

Çürüklü İnsan Dişlerinin Derin Plak Floralarının Araştırılması

INVESTIGATION OF THE DEEP PLAQUE FLORA OF HUMAN CARIOUS TEETH

Aykut MISIRLIGİL*, Nur GÜNYAKTI**

ÖZET

Amaç: Yeni bir örnek alma tekniği kullanarak, çürüklü insan dişlerinin derin plak floralarının aerop ve anaerop olarak araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod: Toplam olarak 50 hastadan, diş çekimlerine müteakiben alınan plak örneklerinin ince kesitleri, özel olarak yapılmış bir metal delici üzerine yerleştirilmiş ve bu alet kullanılması ile alınan örnekler, bakteriyolojik incelemeye tabi tutulmuştur.

Bulgular: Diş plağı örneklerinin 47 tanesinde *Streptococcus sanguis* ürediği görülerek, bu bakteri ortama en fazla hakim bakteri türü olarak tanımlanmıştır. *Streptococcus*'ların haricinde, 2. en fazla üreme, *Actinomyces viscosus*, 34 kereyle olmak üzere diğer *Actinomyces* türlerinde görülmüştür. Anaerop bakteriler içinde de, *Veillonella*'lar 35 diş plağı örneğinden izole edilmiş ve etken mecburi anaerop bakteri olarak tanımlanmıştır.

Sonuç: Çevre şartları ile etkilenmeden, diş plaklarının en alt tabakalarından örnek alma konusunda yeni düşünülen bu yöntemle, çürüklü insan dişlerinin derin plak mikroorganizmalarının, aerop ve anaerop olarak tanımlanması ve ayırımlarının daha net olarak ortaya konulabileceği gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Dental plak, Bakteriyojoloji

SUMMARY

Purpose: The purpose of this study was to evaluate the deep plaque flora of human carious teeth, by using a new developed sampling technique both aerob and anaerobically.

Materials and Methods: Human teeth carefully extracted under local anaesthesia from total 50 patients, and their plaque specimens are obtained by using this new sampling technique, and their bacteriological examinations are made.

Results: Cultural data demonstrated that, the majority of predominant flora was composed of *Streptococcus sanguis* (grown in 47 of the total dental plaque specimens). Second prevalent bacteria found to be the *Actinomyces* species, especially *Actinomyces viscosus* (in 34 of the specimens). *Veillonella* type bacteria are isolated from 35 dental plaque specimens and identified as the most effective obligately anaerobe bacteria.

Conclusion: The results of this study revealed that, this newly developed sampling technique, is very effective in investigating the deep plaque flora of human carious teeth.

Key Words: Dental plaque, Bacteriology

GİRİŞ

Ağız florası son derece karışık bir yapıda olup, geniş bir bakteri tür grubunu içerir. Ağız hastalıklarının en önemlisi olan diş çürükleri ve periodontal hastalıklar ise, direk olarak diş plağı ile ilgilidirler ve mikroorganizmalar ile konakçı arasındaki dengenin bozulması ile meydana gelirler. "Dişlerin temizlenemeyen yüzeylerinde biriken, yumuşak, yapışkan ve kopması zor bakteriyel yığıntı" olarak tanımlanan diş plağı, ana madde olarak bakteri ve ürünlerinden meydana gelmektedir (1,2).

Geçtiğimiz yüzyılda, Miller Black ve Williams gibi araştırmacılar tarafından, dişler üzerindeki plak mevcudiyetinin önemi ve diş çürüklerindeki ana etiyolojik faktör olarak, bunların fonksiyonları belirtilmiştir (1,3). Ancak, bu mikrobiyal yığıntı henüz bugün bile tam olarak anlaşılabilmiş olup, pek çok laboratuvar da dün olduğu gibi

bugün de araştırma konusu olma özelliğini korumaktadır. Buna başlıca neden olarak, diş plağının, hem diş çürüklerinin hem de periodontal hastalıkların ana etiyolojik ajanı oluşu gösterilmektedir (4). Günümüzde, diş çürüklerine neden olan bakteriler konusunda az çok bir karara varılmış olmasına karşın, periodontal hastalıklara neden olan bakteri türleri konusunda henüz kesin bir görüş birliğine varılmamıştır.

Diş plağının bakteriyel içeriğini ortaya koyma bakımından geliştirilen araştırma yöntemlerinin büyük bir kısmı, geleneksel koloni sayma yöntemine dayanmaktadır (5-7). Karanlık alan mikroskopisi ve floresans antikor tekniği ile de bir kısım çalışmalar yapılmışsa da, bunlar çok ufak türlerle sınırlı kalmaktadır. Literatürde belirtilen ve diş plağının bakteri florasını ortaya koymada kullanılan bir diğer yöntemde, dişlerden invivo olarak, diş ipi, ekskavatör ve periodontal sondalar kullanarak kültür materyalinin alınmasıdır (8,9). Bu amaçla özel kürdan, eküvyon, özel enjektör iğneleri, kağıt uçlar, Hollenback ve Gracey küretleri, 29 mm'lik endodontik deliciler, endodontik Meillefert iğneleri, Hamilton enjektörleri ve lavaj

* Prof.Dr.Dr.A.Ü.Diş Hekimliği Fak. Temel Tıp Bilimleri A.B.D.,

** Prof.Dr.A.Ü. Diş Hekimliği Fak. Konservatif Diş Ted. A.B.D. ANKARA

tekniki, Titian yıldız küretleri ve kazıcılar kullanıldığı görülmektedir (1,10,11,12).

Bu yöntemlerin ise tamamının çeşitli komplikasyonları bulunmaktadır (13,14). Plâğın ve bakteri içeriğinin sayısal olarak ortaya konulmak istenmesinin en önemli komplikasyonunu, uygun bir homojenizasyonun yapılamaması ve bazı kültürü yapılması zor olan bakterilerin özel besi yerlerinde dahi üretilmeyerek gözden kaçırılması teşkil etmektedir. Bir diğer komplikasyonu da, bu yöntemlerde tükürük ve dolayısı ile ağız florasının temasının önlenememesidir. Yine, plâğın en alt tabakalarına ulaşılammakta ve örnekler plâğın ancak üst tabakalarından alınabilmektedir.

Halbuki, üzerinde diş plâğı bulunan çürüklü dişlerin dikkatli bir şekilde çekilmesi ve bunlardan elde edilecek kesitlerin derin tabakalarının bakteriyolojik incelemelerinin yapılması bizi kesin teşhise götürebilir. Diş çürükleri ve periodontal hastalıkların önlenmesi ise toplumumuz için büyük önem taşımaktadır. Çürüğü önleme konusunda etiyolojik ajanların tam olarak tespit edilmesi, çürüğün tedavisi için gerekli önlemlerin alınması bakımından çok önemlidir.

Bu çalışmada, bu amaç ile, çevre şartları ile etkilenmeden örnek alma konusunda yeni düşünülen bir yöntem kullanarak, çürüklü dişlerin derin plak mikroorganizmalarının, aerop ve anaerop olarak tanımlama ve ayırmaları ortaya konulmaya çalışılmıştır.

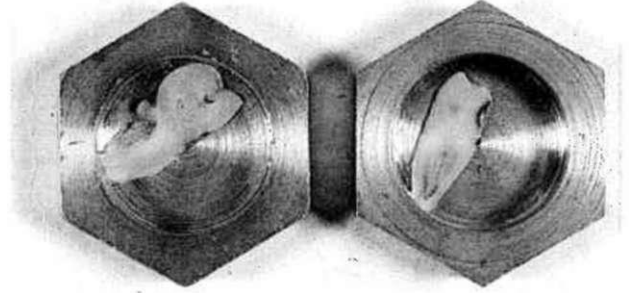
MATERYAL VE METOD

Materyalimiz, Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesinin çeşitli kliniklerine başvuran 50 hastayı içermektedir. Hasta grubunun 15'ini kadın 35'ini de erkek hastalar oluşturmuş olup, yaş ortalamaları 26-71 (ortalama 42.2 yaş) arasında değişmekte idi.

Hastalar rutin tedavileri ile sorumlu bulunan kliniklerce yapılan radyolojik incelemeler, vitalite ve diğer klinik testler sonucu çekim teşhisi konularak, dişlerinin çekimine karar verilenler arasında seçildiler. Hastalara yöneltilen sorularla en son 3 ay içinde kendilerine periodontal küretaj veya operasyon yapıp yapılmadığı ve yine son 3 ay içinde herhangi bir antibiyotik veya ağız antiseptiği kullanıp kullanmadıkları sorularak, olumsuz cevap verenler araştırma grubuna dahil edildiler.

Araştırmanın başarısının ve sonuçlarının sağlıklı olmasının büyük ölçüde ilgili bölgelerden kontamine olmadan materyal alınmasına bağlı olması bakımından, bu hastaların diş çekimleri, saptanan günlerde, A.Ü.Diş Hekimliği Fakültesi'nin cerrahi kliniklerinde hep aynı hekimler tarafından gerçekleştirildi. Araştırmada, alt ve üst çene ayırımı yapmadan, sadece molar dişler ele alındı.

Lokal anestezi kullanarak çekilen dişler, çekilir çekilmez, içlerinde 10'ar ml. RPMI 1640 besi yeri (Difco Lab. Detroit, Michigan, USA) bulunan tüplere konulup süratle laboratuvara gönderildiler. O.D.T.Ü. Jeoloji Mühendisliği A.B.D., ince kesit laboratuvarında bulunan sert doku kesme aygıtı (Buehler Petro Thin, Thin

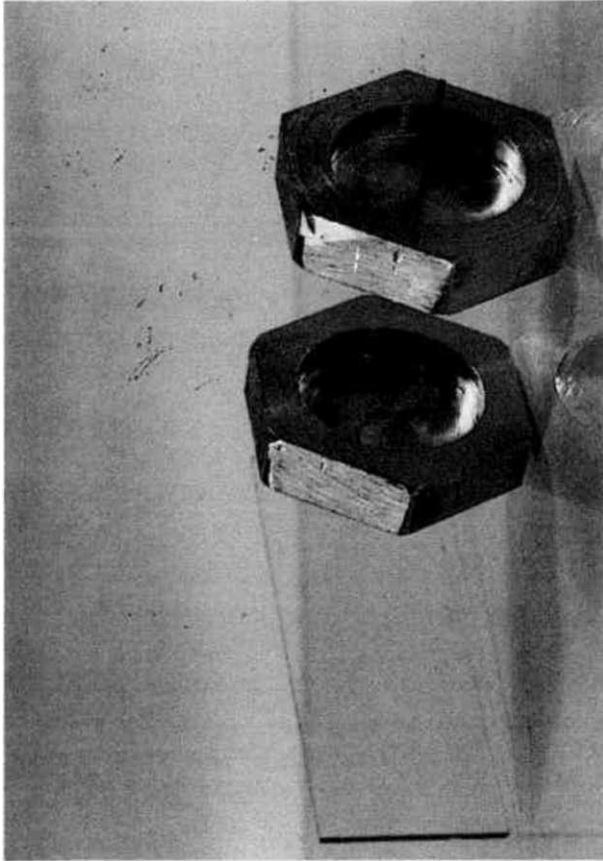


Resim 1. Araştırmamızda kullanılan metal aperey üzerine örnek almak için yerleştirilmiş diş kesitleri

Sectioning System, Buehler, Lake Bluff, Illinois, USA) ile bu dişlerin 250 um kalınlığında kesitleri alındı. Kesitli alınacak derin çürüklü ve plaklı molar dişler, dikine vaziyette aygıtta yerleştirildiler ve bir yandan distile su ile soğutulularak bu dişlerin vertikal yönde kesitleri alındı. Alınan kesitler, üzerinde steril su bulunan lam üzerine yine aseptik şartlarda yerleştirildiler. Bu kesitlerde, 10x ile ışık mikroskopunda incelenerek bakteriyolojik kültür alınacak alanları belirlendi.

250 um kalınlığında olup, derin plak floralarının incelenmesine karar verilen kesitler, özel olarak geliştirilmiş ve 1 cm. derinliğinde, 4 cm eninde ve boyunda metalden yapılmış delici üzerine yerleştirildi (Resim 1). 2 ayrı parçadan oluşan metal delicinin ortasında, 2 mm çapında bir delik bulunmakta idi. Bakteriyolojik örnek almadan önce, kullanılacak bütün metal parçaları, lamlar ve diğer malzemeler steril edildiler. Diş kesitlerinin bakteriyolojik örnek alınacak bölümü bu deliğin tam üzerine gelecek şekilde kaydırıldı (Resim 2). Metal delicinin üst kısmındaki parçadan uzatılan 2 mm çapında ve 4 cm uzunluğundaki çelik matkap ucu el kuvveti ile süratle bastırılarak, hızla kesiti delmesi ve plaktan yaklaşık 2 mm çapındaki bir parçanın tam deliğin altına yerleştirilen tübün içine düşmesi sağlandı. Alınan örnekler tüplerde bulunan %25 indirgenmiş ve içinde cysteine ile sodium thiosulphate bulunan 1 ml'lik Ringer's solüsyonu (Merck Laboratories, Darmstadt, Germany) içinde tutularak bir doku homojenizatöründe homojen hale getirildiler. Daha sonra plakta bulunan bütün bakterilerin besiyeri içinde dağılımını sağlama bakımından 60 sn. süre ile 7 derecede vortekslemeye tabi tutuldular. Bunlardan alınan materyal dört ayrı ekim yerine ekildi. Bunların ilk ikisini aerop ve anaerop plaklar, diğerlerini ise, bu vasatlarda herhangi bir üreme görülmemesi durumunda, yeniden ekim için kullanılacak et suyu ve kalp ekstresi besi yerleri oluşturuyordu.

Aynı diş plâğından alınan materyal vakit geçirmeden aynı anda aerop ve anaerop olarak plaklara ekildi. Aerop kültür plakları direk olarak etüve konulak 37°C'de



Resim 2. Metal aperey ve örneği delip aşağıya düşmesini sağlayan delici uç

48 saat bekletildiler. Anaerop plaklarda 3'er ve 7'şer günlük olmak üzere iki ayrı gruba ayrıldılar. Her iki anaerop plakta aynı anda, içlerinde %95 H₂ ile %5 CO₂'lik ortam sağlanan anaerop etüve (Dedeoğlu, Ankara) konuldular ve 37°C'de bekletildiler.

Anaerop plaklarda ilk grup 3.gün, 2.grup ise 7.gün sonunda 37°C'lik inkubasyonları sonu etüv olarak, aynı yolla kontrol edildiler. Sadece mecburi anaeroblara saptama bakımından saf kültürler, aynı koloniden, anaerop ve aerop olarak ayrı ayrı subkültüre edildiler. Tamamiyle negatif sonuç veren plaklar ise, çok yavaş üreyen anaerop mikroorganizmaları içerip içermediklerini saptama bakımından, yeniden anaerop etüve konularak 14 gün bekletildiler. Bu süre sonunda üreme göstermeyen plaklar atıldılar.

Saf kültürlerin tiplendirilimi ise, üreme ihtiyaçları, koloni şekil ve renkleri, morfolojileri ile gram boyamaları neticelerine göre yapıldı. Üreyen bütün bu mikroorganizmalar, Streptococcus, Staphylococcus, Gram (+), Gram (-) basil ve kok gibi gruplara ayrılarak daha ileri sınıflandırılmaları için testlere tabi tutuldular (15,16).

BULGULAR

Yeni bir örnek alma tekniği kullanarak çürüklü insan dişlerinin, derin plak florasını aerop ve anaerop olarak incelediğimiz araştırmamızda alınan ve üreme gösteren kültürlerden izole edilen gram (+) kok ve basil ile bunların izolasyon sayısı ve yüzdeleri, Tablo 1'de verilmektedir.

Alınan ve üreme gösteren kültürlerden izole edilen gram (-) kok ve basiller ile bunların izolasyon sayısı ve yüzdeleri Tablo 2'de verilmektedir.

Araştırmamızda incelenen toplam 50 vakada üreyen mecburi anaerop bakteriler ve üreme yüzdeleri Tablo 3'de verilmektedir.

TARTIŞMA

Diş plağının mikroflorası son derece karışıktır. Çeşitli araştırmacılar, diş plağında bulunan 70 tür bakteriyi tam olarak tanımlamakta birlikte henüz tam olarak tanımlanamayan 200'den fazla bakteri türü bulunduğunu da belirtmektedirler (1,17). Bu durum bize, bugün kul-

Tablo 1. Araştırmamızda izole edilen gram (+) kok ve basiller ile bunların izolasyon yüzdeleri

Bakteri türü	İzolasyon sayısı	%
Streptococcus sanguis	47	94
Streptococcus mitis (mitior)	40	80
Streptococcus mutans	34	68
Streptococcus milleri	11	22
Streptococcus salivarius	3	6
Actinomyces viscosus	34	68
Actinomyces naeslundii	32	64
Actinomyces israeli I	6	12
Actinomyces israeli II	22	44
Actinomyces odontolyticus	17	34
Actinomyces bovis	8	16
Lactobacillus acidophilus	25	50
Lactobacillus casei	16	32
Staphylococcus epidermidis	13	26
Staphylococcus aureus	4	8
Rothia dentocariosa	31	62
Bacterionema matruchotii	30	60
Peptostreptococcus anaerobius	12	24
Propionibacterium	3	6
Bifidobacterium dentium	2	4

Tablo 2. Araştırmamızda izole edilen gram (-) kok ve basiller ile izolasyon yüzdeleri

Bakteri türü	izolasyon sayısı	%
Neisseria pharyngis	33	66
Neisseria sicca	10	20
Neisseria subflava	8	16
Neisseria catarrhalis	35	70
Veillonella parvula	29	58
Prevotella melaninogenica	26	52
Prevotella oralis	19	38
Prevotella denticola	14	28
Porphyromonas gingivalis	6	12
Selenomonas sputigena	8	16
Fusobacterium nucleatum	4	8

Tablo 3. Araştırmamızda izole edilen mecburi anaerob bakteriler ve yüzdeleri

Bakteri türü	izolasyon sayısı	%
<i>Veillonella alcalescens</i>	35	70
<i>Bacterionoma matruchotii</i>	30	60
<i>Veillonella parvula</i>	29	58
<i>Prevotella melaninogenica</i>	26	52
<i>Prevotella oralis</i>	19	38
<i>Prevotella denticola</i>	14	28
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	12	24
<i>Selenomonas sputigena</i>	8	16
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	7	14
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	6	12
<i>Fusobacterium polymorphum</i>	4	8
<i>Propionibacterium</i>	3	6
<i>Bifidobacterium dentium</i>	2	4

landığımız yöntemler çerçevesinde, pek çok bakterinin üretilmediğini ve daha iyi kültür yöntemlerine -özellikle anaerob- ihtiyaç duyduğumuzu göstermektedir. Diş plağından izole edilen pek çok bakteri de tam olarak sınıflandırılmamakta ve bu nedenle isimlendirilememektedir (17).

Diş çürüklerinin oluşumunun önlenmesinde ise, çürüğe birinci derecede yol açan diş plaklarının içeriklerinin tam olarak bilinmesi elzemdir (18). Çünkü, diş plağı meydana gelmeden, diş çürüğünün oluşması da düşünülemez. Bir etkeni, bir hastalığı, elimine etmek istersek, buna yol açan faktörler en başta bütün açıklığı ile bilinmeli ve tedavisi ona göre planlanmalı, koruyucu önlemler alınmalı veya aşısı geliştirilmelidir.

Diş plağı florasının incelenmesi ise, günümüzde kliniklerde rutin olarak kullanılmayan, çok zaman alıcı, pahalı bakteriyolojik besi yerlerine ve titiz çalışma yöntemlerine ihtiyaç gösteren bir işlemdir.

Araştırmacıların büyük bir kısmı, bu konuda kullanılan yöntemlerin önemli bir bölümünün, birbirlerinin aynı olup, kusursuz hedefe ulaşmada yetersiz kaldığını ve diş plağının bakteriyolojik içeriğinin ortaya konulmasında, gerek örnek alma, gerekse alınan örneklerin nakil edilip anaerob ortamlar sağlanarak zaman geçirmeden çeşitli uygun besi yerlerine ekimleri ve üretilmeleri, gerekse sınıflandırılmaları konusunda, yeni tekniklere ihtiyaç duyulduğunu belirtmektedirler (19-22).

Diş plağının bakteriyel florasını inceleyen çeşitli araştırmacılar, burada ortama hakim bakteri türünün çeşitli gram (+) koklar olduğu konusunda birleşmektedirler (23). Oklusal fisurların ve derin diş çürüklerinin incelenmesinde de benzer sonuçlar alınmış ve *Streptococcus*'lar ortama en fazla hakim bakteriler olarak bulunmuşlardır (20,23).

Liljemark, Fenner ve Bloomquist (24) ile Nyvad ve Kilian (22), bu konuda yaptıkları araştırmalarda, inceledikleri diş plağı örneklerinde en fazla izole edilen bakteri türünün, *Str.sanguis*, *Str.mutans*, *Str.mitis* ve *Str.oralis* olduğunu, bunları *Actinomyces* ve *Neisseria* türlerinin takip ettiğini belirtmektedirler. Loesche ve ark. (23) ise yaptıkları bir epidemiyolojik araştırmada, *Str. mu-*

tans'ın diş plağından en fazla izole edilen bakteri türü olduğunu belirtmişlerdir.

Percival, Challacombe ve Marsh (25) tarafından 1991 yılında yapılan bir araştırmada ve Brown, Billings ve Kaster'in (20), araştırmalarında alınan plak örneklerinde en fazla bulunan bakteri türünün *Actinomyces*'ler olduğu belirtilmektedir.

Bu verilen örnekler ve diğer konu ile ilgili örneklerde görüldüğü üzere, diş plağının bakteriyel içeriği son derece komplekstir ve geniş, dağınık bir yelpazeyi kapsamaktadır (11). Geniş literatür taramamız sonucu, bir kısım araştırmacıların, diş plağından izole ettikleri bakteriler arasında 1.sırayı, *Str.mutans*, bir kısmında *Str.sanguis*, bir kısmında ise *Actinomyces*'lerin aldığı görülmektedir (19,22,25,26). Bu araştırmacıların bakteri izolasyon yüzdeleri, kendi geliştirdiğimiz yöntemle diş plağından izole ettiğimiz bakterilerin izolasyon yüzdeleri ile farklılıklar göstermekte ve literatürdeki bu tür araştırmalar konu edildiğinde, hiçbirinde bizim araştırmamızda izole ettiğimiz tür çeşitliliğinde aerob ve anaerob bakterilerin izole edilmediği görülmektedir (Tablo 1,2,3) (27).

Biz bu hususa neden olarak, ilgili dişlerden ve civar dokulardan kontamine olmadan, yeni düşünülen bu yöntemle kültür örneklerini almamızı, bunların ekimlerinde yeni, zenginleştirilmiş ve seçici bakteriyolojik besi yerlerini kullanmamızı ve titiz anaerob şartlar altında, kurallarına uygun olarak çalışmamızı gösterebiliriz.

KAYNAKLAR

1. Ang Ö: Ağız Mikrobiyolojisi. 3.Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, s.17, 1990
2. Murray PP, Drew LW, Koyabashi GS, Thompson JH: Medical Microbiology. St Louis: Mosby Co, s.279, 1990
3. Noite WA: Oral Microbiology, 4th ed. St Louis: Mosby Co, S.111, 1982
4. Beighton D, Lynch E: Comparison of selected microflora of plaque and underlying carious dentine associated with primary root caries lesions. *Caries Res* 29:154, 1995
5. Mundorff-Shrestha SA, et al: Cariogenic potential of foods. *Caries Res* 28:106, 1994
6. Forss H, Nase L, Seppä L: Fluoride concentration, mutans streptococci and lactobacilli in plaque from old glass ionomer fillings. *Caries Res* 29:50, 1995
7. Sigurjons H, Magnusdottir MO, Holbrook WP: Cariogenic bacteria in a longitudinal study of approximal caries. *Caries Res* 29:42, 1995
8. Watanabe K, Fromme! TO: Detection of *Porphyromonas gingivalis* in oral plaque samples by use of the polymerase chain reaction. *J Dent Res* 72:1040, 1993
9. Renvert S, Wikström M, Helmersson M, Dahlen G, Claffey N: Comparative study of subgingival microbiologic sampling techniques. *J Periodontol* 63:797, 1992
10. Christersson LA, Zambón JJ, Genco RJ: Dental bacterial plaques, Nature and role in periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 18:441, 1991
11. Mısırlıgil A: Yeni bir örnek alma tekniği kullanarak çürüklü insan dişlerinin derin plak floralarının aerob ve anaerob olarak araştırılması. Doktora tezi. Ankara Üniv Sağlık Bilimleri Enstitüsü, s.1, 1994

12. Weiger R, Netuschil L, Brex M: Relationship between bacterial counts, microbial vitality and the accumulation of supragingival dental plaque in humans. *J Periodont Res* 27:575, 1992
13. Wennerholm K, et al: The tooth pick method In relation to other plaque sampling techniques for evaluating mutans streptococci. *Eur J Oral Sci* 103:36, 1995
14. Bollen CM, et al: Specimen collection in dental plaque and oral microbiology. *Rev Beige Med Dent* 49:44, 1994
15. Nester W, Roberts CE, Nester MT: *Microbiology*. Dubuque-Iowa, Wm C Brown Publishers, s.218, 1995
16. Buchanan RE, Gibbons NE: *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 9th ed. Baltimore: Williams and Wilkins Co, s.55, 1984
17. Hardie JM: Oral microbiology, current concepts in the microbiology of dental caries and periodontal disease. *Br Dent J* 172:271, 1992
18. Gregory WA: Microbiology of the mouth. *JADA* 123:12, 1992
19. Theilade E: Sampling, cultivation and identification of microorganisms from dental plaque. *Dtsch Zahnarztl Z* 39:611, 1984
20. Brown LR, Billings RJ, Kaster AG: Quantitative comparison of potentially cariogenic microorganisms cultured from non-carious and carious root and coronal tooth surfaces. *Infection and Immunity* 51:765, 1986
21. Zambon JJ, Reynolds HS, Genco RJ: Studies of the subgingival microflora in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *J Periodontal* 61:699, 1990
22. Nyvad B, Kilian M: Microflora associated with experimental root surface caries in humans. *Infection and Immunity* 58:1628, 1990
23. Loesche WJ, Eklund S, Earnest R, Burt B: Longitudinal investigation of bacteriology of human fissure decay. *Infection and Immunity* 46:765, 1984
24. Liljemark WF, Fenner LJ, Bloomquist CG: In vivo colonization of salivary pellicle by haemophilus, Actinomyces and Streptococcus species. *Caries Res* 20:481, 1986
25. Percival RS, Challocombe SJ, Marsh PD: Age related microbial changes in the salivary and plaque microflora of healthy adults. *J Med Microbiol* 35:5, 1991
26. Bowden GHW, Hardie JM, Slack GL: Microbial variations In approximal dental plaque. *Caries Res* 9:253, 1975
27. Ahmady K, Marsh PD, Newman HN, Bulman JS: Distribution of Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus at sub-sites in human approximal dental plaque. *Caries Res* 27:135, 1993

Yazışma Adresi: Aykut MISIRLİGİL
Ankara Üniv. Diş Hekimliği Fakültesi
Temel Tıp Bilimleri A.B.D., Beşevler/ANKARA