

**GENERALİZE AGRESİF PERİODONTİTİSLİ HASTALARIN SUBGİNGİVAL PLAK
ÖRNEKLERİNDEN ELDE EDİLEN *ACTINOBACILLUS ACTINOMYCETEMCOMITANS*
İZOLASYONLARININ KARAKTERİZASYONU****CHARACTERIZATION OF *ACTINOBACILLUS ACTINOMYCETEMCOMITANS* ISOLATES
COLLECTED FROM SUBGINGIVAL PLAQUE SAMPLES OF GENERALIZED AGGRESSIVE
PERIODONTITIS PATIENTS**

**Başak DOĞAN * Arzu Şahan KİPALEV † Ayşen BODUR ‡
Sirrka ASIKAINEN §**

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, generalize agresif periodontitis (GAgP) tanısı konulan ve subgingival plak örneklerinde *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*) saptanan hastaların, *A. actinomycetemcomitans* izolasyonlarının, serotipik ve genotipik analizlerle karakterize edilmesidir. Çalışmaya, 14 GAgP hastadan elde edilen 52 *A. actinomycetemcomitans* izolasyonu (kişi başına 3 veya 4 izolasyon olmak üzere) dahil edilmiştir. Bütün izolasyonların serotipik tayini immünodifüzyon yöntemiyle kullanılarak yapılmıştır. Ayrıca, 42 izolasyonun (kişi başına 3 izolasyon olmak üzere) genotipik analizi rastgele primerize edilmiş polimeraz zincir reaksiyonu (AP-PCR) yöntemi kullanılarak yapılmıştır. 14 hastanın 10 tanesinde tek bir serotip saptanmıştır. Dört hastada ise serotipik tayini yapılamayan ve serotiplenebilir izolasyonlar birarada bulunmuştur. Hastalar arasında *A. actinomycetemcomitans* serotip dağılımı; %7'si serotip a, %29'u serotip b, % 57'si serotip c, %7'si serotip e ve %29'u serotipik tayini yapılamayan izolasyonlar olarak tespit edilmiştir. 42 *A. actinomycetemcomitans* izolasyonu arasında 7 farklı AP-PCR genotip bulunmuştur. En sık görülen AP-PCR genotip, serotip c'ye ait olan genotip 3 olarak saptanmıştır. Sonuç olarak, Türk GAgP hastalarında serotip d'ye oldukça nadir olarak rastlanırken, en sık serotip c tespit edilmiştir. Serotip c'nin bu hasta grubunda en yüksek oranda bulunması, *A. actinomycetemcomitans* serotiplerinin hastalıklara göre spesifik dağılımında coğrafik farklılıklar gösterebildiğini ortaya koymaktadır.

Anahtar kelimeler: Periodontal hastalık, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, serotip, AP-PCR, agresif periodontitis.

SUMMARY

The aim of the study was to investigate *A. actinomycetemcomitans* serotype and genotype distribution among subgingival *A. actinomycetemcomitans* isolates of patients with generalized aggressive periodontitis. A total of 52 *A. actinomycetemcomitans* isolations recovered from 14 patients with GAgP were included in this study (3 to 5 isolates per subject). All isolates (n=52) were serotyped by using immunodiffusion assay and 42 isolates (3 isolates per subject) were also genotyped using arbitrarily primed polymerase chain reaction (AP-PCR) method. Ten of the 14 subjects included in this study harbored only one serotype. Four subjects had serotypeable isolates with non-serotypeable ones. The serotype distribution among patients were as follows: serotype a 7%, b 29%, c 57%, e 7%, and non-serotypeable isolates 29%. Among 42 isolates 7 distinct AP-PCR genotypes were detected. Most common AP-PCR genotype was genotype 3 belonged to serotype c. The results showed that serotype d isolates were very rare but serotype c isolates were common among Turkish patients with GAgP. The frequent detection of serotype c among the study subjects shows that the serotype distribution in relation to periodontal status can be vary related to the geographical differences.

Key words: Periodontal disease, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, serotype, AP-PCR, aggressive periodontitis.

* M.Ü. Sağlık Eğitim Fakültesi, Temel Sağlık Bilimleri Bölümü, Yrd. Doç. Dr.

† Uzman, Serbest Dişhekim, Dr. Dt.

‡ Gazi Üniv. Dişhek. Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı, Yrd.Doç.Dr.

§ Umea Üniversitesi, Tıp Fakültesi Dişhekimliği Departmanı, Oral Mikrobiyoloji Bölümü, Prof. Dr.

GİRİŞ

Gram-negatif, fakültatif anaerobik bir kokobasil olan *Actinobacillus actinomycetemcomitans* periodontitisin ana patojen bakterilerindendir. Lokalize juvenil periodontitisli hastaların yaklaşık %90'ında, erişkin periodontitisli hastaların %30 ile %50'sinde ve periodontal yönden sağlıklı olan bireylerinse %10'unda ağız ortamında *A. actinomycetemcomitans* saptanmıştır^{3,18,22,28}. *A. actinomycetemcomitans* serolojik olarak a'dan e'ye kadar olmak üzere 5 ayrı serotipe ayrılmaktadır. Serolojik çalışmalar, ilk olarak oral mikroflorada sık bulunan 3 *A. actinomycetemcomitans* serotipi tespit etmişlerdir (a, b ve c)^{4,32}. Serotipik tayini yapılamayan bazı izolasyonlar ise daha sonra serotip d ve e olarak tanımlanmıştır²³. Literatürde, *A. actinomycetemcomitans* serotip dağılımı ile periodontal hastalık arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çok çalışma olmasına rağmen, sonuçlar bölgesel farklılıklar göstermektedir. İsviçre ve Yunanistan'da yapılan çalışmalarda, erken başlayan periodontitis teşhisi konulan hastalarda, serotip b'nin %29 ile %31 oranında en sık görülen serotip olduğu saptanmıştır^{11,15}. Diğer taraftan, Güney Amerika ve Uzak Doğu ülkelerinde yapılan çalışmalarda, lokalize juvenil periodontitisli hastalarda, serotip c'nin en fazla rastlanan serotip olduğu ortaya konmuştur^{30,31}. Kuzey Avrupa ve Kuzey Amerika ülkelerinde yapılan çalışmalarda ise serotip c izolasyonları çoğunlukla periodontal yönden sağlıklı bireylerde bulunmuştur^{4,12}. Ülkemizde, lokalize juvenil periodontitisli hastalarda *A. actinomycetemcomitans* serotip a, b ve c referans suşlarına karşı serum antikor düzeylerinin incelendiği bir çalışmada, kişilerin %27'sinde serotip c, %31'nde serotip a ve c, %22'sinde ise her 3 serotipe karşı düzeylerin yüksek olduğu saptanmıştır⁷. Bilgimiz dahilinde, literatürde, Türk bireylerden kültür yöntemiyle *A. actinomycetemcomitans*'ın tespitine ve karakterizasyonuna yönelik çalışmalar oldukça sınırlıdır.

Bu çalışmadaki amaç, GA_gP teşhisi konulan Türk hastaların, subgingival plak örneklerinden, kültür yöntemiyle elde edilen *A. actinomycetemcomitans* izolasyonlarının serotipik ve genotipik dağılımının ortaya konulmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bireyler

Gazi Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na başvuran, GA_gP tanısı konulan ve subgingival plak örneklerinden *A. actinomycetemcomitans* kültürüne edilen (*A. actinomyce-*

temcomitans-positive), 14 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Bu hastaların, 8'i bayan 6'sı erkek olup yaş ortalaması 33.6 idi. Bütün bireyler sistemik yönden sağlıklı, son 6 ay içinde herhangi bir antibiyotik kullanmamış ve periodontal tedavi görmemişlerdir. Bütün hastalardan imzalı katılım formu alınmıştır.

Örnekleme

Bütün bireylerden subgingival periodontal örnekler, cep derinliği ≥ 4 mm olan 6 bölgeden steril paper point kullanılarak havuz yöntemiyle alınmıştır. Paper pointler hemen 2 ml'lik VMGA III taşıyıcı besiyeri¹⁷ içeren tüplere transfer edilip, 48 saat içinde *A. actinomycetemcomitans* için kültür işlemi yapılmak üzere, hızlı postayla Helsinki Üniversitesi Oral Mikrobiyoloji laboratuvarına yollanmıştır.

A. actinomycetemcomitans TSBV-agar²⁹ besiyerinde %5 CO₂'li ortamda 37°C'de 3-5 günlük inkübasyon sonrasında tipik koloni morfolojisi, gram boyama ve positif katalaz reaksiyonuna bakılarak tespit edilmiştir. *A. actinomycetemcomitans* mevcut olduğunda 2-5 koloni subgingival kültürden izole edilmiş ve saf kültürler %20'lik skim-milk içinde -70 °C'de serotipik ve AP-PCR genotipik analizler için saklanmıştır.

Serotipik Analiz

A. actinomycetemcomitans tespit edildiğinde rastgele seçilen izolasyonlar (s=52) daha önceden tarif edildiği üzere²³ immünodifüzyon yöntemle serotiplendirilmiştir. Serotip a, b, c, d, ve e'ye karşı tüm hücre antijenleri kullanılarak tavşanlarda serotip-özel antiserumları oluşturulmuştur. Serotipleme antijenleri %1 yeast extract ihtiva eden Todd Hewitt broth¹¹ içinde üremiş bakteriyel hücrelerin otoklav edilmesiyle hazırlanmıştır. Immünodifüzyon %1.2'lik Noble agarda yapılmıştır.

AP-PCR Genotipik Analiz

Toplam 42 *A. actinomycetemcomitans* izolasyonunun kromozomal DNA'sı AP-PCR amplifikasyonu için önceden tarif edildiği üzere ekstrakte edilmiştir²⁶.

50 ml'lik PCR reaksiyonluk hacim, 0.2 mM dNTP¹¹, 10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, 4 mM MgCl₂, 5 U AmpliTaq[®], 5 ml template DNA (1:100), ve 0.4 mM primer (5-CAGCACCCAC-3)'den oluşmaktadır. Amplifikasyon termosiklusa[†] belirtildiği

11 Difco Lab. Detroit, MI

¶ Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ

Perkin Elmer Cetus, Norwalk, CT

üzere yürütülmüştür: Başlangıç denatürasyonu 94 °C'de 5 dakika, 35 siklus 94 °C'de 1 dakika, 32 °C'de 2 dakika, 72 °C'de 2 dakika, ve final ekstansiyon 72 °C'de 5 dakika. Amplifikasyon ürünleri, etidyum bromid (0.5 mg/ml) ile renklendirilmiş %1 (wt/vol)'lik agarose jel elektroforezde analize edilip, ultraviyole ışık altında fotoğraflanmıştır. AP-PCR genotip sınıflandırma daha önce yapılan çalışmalarda sınıflandırmaya göre yapılmıştır^{5,8,9,19,20}.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 14 hastaya ait *A. actinomycescomitans* izolasyonlarının serotip ve AP-PCR genotip dağılımı Tablo I'de gösterilmiştir. Hastaların %29'unda serotiplenebilen ve serotiplenemeyen izolasyonlar birarada bulunurken, %71'i kendi içlerinde sadece tek bir serotip sergilemişlerdir. Hastaların %7'si *A. actinomycescomitans* serotip a, %29'u serotip b, %57'si serotip c, %7'si serotip e ve %29'u serotipik tayini yapılamayan içermekteydi. 52 *A. actinomycescomitans* izolasyonunun serotip dağılımı ise serotip a %2, b %27, c %46, e %10 ve serotipik tayini yapılamayan izolasyonlar ise %12 oranında saptanmıştır. *A. actinomycescomitans* serotip d izolasyonuna rastlanmamıştır.

Tablo I. 14 *A. actinomycescomitans*-pozitif generalize agresif periodontitisli hastanın serotip ve AP-PCR genotip dağılımı.

<i>A. actinomycescomitans</i>		
Hasta no	serotip (izolasyon sayısı) total sayı=52	AP-PCR genotip* (izolasyon sayısı) total sayı =42
I	a (3)	1 (3)
II	c (3)	3 (3)
III	x ve b (2 ve 1)	16 (3)
IV	e (5)	20 (3)
V	x ve c (1 ve 4)	19 ve 11 (1 ve 2)
VI	c (3)	3 (3)
VII	x ve c (1 ve 2)	11 (3)
VIII	c (3)	3 (3)
IX	b (5)	23 (3)
X	x ve b (2 ve 3)	23 (3)
XI	c (3)	3 (3)
XII	b (5)	23 (3)
XIII	c (3)	3 (3)
XIV	c (3)	11 (3)

*AP-PCR genotip 1-17 tanımlaması Asikainen ve arkadaşlarına⁵ göre, 18 ve 19 tanımlaması Paju ve arkadaşlarına¹⁹ göre, 20-22 tanımlaması Doğan ve arkadaşlarına^{8,9} göre, 23-26 tanımlaması ise Paju ve arkadaşlarına²⁰ göre dir.

** Serotipik tayini yapılamayan izolasyonlar

OPA 13 primeri 42 *A. actinomycescomitans* izolasyonu arasında 7 farklı AP-PCR genotip bulunmuştur. Bunlar; *A. actinomycescomitans* serotip a

ait izolasyonlarını içeren AP-PCR genotip 1, serotip b ait izolasyonlarını içeren genotip 16 ve 23, serotip c ait izolasyonlarını ait genotip 3 ve 11, *A. actinomycescomitans* serotip e'ye ait genotip 20 ve serotipik tayini yapılamayan izolasyonları içeren AP-PCR genotip 19'dur. Tek bir hasta dışında, bütün hastalar kendi içerisinde tek bir AP-PCR genotip sergilemişlerdir. En sık görülen AP-PCR genotip serotip c ait olan genotip 3 (%13) olarak saptanmıştır.

TARTIŞMA

Bu çalışmada, 14 GAgP tanısı konulan Türk bireylerde kültür yöntemiyle elde edilen *A. actinomycescomitans* izolasyonlarının serotipik ve genotipik dağılımı araştırılmıştır. Her birey 3 veya 5 izolasyonla çalışmaya dahil edilmiştir. Bütün izolasyonlar serotiplendirilmiş ve bazıları ayrıca genotipik analiz yöntemiyle karakterize edilmiştir. Hastaların %29'unda serotipik tayini yapılabilen ve yapılamayan izolasyonların birarada bulunduğu tespit edilmiştir. Bir bireyde birden fazla serotip varlığı ilk olarak Koreli bireyler arasında (%33) ortaya konulmuştur⁶. Benzer olarak, birden fazla serotipe daha az sıklıkla olmak üzere, Finli bireyler (%1 ile %6 oranı arasında)^{1,4,23}, İsviçre'deki göçmenler (%11)¹⁶, Rumlar (%9)¹⁵ ve Japonlar (%2)¹³ arasında rastlanmıştır. Buna rağmen Hölta ve arkadaşları¹⁴ Finlandiya'da yaşayan Vietnamlı göçmenler arasında birden fazla serotip içeren bireylerin yüksek oranda bulunduğunu rapor etmişlerdir. Bununla beraber, Türk bireyler (%53) ve İsviçre'de yaşayan göçmenler (%53) arasında birey içi birden fazla serotipe daha sıklıkla rastlandığı bulunmuştur^{7,11}.

Mevcut çalışma popülasyonunda en sık rastlanan serotip: serotip b, c ve serotipik tayini yapılamayan izolasyonlar olarak tespit edilmiştir (sırasıyla %29, %57 ve %29 oranında). Buna karşın serotip a ve e oldukça düşük oranda (%7 ve %7) bulunurken, serotip d izolasyonuna hiç rastlanmamıştır. Bu sonuçları, hasta gruplarının seçimi ve kullanılan teknik bakımından benzer olan ve Finli bireyler üzerinde yaptığımız önceki çalışmamızla karşılaştırdığımızda, serotip b ve e dağılımının iki çalışmada da yaklaşık olarak aynı oranda olduğu görülmektedir⁹. Buna karşın, bu çalışmada serotip c ve serotipik tayini yapılamayan izolasyonlar 2 kattan fazla oranda bulunmuştur. Çelenligil ve arkadaşlarının⁷ yaptıkları ve sadece 3 serotipin incelendiği çalışmada ise, serotip a,

b ve c'nin dağılımını %44, %47 ve %76 olarak saptanmıştır. Bizim sonuçlarımıza benzer şekilde, en fazla serotip c saptanmasına rağmen dağılımlarda farklılıklar gözlenmektedir. Bu dağılımdaki farklılıkların nedeni, çalışmalarda uygulanan yöntemlere ve çalışmaya dahil edilen hasta grubundaki farklılıklara bağlanabilir. Bizim bulgularımızdan farklı olarak Gmür ve arkadaşları¹¹ ve ayrıca Kamma ve arkadaşları¹⁵ erken başlayan periodontitisli hastalar üzerinde yaptıkları çalışmada serotip c'yi %7'den düşük ve serotip a'yı yaklaşık %25 oranında tespit etmişlerdir. Bu çalışmalar arasındaki farklı bulgular, çalışma popülasyonları arasındaki etnik veya çevresel farklılıkların yansımaları olabileceği gibi, çalışmalarda kullanılan tekniklerin farklı olmasından da kaynaklanabilir.

AP-PCR genotipik analiz sonucunda 7 genotip saptanmıştır. Bu genotiplerin, daha önce çalışmalarımızda saptadığımız genotiplerden olduğu bulgulanmıştır^{5,8,9,19,20}. AP-PCR veya ribotipleme yöntemi kullandığımız daha önceki çalışmalarımızda olduğu gibi bu çalışmada da aynı kişiden izole edilen aynı serotipe ait izolasyonlar her zaman aynı genotipe aitti^{5,24-26}. En sık rastalanan AP-PCR genotip serotip c ait olan genotip 3 (%13) olarak bulgulanmıştır. 14 hastanın 4'ü serotipik tayini yapılabilen ve yapılamayan izolasyonları bir arada bulundurmaktaydı (Tablo I). AP-PCR genotipik analiz sonucunda 3 hastada bu izolasyonlar tek bir genotip sergilediler. Bu bulgu, bizim daha önceki çalışmamızı destekler niteliktedir²⁷. 6 serotipik tayini yapılamayan izolasyon 4 farklı genotip ortaya koymuştur. Bu AP-PCR genotiplerin 3'ü aynı zamanda serotiplenebilen izolasyonlarda da tespit edilmiştir^{5,10,20}. Bu sonucumuz, daha önceki çalışmalarla uygunluk göstermektedir^{19,21}. Bu çalışmalar, serotipik tayini yapılamayan izolasyonların serotip-spesifik antiserum ile etkileşimini kayıp eden temelde serotiplenebilen topluluğa ait olduğunu ileri sürmektedirler.

Sonuç olarak, *A. actinomycetemcomitans* serotip c'nin GAgP'li Türk hastalarında yüksek oranda bulunması *A. actinomycetemcomitans* serotiplerinin hastalıklara göre spesifik dağılımında coğrafik farklılıklar gösterebildiğini ortaya koymaktadır. Bununla beraber bu hastalarda serotip d izolasyonuna rastlanmaması ve serotipik tayini yapılamayan izolasyonların fazlalığı bu suşun lokal özelliği olduğunu düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

1. Alaluusua S, Asikainen S, Lai C-H. Interfamilial transmission of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. J Periodontol 62: 207-210, 1991.
2. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. Ann Periodontol 4: 1-6, 1999.
3. Asikainen S. Subgingival microflora in relation to clinical conditions in juvenile periodontitis. Thesis. University of Helsinki Helsinki, 1986.
4. Asikainen S, Lai C-H, Alaluusua S, Slots J. Distribution of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes in periodontal health and disease. Oral Microbiol Immunol 6: 115-118, 1991.
5. Asikainen S, Chen C, Slots J. Likelihood of transmitting *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in families with periodontitis. Oral Microbiol Immunol 11: 387-394, 1996.
6. Chung H-J, Chung J-P, Son S-H, Nisengard RJ. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes and leucotoxicity in Korean localized juvenile periodontitis. J Periodontol 60: 506-511, 1989.
7. Çelenligil H, Ebersole JL. Analysis of serum antibody responses to periodontopathogens in early-onset periodontitis patients from different geographical locations. J Clin Periodontol 25: 994-1002, 1998.
8. Doğan B, Saarela M, Asikainen S. Genotyping of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotype d isolates based on polymerase chain reaction. Oral Microbiol Immunol 14: 387-390, 1999.
9. Doğan B, Saarela MH, Jousimies-Somer H, Alaluusua S, Asikainen S. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotype e—biotypes, genetic diversity and distribution in relation to periodontal status. Oral Microbiol Immunol 14: 98-103, 1999.
10. Doğan B. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* strains diversity, oral stability and clinical associations. Thesis. University of Helsinki Helsinki, 1999.
11. Gmür R, Baehni PC. Serum immunoglobulin G responses to various *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes in a young ethnographically heterogeneous periodontitis patient group. Oral Microbiol Immunol 12: 1-10, 1997.
12. Haubek D, Poulsen K, Asikainen S, Kilian M. Evidence for absence in Northern Europe of especially virulent clonal types of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. J Clin Microbiol 33: 395-401, 1995.
13. He T, Hayashi J, Yamamoto M, Ishikawa I. Genotypic characterization of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* isolated from periodontitis patients by arbitrarily primed polymerase chain reaction. J Periodontol 69: 69-75, 1998.
14. Hölttä P, Alaluusua S, Saarela M, Asikainen S. Isolation frequency and serotype distribution of mutans streptococci and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, and clinical periodontal status in Finnish and Vietnamese children. Scan J Dent Res 102: 113-119, 1994.

15. Kamma JJ, Gmür R, Geinoz A, Baehni PC. Distribution of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes in a Greek population with early-onset periodontitis. J Dent Res 77 (Spec iss B): 776 (abstr 1157), 1998.
16. McNabb H, Mombelli A, Gmür R, Mathey-Dinç S, Lang NP. Periodontal pathogens in the shallow pockets of immigrants from developing countries. Oral Microbiol Immunol 7: 267-272, 1992.
17. Möller ÅJR. Microbiological examination of root canals and periapical tissues of human teeth. Odontol Tidskr 74: 1-380, 1966.
18. Nieminen A. Advanced adult periodontitis: clinical, microbiological, immunological and biochemical markers for treatment response. Thesis. University of Helsinki Helsinki, 1997.
19. Paju S, Saarela M, Alaluusua S, Fives-Taylor P, Asikainen S. Characterization of serologically nontypeable *Actinobacillus actinomycetemcomitans* isolates. J Clin Microbiol 36: 2019-2022, 1998.
20. Paju S, Carlson P, Jousimies-Somer H, Asikainen S. Heterogeneity of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* strains in various human infections and relationships between serotype, genotype, and antimicrobial susceptibility. J Clin Microbiol 38: 79-84, 2000.
21. Poulsen K, Theilade E, Lally ET, Demuth DR, Kilian M. Population structure of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: a framework for studies of disease-associated properties. Microbiology: 140: 2049-2060, 1994.
22. Rodenburg JP, van Winkelhoff AJ, Winkel EG, Goené RJ, Abbas F, de Graaff J. Occurrence of *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in severe periodontitis in relation to age and treatment history. J Clin Periodontol 17: 392-399, 1990.
23. Saarela M, Asikainen S, Alaluusua S, et al. Frequency and stability of mono- or poly-infection by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes a, b, c, d or e. Oral Microbiol Immunol 7: 277-279, 1992.
24. Saarela M, Von Troil-Lindén B, Torkko H, Stucki A-M, Alaluusua S, Jousimies-Somer H, Asikainen S. Transmission of oral bacterial species between spouses. Oral Microbiol Immunol 8: 348-354, 1993.
25. Saarela M. Sero- and ribotypic characterization of some oral pathogens. Thesis. University of Helsinki Helsinki, 1993.
26. Saarela M, Asikainen S, Chen C, Alaluusua S, Slots J. Comparison of arbitrarily primed polymerase chain reaction and ribotyping for subtyping *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Anaerobe 1: 97-102, 1995.
27. Saarela MH, Doğan B, Alaluusua S, Asikainen S. Persistence of oral colonization by the same *Actinobacillus actinomycetemcomitans* strain(s). J Periodontol 70: 504-509, 1999.
28. Slots J, Reynolds HS, Genco R. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease: a cross-sectional microbiological investigation. Infect Immun 29: 1013-1020, 1980.
29. Slots J. Salient biochemical characters of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Arch Microbiol 131: 60-67, 1982.
30. Tinoco E, Sivakumar M, Preus H. The distribution and transmission of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in families with localized juvenile periodontitis. J Clin Periodontol 25: 99-105, 1998.
31. Yamamoto M, Nishihara T, Koseki T, He T, Yamato K, Zhang YJ, Nakashima K, Oda S, Ishikawa I. Prevalence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes in Japanese patients with periodontitis. J Periodont Res 32: 676-681, 1997.
32. Zambon JJ, Slots J, Genco RJ. Serology of oral *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and serotype distribution in human periodontal disease. Infect Immun 41: 19-27, 1983.

Yazışma adresi

Yrd. Doç. Dr. Başak DOĞAN
M.Ü. Sağlık Eğitim Fakültesi
Temel Sağlık Bilimleri Bölümü
Cevizli / İSTANBUL