

3. Fick, J. M. (1966): Yoghurt en tandcariës. Experimenteel en epidemiologisch onderzoek naar de cariogene eigenschappen van yoghurt. Academisch proefschrift, universiteit Utrecht.
4. Houwink, B., Backer Dirks, O., Kwant, G. W. (1974): A nine-year study of topical application with stannous fluoride in identical twins and the caries experience five years after ending of the applications. *Caries Res* 8: 27-38.
5. Kalsbeek, H. (1972): Schooltandverzorging. Een sociaal-tandheelkundig onderzoek bij recruten. Academisch proefschrift, rijksuniversiteit Utrecht.
6. Kalsbeek, H. (1982): Het effect van T.G.V.O.-projecten bij de preventie van tandcariës. *Ned Tijdschr Tandheelkd* 89: 106-117.
7. Schaub, R. M. H., Eijkman, M. A. J. (1981): Epidemiologie in de tandheelkunde. Bohn, Scheltema en Holkema, Utrecht, Antwerpen.
8. Sturmans, F. (1982): Epidemiologie, theorie, methoden en toepassing. Dekker en v.d. Vegt, Nijmegen.
9. Winkler, K. C., Backer Dirks, O. (1948): Lokale applicatie met loodfluoride. *Ned Tijdschr Tandheelkd* 55: 219-229.

Oktober 1982.

Adres: Dr. H. Kalsbeek,  
Stationsstraat 25,  
4001 CD Tiel.

## MONDMILIEU, BACTERIËN EN CARIËS

### I. STREPTOCOCCUS MUTANS EN CARIËS

J. H. J. HUIS IN 'T VELD

W. H. VAN PALENSTEIN HELDERMAN

*Uit de vakgroep Sociale en Preventieve Tandheelkunde  
van de rijksuniversiteit te Utrecht.*

*Hoofd: Prof. Dr. O. Backer Dirks.*

*Trefwoorden:* Bacteriologie - Cariologie - Voeding - Immunologie

### Inleiding

Dit artikel en het volgende beogen een overzicht te geven van onderzoek naar plaque, bacteriën, mondmilieu en cariës, waarbij Prof. Dr. O. Backer Dirks gedurende zijn tijd aan de rijksuniversiteit te Utrecht betrokken is geweest.

In het wetenschappelijke werk van Backer Dirks heeft één kernvraag centraal gestaan: Wat is of zijn de belangrijkste factoren ten gevolge waarvan cariës ontstaat en met welke middelen of methoden kunnen we de ziekte voorkomen?

Vanuit historisch perspectief is het niet zo verwonderlijk dat de microbiologische aspecten van speeksel en tandplaque een voorname rol zijn toebedeeld. Samen met de ontwikkeling van betrouwbare en gevoelige methoden voor de detectie van cariëslesies vormen deze de basis voor een groot deel van zijn wetenschappelijke werk. Binnen dit kader werd ook ingespeeld op de rol van fluoriden en voeding op de tandplaqueflora.

Wanneer men zijn gehele wetenschappelijke werk overziet, valt een grote diversiteit aan onderwerpen te bespeuren, kenmerkend voor zijn benadering van wetenschappelijke problemen. Zijn kritische houding ten aanzien van onderzoekresultaten kwam reeds in één van zijn eerste publikaties naar voren. In een publikatie over een klinisch en bacteriologisch onderzoek naar de relatie tussen lactobacillen en cariës (Winkler en Backer Dirks, 1946) staat een typerende redenering te lezen:

'Er is een nauwe correlatie tussen de hoeveelheden lactobacillen en het aantal caviteiten. De lactobacillen zijn dus de oorzaak van de caviteiten of beide zijn het gevolg van de oorzakelijke factoren die bij het cariësproces een rol spelen. Het zij uitdrukkelijk gezegd, dat men op grond van dit onderzoek niet tussen de beide mogelijkheden kan kiezen, al moet men willicht op andere gronden aan de laatste mogelijkheid de voorkeur geven.'

### Samenvatting:

In dit artikel wordt een overzicht gegeven van het onderzoek dat onder leiding van Prof. Dr. O. Backer Dirks bij de vakgroep Sociale en Preventieve Tandheelkunde de laatste 35 jaar is uitgevoerd en waarbij de rol van *Streptococcus mutans* bij het cariësproces centraal heeft gestaan.

Besproken worden resultaten van klinische studies naar de relatie *S. mutans* - cariës, het belang van extracellulaire en intracellulaire polysacchariden (EPS, IPS), gevormd door *S. mutans* bij het ontstaan van cariës en de relatie *S. mutans* - voeding (suikers, resp. suikervervangmiddelen). Voorts wordt aandacht besteed aan een mogelijke bestrijding van *S. mutans* via immunisatie.

### Lactobacillen en cariës

In de vijftiger jaren werd de lactobacillen een belangrijke rol bij het cariësproces toebedeeld. Deze zienswijze is in de daarop volgende jaren langzaam veranderd. Het aantal lactobacillen in speeksel bleek dan wel een relatie met het aantal proximale caviteiten te vertonen, in plaque kwamen lactobacillen weinig voor. Wel werden lactobacillen gevonden in plaque diep in caviteiten. Deze waarnemingen leidden er toe dat in de loop der tijd steeds meer vraagtekens werden geplaatst bij de rol die lactobacillen zouden spelen bij de initiatie van het cariësproces; vraagtekens die door Backer Dirks en Winkler al in 1946 werden geplaatst.



### Intracellulaire Polysacchariden (IPS)-vormers en cariës

In de zestiger jaren kwamen andere 'cariogene' bacteriën in de belangstelling, de zgn. IPS-vormers. De rol van IPS ontsnapte niet aan de aandacht van de vakgroep. Van Houte (1969) had reeds het belang van dit reservemateriaal voor het handhaven van lage pH-waarden in de tandplaque aangetoond, waarna De Stoppelaar (thesis 1971) liet zien dat dit reservemateriaal bij voorkeur werd afgebroken bij hogere pH-waarden, dus wanneer pH in de tandplaque weer begon te stijgen. Huis in 't Veld en Backer Dirks (1978) toonden daarna aan dat uit IPS niet alleen melkzuur, maar ook vooral azijnzuur werd gevormd. Dit azijnzuur zou een sterkere bijdrage aan de ontkalking van tandglazuur leveren dan melkzuur alleen (Featherstone en Rodgers, 1981).

#### *S. mutans* en cariës\*)

Het lactobacillen-tijdperk werd definitief afgesloten nadat Fitzgerald en Keyes (1960) hadden laten zien dat bepaalde streptococci, afkomstig van ratten en hamsters, cariës bij andere dieren konden veroorzaken. Andere streptococci: en ook lactobacillen bleken niet of nauwelijks cariogeen te zijn in soortgelijke proeven! Daarna werd al snel de cariogeniteit van streptococci, geïsoleerd uit humane tandplaque, aangetoond (Zinner e.a., 1965; Krasse, 1966).

Reeds in 1924, dus nog voor het hoogtepunt van het lactobacillen-tijdperk, schreef Clarke:

'The evidence suggests that caries is due to infection of the teeth in certain circumstances not yet made clear by a hitherto undescribed streptococcus: *S. mutans*.'

Deze belangwekkende waarneming is

tot het begin van de zestiger jaren in het vergeetboek geraakt.

Het was uiteindelijk Carlsson (1967) die de overeenkomst tussen deze vroege en latere waarnemingen inzag en aan deze cariës inducerende bacteriën de naam *S. mutans* gaf. Een pikant detail is, dat vanuit de vakgroep Preventieve Tandheelkunde in datzelfde jaar een publikatie verscheen (De Stoppelaar e.a., 1967) over plaquevormende eigenschappen van tandplaquestreptococci, waarbij de overeenkomstige fysiologische eigenschappen met *S. bovis* werden beschreven. Men besefte toen nog niet dat men met dezelfde bacterie *S. mutans* te doen had. Het is soms goed de 'oude literatuur' te kennen!

Vanaf die tijd heeft *S. mutans* in het centrum van de belangstelling gestaan en behoort zij nu tot één van de meest bestudeerde bacteriën.

Vele epidemiologische studies naar de relatie tussen *S. mutans* en cariës zijn sindsdien verricht. Een van de eerste klinische studies waarbij de rol van *S. mutans* bij het cariësproces onderzocht werd, werd in Utrecht uitgevoerd (De Stoppelaar e.a., 1969, 1971). De werkgroep Tand- en Mondziekten TNO verrichtte destijds in Tiel en Culemborg onder leiding van Backer Dirks een onderzoek naar het effect van drinkwaterfluoridering, waardoor een schat aan nauwkeurig verkregen cariësgegevens voorhanden was. Daarop werd aangesloten met een onderzoek naar de aanwezigheid van *S. mutans* en cariës op het buccale vlak van de 47 bij 13-jarige kinderen. Het aantal kinderen waarbij gedurende het jaar van studie het buccale vlak gaaf bleef, waarbij cariësprogressie geconstateerd werd en het al of niet aanwezig zijn van *S. mutans* in de plaque is weergegeven in tabel I. Er blijkt zowel in Tiel als Culemborg een positieve correlatie te bestaan tussen het voorkomen van *S. mutans* en cariësprogressie. Opvallend is echter dat in Tiel (drinkwaterfluoridering) bij 16 van de 24 kinderen de aanwezigheid van *S. mutans* niet noodzakelijkerwijs aanleiding geeft tot cariës. Een voor de hand liggende verklaring hiervoor zou

Tabel I. Relatie tussen het voorkomen van *S. mutans* in tandplaque en het al of niet aanwezig zijn van cariësprogressie op dat vlak.

Culemborg	aantal kinderen	aanwezigheid <i>S. mutans</i>	
		-	+
gaaf/gaaf	10	7	3
cariësprogressie	15	2	13

Tiel	aantal kinderen	aanwezigheid <i>S. mutans</i>	
		-	+
gaaf/gaaf	24	8	16
cariësprogressie	15	3	12

de beschermende werking van het fluoride-ion kunnen zijn.

De correlatie tussen *S. mutans* en cariësprogressie is daarna slechts enkele malen bevestigd (Ikeda e.a., 1978; Woods, 1971). In transversaal onderzoek is de correlatie *S. mutans* en cariës echter dikwijls aangetoond (Krasse e.a., 1968; Littleton e.a., 1970; Shklar e.a., 1974; Huis in 't Veld e.a., 1978). Het is in dit verband wellicht interessant te vermelden dat *S. mutans* in tegenstelling tot lactobacillen ook geassocieerd lijkt te zijn met beginnende ontkalking van glazuur (white spot lesions). Op nabij gelegen, gezond glazuur bleek *S. mutans* veel minder aantoonbaar (Duchin en Van Houte, 1978).

De vaak gevonden positieve correlatie tussen *S. mutans* en cariës betekent echter niet dat er sprake zou zijn van een oorzakelijk verband. Beide kunnen het gevolg zijn van andere factoren die bij het cariësproces een rol spelen. Met deze vaststelling zijn we terug bij de uitspraak van Backer Dirks en Winkler uit 1946. Hun redenering betrof toen de relatie tussen lactobacillen en cariës.

Moeten we dan nu concluderen dat alles zijn tijd heeft, ook het *S. mutans*-tijdperk?

#### *Cariës een S. mutans-afhankelijke conditionele infectieziekte?*

Bij specifieke infectieziekten leidt het eerste contact met pathogene bacteriën tot ziekte. *S. mutans* wordt echter regelmatig aangetroffen in tandplaque

\*) Dit artikel beoogt niet een volledig literatuuroverzicht te geven, maar een samenvatting van de bijdrage van de vakgroep Preventieve Tandheelkunde te Utrecht over de rol van *S. mutans* bij het cariësproces. Voor een totaaloverzicht verwijzen wij u naar een uitstekend artikel van Hamada en Slade (1980).

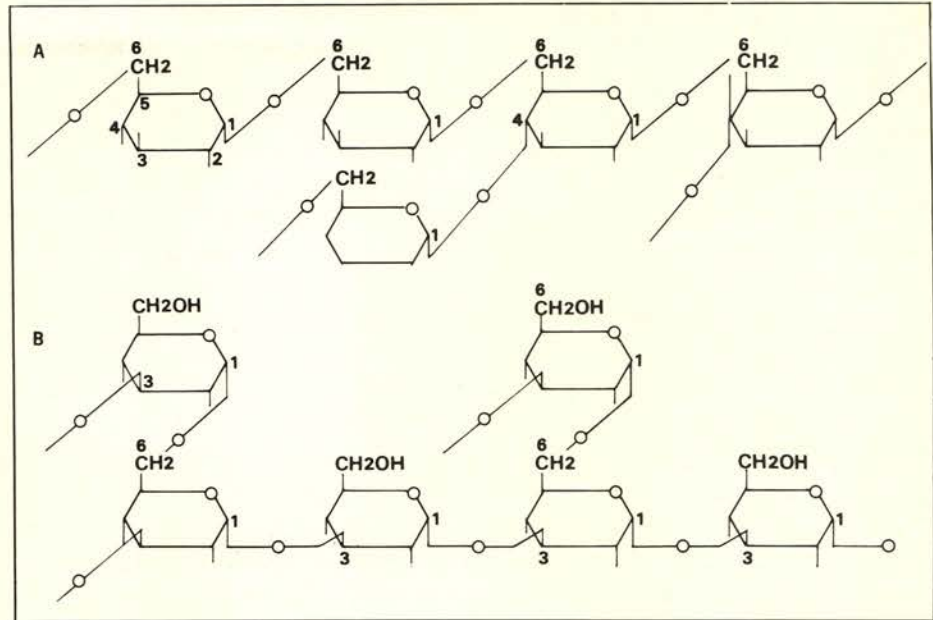


afkomstig van cariësvrije mensen of op tandoppervlakken die gedurende langere perioden cariësvrij blijven. *S. mutans*-infecties lijken daarom meer op commensale of conditionele infectieziekten. Ziekte (sinusitis, cariës?) ontstaat dan niet noodzakelijkerwijs als gevolg van infectie alleen. Andere conditionele factoren bepalen mede of het dynamisch evenwicht van gezond zijn verstoord wordt.

Dergelijke conditionele factoren bij het cariëproces zijn bijvoorbeeld een veranderd voedingspatroon (frequent suikergebruik) of verminderde speekselproductie.

#### Voeding, plaque en cariës.

De relatie tussen één van de bovengenoemde conditionele factoren (voeding) en *S. mutans* is reeds in een zeer vroeg stadium door Backer Dirks en medewerkers onderkend en onderzocht (De Stoppelaar e.a., 1970). Zes personen werden gedurende 17 dagen onderworpen aan een absoluut koolhydraatvrij dieet, tijdens welke op verschillende tijden plaquemodellen van 3 tandvlakken werden onderzocht. Verwijdering van alle koolhydraten uit



Afb. 2. Chemische structuur van de hoofdketens van een  $\alpha(1-6)$  gebonden glucosepolymeer (dextraan, A) en een  $\alpha(1-3)$  gebonden glucaan (mutaan, B).

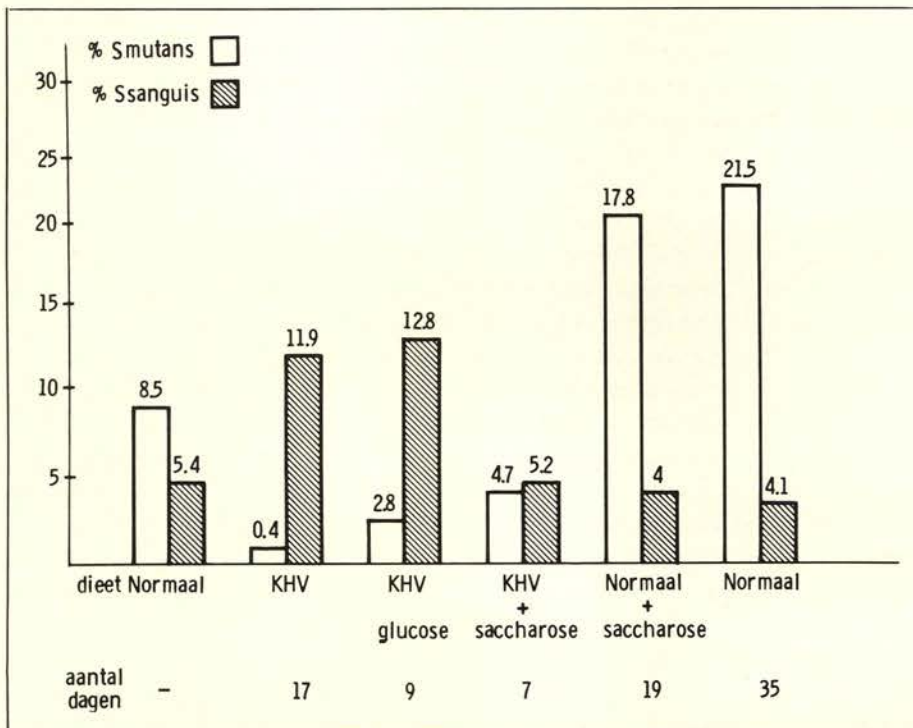
het dieet resulteerde binnen enkele dagen in zeer lage tot niet detecteerbare aantallen *S. mutans* (afb. 1).

Tegelijkertijd nam *S. sanguis* proportioneel in aantal toe. Het percentage intracellulaire polysaccharide (IPS)-vormende bacteriën was ook lager gedurende deze periode. Wanneer na een periode van glucose- en saccharose-toevoegingen aan het koolhydraat-

vrije dieet teruggekeerd werd naar het normale dieet bleek *S. sanguis* tot zijn normale niveau terug te keren, terwijl *S. mutans* significant hogere waarden bereikte dan voorheen. De studie toonde duidelijk een omgekeerde relatie aan tussen *S. mutans* en *S. sanguis*. Bovengenoemde waarnemingen vormden uitgangspunten voor diepgaand onderzoek naar de rol van suikers en extracellulaire polysaccharide (EPS)-vorming op cariësvorming door *S. mutans* in mens en dier.

#### De rol van EPS en mutaan

Biochemisch onderzoek van Guggenheim en Schroeder (1967) en Gibbons en Nygaard (1968) had aangetoond dat *S. mutans* uit saccharose zowel een water-oplosbaar als een water-onoplosbaar glucaan kon synthetiseren. Middels het constitutief aanwezige enzym glucosyltransferase was *S. mutans* in staat het saccharose te splitsen in fructose en glucose, waarbij de vrijgekomen bindingsenergie gebruikt werd om glucose-eenheden aan elkaar te koppelen. De zo ontstane sterk vertakte  $\alpha(1-6)$  gebonden glucose polymeren (afb. 2a) vormden het oplosbare glucaan dat overigens ook door andere streptococci (*S. sanguis*) gemaakt kon worden. Het unieke van *S. mutans* was nu dat *S. mutans* tevens in staat



Afb. 1. Het effect van koolhydraat-restrictie op het vóórkomen van *S. mutans* en *S. sanguis* in tandplaque.



Tabel II. Gemiddelde cariësscores in ratten, geïnfecteerd met *S. mutans* C67-1 (mutaan+) en *S. mutans* C67-25 (mutaan-).

aantal cariësliesies	C67-1	C67-25
fissuurcariës	13.3	0.7
gladde-vlakken-cariës (buccaal)	12.3	0.0
gladde-vlakken-cariës (linguaal)	4.0	0.0

Tabel III. Aantallen initiële (T) en vergevorderde (B+C) lesies bij ratten na toediening van een 20% saccharosedieet (I), een dieet bestaande uit een mengsel van 20% saccharose en 5% xylitol (II) en saccharosedieet, gevolgd door een dieet bestaande uit 20% saccharose/5% xylitol (III). Cariësscores volgens de methode Dalderup en Jansen (1953), later gemodificeerd door König e.a. (1958).

	I saccharose	II sacch./xylitol	III sacch. + sacch./xyl.
dieet aantal dagen	54	54	54 + 21
initiële lesies	6	3.6**)	4.5*)
dentinelesies	4	0.9**)	3.8
caviteiten			

\*)  $P < 0.05$ ; \*\*)  $P < 0.01$ .

was een sterk vertakte  $\alpha$  (1-3) gebonden glucosepolymeer ('mutaan') te vormen (afb. 2b). Het belang van dit laatst genoemde, kleverige mutaan bij het ontstaan van cariës werd op onduidelijke manier door De Stoppeelaar e.a. (1971) aangetoond.

Zij isoleerden een mutant van *S. mutans* (C67-1) die niet in staat was dit kleverige mutaan te synthetiseren (C67-25). Deze mutant miste het vermogen om aan harde oppervlakken te hechten en bleek in een dierproef nauwelijks cariës te kunnen veroorzaken (tabel II).

Daarmee was verklaard waarom juist *S. mutans* in vroegere dierexperimenten veel cariës veroorzaakte. Immers, het unieke vermogen van *S. mutans* om mutaan te vormen en de rol die dit mutaan speelt bij de tandplaquevorming en het cariësproces was hiermee aangetoond.

Het is en blijft echter een hachelijke zaak dergelijke waarnemingen uit een dierexperiment te extrapoleren naar de mens, want tandplaque van de mens bevat in zijn totaliteit aanzienlijk lagere aantallen *S. mutans*. Wel kunnen lokaal relatief hoge aantallen *S. mutans* voorkomen. Ondanks het feit dat de bijdrage van mutaan op de tandplaquevorming bij de mens daardoor geringer is dan in het diermodel, hebben verscheidene onderzoeken aangetoond dat toevoeging van extra suiker aan het dieet van proefpersonen de plaquegroei stimuleerde.

Al langer was bekend (Vipeholm) dat toevoeging van saccharose aan de voeding extra cariës veroorzaakte. Op grond van het voorgaande leken *S. mutans* en zijn mutaan belangrijke intermediären in het causale verband voe-

ding (saccharose) – cariës. De boodschap was duidelijk: minder vaak zoet, waarbij vooral het gebruik van saccharose beperkt diende te worden.

#### Suikervervangmiddelen

Glucose deed zijn intrede in snoep en frisdranken en verschillende suikervervangmiddelen dienden zich aan. In 1977 werd bij de Preventieve Tandheelkunde een onderzoek gestart naar de cariëspreventieve waarde van suikervervangmiddelen. Verschillende potentiële suikervervangmiddelen werden met behulp van diverse mondbacteriën getest op hun vergistbaarheid (Havenaar et al., 1978). Voorts werd in samenwerking met het Rijksinstituut voor de Volksgezondheid een dierexperimenteel cariësmodel ontwikkeld (Havenaar et al., 1982) met behulp waarvan de potentiële cariogeniteit van de verschillende suikervervangmiddelen op reproduceerbare wijze kon worden getest. Deze onderzoeken toonden vooral de goede eigenschappen aan van xylitol en L-sorbose. Wanneer deze suikervervangmiddelen in de verhouding 1:5 werden bijgemengd aan een hoog saccharosedieet, of naast een saccharosedieet enige keren per dag als tussendoortje aan ratten werden aangeboden, bleken deze veel minder cariës te krijgen (tabel III) dan hun soortgenoten die het zonder deze toevoegingen moesten stellen. Het bleek zelfs dat deze twee stoffen in staat waren initiële glazuurlesies te remineraliseren. Deze bevindingen ondersteunden resultaten verkregen bij een klinische studie in Finland (Scheinin e.a., 1975). Daarbij bleek, dat het gebruik van enige xylitol

bevattende kauwgommetjes per dag bij een verder normale voeding een genezend effect had op beginnende cariësliesies.

Alhoewel het werkingsmechanisme nog steeds niet is opgehelderd, lijkt een veranderde speekselsamenstelling onder invloed van het gebruik van xylitol hiervoor verantwoordelijk te zijn (Mäkkinen e.a., 1975, 1976).

#### Immunisatie tegen cariës

Omdat aan *S. mutans* een belangrijke rol werd toebedacht bij het cariësproces, was de gedachte aan immunisatie met *S. mutans* of met antigene bestanddelen van dit micro-organisme niet zo vreemd. Slaagde men er tijdens het lactobacillen-tijdperk niet in deze hypothese in dierexperimenteel onderzoek te verwezenlijken, in de zeventiger jaren lukte dat, mede dank zij beter ontwikkelde experimentele diercariësmodellen, wel. Bescherming tegen *S. mutans* geïnduceerde cariës door middel van immunisatie met *S. mutans*-cellen (ratten, Michalek e.a., 1978), glucosyltransferasen (hamsters, Smith e.a., 1978) en celwand-eiwitten (apen, Lehner, 1982) lukte in veel gevallen.

Het onderzoek over het werkingsmechanisme (speeksel versus serumantilichamen) van de immunologische bescherming is echter nog steeds niet bevredigend opgehelderd. Het Laboratorium voor Preventieve Tandheelkunde heeft ook gepoogd haar steentje bij te dragen.

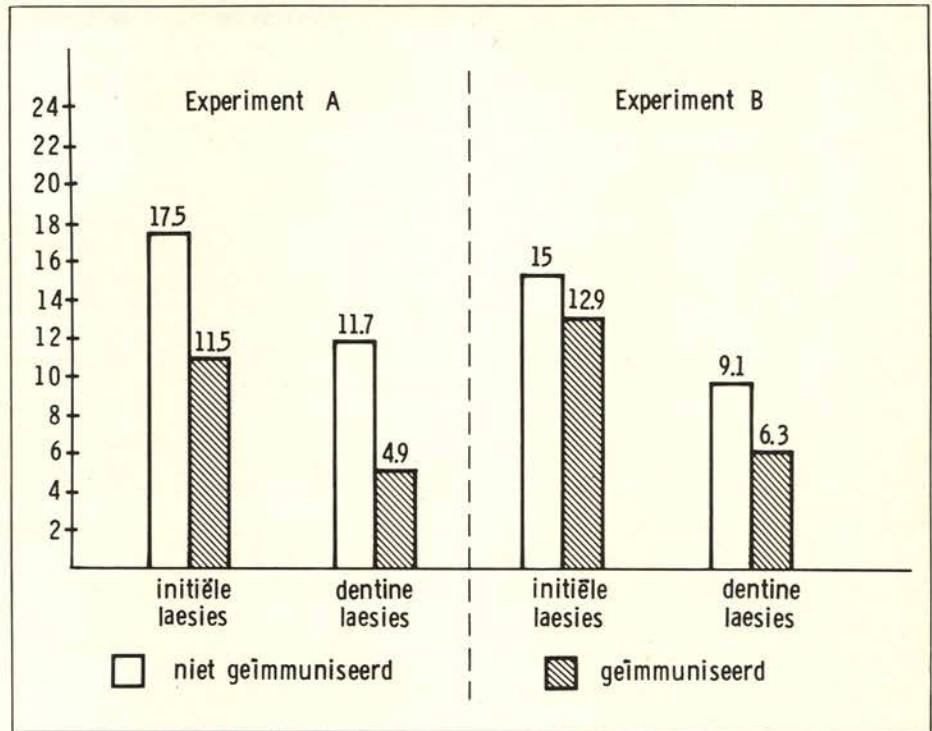
Omdat de muis op immunologisch gebied het meest bekend was, werd voor



dit diermodel gekozen. Aangezien echter voor de muis geen cariësmodel beschikbaar was, werd dit eerst ontwikkeld (Kamp e.a., 1981). Ondanks vele pogingen lukte het niet in het speeksel van de muis antilichamen tegen *S. mutans* op te wekken. Intraperitoneale infecties met *S. mutans* induceerden echter wel antilichamen in serum. Intraperitoneaal geïmmuniseerde muizen kregen na infectie met *S. mutans* en het verstrekken van een cariogeen dieet, gemiddeld minder cariës dan niet geïmmuniseerde muizen (afb. 3). Ondanks het gebruik van in-teeltmuizen bleek er nogal wat variatie in cariësontwikkeling binnen de groepen te bestaan. De niet-geïmmuniseerde groep bevatte soms muizen met weinig cariës, terwijl in de geïmmuniseerde groep muizen waren met relatief veel cariës. Dit kon niet verklaard worden aan de hand van de antilichaamtiter. De muizen met veel cariës hadden echter veel meer '*S. mutans*-plaque' dan muizen met weinig cariës. Bescherming tegen cariës d.m.v. immunisatie met *S. mutans* is een attractieve preventieve maatregel. Ondanks overtuigend positieve resultaten, vooral verkregen met apen, lijkt toepassing hiervan bij de mens op korte termijn onwaarschijnlijk.

### Slotopmerking

De waarnemingen uit de zestiger jaren dat cariës, althans bij dieren, een overdraagbare infectieziekte is met de daarop volgende (her)ontdekking van *S. mutans* als mogelijk oorzakelijk agens heeft tot een explosie van kennisvermeerdering geleid, met betrekking tot de biochemie, fysiologie en immunologie van *S. mutans*. Ondanks deze ontwikkeling bestaat er momenteel nog veel verwarring rond de vraag of cariës een specifieke bacteriële infectieziekte is. Uit het voorgaande zal het duidelijk zijn dat de aanwezigheid van *S. mutans* in de tandplaque een mogelijke indicatie is voor het bestaan van cariogene omstandigheden in de mond, die niet noodzakelijkerwijs tot cariësvorming aanleiding hoeft te geven (zie bijvoorbeeld resultaten onderzoek Tiel, tabel I). Mogelijkerwijs



Afb. 3. Effect van immunisatie met *S. mutans*-cellen op de cariësvorming bij Balb/c-muizen.

is de aanwezigheid van *S. mutans* een reflectie van een combinatie van enerzijds milieu-omstandigheden zoals voeding- en mondhygiëne, anderzijds genetische factoren, zoals speekselsamenstelling en immunologische factoren. Het al of niet ontstaan van cariës in aanwezigheid van *S. mutans* zal daarom mede bepaald worden door een samenspel van deze factoren. In de volgende publikatie zal de rol van bovengenoemde factoren bij mensen met en zonder cariës worden besproken. Pogingen om *S. mutans*, via voedingsveranderingen, chemotherapie (chlorhexidine) of immunologische reacties te bestrijden blijven echter zeker onze aandacht verdienen.

### Summary:

Title: Oral environment, bacteria and caries. This article summarizes research projects especially in relation to *S. mutans* which have been conducted by Prof. Dr. O. Backer Dirks and his staff over the last 25 years at the department of Community and Preventive Dentistry at the Dental School in Utrecht. Attention will be paid to clinical studies about the relationship *S. mutans* - caries, the role of extra- and intracellular polysaccharide (EPS, IPS), synthesized by *S. mutans* and the importance of diet (sugar resp. sugarsubstitutes) and caries. Furthermore, efforts to combat *S. mutans* by immunological methods are being discussed.

### Literatuur:

1. Carlsson, J. (1967): Presence of various types of non-haemolytic streptococci in dental plaque and in other sites of the oral cavity in man. *Odontol Rev* 18: 55.
2. Clarke, J. K. (1924): On the bacterial factor in the aetiology of dental caries. *Brit J Exp Path* 5: 141.
3. Dalderup, L. M., Jansen, B. C. P. (1955): Evaluation of dental caries in the rat in non-decalcified sections of the molars. *Int Z Vitaminforsch* 26: 235.
4. Duchin, S., Houde, J. van (1978): Relationship of streptococcus mutans and lactobacilli to incipient smooth surface dental caries in man. *Arch Oral Biol* 28: 779.
5. Featherstone, J. D. B., Rodgers, B. E. (1981): Effect of acetic, lactic and other organic acids on the formation of artificial carious lesions. *Caries Res* 15: 377.
6. Fitzgerald, R. J., Keyes, P. H. (1960): Demonstration of the etiologic role of streptococci in experimental caries in the hamster. *J Am Dent Assoc* 61: 9.
7. Gibbons, R. J., Nygaard, M. (1968): Synthesis of insoluble dextran and its significance in the formation of gelatinous deposits by plaque-forming streptococci. *Arch Oral Biol* 13: 1249.
8. Guggenheim, B., Schroeder, H. E. (1967): Biochemical and morphological aspects of extracellular polysaccharides produced by cariogenic streptococci. *Helv Odont Acta* 11: 131.
9. Hamada, S., Slade, H. D. (1980): Biology, Immunology and Cariogenicity of streptococcus mutans. *Microbiol Reviews* 44: 331.
10. Havenaar, R., Huis in 't Veld, J. H. J.,



- Backer Dirks, O., Stoppelaar, J. D. de (1978): Some bacteriological aspects of sugarsubstitutes. Health and sugarsubstitutes. Proc Ergob conf. Geneva, 192. S. Karger, Basel.
11. Havenaar, R., Huis in 't Veld, J. H. J., Stoppelaar, J. D. de, Backer Dirks, O. (1982): A purified cariogenic diet for rats to test sugarsubstitutes with special emphasis on general health. Caries Res (geaccepteerd voor publikatie).
  12. Huis in 't Veld, J. H. J., Backer Dirks, O. (1978): Intracellular polysaccharide metabolism in streptococcus mutans. Caries Res 12: 243.
  13. Huis in 't Veld, J. H. J., Bannet, D., Palenstein Helderman, W. H. van, Sampaio Camargo, P., Backer Dirks, O. (1978): Antibodies against streptococcus mutans and glucosyl transferases in caries-free and caries-active military recruits. Advanc Exp Med Biol 107: 369. Plenum Press, New York, London.
  14. Houte, J. van, Winkler, K. C., Jansen, H. M. (1969): Iodophibic polysaccharide synthesis, acid productions and growth in oral streptococci. Arch Oral Biol 14: 45.
  15. Ikeda, T., Sandham, H. J., Bradley, E. L. (1978): Changes in streptococcus mutans and lactobacilli in plaque in relation to the initiation of dental caries in Negro children. Arch Oral Biol 18: 555.
  16. Kamp, E. M., Huis in 't Veld, J. H. J., Havenaar, R., Backer Dirks, O. (1981): Experimental dental caries in mice. Proceedings 'Symposium on animal models in cariology'. Ed. Tanzer, J. M. Sp Supp Microbiology Abstracts 1981, p. 121.
  17. König, K. G., Marthaler, T. M., Mühleman, H. R. (1958): Methodik der Kurzfristig erzeugten Rattenkaries. Dtsch Zahn Mund Kieferheilkd 29: 99.
  18. Krasse, B. (1966): Human streptococci and experimental caries in hamsters. Arch Oral Biol 11: 429.
  19. Krasse, B., Jordan, H. V., Edwardson, S., Svensson, I., Trell, L. (1968): The occurrence of certain caries-inducing streptococci in human dental plaque material. Arch Oral Biol 13: 911.
  20. Lehner, T. (1982): Regulation of immune responses to streptococcal protein antigens involved in dental caries. Immunology Today 3: 73.
  21. Littleton, N. W., Kakehashi, S., Fitzgerald, R. J. (1970): Recovery of specific caries inducing streptococci from lesions in the teeth of children. Arch Oral Biol 15: 461.
  22. Mäkinen, K. K., Tenovuo, J., Scheinin, A. (1975): Turku sugar studies XII. The effect of the diet on oral peroxidases, redox potential and the concentration of ionized fluorine, iodine and thiocyanate. Acta Odontol Scand 33, suppl 70: 247.
  23. Mäkinen, K. K., Tenovuo, J., Scheinin, A. (1976): Xylitol induced increase of lactoperoxidase activity. J Dent Res 55: 652.
  24. Michalek, S. M., McGhee, J. R., Babb, J. L. (1978): Effective immunity to dental caries: Dose dependent studies of secretory immunity by oral administration of streptococcus mutans to rats. Infect Immun 19: 217.
  25. Scheinin, A., Mäkinen, K. K., Tammsalo, E., Rekola, M. (1975): Turku sugar studies XVIII. Incidence of dental caries in relation to 1-year consumption of xylitol chewing gum. Acta Odontol Scand 33: 269.
  26. Smith, D. J., Taubman, M. A., Ebersole, J. L. (1978): Effect of local immunization with glucosyltransferase fractions from streptococcus mutans on dental caries in hamsters caused by homologous and heterologous serotypes of streptococcus mutans. Infect Immun 21: 843.
  27. Shklair, I. L., Keene, H. J., Cullen, P. (1974): The distribution of streptococcus mutans on the teeth of two groups of naval recruits. Arch Oral Biol 19: 199.
  28. Stoppelaar, J. D. de, Houten, J. van, Moor, C. E. de (1967): The presence of dexhanforming bacteria, resembling streptococcus bovis and streptococcus sanguis in human dental plaque. Arch Oral Biol 12: 1199.
  29. Stoppelaar, J. D. de, Houte, J. van, Backer Dirks, O. (1969): The relationship between extracellular polysaccharide-producing streptococci and smooth surface caries in 13 year old children. Caries Res 3: 190.
  30. Stoppelaar, J. D. de, Houte, J. van, Backer Dirks, O. (1970): The effect of carbohydrate restriction on the presence of streptococcus mutans, streptococcus sanguis and iodophilic polysaccharide-producing bacteria in human dental plaque. Caries Res 4: 114.
  31. Stoppelaar, J. D. de (1971): Thesis Utrecht. Streptococcus mutans, streptococcus sanguis and dental caries.
  32. Stoppelaar, J. D. de, König, K. G., Plaschaert, A. J. M., Hoeven, J. S. van der (1971): Decreased cariogenicity of a mutant of streptococcus mutans. Arch Oral Biol 16: 971.
  33. Winkler, K. C., Backer Dirks, O. (1964): Lactobacillen en caries I. Ned Tijdschr Tandheelkd 53: 1.
  34. Woods, R. (1971): A dental caries susceptibility test based on the occurrence of streptococcus mutans in plaque material. Aust Dent J 16: 116.
  35. Zinner, D. D., Jablon, J. M., Aran, A. P., Saslau, M. S. (1965): Experimental caries induced in animals by streptococci of human origin. Proc Soc Exp Biol Med 188: 766.

Oktober 1982.

Sorbonnelaan 16,  
3584 CA Utrecht.