

PROBIOTIČKI PROIZVODI U PREVENCIJI KARIJESA

DOMAGOJ GLAVINA*

Primjena bakterioterapije u prevenciji karijesa temelji se na primjeni neopasnih bakterija koje zamjenjuju patogene bakterije u dentalnom plaku i na taj način utječu na metabolizam plaka te smanjuju rizik demineralizacije cakline. Ove bakterije nazivaju se probiotici odnosno dodaci hrani koji sadrže žive mikroorganizme i pomažu poboljšavanju ravnoteže mikrobiološke flore. Najpoznatiji bakterijski sojevi koji imaju probiotičko djelovanje su: Bifidobacterium spp., Lactobacillus spp. te neki sojevi Streptococcus. Ovi se sojevi probiotičkih bakterija mogu naći u različitim proizvodima: mlijeku, siru, jogurtu, voćnim sokovima i njihova redovita upotreba može imati značajno preventivno djelovanje. Suvremena istraživanja bave se primjenom žvakaćih guma, pastila i tableta putem kojih je moguće postići bolje doziranje i koncentraciju probiotičkih bakterija u svrhu što efikasnijeg preventivnog djelovanja probiotičkih bakterija.

Deskriptori: PROBIOTIČKE BAKTERIJE, PREVENCIJA KARIJESA

Posljednjih godina svjedočimo intenzivnom istraživanju primjene probiotičkih bakterija kako u medicini, za liječenje gastrointestinalnih bolesti tako i u stomatologiji, u prevenciji karijesa. Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) je 2001. god. definirala značenje pojma "probiotici" kao "živi mikroorganizmi, koji primijenjeni u primjerenj količini doprinose poboljšanju zdravlja pojedinca" (1). Nakon svjetske zdravstvene organizacije slijede naputci doneseni od Međunarodne znanstvene udruge za probiotike i prebiotike (ISAPP) koji definiraju znanstvene, kliničke i proizvodne standarde za primjenu probiotika.

Prema definiciji pojam bakterioterapije označava upotrebu neopasnih bakterija koje se koloniziraju uz patogene bakterije, suprimiraju njihovo djelovanje i zamjenjuju patogene bakterije i na taj način smanjuju mogućnost infekcije te potiču imunost. Ove bakterije su i mo-

raju biti dio normalne gastrointestinalne flore, kako bi mogle biti otporne na kiseline ili žuč, da mogu preživjeti intestinalni transport, da mogu adherirati na ciljno tkivo (sluznicu) te da proizvode antimikrobne supstance koje imaju povoljno zdravstveno djelovanje. U terapijske svrhe razlikujemo primjenu probiotika - dodaci hrani koji sadrže žive mikroorganizme i pomažu poboljšavanju ravnoteže intestinalne mikrobiološke flore te primjenu probiotika - neprobavljivi sastojci hrane koji potpomažu razvoj nepatogenih bakterijskih sojeva (2). Temelje ovog pristupa poticanja rezistencije ili liječenja infekcije začeli su još 1877. Pasteur i njegov suradnik Jobert kada su primijetili supresiju rasta bacila antraksa u prisutnosti kultura tzv. "običnih bacila" (vjerojatno Escherichia coli). Kasnije, 1907., Elie Metchnikoff je objavio da ljudi u Bugarskoj žive dulje zbog konzumacije jogurta koji u sastavu imaju mliječne bakterije (B. acidophilus) (kefir) (3). Sukladno definiranju usne šupljine kao početnog dijela probavnog trakta postavlja se pitanje mogućnosti utjecanja na mikrobiološki sastav i metabolizam dentalnog plaka, njegovu alteraciju te efikasnu prevenciju karijesa.

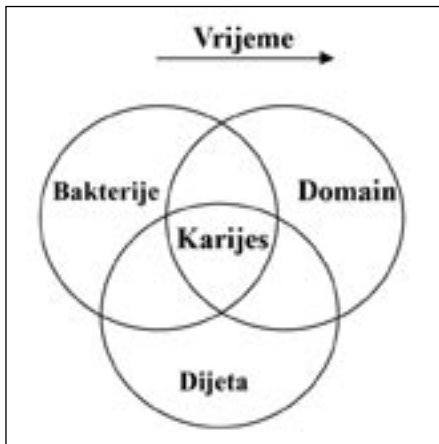
Etiološki faktori za razvoj karijesa

Po suvremenoj definiciji zubni karijes je lokalizirani, posteruptivni patološki proces vanjskog porijekla koji uključuje destrukciju tvrdih zubnih tkiva a rezultira formiranjem kavitacije (4). Radi se o dinamičnom patološkom procesu koji se odvija u dentalnom plaku odnosno mikrobiološkom biofilmu na površini zuba. Njegovo odvijanje rezultira poremećajem ravnoteže između zubnog tkiva i biofilma (5).

Temelje za razumijevanje takve etiologije karijesa dao je Miller prije više od 100 godina pokazujući kako su glavni medijatori destrukcije tvrdih zubnih tkiva bakterijske naravi (6). Iako u plaku postoji nekoliko stotina vrsta bakterija, velika većina nije povezana s razvojem karijesa. Samo bakterije koje kao produkt svog metabolizma oslobađaju kiseline, najčešće mliječnu, imaju demineralizacijsko djelovanje koje se očituje u gubitku Ca iz hidroksiapatita cakline što na kraju rezultira destrukcijom tkiva, stvaranjem kavitacija i patološkim promjenama pulpe. Bakterijski sojevi koji se najčešće povezuju s razvojem karijesa su: Streptococcus mutans i Lactobacillus spp. (Lactobacillus casei, Lactobacillus

*Zavod za dječju i preventivnu stomatologiju
Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Adresa za dopisivanje:
Prof. dr. sc. Domagoj Glavina
Zavod za dječju i preventivnu stomatologiju
Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu
10000 Zagreb, Gundulićeva 5
E-mail: domagoj.glavina@zg.t-com.hr



Slika 1.
Razvoj karijesne lezije po Fitzgerald i Keyes-u
Figure 1
Development of the caries lesion according to Fitzgerald and Keyes

acidophilus). Fitzgerald i Keyes 1960-ih godina koriste poznatu ilustraciju tri preklapajuća kruga da bi opisali nužne čimbenike za nastanak karijesa: prisutnosti domaćina, bakterija i prehrane (rafiniranih ugljikohidrata - šećera). Taj odnos tijekom određenog vremenskog razdoblja rezultira demineralizacijom tvrdih zubnih tkiva ili karijesom (Slika 1) (7).

Da bi došlo do destrukcije tvrdih zubnih tkiva, moraju postojati sva tri opisana elementa zajedno. Uklanjanje jednog od njih znači nemogućnost razvoja karijesa. Danas se smatra da je karijes infektivna bolest bakterijskog porijekla (8). Također složeni odnosi unutar oralnog biofilma (dentalnog plaka) i međusobne interakcije različitih kariogenih bakterija uvjetuju uvjete demineralizacije ali i također nude mogućnost selektivnog djelovanja u prevenciji karijesa (9, 10). Suvremena istraživanja pokazuju da se znaci lezije i njen razvoj mogu modificirati alteracijom biofilma (odnosno higijenom!) (11, 12). Prestankom produkcije kiseline, zaustavlja se i progresija karijesne lezije (13, 14).

Formiranje biofilma na površini zuba - plaka

Formiranje biofilma počinje stvaranjem stečene pelikule odmah nakon nicanja zuba ili nakon profilaktičkog čišćenja zuba odlaganjem proteina sline (glikoproteini i fosfoproteini) na površini

zuba. Debljina pelikule je manja od 1µm. Na molekulama njenih proteina nalaze se negativno nabijene sulfatne, fosfatne i karboksilne skupine koje predstavljaju aktivna mjesta za adheziju bakterija. Kolonizacija bakterija počinje već tijekom prvog sata nakon provedenog profilaktičkog čišćenja, a nakon 4 sata cijela pelikula je pokrivena slojem bakterija. Prema Nyvadu i Fejerskovu mogu se razlikovati 3 tipa kolonizacije (15):

Tip 1 - slučajna distribucija gustih sferičnih i/ili ovoidnih elemenata, ovalne ili poligonalne bakterije debljine 1-2 µm. Između ovih bakterijskih kolonija mogu se naći područja gram + kokoidnih bakterija. U površnom sloju nalaze se filamentozni gram - mikroorganizmi koje prerastaju gram + kokoidne bakterije.

Tip 2 - Nakupine bez karakterističnog rasporeda. Gram + i gram - mikroorganizmi sa širokim intermikrobnim prostorima ispunjenim membranoznim strukturama. U površnom sloju nalazi se granularni matriks.

Tip 3 - slojevi nakupina različite gustoće, paralelni prema površini zuba. Slojevi morfološki različitih mikroorgani-

zama. U kontaktu s caklinom su gram + bakterije dok se površinski nalaze gram - filamenta.

Kao rezultat metabolizma bakterija uz prisutnost supstrata (sukroza, glukoza) dolazi do produkcije mliječne kiseline, ekstracelularnih glukana (dekstran, mutan), intracelularnih polimera (amilopektin, glikogen) te ekstracelularnih fruktana (levani) što utječe na stvaranje sve gušće mreže filamenata koji su sve manje propusni za slinu i njene obrambene mehanizme (mehaničke, kemijske). Metabolički uvjeti iz aerobnih prelaze u anaerobne. Zbog smanjene propusnosti biofilma plaka i sve veće koncentracije mliječne kiseline dolazi do snižavanja kiselosti (pH) u biofilmu i stvaraju se uvjeti za početak procesa demineralizacije cakline (pH 5,5).

Također, u plaku starom 3 tjedna već se mogu naći kristalni elementi u intermikrobnom matriksu te mukoidne nakupine u kontaktu s gingivnim rubom. Prema Wongu i sur. (2000.) kristalizacija unutar plaka predstavlja obrambeni mehanizam i događa se u uvjetima alkalnog pH do kojeg dolazi zbog aktivnosti



Slika 2.
CRT Bacteria test - nalaz *S. mutans* u slini
Figure 2
CRT Bacteria test - saliva level of *S. mutans*



Slika 3.
CRT Bacteria test - nalaz *Lactobacila* u slini

Figure 3
CRT Bacteria test - saliva level of *Lactobacillus* spp.

bakterija koje hidroliziraju ureu pri pH 5,0. Slijedi podizanje alkalnosti plaka na pH 7-9 i nukleacija CaP. Monofluorofosfat se djelovanjem alkalne fosfataze iz plaka hidrolizira na P i F što povećava stvaranje iona CaP i oslobađa F te omogućuje stvaranje čvrste faze fluoridiranog CaP (16, 17).

Postoje individualne razlike u formaciji plaka koje ovise o načinu prehrane, unosu šećera, produkciji i sastavu sline. Iako se u biofilmu plaka može ustanoviti više od 700 vrsta mikroorganizama, najčešći bakterijski mikroorganizmi koji imaju kariogeno djelovanje su *Streptococcus* spp. (*S. Mutans*, *S. Sanguis*, *S. Mitis*, *S. Sobrinus*), *Actinomyces* spp., *Veillonella* spp, *Lactobacillus* spp (18, 19) (Slika 2 i 3). Kod pacijenata zahvaćenih ranim dječjim karijesom (ECC - early childhood caries), osim navedenih bakterija, ustanovljena je prisutnost i *Candida albicans* koja ima visoki potencijal acidogenog djelovanja i stvaranja plaka (20).

BAKTERIOTERAPIJA - PROBIOTIČKI PRISTUP

Mehanizam probiotičkog djelovanja

Ustanovljeno je nekoliko mehanizama djelovanja probiotičkih bakterija:

- Poboljšavaju mukoznu barijeru u crijevima i obnavljaju crijevnu mikrokologiju nakon dijareje i na taj način poboljšavaju rezistenciju prema kolonizaciji crijevnih patogenih bakterija.
- Pomažu u normalizaciji povećane permeabilnosti crijevne sluznice.
- Djeluju kompetitivno sa patogenim bakterijama na mjesta svezivanja na sluznici i na supstratu (svezivanje na aktivna mjesta sluznice se smatra prvom stepenicom u patogenezi).
- Smanjuju stupanj progresije upale prema displazijskim promjenama i kasnije prema razvoju tumora.
- Potiču imunost stvaranjem antimikrobnih komponenata poput organskih kiselina, vodikova peroksida,

ugljkova peroksida, diacetila, bakteriocina, inhibitora adhezije (surfaktanta).

- Aktiviraju i reguliraju imuni sustav - antialergijsko djelovanje.
- Povećavaju otpornost na infektivne bolesti.
- Imaju regulacijsko djelovanje kod hipertenzije (smanjenje krvnog tlaka).

Iako se navedeni mehanizmi djelovanja probiotičkih bakterija odnose na intestinalni sustav, može se pretpostaviti, obzirom da usna šupljina predstavlja dio gastro-intestinalnog sustava da su neki mehanizmi djelatni i u ustima (21, 22). Pretpostavlja se da probiotičke bakterije djeluju u ustima direktno na plak na sljedeći način:

- Sudjeluju u svezivanju oralnih mikroorganizama na proteine tijekom formacije biofilma.
- Djeluju na kompleksni eko sustav plaka kompeticijski i tako utječu na međusobno svezivanje bakterija.
- Sudjeluju u metabolizmu supstrata natječući se s patogenim mikroorganizmima za dostupni supstrat.
- Proizvode kemijske spojeve koji djeluju inhibicijski na oralne bakterije (antimikrobni spojevi).

Osim direktnog djelovanja na plak, važno je također indirektno djelovanje poticanjem imunog sustava, kako na lokalnoj razini tako i na sustavnoj (djelovanje i na neimune obrambene mehanizme). Djelovanje probiotičkih bakterija u konačnici regulira permeabilnost oralne sluznice i potiče kolonizaciju manje patogenih bakterijskih sojeva (21, 23).

Na temelju navedenih učinaka probiotičkih bakterija razvijeno je nekoliko strategija djelovanja na dentalni plak: povećan unos neresorbilnih ugljikohidrata, unos živih mikroorganizama humanog porijekla te unos mutiranih sojeva mikroorganizama koji djeluju na metabolizam kariogenih bakterija - suprimiraju produkciju adhesina koji omogućuju adheziju *S. mutans* na površinu zubi te smanjuju produkciju kiselina (24, 25).

Tablica 1.

Broj kolonija *S. mutans*-a nakon 14-dnevnog uzimanja probiotičkog jogurta (Glavina D, Gorseta K, Skrinjaric I, Negovetic-Vranic D, Mehulic K, Kozul K. Effect of LGG yoghurt on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus spp.* salivary counts. Coll Anthropol (in press) 2010.

Table 1

S. Mutans count after 14 days of daily consumption of LGG yoghurt (Glavina D, Gorseta K, Skrinjaric I, Negovetic-Vranic D, Mehulic K, Kozul K. Effect of LGG yoghurt on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus spp.* salivary counts. Coll Anthropol (in press) 2010.

CRT bacteria Test	Prije uzimanja jogurta Base		Nalaz <i>Streptococcus mutans</i> -a <i>Streptococcus mutans</i> count				X ² (p)
	N	%	14 d	30 d	N	%	
>10 ⁵	20	80	18	79	11	52	0.047
<10 ⁵	5	20	5	21	10	48	
Total	25	100	23	100	21	100	

Istraživanje provedeno u Zavodu za dječju i preventivnu stomatologiju Stomatološkog Fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pokazuje značajan pad broja kariogenih *S. Mutans* 30 dana nakon 14-o dnevnog uzimanja jogurta sa dodatkom *Lactobacillus rhamnosus* GG (Bioaktiv LGG, Dukat) (Tablica 1). Osobito značajno je smanjenje u skupini pacijenata visokog karijes rizika (Tablica 2). Također, puferski kapacitet sline kod svih pacijenata koji su uzimali probiotički jogurt je bio značajno povišen u usporedbi sa puferskim kapacitetom prije uzimanja probiotičkog jogurta (Tablica 3) (26).

Vrste probiotičkih bakterija i proizvoda

Poželjna svojstva probiotičkih bakterijskih sojeva kako bi bili prikladni za zamjensku terapiju su prije svega specifična aktivnost prema ciljanim patogenim bakterijama. Oni nemaju djelovanja na normalnu bakterijsku floru, osim slabog oportunističkog. Također, probiotički so-

jevi moraju biti sposobni održati se u tkivu domaćina da bi mogli osigurati dugoročno protektivno djelovanje te biti lako identificirani unutar mikroflora domaćina. Najčešće korišteni sojevi su *Bifidobacterium spp.* (*B. Bifidum*, *B. Breve*, *B. Lactis*, *B. Longum*), *Lactobacillus spp.* (*L. Acidophilus*, *L. Bulgaricus*, *L. Casei*, *L. Helveticus*, *L. lactis*, *L. Plantarum*, *L. Reuteri*, *L. Rhamnosus* ATCC53103-LGG) te neki sojevi *Streptococcus* (*S. mutans* JH 1000, *S. Equi* subspecies *zooepidemicus*, *S. Salivarius* TOVE-R, *S. mitis*). Ovi se sojevi probiotičkih bakterija (medicinski probiotici - proizvedeni kao mikrobiološki preparati ili ostali probiotici - tzv. funkcionalna hrana) mogu naći u različitim proizvodima: mlijeku, siru, jogurtu, voćnim sokovima itd. (2, 27).

Osobito je interesantna upotreba *Lactobacillus rhamnosus* ATCC53103 ili popularno LGG u prevenciji karijesa i smanjenju karijes rizika. Nase i suradnici (2001.) su ustanovili redukciju karijesa u djece koja su uzimala mlijeko sa

dodatkom LGG u usporedbi sa standardnim mlijekom. Djelatne komponente u mliječnim proizvodima su i casein fosfopeptidi koji također imaju preventivno djelovanje (28). Osim mlijeka, uzimanje sira sa dodatkom LGG već nakon 3 tjedna ima utjecaja na smanjenje broja *S. mutans* za 20% (Aholu i sur, 2002.) (29). Danas na tržištu postoji veliki broj proizvoda jogurta i kefir sa dodatkom LGG. Iako njihovo djelovanje na smanjenje broja *S. mutans* u slini još uvijek nije dokazano, postoje pretpostavke da poput mlijeka i sira i jogurt ima pozitivan učinak. Wei i suradnici. (2002.) su u svrhu stvaranja multivalentnog cjepiva koristili LGG kao medij za IgG u goveđem kolostrumu te uspjeli stvoriti visoki titar antitijela protiv humanih kariogenih bakterija (30). Caglar i sur. su također ustanovili redukciju broja *S. mutans* nakon 3 tjedna konzumacije jogurta sa dodatkom probiotičkih bakterija *Bifidobacterium* DN-173 010 (31).

Tablica 2.

Razina *S. mutans*-a kod pacijenata s visokim karijes rizikom (Glavina D, Gorseta K, Skrinjaric I, Negovetic-Vranic D, Mehulic K, Kozul K. Effect of LGG yoghurt on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus spp.* salivary counts. Coll Anthropol (in press) 2010.

Table 2

S. Mutans count in high caries risk group (Glavina D, Gorseta K, Skrinjaric I, Negovetic-Vranic D, Mehulic K, Kozul K. Effect of LGG yoghurt on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus spp.* salivary counts. Coll Anthropol (in press) 2010.

Karijes rizik (visok) Caries risk (high)	S. Mutans prije uzimanja jogurta S. Mutans Base		S. Mutans 30 d		X ² (p)	
	Niski Low	Visoki High	Niski Low	Visoki High		
N	11 (100%)	1 (9%)	10 (91%)	6 (60%)	4 (40%)	0.001

Tablica 3.

Puferski kapacitet sline nakon 14 dnevnog uzimanja probiotičkog jogurta (Glavina D, Gorseta K, Skrinjaric I, Negovetic-Vranic D, Mehulic K, Kozul K. Effect of LGG yoghurt on Streptococcus mutans and Lactobacillus spp. salivary counts. Coll Anthropol (in press) 2010.

Table 3

Saliva buffer capacity after 14 days of daily consumption of LGG yoghurt (Glavina D, Gorseta K, Skrinjaric I, Negovetic-Vranic D, Mehulic K, Kozul K. Effect of LGG yoghurt on Streptococcus mutans and Lactobacillus spp. salivary counts. Coll Anthropol (in press) 2010.

CRT buffer Test	Prije uzimanja jogurta		Puferski kapacitet sline				Kruskal Wallis (p)
	Base		14 d		30 d		
	N	%	N	%	N	%	
Niski Low	0	0	1	4	0	0	0.035
Srednji Medium	9	36	7	29	3	14	
Visoki High	16	64	16	67	18	86	
Total	25	100	24	100	21	100	

Guarner i suradnici opisuju jogurt kao izvrstan vehiculum za primjenu probiotičkih bakterija. Jogurt je sam po sebi probiotički proizvod budući da nastaje fermentacijom mlijeka s kulturama Streptococcus thermophilus i Lactobacillus delbrueckii sp. bulgaricus. Jogurtu slični proizvodi su definirani kao jogurti s alternativnim kulturama (L. bulgaricus je zamijenjen drugim vrstama Laktobacila) ili sa dodatkom probiotičkih bakterija. Sojevi S. thermophilus i L. bulgaricus imaju visoku aktivnost laktaze te uzimanje jogurta poboljšava probavu laktoza i eliminira simptome intolerancije laktoze. Jogurt također ima povoljno djelovanje kod intestinalnih problema (diareja) i poboljšava imunost osobito kod pacijenata sa imunosupresijom (HIV, Dijabetes) (1, 32-34).

Osim Lactobacillus rhamnosus kao probiotički sojevi upotrebljavaju se i Streptococcus mutans JH 1000 i njegovi derivati razvijeni u laboratoriju (Hillman, 2000.) (35). Prema Hillmanovom konceptu, relativno avirulentni sojevi S. mutans okupiraju iste ekološke prostore kao i kariogeni sojevi i na taj način djeluju preventivno. Međutim neka istraživanja pokazuju da je teško postići trajnu kolonizaciju plaka laboratorijskim sojevima S. mutans (27). Istraživanje van Hoogmoeda i suradnika (2006.) pokazuje da biosurfaktant koji izlučuje S. mitis djeluje na interaktivne sile kariogenih

bakterija S. mutans i S. sobrinus sprječavajući njihovu adheziju na dentalne strukture. Kemijska karakterizacija biosurfaktanta pokazuje da je aktivna tvar glikolipidne prirode (36).

Eckert i suradnici (2006.) su uspjeli laboratorijski proizvesti specifične ciljne antimikrobne peptide (STAMP) koji koriste feromon proizveden od strane Streptococcus mutans kao ciljni peptid za sprječavanje rasta S. mutans u tekućini ili biofilmu bez utjecaja na ostale prisutne sojeve streptokoka. Proizvedeni antibakterijski peptid je sposoban eliminirati S. mutans iz multibakterijskog biofilma bez utjecaja na nekariogene bakterije. Ove molekule mogu se razviti u probiotičke antibiotike koje će biti selektivne na točno određene vrste bakterija (37). Otkriveno je također izlučivanje signalnih molekula pomoću kojih L. Reuteri RC14 značajno smanjuje produkciju exotoksina S. Aureus kao i činitelji koji djeluju direktno na stanice, npr. Laktobacili djeluju na izlučivanje mucina i suprimiraju upalu (38, 39)

Suvremena istraživanja primjene probiotičkih bakterija za razne medicinske indikacije bave se mogućnošću primjene pastila, sokova, tableta, žvakaćih guma, keksa kao vehiculuma za primjenu probiotičkih bakterija u koncentriranoj formi (1, 40)

Osim mehaničke i kemijske kontro-

le plaka, primjena proizvoda koji sadrže probiotičke bakterije, poput jogurta ili mlijeka, u svakodnevnoj prehrani može imati važno kako preventivno tako i terapijsko djelovanje kod pacijenata s visokim rizikom. Suvremena znanstvena istraživanja u području prevencije karijesa usmjerena su u pravcu pronalaznja najefikasnijeg bakterijskog soja koji će aktivno i dugoročno suprimirati razvoj kariogenih bakterija.

Zaključak

Primjenom probiotičkih proizvoda moguće je djelovanje na sastav i metabolizam dentalnog plaka. Dnevno konzumiranje prehrambenih pripravaka sa specifičnim sojevima bakterija pokazalo se učinkovitim u redukciji karijesa. Primjena različitih medija distribucije probiotičkih bakterija u odgovarajućoj koncentraciji za postizanje terapijskog i preventivnog djelovanja, poput pastila, žvakaćih guma, mliječnih i prehrambenih proizvoda predstavljat će težište budućih istraživanja probiotičkih proizvoda.

LITERATURA

1. Reid G. How science will help shape future clinical applications of probiotics. Clin Infect Dis 2008; 46: 62-6.
2. Caglar E, Kargul B, Tanboga I. Bacteriotherapy and probiotics' role in oral health. Oral Diseases 2005; 11: 1-7.

3. The Columbia Encyclopedia, 6th Ed. New York: Columbia University Press 2001. Available at <http://www.bartleby.com/65/me/Metchnik.html>
4. Harris NO, Christen G Primary preventive dentistry. Norwalk: Appleton & Lange; 1990.
5. Kidd EA, Fejerskov O. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res* 2004; 83: 35-8.
6. Miller W. Micro-organisms of the human mouth. Philadelphia: White; 1890.
7. Keyes PH. Research in dental caries. *J Am Dent Assoc* 1968; 76: 1357-73.
8. Caufield PW, Dasanayake AP, Li Y. The antimicrobial approach to caries management. *J Dent Education* 2001; 65 (10): 1091-5.
9. Kleinberg I. A mixed-bacterial ecological approach to understanding the role of oral bacteria in dental caries causation: an alternate to *Streptococcus mutans* and the specific-plaque hypothesis. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002; 13: 108-25.
10. Marsh PD. Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style. *J Clin Periodontol* 2005; 32: 7-15.
11. Kidd EA. How "clean" must a cavity be before restoration? *Caries Res* 2004; 38 (3): 305-13.
12. Bonecker M, Toi C, Cleaton-Jones P. Mutans streptococci and lactobacilli in carious dentine before and after Atraumatic Restorative Treatment. *J Dent* 2003; 31 (6): 423-8.
13. Cury JA, Rebelo MA, Del Bel Cury AA, Derbyshire MT, Tabchoury CP. Biochemical composition and cariogenicity of dental plaque formed in the presence of sucrose or glucose and fructose. *Caries Res* 2000; 34 (6): 491-7.
14. Bjørndal L. Buonocore memorial lecture. Dentin caries: progression and clinical management. *Oper Dent* 2002; 27 (3): 211-7.
15. Nyvad B, Fejerskov O. Structure of dental plaque-enamel interface in human experimental caries. *Caries Res* 1989; 23: 151-8.
16. Wong L, Sissons CH, Pearce EIF, Cutress TW. Calcium phosphate deposition in human dental plaque microcosm biofilms induced by ureolytic pH-rise procedure. *Arch Oral Biol* 2002; 47: 779-90.
17. Sissons CH, Cutress TW, Hoffman MP, Wakefield JStJ. A Multi-station dental plaque microcosm (artificial mouth) for the study of plaque growth, metabolism, pH, and mineralization. *J Dent Res* 1991; 70 (11): 1409-16.
18. Shu M, Wong L, Miller JH, Sissons CH. Development of multi-species consortia biofilms of oral bacteria as an enamel and root caries model system. *Arch Oral Biol* 2000; 45: 27-40.
19. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 5721-32.
20. Galbiatti de Carvalho F, Souza Silva D, Hebling J, Spolidorio LC, Palomari Spolidorio DM. Presence of mutans streptococci and *Candida* spp. in dental plaque/dentine of carious teeth and early childhood caries. *Arch Oral Biol* 2006; 51: 1024-8.
21. Meurman JH. Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? *Eur J Oral Sci* 2005; 113: 188-96.
22. Haukioja A, Yli-Knuutila H, Loimaranta V, Kari K, Ouweland AC, Meurman JH, Tenovuo J. Oral adhesion and survival of probiotic and other lactobacilli and bifidobacteria in vitro. *Oral Microbiol Immunol* 2006; 21: 326-32.
23. Anderson PH, Shi W. A probiotic approach to caries management. *Pediatr Dent* 2006; 28 (2): 151-3.
24. Twetman S, Steckslen-Blicks C. Probiotics and oral health effects in children. *Int J Paediatr Dent* 2008; 18: 3-10.
25. Sun JH, Xu QA, Fan MW. New strategy for the replacement therapy of dental caries. *Med Hypotheses* (2009), doi: 10.1016/j.mehy.2009.04.45.
26. Glavina D, Gorseta K, Skrinjaric I, Negovetic Vranic D, Mehulic K, Kozul K. Effect of LGG yoghurt on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp. salivary counts. *Coll Anthropol* (in press) 2010.
27. Tagg JR, Dierksen KP. Bacterial replacement therapy: adapting "germ warfare" to infection prevention. *Trends in Biotechnology* 2003; 21 (5): 217-23.
28. Nase L, Hatakka K, Savilahti E, Saxelin M, Ponka A, Poussa T, Korpela R, Meurman JH. Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG in milk on dental caries risk in children. *Caries Res* 2001; 35: 412-20.
29. Ahola AJ, Yli-Knuutila H, Suomalainen T, Poussa T, Ahlstrom A, Meurman JH, Korpela R. Short-term consumption of probiotic-containing cheese and its effect on dental caries risk factors. *Arch Oral Biol* 2002; 47: 799-804.
30. Wei H, Loimaranta V, Tenovuo J, Rokka S, Syväoja EL, Korhonen H, Joutsjoki V, Marnila P. Stability and activity of specific antibodies against *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in bovine milk fermented with *Lactobacillus rhamnosus* strain GG or treated at ultra-high temperature. *Oral Microbiol Immunol* 2002; 17: 9-15.
31. Caglar E, Sandalli N, Twetman S, Selvi S, Ergeneli S, Kavaloglu S. Effect of yogurt with *Bifidobacterium* DN-173 010 on salivary mutans streptococci and lactobacilli in young adults. *Acta Odont Scand* 2005; 63: 1-4.
32. Guarner F, Perdigon G, Corthier G, Salminen S, Koletzko B, Morelli L. Should yoghurt cultures be considered probiotic? *Br J Nutr* 2005; 93: 783-87.
33. Garcia-Albiach R, Pozuelo de Felipe MJ, Angulo S, Morosini M-I, Daniel Bravo, Baquero F, del Campo R. Molecular analysis of yogurt containing *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in human intestinal microbiota. *Am J Clin Nutr* 2008; 87: 91-6.
34. Ferrazzano GF, Cantile T, Quarto M, Ingenito A, Chianese L, Addeo F. Protective effect of yogurt extract on dental enamel demineralization in vitro. *Aust Dent J* 2008; 53 (4): 314-9.
35. Hillman JD, Brooks TA, Michalek SM, Harmon CC, Snope JL, van der Weijden CC. Construction and characterization of an effector strain of *Streptococcus mutans* for replacement therapy of dental caries. *Infect Immun* 2000; 68: 543-9.
36. van Hoogmoed CG, Dijkstra RJB, van der Mei HC, Busscher HJ. Influence of biosurfactant on interactive forces between mutans streptococci and enamel measured by atomic force microscopy. *J Dent Res* 2006; 85 (1): 54-58.
37. Eckert R, He J, Yarbrough DK, Qi F, Anderson MH, Shi W. Targeted killing of streptococcus mutans by a pheromone-guided "smart" antimicrobial peptide. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50 (11): 3651-7.
38. Laughton JM, Devillard E, Heinrichs DE, Reid G, McCormick JK. Inhibition of expression of a staphylococcal superantigen-like protein by a soluble factor from *Lactobacillus reuteri*. *Microbiology* 2006; 152: 1155-67.
39. He X, Lux R, Kuramitsu HK, Anderson MH, and Shi W. Achieving Probiotic Effects via Modulating Oral Microbial Ecology. *Adv Dent Res* (doi:10.1177/0895937409335626.) 2009; 21 (1): 53-6.
40. Twetman S, Derawi B, Keller M, Ekstrand K, Yucel-Lindberg T & Steckslen-Blicks C. Short-term effect of chewing gums containing probiotic *Lactobacillus reuteri* on the levels of inflammatory mediators in gingival crevicular fluid. *Acta Odont Scand* 2009; 6: 19-24.

Summary

PROBIOTICS IN CARIES PREVENTION

D. Glavina

Bacteriotherapy treatment in caries prevention is based on application of non-cariogenic bacterial species in dental plaque aiming to substitute pathogenic caries bacteria, interfere with bacterial metabolism and thus minimize acid production and decrease enamel demineralization. These bacterial species are called probiotics, and they help balance microbiologic flora. Some bacterial species with probiotic activity are: Bifidobacterium spp., Lactobacillus spp. and some species of Streptococcus. These bacteria can be found in different dietary products like: milk, cheese, yoghurt, fruit juices and their daily consumption can have significant caries preventive effect. Recent research are targeted on application of chewing gums, lozenges and tablets in order to obtain more specific concentration of probiotic bacteria and better preventive effect.

Descriptors: PROBIOTIC BACTERIA, CARIES PREVENTION