین و ایرالژین با قطر مهار رشدی مشابه کمترین غلظت ماده افزوده در مطالعه فوق برای گروه استافیلوکوکوس اورئوس قادر به مهار رشد پسودوموناس آئروژینوزا نیز بودند. (۱۴)، در این مطالعه با توجه اهمیت میزان مقاومت به مهار رشدی باکتری‌ها، بر اساس شاخص حداقل غلظت مهار رشدی هر باکتری، باکتری‌هایی که دارای

REFERENCES

- Powell GL, Runnels RD, Saxon BA, Whisenant BK. The presence and identification of organisms transmitted to dental laboratories. J Prosthet Dent. 1990 Aug;64(2):235-7.

2. Thouati A, Deveaux E, Iost A, Behin P. Dimensional stability of seven elastomeric impression materials immersed in disinfectants. *J Prosthet Dent.* 1996 Jul;76(1):8-14.
3. Merchant VA, Radcliffe RM, Herrera SP, Stroter TG. Dimensional stability of reversible hydrocolloid impressions immersed in selected disinfectant solutions. *J Am Dent Assoc.* 1989 Oct;119(4):533-535.
4. Herrera SP, Merchant VA. Dimensional stability of dental impressions after immersion disinfection. *J Am Dent Assoc.* 1986 Sep;113(3):419-422.
5. Taylor RL, Wright PS, Maryan C. Disinfection procedures: Their effect on the dimensional accuracy and surface quality of irreversible hydrocolloid impression materials and gypsum casts. *Dent Mater.* 2002 Mar;18(2):103-110.
6. Jennings KJ, Samaranayake LP. The persistence of microorganisms on impression materials following disinfection. *Int J Prosthodont.* 1991 Jul-Aug;4(4):382-387.
7. Leung RL, Schonfeld SE. Gypsum casts as a potential source of microbial cross-contamination. *J Prosthet Dent.* 1993 Feb; 49(2) :210-211.
8. Powers JM, Sakaguchi RL. Craig's restorative dental material, 12th ed. USA: Mosby; 2006, Chap 12:269-312.
9. Block SS. Disinfection, sterilization, and preservation, 5th ed. USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2001, Chap 15:321-337.
10. Samaranayake LP, Hunjan M, Jennings KJ. Carriage of flora on irreversible hydrocolloid and elastomeric impression material. *J Prosthet Dent.* 1991 Feb; 65(2):244-9.
11. Tobias RS, Browne RM, Wilson CA. An in vitro study of the antibacterial and antifungal properties of an irreversible hydrocolloid impression material impregnated with disinfectant. *J Prosthet Dent.* 1989 Nov; 62(5): 601-605.
12. Flanagan DA, Palenik CJ, Setcos JC, Miller CH. Antimicrobial activities of dental impression materials. *Dent Mater.* 1998 Nov; 14(6):399-404.
13. Cserna A, Crist RL, Adams AB, Dunning DG. Irreversible hydrocolloids: A comparison of antimicrobial efficacy. *J Prosthet Dent.* 1994 Apr; 71(4):387-389.
14. Wang J, Wan Q, Chao Y, Chen Y. A self-disinfecting irreversible hydrocolloid impression material mixed with chlorhexidine solution. *Angle Orthod.* 2007 Sep; 77(5): 894-900.
15. McNeill MR, Coulter WA, Hussey DL. Disinfection of irreversible hydrocolloid impressions: A comparative study. *Int J Prosthodont.* 1992 Nov-Dec;5(6):563-7.
16. Muller-bolla M, Lupi-pegorier L, Velly AM, Bolla M. A survey of disinfection of irreversible hydrocolloid and silicone impressions in European Union dental schools (epidemiologic study). *The Int J Prosthodont.* 2004 Mar-Apr;17(2):165-71.