

INTENSITY OF DENTAL CARIES AND LEVEL OF CALCIUM AND MAGNESIUM IN SALIVA IN 12-YEAR-OLD CHILDREN

Sanja Nashkova

Faculty of medical science, “Goce Delcev” University, Stip, RN Macedonia, sanja.naskova@ugd.edu.mk

Cena Dimova

Faculty of medical science, „Goce Delcev” University, Stip, RN Macedonia, cena.dimova@ugd.edu.mk

Abstract: Motivated by new challenges and insights, our paper represents an attempt to recognize the complexity of the etiology of dental caries in children, where the specific goals and focus of the research are aimed at the effects of saliva and its constituent components, therefore we directed the investigations to the following components: is there a significant inverse relationship between the intensity of dental caries and the level of calcium and magnesium in saliva and whether the examined salivary parameters and their optimal concentrations can be used as a diagnostic tool for caries activity. The research included 71 respondents, 26 female and 45 male aged 12 years. For the determination of calcium values in saliva we used ready-made tests - from BioTek Instruments, Inc. headquartered in Winooski, VT, USA. The principle of the methodology of the colorimetric test for the determination of calcium in saliva is based on the fact that calcium ions from the sample, saliva, in an alkaline environment react with the O-cresolphthalein complex, forming a complex with a purple color that absorbs light at 570 nm-578 nm. The intensity of the color was proportional to the concentration of calcium ions in the sample. For the determination of magnesium values in saliva we used ready-made tests - from BioTek Instruments, Inc. headquartered in Winooski, VT, USA. The principle of the method is with a photometric colorimetric test for the determination of magnesium in saliva, where in an alkaline environment magnesium ions from the sample, saliva, react with xylydyl blue, diazonium salt and form a complex with a purple-red color that maximally absorbs light at 520-546 nm. The intensity of the color is proportional to the concentration of magnesium ions in the sample. The examined relationship between the values of calcium and magnesium in the saliva of children with permanent dentition and the presence of the dental has a distinctly low negative insignificant correlation ($p>0.05$). The increase in the values of calcium in the saliva of children with permanent dentition decreases with the presence of dental caries in children, distinctly insignificant. The examined relationship between the values of magnesium in the saliva of children with permanent dentition and the presence of the dental has a distinctly low negative non-significant correlation ($p>0.05$). The increase in magnesium values in children with permanent dentition is followed by a drop in the occurrence of dental caries in children, which is clearly insignificant.

Keywords: dental caries, calcium, magnesium, permanent dentition

ИНТЕНЗИТЕТ НА ДЕНТАЛЕН КАРИЕС И НИВО НА КАЛЦИУМ И МАГНЕЗИУМ ВО ПЛУНКА КАЈ ДЕЦА НА 12 ГОДИШНА ВОЗРАСТ

Нашкова Сања

Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип, РС Македонија
sanja.naskova@ugd.edu.mk

Димова Цена

Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип, РС Македонија,
cena.dimova@ugd.edu.mk

Резиме: Мотивирани од нови предизвици и сознанија, нашиот труд преставува обид за препознавање на сложеноста на етиологијата на денталниот кариес кај деца каде специфичните цели и фокусот на истражувањето се насочени кон ефектите на плунката и нејзините составни компоненти, затоа испитувањата ги носочивме кон следниве компоненти: дали постои значајна инверзна врска помеѓу интензитетот на денталниот кариес и нивото на калциум и магнезиум во плунката и дали испитуваните саливарни параметри и нивните оптимални концентрации можат да се користат како дијагностичка алатка за кариес активност. Во истражувањето се вклучени 71 испитаник, 26 од женски и 45 од машки пол на возраст од 12 години. За определување на вредностите на калциум во плунката користевме готови тестови - од BioTek Instruments, Inc. headquartered in Winooski, VT, USA. Принципот на методологијата на колориметриски тест за определување калциум во плунката се темели на фактот што калциумовите јони од примерокот, плунката, во алкална средина реагираат со О-крезолфтален комплексот при што формираат комплекс со виолетова

боја која максимално апсорбира светлина на 570 nm-578 nm. Интензитетот на бојата беше пропорционален на концентрацијата на калциумовите јони во примерокот. За определување на вредностите на магнезиумот во плунката ги користевме готовите тестови-од BioTek Instruments, Inc. headquartered in Winooski, VT, USA. Принципот на методот е со фотометриски колориметриски тест за определување на магнезиум во плунката при што во алкална средина магнезиумовите јони од примерокот, плунката, реагираат со ксилидил сино, диазониум сол и формираат комплекс со пурпурно црвена боја која максимално апсорбира светлина на 520-546nm. Интензитетот на бојата е пропорционален на концентрацијата на магнезиумовите јони во примерокот. Испитаниот однос помеѓу вредностите на калциумот и магнезиумот во плунката на децата со трајна дентиција и присуството на денталниот е со изразито ниска негативна незначајна корелација ($p>0,05$). Порастот на вредностите на калциум во плунката кај децата со трајна дентиција опаѓа со присуството на дентален кариес кај децата, изразито незначајно. Испитаниот однос помеѓу вредностите на магнезиумот во плунката на децата со трајна дентиција и присуството на денталниот е со изразито ниска негативна незначајна корелација ($p>0,05$). Порастот на вредностите на магнезиумот кај децата со трајна дентиција го следи пад на појавата на дентален кариес децата, изразито незначајно.

Клучни зборови: дентален кариес, калциум, магнезиум, трајна дентиција

1. ВОВЕД

Развитокот на кариозните лезии кој настанува во одреден период на време е резултат на динамични и комплексни интеракции помеѓу кариогените бактерии и одбраната на домаќинот, забот. Овој концепт за патогенезата на забниот кариес е насочен кон ферментацијата на јаглените хидрати од кариогените бактерии во плакот и производство на киселини кои доведуваат до нарушување на површинската минерална структура на забот. Денес се поприфатлив е современиот концепт, кој ја подржува хипотезата дека забниот кариес се јавува како резултат на интеракција помеѓу генетски и еколошки фактори во која социјалните, биолошки, психолошки и факторите на однесувањето се изразени во времен интерактивен комплекс.

Научници и сор. и Lagerlof потенцираат дека плунката е презаситена со калциум и фосфат но и дека спонтана преципитација од плунката на забниот емајл нормално не се случува. За ваквата стабилност заслужни се група плунковни протеини, како статерин, ацидни PRPs, цистатини и хистатини. Овие протеини се разликуваат од другите плунковни одбранбени протеини со тоа што имаат специфична функција само за оралната средина, односно одржување на хомеостазата при презаситеност од плунка. Овие протеини се мултифункционални со тоа што тие се делумно одговорни за реминерализациониот капацитетот на плунката, но исто така се во интеракција со некои микроорганизми сметаат Lamkin и Oppenheim. Едно е сигурно дека помеѓу другите својства на плунката, таа ги штити забите од кариоген предизвик и нејзината улога е неспорна во предизвикување на деминерализација или поттикнување на реминерализација. Најистакнатите составни потенцијални компоненти на плунката за споменатите процеси се калциум, магнезиум, фосфор и флуоридите. Значителни истражувања со внимание се насочени кон утврдување на концентрацијата на овие елементи во плунката и поврзаноста со денталниот кариес. Afonsky во својот осврт потенцира дека повисоки просечни саливарни вредности на калциум и фосфор се убедлив доказ за лица кои немаат кариес. Концептот дека денталниот кариес е резултат на интеракција помеѓу заштитни и патолошки фактори во плунката и биофилмот на плакот, но исто така и од балансот меѓу кариогените и некариогените бактериски соеви кои опстојуваат во плунката, поради што нашата главна цел беше да обезбедиме прецизни податоци за учеството на саливарните компоненти во плунката и нивното влијание на појавата на денталниот кариес со што ќе допринесеме да се надградат концептите и научните достигнувања во врска со разјаснувањето на етиологијата на денталниот кариес. Мотивирани од нови предизвици и сознанија, нашиот труд претставува обид за препознавање на сложеноста на етиологијата на денталниот кариес кај децата каде специфичните цели и фокусот на истражувањето се насочени кон ефектите на плунката, нејзините составни компоненти и кариогените бактерии, поради што испитувањата ги носочивме кон следниве компоненти: дали постои значајна инверзна врска помеѓу интензитетот на денталниот кариес и нивото на калциум и магнезиум во плунката и дали испитуваните саливарни параметри и нивните оптимални концентрации можат да се користат како дијагностичка алатка за кариес активност.

2. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДОЛОГИЈА

За реализација на поставените цели за докторскиот труд опсервирани се деца по случаен избор од основните училишта во градот Штип. Во истражувањето се вклучени 71 испитаник, 26 од женски и 45 од машки пол на возраст од 12 години. Возрасната група од 12 години ја избравме по препораките на СЗО која ја препорачува таа возраст за глобален мониторинг за забниот кариес и се однесува само на деца со постојана дентиција. Стоматолошките прегледи ги реализиравме со користење преносливи светилки со

јачина од 60W со бело-син спектар и стерилизирани пародонтални сонди бр.5 и огледалце. За да избегнеме визуелн замор, во текот на еден ден беа опсервирани најмногу 15 деца. Испитувањата ги направивме после усмена согласност на испитаниците и родителите. Исклучени од испитувањата беа деца со акутни и хронични заболувања, деца кој живеат или живееле во регион каде флуорот во водата е над дозволеното ниво, употреба на хлорхексидин глуколат во текот на последните три месеци, земање антибиотици во текот на минатиот период, деца со антибактериски состојки во плунката и сл. Според возраста и дентицијата испитаниците се поделени во две основни групи:

IA. Контролна група-31 испитаника без кариес, пломби и екстракции (КЕП=0) и

IB. Експериментална група-40 испитаника со кариес, пломби и екстракции на забите.

За одредување на вредностите на калциум во плунката користевме готови тестови од BioTek Instruments, Inc. headquartered in Winooski, VT, USA (Сл.1). Принципот на методологијата на колориметриски тест за одредување калциум во плунката се темели на фактот што калциумовите јони од примерокот, плунката, во алкална средина реагираат со О-крезолфталеин комплексот при што формираат комплекс со виолетова боја која максимално апсорбира светлина на 570nm-578nm. Интензитетот на бојата беше пропорционален на концентрацијата на калциумовите јони во примерокот. За одредување на вредностите на магнезиумот во плунката ги користевме готовите тестови-од BioTek Instruments, Inc. headquartered in Winooski, VT, USA (Сл.2). Принципот на методот е фотометриски колориметриски тест за одредување магнезиум во плунката е тоа што во алкална средина магнезиумовите јони од примерокот, плунката, реагираат со ксилидил сино, диазониум сол и формираат комплекс со пурпурно црвена боја која максимално апсорбира светлина на 520-546nm. Интензитетот на бојата е пропорционален на концентрацијата на магнезиумовите јони во примерокот. За сите испитувања беше користен апаратот автоматизиран ензимски имуно хемиски анализатор, CHEMWELL, AWARENESS TECHNOLOGY, INC. ChemWell® 2910 (Сл.3), кој е целосно автоматизиран и способен да работи на EIAs - ензимски, имуно анализи и општи хемиски процеси Automated EIA and Chemistry Analyzer) во стандардни микроуслови. Биохемиските испитувања се направени на Институтот за Биохемија на Медицинскиот факултет при УКИМ во Скопје.

3. РЕЗУЛТАТИ

Вредностите на калциумот варираат во интервалот $0,98 \pm 0,58$ ммол/л; $\pm 95,00\%KI:0,80-1,17$; минималната вредност изнесува 0,30 ммол/л и максималната 2,40 ммол/л. Вредностите на магнезиумот варираат во интервалот $0,50 \pm 0,35$ ммол/л; $\pm 95,00\%KI:0,38-0,61$; минималната вредност изнесува 0 ммол/л и максималната изнесува 1,54 ммол/л.

Табела 1. Дескриптивна статистика

Параметри	Valid N	Mean	Confidence -95,00%	Confidence +95,00	Minimum	Maximum	Std.Dev.
Калциум(ммол/Л)	40	0,98	0,80	1,17	0,30	2,40	0,58
Магнезиум (ммол/Л)	40	0,50	0,38	0,61	0,00	1,54	0,35

Вредноста на калциумот во плунката кај децата од експерименталната група е поголема отколку во контролната група, меѓутоа разликата за $Z=-0,48$ и $p>0,05$ ($p=0,63$) не е значајна. Вредноста на магнезиумот во плунката кај децата од контролната група за $Z=0,66$ и $p>0,05$ ($p=0,51$) незначајно е поголема во однос на вредноста на магнезиумот во плунката кај децата од експерименталната група.

Табела 2. Разлика / Контролна група & Експериментална група

Параметар	Rank Sum Контрол.	Rank Sum Експеримент	U	Z	p-level	Valid N Контрол	Valid N Експеримент
Калциум(ммол/Л)	1075,00	1481,00	579,00	-0,48	0,63	31	40
Магнезиум (ммол/Л)	1172,50	1383,50	563,50	0,66	0,51	31	40

Испитаниот однос помеѓу вредностите на калциумот во плунката на децата со трајна дентиција и присуството на денталниот кариеспокажува дека за $R=-0,002$ ($p>0,05$) утврдена е изразито ниска негативна

незначайна корелација. Имено, порастот на вредностите на калциумот во плунката кај децата со трајна дентиција пратен е со опаѓање на присуството на дентален кариес кај децата, меѓутоа односот е изразито незначаен. Испитаниот однос помеѓу вредностите на магнезиум во плунката на децата со трајна дентиција и присуството на денталниот кариес покажув дека за $R=-0,12$ ($p>0,05$) утврдена е слаба негативна незначайна корелација. Имено, порастот на вредностите на магнезиум во плунката кај децата со трајна дентиција пратен е со опаѓање на присуството на дентален кариес кај децата, меѓутоа односот е незначаен. При единечно зголемување на вредноста на калциумот во плунката на децата вредноста на КЕП индексот незначайно се зголемува за $0,33$ ($B=0,33$) / $p>0,05$ ($p=0,18$), при непроменети вредности на останатите анализирани параметри. При единечно зголемување на вредноста на магнезиумот во плунката на децата вредноста на КЕП индексот незначайно се зголемува за $0,12$ ($B=0,12$) / $p>0,05$ ($p=0,75$), при непроменети вредности на останатите анализирани параметри.

4. ДИСКУСИЈА

Досегашните експериментални и клинички истражувања укажуваат дека на појавата на денталниот кариес одговорни се повеќе различни и ризични фактори кои можат ви исто време да дејствуваат самостојно или во асоцијација. Посебен интерес претставуваат калциумот и фосфатните јони од плунката, поради нивното специфично однос кон забните супстанции. Плунковни фосфати имаат важна антикариогена улога со своето учество во состав на плунковните пуферни системи, потоа во одржување на стабилноста на минерална содржина на забите во процесот на деминерализација и реминерализација. Околу 60% од плунковниот калциум е во јонска форма а остатокот се комбинира во хемиски реакции најчесто со протеините. Вкупно плунковната концентрација на калциум е, во просек 1 -3 mM. Јонизиран калциум има најважна улога, во одредувањето на рамнотежата помеѓу калциум фосфат од забните супстанции, плунката и плакот. Вредноста на калциумот во плунката кај нашите испитаници од експерименталната група е поголема во однос на контролната група, меѓутоа разликата за $p>0,05$ и не е значајна. Испитаниот однос помеѓу вредностите на калциумот во плунката на децата со трајна дентиција и присуството на денталниот кариес е со многу ниска негативна незначайна корелација ($p>0,05$) каде со порастот на вредностите на калциумот во плунката се намалува присуството на дентален кариес кај децата, меѓутоа односот е нагласено незначаен. Во испитаниот однос помеѓу вредностите на магнезиум во плунката на децата со трајна дентиција и присуството на денталниот кариес утврдена е слаба негативна незначайна корелација ($p>0,05$) и со порастот на вредностите на магнезиум во плунката кај децата опаѓа присуството на дентален кариес. Концентрацијата на калциум се зголемува со пад на рН вредноста на плунката. Во неутрална рН јонизиран калциум претставува 50% од вкупниот плунковен калциум но со пад на вредноста на рН под 4, плунковниот калциумот во јонизиран форма се зголемува, со што е во можност директно да предизвика или стопира на развојот на лезии на забите. Нејонизиран калциум е во сооднос 10 -20% со фосфатите и бикарбонати, помалку од 10% е поврзан со органски соединенија со ниска молекуларна тежина и 10-30% во врска со макромолекуларни органски соединенија. Мал дел од нејонизиран калциум е поврзани со плунковна амилаза како ензимски кофактор. Испитувањата на Hegde кај 90 деца од градинки на возраст од 5 години, помогнале авторот да дојде до заклучок дека саливарното ниво на калциум е повисоко во групата на деца со кариес во споредба со децата без кариес ($p<0,001$), а идентични резултати добил и Shahrabi кој во своето испитување вклучил по 75 деца на возраст од 3-5 години со и без кариес и каде калциумот во плунката помеѓу двете групи се разликувал за $p> 0,05$ во корист на групата деца со кариес. Намалувањето на Ca и Mg јони во плунката е силно зависно од зголемувањето на плунковниот проток. Калциумот и фосфатите се меѓу главните плунковни аоргански состојки вклучени во одржувањето на структурите на забите. За да се утврди врската помеѓу плунковниот калциум и процесите на појава кариес мора да бидат анализирани бројот и вириленцијата на бактериите во плакот и плунката бидејќи таму нивното присуство ја намалува рН вредноста нагласува Malamud. Киселините кои се формираат во бактерискиот плак се разрежуваат и се отстранети од страна на дифузијата на плунката или се трансформираат во послаби киселини, неутрализиранни од плунковните пуферски системи како што се бикарбонати и калциум фосфати. Денталниот плак делува како бариера за задржување на јоните на калциум, фосфат и флуорид ослободени со деминерализација на емајлот. Плунковните калциум, со дифузија може да се инкорпорира во органска матрица на плакот. Експериментално било утврдено дека денталниот плак содржи инхибитори на таложење на калциум фосфат. Механизмите кои го регулираат плунковното депонирање на калциумови и фосфатни јони, се директно зависи од рН на плунката. Критична рН се јавува кога плунката не е презаситена со јони на калциум и фосфати и емајлот станува порозен. Значителното намалување на локалната рН ја менува хемиската рамнотежа на површината на забите, ја зголемува растворливоста на хидроксил апатитот и

исчезнува само сатурацијата на плунката со јони на калциум, фосфати и бикарбонати за околу 10 -30%, што доведува до исчезнување на макромолекуларни органски соединенија.

Ira и Ralphod собрале 100 примероци на паротидна плунка од деца на 3-5 годишна возраст кај кои ги испитувале стапката на проток и концентрација на калциум, магнезиум и фосфор и при тоа го нотирале и кеп-от. Резултатите кои ги добиле биле дека кеп-от бил придружуван од значително пониски концентрации на плунковен калциум ($P < 0.01$) и фосфор ($P < 0.05$), нивото на магнезиум било помало за 11%. Концентрациите на калциум, фосфор и магнезиум во нестимулирани паротидната плунката биле во негативна корелација ($p < 0.01$) со стапка проток на плунката. Авторите сметаат дека наодите се солидна база да се потврди хипотезата дека покачени нивоа на калциум и фосфор во плунката кај децата се елементи во прилог за заштита против кариес што е во сооднос со резултатите од нашите истражувања. Плунката во контакт со забите е презаситена со калциум и фосфат споредено со вкупните нивоа на минерали во емајлот. Бројот на калциумови и фосфатни јони во плакот е поголем отколку во плунката. Со опаѓање на рН од бактериските киселини, нивото на концентрација на калциум и фосфат опаѓа и ризикот од деминерализација се зголемува. Бидејќи не постои точно одредено ниво на рН што би предизвикало деминерализација, границата од 5.5-5.0 се смета за критична.

5. ЗАКЛУЧОК

Сакаме да резимираме од она што досега го сретнавме во литературата дека лицата кои се со зголемено ниво на неоргански калциум, фосфати, висока рН вредност на плунката, зголемена стапка на проток и лоша орална хигиена се изложени на поголем ризик за развој на кариес. Со зголемување на калциумот, нивото на калциум во плакот се зголемува и обезбедува на калциум за реминерализација. Меѓутоа, кај лица каде спометатите параметри се намалени изложени се на зголемен ризик од развој на кариес и појава на деминерализација на емајлот. Достапната литература на Vanerjee сугерира на фактот дека соединенијата на флуор заедно со храна богата со калциум делуваат како превентива од појава кариес. Наодите од студијата на Prabhakar укажуваат на тоа дека лицата кои се зголемено ниво на неоргански калциум, фосфати, висока рН вредност во плунката, зголемена стапка на проток и лоша орална хигиена се изложени на поголем ризик за развој на пародонтопатија и кариес. Со зголемување на калциумот, нивото на калциум во плакот се зголемува и обезбедува калциум за реминерализација. Меѓутоа кај лица каде споменатите параметри се намалени, изложени се на зголемен ризик од развој на кариес и појава на деминерализација на емајлот. Намалувањето на кариесот кај децата со висока концентрација на калциум во плунката се должи на процесот на реминерализација на почетните кариозни лезии. Плунката која е презаситена со калциум и фосфат е како резервоар за овие јони. Во таква средина процесот на реминерализација има поголем ефект во однос на деминерализацијата.

ЛИТЕРАТУРА

- Dabawala, S., Suprabha, B.S., Shenoy, R., Rao, A., & Shah, N. (2017). Parenting style and oral health practices in early childhood caries: a case-control study. *Int J. Paediatr Dent* 27(2):135–44. [10.1111/ipd.12235](https://doi.org/10.1111/ipd.12235) - DOI – PubMed.
- Jain, S., et al. (2018). Effect of diet modification on salivary parameters and Oratest in high-caries-risk individuals. *Int. J. Clin. Pediatr. Dent.* 11:34–39. doi: 10.5005/jp-journals-10005-1480. - DOI - PMC - PubMed.
- Kurnia, D., Hutabarat, G.S., Windaryanti, D., Herlina, T., Herdiyati, Y., & Satari, M.H. (2020). Potential Allylpyrocatechol Derivatives as Antibacterial Agent Against Oral Pathogen of *S. sanguinis* ATCC 10,556 and as Inhibitor of MurA Enzymes: in vitro and in silico Study. *Drug Des. Devel. Ther.* 14:2977–2985. - PMC - PubMed.
- Lo Giudice, G., Nicita, F., Militi, A., et al. (2020). Correlation of s-IgA and IL-6 Salivary with Caries Disease and Oral Hygiene Parameters in Children. *Dent J.* 8(1):3. - PMC - PubMed.
- Lima-Holanda, A.T., de Sousa, E.T., Nobre-Dos-Santos, M., & Steiner-Oliveira, C. (2021). The role of mechanical control of biofilm in the salivary pH after sucrose exposure in children with early childhood caries. *Sci. Rep.* 11:7496. doi: 10.1038/s41598-021-86861-4. - DOI - PMC - PubMed.
- Mira, A., Artacho, A., Camelo-Castillo, A., et al. (2017). Salivary Immune and Metabolic Marker Analysis (SIMMA): a Diagnostic Test to Predict Caries Risk. *Diagnostics (Basel).* 7(3):38. - PMC - PubMed.
- Paqué, P.N., Herz, C., Wiedemeier, D.B., et al. (2021). Salivary Biomarkers for Dental Caries Detection and Personalized Monitoring. *J Pers Med.* 11(3):235. - PMC - PubMed.
- Peres, M.A., Macpherson, L.M., Weyant, R.J., et al. (2019). Oral diseases: a global public health challenge. *Lancet.* 394:249-260.

- Poureslami, R., Re, S., Poureslami. (2016). Concentration of Calcium, Phosphate and Fluoride Ions in Microbial Plaque and Saliva after Using CPP-ACP Paste in 6-9 year-old Children. *J Dent Biomater.*;3(2):214–219. - [PMC](#) - [PubMed](#).
- Razi, M.A., Qamar, S., Singhal, A., et al. (2020). Role of natural salivary defenses in the maintenance of healthy oral microbiota in children and adolescents. *J Family Med Prim Care.* 9(3):1603–1607. - [PMC](#) - [PubMed](#)
- Singh, A., Peres, M.A., & Watt, R.G. (2019). The relationship between income and oral health: a critical review. *J Dent Res.* 98:853-860.
- Subramanyam, D., Gurunathan, D., Gaayathri, R., & Vishnu Priya, V. (2018). Comparative evaluation of salivary malondialdehyde levels as a marker of lipid peroxidation in early childhood caries. *European Journal of Dentistry.* 12(1):67–70. doi: 10.4103/ejd.ejd_266_17. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar].
- Tinanoff, N., et al. (2019). Early childhood caries epidemiology, aetiology, risk assessment, societal burden, management, education, and policy: Global perspective. *Int. J. Paediatr. Dent.* 2019;29:238–248. doi: 10.1111/ipd.12484. - [DOI](#) - [PubMed](#).
- Twetman, S. (2018). Prevention of dental caries as a non-communicable disease. *Eur J Oral Sci.*;126(1):19–25. - [PubMed](#).
- Zaura, E., et al. (2016). On the ecosystemic network of saliva in healthy young adults. *ISME J.* 2017;11:1218–1231. doi: 10.1038/ismej.2016.199. - [DOI](#) - [PMC](#) - [PubMed](#).