

بررسی نقش تغذیه کودک در دوران شیرخوارگی در مقادیر استرپتوک موتانس بzac در کودکان ۵ ساله شهر تهران

دکتر ناهید عسکری زاده[#] دکتر آیه اعتمادی^۲ دکتر امین نظری نسب^۲

- ۱- دانشیار بخش کودکان دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دندانپزشکی تهران
۲- دستیار تخصصی گروه اندوادنیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

خلاصه:

سابقه و هدف: استرپتوک موتانس، میکروارگانیسم اصلی همراه با پوسیدگی دندانی می‌باشد. با توجه به محدودیت مطالعات در مورد نقش تغذیه کودک در دوران شیرخوارگی در میزان استرپتوک 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 استرپتوک موتانس دهانی بیشتر از 10^4 واحد شمارش کولونی (CFU) و گروه شاهد، دارای استرپتوک 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 مصاحبہ 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 استرپتوک موتانس انجام شد و نقش تغذیه با شیر مادر در میزان استرپتوک موتانس بzac با آزمون chi-square مورد قضایت 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 = ۶/۱)

نتیجه گیری: به نظر میرسد نوع تغذیه دوران شیرخوارگی می‌تواند بر مقادیر استرپتوک 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، استرپتوک موتانس

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

مقدمه:

پوسیدگی‌زایی آن مطرح می‌باشد. براین اساس، راهبردهای درمانی که با کلونیزاسیون استرپتوک موتانس تداخل دارند، اثرات معنی‌داری بر کاهش وقوع پوسیدگی در انسان خواهد داشت.^(۱) علاوه بر این، نقش استرپتوک موتانس در شروع پوسیدگی و ادامه آن توسط لاکتوباسیل مورد تأکید قرار گرفته است.^(۲) میزان متفاوتی از حضور و تعداد این نوع میکروارگانیسم در بzac و پلاک دندانی بیماران در سنین مختلف و نیز در مطالعات انجام شده در جوامع مختلف گزارش

پوسیدگی دندانی، بیماری عفونی قابل انتقال و چندعاملی است که در بسیاری از جوامع، شایع‌ترین بیماری مزمن نیز شناخته شده است. همزمان، استرپتوک موتانس، میکروارگانیسم اصلی همراه با پوسیدگی دندانی و بیماری‌زاترین باکتری موجود در دهان می‌باشد.^(۳) این میکروارگانیسم، در سال ۱۹۲۳ توسط Clark به عنوان میکروب غالب در پوسیدگی‌ها کشف گردید.^(۴) خاصیت رشد در محیط اسیدی، اصلی‌ترین علامت مشخصه استرپتوک موتانس بوده که در ارتباط با خاصیت

نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر ناهید عسگری زاده، دانشیار بخش کودکان واحد دندانپزشکی تهران خیابان پاسداران، نیستان دهم، واحد دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی. تلفن: ۰۲۵۶۴۵۷۱-۳

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 مسوک زدن، دفعات استفاده از مسوک، 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.^(۲) با استفاده از سواب استریل، از سطوح پشتی زبان (Dorsal) و سطح باکال دندان سانترال بالا (یا لترال بالا) از سطوح سالم دندان نمونه‌برداری به عمل آمد. نمونه‌های تهیه شده با سواب Stuart Transport استریل داخل محیط کشت ترانسپورت (Medium) که یک محیط کشت مغذی است، قرار داده شده و Mitis Salivarius به آزمایشگاه منتقل گردید. محیط کشت Agar حاوی آگار که محیط مناسبی برای رشد استرپتوبک 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 دریسته 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 استرپتوبک موتانس از تست‌های تشخیصی مانیتول و VP Acetoin Production استفاده شد. (شکل ۱)

شده است.^(۱,۲) آلدگی با استرپتوبک موتانس معمولاً بین ماههای ۱۹ تا ۳۱ بعد از تولد روی می‌دهد، هرچند برخی دیگر، سنین پایین‌تری را برای شروع آلدگی پیشنهاد کرده‌اند.^(۳) بررسی عوامل مؤثر بر کلونیزاسیون استرپتوبک موتانس در کودکان نشان داده که عادات غذایی کودک در سال اول زندگی می‌تواند وی را برای کلونیزاسیون زودهنگام استرپتوبک موتانس مستعد نماید.^(۴) از طرف دیگر، استفاده از شیشه شیر می‌تواند به عنوان یک عامل عفونت‌زا قوی برای استرپتوبک موتانس نقش ایفا کرده و شیوع ابتلاء به این باکتری را در کودکان افزایش دهد.^(۵) البته، شیر مادر پوسیدگی زا نبوده و تغییر چندانی در pH بزاق کودک ایجاد نمی‌کند، به طوری که مشخص گردیده مدت زمان استفاده از شیر مادر به تنها ی تأثیری بر میزان استرپتوبک موتانس و پوسیدگی ناشی از آن در کودکان ۵ ساله نداشته است.^(۶,۷) در تحقیقات دیگر، ارتباط معنی‌داری میان مدت زمان طولانی استفاده از شیشه شیر و میزان پوسیدگی متعاقب آن به دست آمده است.^(۸,۹) Habibian و همکاران نشان دادند میزان استرپتوبک 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 استرپتوبک موتانس همبستگی داشته است.^(۱۰) 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.^(۱۱) با توجه به اینکه رابطه بین میزان استرپتوبک 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 استرپتوبک موتانس موجود در بزاق در کودکان ۵ ساله شهر تهران در این تحقیق ارزیابی گردید.

سپس نمونه‌ها بر حسب میزان استرپتوكوک بزاق به دو گروه تقسیم بندی شدند، گروه مورد شامل ۷۱ کودک با میزان بیشتر از 10^4 واحد شمارش کولونی) و گروه شاهد شامل ۷۹ کودک با میزان استرپتوكوک 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 مسوک زدن، روش مسوک زدن، مصرف مواد قندی میان عدد و جنس و Dmf تفاوت معنی داری ندارند. (جدول ۱)

برای بررسی نقش تغذیه در میزان استرپتوكوک موتانس بزاقی و نوع تغذیه، از آزمون chi-square استفاده شد.

یافته‌ها:

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



شکل ۱- کلنی‌های استرپتوكوک موتانس

نتایج تست مانیتول و VP، یک کلونی با رنگ سرم‌های مثبت بوده و در نهایت، کلونی‌های مشابه به عنوان استرپتوكوک موتانس شمارش گردید. برای شمارش کلونی‌ها، هر پلیت به ۸ قسمت مساوی تقسیم شده، یک هشتتم از هر پلیت شمارش و در عدد ۸ ضرب شد. از آنجا که سواب ۱ میلی لیتر از بزاق را بر می‌دارد، عدد فوق در 10^4 ضرب شد تا میزان استرپتوكوک موتانس در ۱ میلی لیتر بزاق نیز محاسبه شود.^(۱)

برای تشکیل زنجیره استرپتوكوک 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 تهییه شد. بعد از رنگ‌آمیزی گرم، زنجیره‌های استرپتوكوک موتانس مشاهده شدند. (شکل ۲)



شکل ۲- زنجیره‌های استرپتوكوک موتان رنگ آمیزی شده به روش گرم زیر میکروسکوب نوری با بزرگنمایی ۱۰۰

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

نتیجه آزمون	مورد (بزرگ‌تر از 10^3) N=71	شاهد (کمتر و مساوی 10^3) N=79	میزان <i>s. mutans</i>		عوامل مرتبط
			کمتر و مساوی ۲۴ ماهگی	بیش از ۲۴ ماهگی	
p<0.6	(٪۴۳/۹) ۲۵	(٪۵۶/۱) ۳۲	زمان شروع مسوک	زدن	
	(٪۴۹/۵) ۴۶	(٪۵۰/۵) ۴۷	بیش از ۲۴ ماهگی		
p<0.3	(٪۴۲/۹) ۳۳	(٪۵۷/۱) ۴۴	چه کسی برای کودک مسوک		
	(٪۵۲/۱) ۳۸	(٪۴۷/۹) ۳۵	کودک به تنهایی کودک و مادر	می‌زند؟	
p<0.9	(٪۴۷/۹) ۴۵	(٪۵۲/۱) ۴۹	بلی	صرف مواد قندی به عنوان میان و عده	
	(٪۴۶/۴) ۲۶	(٪۵۳/۶) ۳۰	خیر		
/p<0.9	(٪۵۰) ۳۶	(٪۵۲) ۴۱	پسر		
	(٪۵۰) ۳۵	(٪۴۸) ۳۸	دختر	جنس	
p<0.9	(٪۳۸/۹) ۲۸	(٪۶۱/۱) ۴۴	کمتر و مساوی ۲	Dmft	
	(٪۵۵/۱) ۴۳	(٪۴۴/۹) ۳۵	بیش از ۲		

معنی دار بود ($P < 0.001$) و در کودکان با میزان استرپتوبکک موتانس بالا، $6/1$ برابر بیش از کودکان با میزان استرپتوبکک موتانس پایین دیده شد. ($OR = 6/1$)

کودکانی که میزان استرپتوبکک موتانس بزاق بالا داشتند، $49/69$ نفر (٪۶۹) تغذیه شیر مادر و شیشه هم زمان و $22/22$ 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

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

نتیجه آزمون	مورد (بزرگ‌تر از 10^3) N=71	شاهد (کمتر و مساوی 10^3) N=79	میزان <i>s. mutans</i>		نوع تغذیه
			فقط شیر مادر	شیشه و شیر مادر	
P<0.001	(٪۳۱) ۲۲	(٪۷۳/۴) ۵۸			
	(٪۶۹) ۴۹	(٪۲۶/۶) ۲۱			
	(٪۱۰۰) ۷۱	(٪۱۰۰) ۷۹			مجموع

آمد (٪۰/۰۰< P). 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 ۱۵-۲۰ ماهگی هنوز از شیشه شیر برای تغذیه استفاده می‌کردند، میزان استرپتوبکک موتانس بالاتری در

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

پوسیدگی زایی فرمولهای رایج شیر خشک های مورد استفاده برای نوزادان، انجام گرفت، افزایش معنی داری در میزان استرپتوکوک موتانس موجود در پلاک دندانی و نمونه های بزاقی بدست آمده از کودکان تغذیه شده با تمام انواع شیر خشک ها، نسبت به میزان پایه، مشاهده شد. همچنین PH پلاک، بعد از مصرف شیر خشک به طور معنی داری 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 ۲-۳ 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 تغذیه ای وابسته به مصرف شکر، یک زمینه ساز برای کلینیزاسیون زودهنگام با استرپتوکوک و افزایش خطر پیشرفت ECC در کودکان می باشد.^(۱۷)

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

همزمان، نتایج برخی مطالعات موجود در پیشینه های تحقیقاتی با یافته های 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 می توان به عدم

مقایسه با کودکانی داشته اند 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 اندازه گیری و نتیجه گیری کردند که میزان استرپتوکوک موتانس بزاق این کودکان از کودکان عاری از پوسیدگی بیشتر است.^(۱۰) همچنین، نتایج تحقیق Kneist و همکاران نشان داد استفاده از شیشه شیر منجر به افزایش میزان حضور گونه های استرپتوکوک موتانس در بزاق کودکان می گردد.^(۱۱) Lopez و همکاران نیز گزارش کردند استفاده از شیشه به عنوان یک عامل عفونت زای قوی عمل کرده و میزان کلینی های 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 شبانه از شیشه شیر همبستگی معنی داری دارد.^(۱۲) همزمان، Mohan و همکاران، رابطه استفاده از شیشه شیر و مقادیر استرپتوکوک موتانس را بررسی و تعداد کلینی های کمتری در بزاق کودکانی که از شیشه شیر استفاده نمی کردند، شمارش کردند.^(۳) هر چند این تحقیق در کودکان ۶-۲۴ ماهه انجام شده بود که با گروه سنی مورد بررسی در تحقیق حاضر متفاوت بوده است.

Retnakumari و همکاران، مطالعه ای در مورد تاثیر خصوصیات مادر و کودک بر شیوع پوسیدگی های 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 وعده های پوسیدگی زا، تعداد دفعات مساواک زدن، تعداد دندان های پوسیده مادر و وضعیت بهداشت دهانی مادر رابطه آماری معنی دار با بروز پوسیدگی های دندانی در کودکان داشت.^(۱۳)

Holbrook و همکاران در مطالعه ای، در افراد دارای پوسیدگی و فاقد پوسیدگی نشان دادند که زنجیره های استرپتوکوک موتان در افراد دارای پوسیدگی دارای قدرت چسبندگی بیشتری به آپاتیت، قدرت بیشتر در دکلیسیفیه کردن آپاتیت و فعالیت باکتریوسمین مانند را دارا هستند.^(۱۴)

در مطالعه ای که، توسط Chaudhary و همکاران، بر روی اثر

نوع تغذیه استفاده کرده بودند، بالاتر بوده است.^(۶) این تفاوت در نتایج را می‌توان به در دسترس نبودن محیط کشت اختصاصی استرپتوکوک موتنس در زمان تحقیق اخیر نسبت داد.

نتیجه‌گیری:

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

رعايت بهداشت در اين کودکان يا استفاده شب هنگام از شير مادر در آنان نسبت داد. البته اين يافته را می‌توان به ميزان محدود فلورايد دريافتی کودکان نسبت داد، همان طور که خود محققان نيز به آن اشاره کرده‌اند. علاوه بر اين، اين تحقيق در کودکاني با متوسط سن ۲۸/۸ ماه انجام شد که با گروه سنی مورد بررسی در تحقيق ما تفاوت زيادي داشت.

Alaluusua و همکاران، گزارش کردند کودکانی که به مدت طولاني از شير مادر تغذие شده بودند در سن ۵ سالگي، ميزان استرپتوکوک موتنس بزاق آنها نسبت به کودکانی که از هر دو

References:

- 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.
- Mc Donalds R.E,Avery D.R. dentistry for the child and adolescent.9nd ed.usa:Mosby;2011.P:236-238
- 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.
- 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.
- Lopez L, Berkowits R, Moss M, Weinstrein P. Mutans streptococci prevalence in puertrican babies with cariogenics feeding behaviors. *Pediatr Dent*. 2000 Jul-Aug;22(4):299-301.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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
- Krishnakumar R, Singh S, Subba Reddy VV. Comparison of levels of mutans streptococci and lactobacilli in children with nursing or bottle caries, rampant caries, healthy children with 3-5 dmft/DMFT and health caries free children. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*. 2002 Mar;20(1):1-5.
- 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, Dietand 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. *Contempt clin Dent* 2012 Jan-Mar ;3(1):2-8
- 14- Holbrook WP.,Magnusdottir M O. Studies on strains of streptococcus mutans isolated from from caries-active and caries-free individual in Iceland. *J Oral Microbial.* 2012 :4:10.3402
- 15- Chaudhary SD, Chaudhary M, Singh A, Kunte S. An assessment of the cariogenecity 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-Speybrouck BF, Euwe HC, Groen HJ. Prolonged demand breast-feeding and nursing caries. *Caries Res.* 1998;32(1):46-50