

Derin Dentin Çürüğünde Yıkım İle Mikroorganizmalardan Zengin Katmanların Mikromorfolojik ve Mikrobiyolojik Yöntemler İle İncelenmesi (*)

Fatma KORAY (***) — Özdem ANĞ (***) — Güven KARTOĞLU (****)

G İ R İ Ş

Literatür verileri ilk kez 1746 yılında Fauchard'ın (18) dentin çürüğü tedavisine bilimsel olarak yaklaştığını göstermektedir. Fauchard çürük kısımları iyice eğelenip temizlenmiş bir hasta dişin, doldurulduktan sonra kişiye yaşam boyunca bir sorun çıkarılmaksızın iş görebileceğini bildirmektedir. Daha sonra Sir John Thomas (1856'da çürüğün çok derin olduğu vakalarda çürük kısımların tümüyle çıkarılmasına çalışılırken, istenmeden pulpanın açılabilmesine işaret etmiştir. Sir John Thomas pulpanın zarara

(*) Bu araştırma «Hakkı Erkiner Vakfı»nın «1981 Atatürk Yılı Dişhekimliği Bilim Araştırma Ödül Yarışması»nda «Büyük Ödül»ü almıştır.

(**) Doç. Dr. med.dent. İ.Ü. Dişhekimliği Fak. Diş Hastalıkları ve Konservatif Diş Tedavisi Birimi Öğr. Üyesi.

(***) Prof. Dr. med. İ.Ü. Tıp Fak. Mikrobiyoloji, Tropikal Hastalıklar ve Parazitoloji Birimi Öğr. Üyesi.

(****) Dr. med.dent. İ.Ü. Dişhekimliği Fak. Mikrobiyoloji Birimi Öğr. Üye Yard.

uğraması söz konusu olduğunda kavite tabanında bir miktar hasta, yumuşak dentin bırakmanın dişin işlevini sürdürebilmesi açısından daha az sakıncalı olduğunu vurgulamıştır.

Çağdaş dişhekimliğinin kurucularından Black (5) ise 1908'de yayımlanan yapıtında konservatif tedavinin (operatif dentistri'nin) ana kurallarını koyarken, özellikle kavite tabanında çürük dentin bırakılmaması üstünde durmuş ve pulpanın açılması pahasına da olsa yumuşak çürük dentinin keskin bir ekskavatörle çıkarılması gerektiğini ileri sürmüştür. Ancak günümüzde derin dentin çürüğü tedavilerinde Black'ın kavite ilkelerine tümüyle uyulamamaktadır ve kimi zaman kavite tabanında yumuşak infekte dentin bırakılması zorunlu olmaktadır. Literatürde pulpanın açılmasının pulpa üstünde bir miktar yumuşak ve infekte dentin bırakılmasından daha sakıncalı olduğu görüşünü (55, 58, 60) indirekt kuaffajın böyle bir dentin üstüne uygulandığı ve sonuçlarının klinik açıdan değerlendirildiği çalışmalar desteklemektedir (6, 34, 41, 42, 53, 55, 58, 60, 75).

Pulpanın canlı ve sağlıklı olarak korunabilmesi için yumuşak dentin üstüne indirekt kuaffaj uygulamasını benimseyen kimi araştırmacılar, indirekt kuaffaj ile onarım dentini (reperatif dentin) yapımı sağlandıktan sonra kavitenin yeniden açılıp bu yumuşak ve infekte dentinin çıkarılmasını önerirler (55, 60). Klinisyenlerin çoğunluğu ise bu işlemin gereksiz olduğunu arada bırakılan dentinin pulpayı irkiltici bir etkisi olmadığını kanıtlamışlardır (6, 34, 41, 42, 53, 58, 75).

Yumuşak dentinin, mikroorganizmalardan zengin, demineralize bir dentin katmanı olduğu ince yapı araştırmaları ile gösterilmiştir (3, 23, 27, 28, 29, 36, 69). Çürüğün ilerlemesine yol açan ve pulpayı irkiltip pulpitis başlatan birçok olayın geliştiği bir çürük katmanın zorunlu olarak indirekt kuaffaj maddesi ve dolgu altında bırakıldığı durumlarda tüm doku yıkıcı ve pulpayı irkiltici olayların nasıl olup da durduğu birçok araştırmacının ilgisini çekmiştir. Kimi araştırmacılar, antiseptik özelliği olmayan bir dolgu maddesiyle kapatılan kavite tabanındaki çürük etkeni mikroorganizmaların akıbetlerini incelemeye yönelmişlerdir (4, 19, 20, 33, 43, 57, 59, 60, 61); kimileri ise kavite tabanına dolgudan önce kalsiyum hidroksit ve çinkooksit öjenol koymanın etkilerini de inceleme kapsamına katmışlardır (1, 14, 21, 33, 49, 59). Bir grup araştırmacı ise kavite tabanında bırakılan yumuşak dentin'in yapısındaki değişimleri incelemişlerdir (2, 13, 14, 37, 46, 48, 55).

Günümüze dek değişik boyutlarda yapılan çalışmalar, dentin çürüğü tedavisinde kavite tabanında bırakılan yumuşak dentin kat-

manındaki mikroorganizmaların çürüğü ilerletici etkinliklerinin durduğu ve kavite tabanında bir remineralizasyon, sertleşme olduğu doğrultusundadır. Biz de araştırmamızda derin dentin çürüğü tedavilerinde kavite tabanında bırakılan böyle bir infekte dentin dokusunu, gerek konak-mikroorganizma ilişkisi açısından gerekse buradan izole edilen mikroorganizmaların çeşitli in vitro koşullardaki davranış değişmelerini mikrobiyolojik yöntemler ve elektron mikroskobu ile incelemeyi ve indirekt kuafaj uygulamasından sonra mikroorganizmaların eylemlerini nasıl olup da sürdürmediklerini mikrobiyolojik ve mikromorfolojik bulgularımıza dayanarak yorumlamayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Mikromorfolojik incelemeler :

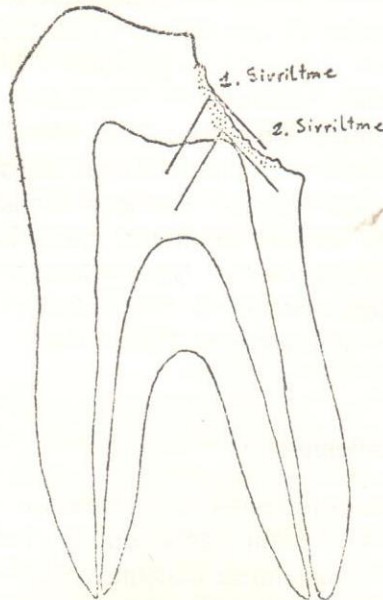
Araştırmamızda derin dentin çürüğü olarak tanımlanabilen ve kavite ağız geniş olan beş dentin çürüklü diş kullanıldı. Çekilen dişler glutaraldehit ve osmiümtetraoksit ile fikse edilip metakrilat içinde bloklandı. Bloklanmış dişlerden uzun eksenlerine paralel kesitler hazırlandı ve incelenecek bölgeler bioküler mikroskopta saptanarak buralardan yeniden jelatin kapsüller içinde bloklamalar yapıldı. Araştırmamızda üstünde durmak istediğimiz bölge olan yumuşak ve mikroorganizmalardan zengin katmanı preparatların ikinci sivriltme bölgelerinde aradık (Şekil 1). Preparatlar TM 60 C. Reichert trim aygıtında sivriltildiler. İncelenecek bölge olan ikinci sivriltmelerden L K B Ultramikrotome Main Unit Type 4801 A ultramikrotomu ile ultra ince kesitler alındı. Kesitler kurşun sitrat ve uranil asetat ile kontrastlaştırma yapılmaksızın Siemens Elmiskop I A tipi elektron mikroskopunda 80 KV'luk elektriksel gerilimle incelenip preparatların mikrofotografları çekildi. Çalışmaların bu bölümü «Abteilung für Mikromorphologie der Klinik und Polyklinik für Zahn, Mund-und Kieferkrankheiten (Fachbereich 7) der Freien Universität, Berlin» de yürütülmüştür.

Mikrobiyolojik incelemeler :

İ.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Diş Hastalıkları ve Konservatif Diş Tedavisi Kürsüsü'nde derin dentin çürüğü tedavisi gören hastalardan birinden steril koşullarda çalışmaya özen gösterilerek çıkarılan derin çürük katmanı glukozlu buyyon besiyeri içeren bir tüpe aktarılmıştır. Materyalin aerop ve anaerop koşullarda bakteriyolojik in-

celemesi İ.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Kürsüsü'nde yapılmıştır. İzole edilen bakterilerin karbonhidratlara etkisi %1 oranında glukoz, laktoz, maltoz, mannitol ya da sakkaroz içeren karbonhidratlı bromtimollü peptonlu su besiyerlerinde incelenmiştir (11). Bu besiyerlerine suşların 24 saatlik kültürlerinde ekim yapılmış ve 37 °C de bir hafta kontrol edilerek kültürlerde sararma olması besiyerinin içerdiği karbonhidrattan asit oluşturduğu anlamına değerlendirilmiştir. Mikroorganizmaların in vitro kalsifikasyon çalışması için izole edilen her bir suş, bir buyyon besiyeri içeren tüpte karıştırılmıştır. Bu karışım Oxoid DST agarına (Kod no CM 261) %5 tavşan kanı eklenerek hazırlanan bir Petriye yayılmış, aerop koşullarda bir gece 37 °C de bekletilmiştir. Agarın bol üreme gösteren bölümlerinden steril bir bistürü ile küçük parçalar kesilerek kalsifiye edici çözeltiye batırılmış, 37 °C de iki ve dört haftalık sürelerde bekletilmiştir. Kalsifiye edici çözelti (39) 0,04 M veronal tamponun bir litresinde 4,09 g. NaCl, 1,85 g. NaHCO₃, 0,55 g. Na₂HPO₄, 0,15 g. CaCl₂. 2H₂O, 0,35 g. KCl çözündürülerek, pH 7,0'ye ayarlanarak ve 0,22 milimikronluk milipore'dan süzülüp sterilize edilerek hazırlanmıştır.

İnkübasyon süreleri sonunda agar parçaları pH'sı 7,3 olan isotonic %1'lik Osmium tetroksit (OsO₄) çözeltisinde fikse edilip, aseton dizilerinde suyu giderilerek polyester grubundan Vestopal-W içine gö-



ŞEKİL 1 : Mikromorfolojik incelemelerde ultraince kesitlerin hazırlandığı yumuşak ve mikroorganizmalardan zengin katmanın saptanma bölgeleri.

mülierek boklanmıştır. İnce kesitler için LKB III ultramikrotomları kul-
lanılmış. Uranalasetat ve kurşun sitrat kontrast boyama uygulanmış-
tır. 400°—700° A arasındaki ince kesitler JEOL 100 C elektron mik-
roskopunda incelenmiş ve dereceli büyütmelerde mikrofotoğrafları
çekilmiştir. Çalışmanın bu bölümü İ.. İstanbul Tıp Fakültesi Histoloji
ve Embriyoloji Kürsüsünde yrtlmştır.

BULGULAR

Mikromorfolojik bulgular

Sağlıklı dentin : Normal sağlıklı dentinde tubulus lumeni boş olup
evresinde hipermineralize peritubuler dentin vardır. Peritubuler den-
tinde tek tek kristallitler görülememektedir. İntertubuler dentin alan-
lar peritubuler dentine oranla daha az mineralize olmuştur. İnce iğne
biçiminde kalsiyum hidroksiapatit kristalleri çoğunlukta olup tek tek
ayrıt edilebilmektedirler. Pek az sayıda hafif transparan yaprakçık
biçiminde oktakalsiyumfosfat kristalleri de gözlemlenebilmektedir
(Resim 1).

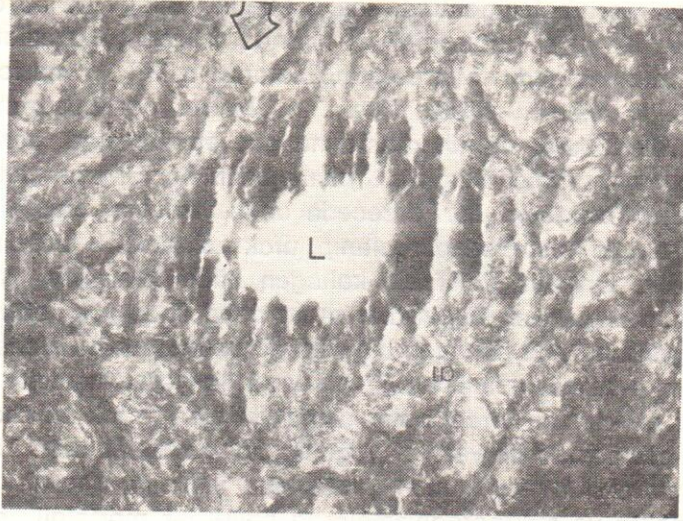
Çürük dentin : Yumuşak bleden alınan ikinci sivriltmenin ikinci
grid preparatlarında dentin kanallarının mikroorganizmalar ile dolu
olduğu peritubuler dentinin silinip ancak yer yer izlenebildiği grl-
mektedir. İntertubuler dentinde ise dokunun yıkıldığı ve bu alanlar-
da da tek tek ya da ufak kümeler halinde mikroorganizmaların yer-
leştiği saptanmaktadır. Mikroorganizmalarda belirli bir morfolojik -
zellik gözlemlenememektedir (Resim 2). Mikroorganizmaların kanal
içinden intertubuler dentin alanlarına g edebilmeleri, peritubuler
dentin ve intertubuler dentinin yıkımı belirli bir ölçüye ulaştığında
gerçekleşebilmektedir. İleri derecede doku yıkımının olduğu bu a-
lanlarda apatit kristalleri parçalanıp, ufak noktacıklar biçiminde g-
rülmektedir. Organik matriksin kollagen lifleri kesinlikle görülme-
mektedir. İntertubuler dentin alanlarına daha önce göç etmiş olan
mikroorganizmaların homojen bir kitle görünümü aldığı izlenebilmek-
tedir. Kanal çevresinde kristallit parçacıkları yoğunlaşmıştır (Resim
3). Doku artıklarının intertubuler alana yerleşmiş ufak mikroorganiz-
maların çevresinde de yer yer yoğunlaştığı görülmektedir. Tüm pre-
paratlarda dentin dokusunun parçalanıp yıkıldığı ayrıntılı olarak
saptanmakta ve mikroorganizmalarda belirli bir morfoloji olmadığı
izlenmektedir (Resim 4).

Mikroorganizmaların sayıca fazla olduğu bölgelerde mikroorga-
nizma kitlesi içinde yer yer elektron yoğunluğunun arttığı homojen

alanlar görülmektedir. Daha büyük büyütmelelerde mikroorganizmaların morfolojilerinde degenerasyonlar ve homojen bir kitleye dönüşmekte oldukları izlenmektedir. Özellikle homojen görümlü alanlarda daha belirgin olmak üzere mikroorganizma kitlesi içinde yer yer bakteriler arası kalsifikasyonlar izlenilmektedir. Çökelen kristallitler ufak boyutlu ince iğne biçimindedirler (Resim 5, 6).

Dentin kanallarını tümüyle doldurmuş çeşitli mikroorganizmalardan oluşan mikroorganizma kitlesi içinde de yer yer ufak boyutlu iğne biçiminde kristallitlerin interbakteriyel çökelmeleri görülmektedir. Tek tek çok ufak boyutlu kristallitler de bulunmaktadır. Kanal çevresinde doku parçacıklarının yoğunluğu artmıştır (Resim 7, 8, 9). Yıkıma uğramış dentin dokusunda ince iğne biçimindeki apatit kristal parçacıklarının yanısıra hafif transparan, ufak yaprakçıklar biçiminde kalsiyum tuz kristalleri de bulunmaktadır. Kristal ve kristal parçacıklarının boyutları ve morfolojileri değişiktir (Resim 8, 9).

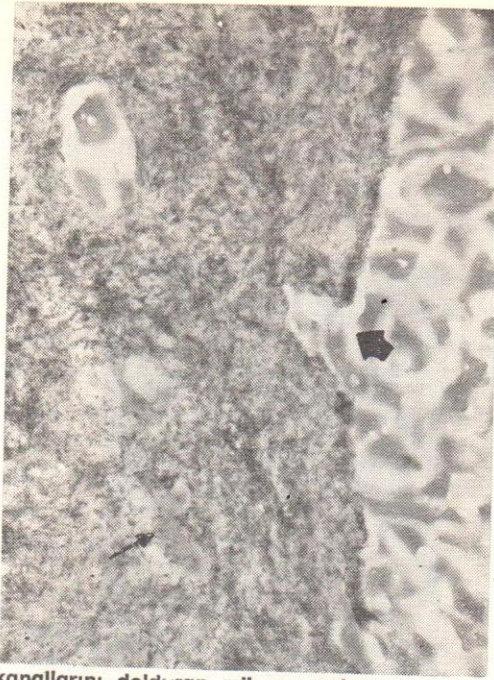
Diş plağında kalsifikasyon, bakteriler içinde ve aralarında ya da her ikisinde birden olmaktadır. Ayrıca elektron yoğunluğu biraz fazla olsun ve homojen görümlü alanlarda da kristal çökmesi izlenmektedir. Çökelen kristallitler çok ufak boyuttadırlar (Resim 10).



RESİM 1 : Sağlıklı dentinin ince yapısı; Tubulus lumeni (L), hipermineralize peritubuler dentin (PD) ve intertubuler dentin (İD). İntertubuler dentinde ince iğnecikler biçiminde kalsiyum hidroksiapatit kristalleri ve ufak boyutlarda hafif transparan oktakalsiyumfosfat (→) kristalleri



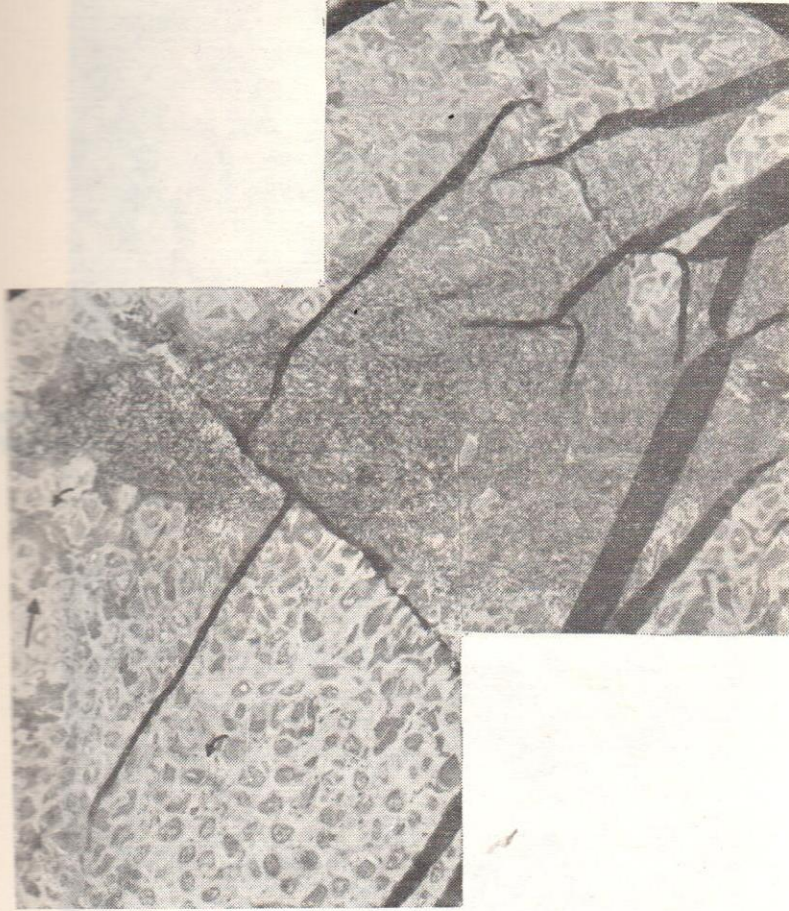
RESİM 2 : Çürük dentinde yumuşak ve mikroorganizmalardan zengin bölge: Dentin yapısı yıkıma uğramış ve kanallar tümüyle mikroorganizmalarca doldurulmuştur. Peritubuler dentin silinmiştir. Kanal çevresinde ancak yer yer peritubuler dentine benzer biçimde bir yapı yoğunluğu göze çarpmaktadır (→). Mikroorganizmalar tek (→) ya da ufak kümeler halinde (→) intertubuler alanlarda yerleşmişlerdir. Mikroorganizmalarda belirli bir morfoloji saptanamamaktadır.



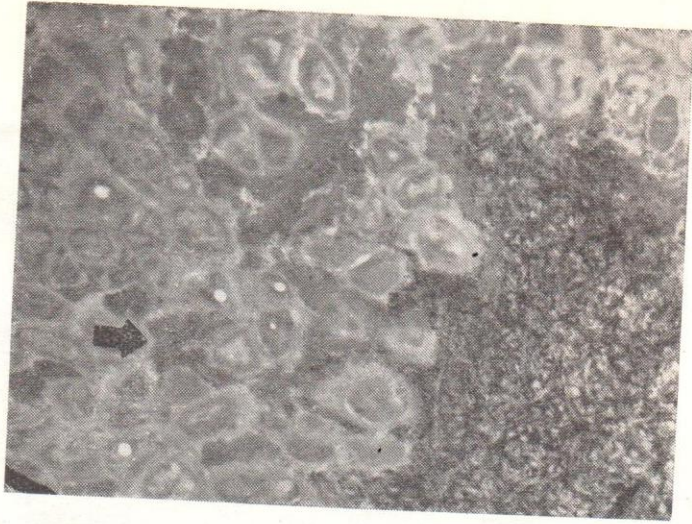
RESİM 3 : Dentin kanallarını dolduran mikroorganizmaların interbutuler alanlara geçişi (→). Kanal duvarında doku artıklarında yoğunluk artması ve intertubuler alandaki mikroorganizmaların homojen görünüm almaları (→) Dentin yapısının yıkımı ve inorganik yapıdan ufak parçacıkların arta kalması.



RESİM 4 : Yıkıma uğramış dentin yapısı ve intertubuler alandaki tek tek mikroorganizmalar ve ufak mikroorganizma kümeleri. Mikroorganizma kümeleri çevresinde doku artıklarında yoğunluk artması (→). Intertubuler dentinde kristallit parçacıkları.



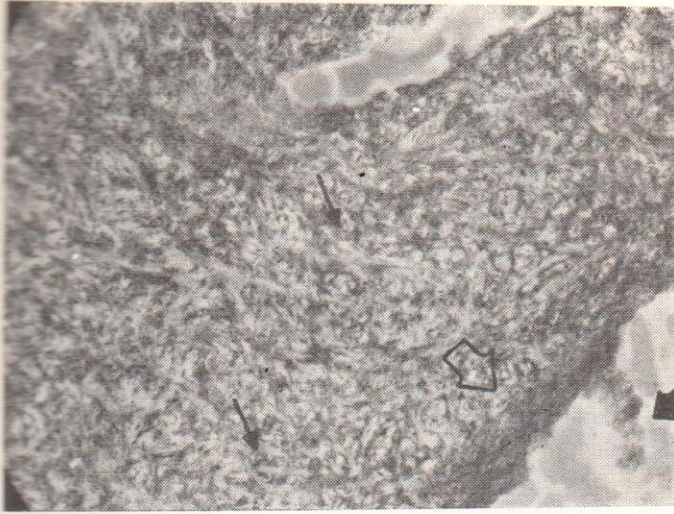
RESİM 5 : Yumuşamış dentinde mikroorganizmaların sayısı çok fazla oldukları bölge. Mikroorganizmalar arasında yer yer elektron yoğunluğunun hafifçe arttığı homojen alanlar (→). Homojen alanlarda ve bakteriler arası alanlarda ufak boyutlu kristal çökelmeleri (↓). Mikroorganizmalarda degenerasyon belirtileri.



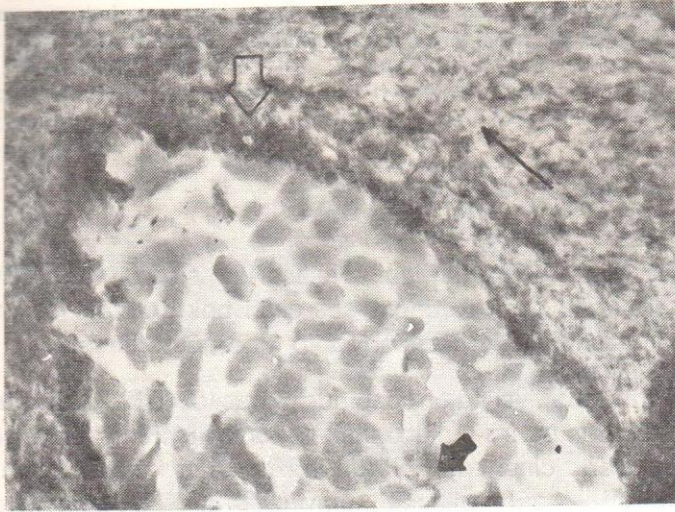
RESİM 6 : Resim 5'ten ayrıntı. Mikroorganizmalarda degenerasyon, mikroorganizma kitlesi içinde homojen elektron yoğunluğu biraz fazla olan alanlar ve bu homojen alanlara çökelmiş ufak boyutlu kristaller (→).



RESİM 7 : Dentinde yumuşama bölgesi. İntertubuler dentinde yıkımı, kristallit parçacıkları. Mikroorganizmalarca tümüyle doldurulmuş dentin kanalları. Kanalları dolduran mikroorganizmalar arasında bakteriler arası kalsifikasyon (→). Peritubuler dentin alanlarında yıkım artıklarında yoğunluk artması (→).



RESİM 8 : Yumuşak ve infekte dentinde intertubuler dentin yıkımı. Kristallit parçalanmaları, ince iğne biçiminde kristaller ve kristal transformasyonları (→). Mikroorganizma kitlesi içinde bakteriler arası kalsifikasyon (→). Kanal çevresinde doku yıkım parçacıklarının yoğunluk kazanması. (→).



RESİM 9 : Yumuşak ve infekte dentinde dentin kanalı içindeki mikroorganizmalar. Bakteriler arası kalsifikasyon (→). İntertubuler alanlarda dokunun yıkımı ve kristal transformasyonları (→). Kanal çevresinde doku yıkım artıklarının yoğunlaşması (→).



RESİM 10 : Bakteri plağında kalsifikasyon; Bakteriler arası kalsifikasyonlar (→).
Bakterilerin içinde ve aralarında kalsifikasyon alanları (←).

Mikrobiyolojik Bulgular:

Derin dentin çürüğünden *Neisseria sicca*, alfa hemolitik streptokok ve iki çeşit *Actinomyces* cinsi bakteri izole edilmiştir. Bu suşların karbonhidratlara etkisi Tablo 1'de gösterilmiştir.

Suşların kalsifiye edici çözeltilerde iki ve dört haftalık sürelerdeki bekletilmelerden sonra elektronmikroskopu incelemesinde *Actinomyces* ve *Neisseria* cinsi bakterilerde intrasellüler kalsifikasyon saptanmıştır. İki haftalık süreye ilişkin mikrofotoğraflarda *Actinomyces* cinsi bakterilerde intrasellüler kristaller görülmüştür (Resim 11, 12, 13). Dört haftalık süreye ilişkin mikrofotoğraflarda ise *Neisseria* cinsi bakterilerde granüler görünümde amorf kalsifikasyon saptanmıştır (Resim 14).

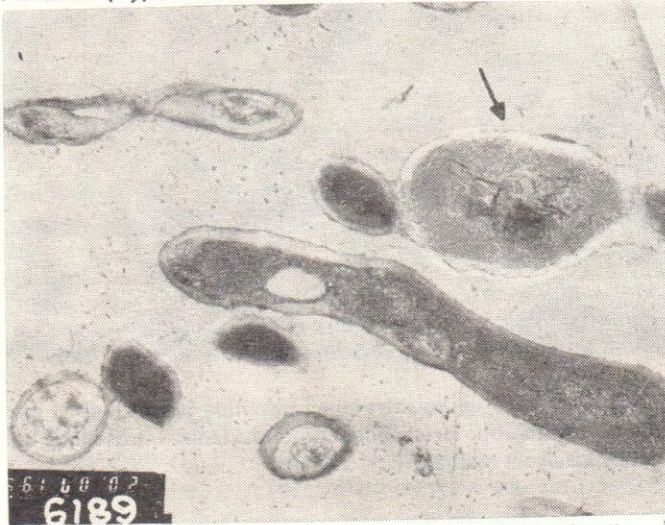
Glukoz Laktöz Sakkaroz Maltoz Mannitol

	+	-	+	+	-
Neisseria Sicca	+	-	+	+	-
Alfa hem. streptokok	+	-	+	+	+
1 no. lu Actinomyces	+	+	+	+	+
2 no. lu Actinomyces	-	-	+	+	+

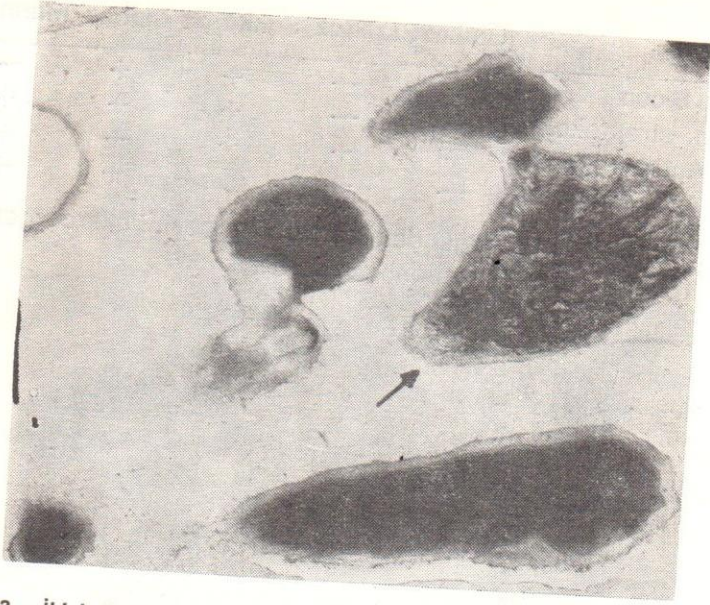
Tablo 1 : Derin dentin çürüğünden izole edilen çeşitli mikroorganizma türlerinin çeşitli karbonhidratlara etkileri.



RESİM 11 : İki haftalık sürede kalsifiye edici çözeltide inkübe edilen mikroorganizmaların mikrofotografı. Actinomycesler görülmektedir, birinde birkaç intrasellüler kristallit (→) x 34.000



RESİM 12 : İki haftalık inkübasyon, Actinomycesler görülmektedir. Intrasellüler kristalleri (→) x 34.000



RESİM 13 : İki haftalık inkübasyon. Actinomyceslerden biri tümüyle kristallerle doludur (→) x 42.000



RESİM 14 : Dört hafta süre ile kalsifiye edici çözeltide inkübe edilen mikroorganizmaların mikrofotografı. Neisserialar görülmektedir. İntrasellüler granüler yapıda amorf kalsiyum fosfatlar (→) x 34.000

TARTIŞMA

Derin dentin çürüğü tedavilerinde kavite hazırlanırken çoğu kez kavite tabanında yumuşak dentinin bırakılması zorunlu olmaktadır. İndirekt kuaffaj tedavisi sırasında bırakılan bu yumuşak dentin, dentin çürüğünün mikroorganizmalardan zengin, demineralize katmanıdır. Dentini demineralize edici asitleri üretebilen ve çoğu kez metabolik ürün ve artıklarıyla pulpitişi başlatabilen mikroorganizmaların yer aldığı bu katmanın üstüne indirekt kuaffaj maddeleri konduğu ve kavite kapatıldığında demineralizasyonun durması ve pulpitis yan etkisinin görülmemesi ilgi çekici bir olaydır. Kanımızca dentin çürüğünde ve indirekt kuaffaj maddeleri altındaki aynı mikroorganizma-konak kompleksinin farklı etkinlik göstermesi ve bunun nedenleri, üstünde araştırma yapılması gereken bir konudur. Bu konunun aydınlatılması, yumuşak dentin bırakılarak yapılan indirekt kuaffajları bir şans denemesinden öteye götürecektir, dişhekimlerine güvenli bir çalışma olanağı ve başarı sağlayacaktır.

Günümüze dek yapılan çalışmaların çoğu, bu soruna ancak dolaylı olarak çözüm getirebilecek incelemelerdir. Birçok araştırmada doğrudan dentin çürüğündeki mikroorganizmaların türleri, onların metabolik özelliklerini incelemiş ve bu mikroorganizmaların dentin kanalları içinde pulpa yönüne doğru ilerlemeleri üstünde durulmuştur (8, 9, 10, 12, 24, 26, 32, 35, 38, 45, 47, 51, 62, 72, 73, 74). Bir grup araştırmacı ise dentin çürüğünün morfolojisini ultrastrüktürel düzeyde incelemişler ve mikroorganizma-konak ilişkisini, dentin ultrastrüktüründeki değişiklikler açısından yorumlamışlardır. Bu incelemelerin odak noktası genellikle dişin yapısındaki yıkım olayları ve mikroorganizma etkinliklerinin dentine etkileri olmuştur. Bu çalışmaların hemen tümünde irdelenen konu çürük tabanındaki özellikler ve mikroorganizmaların etkinlikleri olmuş ve konuya bakış açısı dentin çürüğü incelemesinin dar sınırı içinde sıkışıp kalmıştır (3, 22, 25, 56, 67, 69, 70). Araştırmaların bazılarında ise bizim amacımıza yakın olarak çeşitli kuaffaj maddeleri ya da dolgu maddeleri ile kapatılan kavite tabanında kalan mikroorganizmaların canlı kalıp kalmadıkları araştırılmış ve etkinliklerine ilişkin yorumlar yapılmıştır (1, 4, 14, 19, 20, 21, 33, 36, 43, 44, 50, 57, 58, 60, 61, 65).

İndirekt kuaffaj uygulamasından sonra kavite tabanında bulunan yumuşak dentinde ne gibi değişiklikler olduğu da birkaç araştırmacı tarafından incelenmiş, bir remineralizasyon ve ona işaret eden sertlik artması (yeniden sertleşme) olayı izlenmiştir (14, 46, 48, 60).

Sözü edilen araştırmaların tümü, yumuşak dentinin yapısal özelliklerinin ve buradaki mikroorganizmaların varlığı ve türlerini çeşitli yöntemlerle gözleme ve yorumlamaya dayanmaktadır. Oysa biz bu gözlem ve yorumlamalarla yetinmeyerek bunları bir varsayım olarak kabul edip olayı biz kez de laboratuvarda yapay olarak yinelemeyi ve yorumların geçerliliğini tartışmayı üstlendik. Bu bakış açımız doğrultusunda çalışmamızı aşamalı olarak yürüttük. Derin dentin çürüğü olan dişlerin yumuşak ve infekte dentin katmanında dentinin demineralizasyonu yanı sıra intratubuler alanlardaki mikroorganizma kitlelerinde yer yer intersellüler kalsifikasyonun izlenmesini, dentin çürüğü mikroorganizmalarının asit üretebildikleri gibi kalsifiye de olabilecekleri yorumuyla açıkladık. Kısaca mikroorganizmaların çürük yapıcı etkinliklerinin çevresel ortamdan önemli ölçüde etkilendiğini, ortamın özellikleri değiştiğinde aynı mikroorganizmaların asit üretmedikleri üstelik bakteri plağında olduğu gibi kalsifiye bile olabilecekleri görüşüne vardık.

Yorumumuzun geçerliliğini derin dentin katmanından izole ettiğimiz mikroorganizmaların in vitro kalsifikasyon çalışması ile sınadık. Literatürde rastlanan mikrobiyolojik kalsifikasyon çalışmaları diştaşının oluşumunu yorumlamaya yöneliktir (15, 40, 63).

Bakteri hücrelerinin çevresindeki değişme sonucu kalsiyum fosfat çökmesi olacağı çeşitli araştırmacılarca incelenmiştir (16). Mikrobiyolojik kalsifikasyonda en çok çalışılan mikroorganizma, *Bacterionema matruchotii*'dir. Daha sonra çeşitli kalsifiye edici çözeltiler hazırlanarak, boyama yöntemleri, ışını saptırma analizleri ve elektron mikroskopu çalışmaları ile başka mikroorganizmaların kalsifikasyon biçimleri açıklanmıştır (15, 16). Rizzo ve arkadaşları (54) *Bacterionema matruchotii*, *Actinomyces israelii*, *Streptococcus salivarius*'da

intrasellüler, *Veillonella* ve difteroidlerde ekstrasellüler kalsifikasyon saptamalarına karşılık Bowen ve Gilmour, streptokok ve difteroidlerde kalsifikasyon e'de edememişler, inceledikleri *Actinomyces* ve *Leptotrichia* türlerince kalsifikasyon olmuştur (7). Ennever ve arkadaşları (17), insan ya da maymun ağzından izole edilen ondört mikroorganizmanın yapay bir besiyerinde inceledikleri kalsifikasyonlarında *Escherichia colé*, *Alcaligenes marshalii*, *Aerobacter cloacae* ve *Proteus mirabilis*'de intrasellüler kalsifikasyon saptamalarına karşılık *Actinomyces*, streptokok ve *Neisseria* cinslerinde kalsifikasyon olmamıştır. Çürük yapıcı dokuz *Streptococcus mutans* ve iki *Treptococcus sangius* suřu ile ilgili Streckfuss ve arkadaşlarının (66) kalsifikasyon çalışmalarında ise *Streptococcus sangius*'un bir suřu

disinde tümünde kalsifikasyon saptanmıştır. Biz incelediğimiz streptokok cinsi bakterilerde kalsifikasyon saptamadık; ancak Actinomyces cinsi bakterilerde iki hafta sonunda, Niesserialarda ise dört hafta sonunda intrasellüler kristaller saptadık (Resim 11, 12, 13, 14). Bulduğumuz sonucun sözü edilen çalışmalara uyan ve uymayan yanlarının olmasını mikroorganizmaların her bir suşunun kalsifiye edilebilir özelliklerinin farklı olması ile açıklayabiliriz (39).

Yumuşak ve infekte dentin katmanını (Resim 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) normal dentin yapısıyla (Resim 1) karşılaştırdığımızda dentinin organik ve inorganik yapı kompleksinin yıkıma uğradığı, apatit kristallerinin parçalandıkları, yer yer kristal transformasyonlarının olduğu (Resim 8, 9), organik matriksin yıkıldığı, peritubuler dentin ile intertubuler dentin arasındaki ayrılığın önemli ölçüde ortadan kalktığı, ancak yer yer peritubuler dentin olması gereken bölgelerde çeşitli yapı parçacıklarının yoğunluğunun fazla olduğu görülmektedir. (Resim 2, 3, 7, 8, 9). Dentin kanallarının içini ise belirli bir morfolojik özellik göstermeyen mikroorganizmaların doldurduğu izlenmektedir. Mikroorganizmalar az sayıda intertubuler dentinde de tek tek ya da çok ufak kümeler halinde rastlanmaktadır. Dentinde yumuşamanın sert doku yıkımı sonucu olduğu ve bu yıkımda da ortamdaki mikroorganizmaların metabolik ürünlerinin etkisi olduğu mikromorfolojik bulgularımızla bir kez daha kesinlik kazanmaktadır. Gerek ışık mikroskopu, gerek elektronmikroskopu, gerekse mikrobiyolojik araştırmaları kapsayan literatür verileriyle (3, 23, 25, 31, 32, 49, 56, 59, 61, 67, 69, 70) mikromorfolojik ve mikrobiyolojik bulgularımız tam bir uyum içindedir.

Kimi araştırmacıların yumuşak dentinde mikroorganizma bulunmadığı görüşüne (45, 52) katılmamaktayız. Bizim mikrobiyolojik inceleme bulgularımız da mikromorfolojik bulgularımızı desteklemektedir. Mikrobiyolojik inceleme için aldığımız materyal klinikte ekskavatörün kazıyabileceği yumuşaklıktaki dentin dokusu idi. Bu materyalden Streptokok, Neisseria, ve Actinomyces cinsinden bakteriler üremiştir. Mikromorfolojik incelemelerde ise ağız çok dar olmayan çürük kavitesinin yüzeyinden pulpa yönüne doğru kesitler hazırladık ve yüzeydeki aşırı yıkım bölgesinden çok daha derin bölgelerden hazırlanan (2. sivriltmenin 2 gridi) ultraince kesitlerde mikroorganizmaların dentin kanallarını tümüyle doldurduğu (Resim 2, 7, 9) üstelik yer yer intertubuler dentin alanlarına da geçebilmiş oldukları izlenmiştir (Resim 2, 3, 4). Whitehead'in (73) 1960'da, Fusuyama ve arkadaşlarının (24) 1966'da ve Shovelton'un (64) 1970'te zasyonun durduğu remineralizasyonun başladığı ancak dokunun da-

savundukları dentinde mikroorganizmaya rastlanmamasının çok de-
ğişken bir olay olduğu, klinik görünüm ile dentinin infekte olup ol-
maması arasında pek önemli bir bağlantı bulunmadığı görüşüne an-
cak belirli sınırlar içinde katılmaktayız. Renkleşmiş, ancak klinikte
sert olarak saptadığımız dentinin enfekte olup olmaması literatürde
de çelişkili olarak yer almaktadır. (10, 24, 35).

Kanımızca dentinde demineralizasyon olayları süresince, ortam-
da mikroorganizmaların varlığı ve metabolik etkinliklerini sürdürme-
leri gereklidir. Fusuyama ve arkadaşlarının (24) 1966'da belirttikleri
gibi mikroorganizmaların yüzeysel bölgede bulunup, burada ürettik-
leri asidin dentinde 2 mm. derine dek girerek dentinin deminerali-
zasyonun neden olması bizim görüşümüze göre olanaksızdır. Çürük
olayının önceki evrelerinde derin dentin bölgelerindeki dentin kanal-
ları peritubuler dentin yapısıyla kapanmış ya da kalsiyum tuzlarının
çökmesiyle tıkanmışlar ve böylece asitlerin derin ulaşacağı kanal-
lar ortadan kalkmıştır; bu nedenle demineralizasyon geniş bir yüzey
le derine doğru ilerler. Demineralizasyon olayında daha yüzeysel böl-
gelerde çözünen kalsiyum fosfatlardan serbestleşmiş olan fosfat i-
yonlarının asidi tamponlayıp olayı durdurmaları beklenir, ancak
ortamda mikroorganizmalar bulunduğu bu serbest kalmış fosfat
iyonları mikroorganizmaların hücre membranlarıncı tutulup etkisiz
kalabilirler ve demineralizasyon ilerleyebilir. Fusuyama'nın (24) araş-
tırmasında ve yumuşak dentinin steril olduğunu bildiren diğer araş-
tırmalarda (45, 52) çürük kavitesindeki koşulların değişime uğrayıp
demineralizasyona neden olan mikroorganizmaların canlılıklarını sür-
dürmedikleri olasılığına hiç değinilmemiştir. Büyük bir olasılıkla bu
araştırmalarda incelenen dentin materyali, önce mikroorganizmaların
asidojen etkinlikleri ile yıkıma uğramış ve dolayısıyla yumuşamış
ancak daha sonra materyalin alındığı dönemde buradaki mikroorga-
nizmaların koşul değişikliklerine bağlı olarak yaşamlarını sürdür-
memiş olabilirler. Crone'nin (10) 1968'de bildirdiği gibi aslında den-
tin çürüğünde en derine inebilen mikroorganizmalar anaerop ve
asidojen olanlardır. Bu mikroorganizmaların çürük kavitesinin ge-
nişletilmesi ve tükürükle karşılaşma sonucunda yaşamlarını sürdü-
rememeleri söz konusu olmaktadır. Üstelik başka birkaç araştırmacı
(2, 37, 64) kavitenin tükürükle kaplanmasından sonra sadece demi-
neralizasyonun durmadığını, yumuşak dentinde bir remineralizasyo-
nun da olabildiğini bildirmişlerdir. Biz bu görüşü desteklemekteyiz;
çünkü mikrofotograflarımızda remineralizasyon işaretlerine rastlan-
mıştır (Resim 8,9). Yumuşak dentinin infekte olmamış bir dentin ol-
duğunu ileri sürenler belki de mikroorganizmaların ölüp deminerali-

asidinin durduğu remineralizasyonun başladığı ancak daha eski sertliğine erişmediği dönemde materyali alıp incelemişler ve bir yanlıya düşmüşlerdir.

Kısaca dentinde demineralizasyon olayının sürdürülebilmesi için asidojen mikroorganizmaların bulunması gerekmektedir. Araştırmamızda kültürünü yaptığımız dentin materyalinden izole ettiğimiz bakterilerin çoğu incelenen glukoz, laktöz, maltoz, mannitol ve sakkaroz'dan asit oluşturmuşlardır (Tablo 1). Araştırma konumuz dışında kaldığı için izole ettiğimiz mikroorganizmaların proteolitik etkinlikleri araştırılmamıştır. Böyleyken mikromorfolojik bulgularımız yumuşak dentinde apatit kristalleri yanı sıra kollagen liflerin de parçalandığını göstermektedir. Bu lifler büyük bir olasılıkla mikroorganizmaların proteolitik enzimleriyle parçalanmışlardır. Bununla birlikte mikroorganizmalarca yapılan asidin kollagenez sırasında lateral aggregasyona uğrayan tropokollagen makromoleküller arasına yerleşmiş kalsiyum fosfatları (30) yıkarken dolaylı olarak kollagen lifçığı oluşturan tropokollagenler arası ilişkiyi de bozmuş ve böylece kollagen lifçığı parçalamış olabileceğini de unutmamak gerekir kanısındayız.

Mikromorfolojik bulgularımız kanalları dolduran mikroorganizmaların intertubuler dentine göç ettiklerini de göstermektedir (Resim 2, 3, 4). Ayrıca bu mikroorganizmaların kanal içinde (Resim 2, 3, 7, 8, 9) ve intertubuler dentin alanında (Resim 4) ekspansif büyümelerini gösteren kanıtlar da vardır. İntertubuler alandaki mikroorganizmaların üremeleri sonucunda ufak kümeler çevresindeki parçalanmış kristallitler sıkışmışlar ve çevresinde kristal parçacıklarının yoğunluğu artmıştır (Resim 4). Symons (67) 1970'de mikroorganizmaların ekspansif büyümelerinin, kümeler çevresinde doku artıklarının sıkışıp yoğunluk kazanmasına neden olduğunu bildirmiştir. Sadece intertubuler alandaki mikroorganizma kümelerinin çevresinde değil aynı zamanda mikroorganizmalarla dolu kanalların çevresinde de yer yer doku artıklarında yoğunluğun fazla olduğu izlenilmektedir (Resim 2, 3, 7, 8, 9). Bu durumun aradaki hipermineralize peritubuler dentin artıklarından mı yoksa kanal içinde ekspansif üreyen mikroorganizmaların doku artıklarını intertubuler alanlarda olduğu gibi sıkıştırmasından mı ileri geldiği konusunda bir yorum yapamamaktayız. Buraya dek üstünde durduğumuz bulular birkaç ufak çelişkinin dışında literatür verileriyle uyumludur.

Asıl ilgimizi çeken ve literatürde günümüze dek ancak birkaç araştırmacının kısaca değindiği bulgu, mikroorganizmaların normal morfolojilerinin yer yer kaybolması, homojen kitleler oluşturmaları

ve bu alanlarda ince iğne şeklinde kristallerin çökmesidir (Resim 3, 5, 6). Mikroorganizmaların homojen kitleler oluşturmadıkları dentin kanallarında da yer yer intersellüler kalsifikasyonlar izlenmektedir (Resim 7, 8, 9). Bu gözlem dentini demineralize edebilen mikroorganizmaların çevre koşulları değiştiğinde dejenere olabilecekleri ve aynı diş taşındaki gibi (Resim 10) kalsifiye olabileceklerini düşündürmektedir. Yıkıma uğramış intertubuler dentinde parçalanmış kalsiyum hidroksiapatitlerin yanı sıra görülen kristal transformasyonları ve hafif transparan ufak yaprakçık biçimindeki ortakalsiyumfosfat kristalleri de ortamda demineralizasyon ve kalsifikasyon koşullarının sürekli değişken olduğunun bir başka kanıtıdır (Resim 8, 9). Bu konuya daha önceleri kısaca değinen araştırmacılar olmuştur. Sarnat ve Massler (56) 1965'de süregen çürüklerde kanalları dolduran bakterilerin homojen kitlelere dönüştüğünü, Symons (67) da 1970'de kanalların içinde mikroorganizmaların aşırı üremeleri sonucunda beslenme ortamının yetersiz kalmasıyla mikroorganizmaların dejenere olup, homojen kitlelere dönüştüklerine işaret etmiştir. Gerçekten mikroorganizmaların sayılarında belirgin artış olan bölgelerde homojen kitleler görülmektedir (Resim 5, 6). Takuma (70) ise 1967'de bu konuya daha geniş görüş açısıyla yaklaşmış, dentin çürüğünde yüzeye yakın infekte alanlarda sekonder bir mineralizasyon olduğunu ve yıkılan dentinde açıkta kalan organik matriksin, bakteri hücrelerinin ve belirlenemeyen bazı maddelerin bu sekonder mineralizasyona yol açtıklarını savunmuştur. Görüşünü paylaştığımız bu araştırmacı çeşitli literatür verilerine dayanarak diş taşında olduğu gibi dentin çürüğündeki mikroorganizmaların kalsifiye olabileceğini ileri sürmüştür. Haberman ve arkadaşları (25) 1967'de mikroorganizmaların bulunduğu kanallarda sekonder mineralizasyonu çürük olayı sırasında serbest kalan minerallerin adsorpsiyonu ile ya da bunlara ek olarak ağız sıvılarından ortama ulaşan minerallerin çökmesiyle açıklanmıştır. Biz dentin kanallarını dolduran mikroorganizma kitlelerinde intersellüler kristal yığılımının kitlenin orta bölgesinde olması nedeniyle peritubuler dentin artıklarıyla karıştırılmaması gerektiği, aynı ohmojen kitlelere dönüşen mikroorganizma gruplarında olduğu gibi intersellüler kalsifikasyon olduğu kanısındayız (Resim 7, 8, 9). Kanımızı derin dentin çürüğünden izole ettiğimiz mikroorganizmalarla yaptığımız in vitro kalsifikasyon çalışmasında Actinomyces ve Neisseria cinsi bakterilerde intrasellüler kalsifikasyon saptamamız doğrudur.

SON UÇ

Bulgularımız çürük biliminde, çürüğü kısaca mikroorganizmaların egemenliği altında bir infeksiyon hastalığı olarak tanımlamanın ne denli yetersiz ve tek yönlü bir görüş olduğunu göstermektedir. Mikroorganizmaların farklı etkinlikleri ortamı değiştirebildiği gibi ortamın değişikliği de mikroorganizmaların davranışlarını etkilemekte ve arada hassas bir denge oluşmaktadır. İşte tedavi işlemleri sırasında hekimin görevi, bu hassas dengeyi iyi değerlendirerek onu kendi isteği doğrultusunda değiştirmek ve mikroorganizma-konak ilişkisini kişinin sağlığına uygun biçimde geliştirmektir.

Bulgularımızın klinik açıdan önemli büyüktür. Derin dentin çürüğü tedavilerinde kavite tabanında yumuşak ve infekte dentin bırakıldığında kalsiyumhidroksit ile indirekt kuafaj yapımı sonucunda ortam bazik duruma geçebileceğinden buradaki mikroorganizmaların serbest kalsiyum ve fosfat iyonlarının kristalizasyonu ile kalsifiye olmaları olasıdır. Bu durumda kavite tabanında yumuşak dentin bırakılması pulpanın sağlığı açısından sakıncalı değildir.

TEŞEKKÜR :

Mikroorganizmalarda kalsifikasyonun elektron mikroskobu ile saptanması aşamasında yardımcı olan İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Kürsüsü çalışanı Dr. Erdogan GÜR-SOY'a teşekkür ederiz.

Ö Z E T

Araştırmamızda; «Derin Dentin Çürüğü» vak'alarındaki yumuşak dentin katmanı, bu katmanda bulunan çürük mikroorganizmaları ve bu mikroorganizmaların ortama bağlı olarak değişken tutumları elektronmikroskobunun yardımı ile incelendi.

Araştırma iki aşamalı olarak yapıldı. Önce derin dentin çürüğünün yumuşak dentin katmanında kitleler oluşturan ve asit üretimleri ile bu katmanı demineralize etmiş olan mikroorganizmaların yer yer, diş taşı oluşumunu andırırcaasına, kalsifiye de olabilecekleri saptandı. Bu bulgu her dentin çürüğünde mikroorganizmaların dentini demineralize edici aktivitelerinin sürekli olması gerektiği ve ortam koşullarına, özellikle pH özelliklerine bağlı olarak, bu mikroorganizmaların kendilerinin de kalsifiye olabilecekleri gerçeğini ortaya koydu. Araştırmamızın ikinci aşamasında insan diş materyalinde elektronmikroskobu ile saptadığımız bu bulgularımızı, bir kez de mikrobiyoloji laboratuvarında deneysel olarak sına-

mayı amaçladık ve yumuşak dentin materyalinde bulunan mikroorganizmaları saptayıp, bu mikroorganizmaların ortama şekerler verildiğinde asit ürettiklerini ve aynı mikroorganizmaların alkalen ortama konulduğunda ise intrasellüler olarak kalsifiye olabileceklerini elektronmikroskopunda ilk kez kanıtladık. Bulgularımız; klinik çalışmalarda indirekt kuaffaj yapılırken, hermetik bir dolgu altında yumuşak ve enfekte dentin bırakmanın, cürüğün ilerlemesi açısından bir sakınca oluşturmayacağını, buradaki mikroorganizmaların ortama şekerler ulaştığında asit üreterek dişi demineralize edemeyeceklerini, hatta Ca (OH)₂ konmuş ortamda kalsifiye bile olabileceklerini in vitro olarak kanıtlamıştır.

S U M M A R Y

Soft dentine layer microorganisms of caries in cases of the deep dentine caries and unstable behaviors of these microorganisms due to environment were investigated with the help of electron microscope. This study has been performed in two parts. First, we determined that in some areas, microorganisms which have produced masses in soft dentine layer of the deep dentine caries and demineralized this layer with their acid production can be calcified similar to structure of dental calculus. This evidence put forward the fact that in every dentine caries, activities of microorganisms which can demineralize dentine need not be continuous and these microorganisms in themselves can be calcified depending on environmental conditions, particularly characteristics of pH. In the second stage, we also experimentally tried the findings we established in microbiological laboratory. We established microorganisms which exist in soft dentine material and that these microorganisms produce acid when carbohydrates is given in the medium. However, when the same microorganisms are put in alkali medium, we first demonstrated on electron microscope that they can be calcified intracellularly. Our findings showed in vitro that when indirect coiffage is carried out in clinical studies, leaving soft and infected dentine under hermetic filling does not constitute a noxious damage in advancing the caries of the teeth and that these can not demineralize the tooth because they can not produce acids when the carbohydrates may not reach the medium and even they may be calcified in a medium with Ca (OH)₂.

L I T E R A T Ü R

- 1 — Aponte, A.J., Hartsook, J.T., Crowley, M.C. : İndirect pulp capping success verified., J. Dent. Child., 33:164, 1966.
- 2 — Bang, G., Urist, H.R. : Recalcification of decalcified dentine in the living animal., J. Dent. Res., 46:722, 1967,
- 3 — Bernick, S., Warren, D., Barker, R.F. : Electron microscopy of carious dentine, J. Dent. Res., 33:20, 1954.
- 4 — Besic, F.C. : The fate of bacteria sealed in dental cavities., J. Dent. Des., 22:349, 1943.

- 5 — **Black, G.V.** : A work on operative dentistry, Vol. II. p. 127, Medico-dental Publisher. Co., Chicago, 1908.
- 6 — **Bansack, Ch.** : Le coiffage naturel on indirect., Schweiz. Machr. Zahnheilk. 62:218, 1952.
- 7 — **Bowen, W.H., Gilmour, M.N.** : The formation of calculus-like deposit by pure cultures of bacteria., Arch. Oral Biol., 5:145, 1961.
- 8 — **Büchs, H.** : Das Bild der Dentininfektion bei Karies Profunda Dtsch Zahnärztl. Z., 9:6., 1955.
- 9 — **Burnett, G'W., Scherp, H.W.** : Bacteriological studies of the advancing dentinal lesion., J. Dent. Res., 30:766, 1951.
- 10 — **Crone, F.L.** : Deep dentinal caries from a microbiological point of view., Int. Dent. J., 18:481., 1968.
- 11 — **Çetin, E.T.** : Genel ve Pratik Mikrobiyoloji. 3. baskı, s. 793, Sermet Matbaası, İstanbul, 1973.
- 12 — **Dubos, R.J.** : Bacterial and mycotic infections of man. 3rd. ed, p. 658, Philadelphia, J. B. Lippincott, 1958.
- 13 — **Ehrenreich, D.W.** : A comparison of the effects of Zinc oxideeugenol and calcium hydroxide on carious dentine in human primary molars. M.S.D. Thesis, University of Alabama, 1963.
- 14 — **Eidelman, E., Finn, S. B., Koulourides, T.** : Remineralization of carious dentin treated with calcium hydroxide. J. Dent. Child., 32:218, 1965.
- 15 — **Ennever, J.** : Microbiologic calcification. Ann. N.Y. Acad. Sci., 109:4, 1963.
- 16 — **Ennever, J., Creamer, H.** : Microbiologic calcification: Bone mineral and bacteria. Calc. Tiss. Res. 1:87, 1967.
- 17 — **Ennever, J., Vogel, J.J., Brown, L.R.** : Survery of microorganisms for calcification in a synthetic medium. J. Dent. Res. 51:1483, 1972.
- 18 — **Fauchard, P.** : Le chirurgien dentiste, 2. ed., Vol. II. p. 32, Pierre-Jean Mariette, Paris, 1746.
- 19 — **Fisher, F.J.** : The viability of microorganism in carious dentine beneath amalgam rastrotions. Brit. Dent. J., 121:413, 1966.
- 20 — **Fisher, F.J.** : The viability of microorganism in carious dentine beneath amalgam restoration - an appendix. Brit. Dent. J., 126:355, 1969.
- 21 — **Fisher, F.J.** : The effect of calcium hydroxide/water paste on microorganism in carious dentine. Brit. Dent. J. 133:19, 1972.
- 22 — **Frank, R.H., Wolff, F., Gutmann, B.** : Microscopic électronique dela carie au ni veau de la dentine humaine. Archs. Oral Biol. 9:163, 1964.
- 23 — **Frank, R.** : La carie dentarie au microscope électronique, Schweiz. Mschr. Zahn-heilk. 54:635, 1955.

- 24 — **Fusuyama, T., Okuse, K., Hocoda, H.** : Relationship between hardness, discoloration in carious dentine. *J. Dent. Res.*, 45:1033, 1966.
- 25 — **Haberman, S., Bouschor, C., Matthews, L., Saunders, E.** : Fine structure of soft carious dentine. *Oral Surg.* 24:216, 1967.
- 26 — **Harndt, R.** : Sind Millers «Vorposten Bakterien» kristalline Ausfällungen *Dtsch. Zahnärztl. Z.* 14:1677, 1959.
- 27 — **Herting, H.C.** : Elektronen mikroskopische Beobachtungen an Kariösem Dentin. *Dtsch. Zahnärztl. Z.* 20:704, 1965.
- 28 — **Herting, H.C.** : Elektronenmikroskopische Beobachtungen an Kariösem Dentin. *Dtsch. Zahnärztl. Z.*, 21:1085, 1966.
- 29 — **Herting, H.C.** : Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Kristallen und gefügebau in gesunden und Kariösem Dentin. *Dtsch. Zahnärztl. Z.* 24 : 442, 1969.
- 30 — **Höhling, H.J.** : Die Bauelemente von Zahnschmelz und Dentin und morfologischer chemischer und struktureller Sicht. Carl Hansen Verlag, München 1966.
- 31 — **Johansen, E., Parks, H.F.** : Electron microscopic observations of soft carious human dentin. *J. Dent. Res.* 40:235, 1961.
- 32 — **Ketterl, W.** : Zur Behandlung der Karies profunds. *Zahnärztl. Prox.* 18:245, 1967.
- 33 — **King, J.B., Crawford, J.J., Lindahl, R.L.** : Indirect capping: a bacteriologic study of deep carious dentine in human teeth. *Oral Surg.* 20:663, 1965.
- 34 — **Kraus, A.** : Ist Ekkavieren bis ins gesunde Dentin notwendig? *Z. Stomatol* 32:1459, 1934.
- 35 — **Kreter, F., Dornauf, Ch.** : Beitrag zur Entnahme und Untersuchung von unbehandeltem Kariösem Dentin. *Dtsch. Zahnärztl. Z.* 25:308, 1970.
- 36 — **Law, D.B., Lewis, T.M.** : The effect of calcium hydroxide on deep carious lesions. *Oral Surg.*, 14:1130, 1961.
- 37 — **Levine, R.S.** : The distribution of hydroxyproline in dentin of carious human teeth. *Arch. Oral Biol.* 17:127, 1972.
- 38 — **Lichtenberg-Crone, F.** : Deep dentinal caries from a microbiological point of view. *Int. Dent. Res.*, 18:481, 1968.
- 39 — **Lie, T., Selvig, K.A.** : Calcification of oral bacteria: an ultrastructural study of two strains of *Bacterionema matruchotil*, *Scand. J. Dent. Res.*, 82:8, 1974.
- 40 — **Lie, T., Selvig, K.V.** : Effect of salivary proteins on calcification of oral bacteria. *Scand. J. dent. Res.*, 82:135, 1974.
- Pulpenentzündung. *Öst. Z. Stomatologie*, 58:99, 1961.
- 41 — **Lörinczy-Landgraf, E.** : Neue Erkenntnisse in Klinik und Pathologie der

- 42 — **Maeling, B.** : Zur Behandlung der tiefen Kariös mit alkalischen Kalksaizen, Dtsch. zahnärztl. Z., 10:727, 1955.
- 43 — **MacGregor, A.B.** : The extent and distribution of acid in carious dentine, Proc. roy. Soc. Med., 55:1063, 1962.
- 44 — **Massler, M.** : Preventive endodontics: vital pulp therapy, Dent. Clin. N. Amer., November 663, 1967.
- 45 — **cKay, G.S.** : The pattern of bacterial invasion of carious dentine, 17. Meeting of British Division, I.A.D.R. Abstract. J. Dent. Res., 48:1119, 1969.
- 46 — **Mjör, I.A.** : Histologic studies of human coronal dentine following the insertion of various materials in experimentally prepared cavities, Arch. Oral Biol. 12:441, 1967.
- 47 — **Mjör, I.A.** : The penetration of bacteria into experimentally exposed human coronal dentin, Scand. J. Dent. Res., 82:191, 1974.
- 48 — **Mjör, I.A., Finn, S.B., Quigley, M.B.** : The effect of calcium hydroxide and amalgam on non-carious vital dentine, Arch. Oral Biol., 3:283, 1961.
- 49 — **Newbrun, E.** : Cariology, The Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1979.
- 50 — **Nicholls, E.** : Endodontics, John Wright and Sons Ltd., Bristol, 1967.
- 51 — **Olgart, L., Brannström, M., Johnson, G.** : Invasion of bacteria into dentinal tubules (experiments in vivo and in vitro), Acta. Odont. Scand., 32:61, 1974.
- 52 — **Parikh, S.R., Massler, M., Bahn, A.** : Microorganism in active and arrested carious lesions of dentin, N.Y. Dent. J., 29:347, 1963.
- 53 — **Plathner, C.H.** : Die natürliche Pulpenüberkappung, Öst. Z. Stomatologi, 58:18, 1961.
- 54 — **Rizzo, A.A., Scott, D.B., Bladen, H.A.** : Calcification of oral bacteria, Ann. N. Y. Acad. Sci., 109:14, 1963.
- 55 — **Sapone, J.** : Vital pulp therapy «Pathways of the pulp» Ed. Cohen, S., Burns, R. Mosby Co., St. Louis, 1967 içinde.
- 56 — **Sarnat, H., Massler, M.** : Microstructure of active and arrested dentinal caries. J. Dent. Res., 44:1389, 1965.
- 57 — **Schouboe, T., Mac Donald, J.B.** : Prolonged viability of organisms sealed in dentinal caries, Arch. Oral Biol., 7:525, 1962.
- 58 — **Schroeder, A.** : Endodontie, Die Quintessenz, Berlin, 1977.
- 59 — **Seltzer, S.** : The bacteriological status of dentin after cavity preparation,
- 60 — **Seltzer, S., Bender, J.B.** : The dental pulp, 2. ed., Lippincott Comp. Philadelphia, 1975.
- 61 — **Shovelton, D.S.** : A study of deep carious dentin, Int. Dent. J., 18:392, 1968.
- 62 — **Shovelton, D.S.** : A study of dentine and pulp in deep caries, Int. Dent. J., 20:283, 1970.

- 63 — **Sidaway, D.A.** : A microbiological study of dental calculus, II. The in vitro calcification of microorganisms from dental calculus, *J. Periodontal Res.*, 13:360, 1978.
- 64 — **Solomons, C.C., Neuman, W.F.** : On the mechanism of calcification: The remineralization of dentin, *J. Biol. Chem.*, 235:2502, 1960.
- 65 — **Sowden, J.R.** : Preliminary report on the recalcification of carious dentine, *J. Dent. Child.* 23:187, 1956.
- 66 — **Streckfuss, J.L., Smith, W.N., Brown, L.R., Campbell, M.M.** : Calcification of selected strains of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis*., *J. Bacteriol* 120:502, 1974.
- 67 — **Symons, N.B.** : Electron microscopic study of the tubules in human carious dentine, *Arch. Oral Biol.*, 15:239, 1970.
- 68 — **Takazoe, I.** : Study on the intracellular calcification by oral aerobic leptothrichia Shikwa Gakuho, 61:394, 1961.
- 69 — **Takuma, S., Kurahashi, Y.** : Electron microscopy of various zone in a carious lesion in human dentine, *Arch. Oral Biol.*, 7:439, 1961.
- 70 — **Takuma, S., Sunohara, H., Sekiguchi, K., Egawa, I.** : Electron microscopy of carious lesions in human dentin, *Bull. Tokyo Dent. Coll.* 8:143, 1967.
- 71 — **Thomas, Sir John** : A system of dental surgery, John Churchill, London. 1859.
- 72 — **Wandelt, S.** : Hefen in der menschlichen Mundhöhle und ihre Bedeutung für die Aetiologie der Karies, *Dtsch. zahnärztl. Z.* 24:486, 1969.
- 73 — **Whitehead, F.I.H., MacGregor, A.B., Marsland, E.A.** : Experimental studies of dental caries. II. The relationship of bacterial invasion of softening of the dentine in permanent and deciduous teeth, *Brit. Dent. J.*, 108:261, 1960.
- 74 — **Wirthlin, Mr. R. Jr.** : Acid-reacting stains, softening and bacterial invasion in human carious dentin, *J. Dent. Res.*, 49:42, 1970.
- 75 — **Zimmermann, R.** : Klinische Ergebnisse der Karies Profunds Therapie an der Bounner Klinik. Diss. Bonn, 1972.