

Desinfección del hidrocoloide irreversible contaminado con *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans* al mezclarse con clorhexidina al 0,12%

DOI: 10.23857/dc.v3i1.242

Número Publicado el 15 de enero de 2017



Ciencias de la salud

Artículo Científico

Desinfección del hidrocoloide irreversible contaminado con *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans* al mezclarse con clorhexidina al 0,12%

Disinfection of irreversible hydrocolloid contaminated with Staphylococcus Aureus and Candida Albicans with 0.12% chlorhexidine

Desinfecção do hidrocolóide irreversível contaminado com Staphylococcus aureus e Candida albicans ao misturar-se com clorexidina 0,12%

Jenny K. Collaguazo-Artos ¹
jennysline01@hotmail.com

Juan A. Viteri-Moya ^{II}
javiteri@uce.edu.ec

Alexie E. Izquierdo-Bucheli ^{III}
eizquierdo@uce.edu.ec

Recibido: 12 de noviembre de 2016 * **Corregido:** 11 de diciembre de 2016 * **Aceptado:** 13 de enero de 2017

¹Odontóloga, Facultad de Odontología, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.

^{II}Docente, Facultad de Odontología, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.

^{III}Docente, Facultad de Odontología, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.

Desinfección del hidrocoloide irreversible contaminado con *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans* al mezclarse con clorhexidina al 0,12%

Resumen.

La impresión dental al entrar en contacto con saliva y en ocasiones sangre del paciente, está expuesta a patógenos responsables de contagio. **Objetivo:** El propósito del presente proyecto fue determinar la efectividad en la desinfección del hidrocoloide irreversible o alginato, contaminado con *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans* al mezclarse con clorhexidina al 0,12%. **Materiales y Método:** Estudio experimental, in vitro y comparativo, la muestra fue de 40 discos de alginato, divididos en 2 grupos de estudio (n=20). Se procedió a elaborar discos de alginato utilizando para ello clorhexidina al 0,12% y agua destilada estéril para la prueba control. Los microorganismos indicadores de desinfección son *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans*, los cuales fueron inoculados a 37 y 25 °C por 24 y 72 horas, respectivamente. Para el análisis de datos se utilizó el programa Microsoft Excel 2013 y el paquete estadístico SPSS statistics 23.0, se aplicó el test ANOVA de un factor. **Resultados:** Los discos de alginato elaborados con la sustancia desinfectante presentaron un halo de inhibición promedio de 2,85 mm en presencia del *Staphylococcus aureus* y 3,45 mm con *Cándida albicans*, a comparación de los formados por el grupo control que fueron de 0,05 mm con los dos microorganismos. **Conclusión:** La efectividad desinfectante en el hidrocoloide irreversible mezclado con clorhexidina al 0,12% después de ser contaminado con una bacteria y un hongo, es de grado 5 de acuerdo a la escala de inhibición, lo que indica un nivel de desinfección moderado.

Palabras clave: Desinfección; hidrocoloide irreversible; alginato; Clorhexidina; *Staphylococcus aureus*; *Cándida albicans*.

Desinfección del hidrocoloide irreversible contaminado con *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans* al mezclarse con clorhexidina al 0,12%

Abstract.

Dental impression upon contact with saliva and sometimes, patient's blood, is exposed to pathogens

Objective: The purpose of this project was to determine the effectiveness of disinfection of irreversible hydrocolloid or alginate, contaminated with *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* with 0.12% chlorhexidine. **Materials and Methods:** This is an In vitro and comparative experimental study with a 40 alginate disks sample, divided into 2 study groups (n = 20). Alginate disks were made using 0.12% chlorhexidine and sterile distilled water as controls. Disinfection microorganisms are *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*, which were inoculated at 37 and 25 ° C for 24 and 72 hours. For data analysis we used Microsoft Excel 2013 statistical package SPSS statistics 23.0 ANOVA test. **Results:** Alginate disks made with disinfectant substance had a halo of 2.85 mm in presence of *Staphylococcus aureus* and 3.45 mm with *Candida albicans*, compared to those formed by the control group which were 0, 05 mm with the two microorganisms. **Conclusion:** The disinfectant effectiveness in the irreversible hydrocolloid mixed with 0.12% chlorhexidine after being contaminated with a bacterium and a fungus, is a degree 5 according to the inhibition scale, with a moderate disinfection level.

Keywords: Disinfection; Irreversible hydrocolloid; Alginate; Chlorhexidine; *Staphylococcus aureus*; *Candida albicans*.

Desinfección del hidrocoloide irreversible contaminado con *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans* al mezclarse con clorhexidina al 0,12%

Resumo.

A Impressão dentária quando entrar em contato com a saliva ou sangue do paciente é exposta a agentes patogênicos responsáveis de infecções. **Objetivo:** O fim deste projeto foi determinar a eficácia na desinfecção do hidrocolóide irreversível ou alginato, contaminado com *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* quando misturado com clorexidina 0,12%. **Materiais e Métodos:** Estudo experimental, in vitro e comparativo, a amostra foi de 40 discos de alginato, divididos em 2 grupos de estudo (n=20). Procedeu-se a realizar discos de alginato utilizando para isso clorexidina 0,12% e água destilada estéril como controle. Os microrganismos indicadores de desinfecção foram *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*, os quais foram inoculados a 37°C e 25°C por 24 e 72 horas respectivamente. Para a análise de dados utilizou-se o software Microsoft Excel 2013 e o pacote estatístico SPSS 23.0, o teste de ANOVA foi aplicado. **Resultados:** Os discos de alginato realizados com substância desinfetante apresentaram halos de inibição com média de 2,85mm em presença de *Staphylococcus aureus* e 3,45mm com *Candida albicans*, comparados com dos grupo controle com média de 0,05mm com ambos microrganismos. **Conclusão:** A eficácia desinfetante no hidrocolóide irreversível misturado com clorexidina 0,12% após ser contaminado com bactérias e fungos é de classe 5, de acordo com a escala de inibição, o que indica um nível moderado de desinfecção.

Palavras chave: Desinfecção; hidrocolóide irreversível; alginato; clorexidina; *Staphylococcus aureus*; *Candida albicans*.

Introduccion.

En la práctica odontológica una de las actividades rutinarias es el procedimiento de toma de impresión dental, que es el acto de reproducir en negativo determinadas estructuras de la boca, para lo cual se utiliza diversos materiales de impresión con propiedades específicas de acuerdo a los requerimientos del profesional, que después de alcanzar cierta rigidez es llevado a la cavidad bucal con la ayuda de una cubeta, la misma que permitirá también remover el material después de cumplida su función. Finalmente se obtiene un modelo, posterior al vaciado del molde generalmente en yeso o materiales refractarios, teniendo con esto la reproducción en positivo de la región copiada.

(1)

En este procedimiento el material de impresión entra necesariamente en contacto con fluidos de la cavidad bucal del paciente como saliva y en ocasiones sangre, los que pueden contener agentes patógenos infecciosos que van desde virus potencialmente mortales como el VIH y hepatitis, hasta otros menos perjudiciales pero que en condiciones de vulnerabilidad pueden ser de igual peligrosidad, estos son hongos y bacterias como *Cándida albicans* y *Staphylococcus aureus*. (2,3)

Uno de los materiales utilizados para la reproducción en negativo de superficies es el hidrocoloide irreversible o alginato, que una vez gelificado por presentar una superficie irregular y poseer gran contenido acuoso lo convierte en un reservorio de microorganismos, provenientes del contacto con las estructuras de la boca. (4)

Según lo expuesto por Ribeiro et al (5), Órganos Internacionales como la Federación Dentaria Internacional (FDI), Asociación Dental Americana (ADA) y Asociación Dental Británica

Desinfección del hidrocoloide irreversible contaminado con *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans* al mezclarse con clorhexidina al 0,12%

(BDA), manifiestan que los materiales de impresión deben ser sometidos a desinfección antes de realizar el vaciado en yeso o ser enviados al laboratorio.

Sin embargo, el alginato se ve afectado por acción de la imbibición y sinéresis haciéndolo más propenso a modificaciones estructurales, por esta razón la desinfección se debe realizar con mayor cuidado en comparación con otros materiales que se utilizan para el mismo fin. (6)

Diferentes sustancias desinfectantes son aplicadas a las impresiones dentales, de dos maneras: Aspersión e inmersión, sin embargo, cada uno de estos métodos presentan ciertas desventajas en cuanto al hidrocoloide irreversible se refiere, como cambios dimensionales e insuficiente desinfección, respectivamente. (7) De acuerdo a lo anterior se crea la necesidad de seguir investigando una forma nueva o complementaria de desinfección, siendo la incorporación de un desinfectante a la mezcla con el alginato, en este caso clorhexidina, una opción prometedora. (8)

Por lo cual en este estudio se busca analizar el grado de efectividad *in vitro* de la clorhexidina al 0,12% como desinfectante del hidrocoloide irreversible contaminado con los microorganismos *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans*, al ser utilizada en la mezcla con el polvo de alginato en reemplazo del agua común, para la elaboración de impresiones dentales y de esta manera contar con una nueva alternativa de desinfección, basada en un criterio científico.

Materiales y métodos.

Estudio experimental, *in vitro* y comparativo. Se realizó 40 discos de alginato, divididos en 2 grupos, 20 con la sustancia desinfectante, clorhexidina y 20 con la sustancia control, agua destilada estéril, a su vez se volvió a dividir en dos grupos más, 10 fueron contaminados con una bacteria y 10

Desinfección del hidrocoloide irreversible contaminado con *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans* al mezclarse con clorhexidina al 0,12%

con un hongo. Los microorganismos utilizados, como indicadores de desinfección fueron cepas puras, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Cándida albicans* ATCC 1023.

Para obtener el porcentaje deseado de clorhexidina, que es 0,12%, se procedió a diluir la presentación de la misma al 2%, en agua destilada estéril. Posteriormente se realizó la mezcla con el polvo de alginato, cromático tipo I, tomando especial atención a las indicaciones recomendadas por el fabricante, tanto para el uso de los dispensadores como el tiempo de espátulado y gelación. El mismo procedimiento se efectuó con el agua destilada estéril, el material resultante se esparció sobre una matriz metálica con agujeros de 10 x 4 mm de diámetro.



Foto N° 1.- a) Paso del alginato a la matriz metálica. b) Desprendimiento de los discos una vez gelificado el material.

Desinfección del hidrocoloide irreversible contaminado con *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans* al mezclarse con clorhexidina al 0,12%



Foto N°.- 2 a) y b) Medida del disco 10 mm de circunferencia y 4 mm de altura.

Los medios de cultivo utilizados para la contaminación de los discos de alginato son agar *Tripticasa Soya*, para el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y agar *Sabouraud*, para *Cándida albicans*. La siembra se efectuó con la cantidad aproximada de 106 unidades formadoras de colonias/ml, para lo cual se comparó con la escala McFarland al 0,5. Por último se procedió a tapar las cajas, voltearlas y colocarlas en la incubadora a 37 °C (*Staphylococcus aureus*) y a 25°C (*Cándida albicans*) de 24-72 horas respectivamente.

Después del tiempo indicado cada caja fue examinada con una lupa, sobre un fondo negro, para verificar el crecimiento o no de microorganismos sobre y alrededor de los discos de alginato y en el caso de la presencia de halo, medir el diámetro de la zona de inhibición con la ayuda de una regla milimetrada. Para interpretar la efectividad lograda, se utilizó los criterios de la siguiente escala, sugerida por Casemiro L; et al, 2007. (9)

Desinfección del hidrocoloide irreversible contaminado con *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans* al mezclarse con clorhexidina al 0,12%


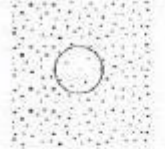
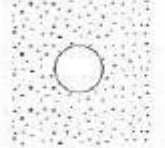
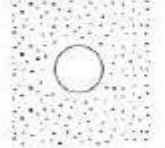
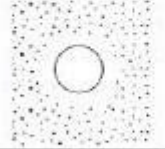


Scale	Schematic observation	Aspect of agar
1		Agar layer above the samples shows the same growth of the test bacteria as that of the surrounding agar.
2		On the agar layer above the samples a few colonies are observed. Inhibition of growth is comparable to that of the surrounding area.
3		No colonies observed on the agar above the sample.
4		There is a definite zone of inhibition around the sample no larger than 2.0 mm.
5		A zone of inhibition of 2.0-5.0 mm has developed around the sample.
6		A zone of inhibition of 5.0-10.0 mm has developed around the sample.
7		A zone of inhibition of more than 10.0 mm has developed around the sample.

Figura N° 1.- Escala de medición de la zona de inhibición

Resultados.

Se observan que todos los discos de alginato que tenían como componente, la sustancia desinfectante clorhexidina al 0,12%, presentaron halo de inhibición que en promedio para la bacteria *Staphylococcus aureus* fue de 2,85 mm y en comparación con los elaborados con agua destilada estéril, en cuyo caso uno solo presento zona de inhibición, dando como promedio 0,05 mm.

Desinfección del hidrocoloide irreversible contaminado con *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans* al mezclarse con clorhexidina al 0,12%

Muestras	Microorganismos	Discos de hidrocoloide irreversible con clorhexidina 0,12%	Discos de hidrocoloide irreversible con agua destilada estéril
		Medida del Halo (mm)	Medida del Halo (mm)
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	3,00	-
2	<i>Staphylococcus aureus</i>	2,50	-
3	<i>Staphylococcus aureus</i>	2,50	0,50
4	<i>Staphylococcus aureus</i>	3,00	-
5	<i>Staphylococcus aureus</i>	3,00	-
6	<i>Staphylococcus aureus</i>	3,00	-
7	<i>Staphylococcus aureus</i>	3,50	-
8	<i>Staphylococcus aureus</i>	3,00	-
9	<i>Staphylococcus aureus</i>	3,00	-
10	<i>Staphylococcus aureus</i>	2,00	-
		2,85	0,05

Tabla N° 1.- Medida del halo del Primer grupo-*Staphylococcus aureus*

En presencia del hongo *Cándida albicans* se obtuvo similares resultados a los mencionados anteriormente, todos los discos con clorhexidina al 0,12% formaron halo de inhibición que en

Desinfección del hidrocólido irreversible contaminado con *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans* al mezclarse con clorhexidina al 0,12%

promedio fue de 3,45 mm, no así el grupo control que únicamente la muestra 3 mostró zona de inhibición, obteniendo como promedio 0,05 mm.

Muestras	Microorganismos	Discos de hidrocólido irreversible con clorhexidina 0,12%	Discos de hidrocólido irreversible con agua destilada estéril
		Medida del Halo (mm)	Medida del Halo (mm)
1	Cándida albicans	3,00	-
2	Cándida albicans	3,00	-
3	Cándida albicans	3,50	0,50
4	Cándida albicans	3,50	-
5	Cándida albicans	4,00	-
6	Cándida albicans	3,00	-
7	Cándida albicans	3,50	-
8	Cándida albicans	3,50	-
9	Cándida albicans	4,00	-
10	Cándida albicans	3,50	-
		3,45	0,05

Tabla N° 2.- Medida del halo del segundo Grupo-Cándida albicans

Desinfección del hidrococoloide irreversible contaminado con *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans* al mezclarse con clorhexidina al 0,12%

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo	
					Límite inferior	Límite superior			
					Clorhexidina	<i>Staphylococcus aureus</i>			10
	<i>Cándida albicans</i>	10	3,4500	,36893	0,11667	3,1861	3,7139	3,00	4,00
	Total	20	3,1500	,48936	0,10942	2,9210	3,3790	2,00	4,00
Agua destilada estéril	<i>Staphylococcus aureus</i>	10	,0500	,15811	0,05000	-,0631	,1631	0,00	,50
	<i>Cándida albicans</i>	10	,0500	,15811	0,05000	-,0631	,1631	0,00	,50
	Total	20	,0500	,15390	0,03441	-,0220	,1220	0,00	,50

Tabla N° 3.- ANOVA

		Suma de cuadra	gl	Media cuadratic	F	Sig.
Clorhexidina	Entre grupos	1,800	1	1,800	11,782	0,003
	Dentro de grupos	2,750	18	,153		
	Total	4,550	19			
Agua destilada estéril	Entre grupos	0,000	1	0,000	0	1,000
	Dentro de grupos	,450	18	,025		
	Total	,450	19			

El valor de significancia P (0,003) < 0,05

Tabla N°4.- Resumen de contrastes de hipótesis ANOVA

Para la primera variable clorhexidina al 0,12%, el valor de significancia de P fue 0,003 menor a la probabilística de 0,05, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa. Sin embargo, en el caso de la segunda variable el valor de significancia obtenido (1,000) es mayor al valor máximo de P, motivo por el cual acepta la nula y rechaza la alternativa.

Desinfección del hidrocoloide irreversible contaminado con *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans* al mezclarse con clorhexidina al 0,12%



Figura N° 2 .- Cultivos con los discos de alginato más clorhexidina al 0,12% a la derecha, formando el halo de inhibición y discos con agua destilada estéril a la izquierda, sin presencia de halo.

Discusión.

En este proyecto investigativo *in vitro*, se optó por utilizar gluconato de clorhexidina a una concentración del 0,12%, utilizado comúnmente para enjuague bucal, tomando en cuenta como contaminantes del material de impresión, una bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y un hongo *Cándida albicans* ATCC 10231.

El porcentaje utilizado demostró causar desinfección en el hidrocoloide irreversible produciendo un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de los microorganismos considerados, formando halos de inhibición en todas las muestras con presencia del desinfectante, que en promedio para el *Staphylococcus aureus* fue: 2,85 mm y para la *Cándida albicans*: 3,45 mm.

Similares resultados fueron obtenidos en el estudio realizado por De Azevedo G; et al, 2014, (10), quienes utilizaron el mismo porcentaje de la sustancia desinfectante para la mezcla con el

Desinfección del hidrocoloide irreversible contaminado con *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans* al mezclarse con clorhexidina al 0,12%

alginato, procediendo a probarlo en paciente, con lo que se pudo observar la disminución de la carga microbiana, después del contacto del material de impresión con la cavidad bucal.

Por otro lado el grupo control que son discos de alginato elaborados con agua destilada estéril, presentaron mínima desinfección que en promedio para ambos microorganismos fue de; 0,05 mm. Resultados que coinciden con el estudio de Casemiro L; et al, 2007, (9) en los que también se registraron pequeñas zonas de inhibición en el grupo control. Esto se atribuye a la presencia de agentes químicos en el alginato que pudieran causar mínima inhibición. Lo que ocasionó, que de acuerdo a la escala ocupen rangos de entre 1 y 3, interpretándose como nivel NULO, MUY LEVE y LEVE de desinfección.

Se evidenció la existencia de un valor atípico, en las muestras número tres con los disco elaborado con agua destilada estéril, contaminados tanto con *Staphylococcus aureus* como con *Cándida albicans*; lo que significa que un dato de la muestra de 10 con cada microorganismo, presentó una medición del halo de inhibición que despunta a la media de los datos de muestra, evidenciando un valor de 0,5 mm (mayor al promedio). Dentro de esta investigación se consideró a este dato como parte de la normalidad, debido a que se trabajó con 10 repeticiones para cada microorganismo de estudio. Si el número de repeticiones aumente, este valor de lectura se duplicará en más placas y en una muestra más grande, el dato ya no se consideraría atípico.

El microorganismo que presento mayor sensibilidad en este estudio fue la *Cándida albicans*, sin embargo esto diverge del estudio de Casemiro L; et al, 2007, (9) quienes encontraron que el de mayor susceptibilidad era *Staphylococcus aureus*. Esto se puede explicar por el hecho de que las poblaciones bacterianas de la misma especie se comportan de manera diferente cuando se trata de

Desinfección del hidrocoloide irreversible contaminado con *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans* al mezclarse con clorhexidina al 0,12%

antimicrobianos, debido principalmente a la presencia de resistencia causada por mutación u otros mecanismos genéticos. No así, los presentes resultados concuerdan con los encontrados en la investigación de Alwahab Z, 2012, (7) en el que también destaca con mayor susceptibilidad la *Cándida albicans* en comparación con el *Staphylococcus aureus*.

En conclusión las medidas de los halos de inhibición que formó el desinfectante mezclado con el hidrocoloide irreversible, en los cultivos con los microorganismos, los ubicaron de acuerdo a la escala, en el rango número 5 que indica nivel de desinfección MODERADO. Comprobando con esto que la clorhexidina logra efectividad desinfectante en el hidrocoloide irreversible y corrobora a otros estudios que sugieren a este método de desinfección como eficaz para la eliminación de patógenos que se incorporan en el material, en el momento del procedimiento de toma de impresión dental, disminuyendo de esta manera el riesgo biológico que implica la manipulación del mismo.

Conclusiones.

En promedio la medida del halo de inhibición de crecimiento microbiano que se obtuvo alrededor del hidrocoloide irreversible mezclado con clorhexidina al 0,12%, fue de 2,85 mm para el *Staphylococcus aureus* y 3,45 mm en el caso de la *Cándida albicans*, que acorde a la escala de inhibición los ubica en el rango 5, lo que se traduce en un nivel moderado de desinfección.

Para los discos de hidrocoloide irreversible mezclados con agua destilada estéril, la media estadística fue 0,05 mm, que los ubicaron en el grado 1, 2 y 3, esto de acuerdo a la escala de inhibición se interpreta como nivel nulo, muy leve y leve de acción desinfectante.

Desinfección del hidrocoloide irreversible contaminado con *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans* al mezclarse con clorhexidina al 0,12%

Los discos que contenían la sustancia desinfectante, clorhexidina al 0,12%, mostraron mayor nivel de desinfección en comparación con los elaborados con agua destilada estéril.

Bibliografía.

1. Mezzomo E. *Materiales y técnicas de impresión*. 1st ed. Brasil: AMOLCA; 2010.
2. Egusa H, Watamoto T, Matsumoto T, Abe K, Kobayashi M, Akashi Y, et al. Clinical Evaluation of the Efficacy of Removing Microorganisms to Disinfect Patient-Derived Dental Impressions. *Int J Prosthodont*. 2008 Noviembre; 21(6): p. 531–538.
3. Dasgupta D, Sen S, Ghosh S, Bhattacharyya J, Goel P. Effectiveness of Mouthrinses and Oral Prophylaxis on Reduction of Microorganisms Count in Irreversible Hydrocollo Impression: An In Vivo Study. *J Indian Prosthodont Soc*. 2013 Diciembre; 13(4): p. 578–586.
4. Cortesi V. *Manual práctico para el auxiliar de odontología*. 1st ed. Barcelona: Elsevier España, S.L.; 2008.
5. Ribeiro da Cunha Peixoto R, Haueisen H, Amêndola P, Martins L, Valente P, Rodrigues V, et al. Análisis de la eficacia de agentes químicos de desinfección en materiales elastoméricos. *Acta Odontol. venez*. 2007; 45(1): p. 29-32.
6. Goncalves J, Silva J, Borges A, Salazar S, Uemura E. Evaluación de la alteración dimensional de modelos de yeso resultante de la desinfección de la impresión con alginato. *Acta Odontol. venez*. 2012; 50(1): p. 1-5.
7. Alwahab Z. Comparison of antimicrobial activities and compressive strength of alginate impression materials following disinfection procedure. *J Contemp Dent Pract*. 2012 July-August; 13(4): p. 431-435.
8. Acevedo A, Acosta L, Morales C, Castaño V. Citotoxicidad y efecto antifúngico de nanopartículas de plata para uso odontológico. *Mundo Nano*. 2012 julio-diciembre; 5(9): p. 68-76.
9. Casemiro L, Panzeri F, Panzeri H, Gomes C, Yoko I. In vitro antimicrobial activity of irreversible hydrocolloid impressions against 12 oral microorganisms. *Braz Oral Res*. 2007 Diciembre; 21(4): p. 323-329.
10. De Azevedo G, Valentin F, Camacho G, Leite F, Cenci M, Pereira-Cenci T. Antibacterial Efficacy and Effect of Chlorhexidine Mixed with Irreversible Hydrocolloid for Dental Impressions: A Randomized Controlled Trial. *Int J Prosthodont*. 2014 Junio; 27(4): p. 363-365.