

# Utjecaj probiotika na salivarnu mikrofloru u djece

---

**Bošnjak, Klara**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2020**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Dental Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:127:208274>

*Rights / Prava:* [Attribution-NonCommercial 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-04**



*Repository / Repozitorij:*

[University of Zagreb School of Dental Medicine Repository](#)





Sveučilište u Zagrebu

Stomatološki fakultet

Klara Bošnjak

# **UTJECAJ PROBIOTIKA NA SALIVARNU MIKROFLORU U DJECE**

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2020.

Rad je ostvaren u: Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet, Zavod za dječju i preventivnu dentalnu medicinu

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Kristina Goršeta, Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Lektor hrvatskog jezika: Zrinka Bogatić, profesor hrvatskoga jezika i književnosti

Lektor engleskog jezika: Mirela Jendričko, profesor engleskoga jezika i književnosti i njemačkoga jezika i književnosti

Sastav Povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. Izv. prof. dr. sc. Kristina Goršeta
2. Prof. dr. sc. Martina Majstorović
3. Prof. dr. sc. Domagoj Glavina

Datum obrane rada: 09.09.2020.

Rad sadrži: 40 stranica

3 tablice

2 slike

1 CD

Rad je vlastito autorsko djelo koje je u potpunosti samostalno napisano uz naznaku izvora drugih autora i dokumenata korištenih u radu. Osim ako nije drukčije navedeno, sve ilustracije (tablice, slike i dr.) u radu su izvorni doprinos autora diplomskog rada. Autor je odgovoran za pribavljanje dopuštenja za korištenje ilustracija koje nisu njegov izvorni doprinos kao i za sve eventualne posljedice koje mogu nastati zbog nedopuštenog preuzimanja ilustracija, odnosno propusta u navođenju njihovog podrijetla.

## **Zahvala**

*Cijenjenoj mentorici, izv. prof. dr. sc. Kristini Goršeti, iskreno zahvaljujem na razumijevanju, strpljenju, stručnim savjetima i potpori tijekom izradbe ovoga diplomskog rada.*

*Velika hvala mojoj obitelji, koja je uvijek vjerovala u mene i moj uspjeh. Hvala vam na neizmjerljivoj ljubavi, bezuvjetnoj podršci i razumijevanju u svakom trenutku.*

*Hvala svima koji su mi na bilo koji način pomogli tijekom studiranja.*

*Naravno, zahvaljujem i svim mojim prijateljima i kolegama koji su mi studentske dane učinili nezaboravnima.*

*Hvala vam na svemu!*

## UTJECAJ PROBIOTIKA NA ORALNU MIKROFLORU U DJECE

### Sažetak

Probiotici ili bakterije povoljne za zdravlje tek su nedavno pronašle primjenu u dentalnoj i oralnoj medicini nakon više godina uspješnoga korištenja probiotikom, prvenstveno u liječenju gastrointestinalnih poremećaja. Koncept terapije probioticima i korištenje mikroorganizmima povoljnima za zdravlje u liječenju bolesti te kao potpora funkcije imuniteta uveden je početkom dvadesetoga stoljeća. Kasnije je koncept doveo do razvoja moderne mliječne industrije te su danas većina probiotskih sojeva laktobacili ili bifidobakterije koje se koriste u fermentiranomu mlijeku.

Mehanizam djelovanja probiotika uglavnom je nepoznat, ali vjerojatno u svemu ključnu ulogu igra interakcija među različitim vrstama mikroorganizama, zajedno s imunostimulacijskim učincima. Unos probiotskih bakterija u usnu šupljinu zahtijeva utvrđivanje njihove sigurnosti. Budući da je proizvodnja kiseline iz šećera štetna za zube, važno je ne koristiti sojeve koji imaju visoki fermentacijski kapacitet. Neka od prvih istraživanja dokazala su kako probiotici možda mogu kontrolirati dentalni karijes u djece, s obzirom na njihov inhibitorni učinak na kariogene mutans streptokoke. Manje dokaza postoji o njihovoj ulozi u parodontim bolestima ili infekcijama oralnom kandidom. Nadalje, trebao bi se ustanoviti najbolji vehikulum za primjenu oralnih probiotika. Do sada su se istraživali uglavnom mliječni proizvodi, ali i probiotici u žvakaćim gumama i pastilama.

Sa stajališta kliničara, još uvijek nema direktnih preporuka u vezi uporabe probiotika. Međutim, dosadašnji znanstveni dokazi indiciraju kako je primjena terapije probioticima u dentalnoj i oralnoj medicini u skoroj budućnosti vrlo izvjesna.

**Ključne riječi:** probiotici, laktobacili, bifidobakterije, mliječna industrija, kariogeni mutans streptokoki, dentalna i oralna medicina.

## **EFFECTS OF PROBIOTICS ON SALIVARY MICROFLORA IN CHILDREN**

### **Summary**

Probiotics or health-beneficial bacteria have only recently been introduced in dentistry and oral medicine after years of successful use in mainly gastro-intestinal disorders. The concept of bacteriotherapy and use of health-beneficial micro-organisms to heal diseases or support immune function was first introduced in the beginning of the 20th century. Later the concept lead to the development of modern dairy industry and even today most probiotic strains are lactobacilli or bifidobacteria used in milk fermentation.

The mechanisms of probiotic action are mainly unknown but the inter-microbial species interactions are supposed to play a key role in this together with their immuno-stimulatory effects. The introduction of probiotic bacteria in the mouth calls for ascertainment of their particular safety. Since acid production from sugar is detrimental to teeth, care must be taken not to select strains with high fermentation capacity. The first randomized controlled trials have nevertheless shown that probiotics may control dental caries in children due to their inhibitory action against cariogenic streptococci. Less evidence exists on their role in periodontal disease or oral yeast infections. Furthermore the best vehicles for oral probiotic applications need to be assessed. So far mainly dairy products have been investigated but other means such as probiotics in chewing gums or lozenges have also been studied.

From the clinical practitioner's point of view direct recommendations for the use of probiotics cannot yet be given. However, scientific evidence so far indicates that probiotic therapy may be a reality also in dentistry and oral medicine in the future.

**Keywords:** probiotics, lactobacilli, bifidobacteria, dairy products, cariogenic mutans, streptococci, dentistry and oral medicine

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. ORALNA MIKROFLORA I DENTALNI PLAK .....	3
2.1. Bakterijska kolonizacija .....	4
2.2. Formacija biofilma .....	5
3. DENTALNI KARIJES .....	8
4. PARODONTNE BOLESTI .....	12
5. PROBIOTICI .....	14
5.1. Definicija probiotika i drugih srodnih termina .....	15
5.2. Probiotici i opće zdravlje .....	15
5.3. Mikrobne vrste koje se koriste kao probiotici .....	16
5.4. Potencijalni mehanizmi djelovanja probiotika u usnoj šupljini .....	17
5.5. Probiotici i prehrambeni proizvodi .....	18
6. PROBIOTICI I ORALNO ZDRAVLJE .....	19
6.1. Kolonizacija oralne šupljine probioticima .....	20
6.2. Probiotici i karijes .....	21
6.3. Probiotici i parodontne bolesti .....	27
7. RASPRAVA .....	30
8. ZAKLJUČAK .....	33
9. LITERATURA .....	35
10. ŽIVOTOPIS .....	39

## **Popis skraćenica**

NMS (engl. non-mutans streptococci) - ne-mutans streptokoki

BOP (engl. bleeding on probing) - krvarenje nakon sondiranja

FAO (Food and Agriculture Organisation of United Nations) - Organizacija za prehranu i poljoprivredu Ujedinjenih naroda

MMP (engl. matrix metalloproteinase ) - matriks metaloproteinaze su endopeptidaze, odnosno skupina enzima koji su sposobni degradirati različite vrste proteina ekstracelularnoga matriksa

GRAS (engl. generally recognized as safe) - općenito prihvaćeni kao sigurni

PMNL (engl. polymorphonuclearleukocytes) - polimorfonukleari leukociti, također nazvani granulocitima iz razloga što njihova citoplazma sadrži granule, su neutrofili, eozinofili, bazofili i mastociti. Svi su prisutni u cirkulaciji te imaju multilobularne jezgre, osim mastocita koji se nalaze u tkivu i funkcionalno su slični cirkulirajućim krvnim bazofilima

ORF (engl. open reading frame) - otvoreni okvir čitanja je dio gena koji kodira proteine

TNF (engl. tumor necrosis factors) - faktori nekroze tumora grupa su citokina koji mogu uzrokovati staničnu smrt





Kontakt probavnoga sustava, čiji je dio i usna šupljina, s mikroorganizmima započinje već tijekom intrauterinoga razvoja i nastavlja se tijekom poroda i ranoga djetinjstva. Način prijenosa mikroorganizama utječe na sastav intestinalne i oralne mikroflore u novorođenčadi. Novorođenčad porođena vaginalnim putem prve bakterije dobiva iz porođajnog kanala majke, dok novorođenčad porođena carskim rezom, svoje prve bakterije dobiva iz hospitalnoga okruženja i od zdravstvenih radnika. Kolonizacija je također pod utjecajem medicinskih, kulturalnih i drugih okolišnih faktora, kao što su dijeta, obiteljsko okruženje i medikamenti (1).

U usnoj šupljini prva kolonizacija bakterija zbiva se na mukoznoj površini usana, obraza, jezika i nepca. Mutans streptokoki i laktobacili mogu kolonizirati usnu šupljinu i prije erupcije prvoga zuba, a prvi streptokoki koji koloniziraju usnu šupljinu jesu *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis* i *Streptococcus salivarius*. Smatra se kako je u novorođenčadi majka primarni izvor *Streptococcus mutans* bakterija. Nakon erupcije zuba, oralna se mikroflora mijenja te usnu šupljinu koloniziraju *Streptococcus mutans* i *Streptococcus sanguis* (1).

Danas se u prevenciji dijareje, kod alergija i respiratornih infekcija, sve više rabe probiotici, odnosno živi mikroorganizmi koji mijenjaju svojstva mikroflore probavnoga sustava te tako povoljno djeluju na domaćina održavajući njegovu mikrobiološku i imunološku ravnotežu. Kako je usna šupljina dio probavnoga sustava, povećana je i upotreba probiotika u svrhu oralnoga zdravlja. Probiotike nalazimo u majčinom mlijeku i različitim prehrambenim proizvodima, među kojima su i dojenačke formule te brojnim farmaceutskim proizvodima (1).

Najčešće upotrebljavane probiotske bakterije su laktobacili i bifidobakterije. One su acidogene i acidurične, odnosno smanjuju pH usne šupljine i prema tomu bi upotreba probiotika, s aspekta oralnoga zdravlja, barem u teoriji, mogla značiti povećan rizik za nastanak karijesa. Prema nekim istraživanjima, kratkotrajna konzumacija probiotika nema utjecaja na proizvodnju kiselina supragingivalnog plaka (1).

Svrha je ovoga rada ukazati na prednosti primjene probiotika i njihov utjecaj na oralno zdravlje. Budući da se upotreba probiotika u općoj populaciji sve više povećava, razumijevanje njihove funkcije i djelovanja u usnoj šupljini postaje sve važnije (1).

## **2. ORALNA MIKROFLORA I DENTALNI PLAK**

## 2.1. Bakterijska kolonizacija

Oralna mikroflora predstavlja važan dio ljudske mikroflore i sastoji se od nekoliko stotina do nekoliko tisuća različitih vrsta bakterija. Ona je normalni dio usne šupljine i ima važnu funkciju u zaštiti od kolonizacije ekstrinzičnim bakterijama koje bi mogle nepovoljno utjecati na sistemsko zdravlje (2).

Slina predstavlja planktonsku fazu oralne mikroflore. Ona sadrži preko  $10^9$  mikroorganizama po milimetru koji se kontinuirano gutaju. Na taj način oko 5 g bakterija dnevno „nestane“ u probavni sustav. Prema tomu, smatra se da sama slina nema svoju stalnu mikrofloru. Međutim, slina je primarni izvor za kontinuiranu bakterijsku (re)kolonizaciju različitih mekih i tvrdih oralnih površina (2).

Do danas je u usnoj šupljini otkriveno više od 700 različitih vrsta bakterija, koje u zdravom organizmu žive skladno u međusobnoj ravnoteži (2). Usna šupljina djeteta prije rođenja nije naseljena mikroorganizmima, no tijekom poroda te u doticaju s vanjskim svijetom naseljena je određenim vrstama. Neki od tih mikroorganizama su posve neškodljivi, štoviše, korisni su i uobičajeni u usnoj šupljini (3).

Način prijenosa mikroorganizama utječe na sastav crijevne i oralne mikroflore u novorođenčadi. Osim prethodno navedene razlike o načinu dobivanja bakterija, istraživanja su pokazala kako novorođenčad porođena carskim rezom, u usporedbi s vaginalno porođenom novorođenčadi, u crijevima ima manje raznoliku mikrofloru te manje laktobacila i bifidobakterija koje promoviraju zdravlje (1,4).

I oralna je mikroflora također manje raznolika u novorođenčadi porođene carskim rezom, a uobičajeni oralni streptokoki i laktobacili učestaliji su u novorođenčadi porođene vaginalnim putem nego u onih porođene carskim rezom (1,5,6).

Način poroda, čini se, utječe i na kolonizaciju bakterijom *Streptococcus mutans* pa tako novorođenčad porođena carskim rezom dobiva *Streptococcus mutans* 11 mjeseci ranije nego vaginalno porođena novorođenčad (1,7). Kolonizacija je također pod utjecajem medicinskih, kulturalnih i drugih okolišnih faktora, kao što su način prehrane, obiteljsko okruženje, bolesti i medikamenti (1,8).

Mikroflora koja najranije kolonizira usnu šupljinu djeteta, potječe iz majčina genitalnog trakta, usne šupljine i kože. Budući da novorođenče nema zube, prvi mikrobní kolonizatori bit će oni koji su se sposobni adherirati na dostupne površine, odnosno na površine prekrivene epitelom

(9). Prema tomu se u usnoj šupljini prva kolonizacija bakterija zbiva na mukoznoj površini usana, obraza, nepca i jezika (1). *Streptococcus salivarius* primjer je takvog mikroorganizma i nastanjuje usnu šupljinu već prvi dan života. Među prve kolonizatore ubrajamo i *Lactobacillus* spp. (*L. jensenii* i *L. acidophilus*), a predominantnoj gram-pozitivnoj mikroflori pridružuju se i malobrojne gram-negativne bakterije. Međutim, *Lactobacillus* spp. i neke gram-negativne anaerobne vrste nalaze se u vrlo malim količinama i ne perzistiraju, zbog odsutnosti zuba, koji bi im inače omogućili retenciju i kolonizaciju. Tako se *Lactobacillus* spp. vrste, obično *Lactobacillus casei*, ne pojavljuje iznova sve do druge godine života (9).

Iz porodice streptokoka, prvi sojevi koji koloniziraju usnu šupljinu su *Streptococcus mitis*, *S. salivarius* i *S. oralis* (10, 11). Nakon erupcije zuba, oralna se mikroflora mijenja i tada usnu šupljinu koloniziraju *S. mutans* i *S. sanguis* (12). Zubi, zbog svoje čvrste površine koja se ne ljušti, omogućavaju bakterijama povoljno mjesto za kolonizaciju. Mikroorganizmi koji nemaju sposobnost adhezije na površinu tvrdih zubnih tkiva, vrlo se lako ispiru normalnom salivacijom (1).

## **2.2. Formacija biofilma**

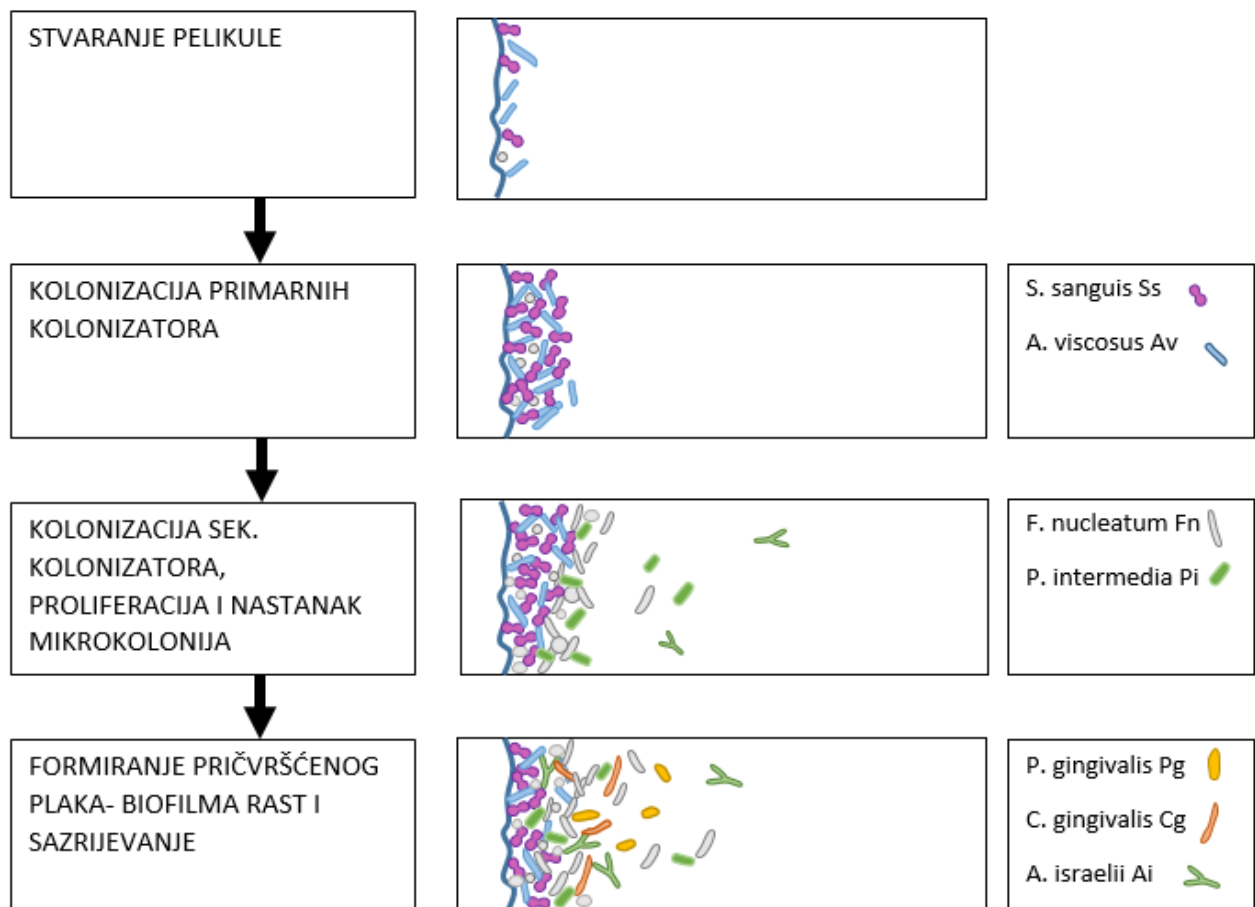
Pojam biofilm opisuje zajednicu mikroba vezanu na nekoj površini koja se ne ljušti, a zajednica mikroba vezana za zubnu površinu naziva se dentalni plak. Prema tomu, dentalni je plak oblik biofilma koji normalno nalazimo u zdravoj usnoj šupljini, a povezan je s dentalnim bolestima, kao što su karijes i parodontne bolesti. Dentalni plak formira se nizom procesa koji rezultiraju strukturno i funkcionalno organiziranim, vrsno bogatim, mikrobnim biofilmom (1,13).

Formacija biofilma ima nekoliko faza (Slika 1.), koje se mogu odvijati istovremeno:

1. Prva faza ili indukcija karakterizirana je stvaranjem dentalne pelikule. Pelikula se formira unutar nekoliko minuta, odmah nakon erupcije ili čišćenja zuba, a sastoji se od glikoproteina (mucina) i protutijela iz sline. Ona štiti zub od kiselina koje proizvode mikroorganizmi nakon fermentacije ugljikohidrata. Osim toga, pelikula mijenja naboj i slobodnu energiju površine, koja zauzvrat povećava učinkovitost bakterijske adhezije (13, 14, 18).
2. U drugoj fazi slijedi kolonizacija bakterija. Nakon nastanka pelikule, bakterije se fizikalnim silama mogu labavo vezati na površinu zuba. Primarni se kolonizatori, prije svega streptokoki i aktinomicete, zahvaljujući adhezinima, mogu čvrsto usidriti na receptore pelikule, a naknadno se na primarne kolonizatore usidre sekundarni. Budući

da mnogo streptokoka stvara za bakterije zaštitne izvanstanične polisaharide (dekstrane), dolazi do umnožavanja bakterija, a umnožavanjem nastaju mikrokolonije (14).

3. Treću fazu karakterizira formiranje pričvršćenoga plaka ili biofilma. Bakterije koriste dobre uvjete u pelikuli za razmnožavanje i stvaranje mikrokolonija. Nakon što se mikrokolonije grupiraju u komplekse s metabolički potpomognutim članovima, nastaje biofilm ili pričvršćeni plak (14).
4. Posljednji je stadij rast, odnosno sazrijevanje plaka, kad se u biofilmu uspostavlja cirkulacijski sustav. Mikroorganizmi mogu izmjenjivati metaboličke produkte, čimbenike otpornosti i virulencije te plak djeluje kao cjeloviti organizam. Svemu se priključuju i anaerobi. Metabolički produkti, odbačeni sastavni dijelovi staničnoga zida, kao na primjer lipopolisaharidi i vezikule, potiču obranu domaćina. Bakterije su sada opsežno zaštićene od neutrofila (PMNL) i dodatnih baktericida (14).



Slika 1. Formiranje biofilma

Dakle, između mikrobne površine i pelikule dolazi do fizičko-kemijske interakcije i adhezije koja je u početku reverzibilnoga karaktera. Ukoliko se proces odvija kontinuirano, nakon što se mikrokolonije grupiraju u komplekse, reverzibilna adhezija prelazi u ireverzibilnu. Rani kolonizatori prvi se vežu za pelikulu, a sekundarni i kasni započinju koadheziju na već ranije vezane kolonizatore. Time dolazi do povećanja mikrobne raznolikosti u razvijajućem biofilmu. Umnožavanjem vezanih stanica dolazi do konfluentnoga rasta i nastanka trodimenzionalnoga, prostorno i funkcionalno organiziranoga, vrsno raznolikog biofilma. Tako nastali biofilm ima kompleksni ekstracelularni matriks sastavljen od polimera ugljikohidrata, kao što su fruktani (levani), glukani, dekstrani, mutani i neprepoznatljive količine lipida (18). Matriks znatno dopinosi strukturalnomu integritetu i općoj rezistenciji biofilma. Nakon što se zreli i stabilni biofilm formira, može se odviti aktivna separacija omogućujući stanicama kolonizaciju drugih mjesta u usnoj šupljini (1, 13, 15).

Termin koagregacija koristi se ako se vezivanje između bakterija odvija u suspenziji. Ako se adhezija mikrobnih stanica zbiva na već vezanim bakterijama u biofilmu, koristi se termin koadhezija. Predominatni inicijalni kolonizatori uključuju streptokoke, kao što su *S. gordonii*, *S. mitis*, *S. oralis* i *S. sanguinis*, no i rodove *Actinomyces*. *Fusobacterium nucleatum* esencijalna je u formaciji biofilma zato što može koagregirati s inicijalnim, ranim i kasnim kolonizatorima. Na taj način ima ulogu mosta između mikroorganizama u razvijajućem dentalnom plaku (1,16). Bakterije plaka imaju efikasniji metabolizam, povećanu toleranciju na inhibitorne agense i obrambene čimbenike domaćina. Također, imaju poboljšanu virulenciju kad su u obliku biofilma (13).

U zdravoj usnoj šupljini postoji simbioza između oralne mikroflore i domaćina. Kompozicija oralne mikroflore pod utjecajem je temperature, pH vrijednosti, nutrijenata te također pod utjecajem genetike domaćina i obrambenih čimbenika. Kada dođe do promjene uvjeta u okolišu usne šupljine, ravnoteža između domaćina i oralne mikroflore može se promijeniti i rezultirati povećanim rizikom za razvoj bolesti (1,17).

### **3. DENTALNI KARIJES**



Dentalni je karijes kronična bolest ili proces koji je karakteriziran izmjenom razdoblja demineralizacije i remineralizacije. Dva se osnovna fizikalnokemijska procesa aktiviraju više puta dnevno i u različitim vremenskim intervalima, što karijesu daje obilježje intermitentne bolesti. Upravo nam to svojstvo omogućuje sprječavanje i zaustavljanje karijesnoga procesa (19).

Dentalni karijes uzrokuju oralne bakterije i smatra se jednom od najučestalijih infektivnih bolesti u čovjeka. Učestalost se karijesa pripisuje velikoj dostupnosti i širokoj uporabi ugljikohidrata. Oralne bakterije sadrže ekstracelularne enzime koji vežu škrob i fermentacijom proizvode mliječnu kiselinu. Proizvedena mliječna kiselina razgrađuje mineralni matriks zuba i, ako se nastavi gubitak minerala, dolazi do kavitacije, koja je ireverzibilna (20).

Predloženo je nekoliko hipoteza koje se dotiču pitanja uloge bakterija unutar plaka (biofilma) u etiologiji karijesa. Miller (1889.) je etiologiju karijesa povezao s proizvodnjom kiselina iz prehrambenih supstrata mikroorganizama. Prema Millerovu stajalištu, karijes je bakterijski nespecifičan proces, što znači da ne postoji jedna acidogena bakterijska vrsta koja je odgovorna za nastanak karijesa. Umjesto toga, on je rezultat povećane količine kiselina proizvedenih iz svih bakterija na površini zuba. Prema nespecifičnoj plak hipotezi, bolest se smatra posljedicom ukupne aktivnosti cjelokupne mikroflore plaka, a ne samo acidogenih i aciduričnih bakterija. Loesche (1976.) uvodi specifičnu plak hipotezu koja je predlagala da samo jedna ili vrlo mali broj bakterijskih vrsta može biti uključen u nastanak bolesti. Najnovija hipoteza, koju nazivamo ekološka plak hipoteza, kombinira elemente iz prethodnih dviju i predlaže kako organizmi povezani s nastankom karijesa mogu biti prisutni i na zdravim mjestima, ali u vrlo malim količinama da bi bili klinički relevantni, odnosno patogeni. Stoga, bolest je posljedica promjene ravnoteže prisutne mikroflore, odnosno posljedica narušavanja mikrobne homeostaze kao odgovor na promjene u lokalnim okološnim uvjetima. Mikrobna homeostaza jest bakterijski sastav koji, u zdravih pojedinaca, u određenom vremenu ostaje relativno stabilan (1, 15, 21).

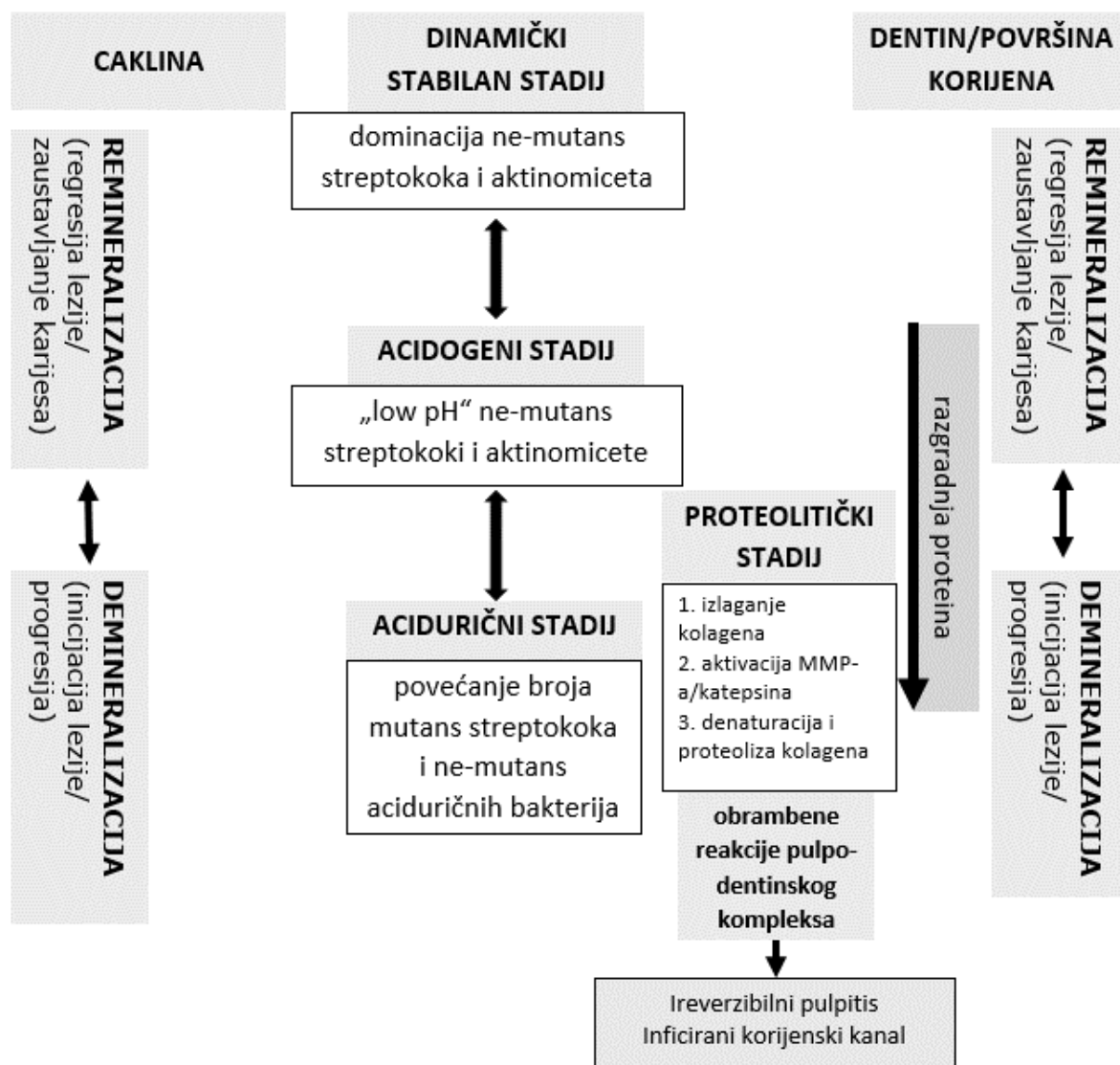
Prema Loeschu, bakterije možemo svrstati u skupinu kariogenih bakterija, ukoliko zadovolje određene uvjete, odnosno svojstva, kao što su sposobnost brzoga prijenosa razgradivih šećera u odnosu na druge bakterije te pretvorba tih istih šećera u kiseline, sposobnost održavanja razgradnje šećera u ekstremnim uvjetima okoline, poput niskog pH te stvaranje ekstracelularnih i intracelularnih polisaharida koji doprinose strukturi biofilma. *Lactobacillus* i *Streptococcus mutans* su primjeri acidogenih (u mogućnosti proizvesti kiselinu) i aciduričnih bakterija (u mogućnosti tolerirati niski pH okoliša) (22, 23).

Prema najnovijoj hipotezi, proširenoj ekološkoj plak hipotezi karijesa, proces nastanka karijesa sastoji se od tri reverzibilna stadija, prikazano na Slici 2. (1, 24).

Prvi stadij jest dinamički stabilni stadij i mikroflora na klinički zdravoj caklinskoj površini sadrži uglavnom NMS i aktinomicete. Acidifikacija je umjerena i demineralizacija je u ravnoteži s remineralizacijom (1).

U drugomu, koji se zove acidogeni stadij, acidifikacija postaje izraženija zbog povećane konzumacije šećera, što dovodi do povećane količine acidogenih bakterija. Prema tomu, zbog demineralizacije dolazi do inicijacije dentalnoga karijesa (1).

Konačni se stadij naziva acidurični stadij. Acidurične bakterije postaju dominantne ako se kiseli uvjeti nastave. U takvim uvjetima mutans streptokoki i laktobacili, kao i acidurične kulture, NMS, aktinomicete, bifidobakterije i plijesni mogu postati dominantni. Dakle, u procesu nastanka karijesa uključene su mnoge acidogene i acidurične bakterije (1).



Slika 2. Shema proširene ekološke plak hipoteze. Preuzeto i modificirano (24).

Rana kolonizacija mutans streptokokima rizični je faktor za razvoj karijesa. Iako visoke količine mutans streptokoka ne znače nužno i povećani karijes rizik u odraslih, smanjenje razina mutans streptokoka, bez utjecaja na zdravu mikrofloru, trebalo bi smanjiti virulentnost plaka. Mutans streptokoki učestalo su izolirani iz kavitiranih lezija, mogu inducirati formaciju karijesa u životinja koje su na dijeti bogatoj saharozom i visoko su acidogeni i acidurični (22). Mutans streptokoki imaju glavnu ulogu u inicijaciji karijesa na caklini i površini korijena zuba. Laktobacili i bifidobakterije također su izolirani iz karijesnih lezija, zajedno s mutans streptokokima (1, 22).

#### **4. PARODONTNE BOLESTI**

Gingivitis je bakterijski inducirana upala gingivalnoga tkiva koje okružuje zub. Vežanje bakterija na površinu zuba i koadhezija inicijalnih kolonizatora s drugim vrstama inicira nastanak biofilma. Zreli biofilm, koji se također naziva bakterijski dentalni plak, stimulira kaskadu zbivanja koje dovode do upale gingive. Gingivitis je, bilo u akutnom ili kroničnom stanju, reverzibilna bolest jer nema gubitka tvrdoga tkiva koje podupire zube. Gingivalno tkivo se, prema tomu, vraća u zdravo stanje kada se bakterijski biofilm ukloni (1).

Prijelaz upale na vezivno tkivo, parodontni ligament i alveolarnu kost inicira ireverzibilni gubitak tkiva oko zuba, a takvo se stanje naziva parodontitis. Mikrobna se kompozicija parodontitisa razlikuje od mikrobne kompozicije zdrave gingive i gingivitisa. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* i *Tannerella forsythia* (*Bacteroides forsythus*) znatno su učestalije u uzorcima supragingivnog i subgingivnog plaka bolesnika s parodontitisom u usporedbi sa zdravim ispitanicima te su također povezane s kliničkim mjerama parodontne bolesti, kao što su dubina džepa i krvarenje nakon sondiranja (BOP). Glavni je etiološki faktor za parodontnu upalu povezanu s plakom prisutnost patogenih bakterija i, u vezi s tim, istovremena odsutnost takozvanih, zdravih i korisnih bakterija. Međutim, osjetljivost domaćina i okolišni faktori također igraju veliku ulogu. Ta četiri glavna faktora zajedno određuju hoće li osoba razviti parodontitis ili će upala biti ograničena na gingivu (1, 25, 26).



### **5.1. Definicija probiotika i drugih srodnih termina.**

Etimološki, riječ probiotik potječe iz grčkoga jezika i znači za (grč. *pro-*) život (grč. *-bios*), ali tijekom vremena definicija probiotika evoluirala je istodobno s povećanim interesom za korištenjem održivih bakterijskih suplemenata i u relaciji s boljim razumijevanjem njihovih mehanizama djelovanja. Donedavno je najšire korištena definicija probiotika bila Fullerova, koja kaže da su probiotici živi mikrobni suplementi koji djeluju blagotvorno na domaćina poboljšanjem mikrobne ravnoteže. Prema današnjoj definicija, koju je dala Organizacija za prehranu i poljoprivredu Ujedinjenih naroda (FAO), probiotici su živi mikroorganizmi koji, kada se primjenjuju u odgovarajućim količinama, imaju pozitivne učinke na zdravlje domaćina. Pojam prebiotik uveli su Gibson i Robertfroid 1995. kako bi opisali suplemente koji nisu probavljivi, ali su u mogućnosti potaknuti korisne učinke selektivnom stimulacijom rasta ili aktivnosti mikroorganizama koji su već prisutni u probavnom sustavu. Iz praktičnih se razloga, kombinacija probiotika i prebiotika naziva konbiotici ili, prema nekim autorima, simbiotici (27).

### **5.2. Probiotici i opće zdravlje**

Probiotske su bakterije u zadnja dva desetljeća postale sve popularnije kao rezultat kontinuiranog porasta znanstvenih dokaza koji ističu njihove korisne učinke na zdravlje čovjeka, a najčešće se koriste kao fermentirani mliječni proizvodi. Unatoč svim čvrstim znanstvenim dokazima koji asociraju mikroorganizme s raznolikim pogodnostima na zdravlje, potrebna su daljnja testiranja kako bi se uspostavila i procijenila njihova sigurnost, kao i nutritivna vrijednost (27).

Veza probiotika sa zdravljem čovjeka u cjelosti ima dugu povijest. Prošlo je više od jednog stoljeća otkad je Tissier promatrao crijevnu mikrofloru zdravog novorođenčeta dojenog prirodnim putem, u kojoj je dominirala bifidobakterija, inače odsutna u formuli davanoj novorođenčadi koja je patila od dijareje, i zaključio kako određene bakterije igraju važnu ulogu u održavanju zdravlja. Zabilježeni korisni učinci konzumacije probiotika uključuju poboljšanje zdravlja probavnog sustava, otklanjanje simptoma intolerancije laktoze, redukciju rizika raznih drugih bolesti (27).

Probiotske bakterije imaju koristan utjecaj na zdravlje, pogotovo kad se koriste u preventivi ili liječenju gastrointestinalnih infekcija i kod posljedica infekcija dišnih puteva. *Lactobacillus rhamnosus* GG pokazao se učinkovitim u prevenciji i terapiji dijareje uzrokovane rotavirusom, u prevenciji atopičkog dermatitisa i infekcija gornjih dišnih puteva. Slično *L. rhamnosus*,

bakterija *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 koristila se za prevenciju i terapiju dijareje i respiratornih infekcija. Čini se kako *L. rhamnosus* GG i *B. lactis* BB-12 zajedno u kombinaciji imaju dodatnu učinkovitost u prevenciji i terapiji alergijskih poremećaja, akutnih respiratornih infekcija i akutne upale srednjeg uha. Ista ta kombinacija probiotskih bakterija je u kombinaciji s dijetetskim savjetima tijekom trudnoće smanjila učestalost gestacijskog dijabetes melitusa u žena normalne tjelesne težine (1).

### **5.3. Mikrobne vrste koje se koriste kao probiotici**

Uzimajući u obzir definiciju probiotika, broj mikrobnih vrsta koji imaju probiotska svojstva je impresivan. Neki od glavnih reprezentativnih vrsta su navedeni u Tablici 1. Što se prehrane tiče od važnosti su jedino bakterije mliječne kiseline i među njima najvažnija svojstva u kontekstu probiotika imaju bakterije roda *Lactobacillus* i roda *Bifidobacterium*. Bakterije mliječne kiseline su gram-pozitivne, katalaza-negativne bakterijske vrste koje mogu proizvesti mliječnu kiselinu kao glavni konačni proizvod fermentacije ugljikohidrata. Rod *Bifidobacterium* više je tradicionalno nego filogenetički naveden među bakterijama mliječnih kiselina jer on ima zaseban metabolički put. Druge dvije vrste koje igraju važnu ulogu u prehrambenoj industriji, pogotovo mliječnoj, iako se ne smatraju striktnim probioticima, jesu *Streptococcus thermophilus* i *Lactococcus lactis* (27).



Tablica 1. Mikroorganizmi koji se smatraju probioticima. Preuzeto i modificirano (27).

Mikroorganizmi koji se smatraju probioticima	
Lactobacillus species	Bifidobacterium species
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. animalis</i>
<i>L. gallinarum</i> <sup>1</sup>	<i>B. bifidum</i>
<i>L. gasseri</i>	<i>B. breve</i>
<i>L. johnsonii</i>	<i>B. infantis</i>
<i>L. paracasei</i>	<i>B. lactis</i> <sup>2</sup>
<i>L. plantarum</i>	<i>B. longum</i>
<i>L. reuteri</i>	
<i>L. rhamnosus</i>	
Druge bakterije mliječne kiseline	Bakterije koje ne proizvode mliječnu kiselinu
<i>Enterococcus faecalis</i> <sup>1</sup>	<i>Bacillus cereus var. to yoi</i> <sup>1</sup>
<i>E. faecium</i>	<i>Escherichia coli strain nissle</i>
<i>Lactococcus lactis</i> <sup>3</sup>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Pediococcus acidilactici</i> <sup>3</sup>	<i>S. boulardii</i>
<i>Sporolactobacillus inulinus</i> <sup>1</sup>	
<i>Streptococcus thermophilus</i> <sup>3</sup>	
<sup>1</sup> uglavnom se koriste za životinje	
<sup>2</sup> Nedavno su reklasificirane kao <i>B. animalis subsp. lactis</i>	
<sup>3</sup> Zna se vrlo malo o probitoskim svojstvima	

#### 5.4. Potencijalni mehanizmi djelovanja probiotika u usnoj šupljini

S obzirom da je usna šupljina početni dio gastrointestinalnog sustava, mehanizmi u usnoj šupljini mogli bi biti analogni onima u crijevima (28).

Mogući mehanizmi kojima probiotici utječu na oralno zdravlje jesu:

- a) adhezija na mukozne i epitelne površine, što je važno svojstvo za uspješnu imunomodulaciju, kao i za kompetitivno djelovanje s patogenima na mjestu vezivanja i posredno isključenje istih
- b) kompeticija za adheziju, faktore rasta i hranjive tvari
- c) agregacija s oralnim bakterijama i sudjelovanje u svezivanju mikroorganizama za proteine (formiranje biofilma)
- d) proizvodnja antimikrobnih tvari (baktericini, organske kiseline, peroksidi i dr.)
- e) poboljšanje imunog odgovora domaćina povećanom proizvodnjom IgA i defenzina, indukcijom fagocitoze, modifikacijom odgovora T-stanica (pospješuju odgovor Th1 i umanjuju odgovor Th2 stanica)
- f) inhibicija proupalnih citokina koju uzrokuju patogeni
- g) smanjenje proizvodnje matriksnih metaloproteinaza (MMP-a)
- h) regulacija permeabilnosti oralne sluznice (28).

### **5.5. Probiotici i prehrambeni proizvodi**

Opseg prehrambenih proizvoda koji sadrže probiotske sojeve širok je i kontinuirano raste. Glavni proizvodi koji postoje na tržištu su mliječni proizvodi, a uključuju fermentirano mlijeko, sir, sladoled, mliječni maslac, mlijeko u prahu i jogurte. Nemliječni proizvodi su proizvodi utemeljeni na soji, nutricejske pločice, pahuljice i raznoliki sokovi (27).

Pri oralnoj primjeni, probiotici, osim na želučane kiseline, moraju biti rezistentni i na enzime u usnoj šupljini. Nadomjesci moraju sadržavati sojeve koji su općenito prihvaćeni kao sigurni (GRAS). Posebna se pozornost mora posvetiti tomu da se ne kombiniraju sojevi koji se međusobno inhibiraju. Preporuka je nadomjestke skladištiti pri 4°C kako bismo osigurali njihovu viabilnost te ih je potrebno je koristiti sukladno roku valjanosti (29).

Faktori važni za procjenu učinkovitosti inkorporacije probiotiskih sojeva u navedene proizvode, uz sigurnost, jesu kompatibilnost proizvoda s mikroorganizmima i zadržavanje viabilnosti za vrijeme preradnje, pakiranja i pohrane proizvoda. Značajan faktor za preživljenje i rast inkorporiranoga probiotika jest i pH vrijednost proizvoda, i to je razlog zašto mekani sir ima prednosti pred jogurtom, kao sredstvo prijenosa viabilnih probiotika u gastrointestinalni trakt. Trenutačne inovacije u tehnologiji omogućuju nove načine inkorporacije probiotskih sojeva u nove medije. Razvijene su tehnologije mikroenkapsulacije kako bi zaštitile bakterije od štete uzrokovane vanjskim okolišom (27).



## 6.1. Kolonizacija oralne šupljine probioticima

Kliničke studije demonstrirale su kako probiotski laktobacili i bifidobakterije nisu sposobne trajno kolonizirati usnu šupljinu odraslih. Vrijeme eliminacije probiotskih bakterija iz sline prikazano je u Tablica 2. Prisutnost *L. reuteri* u slini samo je privremena i nakon prestanka konzumacije, *L. reuteri* polako se eliminira iz sline tijekom nekoliko tjedana (1, 30).

Vehikulum, kojim se probiotici unose u usnu šupljinu, može utjecati na kariogeni potencijal i oralnu kolonizaciju probiotika. Srećom, najčešće korišteni laktobacili unose se putem mliječnih proizvoda (fermentirano mlijeko, jogurt ili sir). Kada su bakterije mliječne kiseline unose putem mliječnih proizvoda, puferski će kapacitet mlijeka smanjiti proizvodnju kiselina. Prisutni kalcij, kalcij laktata i druge organske i anorganske komponente su antikariogene i reduciraju kolonizaciju patogena. Laktobacili se općenito slabo vežu za površine iako su često izolirani sa retencijskih mjesta u usnoj šupljini. Kako svakodnevna konzumacija laktobacila može dovesti do privremene, pa čak i trajne, kolonizacije ovih bakterija, moguće je da postoji potencijalni rizik za dentalno zdravlje (31).

Tablica 2. Vrijeme eliminacije probiotskih bakterija iz sline. Preuzeto i modificirano (31).

Istraživači	Probiotik	Vrijeme eliminacijeprobiotskih bakterija iz sline
Bussher i suradnici	Jogurt sa <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> i <i>Bifidobacterium bifidum</i>	Nakon 1 tjedna
J. H. Meurman i suradnici	250 g jogurta s <i>L. rhamnosus</i> GG Voćni sok s <i>L. rhamnosus</i> GG	Nakon 2 tjedna  Nakon 1 tjedna
Monalto i suradnici	Tekućina ili kapsule s <i>L. sporogens</i> , <i>L. bifidum</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. termophilus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> i <i>L. rhamnosus</i>	Nakon 45 dana

Očigledno, probiotski laktobacili ne koloniziraju usnu šupljinu trajno. Jednom kada probiotski tretman završi, probiotske se bakterije otklanjaju iz usne šupljine tijekom nekoliko tjedana. Ovo je zapažanje utješno, što se tiče sigurnosti dijetetskih probiotika, iako naglašava nužnost ponavljanja aplikacije kako bi se zadržao učinak (31).

Međutim, budući da ni u jednoj studiji stalna mikroflora domaćina prije početka probiotske terapije nije bila suprimirana (bilo antibioticima, antisepticima ili profesionalnim odstranjivanjem plaka), postoji mogućnost kako je razlog samo privremene kolonizacije probiotskih bakterija upravo zreli plak, odnosno urođena i stalna, teško promjenjiva mikroflora domaćina (31).

Dodatno, usna šupljina ispitanika koji je u 10. godini života, u sklopu potporne terapije atopijskog dermatitisa, godinu dana primao *L. rhamnosus* GG mlijeko, bila je doživotno kolonizirana ovim sojem. Ovi su podatci u razini s istraživanjima koja probiotike koriste u prevenciji akutne upale srednjega uha i streptokoknog faringotonzilitisa te koja pokazuju kako antibiotski predtretman, koji inhibira urođenu mikrofloru, olakšava probiotski učinak u odraslih sa zreloom mikroflorom i kako nazofaringealna mikroflora (npr. novorođenčadi), koja još nije u potpunosti sazrela, može biti lakše promijenjena probioticima nego zrela nazofaringealna mikroflora odraslih (31).

Zadnje navedena pretpostavka može se u usnoj šupljini potkrijepiti primjerom „prozora infektivnosti“. Prvi se prozor infektivnosti odnosi na vrijeme inicijalne kolonizacije usne šupljine kariogenim mutans streptokokima i ono je u prosjeku u dobi od 19. do 33. mjeseca, dok je drugi prozor infektivnosti otprilike u dobi od 6. do 12. godine. Prema tomu, ako u odraslih želimo postići trajnu kolonizaciju učinkovitih sojeva, predtretmanom oralne mikroflore (dezinfekcijom) trebao bi se stvoriti novi „prozor infektivnosti“, odnosno reducirati urođena i stalna mikroflora (31, 32).

## **6.2. Probiotici i karijes**

Činjenica da je karijes proces kojim upravljaju bakterije poznata je više od 115 godina. Prema sadašnjim saznanjima, domaćin, bakterije i nutrijenti (ugljikohidrati), nužni su za proizvodnju organskih kiselina, posljedičnu demineralizacijsku aktivnost i, u konačnici, nastanak karijesne lezije. Prema tomu, da bi došlo do inicijacije i progresije karijesa, sva tri elementa ovoga modela moraju biti prisutna, a uklanjanje bilo kojega od njih dovodi do prekida bolesti. (31)

Kako bi nadišli ograničenja tradiciionalnih strategija u svladavanju bolesti, brojni istraživači razvijaju probiotske metode u terapiji karijesa na način da interferiraju s oralnom kolonizacijom kariogenih patogena, kao što su mutans streptokoki (Tablica 3). Nekolicina je probiotika u kliničkim istraživanjima demonstrirala kapacitet da reducira broj mutans streptokoka u slini i plaku. Iako je do danas broj provedenih istraživanja ograničen, rezultati su ohrabrujući i predviđaju velika unaprijeđenja u ovom području (31).

Nase i suradnici su među prvima in vivo testirali *L. rhamnosus* GG i njegovu mogućnost inhibicije karijesa. Njihova se hipoteza temeljila na njegovoj in vitro inhibiciji karijes patogena, *Streptococcus sobrinus* i njegovim dobro dokumentiranim učincima na gastrointestinalnu mikrofloru. *L. rhamnosus* GG pripada homofermentativnim laktobacilima koji ne mogu fermentirati saharozu i laktozu i prema tomu se ne smatra kariogenom bakterijom. Probiotsko mlijeko pokazalo je jako umjerenu sklonost smanjenju razina *Streptococcus mutans* (31).

Ahola i suradnici ispitivali su hoće li kratkotrajna konzumacija sira s *L. rhamnosus* GG i *L. rhamnosus* LC 705, u usporedbi s konzumacijom običnoga sira, smanjiti razinu *S. mutans* u mladih ispitanika. Dodatno, ispitivali su hoće li koristan učinak probiotika perzistirati u periodu nakon tretmana. Njihova se hipoteza temeljila na prethodno opisanoj studiji i na pozitivnim učincima sira na dentalno zdravlje. Odabrali su sir kao vekihulum jer se iz oralne šupljine otklanja sporije od mlijeka. Rezultati su pokazali kako je sir sam po sebi (per se) u tako kratkom vremenskom razdoblju bio koristan u redukciji *S. mutans*. Međutim, tijekom tretmana nisu pronađene statistički značajne razlike u razinama *S. mutans* između grupa. Tek nakon tri tjedna od tretmana razine *S. mutans* smanjile su se znatno više u grupi koja je konzumirala sir s probiotskom bakterijom. Zaključno, rezultati pokazuju kako ovaj tip probiotskog tretmana može biti koristan onim pacijentima s visokim razinama *S. mutans* bakterija (31).

Montalto i suradnici evaluirali su postoji li razlika u razinama *S. mutans*, ovisno o tome jesu li probiotski laktobacili uzimani u tekućoj formi ili formi kapsuli. Korištene su *L. sporogens*, *L. bifidum*, *L. bulgaricus*, *L. termophilus*, *L. acidophilus*, *L. casei* i *L. rhamnosus*. Oralna administracija ovih laktobacila znatno je povećala razine salivarnih laktobacila. Pozitivan se učinak pojavio neovisno o formi primjene probiotske bakterije, a razine *S. mutans* bakterija nisu značajno promijenjene (31).

Na temelju karijes protektivnih učinaka *L. rhamnosus* GG, Nikawa i suradnici istraživali su učinak jogurta s *L. reuteri* na smanjenje razina *S. mutans*. *L. reuteri* je obligatni heterofermentativni stanovnik gastrointestinalnog trakta u ljudi i ustanovljeno je da proizvodi

spojeve koji imaju antagonističku aktivnost, kao što su reuterin i reuteri ciklin, spojeve koji su vodotopivi, antimikrobi širokoga spektra, djelotvorni u širokom pH spektru i rezistentni na proteolitičke i lipolitičke enzime. Konzumiranje jogurta s *L. reuteri* svakodnevno tijekom dva tjedna, znatno je reduciralo razine *S. mutans* u slini, a takav učinak nije uočen u kontrolnoj grupi. Uzimajući sve u obzir, rezultati ove studije predlažu kako *L. reuteri* u jogurtu reducira razine *S. mutans* u slini do barem dva tjedna nakon prestanka konzumacije (31).

Učinak *L. reuteri* na salivarne razine *S. mutans* i laktobacila istraživali su Caglar i suradnici. Na temelju zapažanja da je većina prethodno spomenutih studija koristila mliječni vehikulum kako bi dostavili bakterije u usnu šupljinu, ispitivali su mogu li se slični učinci postići ako se koriste nemliječni proizvodi namijenjeni oralnoj primjeni. Istraživali su učinak probiotskih bakterija, *L. reuteri* ATCC 55730, na razine salivarnih *S. mutans* streptokoka i laktobacila kada su unesene putem dvaju različitih vehikuluma bez predtretmana. Kao vehikulumi korištene su prethodno pripremljene slamke i tablete s *L. reuteri* ATCC, kao i kontrole u istim oblicima. Zabilježena je znatna redukcija razine *S. mutans* bakterija nakon ingestije probiotskih bakterija, bilo putem slamke ili tablete u usporedbi s kontrolama (31).

Pored laktobacila, bifidobakterije su probiotici koji se obično koriste za poboljšanje ravnoteže crijevne mikroflore. Caglar i suradnici su prvi izvijestili o učincima probiotika s bifidobakterijama na oralnu mikrofloru. Cilj je studije bio ispitati utječe li kratkotrajna konzumacija jogurta s bifidobakterijama na razine salivarnih streptokoka i laktobacila u mladim ispitanika. Njihova hipoteza korisnog učinka bifidobakterija temeljila se na sveopće utvrđenim učincima bifidobakterija na promoviranje zdravlja. Konzumirali su *Bifidobacterium* DN-173 010. Podatci su pokazali kako je prilikom konzumacije jogurta s bifidobakterijom došlo do maloga, ali znatnoga, sniženja razine *S. mutans* bakterija u slini u usporedbi s razinama laktobacila koje su ostale netaknute (31).

Bakterije mliječne kiseline su, zbog svog kariogenog potencijala, od znatnog interesa za oralno zdravlje. Zbog proizvodnje kratkolančanih karboksilnih kiselina, fermentacije saharoze i posljedičnoga snižavanja pH vrijednosti, svrstavamo ih u visoko acidogene bakterije i, kao takve, u konačnici dovode do razlaganja tvrdih tkiva, kao što su caklina i dentin (31).

Međutim, Fitzgerald i suradnici pokazali su kako su samo tri soja laktobacila, od 50 izoliranih iz dentalnog plaka školske djece, inducirala značajnu karijes aktivnost u hrčaka (31).

Dodatno, u umjetnom karijes modelu, laktobacili su uzrokovali znatno pliće karijesne lezije nego *S. mutans* i *Actinomyces israelii*. Prema tomu, može se zaključiti kako su laktobacili, u

kontrastu s mutans streptokokima, povezaniji s progresijom karijesne lezije nego s inicijacijom iste. No, to ne znači da laktobacili nisu sposobni inducirati karijes u pogodnim okolišnim uvjetima (31).

Od 32 soja laktobacila, 17 je bilo umjereno do jako kariogeno u štakora koji su konzumirali kariogenu dijetu. Samo je jedna kultura *L. lactis* bila nekariogena. Slična su zapažanja nedavno napravljena i za *L. salivarius*. Rezultati istraživanja upućuju na činjenicu da bi za pacijente, koji dugoročno konzumiraju probiotski tretman s laktobacilima, npr. za gastrointestinalne poremećaje, dentalno zdravlje trebalo biti praćeno tijekom tretmana te bi pacijenti prije početka probiotskoga tretmana trebali biti bez karijesnih lezija (31).

Sojevi laktobacila su, međutim, također nađeni i u osoba zdrave oralne šupljine. Prema tomu, moglo bi se nagađati kako sojevi laktobacila iz usne šupljine osoba bez karijesa sadrže inhibitorna svojstva protiv kariogenih bakterija. No, takva inhibitorna svojstva nisu tako česta (31).

Sookkhe i suradnici su izolirali 3790 bakterija mliječnih kiselina iz 130 oralno zdravih dobrovoljaca. Kod svih je ovih sojeva provjereno mogu li inhibirati rast nekolicine oralnih patogena, kao što su *Streptococcus mutans* i *Actinomyces viscosus*, ali također i *Porphyromonas gingivalis* i *Candida albicans* na agaru. Samo je pet izoliranih oralnih laktobacila imalo dobra antimikrobna svojstva, odnosno moglo je inhibirati nekolicinu oralnih patogena. Sojevi najmoćnije antibakterijske aktivnosti bili su *L. paracasei* i dobro poznati gastrointestinalni probiotik *L. rhamnosus* (31).



Tablica 3. Pregled probiotiskih bakterija i mogućnosti istih prema provedenim istraživanjima.

Preuzeto i modificirano (1).

<b>PROBIOTSKA BAKTERIJA</b>	<b>MOGUĆNOSTI PREMA PROVEDENIM ISTRAŽIVANJIMA</b>
L. reuteri	<p>L. reuteri smanjuje broj mutans streptokoka u slini (u obliku žvakaćih guma, slamki, tableta ili jogurta).</p> <p>L. reuteri DSM 17938 i ATCC PTA 5289 je u mogućnosti odgoditi ponovni rast mutans streptokoka nakon dezinfekcije cijele usne šupljine klorheksidinom.</p> <p>L. reuteri DSM 17938 i ATCC PTA 5289 nakon dvotjedne konzumacije u obliku bombona ne uzrokuju znatne promjene u proizvodnji mliječnih kiselina u plaku (promjene u koncentraciji).</p> <p>L. reuteri ATCC 55730 smanjuju prevalenciju aproksimalnih karijesnih lezija u primarnoj denticiji djece (ako se konzumira u obliku suplementacije tijekom zadnjeg mjeseca gestacije i tijekom prve godine života).</p>
L. rhamnosus	<p>Smanjuje količine mutans streptokoka ako se primjeni u obliku sira (3 tjedna) ili mlijeka (7 mjeseci).</p> <p>L. rhamnosus GG (5–10 x 10<sup>5</sup> CFU/ml) (mlijeko) 5x tjedno tijekom 7 mjeseci reducira pojavnost karijesa u djece u dobi od 1 do 6 godina, pogotovo u skupini od 3 do 4 godine.</p> <p>L. rhamnosus LB21 (10<sup>7</sup> CFU/ml)(mlijeko) u kombinaciji s fluoridima (2.5mg) tijekom 21 mjeseca znatno reducira karijes u djece u dobi od 1 do 5 godina.</p> <p>Mješavina L. rhamnosus GG, L. rhamnosus LC705 i P. freudenreichii ssp. shermanii JS (sir) smanjuje oralne infekcije Candidom u starijih osoba.</p> <p><i>Iako Candida nije rizik faktor za pojavu karijesa, oralni je patogen kad je u usnoj šupljini prisutan u visokoj koncentraciji.</i></p> <p><i>Dodatno, C. albicans predložena je kao karijesni patogen zbog svoje visoke acidogenosti i prevalencije u karijes lezijama.</i></p>

<b>PROBIOTSKA BAKTERIJA</b>	<b>MOGUĆNOSTI PREMA PROVEDENIM ISTRAŽIVANJIMA</b>
L. paracasei	<p>Ima inhibitorni učinak protiv S. Mutans.</p> <p>Toplinski uništeni L. paracasei DSMZ16671 znatno reducira salivarne mutans streptokoke.</p> <p>L. paracasei DSMZ16671 (bomboni) smanjuje pojavnost karijesa (u eksperimentima na životinjama).</p> <p>L. paracasei SD1 (mlijeko) smanjuje količine salivarnih mutans streptokoka.</p> <p>L. casei Shirota (mlijeko) smanjuju količine salivarnih mutans streptokoka.</p>
B. lactis BB-12	Smanjuje razine salivarnih mutans streptokoka (probiotski sladoled).
L. acidophilus LA-5	Smanjuje razine salivarnih mutans streptokoka (probiotski sladoled).
L. salivarius	L. salivarius ne utječe na pH sline, ali znatno povećava puferski kapacitet sline u usporedbi s ksilitolom.

Iako se čini teško, gotovo nemoguće, probioticima zamijeniti patogene u urođenoj i zreloj mikroflori, „zamjenska terapija“ Hillmana i suradnika mogla bi svladati ovu zapreku. Mogućnost korisnih sojeva da preventivno koloniziraju usnu šupljinu i agresivno zamijene sojeve divljega tipa je kompleksna. Međutim, Hillman i suradnici su izolirali soj S. mutans 1140 koji proizvodi bakteriocin nazvan mutacin 1140. Navedeni je bakteriocin bio u mogućnosti uništiti gotovo sve druge sojeve mutans streptokoka protiv kojih je bio testiran. Izolirani su mutans streptokoki koji su proizvodili trostruko veće količine mutacina 1140. Navodno, ti mutirani sojevi koloniziraju usne šupljine ispitanika i agresivno zamjenjuju urođene mutans streptokoke.

Ispitanici koji su tri godine provodili režim trominutne infekcije četkanjem koncentrata suspenzije stanica na i između zuba, uspjeli su ih trajno kolonizirati. Nijedan drugi soj mutans streptokoka nije uočen u uzorcima sline i plaka tih ispitanika (31).

Posljedično, *S. mutans* soj JH1140, koji ima spontanu mutaciju koja rezultira trostrukim povećanjem produkcije mutacin 1140, služio je kao početni soj za konstrukciju klinički primjenjivoga učinkovitog soja za zamjensku terapiju (31).

U skladu s acidogeničnom teorijom dentalnoga karijesa, proizvodnja mliječne kiseline *S. mutans* bakterije već se duže smatra glavnim patogenim mehanizmom u nastanku karijesnih lezija. Posljedično, rekombinatne DNA metode korištene su za uklanjanje otvorenoga okvira čitanja (ORF) koji kodira laktat dehidrogenazu (dehidrogenazu mliječne kiseline) i time je onemogućena proizvodnja mliječne kiseline. Ova je mutacija stvorila metaboličku blokadu koja je bila letalna, ali je otkriveno kako je zamjena ORF za dehidrogenazu mliječne kiseline s ORF za alkoholnu dehidrogenazu B od *Zymomonas mobilis* bakterije svladala ovu blokadu i omogućila dobivanje održivoga soja nazvanog BCS3-L1. Također, ovaj je soj dizajniran kako bi proizvodio veće razine mutacina 1140 (31).

Dobiveni učinkoviti soj BCS3-L1 nema mjerljivu aktivnost dehidrogenaze mliječne kiseline. Analize su pokazale kako BCS3-L1 sojevi ne proizvode mjerljive količine mliječne kiseline. Prema tomu, ovaj bi se soj u zamjenskoj terapiji mogao pokazati kao vrijedan i učinkovit. Mogućnosti su ovoga soja u terapiji zamjenom kod terapije karijesa ekstenzivno testirane u laboratoriju i na životinjskim modelima. Pronađeno je kako soj ima znatno reducirani patogeni potencijal, ustrajno i preventivno kolonizira prostore na površini zuba, koje su inače normalno okupirane divljim tipom soja *S. mutans*, genetski je stabilan i ne pokazuje loše učinke u akutnim i kroničnim toksičnim studijama (31).

Ukoliko bi se pokazalo da BCS3-L1 ima slična svojstva u ljudi, služio bi kao idealni učinkoviti soj. Nažalost, iako podaci izgledaju obećavajuće, još uvijek nisu provedena in vivo testiranja na ljudima. Ovo je rezultat činjenice kako implantacija genetički modificiranih bakterija još nije poduzeta u bilo koju drugu svrhu. Međutim, kako su Hillman i suradnici nedavno konstruirali BCS3-L1 mutirani soj kako bi testirali sigurnost istoga u istraživanjima na ljudima, početak prve faze kliničkoga istraživanja može se očekivati u skoroj budućnosti (31).

### **6.3. Probiotici i parodontne bolesti**

Tradicionalno, antiinfektivna terapija parodontnih bolesti za cilj ima reducirati broj parodontopatogenih bakterija u usnoj šupljini, bilo mehaničkom ili kemijskom terapijom. Međutim, kod parodontnih bolesti ne smanjuje se samo broj patogenih bakterija, već i broj

korisnih bakterija. Stoga je, tijekom posljednjega desetljeća, predložena nova hipoteza, u kojoj je cilj probiotika obnoviti omjer korisnih i patogenih bakterija u usnoj šupljini (1).

U nedavnoj su kliničkoj studiji 216 đaka, u dobi između 14 i 17 godina, tijekom 30 dana uključili ili isključili skutu iz svoje prehrane. Plak indeks i gingivalni indeks zabilježeni su prije i nakon intervencije. Rezultati su pokazali kako je kratkotrajni dnevni unos probiotika putem skute reducirao razine plaka u zdrave đacke djece iako zdravlje gingive nije znatno poboljšano. S druge strane, dnevna je suplementacija s *L. reuteri* u prvoj godini života povezana s reduciranim gingivitisom u primarnoj denticiji u devetoj godini života (1).

Krasse et al. proučavao je efekt *L. reuteri* na gingivitis. Sudjelovalo je 59 pacijenata s umjerenim do teškim gingivitisom te su dobili jednu od dvije različite *L. reuteri* formule u dozi od  $2 \times 10^8$  CFU dnevno ili odgovarajući placebo tijekom dva tjedna. Gingivalni indeks i plak indeks mjereni su na početku i nakon intervencije. Rezultati su pokazali kako je *L. reuteri* bila efikasnija u reduciranju i gingivalnog i plak indeksa u pacijenata s umjerenim do teškim gingivitisom. *L. reuteri* je također reducirao broj parodontnih patogena u subgingivnoj mikroflori u pacijenata s gingivitisom (1).

U istraživanjima ispitanika s parodontitisom, nakon konzumacije *L. reuteri* zajedno sa struganjem i poliranjem korijenja, uočene su znatno veći dobitci pričvrstka i smanjenje plak indeksa, krvarenja pri sondiranju, dubine džepova i smanjenje broja *P. gingivalis* u usporedbi samo sa struganjem i poliranjem korijenja. U pacijenata s kroničnim parodontitisom konzumacija bombona s *L. reuteri* u kombinaciji sa struganjem i poliranjem korijenja dala je bolje kliničko poboljšanje u usporedbi s kontrolnom grupom (1).

Prema Jones i Versalovic, *L. reuteri* formira biofilm koji zbog proizvodnje reuterina ima antimikrobni potencijal, a uz to *L. reuteri* ima specifični imunomodulacijski kapacitet jer suprimira proizvodnju faktora tumorske nekroze (TNF). Schaefer i suradnici otkrili su kako je interakcija između *L. reuteri* i drugih patogena inducira produkciju reuterina koji uzrokuje oksidativni stres u stanicama patogenih mikroorganizama i, posljedično, destrukciju (33).

Schimauchi et al. je studirao efekt *L. salivarius* WB21 na parodontno zdravlje. Šezdeset i šest ispitanika je uzimalo tablete s *L. salivarius* WB21 u dozi od  $6.7 \times 10^8$  CFU s ksilitolom ili samo ksilitol tri puta dnevno tijekom osam tjedana. Rezultati su pokazali da je *L. salivarius* WB21, u tadašnjih pušača, smanjio plak indeks i dubinu džepa pri sondiranju. *L. salivarius* WB21 je, također, smanjio broj parodontnih bakterija uključujući *A. actinomycetemcomitans*, *P.*

intermedia, *P. gingivalis*, *T. denticola* i *T. forsythia* u subgingivnom plaku i smanjio krvarenje pri sondiranju (1).

Glavina i suradnici proučavali su učinak 14-dnevnog konzumiranja LGG jogurta (Bioaktiv LGG, Dukat, Hrvatska), na salivarne razine *Streptococcus mutans*-a i *Lactobacillus* spp. u djece. Dvadeset i pet pacijenata, 6-10 godina starosti, sudjelovalo je u ovoj studiji. Prilikom uključivanja u istraživanje svakom pacijentu je ustanovljen karijes rizik i također je testiran puferski kapacitet sline, CRT® buffer testom. Uzorci sline su testirani ponovo 7, 14 i 30 dana nakon konzumacije jogurta. Nakon analize, rezultati su pokazali značajan porast puferskog kapaciteta sline 30 dana nakon uzimanja probiotičkog jogurta. Razina *S. Mutansa* u slini 30 dana nakon uzimanja jogurta bila je značajno snižena. Statistički značajna razlika u razini *Laktobacila* nije ustanovljena. Moguće je zaključiti kako svakodnevno konzumiranje jogurta s dodatkom LGG ima inhibitorno djelovanje na oralne patološke bakterije i može biti učinkovito u prevenciji karijesa (34).



Za zdravlje usne šupljine, bitan mehanizam probiotika je njihova sposobnost adheriranja i perzistiranja na oralnoj mukozi i zubima. Probiotski laktobacili su u in vitro studijama pokazali različite stupnjeve adhezije na površine hidroksiapatita obložene slinom i čini se kako *L. rhamnosus* sojevi mogu bolje adherirati od *L. reuteri* i *L. debruckei* subsp. *bulgaricus* sojeva (1).

Probiotske bakterije također izgrađuju biofilme, kao što je uočeno na primjeru s *L. rhamnosus* GG i *L. reuteri*. Jedan od faktor koji utječe na adheziju je interakcija između oralnog mikroorganizma i probiotika. Pokazalo se kako *F. nucleatum* u in vitro uvjetima modificira vezanje probiotika. Također, laktobacili i toplinski-uništeni *L. paracasei* DSMZ16671 pokazali su koagregaciju s oralnim streptokokima (1).

Sposobnost probiotskih bakterija da adheriraju dentalne površine također je ključna u kompeticiji s potencijalno patogenima pronađenim u dentalnom biofilmu i pospješuje inhibiciju rasta kariogenih mikroorganizama (33).

Oboje, laktobacili i bifidobakterije, acidogene su i acidurične bakterije i kolonizacija površine zuba njima mogla bi biti nedostatak jer one in vitro fermentiraju širok spektar šećera, što dovodi do snižavanja pH ispod kritične vrijednosti i, posljedično, razlaganja tvrdih zubnih tkiva. Prema tomu, acidogena svojstva probiotskih bakterija, odnosno mogućnost fermentacije saharoze i snižavanja pH vrijednost okoliša moglo bi se smatrati virulentnim faktorom u promoviranju razvoja i progresije karijesne lezije (32).

Na temelju dosadašnjih kliničkih podataka, dijetetski probiotici ne predstavljaju veliki rizik za oralno zdravlje. To se vjerojatno može pripisati samo privremenoj oralnoj kolonizaciji probiotskih bakterija i vehikulumu, odnosno mlijeku i jogurtu putem kojih se većina probiotika konzumira. Čak i bez trajne kolonizacije, svakodnevnim korištenjem probiotika dulje vremensko razdoblje može se očekivati porast razine mliječnih kiselina bakterija u usnoj šupljini. Dodatno, brojni proizvođači ponekad u probiotske proizvode dodaju velike količine šećera i tako im povećavaju rizik za oralno zdravlje (31).

Međutim, neki laktobacili i bifidobakterije, kao npr. *L. rhamnosus* GG i *B. lactis* BB-12 nisu u mogućnosti fermentirati saharozu. Slične su rezultate pokazali i *L. reuteri* i *L. paracasei*. Takvi se rezultati mogu smatrati pozitivnima jer se fermentacija saharoze probiotskim bakterijama smatra virulentnim faktorom i karijes rizikom. Nadalje, probiotski laktobacili možda mogu inhibirati kariogene mikroorganizme putem antimikrobnih sastavnica aktivnih pri niskim pH

vrijednostima. Neke su od tih sastavnica organske kiseline, bakteriocini ili metaboliti aktivni pri niskoj pH vrijednosti (1).

U eksperimentima s biofilmom, toplinski inaktivirani *B. lactis* BB-12 je u dentalnim kavitetima reducirao kariogenost *S. mutans* bakterije, dok su različiti laktobacili inhibirali rast i formaciju biofilma *mutans streptokoka* (1).

Također se istraživalo imaju li prirodno prisutnih oralni laktobacili probiotska svojstva. Rezultati su pokazali kako su laktobacili, izolirani iz sline i plaka mladih ispitanika s različitim karijes iskustvom, u in vitro uvjetima inhibirali rast *mutans streptokoka*. Najučinkovitiji su bili oni laktobacili izolirani iz ispitanika bez karijesa ili bez *S. mutans* bakterija (1).

Komercijalni probiotski proizvodi možda mogu izmijeniti oralni ekosustav modificiranjem kompozicije salivarnih proteina. Autori su uočili kako je manjak GP340 aglutinina i peroksidaze u slini tretiranoj probioticima reducirao adheziju *S. mutans* (33).

Nedavna su istraživanja demonstrirala kako laktobacili posjeduju antimikrobnu aktivnost protiv parodontopatogenih bakterija uključujući *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* i *P. intermedia*. *L. reuteri* je pokazao inhibitorni učinak na *S. mutans*, *T. forsythia* i *S. gordonii* i manji inhibitorni učinak protiv *Actinomyces naeslundii*. *A. actinomycetemcomitans* sojevi mogu biti inhibirani različitim laktobacilus sojevima, dok *P. gingivalis* i *F. nucleatum* mogu biti inhibirati *L. rhamnosus* GG sojevima (1).

Trebalo bi imati na umu kako se probiotski bakterijski sojevi mogu različito ponašati ili, pak, inducirati potpuno suprotne učinke. Budući da sigurno postoji toliko različitih dijetetskih probiotskih sojeva koliko ima i probiotskih proizvoda, bilo bi poželjno i razumno informirati se i voditi evidenciju pacijenata koji koriste probiotike svakodnevno, pratiti oralno zdravlje mladih pacijenata koji koriste probiotike ili pratiti oralno zdravlje pacijenata koji su koristili probiotike usporedo s antibioticima, antisepticima ili u kombinaciji s mehaničkim uklanjanjem domaće mikroflore ili tijekom razdoblja imunosupresije. Činjenica da relativno lako i bez većih nuspojava možemo reducirati razinu oralne domaće mikroflore i tako omogućiti više mjesta za kolonizaciju probiotskim bakterijama veliki je napredak (31).





Probiotici su pronašli primjenu u oralnom zdravlju zbog svojih korisnih učinaka koja se zbog samo privremene kolonizacije mogu zadržati sve dok se probiotski soj primjenjuje. Neki od korisnih učinaka probiotika jesu kapacitet da reduciraju broj *S. mutans* bakterija u slini i plaku, neovisno o formi primjene probiotske bakterije, i posljedično smanje pojavnost karijesa. Nadalje imaju mogućnost redukcije i gingivalnog i plak indeksa u pacijenata s umjerenim do teškim gingivitisom, a kod pacijenata s parodontitisom, u kombinaciji sa struganjem i poliranjem korijena, dovode do znatnog poboljšanja kliničkih parametara te smanjenja broja *P. gingivalis*. Također imaju mogućnost proizvodnje antimikrobnih tvari i modulacije imunog odgovora domaćina.

Upotreba je probiotika u svrhu općega i oralnoga zdravlja u sve većem porastu i potrebna su daljnja klinička istraživanja, pogotovo s gledišta oralnoga zdravlja kako bi se procijenio rizik za oralno zdravlje kod dugotrajne upotrebe dijetetskih probiotika. Velika je pažnja i dalje potrebna jer nije sigurno da ne postoji „prozor infektivnosti“ u kojemu pacijent može biti trajno koloniziran, bilo da se „prozor infektivnosti“ odvija prirodnim putem, kao kod djece u razvoju, ili da je induciran antibioticima, antisepticima, imunoupresijom ili mehaničkim uklanjanjem domaće oralne mikroflore.

Jedini probiotski pristup koji bi zahtijevao samo jednu primjenu jest modificirani *S. mutans* soj Hillmana i suradnika. Ovaj pristup bi se trebao uskoro testirati u in vivo uvjetima na čovjeku jer postoji velika potreba za objašnjenjem uloge korisne oralne mikroflore, za identificiranjem korisnih bakterija te potreba za provođenjem ispravnih istraživanja velikih razmjera o koristi probiotika u održanju ili poboljšanju oralnoga zdravlja.

## **9. LITERATURA**

1. Toiviainen A. Probiotics and oral health: In vitro and clinical studies. *Annales Universitatis Turkuensis, Sarja–Ser. D, Medica-Odontologica*; 2015.
2. Arweiler NB, Netuschil L. The Oral Microbiota. *The oral microbiota, Adv Exp Med Biol.* 2016;902:45-60.
3. Perić M. Oralno zdravlje za vaše zdravlje. Zagreb:Školska knjiga; 1998. Str. 7-8.
4. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics.* 2006;118(2):511-21.
5. Lif Holgerson P, Harnevik L, Hernell O, Tanner AC, Johansson I. Mode of Birth Delivery Affects Oral Microbiota in Infants. *J Dent Res.* 2011;90(10):1183–8.
6. Nelun Barfod M, Magnusson K, Lexner MO, Blomqvist S, Dahlén G, Twetman S. Oral microflora in infants delivered vaginally and by caesarean section. *Int J Paediatr Dent.* 2011;21(6):401-6.
7. Li Y, Caufield PW, Dasanayake AP, Wiener HW, Vermund SH. Mode of Delivery and Other Maternal Factors Influence the Acquisition of *Streptococcus mutans* in Infants. *J Dent Res.* 2005;84(9):806-11.
8. Matamoros S, Gras-Leguen C, Le Vacon F, Potel G, de La Cochetiere MF. Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health. *Trends Microbiol.* 2013;21(4):167-73.
9. Listgarten MA. The structure of dental plaque. *Periodontol 2000.* 1994;5(1):52-65.
10. Smith DJ, Anderson JM, King WF, van Houte J, Taubman MA. Oral streptococcal colonization of infants. *Oral Microbiol Immunol.* 1993;8(1):1-4.
11. Pearce C, Bowden GH, Evans M, Fitzsimmons SP, Johnson J, Sheridan MJ, et al. Identification of pioneer viridans streptococci in the oral cavity of human neonates. *J Med Microbiol.* 1995;42(1):67-72.
12. Caufield PW, Cutter GR, Dasanayake AP. Initial acquisition of mutans streptococci by infants: evidence for a discrete window of infectivity. *J Dent Res.* 1993; 72(1):37-45.
13. Marsh PD, Møter A, Devine DA. Dental plaque biofilms: communities, conflict and control. *Periodontol 2000.* 2011;55(1):16-35.
14. Wolf HF, Rateitschak-Pluss EM, Rateitschak KH. *Parodontologija.* 3. prerađeno i prošireno izdanje. Zagreb:Naklada Slap; 2009. Str. 23-26.
15. Marsh PD. Dental Plaque as a Microbial Biofilm. *CariesRes.* 2004;38(3):204-11.

16. Kolenbrander PE, Palmer RJ, Periasamy S, Jakubovics NS. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance. *Nat Rev Microbiol.* 2010;8(7):471-80.
17. Marsh PD, Devine DA. How is the development of dental biofilms influenced by the host?. *J Clin Periodontol.* 2011;38:28-35.
18. Lindhe J, Karring T, Lang NP. *Klinička parodontologija i dentalna implantologija.* Zagreb: Nakladni zavod Globus; 2004. Str. 83-90.
19. Šutalo J i sur. *Patologija i terapija tvrdih zubnih tkiva.* Zagreb: Naklada Zadro; 1994. Str. 159.
20. Leme AP, Koo H, Bellato CM, Bedi G, Cury JA. The Role of Sucrose in Cariogenic Dental Biofilm Formation--New Insight. *J Dent Res.* 2006;85(1):878-87.
21. Marsh PD. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology.* 2003;149(2):279-94.
22. Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev.* 1986;50(4):353-80.
23. Fejerskov O, Kidd EAM. *Zubni karijes Bolest i klinički postupci.* Naklada Slap; 2011. Str. 164-82.
24. Takahashi N, Nyvad B. Caries ecology revisited: microbial dynamics and the caries process. *Caries Res.* 2008;42(6):409-18.
25. Darveau RP, Tanner A, Page RC. The microbial challenge in periodontitis. *Periodontol* 2000. 1997;14(1):12-32.
26. Ximénez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. *J Clin Periodontol.*2000;27(9):648-57.
27. Kechagia M, Basoulis D, Konstantopoulou S, Dimitriadi D, Gyftopoulou K, Skarmoutsou S, et al. Health benefits of probiotics: a review. *ISRN Nutr.* 2013;2013
28. Haukioja A. Probiotics and oral health. *Eur J Dent.* 2010;4(3):348-355.
29. Shewale RN, Sawale PD, Khedkar CD, Singh A. Selection criteria for probiotics: A review. *Int J Probiot Prebiot,* 2014;9.
30. Cildir SK, Germec D, Sandalli N, Ozdemir FI, Arun T, Twetman S, Caglar E. Reduction of salivary mutans streptococci in orthodontic patients during daily consumption of yoghurt containing probiotic bacteria. *Eur J Ortho.* 2009;31(4):407-11.
31. Teughels W, Van Essche M, Sliepen I, Quirynen M. Probiotics and oral healthcare. *Periodontol* 2000. 2008;48(1):111-47.

32. Damle SG, Yadav R, Garg S, Dhindsa A, Beniwal V, Loomba A, Chatterjee S. Transmission of mutans streptococci in mother-child pairs. *Indian J Med Res.* 2016;144(2):264-70.
33. Sarmiento ÉG, Cesar DE, Martins ML, de Oliveira Góis EG, Martins EM, da Rocha Campos AN, Del'Duca A, de Oliveira Martins AD. Effect of probiotic bacteria in composition of children's saliva. *Food Research International.* 2019;116:1282-8.
34. Glavina D, Goršeta K, Škrinjarić I, Vranić DN, Mehulić K, Kožul K. Effect of LGG Yoghurt on Streptococcus Mutans and Lactobacillus Spp Salivary counts in children. *Coll Antropol* 2012;36(1):129-132.



Klara Bošnjak rođena je 14. svibnja 1995. u Vinkovcima. Nakon završene Osnovne škole „Ivan Mažuranić” u Vinkovcima, obrazovanje nastavlja u Gimnaziji „Matija Antun Reljković” Vinkovci, prirodoslovno-matematički smjer. Završetkom gimnazije, 2014. godine upisuje studij dentalne medicine na Stomatološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

Nakon završenoga diplomskog studija, stečena stručna znanja želi primijeniti na podizanje svijesti šire populacije, prije svega djece, o važnosti očuvanja oralnoga zdravlja, kao osnove za prevenciju razvoja oralnih bolesti te svoj potencijal želi razvijati u tom smjeru.

U slobodno se vrijeme bavi glazbom, slikanjem i fotografijom, voli putovanja, životinje i prirodu.