

بررسی نقش تغذیه کودک در دوران شیرخوارگی در مقادیر استرپتوکوک موتانس بزاق در کودکان ۵ ساله شهر تهران

دکتر ناهید عسکری زاده^۱ دکتر آیه اعتمادی^۲ دکتر امین نظری نسب^۲

۱- دانشیار بخش کودکان دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دندانپزشکی تهران

۲- دستیار تخصصی گروه اندودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

خلاصه:

سابقه و هدف: استرپتوکوک موتانس، میکروارگانیسم اصلی همراه با پوسیدگی دندانی می‌باشد. با توجه به محدودیت مطالعات در مورد نقش تغذیه کودک در دوران شیرخوارگی در میزان استرپتوکوک موتانس دهانی، این تحقیق در کودکان ۵ ساله شهر تهران انجام شد.

مواد و روش‌ها: تحقیق به روش مورد-شاهدی، روی ۱۵۰ کودک ۵ ساله انجام گرفت. گروه مورد، کودکانی با میزان استرپتوکوک موتانس دهانی بیشتر از 10^4 واحد شمارش کولونی (CFU) و گروه شاهد، دارای استرپتوکوک موتانس کمتر از 10^4 واحد شمارش کولونی بوده و دو گروه به لحاظ جنس و زمان شروع مسواک زدن و سایر متغیرهای موثر مشابه سازی شدند. نوع تغذیه کودک در دوران شیرخوارگی، مدت استفاده از شیشه شیر و دفعات آن و نیز چگونگی استفاده از مسواک توسط آنان به روش مصاحبه با والدین جمع‌آوری گردید. شاخص dmft کودکان از طریق معاینه و نیز کاربرد آینه و سوند تعیین و نمونه‌برداری از قسمت پشتی زبان با استفاده از سواب استریل برای شناسایی استرپتوکوک موتانس انجام شد و نقش تغذیه با شیر مادر در میزان استرپتوکوک موتانس بزاق با آزمون χ^2 مورد قضاوت آماری قرار گرفت.

یافته‌ها: ۷۳/۴٪ کودکان در گروه شاهد و ۳۱٪ گروه مورد فقط از شیر مادر تغذیه می‌کردند و ۲۶/۶٪ کودکان در گروه شاهد و ۶۹٪ گروه مورد تغذیه با شیشه و شیر مادر داشته و تفاوت بین نوع تغذیه در دو گروه تفاوت معنی‌داری داشت. ($P < 0.001$)، ($OR < 6/1$) نتیجه گیری: به نظر می‌رسد نوع تغذیه دوران شیرخوارگی می‌تواند بر مقادیر استرپتوکوک موتانس تاثیر گذار باشد. این یافته می‌تواند در اصلاح الگوی تغذیه شیرخواران بکار رود.

کلید واژه‌ها: تغذیه با شیشه شیر، تغذیه با شیر مادر، بزاقی، استرپتوکوک موتانس

وصول مقاله: ۹۱/۲/۲۸ اصلاح نهایی: ۹۱/۴/۲۷ پذیرش مقاله: ۹۱/۵/۱۷

مقدمه:

پوسیدگی دندانی، بیماری عفونی قابل انتقال و چندعاملی است که در بسیاری از جوامع، شایع‌ترین بیماری مزمن نیز شناخته شده است. همزمان، استرپتوکوک موتانس، میکروارگانیسم اصلی همراه با پوسیدگی دندانی و بیماری‌زاترین باکتری موجود در دهان می‌باشد.^(۱) این میکروارگانیسم، در سال ۱۹۲۳ توسط Clark به عنوان میکروب غالب در پوسیدگی‌ها کشف گردید.^(۲) خاصیت رشد در محیط اسیدی، اصلی‌ترین علامت مشخصه استرپتوکوک موتانس بوده که در ارتباط با خاصیت

پوسیدگی دندانی، بیماری عفونی قابل انتقال و چندعاملی است که در بسیاری از جوامع، شایع‌ترین بیماری مزمن نیز شناخته شده است. همزمان، استرپتوکوک موتانس، میکروارگانیسم اصلی همراه با پوسیدگی دندانی و بیماری‌زاترین باکتری موجود در دهان می‌باشد.^(۱) این میکروارگانیسم، در سال ۱۹۲۳ توسط Clark به عنوان میکروب غالب در پوسیدگی‌ها کشف گردید.^(۲) خاصیت رشد در محیط اسیدی، اصلی‌ترین علامت مشخصه استرپتوکوک موتانس بوده که در ارتباط با خاصیت

نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر ناهید عسکری زاده، دانشیار بخش کودکان واحد دندانپزشکی تهران خیابان پاسداران، نیستان دهم، واحد دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی. تلفن: ۲۲۵۶۴۵۷۱-۳

Email: Nahidaskarizadeh@yahoo.com

مواد و روش‌ها:

تحقیق به صورت مورد- شاهدی روی ۱۵۰ کودک پیش‌دبستانی ۵ ساله انجام شد که به صورت تصادفی از ۴ مهدکودک در مناطق شمال شهر تهران انتخاب شده بودند. بعد از انتخاب نمونه‌ها، خصوصیات دموگرافیک آنها شامل سن، جنس، نوع شیر مصرفی، مدت استفاده از شیشه شیر، زمان شروع مسواک زدن، دفعات استفاده از مسواک، استفاده از آنتی‌بیوتیک و استفاده از مواد قندی به عنوان میان وعده ثبت شده و شاخص dmft کودکان براساس روش پیشنهادی WHO توسط دانشجوی سال آخر دندانپزشکی آموزش دیده و با استفاده از سوند و آینه یک‌بار مصرف به دست آمد.^(۷) با استفاده از سواب استریل، از سطوح پشتی زبان (Dorsal) و سطح باکال دندان سانتال بالا (با لترال بالا) از سطوح سالم دندان نمونه‌برداری به عمل آمد. نمونه‌های تهیه شده با سواب استریل داخل محیط کشت ترانسپورت (Stuart Transport Medium) که یک محیط کشت مغذی است، قرار داده شده و به آزمایشگاه منتقل گردید. محیط کشت Mitis Salivarius Agar حاوی آگار که محیط مناسبی برای رشد استرپتوکوک موتانس است، طبق دستور کارخانه سازنده به همراه تلوریت پتاسیم تهیه شده و در پلیت‌های استاندارد ۸ سانتی‌متری ریخته شد. سپس، نمونه‌های بزاقی در مجاورت شعله روشن و در تهویه مناسب که توسط هود مخصوص در آزمایشگاه تأمین می‌شد، به محیط کشت مذکور انتقال یافته و پس از کشت، پلیت‌ها در داخل ظرف دربسته جار قرار گرفتند. برای ایجاد محیط بدون اکسیژن (anaerobic)، شمع روشن داخل آن قرار داده شد. ظرف حاوی محیط کشت نیز در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفته و پس از ۴۸ ساعت، کلونی‌ها قابل شمارش بودند. ۳ کلونی با اشکال مورفولوژیک مختلف روی محیط رشد کرده و برای شناسایی کلونی استرپتوکوک موتانس از تست‌های تشخیصی مانیتول و VP Acetoin Production استفاده شد. (شکل ۱)

شده است.^(۱،۲) آلودگی با استرپتوکوک موتانس معمولاً بین ماه‌های ۱۹ تا ۳۱ بعد از تولد روی می‌دهد، هرچند برخی دیگر، سنین پایین‌تری را برای شروع آلودگی پیشنهاد کرده‌اند.^(۳-۱) بررسی عوامل مؤثر بر کلونیزاسیون استرپتوکوک موتانس در کودکان نشان داده که عادات غذایی کودک در سال اول زندگی می‌تواند وی را برای کلونیزاسیون زودهنگام استرپتوکوک موتانس مستعد نماید.^(۴) از طرف دیگر، استفاده از شیشه شیر می‌تواند به عنوان یک عامل عفونت‌زای قوی برای استرپتوکوک موتانس نقش ایفا کرده و شیوع ابتلا به این باکتری را در کودکان افزایش دهد.^(۵) البته، شیر مادر پوسیدگی‌زا نبوده و تغییر چندانی در pH بزاق کودک ایجاد نمی‌کند، به طوری که مشخص گردیده مدت زمان استفاده از شیر مادر به تنهایی تأثیری بر میزان استرپتوکوک موتانس و پوسیدگی ناشی از آن در کودکان ۵ ساله نداشته است.^(۶،۳) در تحقیقات دیگر، ارتباط معنی‌داری میان مدت زمان طولانی استفاده از شیشه شیر و میزان پوسیدگی متعاقب آن به دست آمده است.^(۳،۷،۵،۹) Habibian و همکاران نشان دادند میزان استرپتوکوک موتانس به طور معنی‌داری با مجموع دفعات خوردن و آشامیدن در هر روز همبستگی داشته و تکرار مصرف غذای حاوی شکر اضافی غیر از شیر با میزان استرپتوکوک موتانس همبستگی داشته است.^(۷) همچنین، al-Dashti و همکاران نیز نشان دادند کودکانی که با شیشه شیر تغذیه می‌شوند، پوسیدگی بیشتری در دهانشان وجود داشته است. بخصوص هنگامی که این نوع تغذیه به مدت طولانی ادامه داشته باشد.^(۸) با توجه به اینکه رابطه بین میزان استرپتوکوک موتانس و نوع تغذیه کودک در دوران شیرخوارگی از اهمیت خاصی برخوردار است، اثبات این موضوع می‌تواند تأکیدی بر مزایای متعدد شیر مادر باشد. با توجه به اهمیت موضوع، نقش تغذیه در میزان استرپتوکوک موتانس موجود در بزاق در کودکان ۵ ساله شهر تهران در این تحقیق ارزیابی گردید.

سپس نمونه‌ها بر حسب میزان استرپتوکوک بزاق به دو گروه تقسیم بندی شدند، گروه مورد شامل ۷۱ کودک با میزان بیشتر از 10^4 cfu (واحد شمارش کولونی) و گروه شاهد شامل ۷۹ کودک با میزان استرپتوکوک بزاقی مساوی و کمتر از 10^4 cfu بودند.

کودکان مورد بررسی از لحاظ وضعیت اقتصادی- اجتماعی و همزمانی مشابه بوده و آزمون آماری کای- دو نشان داد که از لحاظ عواملی چون زمان شروع مسواک زدن، روش مسواک زدن، مصرف مواد قندی میان وعده و جنس و Dmf تفاوت معنی داری ندارند. (جدول ۱)

برای بررسی نقش تغذیه در میزان استرپتوکوک موتانس بزاقی و نوع تغذیه، از آزمون χ^2 استفاده شد.

یافته‌ها:

تحقیق، روی ۱۵۰ کودک که ۷۱ نفر در گروه مورد با استرپتوکوک موتانس (بیش از 10^4 cfu) و ۷۹ نفر گروه شاهد آنها با میزان استرپتوکوک موتانس کمتر و مساوی 10^4 cfu، انجام شد. دو گروه از لحاظ عوامل مرتبط مشابه سازی شدند. (جدول ۱)



شکل ۱- کلنی‌های استرپتوکوک موتانس

نتایج تست مانیتول و VP، یک کلونی با رنگ سرمه‌ای مثبت بوده و در نهایت، کلونی‌های مشابه به عنوان استرپتوکوک موتانس شمارش گردید. برای شمارش کلونی‌ها، هر پلیت به ۸ قسمت مساوی تقسیم شده، یک هشتم از هر پلیت شمارش و در عدد ۸ ضرب شد. از آنجا که سواب ۱ میلی لیتر از بزاق را برمی‌دارد، عدد فوق در ۱۰ ضرب شد تا میزان استرپتوکوک موتانس در ۱ میلی‌لیتر بزاق نیز محاسبه شود.^(۱)

برای تشکیل زنجیره استرپتوکوک موتانس و مشاهده آن، کلونی داخل محیط *Mitis Salivarius Agar* انتقال یافته و بعد از ۲ روز که داخل انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد، از کلونی حاصل لام تهیه شد. بعد از رنگ‌آمیزی گرم، زنجیره‌های استرپتوکوک موتانس مشاهده شدند. (شکل ۲)



شکل ۲- زنجیره‌های استرپتوکوک موتانس رنگ آمیزی شده به روش گرم زیر میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۱۰۰

جدول ۱- توزیع کودکان بر حسب میزان استرپتوکوک موتانس بزاق و به تفکیک متغیرهای مختلف

عوامل مرتبط	میزان <i>s. mutans</i>	شاهد (کمتر و مساوی ۱۰ ^۴) N=79	مورد (بزرگتر از ۱۰ ^۴) N=71	نتیجه آزمون
زمان شروع مسواک زدن	کمتر و مساوی ۲۴ ماهگی بیش از ۲۴ ماهگی	۳۲ (۵۶/۱٪) ۴۷ (۵۰/۵٪)	۲۵ (۴۳/۹٪) ۴۶ (۴۹/۵٪)	p<۰/۶
چه کسی برای کودک مسواک می‌زند؟	کودک به تنهایی کودک و مادر	۴۴ (۵۷/۱٪) ۳۵ (۴۷/۹٪)	۳۳ (۴۲/۹٪) ۳۸ (۵۲/۱٪)	p<۰/۳
مصرف مواد قندی به عنوان میان وعده	بلی خیر	۴۹ (۵۲/۱٪) ۳۰ (۵۳/۶٪)	۴۵ (۴۷/۹٪) ۲۶ (۴۶/۴٪)	p<۰/۹
جنس	پسر دختر	۴۱ (۵۲٪) ۳۸ (۴۸٪)	۳۶ (۵۰٪) ۳۵ (۵۰٪)	p<۰/۹
Dmft	کمتر و مساوی ۲ بیش از ۲	۴۴ (۶۱/۱٪) ۳۵ (۴۴/۹٪)	۲۸ (۳۸/۹٪) ۴۳ (۵۵/۱٪)	p<۰/۹

کودکانی که میزان استرپتوکوک موتانس بزاق بالا داشتند، ۴۹ نفر (۶۹٪) تغذیه شیر مادر و شیشه هم زمان و ۲۲ نفر (۳۱٪) فقط تغذیه با شیر مادر داشتند و آزمون کای دو نشان داد که مواجهه بیشتر با شیشه شیر در گروه مورد به لحاظ آماری معنی دار بود ($P<۰/۰۰۱$) و در کودکان با میزان استرپتوکوک موتانس بالا، ۶/۱ برابر بیش از کودکان با میزان استرپتوکوک موتانس پایین دیده شد. ($OR=۶/۱$)

جدول ۲- توزیع ۱۵۰ کودک مورد بررسی بر حسب میزان استرپتوکوک موتانس بزاق و به تفکیک نوع تغذیه

میزان <i>s. mutans</i>	شاهد (کمتر و مساوی ۱۰ ^۴)	مورد (بزرگ‌تر از ۱۰ ^۴)	نتیجه آزمون
نوع تغذیه	N=79	N=71	
فقط شیر مادر	۵۸ (٪۷۳/۴)	۲۲ (٪۳۱)	P<۰/۰۰۱
شیشه و شیر مادر	۲۱ (٪۲۶/۶)	۴۹ (٪۶۹)	
مجموع	۷۹ (٪۱۰۰)	۷۱ (٪۱۰۰)	

بحث:

نتایج تحقیق نشان داد، کودکانی که میزان استرپتوکوک موتانس بزاق بالاتری دارند، در تغذیه مواجهه بیشتری با شیشه شیر داشتند. ارتباط معنی داری بین استفاده از شیشه شیر و میزان بالای استرپتوکوک موتانس در این تحقیق به دست

آمد ($P<۰/۰۰۱$). اکثر تحقیقاتی که در پیشینه‌های مطالعاتی وجود دارند، مؤید وجود این ارتباط بوده‌اند. (۹-۲۱)
Lamas و همکاران، در بررسی خود نشان دادند کودکانی که در سنین ۲۰-۱۵ ماهگی هنوز از شیشه شیر برای تغذیه استفاده می‌کردند، میزان استرپتوکوک موتانس بالاتری در

مقایسه با کودکانی داشته‌اند که تنها از شیر مادر تغذیه کرده بودند.^(۱۰) علاوه بر این، Krishnakumar و همکاران، میزان استرپتوکوک موتانس بزاق کودکانی که پوسیدگی مرتبط با شیشه شیر داشتند را اندازه‌گیری و نتیجه‌گیری کردند که میزان استرپتوکوک موتانس بزاق این کودکان از کودکان عاری از پوسیدگی بیشتر است.^(۱۱) همچنین، نتایج تحقیق Kneist و همکاران نشان داد استفاده از شیشه شیر منجر به افزایش میزان حضور گونه‌های استرپتوکوک موتانس در بزاق کودکان می‌گردد.^(۱۱) Lopez و همکاران نیز گزارش کردند استفاده از شیشه به عنوان یک عامل عفونت‌زای قوی عمل کرده و میزان کلنی‌های استرپتوکوک موتانس قابل شمارش را افزایش داده است.^(۵) نتایج تحقیق Milgrom و همکاران هم نشان داد که بالا بودن میزان استرپتوکوک موتانس با استفاده شیشه از شیشه شیر همبستگی معنی‌داری دارد.^(۱۲) همزمان، Mohan و همکاران، رابطه استفاده از شیشه شیر و مقادیر استرپتوکوک موتانس را بررسی و تعداد کلنی‌های کمتری در بزاق کودکانی که از شیشه شیر استفاده نمی‌کردند، شمارش کردند.^(۳) هرچند این تحقیق در کودکان ۲۴-۶ ماهه انجام شده بود که با گروه سنی مورد بررسی در تحقیق حاضر متفاوت بوده است.

Retnakumari و همکاران، مطالعه‌ای در مورد تاثیر خصوصیات مادر و کودک بر شیوع پوسیدگی‌های دندانی انجام دادند. سن کودک، جنسیت دختر، تعداد دفعات تغذیه با شیشه شیر، نوع تغذیه، خوابیدن با پستانک، طول مدت تغذیه از پستان، مصرف میان وعده‌های پوسیدگی‌زا، تعداد دفعات مسواک زدن، تعداد دندان‌های پوسیده مادر و وضعیت بهداشت دهانی مادر رابطه آماری معنی‌دار با بروز پوسیدگی‌های دندانی در کودکان داشت.^(۱۳)

Holbrook و همکاران در مطالعه‌ای، در افراد دارای پوسیدگی و فاقد پوسیدگی نشان دادند که زنجیره‌های استرپتوکوک موتان در افراد دارای پوسیدگی دارای قدرت چسبندگی بیشتری به آپاتیت، قدرت بیشتر در دکلسیفیه کردن آپاتیت و فعالیت باکتریوسین مانند را دارا هستند.^(۱۴)

در مطالعه‌ای که، توسط Chaudhary و همکاران، بر روی اثر

پوسیدگی زایی فرمولهای رایج شیر خشک‌های مورد استفاده برای نوزادان، انجام گرفت، افزایش معنی‌داری در میزان استرپتوکوک موتانس موجود در پلاک دندانی و نمونه‌های بزاقی بدست آمده از کودکان تغذیه شده با تمام انواع شیر خشک‌ها، نسبت به میزان پایه، مشاهده شد. همچنین PH پلاک، بعد از مصرف شیر خشک به طور معنی‌داری کاهش یافته بود.^(۱۵)

در مطالعه دیگری در همین سال، که توسط Bankle و همکاران انجام گرفت، عوامل پیشگویی کننده افزایش خطر پوسیدگی در یک گروه از کودکان ۲ تا ۳ ساله سوئدی به روش مشاهده طولی بررسی شد. دو گروه کودک بدون پوسیدگی و دارای پوسیدگی طی یک سال مقایسه شدند و عوامل زیر به عنوان عوامل خطرزا معرفی شدند:

تعداد ضایعات پوسیدگی، تعداد دفعات مصرف مواد حاوی شکر، شیر خوردن از پستان در طول شب و میزان استرپتوکوک موتانس.^(۱۶) Vadiakas و همکاران، یک مرور مقالات در خصوص تعریف، اتیولوژی و عوامل خطر ساز ECC Early Childhood Caries (در مقالات متعدد انجام دادند که نشان داد که عوامل تغذیه‌ای وابسته به مصرف شکر، یک زمینه ساز برای کلونیزاسیون زودهنگام با استرپتوکوک و افزایش خطر پیشرفت ECC در کودکان می‌باشد.^(۱۷)

Milgrom و همکاران، گزارش کردند بالا بودن میزان پوسیدگی دندانی با مقادیر بالای استرپتوکوک موتانس ارتباط دارد.^(۱۲) Vadikas و همکاران و Dasanayake و همکاران، هم در بررسی کودکان خانواده‌های کم درآمد و دو رگه آفریقایی-آمریکایی نشان دادند dmft و میزان استرپتوکوک موتانس ارتباط معنی‌داری با یکدیگر داشته‌اند.^(۱۷،۱۸)

همزمان، نتایج برخی مطالعات موجود در پیشینه‌های تحقیقاتی با یافته‌های تحقیق حاضر متفاوت بوده است.

در این زمینه، Bankel و همکاران نشان دادند کودکانی که بیش از ۹ ماه با استفاده از شیر مادر تغذیه شده بودند، در مقایسه با کودکانی که از شیر مادر تغذیه نکرده بودند، بیشتر دچار پوسیدگی شدند^(۲۰)، البته این نتیجه را می‌توان به عدم

رعایت بهداشت در این کودکان یا استفاده شب هنگام از شیر مادر در آنان نسبت داد. البته این یافته را می‌توان به میزان محدود فلوراید دریافتی کودکان نسبت داد، همان طور که خود محققان نیز به آن اشاره کرده‌اند. علاوه بر این، این تحقیق در کودکانی با متوسط سن ۲۸/۸ ماه انجام شد که با گروه سنی مورد بررسی در تحقیق ما تفاوت زیادی داشت.

Alaluusua و همکاران، گزارش کردند کودکانی که به مدت طولانی از شیر مادر تغذیه شده بودند در سن ۵ سالگی، میزان استرپتوکوک موتانس بزاق آنها نسبت به کودکانی که از هر دو نوع تغذیه استفاده کرده بودند، بالاتر بوده است.^(۶) این تفاوت در نتایج را می‌توان به در دسترس نبودن محیط کشت اختصاصی استرپتوکوک موتانس در زمان تحقیق اخیر نسبت داد.

نتیجه‌گیری:

کودکان با استرپتوکوک موتانس بزاق بالا، ۶/۱ برابر بیشتر با شیشه شیر تغذیه شده‌اند و این نوع تغذیه موجب افزایش این باکتری در دهان شود.

References:

- 1- Boardman M, Cleaton-Jones P, Jones C, Hargreaves JA. Associations of dental Caries with salivary mutans streptococci and acid producing bacteria in 5-year-old children from Kwazulu and Namibia. *Int Dent J*. 1994 Apr;44(2):174-80.
- 2- Mc Donalds R.E, Avery D.R. *dentistry for the child and adolescent*. 9nd ed. usa: Mosby; 2011. P:236-238
- 3- Mohan A, Morse DE, O'Sullivan DM, Tinanoff N. The relationship between bottle usage / content, age and number of teeth with mutans streptococci colonization in 6-24-month-old children. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1998 Feb;26(1):12-20.
- 4- Straetemans MM, van Loveren C, de Soet JJ, de Graaff J, ten Cate JM. Colonization with mutans streptococci and lactobacilli and the caries experience of children after the age of five. *J Dent Res*. 1998 Oct;77(10):1851-5.
- 5- Lopez L, Berkowits R, Moss M, Weinstein P. Mutans streptococci prevalence in puerperican babies with cariogenic feeding behaviors. *Pediatr Dent*. 2000 Jul-Aug;22(4):299-301.
- 6- Alaluusua S, Myllarnie S, Kallio M, Salmenpera L, Tainio VM. Prevalence of caries and salivary levels of mutans streptococci in 5-year-old children in relation to duration of breast feeding. *Scand J Dent Res*. 1990 Jun;98(3):193-6.
- 7- Habibian M, Beighton D, Stevenson R, Lawson M, Roberts G. Relationship between dietary behaviors, oral hygiene and mutans streptococci in dental plaque of a group of infants in Southern England. *Arch Oral Biol*. 2002 Jun;47(6):491-8.
- 8- al-Dashti AA, Williams SA, Curzon ME. Breast feeding, bottle feeding and dental caries in Kuwait, A country with low-fluoride levels in the water supply. *Community Dent Health*. 1995 Mar;12(1):42-7.
- 9- Lamas M, González A, Barbería E, García-Godoy F. Relationship between feeding habits and mutans streptococci colonization in a group of Spanish children aged 15-20 months. *Am J Dent*. 2003 Sep;16 Spec No:9A-12A
- 10- Krishnakumar R, Singh S, Subba Reddy VV. Comparison of levels of mutans streptococci and lactobacilli in children with nursing of bottle caries, rampant caries, healthy children with 3-5 dmft/DMFT and health caries free children. *J Indian Soc Pediatr Prev Dent*. 2002 Mar;20(1):1-5.
- 11- Kneist S, Borutta A, Chemnitius P. The importance of bottle-feeding habits for the transmission of mutans streptococci from mothers to infants and their caries status among German families. *Int Poster J Dent Oral Med*. 2002;4(4):147.

- 12- Milgrom P, Riedy CA, Weinstein P, Tanner AC, Manibusan L, Bruss J. Dental caries and its relationship to bacterial infection, Hypoplasia, Diet and oral Hygiene, in 6 to 36-month-old children. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2000 Aug; 28(4):295-306.
- 13- Retnakumari N, Cyriac G. Childhood caries as influenced by maternal and child characteristics in pre-school children of Kerala-an epidemiological study. *Contemp Clin Dent* 2012 Jan-Mar ; 3(1):2-8
- 14- Holbrook WP., Magnusdottir M O. Studies on strains of streptococcus mutans isolated from caries-active and caries-free individual in Iceland. *J Oral Microbiol*. 2012 ; 4:10.3402
- 15- Chaudhary SD, Chaudhary M, Singh A, Kunte S. An assessment of the cariogenicity of commonly used Infant Milk using microbiological and biomechanical methods. *Int J Dent*. 2011; 2011:320798
- 16- Bankel M, Robertson A, Köhler B. Carious lesion and risk predictor in a group of Swedish children 2 to 3 years of age. One year study. *Eur J Paediatr Dent*. 2011 Dec; 12(4):215-9.
- 17- Vadiakas G. Case definition, aetiology and risk assessment of early childhood caries (ECC). *Eur Arch Paediatr Dent*. 2008 Sep; 9(3):114-25.
- 18- Dasanayake AP, Roseman JM, Caufield PW, Butts JT. Distribution and determinant of mutans streptococci among African-American children and association with selected variables. *Pediatr Dent*. 1995 May-Jun; 17(3):192-8.
- 19- Radford JR, Ballantyne HM, Nugent Z, Beighton D, Robertson M, Longbottom C, et al. Caries-associated micro-organisms in infants from different socio-economic backgrounds in Scotland. *J Dent*. 2000 Jul; 28(5):307-312.
- 20- Bankel M, Robertson A, Köhler B. Carious lesion and risk predictor in a group of Swedish children 2 to 3 years of age. One year study. *Eur J Paediatr Dent*. 2011 Dec; 12(4):215-9
- 21- Weerheijm KL, Uyttendaele-Speybroeck BF, Euwe HC, Groen HJ. Prolonged demand breast-feeding and nursing caries. *Caries Res*. 1998; 32(1):46-50

