

ABSTRACT

Probiotika og caries

Probiotiske bakterier har været en del af kosten i langt de fleste lande gennem tiderne. De oftest anvendte stammer er af bifidobakterier og laktobaciller, men også nogle *Streptococcus*-stammer har været anvendt i forsøg og kan findes i enkelte produkter. De mest almindelige administrationsformer er tyggetabletter eller mælk (enten almindelig mælk eller mælkepulver), men flere andre måder såsom yoghurt, kefir, is, ost, grød og dråber er også blevet brugt.

Det menes, at der er forskellige virkningsmekanismer involveret i effekten af probiotiske bakterier på cariesrelaterede forhold. Overordnet set kan disse opdeles i henholdsvis en lokal effekt og en systemisk effekt. To systematiske reviews har konkluderet, at der er evidens for, at et regelmæssigt indtag af probiotiske bakterier kan mindske andelen af mutans streptokokker i saliva (13,14), og konkluderer, at probiotika kan have en gavnlig effekt i cariesforebyggelse.

De kliniske studier, der undersøger caries, er publiceret fra 2001 til nu, men hovedparten er publiceret indenfor de sidste tre år. Den forebyggende effekt i de kliniske studier svinger mellem 5 % og 75 %. Dette kan muligvis skyldes, at studierne er meget heterogene mht. design, interventionsperiode, antal deltagere osv. I de nævnte studier måles caries umiddelbart efter en interventionsperiode af varierende længde, men enkelte nyere studier følger også op på effekten af en interventionsperiode flere år tidligere.

Særligt studierne med opfølgning mange år efter interventionen er interessante, da de tyder på, at man ved tidlig intervention i barnets første leveår kan opnå en længerevarende effekt.

Probiotika og caries

Mette Kirstine Keller, adjunkt, ph.d., Afdelingen for Cariologi og Endodonti, Odontologisk Institut, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet

Accepteret til publikation den 26. juli 2016

Probiotiske bakterier har været en del af kosten i langt de fleste lande gennem tiderne. Nobelprismodtageren Élie Metchnikoff beskrev i sin bog "The Prolongation of Life: Optimistic Studies" fra 1907, hvordan påvirkning af mikroflora i mave-tarm-kanalen med gavnlige bakterier kunne fremme helbredet. Hans tanker opnåede en vis interesse i begyndelsen af forrige århundrede, men senere flyttede fokus sig til opdagelsen og udvikling af penicillin og andre antibiotika. Det var da også indenfor immunologien, at Metchnikoff modtog Nobelprisen, men de seneste 20 års forskning indenfor den humane mikrobiom har medført øget interesse for virkningen og anvendelsen af probiotiske bakterier (1).

De probiotiske bakterier defineres som "levende mikroorganismer, eller dele af dem, som, når de tilføres i tilstrækkelige mængder, har en gavnlig effekt på individets helbred og velbefindende" (2). De oftest anvendte stammer er af bifidobakterier og laktobaciller, men også nogle *Streptococcus*-stammer har været anvendt i forsøg (Fig. 1) og kan findes i enkelte produkter. Der er endnu ingen resultater, der peger på, at nogen stammer har større effekt end andre, men de enkelte stammers virkning er specifik, og én stammes effekt kan derfor ikke nødvendigvis automatisk overføres til andre stammer. Udover de probiotiske bakterier er også præbiotika interessant, når man ser på kostens indflydelse på caries. Præbiotika er ufordøjelige dele af føden som fx oligosakkarider, inulin og laktulose, der enten tilsættes eller er en naturlig del af føden (3) og stimulerer væksten af probiotiske bakterier. Præbiotika er vist at have effekt på flere tilstande såsom allergi og eksem (4,5), mens en effekt af præbiotika i forhold til oral sygdom indtil nu kun har været foreslået teoretisk, men ikke undersøgt klinisk (6,7).

I de kliniske studier, der undersøger effekt på caries eller cariesrelaterede parametre, er der anvendt mange forskellige måder at administrere de probiotiske bakterier. De mest almindelige administrationsformer er tyggetabletter eller mælk (enten almindelig mælk eller mælkepulver), men flere andre måder såsom yoghurt, kefir, is, ost, grød og dråber er også blevet brugt. Fælles for disse er, at bakteriestammerne er blevet tilsat

produktet, hvilket gør, at man kan kontrollere, hvilke stammer der indgår og i hvilken koncentration. Mange fermenterede fødevarer indeholder imidlertid også naturligt mælkesyrebakte-

EMNEORD

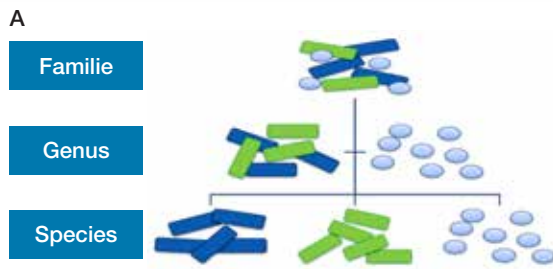
Probiotics;
dental caries;
dietary products



Henvendelse til forfatter:

Mette Kirstine Keller, email: mke@sund.ku.dk

Klassifikation af bakterier

**B**

Studie	Genus	Species	Stamme
Näse, 2001	<i>Lactobacillus</i>	<i>rhamnosus</i>	GG
Stecksén-Blicks, 2009	<i>Lactobacillus</i>	<i>rhamnosus</i>	LB21
Taipale, 2013	<i>Bifidobacterium</i>	<i>animales subsp. lactis</i>	BB-12
Hasslöf, 2013	<i>Lactobacillus</i>	<i>paracasei</i>	F19
Stensson, 2013	<i>Lactobacillus</i>	<i>reuteri</i>	ATCC 55730
Wattanarat, 2015	<i>Lactobacillus</i>	<i>paracasei</i>	SD1
Hedayati-Hajikand, 2015	<i>Streptococcus</i>	<i>uberis</i>	KJ2
	<i>Streptococcus</i>	<i>oralis</i>	KJ3
	<i>Streptococcus</i>	<i>rattus</i>	JH145
Rodríguez, 2016	<i>Lactobacillus</i>	<i>rhamnosus</i>	SP1

Fig. 1. Oversigt over de forskellige niveauer i det bakterielle herarki **A**) og oversigt over de bakteriestammer, der anvendes i de omtalte kliniske studier **B**).

Fig. 1. Overview of the different levels of the bacterial Hierarchy **A**) and the list of the bacterial strains used in the aforementioned clinical trials **B**).

rier, såsom upasteuriseret yoghurt eller kefir, koreansk kimchi, tysk sauerkraut, nogle oste og svensk surstrømming (8). Fermenteringsprocessen kan enten tage udgangspunkt i bakterier fra omgivelserne eller en specifik starterkultur (9). Effekten af de naturligt fermenterede fødevarer i forhold til caries er dog ikke undersøgt i kliniske studier, og indholdet af eventuelle probiotiske bakterier er langt mindre standardiseret. Dermed ville det også være sværere at vurdere effekten af de probiotiske bakterier præcist i kliniske studier.

Virkningsmekanismer

Det menes, at der er forskellige virkningsmekanismer involveret i effekten af probiotiske bakterier på cariesrelaterede forhold.

Overordnet set kan disse opdeles i henholdsvis en lokal effekt og en systemisk effekt. Lokalt i mundhulen påvirker de probiotiske stammer sammensætningen af plakken og dens metaboliske aktivitet. Dette sker ved, at bakterierne både konkurrerer om næringsstoffer og bindingssteder i plakken og hæmmer væksten af patogene stammer bl.a. ved hjælp af produktion af bakteriociner (10). Den systemiske effekt ses ved en påvirkning af immunresponset, hvor der sker en overordnet nedregulering af proinflammatoriske cytokiner, en opregulering af anti-inflammatoriske cytokiner og rekruttering af dendritiske celler og T-reg celler. Oralt er der rapporteret om både ændringer i salivas IgA (11) og cytokiner i gingivalvæsken (12), men studierne har begge forholdsvis få personer i undersøgelsesgrupperne. ➔

Samlet set menes den lokale effekt at have størst indflydelse på cariogene faktorer, mens den systemiske effekt menes at være en faktor med indflydelse på parodontal sygdomsudvikling.

Kliniske studier

Hovedparten af de kliniske studier vedrørende probiotika og caries undersøger mikrobiologiske parametre som fx mængden af laktobaciller eller mutans streptokokker i saliva. De fleste af disse studier har forholdsvis korte interventions- og opfølgingsperioder (mellem tre og 12 uger), hvilket ikke gør det muligt at undersøge en reel effekt på caries. I stedet finder man effekt på de mikrobiologiske mål eller andre kliniske mål såsom plakindeks og gingivalindeks. To systematiske reviews har konkluderet, at der er evidens for, at et regelmæssigt indtag af probiotiske bakterier kan mindske andelen af mutans streptokokker i saliva (13,14), og konkluderer, at probiotika kan have en gavnlig effekt i cariesforebyggelse. Derimod finder en meta-analyse ikke forskel på mængden af laktobaciller i saliva efter endt intervention (14). Dette er interessant, fordi det tyder på, at det ikke kun er tilstedeværelsen af de specifikke *Lactobacillus*-stammer, der har effekt, men snarere en ændring af det samlede miljø.

Det generelt øgede fokus på området har medført flere studier med caries som variabel, som denne artikel vil fokusere på.

De kliniske studier er publiceret fra 2001 til nu, men hovedparten er publiceret indenfor de sidste tre år. Fig. 2 viser en oversigt over den forebyggende effekt, der blev fundet i de kliniske studier (15-22). Den gennemsnitlige *preventive fraction* (forebyggende effekt) for studierne med caries som variabel er 41,5 %. Den forebyggende effekt i de kliniske studier svinger mellem 5 % og 75 %, og en meta-analyse (23) fandt ikke en samlet signifikant effekt. Dermed konkluderes, at der på nuværende tidspunkt ikke er nok evidens for at anbefale brug af probiotika til at forebygge eller behandle caries. Dette kan muligvis skyldes, at studierne er meget heterogene mht. design, bakterieart/-stamme, interventionsperiode, antal deltagere osv., hvilket gør det svært at sammenligne studierne. To studier, der har undersøgt effekten på caries, er blevet publiceret efter søgningen til den nævnte meta-analyse (18,19).

Det seneste studie (19) anvendte mælk med tilsatte probiotiske bakterier (*Lactobacillus rhamnosus* SPI) til interventionsgruppen og almindelig mælk til kontrolgruppen. Børnene, der indgik i studiet (2-3-årige), gik i vuggestuer, der blev tilfældigt inddelt i henholdsvis interventions- og kontrolgruppen. Der deltog 150 børn i interventionsgruppen og 111 børn i kontrolgruppen, men da enkelte flyttede fra området, var der henholdsvis 123 og 82 børn tilbage efter de 10 måneders intervention. Der var ikke forskel i cariesprævalens i de to grupper ved

Oversigt over kliniske studier

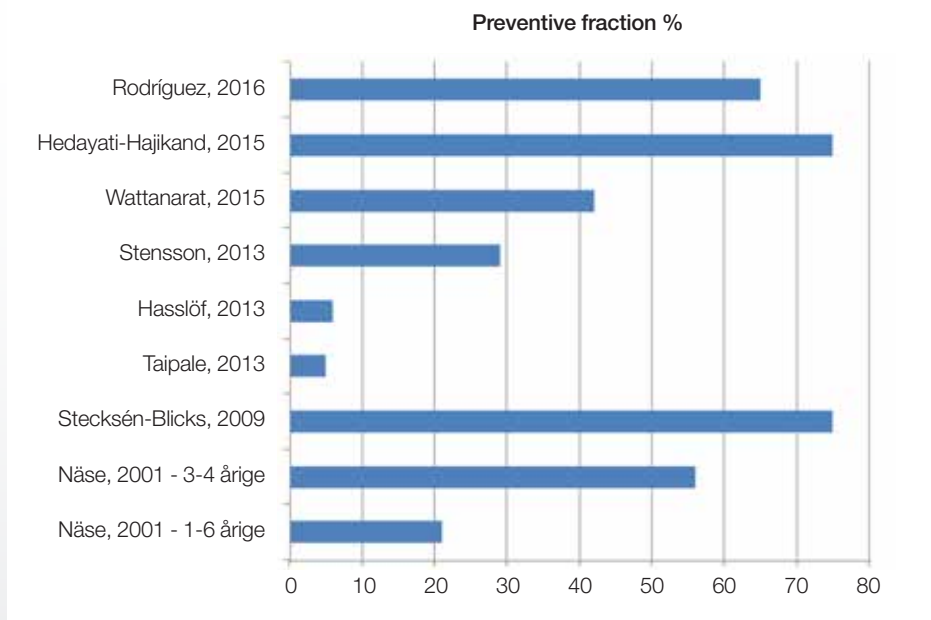


Fig. 2. Oversigt over den forebyggende effekt af indtag af probiotiske bakterier i kliniske forsøg med caries som endpoint.

Fig. 2. Overview of the preventive effect of the intake of probiotic bacteria in clinical trials of caries as the endpoint.



studiets start, men efter de 10 måneder havde den probiotiske gruppe signifikant færre nye carieslæsioner og signifikant færre læsioner med kavitæt.

Det andet nylige studie (18) undersøgte også effekten på 2-3-årige børn, men anvendte tyggetabletter med en kombination af tre forskellige probiotiske bakteriestammer (*Streptococcus uberis* KJ2, *Streptococcus oralis* KJ3, *Streptococcus rattus* JH145) i et år. Efter forsøgsperioden sås også her en signifikant lavere cariestilvækst i forsøgsgruppen end i kontrolgruppen. Begge disse studier blev foretaget i områder med lav socio-økonomisk status og med høj cariesaktivitet, hvorimod et tredje studie uden forebyggende effekt (20) foregik i en population med lav cariesforekomst. I dette studie indgik 106 spædbørn, der enten fik probiotiske bakterier, xylitol eller sorbitol via en specialfremstillet sut gennem deres første 15 måneder. Da børnene var fire år, fandtes ingen statistisk signifikant forskel på de tre grupper med hensyn til cariesforekomst.

I de nævnte studier måles caries umiddelbart efter en interventionsperiode af varierende længde, men enkelte nyere studier følger også op på effekten af en interventionsperiode flere år tidligere. Begge studier foregik i Sverige og anvendte henholdsvis grød tilsat *Lactobacillus paracasei* F19 (21) og dråber med *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 (22) i børnenes første leveår. Efter 6-7 år fandt det studie, at andelen af cariesfrie børn

KLINISK RELEVANS

Brugen af probiotika kan påvirke sammensætningen af den orale mikroflora og muligvis anvendes til forebyggelse af caries. Brugen af de probiotiske bakterier vil ikke erstatte eksisterende fore-

byggelsesmetoder, men vil kunne fungere som et supplement. Der er dog endnu for få kliniske studier med caries som klinisk variabel til at kunne give kliniske retningslinjer for anvendelsen.

i den probiotiske gruppe var 82 % mod 58 % i kontrolgruppen, og prævalensen af approksimale carieslæsioner var lavere i den probiotiske gruppe. Begge resultater var statistisk signifikante. Det andet studie fandt ingen signifikant forskel mellem de to grupper. De to studier havde begge forholdsvis stort frafald (henholdsvis 40 % og 29 %) på grund af den lange opfølgningstid. Ingen af studierne registrerede en kolonisation af de anvendte probiotiske stammer efter opfølgningsperioden. Studierne er interessante på grund af den lange opfølgningsperiode og den manglende kolonisation af de anvendte probiotiske

Number Needed to Treat (NNT)

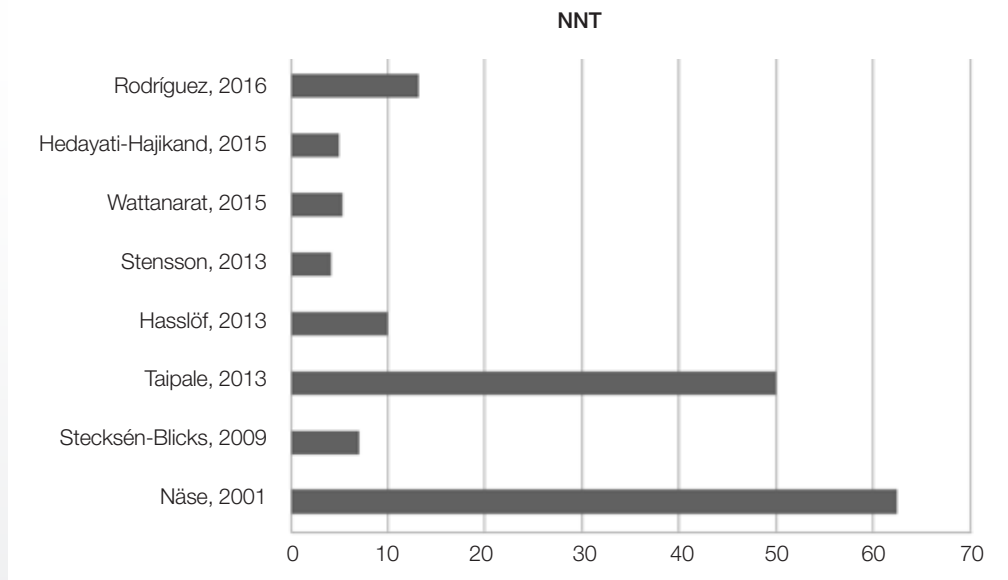


Fig. 3. Oversigt over Number Needed to Treat i de kliniske forsøg med caries som parameter. Studier markeret med * fandt ingen statistisk signifikant forskel mellem den probiotiske gruppe og kontrolgruppen. NNT for Taipale (2013) er udregnet med sorbitolgruppen som reference.

Fig. 3. Summary of Number Needed to Treat in the clinical trials of caries as the endpoint. Studies marked with * was no statistically significant difference between the probiotic group and the control group. NNT for Taipale (2013) is calculated with sorbitolgruppen as reference.

bakterier. Det har tidligere været antaget, at det er nødvendigt at indtage de probiotiske bakterier kontinuerligt for at opnå en effekt, men Stenssons (22) studie kunne tyde på, at man kan opnå en effekt ved tidlig intervention. Dette kan skyldes, at den orale mikroflora er lettere at påvirke i det første leveår, hvor sammensætningen er under stadig udvikling. Fig. 3 viser Number Needed to Treat (NNT) for de samme studier, som vises i Fig. 2. Disse kan bl.a. bruges til at beregne omkostningerne for at opnå et cariesfrit barn (NNT * dagspris på produkt * antal dage det administreres). Ifølge dette vil omkostningerne for interventionen i Rodríguez (19) være ca. halvdelen af omkostningerne af interventionen i Hedayati-Hajikand (18). Dette er altså også vigtigt at overveje, når man vurderer effekten af de forskellige probiotiske produkter.

Administration af probiotiske bakterier

Som tidligere nævnt har mange forskellige administrationsformer af de probiotiske bakterier været afprøvet i de kliniske studier. Der er ikke foretaget nogle studier, der sammenligner de forskellige administrationsformer, men et enkelt studie har vist en vis dosisresponsammenhæng (12). Et nyligt systematisk review undersøgte, hvorvidt der var større effekt af enten behandling med en enkelt probiotisk stamme eller en blanding af flere, men fandt ingen klar påvirkning af de samlede resultater (23). De doser, der anvendes i ovennævnte studier, er 1-2 deci-

liter yoghurt eller mælk dagligt med en koncentration på 1×10^8 CFU pr. milliliter, hvilket svarer til 1-2 tabletter indeholdende 1×10^9 CFU pr. tablet. Ved administration gennem fødevarer skal man dog være opmærksom på, at fx yoghurt kan indeholde en del sukker, hvilket må siges at være uhensigtsmæssigt i forhold til cariesforebyggelse.

Ifølge det systematiske review har 25 studier monitoreret bivirkninger i løbet af perioden, men ingen af studierne rapporterer om bivirkninger ud over mild gastro-intestinal irritation i et enkelt studie (23). I de to seneste studier var der ingen rapporterede bivirkninger (18,19).

Konklusioner

Probiotiske bakterier findes i mange forskellige fødevarer, enten naturligt forekommende eller tilsat i løbet af produktionen. Den gavnlige effekt af probiotiske bakterier har været foreslået i lang tid, og indenfor især det gastro-intestinale område ses øget evidens. Indenfor cariesforebyggelse findes stadig flest studier med mikrobiologiske parametre, hvor der ses et fald i antallet af *mutans Streptokokker*. Hovedparten af de kliniske studier, der måler på caries, rapporterer om positive resultater, men der er endnu for få til at give specifikke kliniske anbefalinger. Særligt studierne med opfølgning mange år efter interventionen er interessante, da de tyder på, at man ved tidlig intervention i barnets første leveår kan opnå en længerevarende effekt.

ABSTRACT (ENGLISH)

Probiotics and dental caries

Probiotic bacteria have long been a part of the diet in many countries. The most frequently used strains are from bifidobacteria and lactobacilli, but also some streptococcus strains have been used in experiments, and can be found in some products. The most common forms of administration are chewing tablets or milk (either plain milk or powdered milk), but several other vehicles, such as yogurt, kefir, ice cream, cheese, porridge and drops have also been used.

Different mechanisms of action are believed to be involved in the effect of probiotic bacteria on caries. These may be divided into a local effect and systemic effect. Two systematic reviews have concluded that there is evidence that a regular intake of probiotic bacteria can reduce the proportion of mutans streptococci

in saliva and suggest that probiotics thereby may be beneficial in caries prevention.

The clinical studies on caries are published from 2001 and upward, but the majority is published within the last 3 years. The preventive effects in clinical studies claim to vary between 5% and 75%. This wide range may be caused by highly varying design, bacterial strain, intervention period and number of participants.

In these studies, the effect on caries is measured immediately after an intervention period of varying length, but some recent studies also follow up the effect of an intervention period several years earlier. These studies with long follow-up are interesting because they suggest that it is possible to achieve an effect with early intervention.

Litteratur

- Podolskya SH. Metchnikoff and the microbiome. *Lancet* 2012;380:1810-1.
- FAO/WHO. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Joint FAO/WHO Working group report on drafting guidelines. World Health Organization, Canada. 2002. (Set 2016 juli). Tilgængelig fra: URL: http://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf
- de Vrese M, Schrezenmeir J. Probiotics, prebiotics, and synbiotics. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 2008;111:1-66.
- Osborn DA, Sinn JK. Prebiotics in infants for prevention of allergy. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;3: doi: 10.1002/14651858.CD006474.
- Baquerizo Nole KL, Yim E, Keri JE. Probiotics and prebiotics in dermatology. *J Am Acad Dermatol* 2014;71:814-21.
- Devine A, Marsh PD. Prospects for the development of probiotics and prebiotics for oral applications. *J Oral Microbiol* 2009;1:10.3402/jom.v1i0.1949.
- Allaker RP, Ian Douglas CW. Non-conventional therapeutics for oral infections. *Virulence* 2015;6:196-207.
- Chilton SN, Burton JP, Reid G. Inclusion of fermented foods in food guides around the world. *Nutrients* 2015;7:390-404.
- Vuyst L, Vandamme EJ. Lactic acid bacteria and bacteriocins: Their practical importance. In: Vuyst L, Vandamme EJ eds. *Bacteriocins of lactic acid bacteria. Microbiology, genetics and applications*. 1st ed. London: Blackie academic and Professional, 1994;1-13.
- Reid G, Younes JA, Van der Mei HC et al. Microbiota restoration: natural and supplemented recovery of human microbial communities. *Nat Rev Microbiol* 2011;9:27-38.
- Ericson D, Hamberg K, Bratthall G et al. Salivary IgA response to probiotic bacteria and mutans streptococci after the use of chewing gum containing *Lactobacillus reuteri*. *Pathog Dis* 2013;68:82-7.
- 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.
- Cagetti MG, Mastroberardino S, Milia E et al. The use of probiotic strains in caries prevention: a systematic review. *Nutrients* 2013;5:2530-50.
- Laleman I, Detaillleur V, Slot DE et al. Probiotics reduce mutans streptococci counts in humans: a systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Investig* 2014;18:1539-52.
- 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.
- 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.
- Wattanarat O, Makeudom A, Sastraruji T et al. Enhancement of salivary human neutrophil peptide 1-3 levels by probiotic supplementation. *BMC Oral Health* 2015;15:19. doi: 10.1186/s12903-015-0003-0.
- Hedayati-Hajikand T, Lundberg U, Eldh C et al. Effect of probiotic chewing tablets on early childhood caries – a randomized controlled trial. *BMC Oral Health* 2015;15:112.
- Rodríguez G, Ruiz B, Faleiros S et al. Probiotic Compared with Standard Milk for High-caries Children: A Cluster Randomized Trial. *J Dent Res* 2016; 95:402-7.
- Taipale T, Pienihäkkinen K, Alanen P et al. Administration of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 in early childhood: a post-trial effect on caries occurrence at four years of age. *Caries Res* 2013;47:364-72.
- Hasslöf P, West CE, Videhult FK et al. Early intervention with probiotic *Lactobacillus paracasei* F19 has no long-term effect on caries experience. *Caries Res* 2013;47:559-65.
- Stenstrom M, Koch G, Coric S et al. Oral administration of *Lactobacillus reuteri* during the first year of life reduces caries prevalence in the primary dentition at 9 years of age. *Caries Res* 2014;48:111-7.
- Gruner D, Paris S, Schwendicke F. Probiotics for managing caries and periodontitis: Systematic review and meta-analysis. *J Dent* 2016;48:16-25.