

ENDODONTİK TEDAVİDE KULLANILAN ANTİSEPTİKLERİN İNVİTRO ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİ

Hüma ÖMÜRLÜ* Aykut MISIRLIĞİL** Güliz GÖRGÜL***
Tayfun ALAÇAM****

ÖZET

Kök kanallarının yıkanması veya dezenfeksiyonunda kullanılan klorheksidin, povidon - iodine, glutaraldehit, 9 - amino akridin, bisdequalinium asetat, formokrezol, sodyum hipoklorit, fenil merkürük borat'ın antibakteriyal etkileri süperior letal katsayı deneyi ile bulunmuştur. Süperior letal katsayılar esas alınarak bu dezenfektanların zorunlu anaerob mikroorganizmalardan B.melaninogenicus, B.oralis, V.alcalescens ve P.anaerobius üzerindeki etkileri incelendi. BDA'nın süperior letal katsayısı olarak saptanan 1.25/1000'lik sulandırımının denenen 4 anaerobik mikroorganizmaya etkili olmadığı saptandı. Denenen diğer antiseptiklerin superior letal katsayılarındaki sulandırımları ise zorunlu anaerob 4 mikroorganizmaya 5 ve 10 dakikalık temas süresi sonunda 24 - 72 saatlik bekleme periyodunda etkili olarak antibakteriyal aktivite gösterdiği belirlendi.

Anahtar kelime : Antiseptiklerin etkileri.

SUMMARY

ANTIMICROBIAL EFFECTS OF ANTISEPTICS USED IN ENDODONTICS BY INVITRO METHODS

The antibacterial effects of some disinfectants which are used for the cleaning or disinfecting of the root canals such as chlor-

(*) G.Ü. Dişhek. Fak. Diş Hast. ve Ted. Anabilim Dalı, Yrd. Doç. Dr.

(**) A.Ü. Dişhek. Fak. Mikrobiyoloji Bilim Dalı, Doç. Dr.

(***) G.Ü. Dişhek. Fak. Diş Hast. ve Ted. Anabilim Dalı, Yrd. Doç. Dr.

(****) G.Ü. Dişhek. Fak. Diş Hast. ve Ted. Anabilim Dalı, Prof. Dr.

ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİK

hexidine, povidone iodine, glutaraldehide, 9 - aminoacridine, bisdequalinium acetate, formocresol, sodium hypochloride, phenyl mercuric borate were determined by superior lethal coefficient test. In respect to these lethal coefficients the effects of these solutions on the anaerob microorganisms such as *B.melaninogenicus*, *B.oralis*, *V.alcalescens* and *P.anaerobius* were observed. BDA was found to be ineffective on the 4 anaerobic microorganisms in the dilution of 1.25/1000 which had been found as its superior lethal coefficient. The dilution of the other antiseptics in their superior lethal coefficients were found to be ali effective on the 4 anaerobic microorganisms after the exposition of 5-10 minutes and the anaerobic incubation of 24 - 72 hours.

Key word : Effects of antiseptics.

GİRİŞ

Endodontik tedavide biyomekanik preparasyon sırasında ve sonrasında çeşitli yıkayıcı ve dezenfekte edici kimyasal maddelerin kullanımını önem taşıyan bir işlemdir.

Endodontideki geçerli görüşler kök kanalına dezenfeksiyon için yerleştirilen kimyasal madde ve ilaçlardan çok, kanaldan boşaltılabilecek materyalle ilgilenmektedir (1,4). Bununla beraber kök kanal sisteminin gösterdiği anatomik düzensizlikler ve ayrıntılar nedeniyle halen uygulanmakta olan metodlar nekrotik, enfekte pulpa dokusunun tam olarak boşaltılmasında yetersiz kalmaktadır. Bu gibi durumlarda antiseptik bir ajanın kullanılmaması residual mikrop populasvonunun sayıca artmasına neden olmaktadır (2,5, 11).

İrriganlar ve kanal dezenfektanları mikroorganizmaların eliminasyonu, nekrotik dokuların eritilmesi, kök kanal sisteminin boşaltılmasının kolaylaştırılması, tedavi sırasında ve sonrasında ağrının önlenmesi veya kontrolü anesteziğin artırılması vital veya devital doku fiksasyonu, iltihap ve apselerin kontrolü, kök kanal boşluğunun tam olarak doldurulması gibi amaçlarla kullanılmaktadır.

Enfekte pulpalardan izole edilen otuzdan fazla grup ve tipten mikroorganizma esas olarak ağız florası mikroorganizmalarından oluşur. Bu karışık flora ağız içinde patojen olmasa bile, metabolizma ürünleri, fizikokimyasal değişimler ve virulans faktörleri ile kanal içinde belirgin doku değişimlerine neden olmaktadır. Bazı mikroorganizmalar bu değişen çevrede aşırı çoğalma ortamı bulmaktadır (9). Anaeroblar kök kanal enfeksiyonlarında hakim rol oynamaktadırlar (14). Günümüzde anaerobik izolasyon yöntemlerinin geliştirilmesi özellikle nekrotik pulpalarda, akut pulpa alveolar selülitlerin patogeneğinde sorumlu tutulan anaerobik mikroorganizmaların gösterilmesini sağlamış ve bu konudaki çalışmaların odak noktası haline almıştır (3, 7, 13, 16).

Devital dişlerde, kronik ve akut olgularda anaerobik izolasyonlarla ilgili bildirimlerin artması, bu çeşit mikroorganizmalara etkili olan antimikrobik maddelerin de araştırılması sorununu beraberinde getirmiştir (7, 8).

Bu amaçla çalışmamızda kök kanallarının yıkanması veya dezenfeksiyonunda kullanılan klorheksidin, povidon - iodine, glutaraldehit, 9-aminoakridin, bis-dequalinium asetat (BDA), formokrezol, sodyumhipoklorit, fenil merkürük borat'ın invitro koşullarda etkili bulunan en düşük konsantrasyonlarının kök kanallarındaki zorunlu anaerobik mikroorganizmalardan *B.melaninogenicus*, *B.oralis*, *V.alcalescens* ve *P.anaerobius* üzerindeki etkileri karşılaştırmalı olarak incelendi.

MATERYAL VE METOD

Araştırmamızın ilk aşamasında kanal dezenfektanlarının antibakteriyal etkileri süperior letal katsayı deneyi ile bulunmuştur. Bu amaçla dezenfektanların steril distile suda sulandırılmaları hazırlandı. Bu sulandırmalara *B.subtilisin* 24 saatlik buyyon kültürünün 1/100 sulandırmadan 0.2 cc eklendi. Deney tüpleri 37°C'de

ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİK

inkübe edildi. 5 dakikada üremenin görülmediği en düşük konsantrasyon superior letal katsayı olarak saptandı.

İkinci aşamada dezenfektanların superior letal katsayıları esas alınarak zorunlu anaerob 4 mikroorganizmaya olan etkinlikleri araştırıldı.

İlk olarak *B.melaninogenicus*'un 50 ml'lik tripticase soy broth besisi yerinde (10^6 mikroorganizma/ml) 24-28 saatlik üretmesi yapıldı. 24 adet en kaim absorban kağıt kon sterilize edilerek 20 tanesi içinde inokulum bulunan beklere atılarak en az üç dakika bekletildi. Geriye kalan 4 kağıt kon kontrol olarak Kullanıldı.

Steril test solüsyonlarının her birinden 5 ml 20 steril tüpün içine konuldu. İnokulum içinde bulunan 20 kağıt kon bu test solüsyonlarının içine atıldı. Kağıt konların 10 tanesi 5 dakika, 10 tanesi de 10 dakika sonra test solüsyonlarının içinden çıkartıldı ve içinde anaerobik bakterilerin üremesini sağlayan 10 ml tiyoglikolatlı besisi yerine kondu. 37°C'de 72 saatlik inkubasyondan sonra tüpteki bulanıklığa bakıldı. Bulanıklığın görülmediği tiyoglikolatlı besisi yerinden tekrar kanlı agar besisi yerine subkültür yapıldı. Anaerobik şartlarda 37°C'de 72 saat inkübe edildi. Üremenin görüldüğü test organizmalarından gram boyaması yapıldı.

Geriye kalan 4 steril kağıt kondan iki tanesi kontrol olarak içinde bakteri kültürü bulunan bek içine 3 dakika süreyle atıldı ve sonra içinde 10 ml tiyoglikolatlı besisi yerini bulan iki tüpe konuldu. İki tanesi ise direkt olarak iki ayrı tüpte bulunan tiyoglikolatlı besisi yerine atıldı. Bu 4 tüpte inkübe edildi ve subkültürü yapıldı. Aynı işlemler diğer 3 mikroorganizma türlerinin kültürleri ile tekrarlandı.

BULGULAR

İncelenen dezenfektanların superior letal katsayıları Tablo 1'de gösterilmiştir.

TABLO 1 : Araştırmada Kullanılan Dezenfektanların Süperior Letal Katsayıları.

DEZENFEKTAN	SUPERİOR LETAL KATSAYI
Klorheksidin	1/2000
Glutaraldehit	2/100
9 - aminoakridin	1/1000
Sodyum Hipoklorit	2/100
Bis Dequalinyum Asetat	1,25/1000
Povidon İodin	10/100
Fenil Merkurik Borat	1/500

Süperior letal kat sayısı esas alınarak dezenfektanların zorunlu anaerob *B. melaninogenicus*, *B.oralis*, *V.alcalescens*, ve *P.anaerobius*'a olan etkinliklerinin sonucu Tablo 2'de gösterilmiştir.

Antiseptikler uygulandıkları sulandırılarda 5 ve 10 dakikalık sürelerde mikroorganizmalar ile temas sonunda 24 saatte üreme göstermezken, *V.alcalescens* NaOCl ile 5 dakikalık temas süresi sonunda 48 saat sonra üreme göstermiştir. 10 dakikada ise NaOCl bu mikroorganizmaya etkili olmuştur. BDA 48 - 72 saat sonunda mikroorganizmalarla temasta dört mikroorganizma üzerinde antibakteriyel etki göstermemiş, *V.alcalescens* 10 dakikada etki göstermiştir.

Steril serum fizyolojik, denenen mikroorganizmaların hiç biri üzerinde germisidal etki göstermezken, formokrezol hepsine antibakteriyel etkili olmuştur.

Bakteri kültürü içinde kontamine edildikten sonra direkt olarak tiyoglikolatlı besi yerine atılan kontrol kağıt konlarda pozitif üreme görülmüş, kontamine olmayan kağıt konlarda ise direkt tiyoglikolatlı besi yerinde herhangi bir üreme cımadığı saptanmıştır. Bu kontrol işlemlerinin sonucu anaerobik üreme metodlarının uygun olduğunu göstermektedir.

TABLO 2: Superior letal kat sayısı esas alınarak dezenfektanların zorunlu anaerob B.melaninogenicus, B.oralis, V.alcalescens, P.anaerobius'a olan etkinlikleri.

	Süre	B.Melaninogenicus		B. Oralis		V. Alcalescens		P. Anaerobius	
		5'	10'	5'	10'	5'	10'	5'	10'
Klorheksidin	24	-	-	-	-	-	-	-	-
	48	-	-	-	-	-	-	-	-
	72	-	-	-	-	-	-	-	-
Glutaraldehit	24	-	-	-	-	-	-	-	-
	48	-	-	-	-	-	-	-	-
	72	-	-	-	-	-	-	-	-
9 Aminoakridin	24	-	-	-	-	-	-	-	-
	48	-	-	-	-	-	-	-	-
	72	-	-	-	-	-	-	-	-
Sodyumhipoklorit	24	-	-	-	-	-	-	-	-
	48	-	-	-	-	+	-	-	-
	72	-	-	-	-	+	-	-	-
Bisdequalinyum Asetat	24	-	-	-	-	-	-	-	-
	48	+	+	+	+	+	-	+	+
	72	+	+	+	+	+	-	+	+
Povidon İodin	24	-	-	-	-	-	-	-	-
	48	-	-	-	-	-	-	-	-
	72	-	-	-	-	-	-	-	-
Fenil Merkurik Borat	24	-	-	-	-	-	-	-	-
	48	-	-	-	-	-	-	-	-
	72	-	-	-	-	-	-	-	-
Formokresol	24	-	-	-	-	-	-	-	-
	48	-	-	-	-	-	-	-	-
	72	-	-	-	-	-	-	-	-
Steril Serum Fizyolojik	24	+	+	+	+	+	+	+	+
	48	+	+	+	+	+	+	+	+
	72	+	+	+	+	+	+	+	+

(-): Üreme Yok (+): Üreme Var

TARTIŞMA

Araştırmamızda çeşitli antimikrobik kimyasal maddelerle çalışılmasının nedeni invitro koşullarda etkili bulunan en düşük konsantrasyonların spesifik anaerob mikroorganizmalar üzerinde denenmesi ve kliniklerde sıklıkla karşılaşılan mikrop kaynaklı endodontik sorunlara uygun formül ve konsantrasyonda çözüm getiren materyaller arayışından kaynaklanmaktadır.

Anaerob mikroorganizmalar kök kanal florasının önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Araştırmacılar anaerob mikroorganizmaların total floradaki oranını % 67 - % 88 arasında değişen düzeylerde bildirmişlerdir (1,2,7,16). Bu anaerob mikroorganizmalar kollogenolitik aktiviteye ve endotoksine sahip bulunmaktadırlar. Bu nedenle kök kanallarından arındırılmaları büyük önem taşımaktadır (9).

Araştırmacıların kök kanal dezenfeksiyonunda ılımlı bileşiklerin yeterli olacağı görüşüne uygun olarak denenen kimyasal maddelerden BDA'nın önerilen %a 1,25'lik konsantrasyonunun anaerob mikroorganizmalar üzerinde etkisiz kaldığını saptadık (10). Bu bulgu da antiseptik kimyasal maddelerle çalışırken sorunun daha özenli ve bilimsel yaklaşımlarla ele alınmasının önemini bir defa daha ortaya koymaktadır.

Araştırmacıların bir bölümü dezenfektan kullanılmadan mekanik preparasyon ile başarılı sonuçlar alınabileceğini bildirmektedirler. Bununla beraber bazı araştırmacılar da enstrümantasyon ve serum fizyolojik ile irrigasyonla bakteri sayısında azalma elde edilebileceğini fakat mikropsuz bir ortam sağlanamayacağını ileri sürmektedirler. Byström ve Sundqvist, mekanik preparasyon ve serum fizyolojikle yıkamadan sonra 4. seans sonunda bile kök kanallarında mikroorganizmalar saptamışlardır (1). Endodontik tedavilerde mikroorganizmaların varlığı da başarısızlığı göstermez. Bununla beraber tedavide optimal sonuçların elde edilmesinde mikroorganizmaların ilave bir irritasyon kaynağı oluşturarak başarıyı olumsuz yönde etkileyebilecekleri akılda tutulmalıdır. Bu nedenle mikroorganizmaların kontrol ve eliminasyonu her endodontik tedavinin amacı olmalıdır. Mikroorganizmaların eliminasyonları için ilaçların kullanımı çoğu defa tedavinin tamamlayıcı bir parçası olmaktadır.

ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİK

Dezenfektan maddelerin antimikrobiyal etkilerinin karşılaştırılması ya invitro tüp içinde sulandırım testi ile veya disk diffüzyon yöntemi ile yapılmaktadır. Bununla beraber bütün antiseptikler ağara diffüzyon yeteneğinde olmadığından ve agar diffüzyon katsayıları bilinmediğinden bu yöntemle karşılaştırma yanılğılara neden olabilmektedir (12). Bu nedenle biz de çalışmamızda tüp sulandırım deneyinden yararlandık.

Bilindiğı gibi yoğunluğu fazla olan antiseptik solüsyonların antimikrobik etkilerine paralel olarak dokuya zararlı etkileri de artar. Bu nedenle çalışmamızda yüksek antimikrobik etki düşük toksisite düşüncesinden hareket ederek önce invitro olarak kanal dezenfektanlarının etkili bulunan en düşük konsantrasyonunu saptayarak *B.melaninogenicus*, *B.oralis*, *V.alcalescens*, *P.anaerobius* üzerindeki etkilerini araştırdık. Ancak bunlardan NaOCl'in superior letal katsayısını 2/100 olarak bulduk. Byström ve Sundqvist % 5'lik NaOCl ve % 0.5'lik NaOCl'in antibakteriyel etkinliğini karşılaştırmışlar ve % 0.5'lik NaOCl'in minimal düzeyde toksik, maksimal düzeyde antimikrobik etkili olduğunu bildirmişlerdir (2). Spangberg, Engström ve Langeland % 5'lik NaOCl solüsyonunun nekrotik dokuyu çözdüğünü, vital dokuları etkilemediğini, HeLa hücrelerine % 5 NaOCl'den daha az toksik olduğunu bu nedenle endodontik tedavi de önerilebileceğini ileri sürmüşlerdir (12).

Dokularda uzun süre kalıcı antimikrobik etki veya bakteri aktivitesinin ortadan kaldırılmasının yanısıra çevre dokuların zarar görmemesi endodontik tedavinin başarısında önemli rol oynadığından biz de çalışmamızda % 0.5'lik NaOCl solüsyonunu kullanmayı tercih ettik.

NaOCl'nin *V.alcalescens*'e 5 dakikalık temas süresi sonunda 48 saatte etkili olmadığı saptanmıştır. Sodyum hipoklorit endodontik iriigan olarak yaklaşık 40 yıldır kullanılan bir solüsyondur. Hipoklorit organik debrislerle kanal içinde reaksiyona girince temizlemeyi kolaylaştırır ancak bu reaksiyon hipokloriti inaktive eder ve antibakteriyel kapasitesini azaltır. Bu yüzden kök kanalında sık sık taze hipoklorit solüsyonuyla yıkama yapılması gerekir (1). Enfekte kök kanalında sıklıkla bulunduğu ileri sürülen bu mikroorganizmaların arındırılmasında biyomekanik preparasyon sırasında % 0.5 NaOCl solüsyonu kullanıldığında preparasyon süresi

için öne sürülen 10 dakikanın biraz daha uzun tutulmasının yararlı olacağı kanısındayız. Byström ve Sundqvist'in bu konudaki bulguları da bizi destekler niteliktedir (2).

Araştırmamızda kullandığımız dezenfektanlardan BDA ile 5 ve 10 dakikalık temas süresinde mikroorganizmalar 24 saatte üreme göstermezken 48 saat sonunda *V.alcalescens*'e 10 dakikada etkili olmuş diğer 4 mikroorganizma üzerine etkisiz kalmıştır. BDA'nın kemoterapötik ve bakterisidal ajan olarak biyolojik uygunluğunu araştırmayı amaçlayan klinik çalışmalar ve seri haldeki laboratuvar denemelerinde BDA'nın endodontik tedavide irrigasyon, şelasyon ve antiseptik etki yönünden diğer ilaçlara göre üstün bir alternatif olduğu bildirilmiştir (2,6, 15). BDA'nın % 5 ve % 0.5'lik konsantrasyonlarının kullanıldığı bu çalışmalardan farklı olarak araştırmamızda süperior letal kat sayısı olarak saptadığımız 1.25/1000'lik sulandırımının denenen 4 anaerobik mikroorganizmaya etkili olmadığı saptandı. Nekrotik pulpalı devital dişlerin kök kanallarında sıklıkla bulunduğu öne sürülen bu mikroorganizmaların arındırılmasında irrigasyon solüsyonu olarak BDA'nın daha yüksek konsantrasyonlarda kullanılmasının daha yararlı olacağı kanısındayız.

Araştırmamızda denenen diğer antiseptikler ise zorunlu anaerob 4 mikroorganizmaya 5 ve 10 dakikalık temas süresi sonunda 24 - 72 saatlik bekleme periyodunda etkili olarak antibakteriyel aktivite göstermiştir. Bu da kullandığımız sulandırmaların bu antiseptikler için uygun sulandırmalar olduğunu kanıtlamaktadır.

Endodontide kanaldaki mikroorganizmaları azaltmada ve kök kanalını steril etmede antibakteriyel etkinliği fazla olduğundan non spesifik bir ilaç olan formokrezol çok yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Minimal dozlarda (1/20 ve 0.00125 ml.) bile antibakteriyel etkinliğe sahip olduğundan negatif kontrol grubunu oluşturması amacı ile araştırmamıza dahil edilmiştir (12).

İn vitro koşullarda yapılan çalışmamızın invivo olarak değerlendirilmesinde bazı ilave öğeler ortaya çıkmaktadır. Bunlar arasında mikropların ilaç direnci ve dayanıklılığı, bireyin savunma cevabı, ilacın dentin dokusu ve kanal ayrıntılarına nüfuz yeteneği veya kanal florası tarafından etkisiz kılınması, kanaldaki dilüsyon ve organik artıkların etkisi sayılabilir. Ayrıca germisid etkinlikte

ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİK

etkili yoğunluk haricinde, temas süresi ısı pH ve kirlenmede önem taşımaktadır (9).

Sonuç olarak bilinçli bir endodontik yaklaşım, uygun bir kanal preparasyon zamanı ve şekliyle, aerop ve anaerob kanal florası dikkate alınarak özenle seçilen antimikrobik kimyasal maddelerin kullanılmasının başarılı bir endodontik tedavi için gerekli temel öğeler olduğunu söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR

- 1 — Byström, A., Sundqvist, G. : The antibacterial action of hypochloride and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int. Endod. J.*, 13 : 35-40, 1985.
- 2 — Byström, A., Sundqvist, G. : Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochloride in endodontic therapy. *Oral Surg.*, 55 (3) : 307-312, 1983.
- 3 — Foley, D.B., "Weine, F.S., Hagen. J., Obornio, J. : Effectiveness of selected irrigants in the elimination of bacteroides melaninogenicus from the root canal system. An invitro study, *J. Endod.*, 9 (6) : 236 - 241, 1983.
- 4 — Harrison, J. : Irrigation of the root canal system. *Dent. Clin. Nort Ani.*, 38 (4) : 707-807, 1984.
- 5 — Kaufman, A.Y., Greenberg, I. : Comparative study of the configuration and the cleanliness level of root canals prepared with the aid of sodium hypochloride and bis - dequalinium acetate solutions. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pat.*, 62 : 191-197, 1986.
- 6 — Kaufman, A.Y. : Solvidont. A new chemotherapeutic and bacteriocidal agent for endodontic use (1). *Quintess. Int.*, 1 : 71-79, 1983.
- 7 — Matusow, R., Goodall, L.B. : Anaerobic isolates in primary pulpal-alveolar cellulitis cases : *Endod Resolu and Drug Ther. Concid. J. Endod.*, 9 (12) : 535-543, 1983.
- 8 — Nikolaus, E., Wayman, B.E., Encinos, E. : The bacteriocidal effect of citric acid and sodium hypochloride on anaerobic bacteria. *J. Endod.*, 14 (1) : 31-33, 1988.
- 9 — Noite, W.A. : Ağız mikrobiyolojisi, (Çeviren. Arığ Özdem), Gençlik Basımevi, İstanbul, 359, 1977.

- 10 — Pernick, E.C., Osetek, E.M. : Intracanal drugs and chemicals in endodontic therapy. *Dent. Clin. North Am*, 14 (4) : 743-756, 1970.
- 11 — Smith, J.J., Wayman, B.E. : An evaluation of the antimicrobial effectiveness of citric acid as a root canal irrigant. *J. Endod.*, 12 (2) : 54-57, 1986.
- 12 — Spangberg, L., Engström, B., Langeland, K. : Biologic effects of dental materials. Toxicity and antimicrobial effect of endodontic antiseptics in vitro. *Oral Surg.*, 3 (6) : 856-871, 1973.
- 13 — Sundqvist, G., Eckerbom, M.I., Lason, A.P., Sjörgen, V.T. : Capacity of anaerobic bacteria from necrotic dental pulps to induce pulent infeetions. *Infection and Immunity*, 25 (2) : 685-693, 1979.
- 14 — Weine, F.S. : Endodontic Therapy. 3rd edition, C.V. Mosby Oomp., St. Louis., 546-560, 1982.
- 15 — Zach, A., Kaufman, A.Y. : Quantitative evaluation of the influence of bisdequalinium acetate and sodium hypochloride on human dentition. *Oral Surg.*, 55 (5) : 524-526, 1983.
- 16 — Zavistoski, J., Dzink, J., Onderdonk, A., Bartlett, J. : Quantitative bacteriology of endodontic infeetions. *Oral Surg.*, 49 (2) : 171-174, 1980.