

Bepaling van het individuele cariësriscico

Samenvatting. Uitgaande van de preventieve mogelijkheden in de tandartspraktijk wordt de bepaling van het individuele cariësriscico besproken. De telling van mutans streptococci en lactobacillen geeft een indicatie over respectievelijk de biologische aanvalskracht en het suikergebruik. Meting van de secretiesnelheid en buffercapaciteit van het speeksel geeft een indicatie van deze belangrijke weerstandsfactor.

De behandeling van cariësriscico-patiënten dient gericht te zijn op de oorzakelijke factoren. De speekselsecretie en buffercapaciteit kunnen verhoogd worden door patiënten te adviseren suikervrije kauwgom te gebruiken. Wat fluoride en suikergebruik betreft is men afhankelijk van de medewerking van de patiënt. De bacteriologische factor kan bestreden worden door applicatie van chloorhexidine-vernissen. Dit vraagt een minimale coöperatie van de patiënt.

SCHAEKEN MJM, MIKX FHM. Bepaling van het individuele cariësriscico. Ned Tijdschr Tandheelkd 1992; 99: 209-12.

M.J.M. Schaeken, tandarts
F.H.M. Mikx, microbioloog

Uit de vakgroep Parodontologie en Preventieve Tandheelkunde, het Laboratorium voor Orale Microbiologie van de Katholieke Universiteit te Nijmegen.

Trefwoorden: **Cariologie** – Microbiologie

Datum van acceptatie: 18 april 1992.

Adres: M.J.M. Schaeken, postbus 9101, 6500 HB Nijmegen.

1 Inleiding

Epidemiologisch is een groot aantal variabelen in relatie tot cariësactiviteit onderzocht. Cariës blijkt gerelateerd aan factoren zoals leeftijd, geslacht, ras, milieu, sociale afkomst en opleiding. Kinderen uit lagere sociale milieus en kinderen van migranten vertonen een verhoogde cariësactiviteit. Deze sociale risicofactoren zijn nuttig voor beleidsmaatregelen en voor collectieve preventieve zorgverlening, maar in de tandartspraktijk kan men er weinig mee.

In dit tijdschrift is de afgelopen jaren een aantal publikaties opgenomen over gevoeligheid, specificiteit en trefzekerheid van diagnostische tests en selectie en behandeling van patiënten met een verhoogd cariësriscico.^{1,2} In deze bijdrage willen we, uitgaande van de preventieve mogelijkheden 'aan de stoel', enkele tests over cariësactiviteit bespreken in relatie tot de etiologische factoren van het cariësproces.

2 Suikergebruik

Zonder fluoridebescherming leidt veel, maar vooral frequent suikergebruik tot cariës. Veel patiënten zijn zich echter niet bewust van hun (frequente) suikergebruik. Bovendien zijn er patiënten die hun suikergebruik niet kunnen of willen veranderen. Tot de eerste groep behoren bijvoorbeeld chronisch zieke kinderen/patiënten die geneesmiddelen in zoete drankjes moeten gebruiken of geneesmiddelen die de speekselsecretie remmen.

Het risico op verhoogde cariësactiviteit varieert ook met de leeftijdsfase. Verder kan bijvoorbeeld het verblijf van een kind buiten het gezin leiden tot een ongecontroleerde verhoging van het suikergebruik. Ook de situatie van kinderen die zelfstandig gaan wonen of van bejaarden die in een tehuis gaan wonen kan tot verhoogde suikerconsumptie en veranderde mondhy-

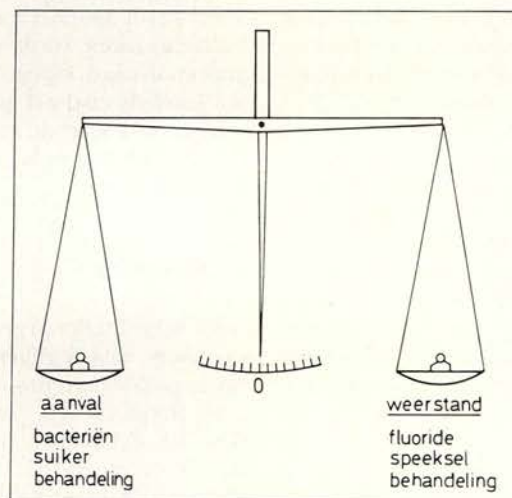
giëne leiden. De indruk bestaat dat in vergelijking met tien jaar geleden het suikergebruik in relatie tot cariës minder ter discussie staat, op scholen vaker op snoep wordt getraceerd en het snoepje weer terug is bij de kassa. Het is een hele opluchting dat snoepen minder beladen wordt met gevaar en schuldgevoel en dat fluoride in tandpasta een goede bescherming biedt. Maar niet iedereen kan zich permitteren onbekommerd suiker te gebruiken. Bij sommigen slaat de cariësbalans door ondanks tandenpoetsen en fluoride-gebruik (afb. 1).³ Het is deze relatief kleine groep die door de tandarts dient te worden herkend en een specifieke professionele behandeling nodig heeft. Bacterie- en speekseltests kunnen daarbij van dienst zijn.

3 Mondhygiëne, fluoride en speeksel

3.1 Mondhygiëne

Het idee bestaat dat de aanwezigheid van veel tandplaque leidt tot een verhoogd ca-

riësriscico. In epidemiologisch onderzoek is dit echter nooit aangetoond. Om het effect van grondige gebitsreiniging aan te tonen wordt vaak verwezen naar het onderzoek van Axelsson en Lindhe, waarbij elke twee weken een professionele gebitsreiniging toegepast werd, hetgeen leidde tot cariësreductie.⁴ In andere onderzoeken kon geen cariësreductie als gevolg van grondige plaqueverwijdering worden aangetoond zodat moest worden geconcludeerd dat niet zozeer de plaqueverwijdering als wel het tweewekelijkse gebruik van fluoridepolijst-pasta door Axelsson en Lindhe leidde tot cariësremming.^{5,6} Het aantal bacteriën in de predilectieplaatsen zoals pits, fissuren en proximale vlakken, wordt onder invloed van een goede mondhygiëne wel oppervlakkig gereduceerd, maar niet geheel verwijderd (afb. 2). Mondhygiëne alleen is niet het antwoord op cariës. Mondhygiëne kan wel een vorm zijn van fluoride-applicatie en daardoor een grote bijdrage leveren op de weerstandsschaal van de cariësbalans, met bacteriën en suiker op de aanvalsschaal (afb. 1).



Afb. 1. De cariësbalans. In het evenwicht tussen aanval en weerstand blijft de tand gezond.³

3.2 Fluoride

Fluoride remt de demineralisatie en versnelt de remineralisatie. Deze zogenaamde gebitsmaturatie wordt versneld wanneer lage hoeveelheden fluoride in de mond aanwezig zijn. Goede bepalingen van het cariërisico zouden kunnen zijn de bepaling van de mineralisatiegraad van het glazuur en het fluoridegehalte in het speeksel. In de tandartspraktijk is dit echter niet mogelijk.

Een nadeel van een te hoog fluoridegehalte in de tandplaque is dat soms alleen de oppervlaktelaag van het glazuur remineraliseert, waardoor de diepere lagen moeilijk remineraliseren. Het niet geheel en al verdwijnen maar blijven bestaan van slecht gemineraliseerde plekken in het gebit in gebieden met waterfluoridering is ontdekt door Backer Dirks (1965).⁷ De onmogelijkheid om aan te geven of initiële cariëslae-sies tot stilstand zijn gekomen of nog progressief zijn, is een probleem in de carië-diagnostiek.

3.3 Speeksel

Speeksel speelt een belangrijke rol bij de cariësbalans. Het is bekend dat verminderde speekselsecretie leidt tot snel verval van het gebit. Al in het begin van deze eeuw zijn pogingen ondernomen om speeksel te gebruiken voor de bepaling van de cariëactiviteit.⁸ Voor de bepaling van de buffercapaciteit zijn nu tests in de handel die aan de stoel gebruikt kunnen worden, terwijl ook de secretiesnelheid van het speeksel relatief eenvoudig te meten is.

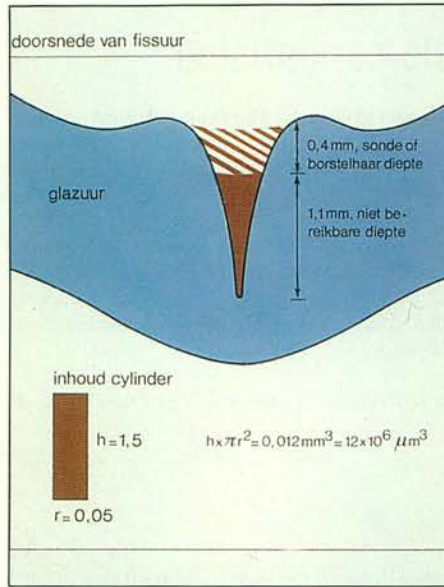
3.3.1 Speekselsecretiesnelheid.

Men kan de speekselsecretiesnelheid bepalen door de hoeveelheid speeksel over een bepaalde tijdsduur, bijvoorbeeld 5 minuten, te meten door de patiënt in een buisje te laten spugen. Wanneer de secretiesnelheid hoog is, kan een kortere tijd gemeten worden. Voor de bepaling van de secretiesnelheid van de kleine speekselklieren is de Periotron® te gebruiken.⁹

De relatie tussen de secretiesnelheid van het speeksel en de cariëactiviteit is echter niet eenduidig. Een reden hiervoor is dat vooral het 'rust' speeksel dat na de maaltijd geproduceerd wordt, van belang is bij de buffering van het zuur dat in de tandplaque gevormd wordt. Verder is het speeksel in de mond afkomstig van verschillende speekselklieren en verschillen de hoeveelheid en samenstelling in rust en bij stimulatie sterk (tab. I).

3.3.2 Buffercapaciteit

De bufferende werking van het speeksel, of het vermogen van het speeksel om de pH



Afb. 2. Schematische weergave van een fissuur. Het gearceerde deel geeft aan in hoeverre de tandenborstel in de fissuur kan doordringen. Uit de berekening valt af te leiden dat minstens één miljoen bacteriën na grondige reiniging achterblijven.

constant te houden, berust grotendeels op het bicarbonaatstelsel:

$$\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \leftrightarrow \text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$$

Het H_2CO_3 in het speeksel is afkomstig uit het bloedplasma en de concentratie ervan is zeer constant. Bicarbonaat, HCO_3^- , wordt door het enzym koolzuuranhydrase in de speekselklier geproduceerd uit H_2CO_3 . Bij stimulatie van de speekselklieren kan de bicarbonaatconcentratie sterk stijgen. Er is daarom een groot verschil in buffercapaciteit van niet- gestimuleerd en gestimuleerd speeksel.

In de tandartspraktijk kan de buffercapaciteit gemakkelijk bepaald worden met de Dentobuff-test® (Orion diagnostica). Hierbij wordt op een indicatorstripje een druppeltje speeksel gepipetteerd. Op het stripje bevindt zich zuur dat geneutraliseerd wordt door het speeksel. Bij een lage buffercapaciteit wordt weinig van het zuur geneutraliseerd, bij een hoge buffercapaciteit komt de eind-pH in de buurt van neutraal en verandert de kleur van het stripje. De kleuromslag is zo een maat voor de buffercapaciteit.

4 Microflora

Door het gebruik van gemakkelijk oplosbare suikers, zoals sacharose wordt de groei van bepaalde bacteriesoorten, zoals de mutans streptococci, selectief bevorderd (tab. II). Zo kunnen veranderingen in de eetgewoonten ertoe leiden dat de cariogene bacteriën in de tandplaque gaan overheersen. Wanneer de speekselsecretie laag wordt, kan de veranderde beschikbaarheid

van substraat en de verlaagde pH in de mond leiden tot een verschuiving in de microflora.

Tot de cariogene bacteriën worden gerekend de orale streptococci en lactobacillen.¹⁰ In de groep van orale streptococci zijn in de loop van de tijd steeds meer soorten herkend. De aanvankelijke indeling in *S. mutans* en *S. sanguis* is vervangen door de groep van mutans streptococci waartoe ondermeer *S. sobrinus* en *S. mutans* behoren en de groep van sanguis streptococci met als vertegenwoordigers *S. sanguis*, *S. gordonii*, *S. oralis* en anderen. De cariogeniteit van *S. mutans* is in mens en dier vastgesteld. Hetzelfde geldt voor *S. sobrinus* waarvan de soortnaam in 1978 werd ingevoerd en waarvan in dierexperimenten in 1968 en Nederlandse recruten in 1976 de cariogeniteit reeds was waargenomen.¹¹ Evenals de lactobacillen wordt *S. sobrinus* vooral gezien als een secundair koloniserende bacteriesoort. Aangenomen wordt dat door het suikergebruik en de acidogene flora in de mond een cariogeen milieu wordt geschapen met een lage pH waarin *S. sobrinus* zich kan ontwikkelen.

Tot nu toe is bij kinderen in Nederland, Kenya, Tanzania, IJsland en Japan uitsluitend een relatie gevonden tussen cariës en *S. mutans*.^{12,13} Ook bij Zweedse bejaarden was de cariëstoename gerelateerd aan mutans streptococci terwijl *S. sobrinus* alleen in combinatie met *S. mutans* werd aangetroffen. In deze en andere onderzoeken is gebleken dat hoge aantallen mutans streptococci gepaard gaan met een hoge cariëactiviteit. De telling van het aantal mutans streptococci kan gebruikt worden bij de bepaling van het cariërisico. Voorlopig is er geen reden om daarbij een onderscheid te maken tussen *S. mutans* en *S. sobrinus*.

4.1 Peutercariës

Kolonisatie van het melkgebit met *S. mutans* in de eerste levensjaren is een factor in peutercariës. Kinderen bij wie het melkgebit op latere leeftijd wordt gekoloniseerd door *S. mutans* ontwikkelen minder cariës. Verlaging van de besmettingsdruk door anti-mutansbehandeling van de moeders leidt tot een latere kolonisatie en verminderde cariëactiviteit. In peuters is cariës gerelateerd aan *S. mutans* en lactobacillen. Behalve door deze bacteriën wordt de cariëactiviteit bepaald door het voedingsgedrag, voornamelijk zoete flesvoedingen of frequente nachtelijke borstvoeding.

In bevolkingsgroepen waarbij natuurlijke voeding zeer bewust wordt nagestreefd, wordt de cariogeniteit van honing en vruchtensappen of van de lactose in de lang doorgezette borstvoeding soms niet onderkend.¹⁴ Men vermoedt dat vooral het stoppen van de speekselsecretie bij de in slaap

gevallen peuter en daarmee de verblijftijd van suikerhoudende voeding in de mond, de oorzaak is van 'rampant' cariës. Een zelfde effect heeft 'het snoepje voor het slapen gaan' dat nog te vaak wordt toegepast.

4.2 Mutans streptococcon-telling

De telling van het aantal mutans streptococcon wordt meestal in het speeksel gedaan omdat speeksel gemakkelijk te verkrijgen is, de speeksel telling vrij stabiel is en vrijwel niet beïnvloed wordt door de mondhygiëne.¹⁵ Waarschijnlijk komt dit doordat de mutans streptococcon in het speeksel grotendeels afkomstig zijn uit fissuren en van proximale vlakken en de plaque op deze plaatsen nauwelijks wordt beïnvloed door tandenpoetsen of flossen. Hoge aantallen mutans streptococcon in het speeksel geven aan dat er op het gebit veel plaatsen zijn met veel mutans streptococcon. Uit een groot aantal onderzoeken is gebleken dat patiënten met hoge aantallen mutans streptococcon in het speeksel meer cariës ontwikkelen dan patiënten met lage aantallen.

De telling van mutans streptococcon in het speeksel (en andere micro-organismen, zoals lactobacillen of *Candida* species, zie verderop) wordt onder andere gedaan in de laboratoria voor Orale Microbiologie in Nijmegen en Amsterdam. Door Orion diagnostica is een methode ontwikkeld voor gebruik in de tandartspraktijk, Dentocult-SM. Hierbij wordt een groeimedium op een plastic stripje bevochtigd met speeksel en gedurende vier dagen geïncubeerd bij 37°C. Om de groei van andere bacteriesoorten dan mutans streptococcon tegen te gaan worden in het groeimedium groeimedium enkele schijfjes met bacitracine gelegd. Het aantal bacteriën op het stripje wordt bepaald door het aantal te vergelijken met een standaard.

4.3 Bestrijding van mutans streptococcon

Bij hoge aantallen mutans streptococcon in het speeksel kan behandeling met chloorhexidine-gel of -vernis geïndiceerd zijn. Bestrijding van mutans streptococcon leidt tot een aanzienlijke cariësreductie (tab. III). Lokale chloorhexidine-applicatie onderdrukt selectief mutans streptococcon in de tandplaque terwijl actinomyceten en sanguis streptococcon uitgroeien.

Het is belangrijk dat door de antimicrobiële behandeling alle mutans streptococcon op het behandelde vlak gedood worden. Mutans streptococcon overleven in het poreuze glazuur of in barstjes en onregelmatigheden in het glazuur van waaruit zij weer binnen enkele weken tot het oorspronkelijke niveau kunnen uitgroeien. Daarom wordt er voor de bestrijding van

Tabel I. De bijdrage van de verschillende speekselklieren tot het speeksel.

	Speekselsecretiesnelheid (ml/min)			
	Normaal		Bij xerostomie	
	in rust	gestimuleerd	in rust	gestimuleerd
Totaal	0.3-0.5	1.0-3.0	0.01-0.1	nb ^{*)}
Parotis	0.04	0.70	0.02	<0.2
SM/SL	0.15	0.60	nb	nb
Kleine speekselklieren		0.002	nb	nb
		0.007-0.025 ^{**)}		

^{*)} niet bekend

^{**)} ml/min/cm², bepaald met de Periotron. De secretie van de kleine speekselklieren in rust en bij stimulatie is ongeveer hetzelfde.

Tabel II. De voornaamste voedselbronnen voor de mondbacteriën.

Substraat voor de mondflora	
Speeksel	S. sanguis-groep actinomyceten
Sacharose	mutans streptococcon
Moedermelk	mutans streptococcon

Tabel III. Cariësreductie na bestrijding van mutans streptococcon.

	Cariësreductie	Soort cariës
Zickert <i>et al.</i> 1982*	70%	glazuurcariës
Lindquist <i>et al.</i> , 1989	50%	glazuurcariës
Gisselsson <i>et al.</i> , 1988	53%	glazuurcariës
Keltjens <i>et al.</i> , 1990	100%	wortelcariës
Schaeken <i>et al.</i> , 1991	51%	wortelcariës

* Voor de literatuurverwijzingen zie Schaeken *et al.* 1989.²

Tabel IV. Cariës-activiteitstest voor gebruik in de algemene praktijk.

Test	Indicatie/Behandeling
Buffercapaciteit	speekselsecretiesnelheid
Speekselsecretiesnelheid	stimuleren (kauwgom)
Lactobacillen-telling	voedingsadvies: minder suiker gebruiken
Mutans-telling	applicatie chloorhexidine-vernis

mutans streptococcon gebruik gemaakt van intensieve behandelingen of hoge concentraties: met chloorhexidine-gel gedurende 14 opeenvolgende dagen 5 min/dag een applicatie van 1% chloorhexidine-gel; met 40% chloorhexidine-vernis één behandeling van 15 min. Wanneer alle mutans streptococcon zijn geëlimineerd, wordt door actinomyceten en sanguis streptococcon een stabiele plaqueflora gevormd waar de mutans streptococcon zich zeer moeilijk tussen kunnen vestigen.

4.4 Andere microbiologische tellingen

Het aantal lactobacillen stijgt wanneer er veel plaque- retentieplaatsen zijn, zoals carieuze gebitselementen, restauraties met randdefecten, orthodontische apparatuur of prothetische voorzieningen. Lactobacillen zijn zuurresistent en kunnen overleven in gebieden met een lage zuurgraad.

Wanneer veel suiker wordt gegeten, zullen er ook meer plaatsen op het gebit zijn waar de pH laag is. Dit leidt tot hoge aantallen lactobacillen in het speeksel. Ver-

mindering van suikergebruik leidt in een mond met niet al te veel retentieplaatsen tot lagere aantallen lactobacillen in het speeksel. Dit verband maakt de lactobacillen-telling geschikt om het effect te meten van voedingsadviezen, vooral ten aanzien van suikervermindering.

Gisten en vooral *Candida*-soorten zijn in de mond aanwezig op de slijmvliezen, vooral van de tong, en in afgeschermd gebied waar weinig speekselvloed is, zoals in carieuze lesies en bij prothetische voorzieningen. Evenals lactobacillen zijn gisten in staat om in gebieden met een lage zuurgraad te groeien.

De telling van lactobacillen en *Candida* species kan ook plaatsvinden in de eerder genoemde laboratoria voor Orale Microbiologie. Ook voor deze micro-organismen zijn door Orion Diagnostica methoden ontwikkeld voor de bepaling van het aantal lactobacillen (Dentocult-LB) en *Candida* species (Oricult-N) in het speeksel. Deze testen worden op dezelfde manier uitgevoerd als de Dentocult SM-methode.

5 Toepassing

De meeste tandartsen weten tamelijk nauwkeurig bij wie van hun patiënten, of zelfs gezinnen, cariës te verwachten is. Vaak zal de oorzaak van deze hoge cariësincentie te wijten zijn aan een te hoog suikergebruik en te weinig fluoride-momenten, dat wil zeggen te weinig poetsen met fluoride bevattende tandpasta. Echter ook tandheelkundige behandelingen kunnen het cariërisico sterk verhogen. Gebitsvlakken die van orthodontische apparatuur zijn voorzien en vlakken die door prothesen of orthodontische platen zijn bedekt en tandwortels onder overkappingsprothesen worden van de beschermende werking van het speeksel geïsoleerd. Tandwortels kunnen bloot komen te liggen door parodontologische afwijkingen en hun behandeling. Tandcement en dentine zijn veel gevoeliger voor een carieuze aantasting dan glazuur. Bovendien zijn laesies op de tandwortels zeer moeilijk restauratief te behandelen.

Bij patiënten die een plotselinge en onverklaarbare cariëstoename vertonen, is het noodzakelijk nader onderzoek te verrichten naar de precieze oorzaak van deze toename. Hiervoor zijn de in dit artikel genoemde diagnostische tests nuttig. De bepaling van de cariërisico-factoren is ook zinvol bij patiënten van wie de voorgeschiedenis niet bekend is en bij wie uitgebreide tandheelkundige behandelingen, zoals kroon en brugwerk of frames, nodig zijn. Ook de indicatie voor het al of niet sealen van gebitsfissuren of het vervangen

van dubieuze vullingen kan beter gemotiveerd worden.

De telling van het aantal mutans streptococci en lactobacillen in het speeksel geeft een indicatie over de bacteriologische aanvalskracht (mutans streptococci) en het suikergebruik (lactobacillen). Door de snelheid van speekselsecretie te meten, eventueel in combinatie met bepaling van de buffercapaciteit kan een indicatie verkregen worden van deze belangrijke weerstandsfactor. Hierbij hoort ook een gerichte anamnese naar factoren die de speekselsecretie beïnvloeden, zoals medicijngebruik.

De behandeling van cariërisico-patiënten dient gericht te zijn op de oorzakelijke factoren. Bij problemen in de speekselsecretie kan in eerste instantie worden geprobeerd deze te verhogen door de patiënt te adviseren suikervrije kauwgom te

gebruiken. Wanneer de speekselsecretie geremd is als gevolg van medicijngebruik, kan in overleg met de behandelende arts gezocht worden naar medicijnen met minder nadelige effecten. Wat betreft suikeren fluoridegebruik is men afhankelijk van de medewerking van de patiënt. Wanneer deze niet optimaal is, kunnen geconcentreerde fluoridepreparaten gebruikt worden. Veel beter is echter de dagelijkse aanwezigheid van lage concentraties fluoride door fluoridetandpasta of fluoride bevattende spoelmiddelen te laten gebruiken.

De bacteriologische factor in het cariërisico kan bestreden worden door applicatie van chloorhexidine-vernissen. Afhankelijk van de cariëspogressie kan de vernis elk half jaar of nog vaker aangebracht worden. De bestrijding van de bacteriologische factor vraagt een minimale coöperatie van de patiënt.

Summary

INDIVIDUAL CARIES RISK

Key words: Dental caries – Oral microbiology

The estimation of individual caries risk factors and the related preventive treatment in the dental practice are discussed. Salivary counts of mutans streptococci and lactobacilli reflect the bacteriological attack (mutans streptococci) and sugar intake (lactobacilli). Caries resistance can be estimated by measurement of the salivary secretion rate and buffer capacity.

Treatment of high caries risk patients should be directed against etiological factors. Salivary flow rates and buffer capacity can be stimulated by daily (sugar-free) gum-chewing. For the use of fluoridated toothpaste and sugar intake the dentist is dependent upon the cooperation of the patient. The bacteriological factor in the cariës process can be suppressed by application of chlorhexidine varnish.

Literatuur

- MIKX FHM. Cariës. Microbiologische detectie van risicopatiënten. Ned Tijdschr Tandheelkd 1991; 98: 14-7.
- SCHAEKEN MJM, KELTJENS HMAM, VAN DER HOEVEN JS. Microbiële bestrijding van *Streptococcus mutans*. Therapie bij patiënten met een verhoogd cariërisico. Ned Tijdschr Tandheelkd 1989; 93: 395-8.
- WINKLER KC. Cariës-balans. Rev Belge Stomatol 1950; 47: 454-60.
- AXELSSON P, LINDHE J. Effect of oral hygiene instruction and professional toothcleaning on caries and gingivitis in schoolchildren. Community Dent Oral Epidemiol 1981; 9: 251-5.
- ASHLEY FP, SAINSBURY RH. The effect of a schoolbased plaque control programme on caries and gingivitis. Br Dent J 1981; 150: 41-5.
- HOROWITZ AM, SUOMI JD, PETERSON JK, MATHEWS BL, VOGLESONG RH, LYMAN BA. Effects of supervised daily dental plaque removal by children after 3 years. Community Dent Oral Epidemiol 1980; 8: 171-6.
- BACKER DIRKS O. Post-eruptive changes in dental enamel. J Dent Res 1966; 45: 503-11.
- BLACK GV. Operative dentistry vol I. The pathology of the hard tissues of the teeth. Chicago: Henry O Shepard Co., 1908: 129-38.
- SHERN RJ, FOX PC, CAIN JL, LI S-H. A method for measuring the flow of saliva from the minor salivary glands. J Dent Res 1990; 69: 1146-9.
- MIKX FHM. Microbiële aspecten in de epidemiologie van cariës en parodontale aandoeningen. Ned Tijdschr Tandheelkd 1985; 92: 1-5.
- HUIS IN 'T VELD, VAN PALENSTEIN HELDERMAN WH, BACKER DIRKS O. Streptococcus mutans and dental caries in humans: a bacteriological and immunological study. Antonie van Leeuwenhoek 1979; 45: 25-33.
- BEIGHTON D, MANJI F, BAEUM V, FEJERSKOV O, JOHNSON NW, WILTON JMA. Association between salivary levels of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, lactobacilli and caries experience in Kenyan adolescents. J Dent Res 1989; 68: 1242-6.
- DE SOET JJ, HOLBROOK WP, VAN AMERONGEN WE, SCHIPPER E, HOMBURG CHE, DE GRAAFF J. Prevalence of *Streptococcus sobrinus* in relation to dental caries in children from Iceland and the Netherlands. J Dent Child 1990; 57: 337-42.
- ROETERS FJM, BURGERSDIJK RCW, MIKX FHM. Cariës ten gevolge van zeer frequente en lange tijd voortgezette borstvoeding. Ned Tijdschr Tandheelkd 1986; 93: 14-6.
- BRATTHALL D, CARLSSON P. Clinical microbiology of saliva. In: Tenovou JO, ed. Human Saliva: Clinical chemistry and microbiology. Florida: CRC Press, 1989.