

HOLLANDA'DA YAŞAYAN 3-6 YAŞ GRUBU TÜRK ÇOCUKLARINDA TÜKÜRÜKTE MUTANS STREPTOKOKLARI VE LAKTOBASİLLER İLE DİŞ PLAĞINDA MUTANS STREPTOKOK TÜRLERİNİN DAĞILIMI

Ali Rıza Alpöz¹ MJM Schaeken² Cemal Eronat³

Yayın kuruluşuna teslim tarihi : 20.1.1995

Yayına kabul tarihi : 27.11.1995

Özet

Bu çalışmada, Hollanda'nın Nijmegen şehrinde yaşayan 3-6 yaş grubu arasında ve süt dişi dentisyonundaki 20 Türk çocuğunda, tükürükte mutans streptokokları ve Laktobasil seviyeleri ile diş plağında mutans streptokok grubu bakterilerin türlerinin dağılımı araştırıldı.

Ayrıca mutans streptokok grubu çürük yapıcı bakteriler için seçici besiyerleri olan TYC, TYCSB ve TSY20B agarlar, Streptococcus mutans ve Streptococcus sobrinus türlerinin kantitatif sayımları açısından kendi aralarında karşılaştırıldılar.

Tükürük örnekleri, ağız boşluğunda mutans streptokok grubu bakterilerin sayısının saptanması açısından, diş plağı örneklerinden daha fazla bakteri sayımı yapıldığı için daha güvenilir sonuçlar verdiler. Mutans streptokokları, tükürük örneklerinde % 70, Labial yüzlerdeki diş plağında % 50 ve ön ara yüzlerde % 40 olarak bulundu.

dmfs skorları ile gerek tükürük, gerekse diş plağında mutans streptokok ve Laktobasil sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir bağlantı saptanmadı ($p>0.05$).

Üç farklı seçici besiyeri mutans streptokokları grubuna ait bakteri türlerinin saptanması ve ideal üremeyi vermesi açısından birbirlerinden çok farklı sonuçlar vermediler. Diş plağı örnekleri içinde en yaygın olarak saptanan tür S. mutans olarak bulundu. S. mutans'ın, diş plağında izolasyon sıklığı % 50 olarak saptanırken, bu oran S. sobrinus için % 15 idi.

Anahtar sözcükler : Tükürük, diş plağı, Mutans streptokokları, Laktobasiller, seçici besiyeri.

MUTANS STREPTOCOCCI AND LACTOBACILLI LEVELS IN SALIVA AND DISTRIBUTION OF MUTANS SPECIES IN DENTAL PLAQUE AMONG 3-6 YEAR-OLD TURKISH CHILDREN LIVING IN THE NETHERLANDS

Abstract

Mutans streptococci and Lactobacilli levels in saliva and distribution of mutans species in dental plaque were determined in twenty, 3 to 6 year-old Turkish children living in the Netherlands. In addition, three different media (TYC, TYCSB and TSY20B) which serve as selective media for mutans streptococci, were compared for the determination of the best recoveries of species Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus.

The higher isolation frequencies in saliva samples indicated that they were more sensitive than plaque samples in detecting mutans streptococci in the oral cavity. Mutans streptococci were discovered in 70 % of the saliva samples and in 50 % of the samples from smooth surfaces and in 40 % of the samples from anterior interdental surfaces. Lactobacilli were found in saliva samples of 25 % of the children. The correlation between dmfs scores and mutans streptococci as well as between dmfs and Lactobacilli counts in saliva were not found statistically significant ($p>0.05$).

No significant differences were found between S. sobrinus counts on the three different media. S. mutans was the most prevalent type in the plaque samples but S. sobrinus was also isolated. Isolation frequency of S. mutans in plaque samples was 50 % and for S. sobrinus 15 %.

Key words : Saliva, dental plaque, mutans streptococci, Lactobacilli, selective medium.

1 Dr E Ü Diş Hek Fak Pedodonti Anabilim Dah

2 Dr Nijmegen Üniversitesi Diş Hek Fak, Koruyucu Diş Hekimliği ve Oral Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Hollanda

3 Prof Dr E Ü Diş Hek Fak Pedodonti Anabilim Dah

GİRİŞ

Mutans streptokokları ve Laktobasiller ile çürük prevalansı arasında pozitif bir bağlantı bulunduğu pek çok araştırmacı tarafından gösterilmiştir (9,11,29).

Mutans streptokoklarının, çürük etiyojisi üzerindeki rolleri geniş olarak araştırılmış ve son yıllarda mutans streptokoklarının tükürük içindeki yoğunluğunun, diş çürüğüne yatkınlığın saptanması açısından önemli bir kriter olduğu bulunmuştur (3). *S. mutans* ve *S. sobrinus* bakterileri mutans streptokokları grubunda yer alan ve insanlardan en sıklıkla izole edilen türleridir (6).

Çocuklar doğdukları günden itibaren bu bakterilerle aileleri tarafından enfekte edilebilmektedirler (12,13).

Bu çalışmanın amacı Hollanda'nın Nijmegen şehrinde yaşayan 3-6 yaş grubu arasındaki sütte diş dentisyonundaki Türk çocuklarında tükürükte mutans streptokokları ve Laktobasiller'in yoğunluğu ile diş plağında mutans streptokok sayıları ve türlerinin araştırılması idi.

GEREÇ VE YÖNTEM

Yaşları 3 ile 6 arasında değişen (ortama yaş 5.5) 20 çocuk (9 kız ve 11 erkek) bu çalışmada yer aldı. Çocuklar Hollanda'nın Nijmegen şehrinde yaşıyorlar ve 6 aylık düzenli aralarla Nijmegen Çocuk Diş Sağlığı merkezini ziyaret ediyorlardı.

Muayene ve örnek alma işlemleri esnasında ailelere, mutans streptokokları ve laktobasiller'in diş çürüğünün oluşumu ve gelişmesindeki rolleri hakkında bilgi verildi. Çalışma grubumuzdaki hiç bir çocukta ağız ortamına açık durumda bir çürük kavitesi bulunmamaktaydı ve sadece 6 çocukta birinci daimi molar sürmüştü. Bakteriyojik işlemler için tükürük ve diş plağı örnekleri ilk randevuda ve sabah kahvaltısından ortalama iki saat sonra alındı. Tükürük ve diş plağı toplama işlemine geçmeden önce dmfs skorları kaydedildi. Skorların kaydı, reflektör ışığı altında, hava spreyi, muayene aynası ve dikkatle kullanılan bir sond yardımıyla gerçekleştirildi (28).

Bu çalışmada Hollanda'nın Nijmegen şehrinde yaşayan 3-6 yaş grubu arasındaki Türk çocuklarında tükürükte mutans streptokokları ve Laktobasiller'in yoğunluğu, diş plağında mutans streptokok sayıları ve türleri araştırılmış, bunlara ek olarak ağız mikrobiyolojisinde mutans streptokok grubu bakterilerin üremesi için kullanılan

TYC (25), TYCSB (26) ve TSY20B (22) agar isimli besiyerleri en iyi üremeyi verme açısından kendi aralarında karşılaştırılmıştır.

Örneklerin toplanması ve bakteriyolojik işlemler :

Mutans streptokokları ve Laktobasiller'in kantitatif tayini için yaklaşık 1 ml stimüle edilmiş tükürük toplandı. Küçük çocuklarda parafin ile stimüle edilmiş tükürük örneği almak zor olduğu için çalışmamızda tükürüğe temas ettirilerek doymuş hale getirilen pamuk pellerde küçük steril bir cam deney tüpü içinde toplanarak sıkıştırıldı ve yaklaşık 1 ml tükürük elde edildi. Pamuk pellerle tükürük toplanırken pamuğun diş yüzeylerine temas ettirilmemesine dikkat edildi.

Literatürde, tükürük mutans streptokok sayımları sıklıkla düşük ($0-10^4$), orta (10^4-10^6) ve yüksek ($<10^6$) olarak, Laktobasiller ise düşük ($0-10^3$), orta (10^3-10^4) ve yüksek ($>10^5$) olarak 3 kategoriye ayrılmaktadır (11,14,20).

Tükürük örnekleri alındıktan sonra üst ön dişler hava spreyi ile kurutuldu ve santral kesicilerin ara yüzlerinden ve kaninlerin mezyal yüzlerinden mumsuz diş ipi ile diş plağı örnekleri alındı.

Labial yüzlerden ise diş plağı steril bir kürdan ile alındı ve alınan tüm plak örnekleri içinde 1 ml steril skim-milk¹ bulunan küçük plastik tüplere aktarıldılar. Plak ve tükürük örnekleri Kontes celi disruptor² cihazı ile 20 saniye süreyle, 0°C'de homojenize edildiler ve otomatik homojenizasyon cihazı kullanılarak distile su ile onar kez sulandırıldılar. Sulandırılmış örneklerden, otomatik pipet yardımı ile 25µl'lik miktarlar, diş plağı örnekleri için kanlı agar ve TSY20B (22) agara, tükürük örnekleri ise; Rogosa seçici Lactobacillus (SL) (Difco) agar (21) ve TSY20B agara ekildiler. Alınan tüm örnekler en geç 2 saat içinde gerekli laboratuvar işlemlerine tabi tutularak besiyerlerine ekildiler. Ekimleri yapılmış olan besiyerleri 37°C'de % 91 N₂, % 5CO₂ ve % 4 H₂'den oluşan ortam içinde kanlı agarlar 2 gün, Rogosa ve TSY20B agarlar ise 5 gün boyunca enkübe edildiler.

Mutans streptokokları'nın diş plağı örneklerinden izolasyonu için ideal üreme ortamı vermesi açısından üç farklı besiyerinin karşılaştırılması işlemi:

1 (0032-01-1, Difco Lab, Detroit, Michigan, USA).

2 (K-9110001, Vineland, USA).

- 80°C'de skim-milk içinde saklanan diş plağı örnekleri, daha sonra tekrar homojenize edilerek 25 µl'lik miktarlar *S. mutans* ve *S. sobrinus*'un kantitatif tayinlerinin yapılması amacıyla TYC (25), TYCSB (26) ve TSY20B (22) besiyerlerine ekildiler. TYC agar 1 litrede; 15 g Bacto-Casitone (Difco), 5 g yeast-extract (Difco), 0.2 g L-cystine, 0.1 g Na₂SO₃, 1 g NaCl, 2 g Na₂HPO₄ 12 ag, 2 NaHCO₃, 20 g sodium acetate 3 ag, 50 g sucrose ve 15 g agar içermekte, TYCSB agarda ise TYC agarın içeriğine ek olarak 50 g sucrose yerine 200 g sucrose ve 0.1 unit/ml basitrasin (Sigma) bulunmaktadır. TSY20B agar; 40 g trypticase soy agar (Difco), 5 g bacto agar (Difco), 10 g yeast-extract (Difco), 200 g sucrose ve litre başına 3 mg (66 IE/mg) (sigma) basitrasin'in 100 ml distile su içinde karışımından oluşmaktadır. Yukarıda bahsedilen aynı gaz ortamı altında beş gün boyunca enkübasyondan sonra üç farklı besiyeri üzerindeki mutans streptokokların aynı kişi tarafından stereomikroskop altında sayımları yapıldı. Literatürde TYC, TYCSB ve TSY20B agarlar üzerinde *S. sobrinus*'un koloni etrafında beyaz hale yaparak ürettiği belirtilmektedir (22). Çalışmamızda *S. mutans* ve *S. sobrinus* bakterileri, besiyeri üzerindeki koloni morfolojilerine göre ayırd edilerek sayılmışlardır. Morfolojik üreme özelliğine göre tanınamayan bakteri kolonilerinden aynı gün içinde kanlı agara pasaj yapıldı ve saf kültürleri elde edildikten sonra enzimatik, biyokimyasal bir metod olan API 20 STREP³ sistem kullanılarak bakterinin türü belirlendi.

İstatistiksel değerlendirme:

Elde edilen tüm bakteriyolojik sayımlar istatistiksel analiz öncesi bilgisayara işlenerek Log¹⁰ değerlerine dönüştürüldü. Böylece sayısal değerler arasındaki büyük farklılıklar normalize edildi (22). t-testi, Pearson correlation ve spearman correlation gruplar arasındaki karşılaştırmalar ve bağlantılar için uygulandı.

BULGULAR

Çalışmamızda mutans streptokokları tükürük örneğinde %70, labial yüzdeki diş plağında %50 ve üst anterior ara yüzde %40 oranında saptandılar.

Tablo 1'de çalışmamızda yer alan çocukların üç kategoriye ayrılmış dağılımları görülmektedir.

Tablo 1. Çalışmamızda yer alan çocukların tükürük ve diş plaklarında ki mutans streptokoklarının ve Laktobasillerin sayımlarına göre düşük, orta ve yüksek kategorilerine göre dağılımı ve diğer araştırmaların bulgularıyla karşılaştırılması

	Alpöz ve ark. (Bu çalışma)		Roeters J. (20) (1992)		Malee ve erk. (18) (1985)	
	n	%	n	%	n	%
Mutans streptokokları						
Tükürük örnekleri	20		235		144	
İzolasyon sıklığı		70		43		100
Düşük (0-10 ⁴)	12	60	166	74.8	23	15
Orta (10 ⁴ -10 ⁶)	6	30	30	13.3	99	70
Yüksek (>10 ⁶)	2	10	29	13	22	15
Diş plağı örnekleri						
İzolasyon sıklığı	20	225		31		
Düşük (0-10 ⁴)	13	65	182	77.5		
Orta (10 ⁴ -10 ⁶)	4	20	20	8.5		
Yüksek (>10 ⁶)	3	15	33	14		
Laktobasiller						
Tükürük örnekleri	20		225			
İzolasyon sıklığı		25		11.5		
Düşük (0-10 ³)	15	75	211	93.8		
Ort (10 ³ -10 ⁴)	4	20	12	5.3		
Yüksek (>10 ⁵)	1	5	2	0.9		

Laktobasiller'in tükürükten izolasyon sıklığı %25 olarak bulunurken, tükürükteki yoğunlukları açısından çocukların %75'i "düşük seviye" (0-10³) kategorisinde yer aldılar (Tablo 1).

Tablo 2'de, *S. mutans* ve *S. sobrinus*'un diş plağından izolasyon sıklıkları görülmektedir. *S. sobrinus*'un pozitif olduğu diş plağı örneklerinin hepsi arayüzlerden alınmış plak örnekleriydi ve bu yüzlerde *S. sobrinus*, *S. mutans* ile beraber bulunmaktaydı.

Tablo 2. Diş plağı örneklerindeki *S. mutans* ve *S. sobrinus*'un üç farklı besiyeri üzerindeki izolasyon sıklıkları ve ortalama sayımları (ortalama logaritmik sayım (±) standart dağılım)

	TSY20B	TYCSB	TYC
<i>S. mutans</i> sayısı	2.5 ± 0.6 % 50	2.4 ± 0.6 % 50	1.8 ± 0.6 % 40
<i>S. sobrinus</i> sayısı	0.4 ± 0.3 % 15	0.4 ± 0.2 % 15	0.4 ± 0.3 % 10
Mutans streptokokları sayısı (<i>S. mutans</i> + <i>S. sobrinus</i>)	2.9 ± 0.9 % 50	2.8 ± 0.9 % 50	2.2 ± 0.9 % 40

Çalışmamızda dmfs skorları ile tükürük mutans streptokokları ve Laktobasil sayımları arasındaki bağımlı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p>0.05).

Buna rağmen tükürükteki mutans streptokoklar sayımları ile diş plağındaki mutans strep-

Tablo 3. Diş plağı ya da tükürükte *S. sobrinus*'un izolasyon sıklıkları

Araştırmacılar	Çocukların Milliyeti	Çocukların Sayısı	Yaş Grubu (yıl)	<i>S. sobrinus</i> 'un (%) olarak izolasyon sıklığı
Masuda ve ark* (17)	Japon	22	0.4 - 1.1	96
Alaluusua ve ark** (1)	Finlandiyalı	47	5	0
Alpöz ve ark** (Bu çalışma)	Türk	20	3 - 6	15
Holbrook ve Beighton*** (7)	İzlandalı	95	6	34.7
Hamada ve ark**** (6)	Japon	29	3 - 10	10
de Soet ve ark* (24)	Hollandalı	72	9	35
Killian ve ark* (10)	Tanzanyalı	15	12	17

Streptococcus sobrinus'un tanımlamasında;

(*) İmmunofloresan antikor tekniği,

(**) Besiyeri üzerinde tipik koloni morfolojisi tekniği,

(***) Spesifik antiserum tekniği,

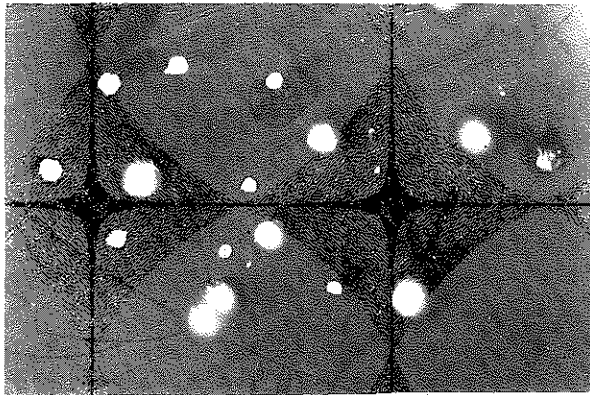
(****) Agar-jel immünodifüzyon tekniği kullanılmıştır.

tokok sayımları arasında anlamlı bir bağıntı bulunmaktaydı ($p < 0.01$).

Labial yüzdeki mutans streptokoklarıyla apoksimal yüzdeki mutans streptokokları arasında ($p < 0.01$) ve tükürükteki Laktobasiller ile mutans streptokokları arasında da yine anlamlı bir bağıntı saptandı ($p < 0.05$).

TYC, TYCSB ve TSY20B agarlar üzerindeki mutans streptokokları sayımları arasında anlamlı bir fark saptanamazken ($p > 0.05$) koloni etrafında beyaz hale yaparak üreyen *S. sobrinus* bakterilerine ait tipik kolonilerin TYCSB ve TSY20B agarlar üzerinde TYC agara göre çok daha belirgin olduğu ve çıplak gözle dahi ayırd edilebildiği görüldü. Fotoğraf 1'de TSY20B agar üzerinde koloni etrafında beyaz hale yaparak üreyen *S. sobrinus* kolonileri ile hale yapmadan üreme yapan *S. mutans* kolonileri birarada görülmektedir.

Resim 1.



S. sobrinus'un izolasyon sıklığı TSY20B ve TYCSB agarlar üzerinde %5 olarak saptanırken, TYC agar üzerinde %15 olarak bulunmuştur (Tablo 2).

TARTIŞMA

3-6 yaş grubu arasındaki Türk çocuklarında saptadığımız mutans streptokoklarının izolasyon sıklığı aynı klinikde Hollandalı çocuklarda bulunan değerlerle (20) karşılaştırıldığında, nispeten yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 1).

Tükürükde %25 olarak saptadığımız Laktobasiller'in oranında Roeters'in (20) bulduğu değere göre (%11.5) yüksek olduğunu gördük. Hem bizim çalışmamız hem de Roeters'in çalışması aynı Çocuk Diş Sağlığı merkezinde aynı klinik ve laboratuvar yöntemleriyle yapılmıştır (Tablo 1).

Grindejord ve ark. (5) bir çalışmalarında İsveçli olan ve olmayan ailelerin çocuklarındaki mutans streptokoklarının sayılarını araştırmışlardır. Büyük çoğunluğu Türk olan, İsveçli olmayan ailelerin çocuklarında mutans streptokoklarının yüksek oranda izole edildikleri (%22) gösterilmiştir. Kanımızca, tüketilen karbonhidratı yiyeceklerin sıklığı mutans streptokoklarının tükürük ve diş plağında sayıca artmalarına neden olduğu için toplumlar arasında farklı izolasyon sıklıkları bulunmaktadır. Şüphesiz ki ailelerin eğitim seviyesi ile doğru orantılı olan, çocuklardaki diş fırçalama alışkanlığı da bu bakterilerin izolasyon sıklığı değerlerini etkilemektedir. Bizim çalışmamızda bulduğumuz mutans streptokoklarının izolasyon sıklıkları, benzer çalışmalar yapmış

araştırmacıların bulguları ile benzerlik göstermektedir (11,19).

Tükürükde saptanan mutans streptokoklarının sayıca diş plağındakilerden daha fazla oluşu, tükürük örneklerinin mutans streptokoklarının ağız boşluğunda kantitatif olarak saptanmaları açısından daha duyarlı olduğunu göstermektedir (12,18).

Ön ara yüzlerden aldığımız diş plağı örneklerindeki mutans streptokoklarının sayısı, Labial yüzlerden alınan örneklerdekiilerden daha az bulundu. Araştırmacılar (1,15), posterior ara yüzlerden mutans streptokoklarını daha fazla sayıda izole etmişlerdir. Bu bulgunun bizim sonuçlarımız ile çelişmesi örnek alınan yerlerin farklı lokalizasyonlarda olması ile açıklanabilir.

Çalışmamızda, S. mutans diğer araştırmacıların (2,14) bulguları ile benzer olarak süt dişi dentisyonunda, mutans streptokokları içinde dominant bakteri olarak bulunmuştur. Daimi diş dentisyonundaki çocuklarda da aynı sonuçlar alınmıştır (4,13,19,23).

S. sobrinus'un diş plağından izolasyon sıklığını %15 olarak saptadık. Pek çok araştırmacı farklı ırk ve toplumlarda değişik tanımlama yöntemleri kullanarak çeşitli izolasyon sıklıkları bildirmişlerdir. Tablo3'de S. sobrinus'un diş plağı ya da tükürükten izolasyon sıklıkları görülmektedir. Tablo da da görüldüğü gibi değişik toplumlarda değişken sonuçlar alınabilmektedir ama kanımızca burada önemli olan nokta S. sobrinus'un çocuklarda hiç de küçümsenemeyecek miktarda diş plağı ya da tükürükte varolduğudur.

S. mutans'in oklüzal fissürlerden en sıklıkla izole edilen tür olmasına rağmen, S. sobrinus ara yüzlerden fissürlere oranla daha sıklıkla izole edilmektedir ve bu bulgular her iki bakterinin

ağızda farklı yerleşim bölgelerini seçtiğini göstermektedir (8,17).

Çalışmamızda S. sobrinus'un pozitif olduğu tüm diş plağı örneklerinin arayüzlerden alınmış örnekler olması bu bulguyu desteklemektedir.

TYCSB (26) ve TSY20B (22) agarlar S. mutans için olduğu kadar S. sobrinus içinde ideal bir üreme ortamı sağladılar (Tablo 2).

Mitis Salivarius Basitrasin (MSB) agar, mutans streptokokları türlerinden S. sobrinus'un üremesi için ideal bir besiyeri olmadığından (16,22,26,27) çalışmamızda test edilmek amacıyla kullanılmamıştır.

Üç farklı besiyerinden elde ettiğimiz sonuçlar hazırlanması diğerlerine göre kolay ve basit olan TSY20B (22) agarın mutans streptokokların kantitatif ve kantitatif tayinleri için güvenle kullanılabileceğini göstermiştir.

dmfs skorları ile ağızdaki mutans streptokokları sayıları arasındaki bağmunun istatistiksel olarak anlamlı bulunmaması ($p>0.05$) örnek sayımızın nispeten düşük olmasına bağlanabilir. Fakat Matee ve arkadaşları da çalışmalarında (18), bizim bulgumuza benzer olarak dmfs skorları ile mutans streptokokları sayımları arasındaki bağmunun anlamlı olmadığını bildirmişlerdir.

Sonuç olarak, çürük mikrobiyolojisini ilgilendiren benzeri çalışmaların ülkemizde çok daha fazla sayıda çocuğun yer aldığı gruplarla yapılmasının, özellikle çocuklarımız arasında çok yaygın olan karbonhidrat tüketimi ve diş fırçalama alışkanlığının azlığı da gözönünde bulundurulduğunda oldukça ilginç sonuçlar verebileceği ve çürük bakteriyolojisi üzerine yapılan çalışmalara daha ileri boyutlar kazandıracığı kanaatindeyiz.

Teşekkür: Hollanda, Nijmegen Çocuk Ağız ve Diş Sağlığı Merkezi Şefi Dr. Jean Pierre van Tiel ve diş hekimi Cecile Ooms'a çalışmamızdaki yardım ve ilgilerinden dolayı teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Alaluusua S, Myllerniemä S, Kallio M: Streptococcus mutans Infection Level and Caries in a Group of 5-Year-Old Children. *Caries Res* 1989; **23**: 190-4.
2. Beighton D, Rippon HR, Thomas HEC: The Distribution of Streptococcus mutans Serotypes and Dental Caries in a Group of 5 to 8 Year - Old Hampshire coolchildren. *British Dental Journal* 1987; **162**: 103-6.

3. Bratthall D, Carlsson P: *Clinical Microbiology of Saliva in Tenovuo JO* (ed: Human saliva: Clinical Chemistry and Microbiology, Florida, ICRC Press, 1989, vo: 11,203-41.
4. Emilson CG: Prevalence of Streptococcus mutans with Different Colonial Morphologies in Human Plaque and Saliva. *Scand J Dent Res* 1983; **91**: 26-32.

5. Grindefjord M, Dahllöf G, Wikner S, Höjer B, Modéer T: Prevalence of Mutans streptococci in One Year - Old Children. *Oral Microbiol Immunol* 1991; **6**: 280-3.
6. Hamada S, Slade HD: Biology, Immunology and Cariogenicity of Streptococcus mutans. *Microbiological Reviews* 1980; **44**: 331-84.
7. Holbrook WP, Beighton D: Streptococcus mutans Levels in Saliva and Distribution of Serotypes Among 9-Year-Old Icelandic children. *Scand J Dent Res* 1986; **95**: 37-42.
8. Huis In't Veld J, Bannet D, Van Palenstein Heldeman W, Camargo PS, Backer D: antibodies Against Streptococcus mutans and Glucosyltransferases in Caries Free and Caries-Active Military Recruits *Adv Exp Med Biol* 1978; **107**: 369-81.
9. Ikeda T, Sandham HJ, Bradley ELJR: Changes in Streptococcus mutans and Lactobacilli in Plaque in Relation to the Initiation of Dental Caries in Negro children. *Archs Oral Biol* 1973; **18**: 555-66.
10. Killian M, Thylstrup a, Fejerskow O: Predominant Plaque Flora of Tanzanian Children Exposed to High and Low Water Fluoride Concentrations. *Caries Res* 1979; **13**: 330-43.
11. Klock B, Krasse B: Effect of Caries-Preventive Measures in Children with High Numbers of Streptococcus mutans and Lactobacilli. *Scand J Dent Res* 1978; **86**: 221-30.
12. Köhler B, Bratthal D: Intrafamilial Levels of Streptococcus mutans and Some More Aspects of the Bacterial Transmission. *Scand J Dent Res* 1978; **86**: 35-42.
13. Köhler B, Peterson BM, Bratthal D: Streptococcus mutans in Plaque and Saliva and the Development of Caries. *Scand J Dent Res* 1981; **89**: 19-25.
14. Köhler B, Andreen I, Jonsson B: The Earlier Colonization by Mutans streptococci, the Higher the Caries Prevalence at 4 Years of Age. *Oral Microbiol Immunol* 1988; **3**: 14-7.
15. Kristoffersson K, Gröndahl HG, Bratthal D: The More Streptococcus mutans the More Caries on Approximal Surfaces. *J Dent Res* 1985; **1**: 58-61.
16. Little WA, Korts DC, Thomson LA, Bowen WH: Comparative Recovery of Streptococcus mutans on Ten Isolation Media. *J Clin Microbiol* 1977; **5**: 578-3.
17. Masuda N, Tsutsumi N, Sobue S, Hamada S: Longitudinal Survey of the Distribution of Various Serotypes of Streptococcus mutans in Infants. *J Clin Microbiol* 1979; **10**: 497-502.
18. Matee MI, Mikx FHM, Frenken, JEFN, Truin, GJ, Puiken HMHM: Selection of a Micromethod and its use in the estimation of Salivary Streptococcus mutans and Lactobacillus Counts in Relation to Dental Caries in Tanzania. *Caries Res* 1985; **19**: 497-506.
19. Nutt G, Van Wyk CW: the distribution of Biotypes of Streptococcus mutans in Some Isolated Communities in the Western Cape. *J Dent Ass, Sout Africa* 1978; **33**: 585-9.
20. Roeters FJM: Prediction of Future. Caries Prevalence in Preschool Children. Dental Thesis. University of Nijmegen. The Netherlands, 1992.
21. Rogosa M, Mitchell JA, Wiseman RF: A Selective Medium for the Isolation and Enumeration of Oral Lactobacilli. *J Dent Res* 1951; **30**: 682-9.
22. Schaeken MJM, Van Der Hoeven JS and Franken HCM: Comparative Recovery of S. mutans on Five Isolation Media. Including a New Simple Selective Medium. *J Dent Res* 1986; **65**: 906.
23. de Soet JJ, Holbrook WP, Van Amerongen WE, Schipper E, Homburg CHE, de Graff J: Prevalence of Streptococcus sobrinus in Relation to Dental Caries in Children From Iceland and the Netherlands. *J Dent Child* 1990; **337**: 43.
24. de Soet JU, Van Loveren C, Lammens AJ, Pavić MJAMP, Homburg CHE, Ten Gate JM, de Graff J: Differences in Cariogenicity Between Fresh Isolates of Streptococcus sobrinus and Streptococcus mutans. *Caries Res* 1991; **25**: 116-22.
25. de Stoppelaar JD, Van Houte J, de Moor CE: The Presence of Dextran Forming Bacteria, Resembling Streptococcus bovis and Streptococcus sanguis in Human Dental Plaque. *Archs Oral Biol* 1967; **12**: 1199-201.
26. Van Palenstein Helderman WH, Ijsseldijk M, Huis In't Veld JHJ: A Selective Medium for the Two Major Subgroups of the Bacterium Streptococcus mutans Isolated From Human Dental Plaque and Saliva. *Archs Oral Biol* 1983; **38**: 599-603.
27. Wade WG, Aldred MJ, Walker DM: An Improved Medium for Isolation of Streptococcus mutans. *J Med Microbiol* 1986; **22**: 349-23.
28. World Health Organization (WHO): Oral Health Surveys Basic Methods Third Edition, Geneva, 1987.
29. Zickert I, Emilson GC, Krasse B: Correlation of Level and Duration of Streptococcus mutans Infection with Incidence of Dental Caries. *Infect Immun* 1983; **39**: 982-5.

Yazışma adresi:

*Dr Ali Rıza Alpöz
Ege Üniversitesi Diş Hekimliği
Fakültesi, Pedodonti Ana Bilim Dalı
Bornova - İzmir*