

## مقایسه روش‌های مختلف ضد عفونی کردن فضای داخلی دندان‌ها جهت استفاده در آموزش پری کلینیک

دکتر مهدی تبریزی‌زاده\* - دکتر سید محمد ابریشم<sup>†</sup> - دکتر فرانک دهقان مروستی\*\*

\*دانشیار گروه اندودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد

\*\*دندانپزشک

**Title:** Comparison of different techniques for disinfection of teeth internal space in preclinical teaching

**Authors:** Tabrizzadeh M. Associate professor\*, Abrisham M. Dentist, Dehghan Marvasti F. Dentist

**Address:** \*Department of Endodontics, School of Dentistry, Yazd Shahid Sadughi University of Medical Sciences

**Background and Aim:** Extracted teeth used in preclinic should be disinfected. The aim of this study was to evaluate the effects of some disinfectants on microorganisms cultured from pulp chamber of extracted teeth.

**Materials and Methods:** In this experimental study 54 intact human teeth were collected. After access cavity preparation,  $10^8$  B. streothermophilus endospores were inoculated into pulp chamber. Then cavities were sealed with a temporary restorative material. Teeth were divided into 5 groups of 10 each. The teeth were then stored in these disinfectants: 5.25% hypochlorite sodium, 5% Microten, 5% Deconex, 2% Glutaraldehyd, and 10% Formalin for 48 hours. Two teeth were autoclaved as negative controls and two were stored in normal saline as positive controls. The teeth were then sectioned in cervical area and cultured in Trypticase Soy Broth. After three days turbidity in tubes was evaluated. Statistical analysis was done by Fisher's exact test.

**Results:** None of these solutions were able to prevent microorganism growth in all samples; however, Formalin was better in six cases than that of other disinfectants. Differences between these five groups were not statistically significant ( $P=0.384$ ).

**Conclusion:** Sterilization of the teeth with autoclave is the only absolute method for disinfecting the root canals of extracted teeth and disinfectants are not reliable for this purpose.

**Key Words:** Tooth; Disinfection; Internal Space; Pulp Chamber

### چکیده

**زمینه و هدف:** دندان‌های مورد استفاده در دوره پری کلینیک، باید قبل از استفاده ضد عفونی شوند. هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر ضد میکروبی چند محلول ضد عفونی کننده مختلف بر روی میکروب کشت داده شده در اتاقک پالپ دندان‌های کشیده شده انسان بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه آزمایشگاهی ۵۴ دندان سالم کشیده شده انسان جمع‌آوری شد. پس از تهیه حفره دسترسی و خارج نمودن بافت پالپی از اتاقک پالپ،  $10^8$  اندوسپور باسیل استئاروترموفیلوس به داخل اتاقک پالپ تزریق شد و حفره دسترسی توسط ماده پر کننده موقت مهر و موم گردید. دندان‌ها به ۵ گروه ۱۰ تایی تقسیم شده و به مدت ۴۸ ساعت در هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪، میکروتین ۵٪، دکونکس ۵٪، گلوترآلدئید ۲٪ و فرمالین ۱۰٪ قرار گرفتند. دو دندان در اتوکلاو و دو دندان در نرمال سالین به عنوان کنترل منفی و مثبت گذاشته شدند. دندان‌ها پس از خارج نمودن از مواد ضد عفونی کننده، از ناحیه سرویکال دو نیم شده و قطعات تاجی به دست آمده در محیط کشت Trypticase Soy Broth قرار گرفتند و پس از ۳ روز، ایجاد کدورت (Turbidity) در لوله‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده با تست آماری Fisher's exact مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** هیچ یک از مواد ضد عفونی کننده قادر نبودند در تمامی موارد از رشد میکروبی جلوگیری کنند، هر چند که فرمالین با ضد عفونی نمودن ۶ دندان تأثیر بهتری از سایر مواد نشان داد. تفاوت بین ۵ گروه از نظر آماری معنی‌دار نبود ( $P=0/384$ ).

**نتیجه‌گیری:** اتوکلاو نمودن دندان‌های کشیده شده را می‌توان تنها روش قطعی نابود سازی میکروب‌های موجود در کانال ریشه دندان معرفی نمود و کاربرد مواد ضد عفونی کننده نمی‌تواند روش مطمئنی برای این کار باشد.

† مؤلف مسؤول: نشانی: یزد- انتهای خیابان امام- دانشکده دندانپزشکی- گروه آموزشی اندودنتیکس  
 تلفن: ۰۲۵۱-۶۲۱۲۲۲۲-۰۳۵۱ نشانی الکترونیک: smja\_first@yahoo.com

## کلید واژه‌ها: دندان؛ ضد عفونی کردن؛ فضای داخلی؛ اتاقک پالپ

وصول: ۸۸/۰۲/۱۵ اصلاح نهایی: ۸۸/۰۵/۲۹ تأیید چاپ: ۸۸/۰۶/۱۵

### مقدمه

دندانپزشکی برای توسعه و پیشرفت تکنیک‌ها و مهارت‌های بالینی مورد استفاده قرار می‌گیرد، در تماس هستند. سازمان‌های فوق‌الذکر پیشنهاد کرده‌اند که استفاده از اتوکلاو بهترین روش ضد عفونی کردن برای وسایل و موادی است که در معرض خون و بزاق بوده‌اند (۱). اما با وجود این، مشکلاتی در ضد عفونی کردن دندان‌های کشیده شده وجود دارد زیرا این دندان‌ها به شدت آلوده هستند و به علت ساختار آنها ضد عفونی کردنشان مشکل است و همچنین ممکن است ساختار آنها با ضد عفونی کردن تغییر کند (۷). علیرغم اهمیت زیاد مسئله ضد عفونی کردن دندان‌ها در مورد توانایی تأثیر محلول‌های ضد عفونی کننده بر روی آلودگی‌های داخل دندان مطالب چندانی در دست نمی‌باشد. با توجه به مسئله ذکر شده، هدف این مطالعه مقایسه تأثیر ضد میکروبی چند محلول ضد عفونی کننده رایج بر روی میکروارگانیسم‌های سطح داخلی دندان کشیده شده بود.

### روش بررسی

این مطالعه از نوع آزمایشگاهی بود. ۵۴ دندان سالم انسان که به دلایل پرپودنتال، ارتودنسی و جراحی کشیده شده بودند، جمع‌آوری گردیدند. معیار خروج نمونه‌ها از مطالعه وجود پوسیدگی بود. دندان‌ها تا زمان شروع مطالعه در سالی‌نرمال نگهداری شدند. پس از ایجاد حفره دسترسی اندودنتیک، بافت پالپی موجود در اتاقک پالپ دندان‌ها توسط excavator خارج شده و میزان ۰/۰۲ میکرولیتر از سوسپانسیون محتوی  $1 \times 10^8$  اندوسپور باسیلوس استاروترموفیلوس توسط سرنگ در داخل اتاقک پالپ قرار گرفت.

جهت آماده‌سازی محلول میکروبی، سوش استاندارد باسیلوس استاروترموفیلوس را که از مرکز مطالعات تحقیقاتی و پژوهشی علمی صنعتی تهران تهیه گردیده بود، در محیط بلاد آگار تلقیح کرده و در دمای ۶۰-۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ روز نگهداری شد.

در مرحله بعد حفره تهیه شده حاوی میکروب با قرار دادن یک پنبه و ضخامت حداقل ۴ میلی‌متر از ماده پر کننده موقت Coltosol (Coltone-Swiss) مهر و موم گردید. به منظور جلوگیری از نفوذ مواد

استفاده از دندان‌های کشیده شده در دوره پری کلینیک دندانپزشکی به منظور آموزش دانشجویان به خصوص در موارد آماده‌سازی کانال‌های ریشه، ترمیم تاج دندان، همچنین انجام مطالعات مربوط به ریزش مواد و بررسی قدرت چسبندگی کامپوزیت امری رایج می‌باشد. در این موارد دندان‌های کشیده شده معمولاً به علت جلوگیری از تغییر خصوصیات ساختمانی دندان در نرمال سالی‌ن نگهداری می‌شوند که عملاً محیط مناسبی برای رشد و تکثیر میکروبی می‌باشد.

این دندان‌ها از منابع نامشخص فراهم شده و در نتیجه استفاده کنندگان از آلودگی بالقوه این دندان‌ها به باکتری، ویروس و اسپور بی‌اطلاع هستند (۳-۱). میکروارگانیسم‌های موجود در بزاق و پالپ دندان قادر هستند مدت طولانی در دمای اتاق زنده بمانند، بنابراین نگهداری دندان‌های کشیده شده برای استفاده بعدی می‌تواند خطرناک باشد. ویروس هپاتیت B برای هفته‌ها و ویروس سل برای چند روز تا چند هفته و استرپتوکوک پیوژنیک برای ساعت‌ها تا روزها زنده می‌ماند (۱،۲). هرچند تاکنون هیچ گونه بیماری خونی که از طریق دندان کشیده شده منتقل شده باشد گزارش نشده است (۵، ۴)، ولی Pagniano و همکاران گزارش کردند که باکتری‌ها و قارچ‌های پاتوژنیک بالقوه مثل اسپرژیلوس به دنبال استفاده از دندان کشیده شده برای اهداف آموزشی قابلیت رشد مجدد را دارند (۶). همچنین خطر انتقال عفونت از طریق گسترش آئروسول‌ها و تماس مستقیم با پاتوژن از طریق زخم‌هایی که بطور تصادفی در دست بر اثر استفاده از وسایل ایجاد می‌شود وجود دارد. بنابراین باید روش مطمئنی برای ضد عفونی کردن دندان‌های کشیده شده در دسترس باشد.

انجمن دندانپزشکان آمریکا و مرکز کنترل بیماری‌ها خواستار حذف هرگونه میکروارگانیسم قادر به انتقال بیماری از وسایل غیر یکبار مصرف مورد استفاده در دندانپزشکی هستند. این مسئله مخصوصاً شامل وسایلی می‌شود که احتمال دارد با خون یا بزاق تماس داشته باشند. این نوع مایعات با دندان کشیده شده انسانی که بطور رایج در

جدول ۱- مقایسه فعالیت ضد میکروبی مواد ضد عفونی کننده مورد بررسی

گلوترآلدئید ۲٪		هیپوکلوریت سدیم ۵/۲۵٪		فرمالین ۱۰٪		دکونکس ۵٪		میکروتن ۵٪		مواد ضد عفونی کننده
تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	رشد میکروب
۵	۱۰	۸	۱۶	۴	۸	۵	۱۰	۷	۱۴	+
۵	۱۰	۲	۴	۶	۱۲	۵	۱۰	۳	۶	-

کشت، در گروه‌های فرمالین ۱۰٪، دکونکس ۵٪، گلوترآلدئید ۲٪، میکروتن ۵٪ و هیپوکلوریت سدیم ۵/۲۵٪، از ۱۰ نمونه کشت داده شده در هر گروه به ترتیب ۶، ۵، ۳، ۵ و ۲ مورد عدم کدورت دیده شد که به معنی از بین رفتن میکروب‌های قرار گرفته در دندان‌های مورد آزمایش بود (جدول ۱). این تفاوت در بین گروه‌های مختلف با توجه به تست Fisher's exact از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ( $P=0/384$ ).

انجام رنگ‌آمیزی گرم بر روی میکروب‌های موجود در کلونی‌های رشد کرده در محیط کشت جامد، تایید کننده وجود میکروب استاروتروموفیلوس و عدم وجود آلودگی میکروبی از محیط خارج بود. در مورد هر دو دندان قرار گرفته در اتوکلاو به عنوان کنترل منفی، عدم رشد میکروب در محیط‌های کشت دیده شد و دو دندان گروه کنترل مثبت که در نرمال سالین قرار گرفته بودند، هر دو رشد میکروبی را نشان دادند.

### بحث و نتیجه‌گیری

خطر انتقال عفونت از دندان‌های کشیده شده مورد استفاده دانشجویان دندانپزشکی و محققین بخصوص در اثر پراکنده شدن آئروسل در هنگام تهیه حفره وجود دارد.

تنها روش مؤثر پیشنهاد شده برای ضد عفونی کردن در این مطالعات (۴،۵،۸) استفاده از اتوکلاو می‌باشد که با توجه به نگرانی موجود از تغییرات خصوصیات فیزیکی دندان هنگام استریل نمودن با اتوکلاو، وجود یک ماده ضد عفونی کننده مؤثر از لحاظ بیولوژیک و راحت برای استفاده ضروری خواهد بود.

اغلب مطالعات انجام شده در مورد توانایی ضد عفونی کنندگی مواد، بر روی میکروب‌های در سطح می‌باشد و در مورد امکان از بین بردن میکروب‌های موجود در داخل اتاقک پالپ و کانال ریشه تحقیقات محدودی انجام شده است. در اینگونه مطالعات میکروب خاصی در

ضد عفونی کننده از طریق حفره دسترسی روی ماده پر کننده و ۲ میلی‌متر از حاشیه آن با دو لایه لاک ناخن پوشانده شد و دندان‌ها ۱۲ ساعت در سالین نرمال قرار داده شدند. در مرحله بعد برای بررسی اثر محلول‌های ضد عفونی کننده مورد بررسی، دندان‌ها به ۵ گروه ۱۰ تایی تقسیم شده و به مدت ۴۸ ساعت در ۱۵ میلی‌لیتر از محلول‌های هیپوکلوریت سدیم ۵/۲۵٪، فرمالین ۱۰٪، میکروتن ۵٪ و دکونکس ۵٪ و گلوترآلدئید ۲٪ به طور جداگانه غوطه‌ور شدند. دو دندان به عنوان کنترل مثبت در نرمال سالین و دو دندان نیز به عنوان کنترل منفی به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو با دمای C ۱۲۱ و با فشار ۲۰ psi قرار داده شدند.

در مرحله بعد دندان‌های قرار گرفته در محلول‌های ضد عفونی کننده و کنترل منفی و مثبت، خارج شده و توسط گاز استریل کاملاً خشک شدند. به منظور بررسی اثر ضد میکروبی در گروه‌های مختلف ابتدا تاج دندان‌ها با ایجاد شیار توسط دیسک در ناحیه CEJ و زدن ضربه به دو نیم شده و سپس قطعه تاجی بدست آمده در لوله آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌متر محیط کشت مایع (Trypticase Soy Broth) قرار گرفته و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۵۵ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. پس از این مدت محیط‌های کشت از لحاظ ایجاد کدورت (Turbidity) مورد بررسی قرار گرفتند. جهت شناسایی باسیلوس استاروتروموفیلوس و تایید عدم آلودگی میکروبی از محیط بیرون میکروب‌های به دست آمده از لوله‌های آزمایش در محیط‌های جامد (Nutrient Agar و Nutrient Broth) کشت داده شده و مورد رنگ‌آمیزی گرم قرار گرفتند. در نهایت نتایج به دست آمده با تست آماری Fisher's Exact مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

### یافته‌ها

طبق نتایج به دست آمده از این مطالعه با بررسی محیط‌های

جهت کنترل منفی در این مطالعه از اتوکلاو استفاده شد که با توجه به سایر مطالعات روش مؤثر و قابل اطمینانی برای استریل کردن داخلی دندان است (۲،۵،۸،۹). در مطالعه ما نیز هر دو نمونه کنترل منفی قرار گرفته در اتوکلاو استریل شده بودند و نشانه‌ای از رشد میکروبی در آنها دیده نشد.

طبق نتایج بدست آمده از مطالعه Schuster و Pantera (۴) پس از اتوکلاو نمودن، هیچ‌گونه جابجایی در ترمیم دندان‌ها و یا ترک خوردگی دیده نشد. Shaffer و همکاران (۷) نیز با بررسی سطح مینای دندان پس از اتوکلاو نمودن هیچ‌گونه تغییر مورفولوژیک مشخصی مشاهده نکردند و قدرت اتصال کامپوزیت به مینا نیز کاهش نیافته بود. بنابراین اتوکلاو را می‌توان به عنوان بهترین روش استریل کردن دندان‌ها معرفی نمود. تنها مشکل عنوان شده برای اتوکلاو بر اساس مطالعه White و Tate (۸) امکان آزاد شدن جیوه در دندان‌های ترمیم شده با آمالگام است که البته میزان مضر بودن آن نیاز به انجام بررسی بیشتری دارد.

در تحقیقات دیگر (۵،۸،۹) از بین مواد فوق، فرمالین بهترین اثر را داشت که با مطالعه حاضر همخوانی دارد. در مطالعه Dominici و همکاران (۵) فرمالین پس از یک هفته و در مطالعه White و Tate (۸) پس از دو هفته در تمامی موارد قادر به جلوگیری از رشد میکروبی بود. در مطالعه ما پس از زمان ۲ روز در ۶ مورد از ۱۰ دندان مورد بررسی کشت منفی دیده شد، که احتمالاً با افزایش زمان به یک یا دو هفته اثر بهتری قابل مشاهده بود. علیرغم استفاده از زمان یک هفته به بالا در مطالعات مشابه علت انتخاب زمان ۲ روز در مطالعه ما این بود که در مواردی ممکن است فرد محقق یا دانشجو نیاز فوری به استفاده از دندان کشیده شده داشته باشد. بنابراین باید اثر کوتاه مدت‌تر مواد نیز مشخص گردد. ضعیف‌ترین اثر ضد میکروبی در مطالعات دیگر متعلق به هیپوکلریت سدیم بوده است که با مطالعه حاضر همخوانی دارد (۴،۵،۸). با توجه به اینکه در مطالعه White و Tate (۸) اثر ضد عفونی کنندگی مواد مختلف بر روی میکروب‌های عادی موجود بر روی سطح دندان‌های کشیده شده نیز بررسی شده و در این مورد هم هیپوکلریت سدیم ضعیف‌ترین نتیجه را داشته، نمی‌توان هیپوکلریت سدیم را انتخاب خوبی برای ضد عفونی کردن دندان‌ها دانست. هر چند که مطالعات دیگری اثر مناسب NaOCl در ضد عفونی کردن سطوح را

داخل فضای پالپ قرار گرفته و چگونگی از بین بردن آنها مورد بررسی قرار می‌گیرد. مسئله مهمی که در این گونه مطالعات باید مورد توجه باشد این است که علاوه بر توانایی میکروب کشی مواد ضد عفونی کننده مورد استفاده، قدرت نفوذ آنها بداخل ریشه نیز از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد. زیرا ممکن است یک ماده ضد عفونی کننده قوی به علت عدم امکان نفوذ به داخل کانال قادر به از بین بردن میکروب‌ها نباشد.

به طور کلی مسیرهای نفوذ مواد به داخل فضای پالپ همانند نحوه ورود میکروب‌ها می‌تواند از طریق سوراخ شدگی موجود در سقف پالپ ناشی از پوسیدگی، توبول‌های عاجی و کانال‌های فرعی باز شده به سطح ریشه و همچنین اپیکال فورامن باشد، که احتمالاً در این بین مسیر اپیکال فورامن به علت وسیع‌تر بودن نقش مهم‌تری را ایفا می‌کند.

در مطالعه ما پس از تهیه حفره دسترسی و قرار دادن میکروب در کانال و گذاشتن پانسمن، روی آن با لاک پوشانده شد تا از ورود مواد ضد عفونی کننده از فضای بین پانسمن و دیواره کانال و همچنین نفوذ به داخل پانسمن جلوگیری گردد. زیرا در دندان‌های کشیده شده‌ای که قبل از تهیه حفره دسترسی در مواد ضد عفونی کننده قرار می‌گیرند، چنین مسیری برای نفوذ مواد وجود ندارد و بهتر است این مسیر با پوشانده شدن توسط لاک مسدود شود.

هر چند که مسیر اصلی نفوذ مواد ضد عفونی کننده، اپیکال فورامن به نظر می‌رسد ولی بهتر است مطالعاتی با استفاده از روش نفوذ رنگ برای بررسی بیشتر این مسئله صورت گیرد تا نفوذ مواد ضد عفونی کننده در توبول‌های عاجی و کانال‌های فرعی نیز مشخص گردد. زیرا اغلب دندان‌های مورد استفاده در پری کلینیک، دندان‌هایی هستند که به علت وسعت پوسیدگی کشیده شده‌اند و در این گونه موارد امکان نفوذ مواد از طریق محل پوسیدگی به داخل پالپ نیز وجود دارد. کاربرد مواد ضد عفونی کننده مخلوط شده با رنگ برای این کار به علت تأثیر ضد میکروبی خود رنگ‌های مورد استفاده، می‌تواند در نتایج مطالعه تأثیر گذار باشد.

مواد ضد عفونی کننده مورد استفاده در مطالعه ما شامل فرمالین، گلوتر آلدئید، هیپوکلریت سدیم، میکروتن و دکونکس بودند. علت انتخاب این مواد سهولت تهیه و رایج بودن کاربرد آنها در ایران بود.

نشان دادند (۱۳-۱۰).

- ۱- جهت اطمینان از استریل شدن کامل دندان باید از اتوکلاو استفاده نمود.
- ۲- غوطه‌ور ساختن دندان در فرمالین ۱۰٪ به مدت حداقل ۲ هفته می‌تواند باعث ضد عفونی شدن دندان‌ها گردد.
- ۳- دندان‌های ضد عفونی شده با فرمالین باید قبل از استفاده کاملاً زیر شیر آب شسته شوند تا از اثرات مضر احتمالی بخارات آلدئید جلوگیری گردد.
- ۴- انجام تحقیقات بیشتر جهت بررسی تأثیر مستقیم مواد ضد عفونی کننده بر روی میکروب‌های موجود در کانال دندان‌ها و همچنین مقایسه میزان نفوذ پذیری مواد ضد عفونی کننده به داخل پالپ توصیه می‌شود.

سؤال مهمی که پاسخ به آن نیاز به تحقیقات بیشتری دارد، این است که آیا میزان اثر ضد عفونی کننده مورد استفاده در این مطالعات ناشی از تفاوت توانایی نفوذ به داخل کانال دندان است یا به علت تفاوت در اثر ضد میکروبی مستقیم آنها بر روی میکروب‌های مورد استفاده در مطالعات. برای یافتن پاسخ این سؤال باید اثر ضد میکروبی مواد ضد عفونی کننده را بر روی میکروب‌های رایج موجود در کانال دندان به صورت مستقیم از طریق Agar diffusion assay یا روش‌های دیگر سنجیده و از طرف دیگر با تکنیک مناسب میزان نفوذ مواد ضد عفونی کننده مختلف به داخل کانال را مقایسه نمود. با توجه به نتایج بدست آمده از این مطالعه و تحقیقات مشابه می‌توان موارد زیر را توصیه نمود:

### منابع:

- 1- Aycock JE, Hill EE. Should preclinical typodonts be disinfected prior to grading? *J Dent Educ.* 2009; 73(1):133-6.
- 2- Kumar M, Sequeira PS, Peter S, Bhat GK. Sterilization of extracted human teeth for educational use. *Indian J Med Microbiol.* 2005; 23(4):256-8.
- 3- Weiger R, Lucena J, Decker HE, Lost C. Vitality status of microorganisms in infected human root dentine. *Int Endod J.* 2002; 35(2):166-71.
- 4- Pantera EA, Schuster GS. Sterilization of extracted human teeth. *J Dent Educ.* 1990; 54(5):283-5.
- 5- Dominici JT, Eleazer PD, Clark SJ, Staat RH, Scheetz JP. Disinfection/sterilization of extracted teeth for dental student. *J Dent Educ.* 2001; 65(11):1278-80.
- 6- Pagniano RP, Scheid RC, Rosen S, Beck FM. Airborne microorganisms collected in a preclinical dental laboratory. *J Dent Educ.* 1985; 49(9):653-5.
- 7- Shaffer SE, Barkmeier WW, Gwinnett AJ. Effect of disinfection/ Sterilization on invitro, enamel bonding. *J Dent Educ.* 1985; 49(9):658-9.
- 8- Tate WH, White RR. Disinfection of human teeth for educational proposes. *J Dent Educ.* 1991; 55(4):583-5.
- 9- Lee JJ, Nettey-Marbell A, Cook A Jr, Pimenta LAF, Leonard R, Ritter AV. Using extracted teeth for research: The effect of storage medium and sterilization on dentin bond strengths. *J Am Dent Assoc.* 2007; 138(12):1599-603.
- 10- Marchant VA. Dimensional Stability of reversible hydrocolloid impressions immersed in selected disinfectant solution. *J Am Dent Assoc.* 1989; 119(4):533-5.
- 11- Rudd RW, Sniq ES. Sterilization of material with sodium hypochlorite. *J Prosthet Dent.* 1989; 51(3):318-21.
- 12- Schwartz RS, Bradley DV Jr, Hilton TJ, Kruse SK. Immersion disinfection of irreversible hydrocolloid impressions. Part 1: Microbiology. *Int J Prosthodont.* 1994; 7(5):418-23.
- 13- Youn-ling NG, Sparatt d. Evaluation of protocols for fields Decontamination before bacterial sampling of root canals for contemporary microbiology technique. *J Dent Educ.* 2001; 29(5):126-8.