

Abstract

Probiotika og orale sygdomme

Den stigende anvendelse af probiotiske bakterier inden for det gastrointestinale område har medført en øget interesse for probiotikas effekt på det orale miljø og de mulige anvendelsesområder både i forbindelse med forebyggelse og behandling.

Formålet med denne artikel er kort at sammenfatte aktuel forskning vedrørende probiotika og dets potentiale til at påvirke orale sygdomstilstande. Indtagelse af probiotiske bakterier kan påvirke biofilmen i mundhulen både lokalt og systemisk. Lokalt kan plakens sammensætning ændres og systemisk påvirke immunforsvaret.

Generelt ses lovende resultater inden for cariologi og parodontologi, men der mangler flere kliniske studier, før der kan gives egentlige kliniske anbefalinger for anvendelsen.

Emneord:
Biofilms;
caries;
halitosis;
periodontitis;
probiotics

Probiotika og orale sygdomme

Mette Kirstine Keller, tandlæge, ph.d.-studerende, Afdeling for Cariologi og Endodonti, Odontologisk Institut, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet

Svante Twetman, professor, odont.dr., Afdeling for Cariologi og Endodonti, Odontologisk Institut, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet

Caries og marginal parodontitis hører til de mest almindelige biofilm-associerede sygdomme i verden. Ifølge den økologiske plakhypotese skyldes begge tilstande, at balancen og diversiteten i biofilmen forskydes som følge af en ændring i mikromiljøet. Hyppigt indtag af fermenterbare kulhydrater medfører lave pH-værdier og en stresspåvirkning, der øger væksten af en syretolerant supragingival mundhuleflora (acidure fænotyper), som disponerer for caries (1). I forbindelse med marginal parodontitis medvirker sammensætningen af det forøgede flow af gingivalvæske til produktion af proteaser, som bidrager til udviklingen af en proteolytisk subgingival biofilm (proteolytiske fænotyper), som direkte og indirekte skader tændernes støttevæv (2). I begge tilfælde er det altså biofilmens overordnede funktion snarere end specifikke patogener, som spiller hovedrollen. Dette indebærer nye strategier for både forebyggelse og behandling. I stedet for at forsøge at bekæmpe specifikke genotyper ved hjælp af antiseptika og antibiotika bør den økologiske ubalance modvirkes via »positiv« miljøpåvirkning, fx fluoreksponering, basegenererende substanser, antibakterielle peptider og proteaseinhibitorer. En anden strategi kan være at tilføre »gode« ikke-sygdomsfremkaldende bakterier for at bevare diversiteten og balancen i biofilmen (3). Formålet med denne artikel er kort at sammenfatte aktuel klinisk forskning vedrørende probiotika og dets potentiale til at påvirke orale sygdomstilstande. For en bredere gennemgang af probiotika og dens effekt på det almene helbred henvises læseren til aktuelle oversigtsartikler om emnet (4,5).

Probiotika

Begrebet probiotika stammer fra det græske *pro bios* (for livet) og defineres af WHO som »levende mikroorganismer, eller dele af dem, som, når de tilføres i tilstrækkelige mængder, har en gavnlig effekt på individets helbred og velbefindende« (6). De mest almindelige probiotiske bakterier tilhører grupperne laktobaciller og bifidobakterier, som er naturligt forekommende i tarmfloraen, men også visse varianter af streptokokker og *Candida*-arter kan klassificeres som probiotiske. Probiotika kan administreres på mange forskellige måder (sugetabletter, tyggegummi, kapsler,

mundskyllevæsker), men det mest almindelige er at tilsætte levende bakteriekulturer til mejeriprodukter såsom yoghurt, ost og is. Ud fra en terapeutisk synsvinkel er det vigtigt, at probiotika indtages regelmæssigt (mindst fire dage/uge), da bakterierne ikke koloniserer mundhulen eller tarmen permanent (7). Den daglige dosis angives som regel til 1,5-2 dl drik (fx yoghurt) med omkring 10^7 - 10^8 levende bakterier pr. ml. Indtagelse af probiotika kategoriseres som værende sikkert (GRAS = generally regarded as safe), og der er ikke konstateret nogen sundhedsrisiko ved overdosering. Et tydeligt bevis på dette er, at laktobaciller har været anvendt til konservering af mad, så længe menneskets madvaner har været kendt.

Virkningsmekanismer

De eksakte virkningsmekanismer er ikke kendt i detaljer, men princippet bygger på, at ikke-sygdomsfremkaldende bakterier (probiotika) optager en plads i biofilmen, som ellers skulle være koloniseret med sygdomsfremkaldende bakterier. Indtagelse af probiotiske bakterier kan påvirke biofilmen i mundhulen både lokalt og systemisk; lokalt ved indtagelse og systemisk (indirekte), når føden er nået ned til tarmkanalen. Lokalt kan de probiotiske bakterier virke antagonistisk og konkurrere om bindingssteder og næringsstoffer med den øvrige orale flora. Desuden kan probiotiske bakterier i visse tilfælde producere bakteriociner (fx brintoverilte og reuterin), som direkte hæmmer væksten af patogene bakterier. Systemisk, i mave-tarmkanalen, stimulerer probiotika immunforsvaret ved at modulere inflammationsprocessen via T-celler og cytokiner. Som tidligere nævnt kan probiotika virke ved at påvirke immunforsvaret uden at kolonisere en biofilm permanent. Interessen for at udnytte probiotika som supplement til inflammations- og infektionsbehandling er stigende på grund af den foruroligende øgning af resistente bakterier, der er opstået som følge af overforbrug af antibiotika i forskellige former.

Effekt på orale sygdomme

Forskningen inden for probiotika og orale sygdomme befinder sig på nuværende tidspunkt i sin begyndelse og er nået længst inden for de store folkesygdomme caries og marginal parodontitis (Tabel 1). De fleste publikationer er laboratorieforsøg, hvor adhæsion, co-aggregation, inhibition og syreproduktion er blevet undersøgt med forskellige probiotiske stammer og orale patogener (8-11). Studierne viser tydeligt, at forskellige probiotiske stammer kan overleve og vokse i saliva og fæste til den orale biofilm. De kan også hæmme væksten af kliniske isolater af *Streptococcus mutans* og modvirke pH-fald og dermed et surt miljø (12,13). Det er desuden vist, at visse probiotiske laktobaciller udviser lav metabolisk aktivitet, når de eksponeres for cariogene sukkerarter som sukrose (8). Tilførsel af probiotika efter lokal behandling med antiseptika kan tænkes at modvirke genvæksten af patogener, og tilstedeværelsen af en »normal« mundhuleflora bestående af *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis* og *Streptococcus gordonii* kan effektivt forhindre reetablering af mutans streptokokker i flere måneder.

Probiotika og caries

En lang række kliniske studier har vist, at et regelmæssigt indtag af probiotiske bakterier leder til en mindsket mængde mutans streptokokker i saliva – i det mindste på kort sigt (14). Der har ikke kunnet påvises nogen almen øgning af antallet af laktobaciller, hvilket er interessant, da det tidligere er blevet fremført, at en tilførsel af homo- og heterofermenterende laktobaciller kunne øge syreproduktionen i biofilmen, og dermed også cariesrisikoen. At administrationsmetoden har betydning, er illustreret i en undersøgelse af Calgar et al. (15). Forskerne studerede effekten af *Lactobacillus reuteri*, når denne blev administreret, dels i form af en sugetablet for at sikre maksimal kontakt med mundhulen, dels gennem et coated sugerør for at minimere kontakten med tænder og mundslimhinde (den lokale påvirkning). Begge metoder

Probiotiske bakterier

Organisme	administration	potentiel effekt
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	mælk, yoghurt, ost	hæmmer MS, reduktion af krone- og rodcaries
<i>Lactobacillus reuteri</i>	sugetabletter, tyggegummi	mindre plak og gingivitis, anti-inflammatorisk
<i>Lactobacillus paracasei</i>	kosttilskud	hæmmer MS, reduktion af caries hos dyr
<i>Lactobacillus plantarum</i>	frugtdrik	hæmmer vækst af caries-associerede bakterier
<i>Lactobacillus salivarius</i>	tablet	modvirker gingivitis/parodontitis
<i>Bifidobacterium lactis</i>	yoghurt, is	reduktion af MS i saliva
<i>Streptococcus salivarius</i>	sugetablet	modvirker dårlig ånde
<i>Weissella cibaria</i>	mundskylning	modvirker dårlig ånde, reduktion af plak

Tabel 1. Eksempel på probiotiske bakterier, som anvendes i kliniske studier og laboratorieforsøg inden for odontologien.

Table 1. Examples of different probiotic strains used in clinical and laboratory studies in odontology.



mindskede mængden af mutans streptokokker i saliva signifikant, men hæmningen var mere markant ved administration gennem sugetabletter – og derved med både lokal og systemisk eksponering. Det er også vist, at de probiotiske bakterier ikke behøver at være levende for at fungere aktivt. I et dyrestudie har man for nylig fundet en mindskelse af cariesforekomsten hos mus, som fik et varmebehandlet ekstrakt af *Lactobacillus paracasei* (16).

Der findes endnu kun få kliniske undersøgelser, som har studeret effekten af probiotika med cariesudvikling som endemål. En aktuell undersøgelse har vist, at naturligt forekommende laktobaciller som *Lactobacillus acidophilus* og *L. reuteri* kan forbindes med lav cariesfrekvens hos småbørn, mens mutans streptokokker som *S. mutans* og *Streptococcus sobrinus* har en stærk sammenhæng med høj cariesaktivitet (17). Tanaka et al. (18) har for nylig vist, at treårige børn med et hyppigt indtag af yoghurt (≥ 4 gange om ugen) har signifikant mindre caries end de børn, som indtager yoghurt mere sjældent (< 1 gang om ugen).

I et finsk interventionsstudie blev der uddelt mælk med *Lactobacillus rhamnosus* LGG gennem syv måneder til førskolebørn, hvilket viste sig at have en positiv effekt i form af en mindsket cariesrisiko (19). I testgruppen fik 6 % af børnene nye cariesangreb, sammenlignet med 15 % af de børn, der fik almindelig mælk. Derudover sås færre luftvejsinfektioner og mindsket sygefravær blandt børnene i testgruppen, der havde et mindre forbrug af antibiotika (20). I en lignende undersøgelse

fra Nordsverige fik førskolebørn med høj cariesrisiko uddelt mælk tilsat en kombination af *L. rhamnosus* LB21 og 2,5 ppm fluor gennem 21 måneder (21). Cariesreduktionen var 75 % sammenholdt med kontrolgruppen, der fik almindelig mælk. Også her registrerede man almene sundhedsgevinster i form af færre tilfælde af mellemørebetændelse og en mindskelse af antibiotikaforbrug. På grund af en begrænset tilgang til forsøgspersoner var det ikke muligt at skelne mellem effekten af fluor og effekten af probiotika. Det bør i denne sammenhæng pointeres, at mælkeprodukter i sig selv har anti-cariogene egenskaber, i og med at de indeholder stoffer (kalcium, fosfat og kasein), som medvirker til remineralisation.

Indtag af probiotika sammen med mælk kan derudover inaktivere rodcaries hos ældre. I et dobbeltblindet forsøg indtog personer med aktiv rodcaries (blød, læderagtig dentin) probiotiske laktobaciller gennem 15 måneder, og man sammenlignede med fluor og placebo (22). Generelt blev alle læsionerne hårdere med tiden, men effekten var signifikant større i fluor- og probiotikagrupperne sammenlignet med gruppen, der fik placebo (Fig. 1).

Probiotika og gingivitis/marginal parodontitis

Studier med *L. reuteri* har vist en hæmning af forekomsten af *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* og *porphyromonas gingivalis* både i laboratoriet, på rotter og på mennesker (23,24). Der er desuden blevet rapporteret en positiv effekt på plakmængden, gingivitis og blødning ved sondering, hvilket giver anledning til let optimisme i forhold til probiotiske bakteriers evne til at mindske udviklingen af parodontal sygdom (25,26). Denne antagelse er delvist blevet bekræftet af et observationsstudie fra Japan (27). Forskerne kunne dér konstatere, at blandt voksne personer, som dagligt indtog > 55 g af en kost indeholdende fermenterbare laktobaciller, havde 11 % fordybte pocher på > 4 mm), mens i en kontrolgruppe havde 89 % af personerne tilsvarende fordybte pocher på > 4 mm. Flere undersøgelser har vist, at indtag af probiotiske bakterier kan modvirke gingivitis og reducere pochedybden (28-30). Hollandske forskere har studeret rekolonisationen af sygdomsfremkaldende bakterier i gingivalvæksten efter parodontaloperationer og rodscaling på hunde. Det viste sig, at hvis rodoverfladen blev lokalbehandlet med *L. reuteri* i forbindelse med operationen, kunne rekolonisationen af visse bakterier, som er associeret med marginal parodontitis, forsinkes eller endda forhindres (14). Samme type af probiotiske bakterier er blevet anvendt i et dansk forsøg, hvor en gruppe unge voksne med gingivitis blev bedt om at tygge probiotisk tyggegummi to gange dagligt i to uger (31). Blødningstendensen og mængden af gingivalvæske mindskedes sammenholdt med placebogruppen, ligesom niveauerne af de proinflammatoriske cytokiner TNF- α og IL-8 også blev lavere. To uger efter at deltagerne stoppede med at tygge probiotisk tyggegummi, var de signifikante forskelle dog forsvundet. Studiet havde få deltagere og en kort opfølgingsperiode, men viste for første gang, at probiotiske bakterier kan påvirke immunforsvaret i mundhulen.

Remineraliseringsresultater

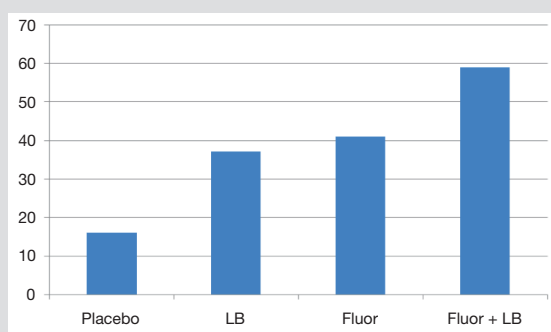


Fig. 1. Remineralisering af aktiv rodcaries hos ældre efter 15 måneders indtag af mælk tilsat 5 ppm fluorid og/eller probiotiske laktobaciller (*L. rhamnosus* LB21). Y-aksen angiver det procentuelle antal carieslesioner som blev inaktiveret. Præliminære data fra Petersson et al. 2010.

Fig. 1. Remineralization of active root caries in elderly people after 15 months of intake of milk containing 5 ppm fluoride and/or probiotic lactobacilli (*L. rhamnosus* LB21). Y-axis specifies the percentage number of caries lesions which was inactivated. Preliminary data from Petersson et al. 2010.

Probiotika og øvrige orale tilstande

Dårlig ånde (halitosis) påvirker mange mennesker og skyldes bl.a. visse bakterier (*Fusobacterium nucleatum*, *P. gingivalis*, *Prevotella intermedia* og *Treponema denticola*) i mundhulen, svælget og især på tungeryggen og tonsillerne. Disse bakterier producerer flygtige svovlholdige stoffer ved nedbrydning af proteiner og afstødte celler fra mundslimhinden. Placebokontrollerede studier har vist, at en daglig tilførsel af bacteriocin-producerende probiotiske bakterier af typen *Weissella cibria* og *Streptococcus salivarius* kan reducere mængderne af de ildelugtende svovlforbindelser hos voksne forsøgspersoner (30,32,33). I et aktuelt studie fra Københavns Universitet er det desuden vist, at udåndingsluften kan påvirkes positivt ved anvendelse af sugetabletter med *L. reuteri* sammenholdt med placebo (34). Det drejede sig om unge voksne med subjektiv oplevelse af dårlig ånde, og effekten blev bedømt objektivt af et organoleptisk panel. Et andet potentielt anvendelsesområde af probiotika er behandling af svampeinfektioner i mundhulen. Et studie på ældre mundtørre patienter viste en signifikant lavere prævalens af orale *Candida*-arter efter dagligt indtag af ost (50 g), der var tilsat probiotiske bakterier (*L. rhamnosus* GG) gennem 16 uger (35). Dette kan have en klinisk betydning, da mange ældre mennesker lider af candidose, men det kræver flere studier, før det er muligt at drage nogle kliniske konklusioner.

En undersøgelse fra en intensivafdeling er også interessant set fra en odontologisk synsvinkel. En almindelig og alvorlig komplikation hos intuberede patienter er lungeinfektioner på grund af sygdomsfremkaldende bakterier fra mundhule og svælg. Risikoen for komplikationer kan mindskes ved at rengøre slimhinder og tænder flere gange om dagen, og normalt anvendes klorhexidin. Klarin et al. (36) udførte en sammenlignende undersøgelse mellem den etablerede metode, og en alternativ model, hvor *Lactobacillus plantarum* blev brugt til at hæmme væksten af den sygdomsfremkaldende mikroflora i mundhulen. Man fandt færre nye bakterietyper hos de patienter, som blev behandlet med *L. plantarum*, men undersøgelsen var ikke tilstrækkelig stor til at kunne afgøre, om lokalbehandlingen med probiotika førte til færre tilfælde af lungeinfektioner. Studiet illustrerer dog, at mundfloraen kan påvirkes i lige så høj grad som med klorhexidin, hvilket regnes som »golden standard«.

Konklusion

Behandlingen af biofilms-medierede sygdomme bør rettes mod biofilms fænotyper i højere grad end dens genotyper for at støtte en stabil og mangearteret bakterieflora. Interessen for probiotika inden for odontologien er gennem de sidste år vokset i og med, at man har påvist gavnlig effekt i forskellige dele af mave-tarm-kanalen. Forskningsresultaterne indtil nu tyder på, at et regelmæssigt indtag eller lokal behandling med probiotiske bakterier kan mindske forekomsten af cariogene mikroorganismer og modvirke rekolonisation af parodontale patogener. Der er dog stadig mange problemstillinger, der skal besvares, inden man

KLINISK RELEVANS

Brugen af probiotika har potentiale til at påvirke orale sygdomstilfælde, men den kan endnu ikke erstatte de eksisterende forebyggelses- og behandlingsmetoder. Brugen af probiotika kan udelukkende fungere som et supplement til metoderne. Der er endnu for få kliniske studier til at give kliniske retningslinjer for anvendelsen.

med sikkerhed ved, om probiotika fremmer den orale sundhed, og man kan give anbefalinger for anvendelsen. Det er også vigtigt at understrege, at probiotika udelukkende er et supplement til anden behandling og ikke kan erstatte etablerede forebyggelsesmetoder såsom fluor og mekanisk rengøring.

Abstract (English)

Probiotics and oral diseases

The increased use of probiotic bacteria to improve gastrointestinal health has led to further interest in the effect on the oral environment and the possible applications for both prevention and treatment.

The aim of this article is to summarize the current knowledge regarding probiotics and the potential to influence oral health. The probiotic bacteria can affect the oral biofilm locally and systemically. Locally, the composition of the dental biofilm can be altered and, systemically, changes in the immune system can be induced. Generally, promising results within the fields of cariology and periodontology has been recorded, but more clinical studies are needed before any guidelines for the use of probiotics can be given.

Litteratur

- Marsh PD. Microbiology of dental plaque biofilms and their role in oral health and caries. *Dent Clin North Am* 2010; 54: 441-54.
- Schaudinn C, Gorur A, Keller D et al. Periodontitis: an archetypical biofilm disease. *J Am Dent Assoc* 2009; 140: 978-86.
- He X, Lux R, Kuramitsu HK et al. Achieving probiotic effects via modulating oral microbial ecology. *Adv Dent Res* 2009; 21: 53-6.
- de Vrese M, Schrezenmeir J. Probiotics, prebiotics, and synbiotics. *Adv Biochem Eng/Biotechnol* 2008; 111: 1-66.
- Goldin BR, Gorbach SL. Clinical indications for probiotics: an overview. *Clin Infect Dis* 2008; 46 (Suppl 2): S96-100
- WHO, http://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf
- Haukioja A. Probiotics and oral health. *Eur J Dent* 2010; 4: 348-55.
- Hedberg M, Hasslöf P, Sjöström I et al. Sugar fermentation in probiotic bacteria – an in vitro study. *Oral Microbiol Immunol* 2008; 23: 482-5.
- Twetman L, Larsen U, Fiehn NE et al. Coaggregation between probio-

- tic bacteria and caries-associated strains: An in vitro study. *Acta Odontol Scand* 2009; 67: 1-5.
10. Hasslöf P, Hedberg M, Twetman S et al. Growth inhibition of oral mutans streptococci and candida by commercial probiotic lactobacilli – an in vitro study. *BMC Oral Health* 2010; 10: 18.
 11. Haukioja A, Yli-Knuuttila H, Loimaranta V et al. Oral adhesion and survival of probiotic and other lactobacilli and bifidobacteria in vitro. *Oral Microbiol Immunol* 2006; 21: 326-32.
 12. Keller MK, Hasslöf FP, Stecksén-Blicks C et al. Co-aggregation and growth inhibition of probiotic lactobacilli and clinical isolates of mutans streptococci: An in vitro study. *Acta Odontol Scand* 2011; 69: in press.
 13. Lodi CS, Manarelli MM, Sasaki KT et al. Evaluation of fermented milk containing probiotic on dental enamel and biofilm: in situ study. *Arch Oral Biol* 2010; 55: 29-33.
 14. Teughels W, van Essche M, Sliepen I et al. Probiotics and oral health-care. *Periodontol* 2000 2008; 48: 111-47.
 15. Caglar E, Cildir SK, Ergeneli S et al. Salivary mutans streptococci and lactobacilli levels after ingestion of the probiotic bacterium *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 by straws or tablets. *Acta Odontol Scand* 2006; 64: 314-8.
 16. Tanzer JM, Thompson A, Lang C et al. Caries inhibition by and safety of *Lactobacillus paracasei* DSMZ16671. *J Dent Res* 2010; 89: 921-6.
 17. Kanasi E, Johansson I, Lu SC et al. Microbial risk markers for childhood caries in pediatricians' offices. *J Dent Res* 2010; 89: 378-83.
 18. Tanaka K, Miyake Y, Sasaki S. Intake of dairy products and the prevalence of dental caries in young children. *J Dent* 2010; 38: 579-83.
 19. Näse L, Hatakka K, Savilahti E et al. Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG, in milk on dental caries and caries risk in children. *Caries Res* 2001; 35: 412-20.
 20. Hatakka K, Ahola AJ, Yli-Knuuttila H et al. Probiotics reduce the prevalence of oral candida in the elderly – a randomized controlled trial. *J Dent Res* 2007; 86: 125-30.
 21. Stecksén-Blicks C, Sjöström I, Twetman S. Effect of long-term consumption of milk supplemented with probiotic lactobacilli and fluoride on dental caries and general health in preschool children: a cluster-randomized study. *Caries Res* 2009; 43: 374-81.
 22. Petersson LG, Magnusson K, Hakkestam U et al. Reversal of primary root caries lesions after daily intake of milk supplemented with fluoride and probiotic lactobacilli in older adults. 2011; submitted.
 23. Zhu Y, Xiao L, Shen D et al. Competition between yogurt probiotics and periodontal pathogens in vitro. *Acta Odontol Scand* 2010; 68: 261-8.
 24. Mayanagi G, Kimura M, Nakaya S et al. Probiotic effects of orally administered *Lactobacillus salivarius* WB21-containing tablets on periodontopathic bacteria: a double-blinded, placebo-controlled, randomized clinical trial. *J Clin Periodontol* 2009; 36: 506-13.
 25. Harini PM, Anegundi RT. Efficacy of a probiotic and chlorhexidine mouth rinses: a short-term clinical study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2010; 28: 179-82.
 26. Vivekananda MR, Vandana KL, Bhat KG. Effect of the probiotic *Lactobacilli reuteri* (Prodentis) in the management of periodontal disease: a preliminary randomized clinical trial. *J Oral Microbiol* 2010; 2: 1-9.
 27. Shimazaki Y, Shirota T, Uchida K et al. Intake of dairy products and periodontal disease: the Hisayama Study. *J Periodontol* 2008; 79: 131-7.
 28. Krasse P, Carlsson B, Dahl C et al. Decreased gum bleeding and reduced gingivitis by the probiotic *Lactobacillus reuteri*. *Swed Dent J* 2006; 30: 55-60.
 29. Shimauchi H, Mayanagi G, Nakaya S et al. Improvement of periodontal condition by probiotics with *Lactobacillus salivarius* WB21: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Periodontol* 2008; 35: 897-905.
 30. Iwamoto T, Suzuki N, Tanabe K et al. Effects of probiotic *Lactobacillus salivarius* WB21 on halitosis and oral health: an open-label pilot trial. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010; 110: 201-8.
 31. Twetman S, Derawi B, Keller M et al. Short-term effect of chewing gums containing probiotic *Lactobacillus reuteri* on the levels of inflammatory mediators in gingival crevicular fluid. *Acta Odontol Scand* 2009; 67: 19-24.
 32. Burton JP, Chilcott CN, Moore CJ et al. A preliminary study of the effect of probiotic *Streptococcus salivarius* K12 on oral malodour parameters. *J Appl Microbiol* 2006; 100: 754-64.
 33. Kang MS, Kim BG, Chung J et al. Inhibitory effect of *Weissella cibaria* isolates on the production of volatile sulphur compounds. *J Clin Periodontol* 2006; 33: 226-32.
 34. Keller MK, Bardow A, Jensdottir T et al. Effect of chewing gums containing *Lactobacillus reuteri* on oral malodour. 2011; submitted.
 35. Hatakka K, Savilahti E, Pönkä A et al. Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centres: double blind, randomised trial. *BMJ* 2001; 322: 1327-31.
 36. Klarin B, Molin G, Jeppsson B et al. Use of the probiotic *Lactobacillus plantarum* 299 to reduce pathogenic bacteria in the oropharynx of intubated patients: a randomised controlled open pilot study. *Crit Care* 2008; 12: R136.