

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

VESNA KOŠNIK

MAGISTRSKA NALOGA

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI
PROGRAM FARMACIJA

Ljubljana, 2016

Univerza v Ljubljani
Fakulteta *za farmacijo*



VESNA KOŠNIK

**SISTEMATIČNI PREGLED IN METAANALIZA VPLIVA
PROBIOTIKOV NA IZBOLJŠANJE SIMPTOMOV IN
PREPREČITEV POJAVA DIAREJE PRI PACIENTIH,
ZDRAVLJENIH Z ANTIBIOTIKI**

**A SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS OF THE
EFFECT OF PROBIOTICS IN IMPROVING SYMPTOMS AND
PREVENTING DAIRRHEA IN PATIENTS TREATED WITH
ANTIBIOTICS**

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM FARMACIJA

Ljubljana, 2016

Magistrsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo pod mentorstvom doc. dr. Igorja Locatellija, mag. farm.

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem mentorju doc. dr. Igorju Locatelliju za strokovno pomoč in vodenje tekom izdelave magistrskega dela ter za njegovo dosegljivost, potrpežljivost in hitro odzivnost.

Posebna zahvala je namenjena mojim staršem ter bratu Maju, ki so me skozi leta študija ves čas spodbujali in bili v neizmerno podporo.

Nenazadnje želim omeniti še izjemne ljudi, ki so vztrajali z menoj in na različne načine pripomogli k mojemu uspehu. Andraž, Vesna, Matej, Nina in Jure, hvala vam za vso podporo. Zahvala tudi sošolkam za vso pomoč in spodbudne besede tekom študija.

Prav tako bi se želela zahvaliti profesorici Vlasti Jemec za lektoriranje magistrskega dela.

IZJAVA

Izjavljam, da sem magistrsko nalogo samostojno izdelala pod mentorstvom doc. dr. Igorja Locatellija, mag. farm.

Ljubljana, 2016

Vesna Košnik

Predsednica komisije: prof. dr. Mirjana Gašperlin, mag. farm.

Član komisije: doc. dr. Tomaž Bratkovič, mag. farm.

Lektorirala: Vlasta Jemec, prof. slov. in rus. j.

KAZALO VSEBINE

KAZALO VSEBINE	I
KAZALO PREGLEDNIC	IV
KAZALO SLIK	V
POVZETEK	VI
ABSTRACT	VII
ABECEDNI SEZNAM OKRAJŠAV	VIII
1 UVOD	1
1.1 Regulatorna ter minimalne zahteve za probiotične izdelke	1
1.2 Uporaba, lastnosti in mehanizmi delovanja probiotikov	3
1.2.1 Potovalna diareja	5
1.2.2 Akutna infekcijska diareja	6
1.2.3 Sindrom razdražljivega črevesja (SRČ)	6
1.2.4 Diareja, povzročena z antibiotiki, ter okužba s <i>Clostridium difficile</i>	7
1.2.5 Ostala stanja za uporabo probiotikov	8
1.3 Varnost probiotikov	9
1.4 Sistematični pregledi in metaanalize z antibiotiki povzročene diareje	10
2 NAMEN DELA.....	11
3 METODE	12
3.1 Sistematični pregled.....	12
3.1.1 Potek sistematičnega pregleda in kriteriji za vključitev raziskav v metaanalizo	12
3.1.2 Zbiranje podatkov vključenih študij	14
3.1.3 Ocena tveganja za pristranost (ang. risk of bias assessment)	15
3.2 Metaanaliza	17
3.2.1 Izračun velikosti učinka	17
3.2.2 Prikaz rezultatov	18
3.2.3 Dokazovanje homogenosti / heterogenosti.....	19
3.2.4 Ocena pristranosti objavljanja	20
3.2.5 Analize podskupin	21

4	REZULTATI	22
4.1	Rezultati sistematičnega pregleda.....	22
4.1.1	Rezultati zbiranja podatkov vključenih študij	24
4.1.2	Rezultati ocene tveganja za pristranost	31
4.2	Rezultati metaanalize	33
4.2.1	Pojavnost diareje	33
4.2.1.1	Pojavnost diareje glede na starost	34
4.2.1.2	Pojavnost diareje glede na vrsto probiotika	35
4.2.1.3	Pojavnost diareje glede na dnevni odmerek probiotika	36
4.2.1.4	Pojavnost diareje glede na starost in okužbo	37
4.2.1.5	Pojavnost diareje glede na sponzorstvo študije.....	38
4.2.2	Pojavnost diareje po definiciji SZO.....	38
4.2.2.1	Pojavnost diareje po definiciji SZO glede na starost	39
4.2.2.2	Pojavnost diareje po definiciji SZO glede na vrsto probiotika	40
4.2.2.3	Pojavnost diareje po definiciji SZO glede na dnevni odmerek probiotika	41
4.2.2.4	Pojavnost diareje po definiciji SZO glede na starost in okužbo	41
4.2.2.5	Pojavnost diareje po definiciji SZO glede na sponzorstvo študije.....	42
4.2.3	Trajanje diareje	42
4.2.3.1	Trajanje diareje glede na starost.....	43
4.2.3.2	Trajanje diareje glede na vrsto probiotika.....	44
4.2.3.3	Trajanje diareje glede na dnevni odmerek	45
4.2.3.4	Trajanje diareje glede na starost in okužbo	45
4.2.3.5	Trajanje diareje glede na sponzorstvo študije	46
4.2.4	Pojavnost okužbe z bakterijo <i>Clostridium difficile</i>	46
4.2.4.1	Pojavnost okužbe z bakterijo <i>C. difficile</i> glede na starost	47
4.2.4.2	Pojavnost okužbe z bakterijo <i>C. difficile</i> glede na vrsto probiotika	48
4.2.4.3	Pojavnost okužbe z bakterijo <i>C. difficile</i> glede na dnevni odmerek probiotika	49
4.2.4.4	Pojavnost okužbe z bakterijo <i>C. difficile</i> glede na starost in okužbo	49
4.2.4.5	Pojavnost okužbe z bakterijo <i>C. difficile</i> glede na sponzorstvo študij.....	50
4.2.5	Ocena pristranosti objavljanja	50

5	RAZPRAVA	51
5.1	Sistematični pregled.....	51
5.1.1	Ocena tveganja za pristranost.....	52
5.2	Metaanaliza	52
5.2.1	Pojavnost diareje	53
5.2.2	Pojavnost diareje po definiciji SZO.....	55
5.2.3	Trajanje diareje	57
5.2.4	Pojavnost okužbe z bakterijo Clostridium difficile	58
5.2.5	Ocena pristranosti objavljanja	59
5.3	Omejitve.....	60
6	SKLEP.....	61
7	LITERATURA	62
8	PRILOGE	67
8.1	Priloga A: Grafični prikaz ocene tvegana za pristranost posameznih študij	67
8.2	Priloga B: Drevesni diagrami	68
8.2.1	Pojavnost diareje	68
8.2.2	Pojavnost diareje po definiciji SZO.....	73
8.2.3	Trajanje diareje	77
8.2.4	Pojavnost okužbe z bakterijo Clostridium difficile	81
8.3	Priloga C: Pregled protimikrobnih učinkovin vključenih študij	85
8.4	Priloga D: Preglednica metaanaliz podatkovne baze Cochrane library.....	87

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica I: Opis vključenih študij (n = 30).....	25
Preglednica II: Opis vključenih študij (n=30)	28
Preglednica III: Pojavnost diareje glede na starost. Učinek je podan kot razmerje tveganja (RR).....	35
Preglednica IV: Pojavnost diareje glede na vrsto probiotika. Učinek je podan kot razmerje tveganja (RR).	36
Preglednica V: Pojavnost diareje glede na dnevni odmerek probiotika. Učinek je podan kot razmerje tveganja (RR).	37
Preglednica VI: Pojavnost diareje glede na starost in okužbo. Učinek je podan kot razmerje tveganja (RR).	37
Preglednica VII: Pojavnost diareje glede na sponzorstvo študije. Učinek je podan kot razmerje tveganja (RR).	38
Preglednica VIII: Pojavnost diareje po definiciji SZO glede na starost. Učinek je podan kot razmerje tveganja (RR).	39
Preglednica IX: Pojavnost diareje po definiciji SZO glede na vrsto probiotika. Učinek je podan kot razmerje tveganja (RR).	40
Preglednica X: Pojavnost diareje po definiciji SZO glede na dnevni odmerek probiotika. Učinek je podan kot razmerje tveganja (RR).	41
Preglednica XI: Pojavnost diareje po definiciji SZO glede na starost in okužbo. Učinek je podan kot razmerje tveganja (RR).	42
Preglednica XII: Pojavnost diareje po definiciji SZO glede na sponzorstvo študije. Učinek je podan kot razmerje tveganja (RR).	42
Preglednica XIII: Razlika v trajanju diareje (v dnevih) glede na starost. Učinek je podan kot povprečna razlika (MD).	43
Preglednica XIV: Razlika v trajanju diareje (v dnevih) glede na vrsto probiotika. Učinek je podan kot povprečna razlika (MD).	44
Preglednica XV: Razlika v trajanju diareje (v dnevih) glede na dnevni odmerek. Učinek je podan kot povprečna razlika (MD).	45
Preglednica XVI: Razlika v trajanju diareje (v dnevih) glede na starost in okužbo. Učinek je podan kot povprečna razlika (MD).	46
Preglednica XVII: Razlika v trajanju diareje (v dnevih) glede na sponzorstvo študije. Učinek je podan kot povprečna razlika (MD).	46

Preglednica XVIII: Pojavnost okužbe z bakterijo <i>Clostridium difficile</i> glede na starost. Učinek je podan kot razmerje (RR).....	47
Preglednica XIX: Pojavnost okužbe z bakterijo <i>Clostridium difficile</i> glede na vrsto probiotika. Učinek je podan kot razmerje (RR).....	48
Preglednica XX: Pojavnost okužbe z bakterijo <i>Clostridium difficile</i> glede na dnevni odmerek probiotika. Učinek je podan kot razmerje (RR).	49
Preglednica XXI: Pojavnost okužbe z bakterijo <i>Clostridium difficile</i> glede na starost in okužbo. Učinek je podan kot razmerje (RR).....	49
Preglednica XXII: Pojavnost okužbe z bakterijo <i>Clostridium difficile</i> glede na sponzorstvo študij. Učinek je podan kot razmerje (RR).....	50

KAZALO SLIK

Slika 1: Prikaz pregleda člankov po podatkovnih bazah EU Clinical Trials Register in MEDLINE (PubMed).....	23
Slika 2: Prikaz pregleda člankov po podatkovni bazi ClinicalTrials.gov.....	24
Slika 3: Prikaz deleža tveganja za pristranost v posamezni domeni	32
Slika 4: Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri pojavnosti diareje (n=30)	34
Slika 5: Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri pojavnosti diareje po definiciji SZO (n = 18)	39
Slika 6: Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri trajanju diareje (n = 10)	43
Slika 7: Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri pojavnosti okužbe z bakterijo <i>Clostridium difficile</i> (n = 18).....	47
Slika 8: Lijakasti diagram prikaza ocene pristranosti objavljanja.....	50

POVZETEK

Ozadje: Terapija z antibiotiki lahko poruši ravnovesje črevesne flore, kar omogoči razrast patogenim bakterijam. Najpogosteje se to simptomatsko kaže v pojavu diareje, kar predstavlja nevarnost za dehidracijo in porušenje elektrolitskega ravnovesja. Prevlada patogenih bakterij nad koristnimi predstavlja dodatno nevarnost za nadaljnjo okužbo z bakterijo *Clostridium difficile*, kar velja za enega najpogostejših zapletov diareje, povzročene z antibiotiki. Probiotiki so žive, nepatogene bakterije, ki lahko v zadostni aplicirani količini delujejo koristno na človeški organizem.

Namen: Oceniti vpliv terapije s probiotiki na zmanjšanje pojavnosti in skrajšanje trajanja diareje, povzročene z antibiotiki (protimikrobnimi zdravili), ter preprečitev nadaljnje okužbe z bakterijo *Clostridium difficile*.

Metode: Sistematični pregled literature je potekal po podatkovnih bazah MEDLINE, EU Clinical Trials Register in ClinicalTrials.gov. Študije so bile randomizirane, dvojno slepe in kontrolirane s placebom. Udeleženci študij so bili otroci in odrasli na začetku zdravljenja z antibiotiki. Sledila je izvedba metaanalize s programom Review manager 5.3. Glavni preučevani izidi so bili pojavnost diareje, pojavnost diareje po definiciji SZO, trajanje diareje in pojavnost nadaljnje okužbe z bakterijo *Clostridium difficile*. Učinkovitost probiotikov smo dodatno preučili glede na starost populacije, vrsto probiotika, dnevni odmerek probiotika, vrsto okužbe pri določeni starostni populaciji in sponzoriranost študije.

Rezultati: V metaanalizo smo vključili trideset študij. V primerjavi s placebom se je pojavnost diareje v skupini, kjer so udeleženci jemali probiotike, zmanjšala za 48 % (RR = 0,52; 95-% CI 0,42 do 0,65), pojavnost diareje po definiciji SZO za 37 % (RR = 0,63; 95-% CI 0,49 do 0,79), trajanje diareje se je skrajšalo za 1,4 dni (MD = -1,44; 95-% CI: -2,19 do -0,69) incidenca okužbe z bakterijo *Clostridium difficile* pa se je zmanjšala za 58 % (RR = 0,42; 95-% CI 0,27 do 0,68).

Sklepi: Glede na pridobljene rezultate lahko sklepamo, da jemanje probiotikov ob hkratni terapiji z antibiotiki zmanjša možnost pojava in skrajša trajanja že prisotne diareje ter nadaljnje okužbe z bakterijo *Clostridium difficile*.

Ključne besede: probiotiki, diareja povzročena z antibiotiki, infekcija s *Clostridium difficile*

ABSTRACT

Background: Antibiotic therapy can be disruptive to the balance of intestinal microbiota which can in turn allow pathogenic bacteria to grow in excess. This is most often symptomatically reflected in the occurrence of diarrhea, which represents a risk for dehydration and collapse in electrolyte balance. The predominance of pathogenic bacteria over the ones with beneficial implications is an additional risk of further infection with the bacterium *Clostridium difficile*, which is considered one of the most common complications of antibiotic associated diarrhea. Probiotics have been defined as live, non-pathogenic bacteria which when administered in adequate amounts confer a health benefit on the human organism.

Aim: To estimate the impact of probiotic therapy on the reduction of incidence and the duration of antibiotic-associated diarrhea and to prevent further infection with the bacterium *Clostridium difficile*.

Methods: A systematic review was conducted of databases MEDLINE, the EU Clinical Trials Register, and ClinicalTrials.gov. Studies were randomized, double-blind and placebo-controlled. Participants were children and adults at the start of antibiotics therapy. Meta-analysis was conducted by using Review Manager 5.3 software. The main outcomes were the incidence of diarrhea, the incidence of diarrhea by the WHO definition, the duration of diarrhea and the incidence of further infection with *Clostridium difficile*. Each outcome was further analyzed by five subgroups: age group, probiotic species, daily dose, type of infection of a certain age group and the study sponsorship.

Results: Thirty eligible studies were included in our meta-analysis. Compared to placebo group, the incidence of diarrhea in the probiotic group decreased by 48 % (RR = 0,52; 95 % CI 0,42 to 0,65), the incidence of diarrhea by WHO definition decreased by 37 % (RR = 0,63; 95 % CI 0,49 to 0,79), duration of diarrhea was shortened by 1,4 days (MD = -1,44; 95 % CI: - 2,19 to -0,69), and the incidence of *Clostridium difficile* infection has been reduced by 58 % (RR = 0,42; 95 % CI 0,27 to 0,68).

Conclusions: According to the results we can conclude that the indication of probiotics reduces the risk of occurrence and shortens the duration of antibiotic-associated diarrhea. Probiotics can also further prevent infection with *Clostridium difficile*.

Key words: probiotics, antibiotic-associated diarrhea, *Clostridium difficile* infection

ABECEDNI SEZNAM OKRAJŠAV

CFU	kolonijska enota (ang. colony forming units)
CI	interval zaupanja (ang. confidence interval)
DPA	diareja, povzročena z antibiotiki (ang. AAD, antibiotic-associated diarrhea)
EFSA	Evropska agencija za varnost hrane (ang. European Food Safety Authority)
IQR	interkvartilni razpon (ang. interquartile range)
MD	povprečna razlika (ang. mean difference)
MEDLINE	Spletna biomedicinska bibliografska baza (ang. Medical Literature Analysis and Retrieval System Online)
RR	relativno tveganje oz. razmerje tveganja (ang. relative risk, risk ratio)
SD	standardna deviacija (ang. standard deviation)
SZO	svetovna zdravstvena organizacija (ang. WHO, World Health Organization)

1 UVOD

Izraz probiotik izhaja iz latinske besede, ki v prevodu pomeni »za življenje«. Probiotiki so živi, nepatogeni mikroorganizmi, med katere uvrščamo tudi nekatere kvasovke. Izmed njih je velika večina del normalne človeške črevesne flore, kjer živijo v simbiozi z ostalimi mikroorganizmi (1). V človeškem črevesju se nahaja več kot 400 različnih vrst bakterij, katerih ravnovesje je pomembno za ohranjanje normalne črevesne funkcije (2). Skupno število vseh mikrobov se giblje okoli deset bilijonov, njihova skupna teža pa je med enim in dvema kilogramoma (3). Človek se s prvimi bakterijami sreča ob svojem rojstvu. Tekom zgodnjega otroštva se črevesni imunski sistem nauči prepoznavati dobre, koristne bakterije ter bakterije, ki so potrebne za nadaljnji razvoj sistemskega imunskega sistema. Bakterije, pridobljene ob rojstvu, so dobro sprejete tekom celotnega življenja. Kakršnakoli sprememba v črevesni flori pa s prihodom novih organizmov povzroči imunski odziv z namenom uničenja tujkov in njihove popolne odstranitve iz prebavnega trakta (4).

Zgodovina uporabe probiotikov sega več stoletij nazaj, ko so ljudje, še ne vedoč za koristne učinke probiotikov, pili fermentirano mleko. Leta 1899 je znanstvenik Henry Tessler odkril bifidobakterije v črevesju doječih novorojenčkov. Poročal je, da imajo novorojenčki z omenjenimi bakterijami manjšo incidenco diareje kot novorojenčki, pri katerih bifidobakterij v črevesju ni zaznal. Leta 1907 je ruski znanstvenik Ilya Metchnikoff prvi predlagal uporabo probiotikov v zdravstvene namene po odkritju dolgoživosti ljudi, ki so vsakodnevno uživali fermentirano mleko (3). Leta 1917 je bil izoliran sev *Escherichia coli nissle 1917* (1). Izoliran je bil iz blata vojaka v prvi svetovni vojni, pri katerem se, edinemu na bojišču, ni pojavila diareja. Omenjeni sev so uporabljali za zdravljenje diarej, povzročenih z okužbo bakterije iz rodu *Shigella* (3). Od takrat dalje se v literaturi pojavljajo številni opisi probiotične uporabe, pomanjkljivi pa so podatki o izvedbi dobro načrtovanih kliničnih raziskav (1).

1.1 Regulativa ter minimalne zahteve za probiotične izdelke

Svetovna zdravstvena organizacija (SZO) in organizacija za prehrano in kmetijstvo (OHA) definirata probiotike kot »žive mikroorganizme, ki v zadostnih apliciranih količinah delujejo pozitivno na gostiteljevo zdravje«. Leta 2002 sta organizaciji objavili smernice za oceno probiotičnih izdelkov. Prav tako sta podali minimalne zahteve za pridobitev statusa probiotika. Potencialni probiotik mora pridobiti: oceno identitete seva (rod, vrsta, sev); *in vitro* teste

(odpornost proti želodčni kislini, odpornost proti žolčni kislini, odpornost proti prebavnim encimom in dokazano antimikrobno aktivnost proti potencialno škodljivim bakterijam); oceno varnosti (probiotik mora biti brez nečistoč ter varen za uporabnika) ter študije *in vivo* za utemeljitev pozitivnega učinka na zdravje. Prav tako sta organizaciji podali zahteve o potrebnih informacijah, ki jih mora vsebovati vsak probiotični izdelek. Na ovojnino probiotika mora proizvajalec zapisati: rod, vrsto in probiotični sev; minimalno število vsake vrste probiotičnih sevov ob koncu roka uporabnosti; priporočeni dnevni odmerek probiotika za doseg nekega zdravstvenega učinka; zdravstvene trditve; rok uporabe in ustrezni pogoji shranjevanja ter kontaktne podatke za vprašanja potrošnikov. V večini držav so na ovojnini probiotičnih izdelkov dovoljene samo splošne zdravstvene trditve.

V državah Evropske unije se zdravstvene trditve na izdelkih smejo uporabljati samo v primeru, če le-te predhodno znanstveno oceni in odobri Evropska komisija za varnost hrane (EFSA, ang. European Food Safety Authority). Marsikatero podjetje pa je našlo načine, kako zaobiti omejitve EFSA-e. Svoja prehranska dopolnila lahko v postopku registracije označijo kot medicinske pripomočke. Na ta način lahko navedejo zdravstvene trditve brez predložitve trdnih znanstvenih dokazov. Na splošno se zahteve proizvodnje glede kakovosti in varnosti med prehranskimi dopolnili in zdravili precej razlikujejo. Decembra 2006 je evropski parlament potrdil novo uredbo o prehranskih in zdravstvenih trditvah na živilih (uredba 1824/2006). Uredba velja za vse prehranske in zdravstvene trditve na živilih, vključno s probiotičnimi prehranskimi dopolnili. Namen uredbe je obvarovati potrošnike pred zavajajočimi zdravstvenimi trditvami s strani proizvajalcev, vključno z označevanjem na embalaži, predstavitvami izdelkov in promocijskimi kampanjami (5). V Združenih državah Amerike je regulativa s strani probiotikov slabše urejena. Trenutno imajo probiotiki status »generally recognized as safe« (GRAS), kar bi v prevodu pomenilo »na splošno veljajo za varne«. Večina probiotičnih izdelkov spada v kategorijo prehranskih dopolnil, za katere ne veljajo nobeni posebni standardi (4). Marsikatero trditve proizvajalcev probiotičnih izdelkov niso klinično podprte in zahtevajo nadaljnje študije za potrditev potencialnega učinka. Prav tako glede probiotikov trenutno ni podanih nobenih priporočil ali smernic s strani Zveznega urada za hrano in zdravila (FDA, ang. food and drug administration) (1).

1.2 Uporaba, lastnosti in mehanizmi delovanja probiotikov

Najpogosteje uporabljeni probiotični rodovi so laktobacili, bifidobakterije in vrsta *Saccharomyces boulardii*. Prva omenjena rodova spadata med po gramu pozitivne, fakultativno anaerobne bakterije, vrsta *Saccharomyces boulardii* pa pripada rodu kvasovk. Najpogosteje uporabljene posamezne vrste laktobacilov so *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus reuteri* in *Lactobacillus casei*. Laktobacili spadajo v rod mlečnokislinskih bakterij. Iz vrst bifidobakterij pa so najpogosteje zastopane probiotične vrste *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium lactis* in *Bifidobacterium longum*. Laktobacili in bifidobakterije so naravno prisotni v človeških ustih, črevesju in nožnici. Prav vse probiotične vrste seveda niso del normalne črevesne flore. Prav tako ne moremo posploševati, da vse probiotične vrste in njihovi sevi prinašajo pozitiven zdravstveni učinek. Mehanizem natančnega delovanja probiotikov še ni poznan, predpostavlja pa se več načinov. Predvidevajo, da se probiotiki po peroralni aplikaciji in prehodu skozi želodec pritrdijo na črevesno sluznico in tako preprečijo epiteljsko pritrditev patogenih bakterij. Nekaterne bakterije, zlasti bifidobakterije in laktobacili, proizvajajo mlečno, očetno ter propionsko kislino. Omenjene kisline naj bi zmanjšale pH črevesnega okolja in na ta način ustavile rast patogenih bakterij. Še en možen mehanizem delovanja probiotikov predpostavlja njihov imunomodulatorni učinek (1). Probiotiki naj bi delovali stimulatивно na imunski sistem gostitelja s povišanjem fagocitotne aktivnosti, sinteze IgA ter aktivacijo limfocitov T in B (6).

Za ustrezno delovanje probiotikov in prihod do mesta tarčnega delovanja je potreben specifičen dostavni sistem oz. farmacevtska oblika, ki omogoča optimalno preživetje sevov vzdolž gastrointestinalnega trakta. Dostavni sistemi probiotičnih organizmov so številni: od klasičnih tablet, kapsul, praškov pa vse do jogurtov, mlečnih napitkov, piškotov, čokolad, sirov ali celo klobas. Stabilnost probiotikov v dostavnih sistemih mora biti velika (3). Pomembno je, da ima probiotik dobre tehnološke lastnosti, da so proizvedene količine lahko velike. Med vključevanjem v živilske in druge proizvode probiotiki ne smejo izkazovati izgub funkcionalnosti. Prav tako probiotik ne sme ustvarjati neprijetnega okusa ali teksture v probiotičnih izdelkih. Pomembna je njegova stabilnost med procesi centrifugiranja, sušenja in v končni obliki tudi tekom shranjevanja. Probiotik mora izkazati visoko možnost preživetja pri prehodu zgornjega dela gastrointestinalnega trakta, visoko možnost preživetja na tarčnem mestu delovanja ter izkazati visoko aktivnost v črevesnem okolju (7). Učinek je dosežen samo v primeru, če probiotiki dosežejo do tarčnega mesta v aktivnem stanju in v zadostni količini. Potrebno število bakterij oz. kolonijskih enot (CFU, ang. colony forming units) za dosego

učinka še ni poznano. Število izvedenih študij na področju ustreznega odmerjanja je trenutno majhno. Komercialno dostopni izdelki vsebujejo minimalno vsaj 10^6 CFU pa vse tja do 10^{12} CFU (3). V literaturi se ponekod pojavljajo podatki o začetni aplikaciji vsaj 10^9 CFU probiotičnih bakterij (8). Pogosto je koncentracija probiotikov za dosego učinka v študijah opredeljena kot vsaj 10^6 CFU/ml v tankem črevesju in vsaj 10^8 CFU/g v debelem črevesju (9).

Pri peroralni aplikaciji se probiotiki na poti do črevesja soočijo s številnimi okolijskimi stresorji (kislost, kisik, vročina). Eno izmed ovir takšne aplikacije predstavlja tudi kislo okolje v želodcu. Pomembno je, da so probiotični sevi odporni proti takšnim pogojem. V nasprotnem primeru obstajajo novejša metode, s katerimi mikroorganizme obvarujemo pred kislimi pogoji (mikroenkapsuliranje, gastrozestivne obloge). Dodaten stres predstavlja prisotnost žolčnih soli, ki zaradi svojega amfifilnega značaja ogrožajo membrano mikroorganizmov. Posebna funkcionalna sposobnost mikroorganizmov je, da s pomočjo hidrolaze razgradijo žolčne soli. Omenjeni mehanizem je bil predlagan kot eden izmed pojasnil, zakaj bi lahko probiotiki zmanjšali serumski nivo holesterola (5). Pomembni lastnosti probiotičnega seva sta še sposobnost kolonizacije gastrointestinalnega trakta ter sposobnost adhezije na črevesno sluznico (5). Posamezni probiotični sevi sami običajno težko kolonizirajo črevo. Njihovi pozitivni učinki na gostitelja so največkrat prehodni in trajajo samo za časa jemanja terapije. Tako gre proizvodnja vse bolj v izdelavo probiotičnih izdelkov z vsebnostjo različnih vrst probiotičnih bakterij, ki medsebojno sodelujejo (8). Novejši trend v proizvodnji probiotikov so **sinbiotiki**. Sinbiotiki predstavljajo kombinacijo probiotika (enega ali več) s prebiotikom (enim ali več). Izraz **prebiotik** opisuje neprebavljive hranilne snovi (neabsorbirani sladkorji, vlaknine, oligosaharidi), ki stimulirajo rast in aktivnost črevesnih bakterij. Poenostavljeno bi rekli, da prebiotiki predstavljajo hrano probiotičnim bakterijam. Pridobivajo jih tudi sintezno, v naravi pa se nahajajo v semenih in koreninah rastlin, kot so: radič, čebula, česen, artičoke, beluši, ječmen, riž, soja in leča. Prebiotiki delujejo selektivno in ne stimulatивно na slabe bakterije, kar posledično omogoča razrast le človeku koristnih bakterij. Tako skupaj s probiotiki delujejo sinergistično. V obliki sinbiotika naj bi imele probiotične bakterije večje možnosti preživetja skozi zgornji prebavni trakt in bile bolj odporne proti patogenim bakterijam (6).

Že vrsto let probiotike uporabljamo v prehranski industriji v procesih mlečnokislinske fermentacije. Mlečnokislinske bakterije fermentirajo mlečni sladkor (laktozo) v mlečno kislino. Pri tem se spremeni snovna sestava mleka, kar v mlekarski industriji izkoriščajo za pridobivanje številnih mlečnih izdelkov (7). Novejša je uvedba probiotikov v čistilne proizvode in žimnice (5). Uporaba v zdravstvene namene se je v zadnjih letih izjemno razširila. Tako se probiotiki

uporabljajo vse od zdravljenja gastrointestinalnih težav do zmanjševanja prekomerne telesne mase. Še vedno pa so probiotiki najpogostejše indicirani z namenom preventive in zmanjšanja trajanja diareje (1).

SZO definira diarejo kot vsaj trikratno odvajanje tekočega oz. vodenega blata v enem dnevu (ali bolj pogosto odvajanje, kot je normalno za posameznika) (10). Posledice diareje se kažejo v izgubi elektrolitov, pomanjkljivi absorpciji hranilnih snovi ter dehidraciji zaradi izgube vode. Po mehanizmu delovanja ločimo tri vrste diarej: osmotska, sekrecijska ter motorična. **Osmotska diareja** se pojavi zaradi povišane koncentracije osmotsko aktivnih snovi v črevesju (ioni, disaharid, oligosaharidi), kar povzroči povišan osmotski pritisk in posledično vstopanje vode v črevesje oz. zadrževanje vode v blatu. Zaradi povečanega črevesnega volumna, se poveča tudi motorična aktivnost, kar povzroča pojav diareje. Vzroki osmotske diareje so lahko jemanje antibiotikov, laktozna intoleranca, slaba absorpcija ionov, preveč sladka/slana hrana. **Sekrecijska diareja** se pojavi v primeru, ko sekrecija elektrolitov in vode preseže njihovo absorpcijo. Razdelimo jo na aktivno sekrecijsko diarejo, ki vpliva na aktivni celični transport ionov, ter pasivno sekrecijsko diarejo, ki v steni črevesja poveča filtracijo v kapilarah. Aktivna sekrecijska diareja se običajno pojavi pri infekciji z bakterijami (*Escherichia coli*, *Clostridium difficile*, *Shigella*, *Vibrio cholerae* itd.) ter pri pojavih patoloških stanj (endokrini tumorji), ki s sproščanjem hormonov stimulirajo sekrecijo ionov. Pasivna sekrecijska diareja se pojavi kot posledica vnetja (Crohnova bolezen, ulcerozni kolitis, enteritisi) ali pa kot posledica povišanega hidrostatskega tlaka v kapilarah. **Motorična diareja** se pojavi, ko je gibljivost črevesja povečana. Črevesna vsebina se ne absorbira dovolj hitro, kar povzroči diarejo. Do omenjenega pojava lahko pride zaradi prekomernega izločanja nekaterih snovi zaradi tumorjev, čezmernega delovanja ščitnice, sindroma razdražljivega črevesja ter povečanega delovanja avtonomnega živčevja (stres) (11). V nadaljevanju so opisana najpogostejša stanja uporabe probiotikov.

1.2.1 Potovalna diareja

Vzrok za pojav potovalne diareje so v 50 % do 80 % bakterije. V veliko manjšem številu se pojav potovalne diareje izrazi kot posledica virusne okužbe ali parazitov. Bakterija *Escherichia coli* je najpogostejša povzročiteljica potovalne diareje. V preteklosti izvedene klinične študije podajajo neskladne rezultate o učinku probiotikov pri omenjenem stanju (1). Sev *Lactobacillus rhamnosus GG* je velikokrat izkazal pozitivne rezultate o učinkovitosti, vendar obstajajo študije, ki so te rezultate spodbile. Vrsta *Saccharomyces boulardii* naj bi v nekaterih študijah izkazala majhne, vendar statistično značilne rezultate o učinkovitosti (5). Ena izmed

metaanaliz, ki potrjuje preventivno učinkovitost probiotikov na pojav potovalne diareje, je študija avtorja McFarlanda s sod. (12). Vključili so dvanajst študij in analizirali 4079 oseb. V skupini popotnikov, ki so preventivno uživali probiotike, je bila incidenca diareje za 15 % manjša kot pa v skupini popotnikov, ki probiotikov niso uživali (12). Na splošno je študij, ki obravnavajo področje potovalnih diarej, malo. Potrebne so še nadaljnje raziskave za doseg trdnjih spoznanj (1).

1.2.2 Akutna infekcijska diareja

Število študij, ki obravnavajo uporabo probiotikov v terapiji akutne infekcijske diareje, je veliko. Večina je bila izvedenih na otroški populaciji. Pri otrocih, starih od enega meseca do treh let, je rotavirus najpogostejši povzročitelj akutne infekcijske diareje (1). Najpogosteje preučevane vrste probiotikov v otroški populaciji so bile: *Lactobacillus rhamnosus* (sev GG), *Bifidobacterium animalis* (sam ali v kombinaciji s *Streptococcus thermophilus*), *Lactobacillus reuteri* in *Lactobacillus acidophilus*. Omenjene vrste izkazujejo le majhno učinkovitost pri sami preventivi oz. preprečenju pojavnosti infekcijske diareje. Malo večji vpliv je opaziti pri zmanjšanju trajanja že prisotne diareje. Običajno pa že prisotna infekcijska diareja spontano izzveni v nekaj dneh, tako da je smiselnost dodatnega jemanja probiotikov vprašljiva. Enega izmed večjih pregledov nad študijami uporabe probiotikov pri pojavu akutnih infekcijskih diarej pri otrocih, je povzela metaanaliza iz združenja Cochrane. Vseh 63 vključenih študij naj bi poročalo o zmanjšanem trajanju in frekvenci diareje udeležencev, ki so jemali probiotike v primerjavi s kontrolno skupino. Končni rezultat je potrdil pozitiven učinek probiotikov v terapiji akutne infekcijske diareje, vendar avtorji poudarjajo, da je potrebno izvesti več raziskav za končno potrditev učinka (13).

1.2.3 Sindrom razdražljivega črevesja (SRČ)

Sindrom razdražljivega črevesja je kronična bolezen debelega črevesja, ki se najpogosteje kaže v trebušnih bolečinah, krčih, napihnjenosti, vetrovih, zaprtosti ter diareji. Uporaba probiotikov pri SRČ še ni dobro raziskana. Nekatere raziskave so sicer pokazale izboljšanje simptomov SRČ po uporabi probiotikov, vendar dokazi o učinku niso trdni (1). Zaznana je bila ublažitev simptomov pri otrocih, ki so jemali pripravke s sevom *Lactobacillus rhamnosus* GG. V skupini z omenjenim sevom se je v primerjavi s skupino otrok, ki so jemali placebo, bistveno zmanjšala prisotnost bolečin v trebuhu. V študiji z istim sevom na odrasli populaciji učinka ni bilo zaznati (5). Pozitivne rezultate o učinku probiotikov pri simptomih SRČ je podala tudi metaanaliza avtorja Mcfarda s sod. (14). Iz skupno dvajsetih vključenih študij je bilo zaznati prisotnost

manjše bolečine v trebuhu v skupini udeležencev, ki so jemali probiotike. Vendar pa študija ni obravnavala učinka na pojavnost napihnjenosti in diareje. Avtorji metaanalize povzamejo, da so za trdno potrditev učinka probiotikov pri SRC potrebne nadaljnje raziskave (14).

1.2.4 Diareja, povzročena z antibiotiki, ter okužba s *Clostridium difficile*

Antibiotiki oz. protimikrobne učinkovine zavirajo rast in uničujejo slabe bakterije, vpliv pa imajo tudi na dobre, koristne bakterije. Terapija s protimikrobnimi učinkovinami pogosto povzroči spremembo v sestavi same črevesne flore. Posledično se spremeni presnova ogljikovih hidratov ter zmanjša absorpcija kratko verižnih maščobnih kislin. Pogosto se ta sprememba kaže s pojavom osmorne diareje. Diarejo običajno povzročajo antibiotiki, ki delujejo na anaerobne bakterije. Najpogostejši povzročitelji diareje so aminopenicilini, cefalosporini ter klindamicin. Diareja se lahko pojavi tako po peroralni kot tudi po intravenski aplikaciji antibiotikov. Raziskave kažejo, da se diareja pri zdravljenju z antibiotiki pojavi v 5 % do 62 % celotne populacije. Pri jemanju antibiotikov širokega spektra, se incidenca diareje v otroški populaciji pojavi v 11 % do 40 %. Simptomi se lahko izrazijo s samim začetkom terapije ali pa celo do dveh mesecev po končani terapiji. V preteklosti so številne metaanalize potrdile pozitiven učinek uporabe probiotikov pri preventivi in skrajšanju trajanja diareje, povzročene z antibiotiki oz. protimikrobnimi učinkovinami (2).

Zaradi porušanja črevesne flore je črevesno okolje še posebej občutljivo na razrast in okužbo slabih bakterij. Eden izmed pogostih zapletov z antibiotiki povzročene diareje je nadaljnja okužba z bakterijo *Clostridium difficile* (2). *Clostridium difficile* je anaerobna bakterija, ki se večinoma prenaša s sporami. Pogosta je v bolnišničnem okolju, okužba z njo pa največkrat poteka z rokami. Prisotna je lahko tudi v vodi, zemlji, zelenjavi ali v mletem mesu. Okužbe s hrano niso dokazane, saj je prisotnost spor običajno majhna. Možne pa so okužbe preko domačih živali (konji, prašiči, govedo). Najpogosteje se okužba z bakterijo *Clostridium difficile* pojavi po terapiji s klindamicinom, cefalosporini in fluorokinoloni. Z bakterijo se pogosto okužijo starostniki, saj se le-ti najpogosteje nahajajo v zdravstvenih ustanovah in prejemajo antibiotike. Vendar pa obseg okužbe v zadnjem času narašča tudi med mlajšo populacijo (majhni otroci, nosečnice). Simptomatsko se okužba kaže z lažjo vodeno diarejo, težji zapleti pa z vnetjem debelega črevesja s sluzavo ali krvavo diarejo ter s psevdomembranoznim kolitisom. Bolezenske znake povzročajo samo določeni sevi. Za simptome diareje in kolitisa sta odgovorna toksina A in B. Toksina diagnosticirajo iz blata okuženih oseb. Pomembno je pravočasno zdravljenje okužbe, saj ta v nasprotnem primeru lahko privede do razvoja

toksičnega megakolona, perforacije črevesja ali celo do bolnikove smrti. Terapija okužbe običajno poteka z antibiotiki (metronidazol ali vankomicin). Zdravljenje naj bi običajno uspešno odstranilo bakterijo, vendar lahko antibiotiki ponovno vplivajo na črevesno floro. Tako je precejšnja možnost, da se bolezen ponovi (15). V preteklosti je bilo izvedenih že veliko študij o vplivu jemanja probiotikov z namenom preprečenja in zmanjšanja okužb z bakterijo *Clostridium difficile*. Metaanaliza v okviru združenja Cochrane je s 23 vključenimi študijami izkazala 64-% zmanjšanje pojavnosti s *Clostridium difficile* povzročene diareje v otroški in odrasli populaciji, ki sta uživali probiotike, vendar pa ni dokazala preventivnega učinka probiotikov na prvotno pojavnost okužbe (16). Pozitivne rezultate so opazili v drugih študijah pri sevu *Lactobacillus rhamnosus GG* z vidika relapsa okužbe. Študije so pokazale, da samo 16 % oseb ob zdravljenju z antibiotiki in istočasnim uživanjem omenjenega seva doživi ponovno okužbo z bakterijo. Po ponovni antibiotični terapiji in hkratnem jemanju probiotika pa je uspeh popolne ozdravitve 94 % (17). Prav tako so bili pozitivni rezultati opazni pri vrsti *Saccharomyces boulardii* pri dnevnem odmerku 20×10^9 CFU na dan. Marsikatera študija pa zaenkrat še ni dokazala učinkovitosti pri preprečevanju infekcije oz. preprečevanju njenega ponovnega relapsa. V klinični praksi kljub temu pogosto svetujejo sočasno uporabo probiotikov pri vzporedni terapiji z antibiotiki. Posebno pri ljudeh, pri katerih se je okužba s *Clostridium difficile* v preteklosti že pojavila (3).

1.2.5 Ostala stanja za uporabo probiotikov

Področje raziskav predstavlja tudi kronično vnetne črevesne bolezni (KVČB). Med kronično vnetne črevesne bolezni uvrščamo Crohnovo bolezen ter ulcerozni kolitis. Mehanizem nastanka bolezni še ni poznan. Pri obeh pa gre zaznati patološke spremembe črevesne sluznice. Simptomatsko se to izraža v dolgotrajni diareji, neješčnosti, hujšanju ter bolečinah v trebuhu. Obdobja s simptomi in brez njih se običajno menjavajo. Namen terapije s probiotiki je podaljšanje časovnega obdobja brez simptomov. Probiotični sev *Escherichia coli Nissle 1917* je v eni izmed izvedenih študij izkazal pozitiven učinek. Trenutno je število študij, ki opažajo pozitivne rezultate na opisanem področju, majhno (1). Področje raziskav prav tako predstavlja uporaba probiotikov z namenom simptomatskega izboljšanja laktozne intolerance. Tekom staranja se pri določenih ljudeh zmanjša sposobnost razgradnje laktoze zaradi pomanjkanja encima laktaze, ki je odgovoren za njeno razgradnjo. Simptomatsko se to kaže v vetrovih, napihnjenosti, trebušnih krčih in zmerni do hudi diareji. Raziskave so potrdile, da se encim laktaza proizvaja tudi med procesom fermentacije jogurta. Probiotični vrsti, ki sta najpogosteje uporabljeni pri proizvodnji jogurta, sta *Lactobacillus bulgaricus* in *Streptococcus salivarius*

thermophilus. Študije nakazujejo, da bi lahko uživanje specifičnih probiotičnih vrst v obliki mlečnih izdelkov (npr. jogurtov) v črevesju povzročile nastanek encima laktaze in tako pripomogle k zmanjšanju simptomov laktozne intolerance (17).

Medtem ko je črevesje eden izmed glavnih tarčnih sistemov, na katerega probiotiki delujejo, se v zadnjem času raziskave osredotočajo tudi na druge predele telesa, kjer bi probiotiki lahko pokazali pozitivne učinke (4). Probiotiki so bili tako uporabljeni kot preventiva pred respiratornimi infekcijami. Sev *Lactobacillus rhamnosus* GG naj bi tako poleg preprečevanja infekcij v črevesju pomagal preprečiti tudi infekcije respiratornega sistema. Opazen je bil tudi pozitiven učinek probiotikov na zmanjšanje pojava atopijskega dermatitisa pri dojenčkih. Po dveh mesecih jemanja probiotičnih vrst *Lactobacillus rhamnosus* (sev GG) in *Bifidobacterium lactis*, naj bi se simptomi ekcema bistveno izboljšali. Pozitivni učinki probiotikov so bili opazni tudi v populaciji otrok, katerih matere so tekom nosečnosti uživale probiotike. Raziskovalci so opazili manjšo zastopanost dermatitisa pri otrocih mater, ki so tekom nosečnosti jemale probiotike, v primerjavi s skupino mater, ki probiotikov niso jemale. V študijo so bile vključene noseče ženske pri katerih je bil v ožji družini prisoten atopijski dermatitis (1). Med novejša raziskovalna področja spada uporaba probiotikov z namenom: izboljšanja alergij, izboljšanja imunske odpornosti, zmanjšanja vaginalnih infekcij, zmanjšanja pojava kariesa, preventive pojava radiološko inducirane diareje, zmanjšanja serumske koncentracije holesterola, izboljšanja sinteze vitaminov, preprečevanja raka na debelem črevesju ter eradikacije bakterije *Helicobacter pylori*. Področja omenjene uporabe so trenutno še slabše raziskana. Potrebne so dodatne študije na večjih populacijah za potrditev pozitivnih učinkov probiotikov (4)(8).

1.3 Varnost probiotikov

Na splošno so probiotiki označeni kot varni in zdravju neškodljivi. Prav tako naj bi bila varna uporaba tekom nosečnosti pri doječih materah ter v zgodnjem otroštvu. Vseeno v omenjenih primerih priporočamo dodatno previdnost (5). Jemanje probiotikov odsvetujemo imunsko oslabljenim ter kronično bolnim osebam. Prav tako osebam s poškodbami prebavil in stalnimi katetri. V omenjenih primerih bi lahko po zaužitju probiotika prišlo do pojava probiotične seapse. Pri poškodbah prebavil tako lahko pride do olajšanega prehoda bakterij skozi poškodovane stene črevesja v kri (3). Tako kot pri ostalih terapijah bi bilo tudi pri terapiji s probiotiki potrebno raziskati varnost vsakega posameznega probiotika posamično (5). Do sedaj zaznani, sicer redki, neželeni učinki jemanja probiotikov so: zaprtje, vetrovi, slabost, kolcanje, infekcije in izpuščaji (1).

1.4 Sistematični pregledi in metaanalize z antibiotiki povzročene diareje

Izvedenih sistematičnih pregledov in metaanaliz na temo učinkovitosti probiotikov pri preventivi in izboljšanju simptomov diareje, povzročene z antibiotiki, je v literaturi veliko. Nekaterne metaanalize vključujejo študije samo na eni probiotični vrsti ali sevu, druge vključujejo študije vseh preučevanih probiotičnih vrst in sevov. Prav tako se metaanalize med seboj razlikujejo po izboru preučevane populacije ter izboru računalniškega programa, s katerim so raziskovalci podatke analizirali. V nadaljevanju so podrobneje opisani rezultati novjših metaanaliz (2012-2016), izvedenih s računalniškim programom Review manager.

Med novjšimi raziskavami izstopa sistematični pregled in metaanaliza združenja Cochrane avtorja Goldenberg s sod. (2). Metaanaliza je vključila študije na otrocih do osemnajstega leta starosti. Incidenca DPA je bila v skupini udeležencev, ki so uživali probiotike 8 %, v kontrolni skupini pa 19 % (RR = 0,46; 95-% CI: 0,35 do 0,61). V metaanalizi so prav tako preučevali vpliv probiotikov na samo trajanje diareje in povprečno frekvenco odvajanj blata. Ugotovili so, da se je trajanje diareje v skupini udeležencev, ki so uživali probiotike, zmanjšala skoraj za tri četrtine dneva (MD = -0,60; 95-% CI: -1,18 do -0,02), rezultati povprečne frekvence odvajanja pa niso bili statistično značilni (2). Še ena izmed novjših raziskav je sistematični pregled ter metaanaliza avtorja Jafarnejad s sod. (18). Glavni preučevani izid je bil zmanjšanje incidence diareje ob hkratnem jemanju probiotikov oseb na terapiji z antibiotiki. Metaanaliza je bila izvedena v populaciji odraslih oseb, s poudarkom na starejši populaciji. Učinkovitost je bila opazna v odrasli populaciji (starost od 18 do 64) (RR = 0,47; 95-% CI: 0,40 do 0,56). Pozitivnega učinka probiotikov pa ni bilo opaziti pri populaciji starostnikov (starejši od 65 let) (18). Metaanaliza avtorja Pattani s sod. (19) je prav tako vključila študije na odrasli populaciji. Glavna preučevana izida sta bila incidenca diareje (RR = 0,61; 95-% CI: 0,47 do 0,79) ter nadaljnja okužba z bakterijo *Clostridium difficile* (RR = 0,37; 95-% CI: 0,22 do 0,61). Oba izida sta v primerjavi s placebom podala statistično značilne rezultate (19). Prav tako je pozitivne rezultate o učinkovitosti pri zmanjševanju incidence diareje podala metaanaliza avtorja Cremonini s sod. (RR = 0,53; 95-% CI: 0,44 do 0,63) z vključenimi študijami na populaciji vseh starostnih skupin (20).

2 NAMEN DELA

Primarni namen našega raziskovalnega dela je sistematično poiskati dokaze o vplivu probiotikov (neodvisno od probiotične vrste in odmerka), na zmanjšano pojavnost diareje pri terapiji z antibiotiki (protimikrobnimi zdravili) v otroški in odrasli populaciji. Prav tako bomo ovrednotili vpliv probiotikov na trajanje diareje, povzročene z antibiotiki, in pa verjetnost nadaljnje okužbe z bakterijo *Clostridium difficile*.

Drugotni namen bo ugotoviti, kako se učinek probiotikov spreminja glede na starost populacije, vrsto probiotika, dnevni odmerek probiotika, vrsto okužbe pri določeni starostni populaciji ter glede na sponzorstvo študije s strani industrije.

Pregledali bomo obstoječo literaturo, povezano z uporabo probiotikov, ovrednotili pristranost raziskav ter s pomočjo metaanalize in izsledkov raziskav podali učinkovitost probiotikov pri diareji, povzročeni z antibiotiki.

3 METODE

Raziskovalno delo je obsegalo izvedbo sistematičnega pregleda literature po elektronskih bibliografskih podatkovnih bazah. Po pridobitvi ustreznih in dovolj kvalitetnih člankov je sledila izvedba metaanalize s programsko opremo Review Manager 5.3 (RevMan) (21).

3.1 Sistematični pregled

Sistematični pregled temelji na ponovljivem postopku iskanja vseh možnih dokazov/dejstev iz objavljene ter neobjavljene literature. Njegov namen je nepristransko predstaviti povzetek vseh obstoječih raziskav in ustrezno oceniti kakovost vsake izmed njih. Kakovost metaanalize temelji na dobro izvedenem sistematičnem pregledu literature, zato je le-ta glavni in najpomembnejši del za njeno izvedbo (22).

3.1.1 Potek sistematičnega pregleda in kriteriji za vključitev raziskav v metaanalizo

Najprej smo opravili pregled objavljenih metaanaliz v podatkovni bazi Cochrane library z namenom raziskati področja in stanja, na katerih so v preteklosti izvedli največ kliničnih študij z vidika preučevanja učinkovitosti probiotikov. Naredili smo preglednico vseh obstoječih metaanaliz na temo probiotikov. Izpisali smo: naslov, leto, vrsto probiotika, število ljudi, vrsto študije ter primerjavo (substancia v kontrolni skupini). Cochrane library je zbirka sistematičnih pregledov in metaanaliz, ki vsebujejo in interpretirajo rezultate medicinskih raziskav. Zadnje iskanje smo izvedli v decembru leta 2015 z iskalnim profilom »probiotic*«. Naredili smo izpis vseh do takrat končanih metaanaliz, ki obravnavajo učinkovitost probiotikov pri specifičnih stanjih.

Nadaljnje iskanje ustrezne literature je potekalo po spletni bibliografski bazi podatkov MEDLINE (iskalnik PubMed) z iskalnim profilom »diarrhea and probiotic*«. MEDLINE predstavlja najobsežnejšo bibliografsko bazo podatkov, ki zajema zapise biomedicinskih študij s celotnega sveta (23). Zadnje iskanje po omenjeni bazi je bilo izvedeno v mesecu januarju 2016. V mesecu februarju 2016 smo pregledali še podatkovni bazi EU Clinical Trials Register in ClinicalTrials.gov z enakim iskalnim profilom kot pri podatkovni bazi MEDLINE. EU Clinical Trials Register vsebuje zapise kliničnih raziskav, ki so se izvajale v Evropski uniji po 1. maju 2004, ClinicalTrials.gov pa zapise kliničnih raziskav s celotnega sveta in je vodena s strani nacionalnega inštituta za zdravje Združenih držav Amerike (24, 25).

Vključitvene kriterije pri selekciji člankov smo opredelili s pomočjo strukturiranega principa PICOS. Le-ta združuje 5 ključnih komponent pri oblikovanju raziskovalnega vprašanja: populacije udeležencev študije (ang. Population), eksperimentalni poseg (ang. Intervention), primerjava oz. kontrolni poseg (ang. Comparator), izid (ang. Outcome) in načrt klinične raziskave (ang. Study design) (26). Iskali smo randomizirane, dvojno slepe študije. Kriteriji za izbor študij so bili:

- populacija: otroci in odrasli;
- eksperimentalni poseg: terapija s probiotiki;
- primerjava oz. kontrolni poseg: placebo;
- izid: pojavnost diareje;
- načrt klinične raziskave: paralelni načrt.

Na podlagi pregleda naslovov ter povzetkov člankov smo se odločili, da razporedimo literaturo v 6 najpogostejših bolezenskih stanj, pri katerih so raziskovalci preučevali učinkovitost probiotikov:

- diareja, povzročena z jemanjem antibiotikov brez ali z nadaljnjo okužbo z bakterijo *Clostridium difficile*;
- akutna infekcijska diareja;
- potovalna diareja;
- diareja kot posledica laktozne intolerance;
- diareja, povzročena z radiološkim zdravljenjem;
- diareja kot simptom pri sindromu razdražljivega črevesja.

Izključili smo članke, ki niso bili v angleškem jeziku. Prav tako smo izključili članke, ki so zajemali študije na živalih, študije z vidika preventivnega jemanja probiotikov za različne namene, študije na ljudeh s pridruženimi boleznimi prebavnega trakta, ter študije, pri katerih je bila iz povzetka natančno razvidna odsotnost placeba. Pri izpisih iz podatkovnih baz EU

Clinical Trials Register in ClinicalTrials.gov smo izključili še vse članke, pri katerih so bile študije še v teku oz. ni bilo podanih končnih rezultatov.

Po pregledu števila člankov v posameznih razredih smo v nadaljevanje raziskave vključili študije, ki so za primarni izid podale pojav diareje v povezavi z jemanjem antibiotikov ob sočasnem uživanju probiotikov. Kot sekundarni izid so študije lahko navedle še dodatno ugotavljanje okužbe z bakterijo *Clostridium difficile* ob sočasnem jemanju probiotikov, vendar ta izid ni bil obvezen za vključitev. Sledila je podrobna selekcija člankov na podlagi njihove celotne vsebine. Dodatno smo izključili duplikate, vsebinsko neustrezne članke ter študije brez placeba.

3.1.2 Zbiranje podatkov vključenih študij

Pregledali smo članke v celoti in iz njih pridobili naslednje podatke: avtorje, leto študij, število randomiziranih oseb, število izstopa oseb iz študij, število analiziranih oseb, povprečno starost v letih, vrsto okužbe, za katero so udeleženci študij prejeli antibiotike, vrsto antibiotikov, vrsto probiotikov, dnevi odmerka, trajanje probiotične terapije, dodatni čas spremljanja po končani probiotični terapiji ter izpis definicije diareje posameznih študij.

Izpisali smo si rezultate glavnih preučevanih izidov študij, ki so bili hkrati tudi naši glavni izidi: **pojavnost diareje, trajanje diareje** (če je bilo poročano) ter **pojavnost okužbe z bakterijo *Clostridium difficile*** (če je študija ta pojav spremljala). Pri pojavnosti diareje smo v raziskavo vključili tudi podatke o morebitni incidenci diareje po že zaključeni probiotični terapiji pri študijah, ki so to obdobje spremljale. Za omenjeni pristop smo se odločili na podlagi dejstva, da se z antibiotiki povzročena diareja lahko pojavi tudi do dva meseca po že zaključeni terapiji z antibiotiki (2).

Zaradi različnega definiranja diareje med študijami smo se odločili, da kot enega izmed glavnih izidov v našo raziskavo vključimo **pojavnost diareje po definiciji SZO**. V raziskavo preučevanega izida smo tako vključili študije, ki so podajale definicijo, ki je ustrezala kriterijem definicije SZO (vsaj trikratno odvajanje tekočega oz. vodenega blata v enem dnevu) (10). Za omenjeni dodatni izid smo se odločili z namenom zmanjšanja heterogenosti med študijami.

Posebno pozornost in previdnost smo namenili študijam, ki so bile sponzorirane s strani industrije, in študijam, ki so udeležencem dovolile sočasno uživanje drugih probiotičnih

izdelkov poleg predpisanega. Slednja pridobljena podatka sta bila vključena v raziskave pristranosti.

3.1.3 Ocena tveganja za pristranost (ang. risk of bias assessment)

Pristranost (ang. bias) je sistematična napaka ali odstopanje od resnice v rezultatih ali sklepanju. Težko je ugotoviti, v kolikšni meri pristranost vpliva na končni rezultat. Učinki pristranosti so lahko majhni in v primerjavi z glavnim učinkom nepomembni. Lahko pa je učinek pristranosti velik in je glavni izid v celoti posledica pristranosti. Pomembno je, da tveganje za pristranost ocenimo vsem študijam, neglede na pričakovano raznolikost rezultatov ali veljavnost vključenih študij. S strani združenja Cochrane je bilo izdelano posebno orodje, s katerim smo lahko določili oceno tveganja za pristranost študij. Orodje obravnava pet kategorij pristranosti: pristranost izbire (ang. selection bias), pristranost izvedbe (ang. performance bias), pristranost zaradi osipa (ang. attrition bias), pristranost poročanja (ang. selective reporting) ter druge vire pristranosti (ang. other sources of bias) (27).

Vsaki kategoriji lahko zmanjšamo tveganje za pristranost z obravnavo posameznih področij (domen), ki jih avtorji običajno poročajo v objavi raziskave:

- **Naključni niz razporeditve** (ang. random sequence generation) smo v vsaki vključeni študiji ugotavljali z vprašanjem: Kako so raziskovalci v študiji izdelali zaporedje oz. vzorec, po katerem so razporejali osebe v eksperimentalno oz. kontrolno skupino, in ali je bila izbira naključna? Z odgovorom na to vprašanje smo zmanjšali tveganje za pristranost izbire. Kriterij za nizko tveganje je bil omemba randomizacije oseb s pomočjo računalniško generiranih naključnih števil (ang. computer generated).
- **Prikritje razporeditve** (ang. allocation concealment) smo v vsaki vključeni študiji ugotavljali z vprašanjem: Ali je metoda dovolj dobro preprečila razkritje razporeditve pred udeleženci študije v eksperimentalno oz. kontrolno skupino? Z odgovorom na to vprašanje smo zmanjšali tveganje za pristranost izbire. Kriterij za nizko tveganje je bil identičen okus, barva, vonj, oblika, ovojnina eksperimentalnega in kontrolnega pripravka.
- **Zaslepitev udeležencev in osebja** (ang. blinding of participants and personnel) smo v vsaki vključeni študiji ugotavljali z vprašanjem: Je bila zaslepljenost udeležencev

uspešna? Z odgovorom na to vprašanje smo zmanjšali tveganje za pristranost izvedbe. Kriterij za nizko tveganje je bila dvojna zaslepljenost udeležencev raziskave.

- **Pomanjkljivost podatkov o izidih** (ang. incomplete outcome data) smo v vsaki vključeni študiji ugotavljali z vprašanjem: Koliko udeležencev je predčasno odstopilo iz raziskave? Z odgovorom na to vprašanje smo zmanjšali tveganje za pristranost zaradi osipa. Kriterij za nizko tveganje je bil osip (odstop iz raziskave) do vključno 20 %.
- **Selektivno poročanje** (ang. selective reporting) smo v vsaki vključeni študiji ugotavljali z vprašanjem: Ali so bili poročani vsi bistveni podatki za sistematični pregled? Ali so avtorji člankov v rezultatih poročali o vseh, v metodah predhodno omenjenih izidih ter o njihovih rezultatih? Ali so rezultati študije podani na način, ki omogoča ponovno sintezo podatkov? Z odgovorom na to vprašanje smo zmanjšali tveganje za pristranost poročanja. Kriterij za nizko tveganje so bili vsi poročani izidi in jasno prikazani rezultati. V primeru manjkajoče definicije diareje smo pristranost označili kot neopredeljeno. Visoko tveganje za pristranost smo ocenili pri študijah, kjer ni bilo jasno podano, kako so avtorji prišli do končnih izidov ter pri katerih je bila iz podanih rezultatov onemogočena nadaljnja sinteza podatkov.
- **Drugi viri pristranosti** (ang. other sources of bias) smo v vsaki vključeni študiji ugotavljali z vprašanjem: So bili v raziskavi prisotni še drugi potencialni viri pristranosti, ki bi s svojo prisotnostjo lahko bistveno vplivali na končni izid? Eden izmed pogostih in pomembnih virov pristranosti je sponzorstvo raziskave. V našem primeru sponzoriranje s strani industrije. Če ni bilo navedeno, ali je študija sponzorirana oz. iz članka ni bilo jasno razvidna prisotnost sponzorstva, smo raziskavi pripisali neopredeljeno oz. neznano tveganje. Če je bilo sponzorstvo študije jasno razvidno, smo raziskavo ocenili kot visoko tveganje. Pozorni smo bili tudi na omembe sočasnega oz. dodatnega jemanja še drugih probiotičnih izdelkov. V primeru, da je metodološko študija to dovolila, je bila taka študija ocenjena z visokim tveganjem za pristranost.

Pri nizkem tveganju je verjetnost, da bi pristranost pomembno vplivala na končni rezultat, majhna. Pri neopredeljenem oz. neznanem tveganju je vpliv pristranosti na rezultate negotov, saj le-ta ni bila poročana ali dovolj dobro opisana, da bi omogočila jasno presojo. Pri visokem tveganju je verjetnost, da pristranost pomembno vpliva na rezultate velika, posledica tega pa je zmanjšanje zaupanja v rezultate ter zaključke raziskave (27). V naši raziskavi smo se odločili,

da študije z visokim tveganjem na enem področju ne obravnavamo kot visok vir pristranosti ter potencialni vpliv na končne rezultate. Pri študijah, kjer se je pojavilo visoko tveganje na dveh ali več področjih, smo predpostavili visoko verjetnost, da pristranost študije lahko pomembno vpliva na izid ter končne rezultate.

3.2 Metaanaliza

Metaanaliza je posebna oblika statistične analize, v kateri na sistematičen način združujemo rezultate posameznih, med seboj neodvisnih študij. Pravilno izvedena metaanaliza omogoča učinkovitejšo izrabo obstoječih podatkov, služi kot podpora pri gradnji novih raziskovalnih spoznanj ter omogoča sistematično spremljanje najnovejših znanstvenih spoznanj (28).

3.2.1 Izračun velikosti učinka

Velikost učinka je pogostost nekega izida v kontrolni oz. v eksperimentalni skupini, ki ga lahko izračunamo na več načinov. Za dihotomne oz. binarne spremenljivke se lahko uporabi: razmerje tveganja ali relativno tveganje (ang. relative risk s kratico RR), razmerje obetov (ang. odds ratio s kratico OR), razlika tveganj (ang. risk difference s kratico RD) in število ljudi, ki jih moramo zdraviti, da dobimo en pozitiven dogodek (ang. number needed to treat s kratico NNT). Za kontinuirane spremenljivke pa se za velikost učinka lahko uporabita povprečna razlika (ang. mean difference s kratico MD) in standardizirana povprečna razlika (ang. standardized mean difference s kratico SMD) (29).

V naši raziskavi smo za dihotome spremenljivke izbrali pojavnost diareje, pojavnost diareje po SZO definiciji ter pojavnost okužbe z bakterijo *Clostridium difficile*. Kot kontinuirano spremenljivko smo izbrali trajanje diareje. Za izračun velikosti učinka pri dihotomnih spremenljivkah smo uporabili razmerje relativnega tveganja RR. RR je definirano kot razmerje verjetnosti dogodkov med eksperimentalno (A/N_E) in kontrolno (C/N_C) skupino. Oznaki A in C pomenita število dogodkov v posamezni skupini. N_E predstavlja število vseh ljudi v eksperimentalni skupini, N_C pa število vseh ljudi v kontrolni skupini (enačba 1).

$$RR = \frac{A/N_E}{C/N_C}$$

Za prikaz velikosti učinka pri kontinuirani spremenljivki smo uporabili povprečno razliko MD (ang. mean difference), ki predstavlja razliko povprečij med eksperimentalno (M_E) in kontrolno (M_C) skupino (enačba 2).

$$MD = M_E - M_C$$

Program RevMan poda MD iz povprečne vrednosti vnesenih podatkov ter podatka za standardno deviacijo SD (ang. standard deviation). Pri nekaterih raziskavah SD ni bila podana in jo je bilo potrebno izračunati. Kjer je bil podan podatek za interkvartilni razpon IQR (ang. interquartile range), smo SD izračunali po spodnji formuli. IQR predstavlja odklon od standardizirane normalne porazdelitve in ustreza odklonu prvega oziroma tretjega kvartila (enačba 3).

$$SD = \frac{IQR}{1,35 \times 2} = \frac{zgornja\ meja - spodnja\ meja}{1,35 \times 2}$$

IQR je statistični kazalec, ki predstavlja razliko med tretjim in prvim kvartilom. Odvzame 50 % vrednosti vzorca, ki so najbližje povprečni vrednosti oz. aritmetični sredini. Na ta način je odvzetih 25 % spodnjih zunanjih vrednosti (ležijo pod prvim kvartilom Q_1) in 25 % zgornjih zunanjih vrednosti (ležijo nad tretjim kvartilom Q_3) (enačba 4).

$$IQR = Q_3 - Q_1$$

V primeru, da v eksperimentalni in kontrolni skupini ni nikakršnih izidov (vnos števila 0), program RevMan razmerja relativnega tveganja RR ter povprečne razlike MD ne more izračunati (ang. not estimable). Če se v eni od skupin zgodil dogodek, v drugi pa ne, program namesto vrednosti 0 v skupini brez dogodka vzame vrednost $\frac{1}{3}$ in poda rezultat.

3.2.2 Prikaz rezultatov

Rezultate metaanalize najpogosteje podajamo v obliki drevesnega diagrama (ang. forest plot). Drevesni diagram je grafični prikaz vrednosti ocen velikosti učinkov posameznih študij ter njihove skupne ocene. Učinek posamezne študije predstavimo z velikostjo kvadrata (28). Večji kot je kvadrat, večjo »utež« ima študija, kar pomeni večji vpliv študije na končni rezultat. Velikost uteži študije je odvisna od velikosti vzorca oziroma števila ljudi ter od standardne deviacije velikosti učinka kliničnega izida. Večje število enot v vzorcu in manjša standardna deviacija se kaže kot ožji interval zaupanja (ang. confidence interval, s kratico CI), kar posledično pomeni večjo velikost uteži (29).

Interval zaupanja (običajno uporabljamo 95-%), v katerem z določeno stopnjo tveganja pričakujemo oceno, prikažemo s horizontalno črto. Bolj kot je črta široka, manj natančna je ocena rezultatov raziskave. Skupno velikost učinka prikažemo z romбом. Interval zaupanja

skupne ocene predstavljajo horizontalna oglišča romba (28). Če se romb ne dotika »črte brez učinka« (sredinske vertikalne črte v drevesnem diagramu), pomeni, da je razlika med eksperimentalno in kontrolno skupino statistično značilna. V primeru dotikanja je razlika statistično neznačilna. Vrednost »črte brez učinka« je v primeru dihotomne spremenljivke 1, v primeru kontinuirane spremenljivke pa 0 (29).

Statistično značilnost rezultatov prikažemo tudi z vrednostjo P. Če so vrednosti P manjše od 0,05, so razlike med eksperimentalno in kontrolno skupino signifikantne oz. statistično značilne. Vrednosti, ki so večje ali enake 0,05, kažejo, da razlike med eksperimentalno in kontrolno skupino niso signifikantne oz. statistično značilne (29). Prav tako Program RevMan prisotnost skupnega učinka oceni s statističnim testom z ob ničelni hipotezi, da ni razlike med eksperimentalno in kontrolno skupino. Statistika z predstavlja razmerje med skupnim učinkom (θ) in njegovo standardno napako SE (ang. standard error) (enačba 5).

$$z = \frac{\theta}{SE_{\theta}}$$

3.2.3 Dokazovanje homogenosti / heterogenosti

Preiskovanje heterogenosti in vzrokov zanjo je eden od ciljev metaanalize, podobno kot je izračunavanje določene skupne vrednosti. Določena mera heterogenosti je stalno prisotna, četudi je včasih ne zaznamo. Homogenost lahko preverjamo računsko ali grafično, še najbolje pa s kombiniranjem obeh (30).

Grafično smo prisotnost heterogenosti ugotavljali z vizualno oceno prekrivanja intervalov zaupanja v drevesnih diagramih. Predpostavijo, da so študije homogene, če se vsi intervali zaupanja med seboj prekrivajo (29). Za kvantificiranje heterogenosti med raziskavami pa je uporaben test heterogenosti Q. Q je vsota utežnih (w_i) kvadratov razlik med ugotovljenim učinkom v posamezni raziskavi (θ_i) in skupnim učinkom vseh raziskav v metaanalizi (θ) (enačba 6).

$$Q = \sum_{i=1}^k w_i (\theta_i - \theta)^2$$

Relativno visok Q kaže na heterogenost rezultatov raziskav v metaanalizi. Test ima nizko moč pri majhnem vzorcu in majhnem številu raziskav.

Statistika I^2 (ang. inconsistency) je novejši način prikazovanja heterogenosti in velja trenutno za najbolj zanesljivo. Predstavlja tisti delež variabilnosti skupne ocene učinka, ki je posledica heterogenosti in ne naključja. Izračuna se iz statistike Q in stopenj prostosti df. (enačba 7).

$$I^2 = \left(\frac{Q - df}{Q} \right) \times 100 \%$$

Parameter I^2 se meri v intervalu od 0 % do 100 % in nam pove, kako primerljive so raziskave, uporabljene v metaanalizi med seboj. I^2 je enak 0, ko je Q manjši od df. Interval, kjer je homogenost še sprejemljiva, je od 0 % do 25 %. Če je I^2 manjši od 25 %, lahko uporabimo model stalnih učinkov (ang. fixed effect model), če pa je I^2 večji od 75 %, je heterogenost zelo velika, zato je bolje uporabiti model naključnih učinkov (ang. random effects model) (29). Druga kvantitativna mera za heterogenost je varianca (τ^2), ki jo program RevMan izračuna pri metaanalizi z modelom naključnih učinkov. Kvadratni koren variance (τ) predstavlja standardno deviacijo rezultatov (učinkov) med raziskavami (31).

V metaanalizi najpogosteje uporabljamo dva statistična modela:

- **Model stalnih učinkov** predpostavlja, da vključene študije ocenjujejo isti učinek oz. da so učinki posameznih študij vzorčne vrednosti iste populacije. Torej predvideva, da vse vključene študije uporabljajo enako metodo merjenja, vzorci udeležencev pa so med seboj homogeni. Upošteva variabilnost znotraj posameznih raziskav.
- **Model slučajnih učinkov** predpostavlja, da so vključene študije naključno vzorčene iz različnih populacij študij, ki imajo različne učinke. Upošteva variabilnost znotraj posameznih raziskav ter variabilnost med raziskavami.

V primeru da so študije med seboj homogene, modela stalnih in slučajnih učinkov vrneta primerljive rezultate. Posledično je torej heterogenost med študijami tista, na podlagi katere se odločimo, kateri model bomo izbrali (28).

3.2.4 Ocena pristranosti objavljanja

Tveganje za pristranost objave (ang. publication bias) se pojavi, kadar na objavo raziskave vplivata velikost in smer rezultatov (ali so rezultati podali pozitiven ali negativen učinek glede na terapijo). Zlasti manjše raziskave z negativnimi ali statistično neznačilnimi rezultati, ki jih v fazi iskanja ne identificiramo, povečajo tveganje za pristranost selekcije v sistematičnem

pregledu. Pristranost objave smo vizualno ocenili s pomočjo lijakastega diagrama (32). Lijakasti diagram (ang. funnel plot) je drugi standardni grafični prikaz v metaanalizi. Predstavlja odnos med velikostjo učinka študij in njihovimi ocenami raztrosa. Uporablja se za odkrivanje sistematične heterogenosti. Pri popolni homogenosti je oblika diagrama simetrično lijakasta. Asimetričnost pa nakazuje na prisotnost heterogenosti, ki je lahko posledica različnih virov (majhni vzorci, heterogenost rezultatov raziskav, slaba kakovost študij itd.). Asimetrija se izrazi zaradi primanjkljaja točk v enem od spodnjih kotov (28).

3.2.5 Analize podskupin

Analize podskupin (ang. subgroup analyses) vključujejo razdelitev vseh podatkov udeležencev v posamezne podskupine, pogosto z namenom njihove medsebojne primerjave. Lahko so izvedene z namenom preučevanja heterogenosti rezultatov ali zgolj z namenom pridobitve odgovora na specifično vprašanje, npr. o populaciji, vključeni v študijo, vrsti probiotične terapije, vrsti študije itd. (31).

V naši raziskavi smo se odločili za razdelitev glavnih štirih izidov na pet podskupin z namenom raziskave heterogenosti študij in pridobitve podrobnejših odgovorov glede učinkovitosti probiotikov. Zanimalo nas je, kako uspešni so probiotiki pri različnih populacijah glede na **starost** (otroci, odrasli) ter kako na učinkovitost preprečevanja oz. trajanja diareje vplivata dnevni **odmerek** in **vrsta probiotika** (samostojno ali v kombinaciji). Ker so udeleženci študije prebolevali različne okužbe in v ta namen prejeli tudi različne vrste antibiotikov, smo se odločili podrobneje pregledati še vpliv probiotikov glede na starost (otroci, odrasli) ter **vrsto okužbe**, s katero so bili soočeni. Sponzoriranje študije s strani industrije je bil po našem mnenju eden izmed največjih tveganj za pristranost v naši raziskavi. Zato smo se odločili, da podrobneje z ločeno podskupino pregledamo še **vpliv sponzorstva** na rezultate.

4 REZULTATI

4.1 Rezultati sistematičnega pregleda

Po vpisu iskalnega niza v podatkovno bazo Cochrane Library smo dobili skupno 33 zadetkov. S kar 63 vključenimi študijami izstopa metaanaliza probiotičnega zdravljenja akutnih infekcijskih diarej. Ostale metaanalize vključujejo manjše število študij. Na področju z antibiotiki povzročene diareje je bila izvedena ena metaanaliza na otroški populaciji s 23 vključenimi študijami. Preglednica z opisom študiji je prikazana v prilogi D. V elektronskih bazah MEDLINE (iskalnik PubMed), EU Clinical Trials Register ter ClinicalTrials.gov smo z iskalnim nizom skupino našli 454 zadetkov.

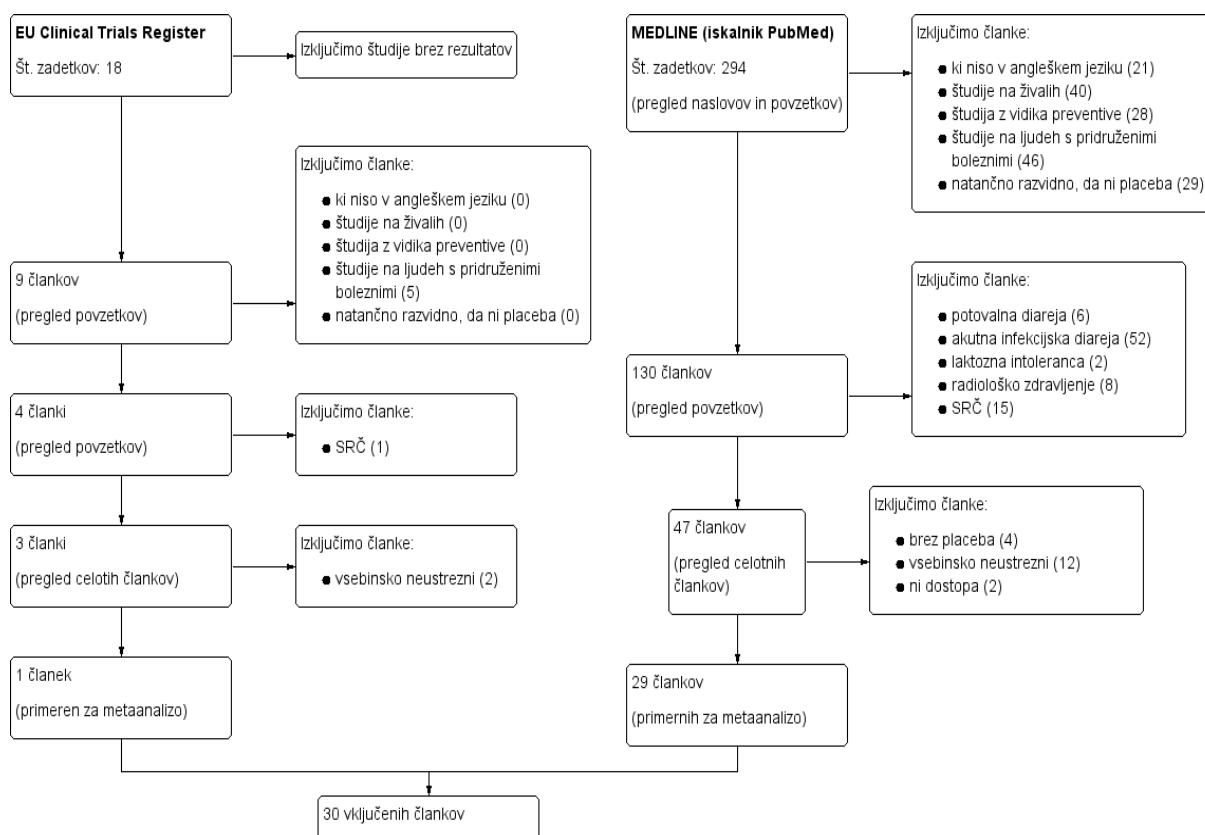
V podatkovni bazi PubMed je bilo skupno število zadetkov 294. Članke smo pregledali po naslovih ter povzetkih. Po odstranitvi 164 neustreznih (študij, ki niso bile v angleškem jeziku, študij na živalih, študij z vidika preventive za različne namene, študij na ljudeh s pridruženimi boleznimi prebavnega trakta ter študij, iz katerih je bila natančno razvidna odsotnost placeba), je skupna številka vključenih člankov znašala 130. Teh 130 člankov smo razporedili v šest skupin po različnih stanjih oz. vrstah diareje. V nadaljevanju smo se osredotočili samo na študije z antibiotiki povzročene diareje. Po odstranitvi 83 člankov, ki so obravnavali ostale vrste diarej (potovalna diareja, akutna infekcijska diareja, diareja kot vzrok laktozne intolerance, radiološko inducirana diareja, diareja kot posledica SRČ), je ostalo za pregled 47 člankov. Po natančnem celotnem vsebinskem pregledu preostalih člankov in dodatni selekciji (odstranili smo dvanajst vsebinsko neustreznih člankov, štiri članke brez placeba ter dva članka, do katerih nismo imeli dostopa), smo dobili 29 primernih člankov za vključitev v metaanalizo.

Med vsebinsko neustreznimi članki jih je pet kot glavni izid obravnavalo izključno diarejo, povezano z okužbo bakterije *Clostridium difficile*, dva članka sta bila osredotočena na analizo in sestavo porušene črevesne flore, trije članki, katerih udeleženci (pacienti) so uživali izključno enteralno prehrano in niso bili sposobni normalnega prehranjevanja, ter dva članka, ki sta opisovala samo protokol študije in sta bila predhodnika že vključenega članka.

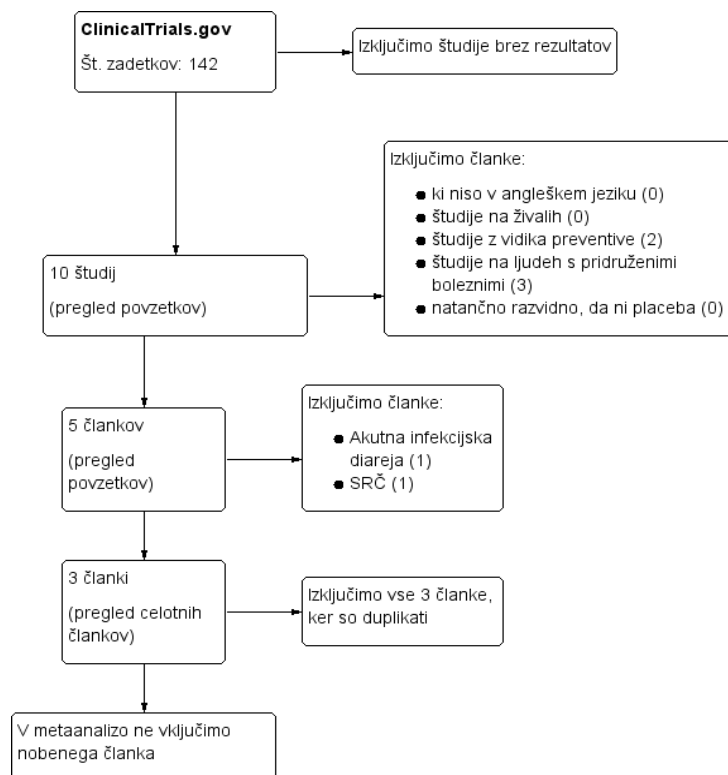
V podatkovni bazi EU Clinical Trials Register je bilo skupno število zadetkov 18. Po izključitvi devetih člankov brez objavljenih rezultatov, jih je za pregled ostalo še devet. Po pregledu naslovov in povzetkov ter upoštevanju istih kriterijev kot pri podatkovni bazi PubMed (izključili smo še pet člankov študij na ljudeh s pridruženimi boleznimi), so po selekciji ostali

še štirje članki. En članek je obravnaval diarejo kot posledico SRČ, trije članki pa diarejo, povzročeno z zdravljenjem z antibiotiki. Vsebinsko smo v celoti pregledali članke, ki so obravnavali diarejo, povezano z jemanjem antibiotikov. Po pregledu treh člankov dva vsebinsko nista ustrezala zaradi obravnave diareje, povezane z okužbo bakterije *Clostridium difficile*. Tako je za vključitev v metaanalizo ostal en članek.

V podatkovni bazi ClinicalTrials.gov je bilo skupno število zadetkov 142. Po izključitvi 132 študij brez rezultatov, nam je za pregled preostalo še deset člankov. Po pregledu naslovov in povzetkov ter upoštevanju istih kriterijev kot pri podatkovni bazi PubMed (izključili smo tri članke študij na ljudeh s pridruženimi boleznimi in dva članka študij z vidika preventivnega jemanja probiotikov za različne namene), nam je za nadaljnji pregled ostalo pet člankov. Dva članka med petimi sta obravnavala druge vrste diareje (en članek je obravnaval akutno infekcijsko diarejo, drugi pa diarejo kot posledico SRČ), zato smo jih iz raziskave izključili. V nadaljnji celotni vsebinski pregled smo vključili tri članke, ki obravnavajo diarejo, povezano z jemanjem antibiotikov. Vsi trije članki so bili duplikati že vključenih člankov podatkovne baze PubMed, zato v nadaljnjo metaanalizo nismo vključili nobenega.



Slika 1: Prikaz pregleda člankov po podatkovnih bazah EU Clinical Trials Register in MEDLINE (PubMed)



Slika 2: Prikaz pregleda člankov po podatkovni bazi ClinicalTrials.gov

4.1.1 Rezultati zbiranja podatkov vključenih študij

V metaanalizo smo po sistematičnem pregledu vključili trideset člankov. Vse študije vključenih člankov so bile randomizirane, s placebom kontrolirane ter dvojno slepe. V raziskavo smo vključili študije, izvedene na celotni starostni populaciji. Osem študij je bilo izvedenih na otrocih, dvaindvajset pa na odraslih. Število vseh vključenih randomiziranih oseb je bilo 7618, od katerih jih je 573 iz študij izstopilo. Študije so različno analizirale rezultate učinkovitosti. Štirinajst študij je podajalo rezultate po protokolu (PP, ang. per protocol), pri preostalih študijah pa so učinkovitost podajali z namero zdravljenja (ITT, ang. intention-to-treat).

Skupno je bilo analiziranih 7280 oseb različnih starosti, od katerih smo pridobili podatke za štiri glavne preučevane izide: pojavnost diareje, pojavnost diareje po definiciji SZO, trajanje diareje ter pojavnost okužbe z bakterijo *Clostridium difficile*. Za pojavnost diareje so podatke podajale vse vključene študije. Pri pojavnosti diareje po definiciji SZO smo vključili podatke 18 študij. Trajanje diareje, povzročene z jemanjem antibiotikov, je spremljalo le 10 študij, pojavnost nadaljnje okužbe z bakterijo *Clostridium difficile* pa 18 študij. Študije so podrobneje opisane v preglednici I.

Preglednica I: Opis vključenih študij (n = 30)

Avtor Leto Vir	Število randomiziranih oseb	Število izstopov tekem študije	Delež izstopov tekem študije	Število analiziranih oseb	Analiza rezultatov	Populacija	Povprečna starost v letih	Vrsta okužbe	Izid 1	Izid 2	Izid 3	Izid 4
Allen 2013 (33)	2981	40	1,3 %	2941	PP	Odrasli	77,1	respiratorne infekcije	✓	✗	✗	✓
Armuzzi 2001 (34)	60	0	0 %	60	ITT	Odrasli	40	infekcija s <i>H. pylori</i>	✓	✗	✗	✗
Arvola 1999 (35)	167	48	28,7 %	119	PP	Otroci	4,5	respiratorne infekcije	✓	✓	✓	✓
Beausoleil 2007 (36)	89	0	0 %	89	ITT	Odrasli	70,9	respiratorne infekcije	✓	✗	✗	✓
Can 2006 (37)	151	0	0 %	151	ITT	Odrasli	23,9	drugo	✓	✗	✗	✓
Chatterjee 2013 (38)	396	53	13,4 %	343	PP	Odrasli	37,8	respiratorne infekcije	✓	✓	✓	✗
Cimperman 2011 (39)	31	8	25,8 %	23	PP	Odrasli	51	respiratorne infekcije	✓	✗	✗	✗
Cindoruk 2007 (40)	124	0	0 %	124	ITT	Odrasli	48	infekcija s <i>H. pylori</i>	✓	✗	✗	✓
Corrêa 2005 (41)	169	12	7,1 %	157	PP	Otroci	1,8	drugo	✓	✓	✓	✗
Cremonini 2002 (42)	85	0	0 %	85	ITT	Odrasli	39,5	infekcija s <i>H. pylori</i>	✓	✗	✗	✗
Fox 2015 (43)	72	2	2,8 %	70	PP	Otroci	6,6	respiratorne infekcije	✓	✗	✗	✗
Gao 2010 (44)	255	19	7,5 %	255	ITT	Odrasli	60	številne infekcije	✓	✗	✓	✓
Hickson 2007 (45)	135	22	16,3 %	113	PP	Odrasli	73,8	številne infekcije	✓	✗	✗	✓
Koning 2008 (46)	41	3	7,3 %	38	PP	Odrasli	26,9	drugo	✓	✓	✗	✓
Kotowska 2005 (47)	269	23	8,6 %	246	PP	Otroci	7,3	respiratorne infekcije	✓	✓	✗	✓

Avtor Leto Vir	Število randomiziranih oseb	Število izstopov tekem študije	Delež izstopov tekem študije	Število analiziranih oseb	Analiza rezultatov	Populacija	Povprečna starost v letih	Vrsta okužbe	Izid 1	Izid 2	Izid 3	Izid 4
Lewis 1998 (48)	72	3	4,2 %	69	PP	Odrasli	76	drugo	✓	✗	✗	✓
Lonnermark 2010 (49)	163	0	0 %	163	ITT	Odrasli	45	številne infekcije	✓	✓	✗	✓
Merenstein 2009 (50)	125	8	6,4 %	125	ITT	Otroci	3,1	respiratorne infekcije	✓	✗	✗	✗
Nista 2004 (51)	106	6	5,7 %	106	ITT	Odrasli	44,5	infekcija s <i>H. pylori</i>	✓	✗	✗	✗
Ouwehand 2014 (52)	503	53	10,5 %	503	ITT	Odrasli	50	številne infekcije	✓	✗	✓	✓
Pazzoni 2012 (53)	275	71	25,8 %	204	PP	Odrasli	79,3	številne infekcije	✓	✓	✓	✓
Ruszczyński 2008 (54)	240	0	0 %	240	ITT	Otroci	4,6	številne infekcije	✓	✓	✓	✓
Safdar 2008 (55)	40	1	2,5 %	39	ITT	Odrasli	69,1	številne infekcije	✓	✗	✗	✓
Selinger 2013 (56)	229	107	46,7 %	229	ITT	Odrasli	57,5	številne infekcije	✓	✗	✗	✓
Song 2010 (57)	214	42	19,6 %	214	ITT	Odrasli	60,5	respiratorne infekcije	✓	✓	✗	✗
Szymański 2008 (58)	78	0	0 %	78	ITT	Otroci	7,5	respiratorne infekcije	✓	✓	✗	✗
Tomažič 2010 (59)	200	14	7 %	186	PP	Odrasli	44	drugo	✓	✗	✓	✓
Vanderhoof 1999 (60)	202	14	6,9 %	188	PP	Otroci	4	številne infekcije	✓	✗	✓	✗
Vrese 2011 (61)	59	0	0 %	59	ITT	Odrasli	46	infekcija s <i>H. pylori</i>	✓	✓	✓	✗
Wenus 2008 (62)	87	24	27,6 %	63	PP	Odrasli	57,5	drugo	✓	✓	✗	✓

Izid 1: Pojavnost diareje, Izid 2: Pojavnost diareje po definiciji SZO, Izid 3: Trajanje diareje, Izid 4: Pojavnost okužbe z bakterijo *Clostridium difficile*

Udeleženci so tekom študije prebolevali številne okužbe. Deset študij je obravnavalo respiratorne infekcije, od katerih je bilo šest študij otroških. Pet študij je obravnavalo odrasle osebe z infekcijo z bakterijo *Helicobacter pylori*. Devet študij smo opredelili kot »številne druge infekcije«. V ta razred smo vključili študije, katerih populacije so imele mešane infekcije (urinarne infekcije, infekcije kože, infekcije ušesa, infekcije mandljev itd.). Šest študij smo ovrednotili kot »drugo«. Sem smo uvrstili študije, kjer ni bilo podano, za katere infekcije gre (pet študij), ter študije na zdravih prostovoljcih (ena študija). Udeleženci študij so za zdravljenje okužb prejeli različne antibiotike. Med njimi je bilo največ betalaktamskih antibiotikov, torej penicilinov in cefalosporinov. Največkrat je bil indiciran amoksisilin. Večina udeležencev je antibiotike uživala peroralno, v petih študijah pa so nekateri udeleženci antibiotike prejeli tudi intravensko. Prikaz protimikrobnih učinkovin, vključenih v študije, je povzet v prilogi C.

Študije so se med seboj razlikovale v vrsti preučevanih probiotikov. Udeleženci so prejeli probiotike različnih vrst, samostojno ali v kombinacijah. V študija Cremonini 2002 (42) so raziskovalci v svojo raziskavo vključili kar tri različne skupine preučevanih probiotikov. V prvo in drugo skupino so vključili različni probiotični vrsti samostojno. V tretjo skupino pa kombinacijo dveh, od prejšnjih skupin različnih vrst. Prav tako so udeleženci prejeli različno dnevno odmerjanje probiotikov tekom različnega časovnega obdobja. Študiji Gao 2010 (44) in Ouwehand 2014 (52) sta v raziskavo učinkovitosti probiotikov vključili nižji in višji odmerek probiotikov. Pri dvanajstih študijah je čas trajanja jemanja probiotikov obsegal čas jemanja antibiotikov in še dodatnih sedem (samo v eni študiji pet) dni samostojnega jemanja probiotikov. Pri preostalih študijah (z izjemo ene, ki podatka ni podala) je bilo uživanje probiotikov omejeno na čas jemanja antibiotikov. Izjema v načinu jemanja probiotikov je bila študija Safdar 2008 (55), pri kateri so udeleženci z uživanjem probiotičnih izdelkov pričeli štirinajst dni po prenehanju jemanja antibiotikov.

Večina študij je podajala še dodatni čas spremljanja pojavnosti diareje po že zaključeni terapiji s probiotiki (ang. follow-up). Čas dodatnega spremljanja je segal od enega tedna zadnje probiotične terapije do največ 84 dni od zadnjega odmerka antibiotika. Razlike med študijami so se pojavile tudi v definiranju same diareje. Pet študij je podajalo definicijo, ki jo uporablja SZO (vsaj trikratno odvajanje tekočega oz. vodenega blata v 24 urah). Deset študij je definiciji SZO dodalo še dodatni kriterij (trajanje diareje vsaj dva zaporedna dneva ali več). Pri petih študijah so uporabili druge definicije diareje, pri sedmih študijah pa definicija ni bila podana. Podrobnejši opis zbranih podatkov je prikazan v preglednici II.

Preglednica II: Opis vključenih študij (n=30)

Avtor Leto Vir	Vrsta probiotika	Dnevni odmerek v 10 ⁹ CFU	Trajane probiotične terapije	Dodatni čas spremljanja po končani terapiji	Definicija diareje
Allen 2013 (33)	<i>L. acidophilus</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. lactis</i>	30	21 dni	DPA: 35 dni DPCD: 63 dni	Vsaj trikratno odvajanje tekočega oz. vodenega blata v 24 urah.
Armuzzi 2001 (34)	<i>L. rhamnosus</i> GG	6	14 dni (7 dni z antibiotiki, 7 dni samostojno)	14 dni	Definicija ni podana.
Arvola 1999 (35)	<i>L. rhamnosus</i> GG	10	7 do 10 dni	3 mesece	Vsaj trikratno dnevno odvajanje tekočega oz. vodenega blata, vsaj dva zaporedna dneva ali več.
Beausoleil 2007 (36)	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i>	50	8 do 10 dni	21 dni po zadnjem odmerku antibiotika	Vsaj trikratno odvajanje tekočega oz. vodenega blata v 24 urah.
Can 2006 (37)	<i>S. boulardii</i>	Ni poročano.	Ni poročano	28 dni po zadnjem odmerku antibiotika	Definicija ni podana.
Chatterjee 2013 (38)	<i>L. acidophilus</i> LA-5, <i>B. BB-12</i>	4	14 dni	Ni poročano.	Vsaj trikratno dnevno odvajanje tekočega oz. vodenega blata, vsaj dva zaporedna dneva ali več.
Cimperman 2001 (39)	<i>L. reuteri</i>	0,1	28 dni	14 dni po zadnjem odmerku antibiotika	Vsaj trikratno dnevno odvajanje tekočega oz. vodenega blata, vsaj dva zaporedna dneva ali več.
Cindoruk 2007 (40)	<i>S. boulardii</i>	Ni poročano.	14 dni	42 dni	Definicija ni podana.
Corrêa 2005 (41)	<i>B. lactis</i> , <i>S. thermophilus</i>	0,01	15 dni	15 dni	Vsaj trikratno dnevno odvajanje tekočega oz. vodenega blata, vsaj dva zaporedna dneva ali več.
Cremonini 2002 (42)	3 probiotične skupine: 1. <i>L. rhamnosus</i> GG, 2. <i>S. boulardii</i> , 3. <i>L. acidophilus</i> , <i>B. lactis</i>	1.skupina: 6 2.skupina: 5 3.skupina: 5	14 dni (7 dni z antibiotiki, 7 dni samostojno)	14 dni	Definicija ni podana.
Fox 2015 (43)	<i>L. rhamnosus</i> GG (LGG), <i>B. lactis</i> (Bb-12) in <i>L. acidophilus</i> (La-5)	13	čas jemanja antibiotikov + 7 dni samostojno	Ni poročano.	Vsaj dvakratno dnevno odvajanje tekočega oz. vodenega blata, vsaj dva zaporedne dni ali več.

Avtor Leto Vir	Vrsta probiotika	Dnevni odmerek v 10 ⁹ CFU	Trajane probiotične terapije	Dodatni čas spremljanja po končani terapiji	Definicija diareje
Gao 2010 (44)	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i>	50	čas jemanja antibiotikov + 5 dni samostojno	21 dni	Vsaj trikratno odvajanje tekočega oz. vodenega blata v 24 urah.
Hickson 2007 (45)	<i>L. casei</i> , <i>Str. thermophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i>	0,2	čas jemanja antibiotikov + 7 dni samostojno	28 dni	Vsaj dvakratno dnevno odvajanje tekočega oz. vodenega blata, vsaj tri zaporedne dni ali več.
Koning 2008 (46)	<i>B. bifidum</i> , <i>B. Lactis</i> , <i>B. longum</i> , <i>E. faecium</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. Rhamnosus</i> , <i>L. salivarius</i>	1	14 dni (7 dni z antibiotiki, 7 dni samostojno)	49 dni	Vsaj trikratno dnevno odvajanje tekočega oz. vodenega blata, vsaj dva zaporedna dneva ali več.
Kotowska 2005 (47)	<i>S. boulardii</i>	Ni poročano.	8 dni	14 dni po zadnjem odmerku antibiotika	Vsaj trikratno dnevno odvajanje tekočega oz. vodenega blata, vsaj dva zaporedna dneva ali več.
Lewis 1998 (48)	<i>S. boulardii</i>	Ni poročano.	7 dni	Ni poročano.	Vsaj trikratno odvajanje tekočega oz. vodenega blata v 24 urah.
Lonnermark 2010 (49)	<i>L. plantarum</i>	10	čas jemanja antibiotikov + 7 dni samostojno	7 dni	Vsaj trikratno dnevno odvajanje tekočega oz. vodenega blata, vsaj dva zaporedna dneva ali več.
Merenstein 2009 (50)	<i>L. lactis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. lactis subspecies</i> <i>diacetylactis</i> , <i>Leuconostoc cremoris</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. breve</i> , <i>L. acidophilus</i> in <i>S. florentinus</i>	Ni poročano.	10 dni	14 dni	Definicija ni podana.
Nista 2004 (51)	<i>Bacillus clausii</i>	2	14 dni (7 dni z antibiotiki, 7 dni samostojno)	Ni poročano.	Definicija ni podana.
Ouwehand 2014 (52)	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. paracasei</i> Lpc-37, <i>B. Lactis</i> Bi-07, <i>B. lactis</i> BI-04	17	čas jemanja antibiotikov + 7 dni samostojno	28 dni po zadnjem odmerku antibiotika	Vsaj trikratno odvajanje tekočega oz. vodenega blata v 24 urah.
Pazzoni 2012 (53)	<i>S. boulardii</i>	5	čas jemanja antibiotikov + 7 dni samostojno	84 dni po zadnjem odmerku antibiotika	Vsaj trikratno dnevno odvajanje tekočega oz. vodenega blata, vsaj dva zaporedna dneva ali več.

Avtor Leto Vir	Vrsta probiotika	Dnevni odmerek v 10 ⁹ CFU	Trajane probiotične terapije	Dodatni čas spremljanja po končani terapiji	Definicija diareje
Ruszczyński 2008 (54)	<i>L. rhamnosus</i>	2	8 dni	14 dni po zadnjem odmerku antibiotika	Vsaj trikratno dnevno odvajanje tekočega oz. vodenega blata, vsaj dva zaporedna dneva ali več.
Safdar 2008 (55)	<i>L. acidophilus</i>	20	14 dni po terapiji z antibiotiki	Ni poročano.	Odvajanje tekočega oz. vodenega blata, vsaj dva zaporedna dneva ali več.
Selinger 2013 (56)	<i>B. breve</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. infantis</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</i> , <i>Str. thermophilus</i>	450	čas jemanja antibiotikov + 7 dni samostojno	Ni poročano.	Več kot dvakratno dnevno odvajanje tekočega oz. vodenega blata, vsaj dva zaporedna dneva ali več.
Song 2010 (57)	<i>L. rhamnosus</i> , <i>L. acidophilus</i>	2	14 dni	14 dni	Vsaj trikratno dnevno odvajanje tekočega oz. vodenega blata, vsaj dva zaporedna dneva ali več.
Szymański 2008 (58)	<i>B. longum</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. plantarum</i>	0,1	8,5 dni	14 dni po zadnjem odmerku antibiotika	Vsaj trikratno dnevno odvajanje tekočega oz. vodenega blata, vsaj dva zaporedna dneva ali več.
Tomažič 2010 (59)	<i>L. acidophilus</i> (LA-5), <i>B. animalis subsp. lactis</i> (BB-12)	1	čas jemanja antibiotikov (7-14dni) + 7 dni samostojno	Ni poročano.	Definicija ni podana.
Vanderhoof 1999 (60)	<i>L. rhamnosus</i> GG	10	10 dni	Ni poročano.	Vsaj dvakratno odvajanje tekočega oz. vodenega blata v 24 urah.
Vrese 2011 (61)	<i>L. acidophilus</i> , <i>B. animalis</i> , <i>ssp. lactis</i> , <i>Str. thermophilus</i>	0,005	56 dni	Ni poročano.	Vsaj trikratno dnevno odvajanje tekočega oz. vodenega blata, vsaj dva zaporedna dneva ali več.
Wenus 2008 (62)	<i>L. rhamnosus</i> GG, <i>L. acidophilus</i> La-5 in <i>B. Bb-12</i>	0,1	14 dni	Ni poročano.	Vsaj trikratno dnevno odvajanje tekočega oz. vodenega blata, vsaj dva zaporedna dneva ali več.

Legenda: *L.*-*Lactobacillus*, *B.*-*Bifidobacterium*, *S.*-*Saccharomyces*, *Str.*-*Streptococcus*

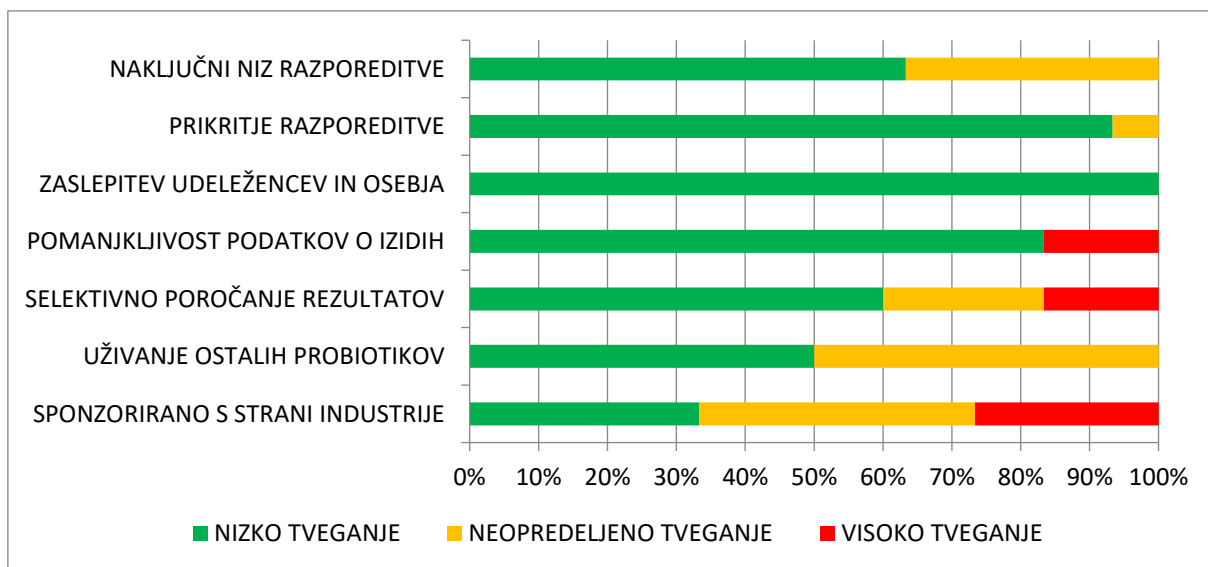
4.1.2 Rezultati ocene tveganja za pristranost

Po pregledu področij (domen) potencialnega vira pristranosti smo ocenili tveganje za posamezne študije:

- **Naključni niz razporeditve** je v navedbi uporabljenih metod omenjalo 19 študij. Navedli so uporabo randomizacije oseb s pomočjo računalniško generiranih naključnih števil. Ocena tveganja za pristranost rezultatov je bila za omenjene študije nizka. Preostalih 11 študij ni poročalo o uporabi metod naključne razporeditve, zato smo študije ocenili z neopredeljenim tveganjem.
- **Prikritje razporeditve** je po naši oceni dobro prikrilo 28 študij. Raziskovalci so prikrili razporeditev v eksperimentalno oz. kontrolno skupino pred udeleženci z izbiro identičnih ovojnin farmacevtskih oblik, identičnim okusom, vonjem ter barvo eksperimentalnih in kontrolnih produktov. Le dve študiji prikritja pred udeleženci nista eksplicitno navajali, zato smo študiji ocenili z neopredeljenim tveganjem.
- **Zaslepitev udeležencev in osebja** so navajale vse vključene študije, zato je bila ocena tveganja nizka. V eni študiji je bila zaslepitev trojna, v vseh ostalih vključenih študijah pa dvojna.
- **Pomanjkljivost podatkov o izidih** smo lahko preučili pri vseh študijah. Osredotočili smo se na odstotek ljudi, ki je predčasno izstopil iz študije. 25 študij je navajalo osip, manjši od 20 %, kar je po naših merilih predstavljano nizko tveganje. V petih študijah je bil osip večji od 20 %, kar smo ocenili z visokim tveganjem. Po procentu izpada ljudi najbolj izstopa študija Selinger 2013 (56) s skoraj 48-% osipom. Pri preostalih študijah (Arvola 1999 (35), Ciperman 2001 (39), Pazzoni 2012 (53) in Wenus 2008 (62)) je izstop bistveno manjši. Variira okoli 27 %, kar pa še vedno predstavlja visoko tveganje za pristranost. Delež oseb, ki je iz študije izstopil, je razviden iz preglednice I, pod predelkom »število izstopa tekom študije«.
- **Selektivno poročanje rezultatov** je predstavljalo visoko tveganje v petih študijah. V člankih omenjenih študij avtorji niso nazorno prikazali oz. podali, kako so pridobili določene rezultate. Pri teh študijah je bila posledično za našo raziskavo onemogočena nadaljnja sinteza podatkov pri preučevanih izidih. V študijah Tomažič 2010 (59), Vanderhoof 1999 (60) in Vrese 2011 (61) ni bilo podane niti standardne deviacije (SD)

niti interkvartilnega razpona (IQR), kar nam je onemogočilo nadaljnji izračun povprečne razlike (MD) pri izidu trajanja diareje. V študijah Ouwehand 2014 (52) in Wenus 2008 (62) pa avtorji ne podajajo točnega števila okuženih oseb z bakterijo *Clostridium difficile*. Sedem študij smo ocenili z neopredeljenim tveganjem, ker študija ni podajala definicije diareje. Preostalih 18 študij je korektno in nazorno poročalo o rezultatih, zato smo ocenili nizko tveganje za pristranost.

- **Drugi viri pristranosti** so bili v naši raziskavi ovrednoteni kot **uživanje ostalih probiotikov** ter **sponzorstvo študije s strani industrije**. Osem študij je sponzorstvo jasno zapisalo, kar smo ocenili kot visoko tveganje za pristranost. Pri dvanajstih študijah je bila vpletenost industrije nejasna, zato smo jih ocenili kot neopredeljeno tveganje. Sponzorstvo je bilo jasno zanikano v desetih, kar smo ovrednotili kot nizko tveganje. Pri uživanju dodatnih probiotičnih izdelkov je 15 študij v metodah to jasno prepovedalo, za kar smo študijo ocenili z nizkim tveganjem. Petnajst študij tega kriterija ni striktno opredelilo, zato smo ocenili tveganje za pristranost kot neopredeljeno.



Slika 3: Prikaz deleža tveganja za pristranost v posamezni domeni

Na sliki 3 je prikazana ocena tveganja za pristranost po deležih za posamezno področje. Z izjemo zadnjega razreda prevladuje po področjih zeleno obarvanje, kar nakazuje nizko tveganje. Sponzorstvo študije s strani industrije predstavlja največje tveganje za pristranost rezultatov, saj je delež visokega tveganja skoraj 27 %.

V prilogi A je grafično predstavljena ocena tveganja za pristranost po posameznih študijah. Iz preglednice razberemo, da imajo študije Ouwehand 2014 (52), Tomažič 2010 (59) in Vandrhoof 1999 (60) na dveh področjih rdeče obarvanje oz. visoko tveganje za pristranost. Ti dve področji sta selektivno poročanje rezultatov ter sponzorstvo študije. Študija Wenus 2008 (62) je edina, ki ima ocenjeno visoko tveganje kar na treh področjih. Poleg že zgoraj omenjenih dveh še na področju pomanjkljivosti podatkov o izidih. Ostale študije so ocenjene z največ enim visokim tveganjem na posameznem področju oz. so večinoma brez visokega tveganja za pristranost. (Opomba pri prilogi A: Dve študiji sta v omenjeni prilogi dodatno razdeljeni po odmerku probiotikov, ena študija pa po različnih probiotičnih vrstah, zato je skupno število študij več kot trideset. Tako je tudi ocena pristranosti večkrat podana za iste študije.)

4.2 Rezultati metaanalize

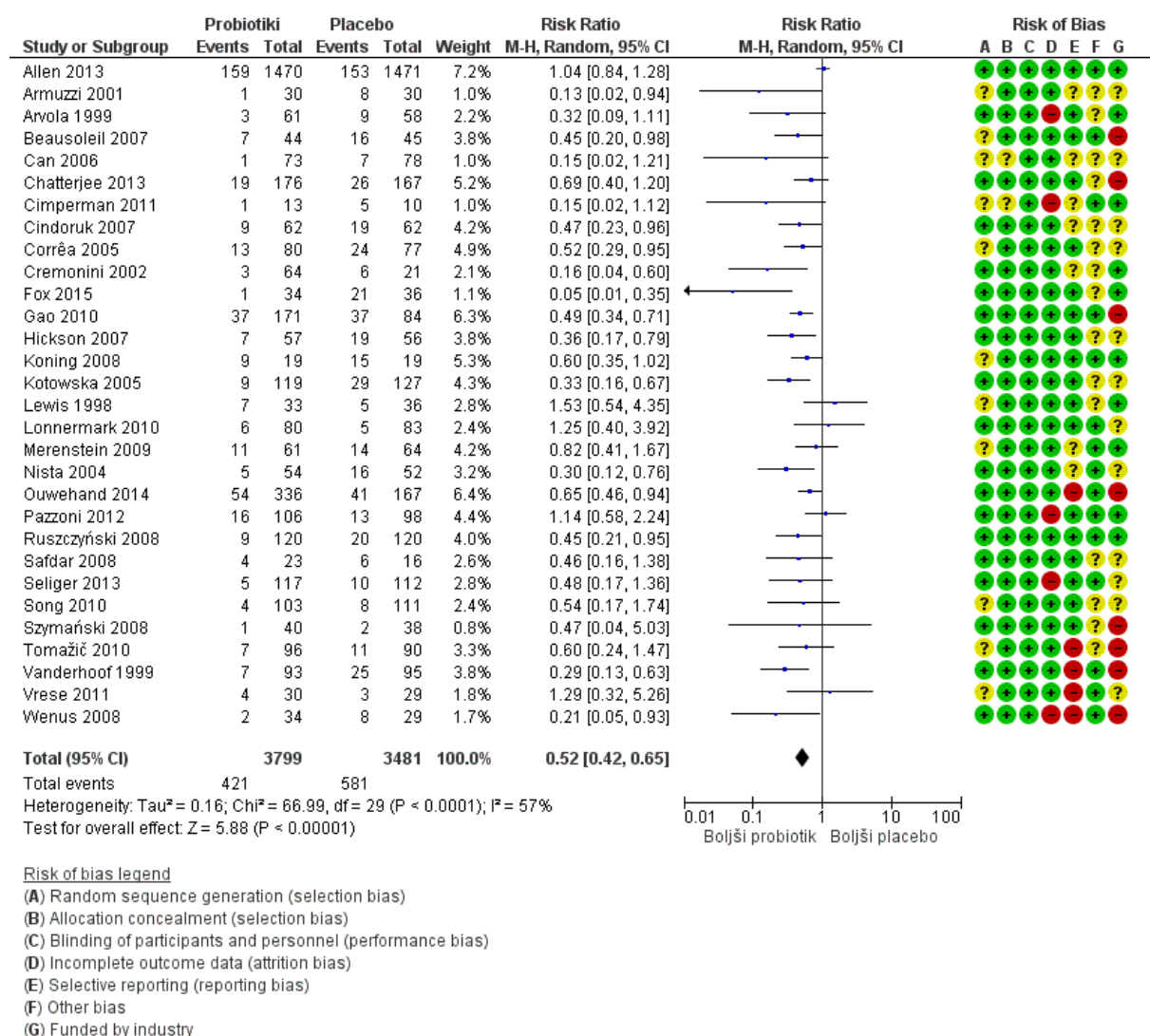
Tekom preučevanja vključene literature smo opazili pojav velike heterogenosti med posameznimi študijami. Študije so se razlikovale glede na starost udeležencev, vrsto probiotikov, trajanje terapije, dnevni odmerek probiotika, vrsto pridruženih okužb in vrsto antibiotikov. Zato smo se na podlagi vsega omenjenega odločili za uporabo modela slučajnih učinkov pri vseh preučevanih izidih.

Študija Cremonini 2002 (42) je preučevala tri skupine ljudi, ki so uživali različne vrste probiotikov, zato smo študijo v podskupini razdelitve glede na vrsto probiotika razdelili na tri posamezne študije. Pri podskupini razdelitve glede na dnevi odmerek sta študiji Ouwehand 2014 (52) in Gao 2010 (44) podajali dva različna odmerka probiotikov. Vsako izmed študij smo v omenjeni podskupini razdelili na dve dodatni študiji. Pri podskupini razdelitve glede na starost in okužbo smo v razred »ostale študije« vključili študije, ki niso navedle podatka, za katerimi okužbami so otroci in odrasli obolevali.

4.2.1 Pojavnost diareje

V metaanalizo smo vključili trideset študij. Vse študije so podale ustrezne podatke za nadaljnjo analizo. Skupno je bilo analiziranih 7280 oseb. Probiotik v primerjavi s placebom izkazuje večji skupni učinek ($RR = 0,52$; 95-% CI: 0,42 do 0,65). Razlika v učinku je statistično značilna, saj je vrednost P manjša od 0,05 ($P < 0,00001$). I^2 je 57 %, kar nakazuje na zmeren do velik vpliv heterogenosti na spremenljivost učinka. Grafično je razvidno slabo prekrivanje intervalov v

drevesnem diagramu, kar nakazuje na prisotnost heterogenosti med študijami. Dodatni dokaz heterogenosti med študijami je statistično značilna vrednost P ($P < 0,0001$).



Slika 4: Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri pojavnosti diareje ($n=30$)

4.2.1.1 Pojavnost diareje glede na starost

V metaanalizo smo vključili trideset študij: osem študij na otrocih ter dvaindvajset študij na odrasli populaciji. V obeh podskupinah je bil učinek vpliva probiotikov v primerjavi s placebom večji. V otroški populaciji je učinek večji ($RR = 0,41$; 95-% CI: 0,28 do 0,61) v primerjavi z učinkom probiotikov v odrasli populaciji ($RR = 0,57$; 95-% CI: 0,45 do 0,73). I^2 v otroški populaciji predstavlja 35 %, kar nakazuje majhno heterogenost med študijami. V odrasli populaciji je vrednost I^2 57 %. Vpliv heterogenosti na spremenljivost učinka je zmeren do velik. Prikaz drevesnega diagrama za opisano podskupino se nahaja v prilogi B (8.2.1) 1.

Preglednica III: Pojavnost diareje glede na starost. Učinek je podan kot razmerje tveganja (RR).

POJAVNOST DIAREJE GLEDE NA STAROST	ŠTEVILO ŠTUDIJ	ŠTEVILO OSEB	UČINEK (RR [95-% CI])
Vse študije	30	7280	0,52 [0,42; 0,65]
Študije na otrocih	8	1223	0,41 [0,28; 0,61]
Študije na odraslih	22	6057	0,57 [0,45; 0,73]

4.2.1.2 Pojavnost diareje glede na vrsto probiotika

V metaanalizo smo vključili dvaintrideset študij. Med posameznimi vrstami probiotikov je bil največji učinek v primerjavi s placebom opazen pri vrsti *Bacillus clausii* (RR = 0,30; 95-% CI: 0,12 do 0,76). V analizo je bila vključena samo ena študija. Druga posamezna vrsta, pri kateri je bil prav tako opazen učinek, je bila vrsta *Lactobacillus rhamnosus* (sev GG) (RR = 0,32; 95-% CI: 0,20 do 0,52). V razred z omenjeno vrsto je bilo vključenih pet študij. Heterogenost med vključenimi študijami je bila zanemarljiva ($I^2 = 0\%$). Razred z vrsto *Saccharomyces boulardii*, v katerem je bilo skupno vključenih šest študij, ni kazal statistično značilnih rezultatov v primerjavi s placebom ($P = 0,08$). V razredu posameznih vrst iz rodu laktobacilov statistično značilnih razlik v učinku v primerjavi s placebom ni bilo opaziti.

Med razredi s kombinacijami različnih probiotičnih vrst je največji učinek kazala vrsta iz rodu bifidobakterij v kombinaciji z dvema različnima vrstama iz rodu laktobacilov (RR = 0,43; 95-% CI: 0,23 do 0,82). V razred je bilo vključenih pet študij, heterogenost med njimi pa je bila zmerna do velika ($I^2 = 59\%$). Druga dva razreda z izkazanim učinkom sta bila še *Streptococcus thermophilus* v kombinaciji s probiotično vrsto iz drugih rodov (RR = 0,46; 95-% CI: 0,28 do 0,73) ter *Lactobacillus acidophilus* v kombinaciji z drugo probiotično vrsto iz rodu laktobacilov (RR = 0,49; 95-% CI: 0,35 do 0,67). V prvega sta bili vključeni dve, v drugega pa tri študije. Heterogenost med študijami v obeh razredih je bila nizka ($I^2 = 0\%$). Preostali probiotični razredi (*Lactobacillus acidophilus* v kombinaciji s probiotično vrsto iz rodu bifidobakterij ter vrsta iz rodu bifidobakterij v kombinaciji z eno ali več probiotičnih vrst iz rodu laktobacilov in dodatno vrsto iz drugih rodov) niso kazali statistično značilnih razlik v učinku v primerjavi s placebom (vrednost P večja od 0,05). Prikaz drevesnega diagrama za opisano podskupino se nahaja v prilogi B (8.2.1) 2.

Preglednica IV: Pojavnost diareje glede na vrsto probiotika. Učinek je podan kot razmerje tveganja (RR).

POJAVNOST DIAREJE GLEDE NA VRSTO PROBIOTIKA	ŠTEVILO ŠTUDIJ	ŠTEVILO OSEB	UČINEK (RR [95-% CI])
Vse študije	32 (8)	7280	0,52 [0,42; 0,64]
<i>L. rhamnosus</i> GG kot monoterapija	5 (3)	635	0,32 [0,20; 0,52]
<i>S. boulardii</i> kot monoterapija	6 (1)	823	0,56 [0,29; 1,07]
<i>L. acidophilus</i> ali <i>L. reuteri</i> ali <i>L. plantarum</i> kot monoterapija	3 (0)	225	0,55 [0,20; 1,54]
<i>Bacillus clausii</i> kot monoterapija	1 (0)	106	0,30 [0,12; 0,76]
<i>L. acidophilus</i> v kombinaciji z drugo probiotično vrsto iz rodu <i>L.</i>	3 (0)	558	0,49 [0,35; 0,67]
<i>L. acidophilus</i> v kombinaciji z drugo probiotično vrsto iz rodu <i>B.</i>	4 (0)	3498	0,80 [0,53; 1,21]
Vrsta iz rodu <i>B.</i> v kombinaciji z dvema različnima vrstama iz rodu <i>L.</i>	5 (2)	752	0,43 [0,23; 0,82]
Vrsta iz rodu <i>B.</i> v kombinaciji z eno ali več probiotičnimi vrstami iz rodu <i>L.</i> in dodatno vrsto iz drugih rodov	3 (1)	413	0,76 [0,44; 1,31]
<i>Str. thermophilus</i> v kombinaciji s probiotično vrsto iz drugih rodov	2 (1)	270	0,46 [0,28; 0,73]

Legenda: *L.*-*Lactobacillus*, *B.*-*Bifidobacterium*, *S.*-*Saccharomyces*, *Str.*-*Streptococcus*

Število v oklepaju predstavlja število študij na otrocih.

4.2.1.3 Pojavnost diareje glede na dnevni odmerek probiotika

V metaanalizo je bilo vključenih dvaintrideset študij. Razred z zelo visokim odmerkom izkazuje v primerjavi s placebom največji učinek (RR = 0,38; 95-% CI: 0,23 do 0,65). V ta razred smo vključili samo dve študiji. Heterogenost med njima je nizka ($I^2 = 0\%$). Nizki odmerek (RR = 0,47; 95-% CI: 0,27 do 0,82) in visoki odmerek (RR = 0,45; 95-% CI: 0,32 do 0,64) imata primerljivo učinkovitost. V razred z nizkim odmerkom smo vključili tri študije. Heterogenost med njimi je nizka ($I^2 = 0\%$). Razred z visokim odmerkom pa vključuje šestnajst študij, katerih heterogenost je velika ($I^2 = 71\%$). Srednji odmerek nakazuje na najmanjšo učinkovitost v primerjavi z ostalimi odmerki (RR = 0,65; 95-% CI: 0,50 do 0,85). V razred je bilo vključeno sedem študij, katerih heterogenost je bila nizka ($I^2 = 0\%$). V razred študij brez definiranega odmerka so bile vključene štiri študije. V primerjavi s placebom je bila njihova razlika v učinku statistično neznačilna ($P = 0,26$). Heterogenost med njimi je bila majhna do zmerna ($I^2 = 47\%$). Prikaz drevesnega diagrama za opisano podskupino se nahaja v prilogi B (8.2.1) 3.

Preglednica V: Pojavnost diareje glede na dnevni odmerek probiotika. Učinek je podan kot razmerje tveganja (RR).

POJAVNOST DIAREJE GLEDE NA DNEVNI ODMEREK PROBIOTIKA	ŠTEVILO ŠTUDIJ	ŠTEVILO OSEB	UČINEK (RR [95-% CI])
Vse študije	32	7280	0,52 [0,42; 0,64]
nizki odmerek (manj kot 10 ⁹ CFU)	3	258	0,47 [0,27; 0,82]
srednji odmerek (ena do deset 10 ⁹ CFU)	7	1197	0,65 [0,50; 0,85]
visok odmerek (deset do sto 10 ⁹ CFU)	16	4999	0,45 [0,32; 0,64]
zelo visok odmerek (več kot sto 10 ⁹ CFU)	2	357	0,38 [0,23; 0,65]
študija nima definirane odmerka	4	469	0,68 [0,35; 1,32]

4.2.1.4 Pojavnost diareje glede na starost in okužbo

V metaanalizo smo vključili trideset študij. Največjo učinkovitost je bilo opaziti v razredu respiratornih okužb pri otrocih (RR = 0,36; 95-% CI: 0,16 do 0,79) ter pri okužbah z bakterijo *Helicobacter pylori* pri odrasli populaciji (RR = 0,37; 95-% CI: 0,20 do 0,68). V razred respiratornih okužb pri otrocih je bilo vključenih pet študij. Heterogenost med študijami je bila zmerna do velika ($I^2 = 58\%$). V razred okužbe z bakterijo *Helicobacter pylori* pri odraslih je bilo vključenih pet študij. Heterogenost med študijami je bila majhna ($I^2 = 36\%$). Učinkovitost v primerjavi s placebom je bila opazna tudi v razredu ostalih študij na otroški populaciji (RR = 0,43; 95-% CI: 0,16 do 0,79). Vključene so bile tri študije, heterogenost med njimi pa je bila zanemarljiva ($I^2 = 0\%$). Manjša učinkovitost je bila opazna tudi v skupini mešanih okužb pri odraslih (RR = 0,61; 95-% CI: 0,46 do 0,81). Vključenih je bilo sedem študij. Heterogenost med njimi je bila majhna ($I^2 = 28\%$). Statistično neznačilen učinek je bil opazen v razredu respiratornih okužb ter v razredu ostalih okužb pri odrasli populaciji (vrednost P večja od 0,05). Prikaz drevesnega diagrama za opisano podskupino se nahaja v prilogi B (8.2.1) 4.

Preglednica VI: Pojavnost diareje glede na starost in okužbo. Učinek je podan kot razmerje tveganja (RR).

POJAVNOST DIAREJE GLEDE NA STAROST IN OKUŽBO	ŠTEVILO ŠTUDIJ	ŠTEVILO OSEB	UČINEK (RR [95-% CI])
Vse študije	30	7280	0,52 [0,42; 0,65]
Otroci: respiratorna okužba	5	638	0,36 [0,16; 0,79]
Otroci: ostale študije	3	585	0,43 [0,29; 0,64]
Odrasli: respiratorna okužba	5	3610	0,67 [0,42; 1,07]
Odrasli: okužba s <i>Helicobacter pylori</i>	5	434	0,37 [0,20; 0,68]
Odrasli: mešane okužbe	7	1506	0,61 [0,46; 0,81]
Odrasli: ostale študije	5	507	0,57 [0,32; 1,05]

4.2.1.5 Pojavnost diareje glede na sponzorstvo študije

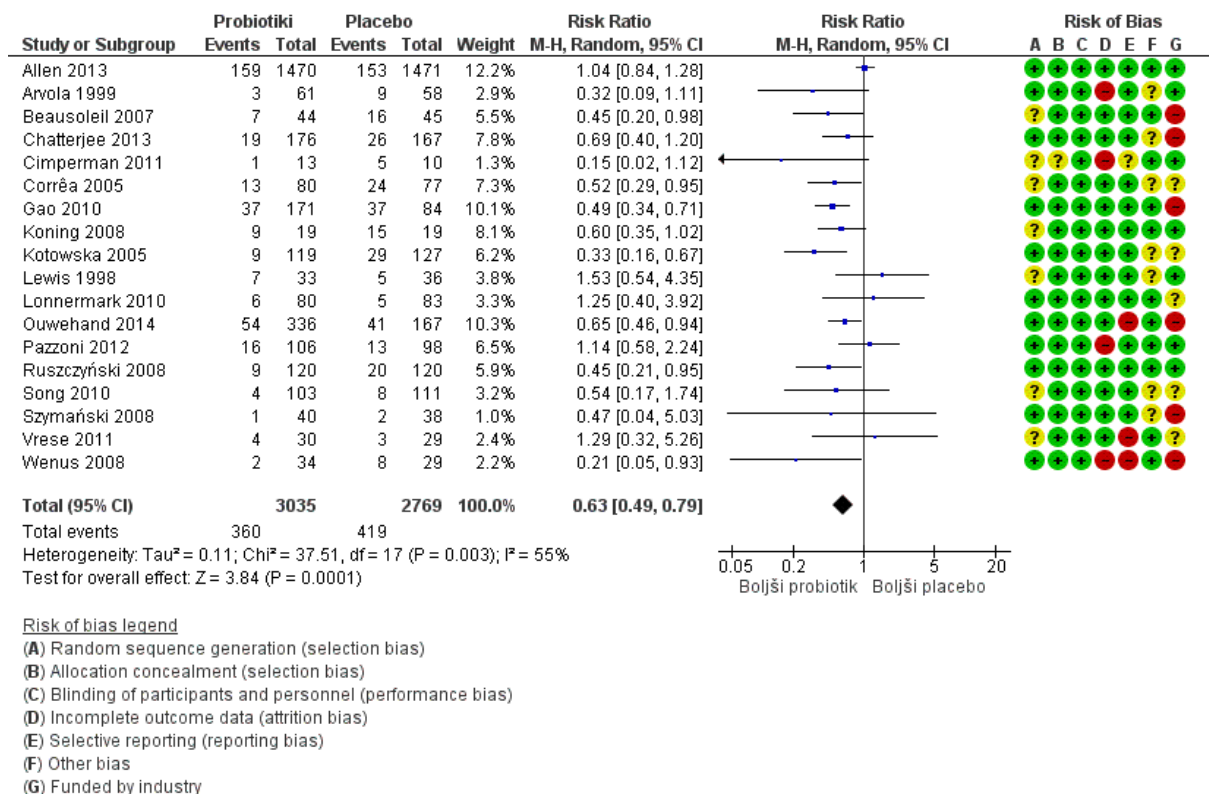
V metaanalizo smo vključili trideset študij. Učinkovitost v primerjavi s placebom je bila opazna v vseh treh razredih. Največjo učinkovitost je bilo opaziti v razredu z neopredeljenimi študijami ($RR = 0,45$; 95-% CI: 0,34 do 0,58). Vključeno je bilo dvanajst študij. Heterogenost med njimi pa je bila zanemarljiva ($I^2 = 0\%$). Po učinkovitosti ji sledi razred s študijami, sponzoriranimi s strani industrije ($RR = 0,54$; 95-% CI: 0,44 do 0,66). Vključenih je bilo osem študij z zanemarljivo stopnjo medsebojne heterogenosti ($I^2 = 0\%$). Malo manjša učinkovitost v primerjavi s prejšnjim razredom je bila opazna v razredu nesponzoriranih študij ($RR = 0,59$; 95-% CI: 0,38 do 0,91). V razred je bilo vključenih deset študij, heterogenost med njimi pa je bila velika ($I^2 = 70\%$). Prikaz drevesnega diagrama za opisano podskupino se nahaja v prilogi B (8.2.1) 5.

Preglednica VII: Pojavnost diareje glede na sponzorstvo študije. Učinek je podan kot razmerje tveganja (RR).

POJAVNOST DIAREJE GLEDE NA SPONZORSTVO ŠTUDIJE	ŠTEVILO ŠTUDIJ	ŠTEVILO OSEB	UČINEK (RR [95-% CI])
Vse študije	30	7280	0,52 [0,42; 0,65]
Sponzorirano s strani industrije	8	1705	0,54 [0,44; 0,66]
Ni sponzorirano s strani industrije	10	3914	0,59 [0,38; 0,91]
Neopredeljeno	12	1661	0,45 [0,34; 0,58]

4.2.2 Pojavnost diareje po definiciji SZO

V metaanalizo smo vključili osemnajst študij. Vse študije so podale ustrezne podatke za nadaljnjo analizo. Skupno je bilo analiziranih 5804 oseb. Probiotik v primerjavi s placebom izkazuje večji skupni učinek ($RR = 0,63$; 95-% CI: 0,49 do 0,79). Razlika v učinku je statistično značilna, saj je vrednost P manjša od 0,05 ($P = 0,0001$). I^2 je 55 %, kar nakazuje na zmeren do velik vpliv heterogenosti na spremenljivost učinka. Grafično je razvidno slabo prekrivanje intervalov v drevesnem diagramu, kar nakazuje na prisotnost heterogenosti med študijami. Dodatni dokaz heterogenosti med študijami je statistično značilna vrednost P ($P = 0,003$).



Slika 5: Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri pojavnosti diareje po definiciji SZO (n = 18)

4.2.2.1 Pojavnost diareje po definiciji SZO glede na starost

V metaanalizo smo vključili osemnajst študij: pet študij na otrocih ter trinajst študij na odrasli populaciji. V obeh podskupinah je bil učinek vpliva probiotikov v primerjavi s placebom večji. V otroški populaciji je bil učinek (RR = 0,43; 95-% CI: 0,29 do 0,61) veliko večji v primerjavi z učinkom probiotikov v odrasli populaciji (RR = 0,71; 95-% CI: 0,54 do 0,92). I² v otroški populaciji je 0 %, kar nakazuje na zanemarljivo heterogenost med študijam. V odrasli populaciji je vrednost I² 56 %. Vpliv heterogenosti na variabilnost učinka je zmeren do velik. Prikaz drevesnega diagrama za opisano podskupino se nahaja v prilogi B (8.2.2) 1.

Preglednica VIII: Pojavnost diareje po definiciji SZO glede na starost. Učinek je podan kot razmerje tveganja (RR).

POJAVNOST DIAREJE GLEDE NA STAROST	ŠTEVILO ŠTUDIJ	ŠTEVILO OSEB	UČINEK (RR [95-% CI])
Vse študije	18	5804	0,63 [0,49; 0,79]
Študije na otrocih	5	840	0,43 [0,29; 0,61]
Študije na odraslih	13	4964	0,71 [0,54; 0,92]

4.2.2.2 Pojavnost diareje po definiciji SZO glede na vrsto probiotika

V metaanalizo smo vključili osemnajst študij. Med posameznimi vrstami probiotikov je bil največji učinek v primerjavi s placebom opazen pri vrsti *Lactobacillus rhamnosus* (sev GG) (RR = 0,41; 95-% CI: 0,22 do 0,78). V razred z omenjeno vrsto sta bili vključeni dve študiji. Heterogenosti med študijami nismo zaznali ($I^2 = 0 \%$). V razredu posameznih vrst iz rodu laktobacilov ni bilo opaziti statistično značilnih razlik v učinku v primerjavi s placebom. Prav tako tudi pri vrsti *Saccharomyces boulardii*. V razred z vrsto *Bacillus clausii* ni bilo vključene nobene študije. Med razredi s kombinacijami različnih probiotičnih vrst je največji učinek izkazala vrsta *Lactobacillus acidophilus* v kombinaciji z drugo probiotično vrsto iz rodu laktobacilov (RR = 0,49; 95-% CI: 0,35 do 0,67). V razred so bile vključene tri študije, heterogenost med njimi pa je bila zanemarljiva ($I^2 = 0 \%$). Druga dva razreda z izkazanim učinkom sta bila še *Streptococcus thermophilus* v kombinaciji z vrsto iz drugih rodov (RR = 0,52; 95-% CI: 0,29 do 0,95) ter probiotična vrsta iz rodu bifidobakterij v kombinaciji z dvema različnima vrstama iz rodu laktobacilov (RR = 0,61; 95-% CI: 0,45 do 0,81). V prvega je bila vključena ena, v drugega pa tri študije. Heterogenost med študijami v obeh razredih je bila zanemarljiva ($I^2 = 0 \%$). Preostali probiotični razredi (*Lactobacillus acidophilus* v kombinaciji z drugo probiotično vrsto iz rodu bifidobakterij ter vrsta iz rodu bifidobakterij v kombinaciji z eno ali več vrst iz rodu laktobacilov in dodatno vrsto iz drugih rodov) niso izkazali statistično značilnih razlik v učinku v primerjavi s placebom (vrednost P večja od 0,05). Prikaz drevesnega diagrama za opisano podskupino se nahaja v prilogi B (8.2.2) 2.

Preglednica IX: Pojavnost diareje po definiciji SZO glede na vrsto probiotika. Učinek je podan kot razmerje tveganja (RR).

POJAVNOST DIAREJE GLEDE NA VRSTO PROBIOTIKA	ŠTEVILO ŠTUDIJ	ŠTEVILO OSEB	UČINEK (RR [95-% CI])
Vse študije	18 (5)	5804	0,63 [0,49; 0,79]
<i>L. rhamnosus</i> GG kot monoterapija	2 (2)	359	0,41 [0,22; 0,78]
<i>S. boulardii</i> kot monoterapija	3 (1)	519	0,80 [0,31; 2,05]
<i>L. acidophilus</i> ali <i>L. reuteri</i> ali <i>L. plantarum</i> kot monoterapija	2 (0)	186	0,51 [0,07; 3,95]
<i>Bacillus clausii</i> kot monoterapija	0 (0)	0	Izračun ni mogoč
<i>L. acidophilus</i> v kombinaciji z drugo probiotično vrsto iz rodu L.	3 (0)	558	0,49 [0,35; 0,67]
<i>L. acidophilus</i> v kombinaciji z drugo probiotično vrsto iz rodu B.	2 (0)	3284	0,92 [0,64; 1,33]
Vrsta iz rodu B. v kombinaciji z dvema različnima vrstama iz rodu L.	4 (1)	682	0,61 [0,45; 0,81]
Vrsta iz rodu B. v kombinaciji z eno ali več probiotičnimi vrstami iz rodu L. in dodatno vrsto iz drugih rodov	1 (0)	59	1,29 [0,32; 5,26]
<i>Str. thermophilus</i> v kombinaciji s probiotično vrsto iz drugih rodov	1 (1)	157	0,52 [0,29; 0,95]

Legenda: L.-*Lactobacillus*, B.-*Bifidobacterium*, S.-*Saccharomyces*, Str.-*Streptococcus*
Število v oklepaju predstavlja število študij na otrocih.

4.2.2.3 Pojavnost diareje po definiciji SZO glede na dnevni odmerek probiotika

V metaanalizo je bilo vključenih dvajset študij. Razred z zelo visokim odmerkom izkazuje v primerjavi s placebom največji učinek med ostalimi odmerki ($RR = 0,35$; 95-% CI: 0,19 do 0,65). V razred z nizkim odmerkom smo vključili tri študije. Razlika je bila v primerjavi s placebom statistično značilna ($RR = 0,47$; 95-% CI: 0,27 do 0,82). Heterogenost med študijami je bila zanemarljiva ($I^2 = 0\%$). V razred z visokim odmerkom smo vključili deset študij. Heterogenost med njimi je bila velika ($I^2 = 67\%$). Učinek visokega odmerka probiotika je bil statistično značilen ($RR = 0,59$; 95-% CI: 0,42 do 0,85). Srednji odmerek nakazuje na najmanjšo učinkovitost v primerjavi z ostalimi odmerki ($RR = 0,71$; 95-% CI: 0,53 do 0,94). V razred je bilo vključeno pet študij, katerih heterogenost je bila zanemarljiva ($I^2 = 0\%$). V razred študij brez definirane odmerka je bila vključena ena študija. V primerjavi s placebom je bila njena razlika v učinku statistično neznailna ($P = 0,43$). Prikaz drevesnega diagrama za opisano podskupino se nahaja v prilogi B (8.2.2) 3.

Preglednica X: Pojavnost diareje po definiciji SZO glede na dnevni odmerek probiotika. Učinek je podan kot razmerje tveganja (RR).

POJAVNOST DIAREJE GLEDE NA DNEVNI ODMEREK PROBIOTIKA	ŠTEVILO ŠTUDIJ	ŠTEVILO OSEB	UČINEK (RR [95-% CI])
Vse študije	20	5804	0,62 [0,49; 0,77]
nizki odmerek (manj kot 10^9 CFU)	3	258	0,47 [0,27; 0,82]
srednji odmerek (ena do deset 10^9 CFU)	5	905	0,71 [0,53; 0,94]
visok odmerek (deset do sto 10^9 CFU)	10	4444	0,59 [0,42; 0,85]
zelo visok odmerek (več kot sto 10^9 CFU)	1	128	0,35 [0,19; 0,65]
študija nima definirane odmerka	1	69	1,53 [0,54; 4,35]

4.2.2.4 Pojavnost diareje po definiciji SZO glede na starost in okužbo

V metaanalizo smo vključili osemnajst študij. Največjo učinkovitost je bilo opaziti v razredu respiratornih okužb pri otrocih ($RR = 0,34$; 95-% CI: 0,19 do 0,61). Statistično značilna razlika v primerjavi s placebom je bila opazna tudi v razredu ostalih študij v otroški populaciji ($RR = 0,49$; 95-% CI: 0,31 do 0,78). V razred sta bili vključeni dve študiji. Heterogenost med študijami je bila zanemarljiva ($I^2 = 0\%$). V preostalih razredih razlika v učinku v primerjavi s placebom ni bila statistično značilna (vrednost P večja od 0,05). Prikaz drevesnega diagrama za opisano podskupino se nahaja v prilogi B (8.2.2) 4.

Preglednica XI: Pojavnost diareje po definiciji SZO glede na starost in okužbo. Učinek je podan kot razmerje tveganja (RR).

POJAVNOST DIAREJE GLEDE NA STAROST IN VRSTO OKUŽBE	ŠTEVILO ŠTUDIJ	ŠTEVILO OSEB	UČINEK (RR [95-% CI])
Vse študije	18	5804	0,63 [0,49; 0,79]
Otroci: respiratorna okužba	3	443	0,34 [0,19; 0,61]
Otroci: ostale študije	2	397	0,49 [0,31; 0,78]
Odrasli: respiratorna okužba	5	3610	0,67 [0,42; 1,07]
Odrasli: okužba s <i>Helicobacter pylori</i>	1	59	1,29 [0,32; 5,26]
Odrasli: mešane okužbe	4	1125	0,70 [0,48; 1,03]
Odrasli: ostale študije	3	170	0,64 [0,27; 1,53]

4.2.2.5 Pojavnost diareje po definiciji SZO glede na sponzorstvo študije

V metaanalizo smo vključili osemnajst študij. Primerljiv učinek je bil opazen v razredu študij, sponzoriranih s strani industrije (RR = 0,56; 95-% CI: 0,45 do 0,70) ter v razredu neopredeljenih študij (RR = 0,57; 95-% CI: 0,35 do 0,91). V razred študij, sponzoriranih s strani industrije, smo vključili šest študij. Heterogenost med njimi je bila zanemarljiva ($I^2 = 0\%$). V razred neopredeljenih študij smo vključili pet študij. Vrednost I^2 je bila 26 %, kar kaže na majhno heterogenost med študijami. Učinek ni bil opazen v razredu študij brez sponzorstva ($P = 0,14$). Prikaz drevesnega diagrama za opisano podskupino se nahaja v prilogi B (8.2.2) 5.

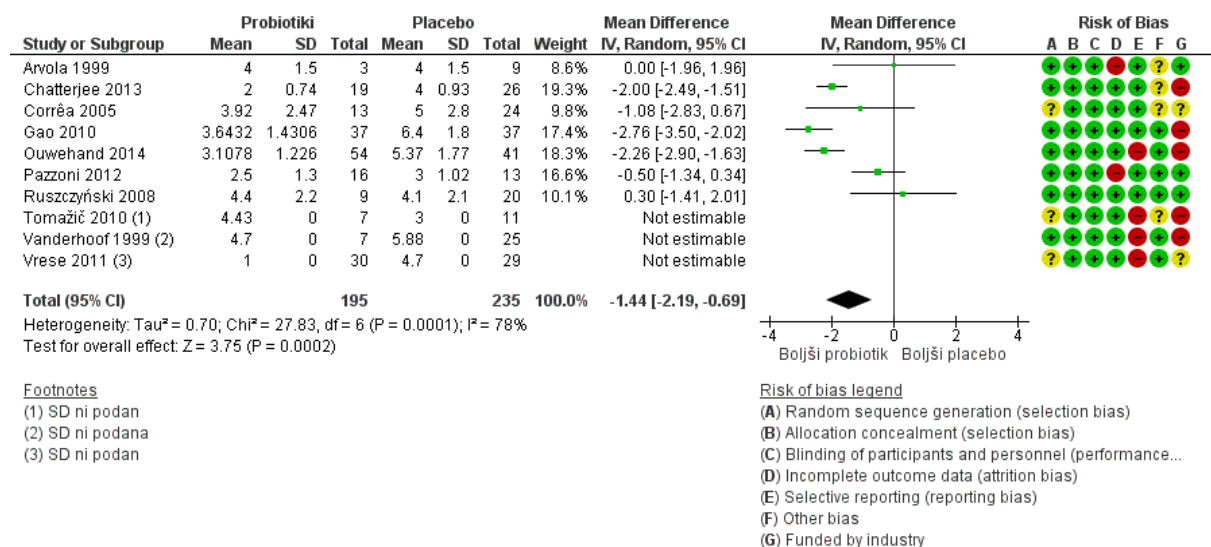
Preglednica XII: Pojavnost diareje po definiciji SZO glede na sponzorstvo študije. Učinek je podan kot razmerje tveganja (RR).

POJAVNOST DIAREJE GLEDE NA SPONZORSTVO ŠTUDIJE	ŠTEVILO ŠTUDIJ	ŠTEVILO OSEB	UČINEK (RR [95-% CI])
Vse študije	18	5804	0,63 [0,49; 0,79]
Sponzorirano s strani industrije	6	1331	0,56 [0,45; 0,70]
Ni sponzorirano s strani industrije	7	3634	0,74 [0,49; 1,11]
Neopredeljeno	5	839	0,57 [0,35; 0,91]

4.2.3 Trajanje diareje

V metaanalizo smo vključili deset študij. Tri študije (Tomažič 2010 (59), Vrese 2011 (61), Vanderhoof 1999 (60)) niso podale SD, tako učinka za omenjene študije ni bilo mogoče izračunati. Skupno je bilo analiziranih 430 oseb. Probiotik v primerjavi s placebom izkazuje večji skupni učinek (MD = -1,44; 95-% CI: -2,19 do -0,69). Učinek je definiran kot zmanjšanje števila dni trajanja diareje. Razlika v učinku je statistično značilna, saj je vrednost P manjša od

0,05 ($P = 0,0002$). I^2 je 78 %, kar nakazuje na velik vpliv heterogenosti na spremenljivost učinka. Grafično je razvidno slabo prekrivanje intervalov v drevesnem diagramu, kar nakazuje na prisotnost heterogenosti med študijami. Dodatni dokaz heterogenosti med študijami je statistično značilna vrednost P ($P = 0,0001$).



Slika 6: Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri trajanju diareje ($n = 10$)

4.2.3.1 Trajanje diareje glede na starost

V metaanalizo smo vključili deset študij: štiri študije na otrocih ter šest študij na odrasli populaciji. Dvema študijama v otroški in eni študiji v odrasli populaciji učinka nismo mogli izračunati. V odrasli populaciji je bil učinek prisoten ($MD = -1,91$; 95-% CI: -2,69 do -1,13). Heterogenost med študijami je bila zelo velika ($I^2 = 82\%$). V otroški populaciji razlika v učinku v primerjavi s placebom ni bila prisotna ($P = 0,61$). Heterogenost med otroškimi študijami je bila zanemarljiva ($I^2 = 0\%$). Prikaz drevesnega diagrama za opisano podskupino se nahaja v prilogi B (8.2.3) 1.

Preglednica XIII: Razlika v trajanju diareje (v dnevih) glede na starost. Učinek je podan kot povprečna razlika (MD).

TRAJANJE DIAREJE GLEDE NA STAROST	ŠTEVILO ŠTUDIJ	ŠTEVILO OSEB	RAZLIKA V PRIMERJAVI S PLACEBOM
Vse študije	10	430	-1,44 [-2,19; -0,69]
Študije na otrocih	4	110	-0,27 [-1,31; 0,77]
Študije na odraslih	6	320	-1,91 [-2,69; -1,13]

4.2.3.2 Trajanje diareje glede na vrsto probiotika

V metaanalizo smo vključili deset študij. Trem študijam učinka ni bilo mogoče izračunati. V razredu posameznih probiotičnih vrst v primerjavi s placebom ni bilo zaznati razlik v učinku. Vrednost P je bila v vseh omenjenih razredih večja od 0,05.

Med razredi s kombinacijami različnih probiotičnih vrst je največji učinek izkazala vrsta *Lactobacillus acidophilus* v kombinaciji z drugo vrsto iz rodu laktobacilov (MD = -2,76; 95-% CI: -3,50 do -2,02). V razred je bila vključena samo ena študija. Druga dva razreda z izkazanim učinkom sta bila še *Lactobacillus acidophilus* v kombinaciji z vrsto iz rodu bifidobakterij (MD = -2,00; 95-% CI: -2,49 do -1,51) in probiotična vrsta iz rodu bifidobakterij v kombinaciji z dvema različnima vrstama iz rodu laktobacilov (MD = -2,26; 95-% CI: -2,90 do -1,63). V prvi razred sta bili vključeni dve (od tega eni študiji učinka ni bilo mogoče izračunati), v drugi razred pa ena študija. Preostali kombinirani probiotični razredi (*Streptococcus thermophilus* v kombinaciji s probiotično vrsto iz drugih rodov ter vrsta iz rodu bifidobakterij v kombinaciji z eno ali več vrst iz rodu laktobacilov in dodatno vrsto iz drugih rodov) niso podali statistično značilnih razlik v učinku v primerjavi s placebom (vrednost P večja od 0,05). Prikaz drevesnega diagrama za opisano podskupino se nahaja v prilogi B (8.2.3) 2.

Preglednica XIV: Razlika v trajanju diareje (v dnevih) glede na vrsto probiotika. Učinek je podan kot povprečna razlika (MD).

TRAJANJE DIAREJE GLEDE NA VRSTO PROBIOTIKA	ŠTEVILO ŠTUDIJ	ŠTEVILO OSEB	RAZLIKA V PRIMERJAVI S PLACEBOM
Vse študije	10 (4)	430	-1,44 [-2,19; -0,69]
<i>L. rhamnosus</i> GG kot monoterapija	3 (3)	73	0,17 [-1,12; 1,46]
<i>S. boulardii</i> kot monoterapija	1 (0)	29	-0,50 [-1,34; 0,34]
<i>L. acidophilus</i> ali <i>L. reuteri</i> ali <i>L. plantarum</i> kot monoterapija	0 (0)	0	Izračun ni mogoč
<i>Bacillus clausii</i> kot monoterapija	0 (0)	0	Izračun ni mogoč
<i>L. acidophilus</i> v kombinaciji z drugo probiotično vrsto iz rodu <i>L.</i>	1 (0)	74	-2,76 [-3,50; -2,02]
<i>L. acidophilus</i> v kombinaciji z drugo probiotično vrsto iz rodu <i>B.</i>	2 (0)	63	-2,00 [-2,49; -1,51]
Vrsta iz rodu <i>B.</i> v kombinaciji z dvema različnima vrstama iz rodu <i>L.</i>	1 (0)	95	-2,26 [-2,90; -1,63]
Vrsta iz rodu <i>B.</i> v kombinaciji z eno ali več probiotičnimi vrstami iz rodu <i>L.</i> in dodatno vrsto iz drugih rodov	1 (0)	59	Izračun ni mogoč
<i>Str. thermophilus</i> v kombinaciji s probiotično vrsto iz drugih rodov	1 (1)	37	-1,08 [-2,83; 0,67]

Legenda: *L.*-*Lactobacillus*, *B.*-*Bifidobacterium*, *S.*-*Saccharomyces*, *Str.*-*Streptococcus*
Število v oklepaju predstavlja število študij na otrocih.

4.2.3.3 Trajanje diareje glede na dnevni odmerek

V metaanalizo je bilo vključenih dvanajst študij, od tega pri treh študijah izračun učinka ni bil mogoč. Razred z zelo visokim odmerkom izkazuje v primerjavi s placebom največji učinek (MD = -3,60; 95-% CI: -4,54 do -2,66). V razred je bila vključena samo ena študija. Nizki odmerek in visoki odmerek v primerjavi s placebom nista kazala statistično značilnega učinka (vrednost P večja od 0,05). Učinek v razredu s srednjim odmerkom je statistično značilen (MD = -1,98; 95-% CI: -2,41 do -1,55). Vključene so bile štiri študiji, od tega pri dveh učinka ni bilo mogoče izračunati. Heterogenost med preostalima študijama je bila zanemarljiva ($I^2 = 0\%$). V razredu študij brez definirane odmerka izračun učinka ni bil mogoč. Prikaz drevesnega diagrama za opisano podskupino se nahaja v prilogi B (8.2.3) 3.

Preglednica XV: Razlika v trajanju diareje (v dnevih) glede na dnevni odmerek. Učinek je podan kot povprečna razlika (MD).

TRAJANJE DIAREJE GLEDE NA DNEVNI ODMEREK PROBIOTIKA	ŠTEVILO ŠTUDIJ	ŠTEVILO OSEB	RAZLIKA V PRIMERJAVI S PLACEBOM
Vse študije	12	430	-1,72 [-2,45; -0,99]
nizki odmerek (manj kot 10^9 CFU)	1	37	-1,08 [-2,83; 0,67]
srednji odmerek (ena do deset 10^9 CFU)	4	175	-1,98 [-2,41; -1,55]
visok odmerek (deset do sto 10^9 CFU)	6	187	-1,20 [-2,43; 0,03]
zelo visok odmerek (več kot sto 10^9 CFU)	1	31	-3,60 [-4,54; -2,66]
študija nima definirane odmerka	0	0	Izračun ni mogoč

4.2.3.4 Trajanje diareje glede na starost in okužbo

V metaanalizo smo vključili deset študij. Pri treh študijah izračun učinka ni bil mogoč. Primerljivo učinkovitost je bilo opaziti v razredu respiratornih okužb (MD = -2,00; 95-% CI: -2,49 do -1,51) in razredu mešanih okužb (MD = -1,86; 95-% CI: -3,09 do -0,63) pri odrasli populaciji. V prvi razred je bila vključena samo ena, v drugi razred pa tri študije. Heterogenost med slednjimi je bila zelo velika ($I^2 = 88\%$). Razreda respiratornih okužb in ostalih študij pri otrocih nista kazala statistično značilnih rezultatov v učinkovitosti (vrednost P večja od 0,05). V razredih respiratornih okužb in mešanih okužb v odrasli populaciji izračun učinka ni bil mogoč. Prikaz drevesnega diagrama za opisano podskupino se nahaja v prilogi B (8.2.3) 4.

Preglednica XVI: Razlika v trajanju diareje (v dnevih) glede na starost in okužbo. Učinek je podan kot povprečna razlika (MD).

TRAJANJE DIAREJE GLEDE NA STAROST IN VRSTO OKUŽBE	ŠTEVILO ŠTUDIJ	ŠTEVILO OSEB	RAZLIKA V PRIMERJAVI S PLACEBOM
Vse študije	10	430	-1,44 [-2,19; -0,69]
Otroci: respiratorna okužba	1	12	0,00 [-1,96; 1,96]
Otroci: ostale študije	3	98	-0,38 [-1,73; 0,98]
Odrasli: respiratorna okužba	1	45	-2,00 [-2,49; -1,51]
Odrasli: okužba s <i>Helicobacter pylori</i>	1	59	Izračun ni mogoč
Odrasli: mešane okužbe	3	198	-1,86 [-3,09; -0,63]
Odrasli: ostale študije	1	18	Izračun ni mogoč

4.2.3.5 Trajanje diareje glede na sponzorstvo študije

V metaanalizo smo vključili deset študij. Pri treh študijah izračun učinka ni bil mogoč.

Učinkovitost v primerjavi s placebom, je bila opazna samo v razredu študij, sponzoriranih s strani industrije (MD = -2,27; 95-% CI: -2,68 do -1,85). V razred je bilo vključenih pet študij, med katerimi izračun učinka ni bil mogoč pri dveh. Heterogenost med preostalimi študijami je bila nizka ($I^2 = 29\%$). Prikaz drevesnega diagrama za opisano podskupino se nahaja v prilogi B (8.2.3) 5.

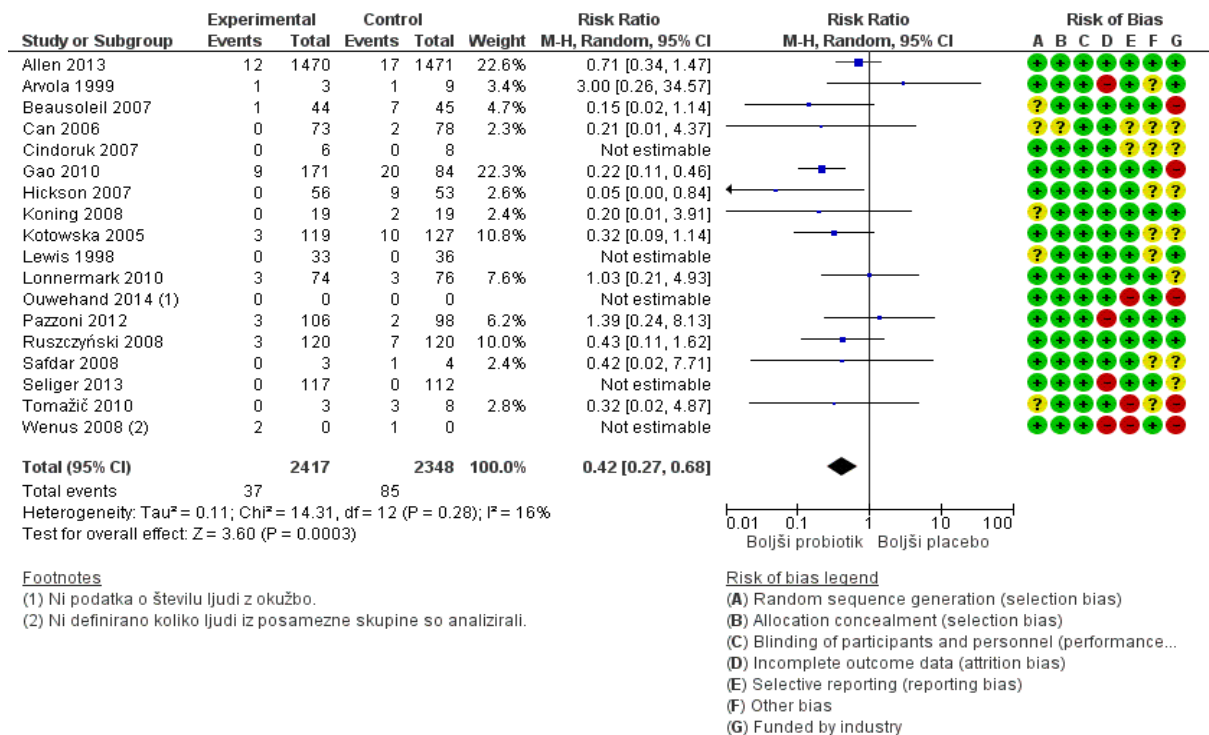
Preglednica XVII: Razlika v trajanju diareje (v dnevih) glede na sponzorstvo študije. Učinek je podan kot povprečna razlika (MD).

TRAJANJE DIAREJE GLEDE NA SPONZORSTVO ŠTUDIJE	ŠTEVILO ŠTUDIJ	ŠTEVILO OSEB	RAZLIKA V PRIMERJAVI S PLACEBOM
Vse študije	10	430	-1,44 [-2,19; -0,69]
Sponzorirano s strani industrije	5	264	-2,27 [-2,68; -1,85]
Ni sponzorirano s strani industrije	3	70	-0,30 [-1,00; 0,41]
Neopredeljeno	2	96	-1,08 [-2,83; 0,67]

4.2.4 Pojavnost okužbe z bakterijo *Clostridium difficile*

V metaanalizo smo vključili osemnajst študij. Skupno je bilo analiziranih 4765 oseb. Študiji Ouwehand 2014 (52) in Wenus 2008 (62) nista podali podatka, koliko oseb je bilo analiziranih, zato izračun učinka pri omenjenih študijah ni bil mogoč. Pri dveh študijah (Cindoruk 2007 (40) in Lewis 1998 (48)) je bila pojavnost okužbe v eksperimentalni in kontrolni skupini nična, zato program RevMan učinka ni izračunal. Probiotik v primerjavi s placebom izkazuje večji skupni učinek (RR = 0,42; 95-% CI: 0,27 do 0,68). Razlika v učinku je statistično značilna, saj je

vrednost P manjša od 0,05 ($P = 0,0003$). I^2 je 16 %, kar nakazuje majhen vpliv heterogenosti na spremenljivost učinka. Grafično je razvidno dobro prekrivanje intervalov v drevesnem diagramu, kar nakazuje na majhno heterogenost.



Slika 7: Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri pojavnosti okužbe z bakterijo *Clostridium difficile* ($n = 18$)

4.2.4.1 Pojavnost okužbe z bakterijo *C. difficile* glede na starost

V metaanalizo smo vključili osemnajst študij: tri študije na otrocih ter petnajst študij na odrasli populaciji. Štirim študijam v odrasli populaciji učinka ni bilo mogoče izračunati. Učinek je bil prisoten v odrasli populaciji ($RR = 0,40$; 95-% CI: 0,22 do 0,71). Heterogenost med študijami je bila majhna ($I^2 = 22\%$). Med otroški študijami razlika v učinku v primerjavi s placebom ni bila prisotna ($P = 0,19$). Heterogenost med otroškimi študijami je bila majhna ($I^2 = 23\%$). Prikaz drevesnega diagrama za opisano podskupino se nahaja v prilogi B (8.2.4) 1.

Preglednica XVIII: Pojavnost okužbe z bakterijo *Clostridium difficile* glede na starost. Učinek je podan kot razmerje (RR).

POJAVNOST OKUŽBE S <i>CLOSTRIDIUM DIFFICILE</i> GLEDE NA STAROST	ŠTEVILO ŠTUDIJ	ŠTEVILO OSEB	UČINEK (RR [95-% CI])
Vse študije	18	4765	0,42 [0,27; 0,68]
Študije na otrocih	3	498	0,51 [0,18; 1,40]
Študije na odraslih	15	4267	0,40 [0,22; 0,71]

4.2.4.2 Pojavnost okužbe z bakterijo *C. difficile* glede na vrsto probiotika

V metaanalizo smo vključili osemnajst študij. V razredih med posameznimi probiotičnimi vrstami (*Lactobacillus rhamnosus* GG, *Saccharomyces boulardii*, *Bacillus clausii* ter *Lactobacillus acidophilus* ali *Lactobacillus reuteri* ali *Lactobacillus plantarum*) učinek ni bil zaznan (vrednost P večja od 0,05).

Med razredi s kombinacijami različnih probiotičnih vrst je največji učinek izkazala vrsta *Streptococcus thermophilus* v kombinaciji z vrsto iz drugih rodov (RR = 0,05; 95-% CI: 0,00 do 0,84). V razred je bila vključena samo ena študija. Drugi razred z izkazanim učinkom je bil razred probiotične vrste *Lactobacillus acidophilus* v kombinaciji z drugo vrsto iz rodu laktobacilov (RR = 0,21; 95-% CI: 0,10 do 0,42). V razred sta bili vključeni dve študiji, katerih heterogenost je bila zanemarljiva ($I^2 = 0\%$). Preostali probiotični razredi (*Lactobacillus acidophilus* v kombinaciji z vrsto iz rodu bifidobakterij, probiotična vrsta iz rodu bifidobakterij v kombinaciji z dvema različnima vrstama iz rodu laktobacilov ter probiotična vrsta iz rodu bifidobakterij v kombinaciji z eno ali več vrst iz rodu laktobacilov in dodatno vrsto iz drugih rodov) niso kazali statistično značilnih razlik v učinku v primerjavi s placebom (vrednost P večja od 0,05). Prikaz drevesnega diagrama za opisano podskupino se nahaja v prilogi B (8.2.4) 2.

Preglednica XIX: Pojavnost okužbe z bakterijo *Clostridium difficile* glede na vrsto probiotika. Učinek je podan kot razmerje (RR).

POJAVNOST OKUŽBE S <i>CLOSTRIDIUM DIFFICILE</i> GLEDE NA VRSTO PROBIOTIKA	ŠTEVILO ŠTUDIJ	ŠTEVILO OSEB	UČINEK (RR [95-% CI])
Vse študije	18 (3)	4765	0,42 [0,27; 0,68]
<i>L. rhamnosus</i> GG kot monoterapija	2 (2)	252	0,86 [0,14; 5,43]
<i>S. boulardii</i> kot monoterapija	5 (1)	684	0,48 [0,18; 1,31]
<i>L. acidophilus</i> ali <i>L. reuteri</i> ali <i>L. plantarum</i> kot monoterapija	2 (0)	157	0,84 [0,21; 3,34]
<i>Bacillus clausii</i> kot monoterapija	0 (0)	0	Izračun ni mogoč
<i>L. acidophilus</i> v kombinaciji z drugo probiotično vrsto iz rodu <i>L.</i>	2 (0)	344	0,21 [0,10; 0,42]
<i>L. acidophilus</i> v kombinaciji z drugo probiotično vrsto iz rodu <i>B.</i>	2 (0)	2952	0,67 [0,33; 1,36]
Vrsta iz rodu <i>B.</i> v kombinaciji z dvema različnima vrstama iz rodu <i>L.</i>	3 (0)	38	0,20 [0,01; 3,91]
Vrsta iz rodu <i>B.</i> v kombinaciji z eno ali več probiotičnimi vrstami iz rodu <i>L.</i> in dodatno vrsto iz drugih rodov	1 (0)	229	Izračun ni mogoč
<i>Str. thermophilus</i> v kombinaciji s probiotično vrsto iz drugih rodov	1 (0)	109	0,05 [0,00; 0,84]

Legenda: *L.*-*Lactobacillus*, *B.*-*Bifidobacterium*, *S.*-*Saccharomyces*, *Str.*-*Streptococcus*
Število v oklepaju predstavlja število študij na otrocih.

4.2.4.3 Pojavnost okužbe z bakterijo *C. difficile* glede na dnevni odmerek probiotika

V metaanalizo je bilo vključenih dvajset študij. Razred z zelo visokim odmerkom izkazuje v primerjavi s placebom največji učinek med razredi (RR = 0,05; 95-% CI: 0,01 do 0,37). Vključeni sta bili dve študiji, od tega pri eni študiji učinka ni bilo mogoče izračunati. Razred s srednjim odmerkom in razred brez definirane odmerka v primerjavi s placebom nista kazala statistično značilnega učinka (vrednost P večja od 0,05). V razredu študij z nizkim odmerkom izračun učinka ni bil mogoč. Prikaz drevesnega diagrama za opisano podskupino se nahaja v prilogi B (8.2.4) 3.

Preglednica XX: Pojavnost okužbe z bakterijo *Clostridium difficile* glede na dnevni odmerek probiotika. Učinek je podan kot razmerje (RR).

POJAVNOST OKUŽBE Z BAKTERIJO <i>CLOSTRIDIUM DIFFICILE</i> GLEDE NA DNEVNI ODMEREK PROBIOTIKA	ŠTEVILO ŠTUDIJ	ŠTEVILO OSEB	UČINEK (RR [95-% CI])
Vse študije	20	4765	0,43 [0,27; 0,70]
nizki odmerek (manj kot 10 ⁹ CFU)	0	0	Izračun ni mogoč
srednji odmerek (ena do deset 10 ⁹ CFU)	3	49	0,26 [0,03; 1,93]
visok odmerek (deset do sto 10 ⁹ CFU)	12	4125	0,52 [0,33; 0,82]
zelo visok odmerek (več kot sto 10 ⁹ CFU)	2	357	0,05 [0,01; 0,37]
študija nima definirane odmerka	3	234	0,21 [0,01; 4,37]

4.2.4.4 Pojavnost okužbe z bakterijo *C. difficile* glede na starost in okužbo

V metaanalizo smo vključili osemnajst študij. Učinek probiotikov je bil v vseh obravnavanih razredih v primerjavi s placebom statistično neznačilen (vrednost P večja od 0,05). V razredu okužb z bakterijo *Helicobacter pylori* v odrasli populaciji izračun učinka ni bil mogoč. Prikaz drevesnega diagrama za opisano podskupino se nahaja v prilogi B (8.2.4.) 4.

Preglednica XXI: Pojavnost okužbe z bakterijo *Clostridium difficile* glede na starost in okužbo. Učinek je podan kot razmerje (RR).

POJAVNOST OKUŽBE Z BAKTERIJO <i>CLOSTRIDIUM DIFFICILE</i> GLEDE NA STAROST IN VRSTO OKUŽBE	ŠTEVILO ŠTUDIJ	ŠTEVILO OSEB	UČINEK (RR [95-% CI])
Vse študije	18	4765	0,42 [0,27; 0,68]
Otroci: respiratorna okužba	2	258	0,76 [0,09; 6,61]
Otroci: ostale študije	1	240	0,43 [0,11; 1,62]
Odrasli: respiratorna okužba	2	3030	0,43 [0,10; 1,84]
Odrasli: okužba s <i>Helicobacter pylori</i>	1	14	Izračun ni mogoč
Odrasli: mešane okužbe	7	954	0,41 [0,14; 1,16]
Odrasli: ostale študije	5	269	0,24 [0,05; 1,30]

4.2.4.5 Pojavnost okužbe z bakterijo *C. difficile* glede na sponzorstvo študij

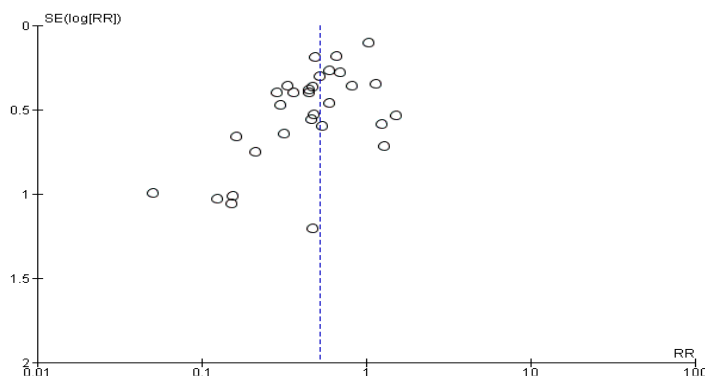
V metaanalizo smo vključili osemnajst študij. Učinkovitost je bila opazna v razredu študij, sponzoriranih s strani industrije (RR = 0,22; 95-% CI: 0,11 do 0,43). V razred je bilo vključenih pet študij, katerih medsebojna heterogenost je bila zanemarljiva ($I^2 = 0\%$). Statistično značilna razlika v učinkovitosti v primerjavi s placebom je bila opazna tudi v razredu z neopredeljenimi študijami (RR = 0,38, 95-% CI: 0,16 do 0,89). V razred smo vključili sedem študij, katerih heterogenost je bila majhna ($I^2 = 16\%$). Razred nesponzoriranih študij ni kazal statistično značilnih razlik v učinku v primerjavi s placebom (vrednost P večja od 0,05). Prikaz drevesnega diagrama za opisano podskupino se nahaja v prilogi B (8.2.4) 5.

Preglednica XXII: Pojavnost okužbe z bakterijo Clostridium difficile glede na sponzorstvo študij. Učinek je podan kot razmerje (RR).

POJAVNOST OKUŽBE Z BAKTERIJO <i>CLOSTRIDIUM DIFFICILE</i> GLEDE NA SPONZORSTVO ŠTUDIJE	ŠTEVILO ŠTUDIJ	ŠTEVILO OSEB	UČINEK (RR [95-% CI])
Vse študije	18	4765	0,42 [0,27; 0,68]
Sponzorirano s strani industrije	5	355	0,22 [0,11; 0,43]
Ni sponzorirano s strani industrije	6	3504	0,71 [0,40; 1,27]
Neopredeljeno	7	906	0,38 [0,16; 0,89]

4.2.5 Ocena pristranosti objavljanja

V oceno pristranosti smo vključili vseh trideset študij. Iz lijakastega diagrama je razvidna asimetrija. Leva stran diagrama predstavlja študije, ki so podale pozitiven rezultat učinkovitosti probiotikov, desna stran diagrama pa študije, ki učinka niso dokazale. Vizualno je moč razbrati pomanjkanje točk v desnem delu.



Slika 8: Lijakasti diagram prikaza ocene pristranosti objavljanja

5 RAZPRAVA

5.1 Sistematični pregled

Prvi vpogled nad že preučevanimi področji uporabe probiotikov nam je podala podatkovna baza Cochrane library. Po pregledu objavljenih metaanaliz do decembra 2015 opazimo širok razpon raziskav na področju probiotikov. Vseeno pa izvedenih metaanaliz po enakih tematikah ni veliko. To nakazuje na še relativno novo, sicer potencialno rabo probiotikov v zdravstvene namene.

Po pregledu treh podatkovnih baz smo pridobili študije, ki so ustrezale vključitvenim pogojem. Pri dveh potencialnih člankih celotne vsebine nismo uspeli pridobiti. Tako ni bilo mogoče oceniti, ali bi članka ustrezala pogojem za vključitev. V nadaljnjo metaanalizo smo striktno vključili samo študije, v katerih je bila prisotnost placeba jasno zapisana. S tem kriterijem smo želeli še dodatno zmanjšati tveganje za pristranost izbire in izvedbe. To pojasni dejstvo, da je bilo otroških študij v našo metaanalizo vključenih samo osem v primerjavi z metaanalizo avtorja Goldenberga s sod. (2), kjer je bilo vključenih študij triindvajset. Po pregledu njihovih vključitvenih kriterijev smo ugotovili, da so kot primerjavo definirali: placebo, katerokoli drugo aktivno profilakso ali odsotnost kontrole. Še eden od vzrokov za možno razliko v številu vključenih študij je, da so v omenjeni metaanalizi raziskovalci potencialne študije iskali po večjem številu podatkovnih baz, do katerih mi nismo imeli dostopa. V primerjavi z našo metaanalizo je bilo število otroških študij prav tako večje v metaanalizi delovne skupine za probiotike ESPGHAN (63). V metaanalizo so vključili enaindvajset študij na otrocih, od katerih jih je bilo sedem skupnih z našo metaanalizo. Prisotnost placeba ni bila nujna, zato predvidevamo, da so vzroki za večjo vključitev študij, v primerjavi z našo metaanalizo, podobni vzrokom zgoraj opisane Goldenbergove metaanalize.

V metaanalizo avtorja Jafarnejad s sod. (18) je bilo vključenih trideset študij na odrasli populaciji, od tega devetnajst identičnih kot v naši metaanalizi. Tako kot Cochranovi raziskovalci tudi oni niso definirali placeba kot obveznega, kar je verjetno vzrok za razliko vključenih študij v primerjavi z našo metaanalizo. Metaanaliza avtorjev Pattani s sod. (19), izvedena prav tako na odrasli populaciji, je vključila v analizo šestnajst študij. Od tega devet identičnih z našo metaanalizo. Placebo ni bil definiran kot obvezen. Metaanaliza, ki je izrazila obvezno primerjavo s placebom, je bila metaanaliza avtorja Cremonini s sod. (20). Vključili so

štiriintrideset študij, od katerih je bilo enaindvajset študij prisotnih tudi v naši metaanalizi. Obravnavana je bila celotna populacija (otroci, odrasli). Po izvedbi je tako omenjena metaanaliza še najbolj primerljiva naši. V metodah avtorji omenjajo iskanje (poleg podatkovne baze MEDLINE) še v podatkovnih bazah EMBASE in Cochrane Controlled Trial Register. Posledično bi iskanje po dodatnih bazah lahko podalo razliko v številu vključenih študij v primerjavi z našo metaanalizo. Sprva je bila baza EMBASE vključena v načrt podatkovnega iskanja literature tudi v našo raziskavo. V začetku leta 2016 pa je bila licenca za njeno uporabo prekinjena in tako dostop do nje ni bil več mogoč. Menimo, da je bil kljub temu naš sistematični pregled izveden korektno (16).

5.1.1 Ocena tveganja za pristranost

Z uporabo orodja v programu Review manager smo pridobili oceno tveganja za pristranost vseh trideset vključenih študij. Kakovost študij je na splošno dobra. Večinski delež predstavljajo študije z nizkim tveganjem za pristranost rezultatov. Študije z visokim tveganjem so bile prisotne na področjih pomanjkljivih podatkov o izidih, selektivnosti poročanja rezultatov in sponzorstva študij. Največji delež študij z visokim tveganjem je predstavljalo področje sponzorstva s strani industrije. Zato smo se tekom raziskave odločili za vključitev omenjenega področja med podskupine metaanalize. Tako smo lahko podrobneje preučili, v kakšni meri sponzorstvo dejansko vpliva na končne izide študij. Med posameznimi študijami izstopa študija Wenus 2008 (62), ki ima na vseh zgoraj omenjenih področjih oceno visokega tveganja za pristranost. V primerjavi z ostalimi študijami njena utežna vrednost (1,7 %) ni velika in ne predstavlja večjega tveganja za končni vpliv na rezultat. Vseeno pa je potrebna previdnost pri interpretaciji rezultatov, ki jih omenjena študija podaja.

5.2 Metaanaliza

Iz tridesetih vključenih študij smo pridobili podatke in določili velikost učinka za glavne preučevane izide: pojavnost diareje, pojavnost diareje po SZO definiciji, trajanje diareje in pojavnost okužbe z bakterijo *Clostridium difficile*. Vsak izid smo dodatno analizirali s petimi podskupinami: starost populacije, vrsto probiotika, dnevni odmerek, vrsto okužbe določene starostne populacije ter sponzorstvo študije. Podskupine pa smo nato še dodatno razdelili na preučevane razrede. Metaanalize, izvedene v preteklosti (Jafarnejad 2016 (18), Goldenberg 2015 (2), Pattani 2013 (19), Cremonini 2012 (20)) so kot glavni izid večinoma preučile pojavnost diareje. Edina metaanaliza, ki je obravnavala celotno populacijo (otroci, odrasli), je

bila metaanaliza avtorja Cremonini s sod. Metaanaliza avtorjev Pattani s sod. (19) je preučevala tudi, kakšna je nadaljnja pojavnost okužbe s *Clostridium difficile*. Vse omenjene metaanalize so dodatno izvedle tudi analizo izbranih podskupin. Tematike podskupin se med posameznimi metaanalizami razlikujejo, vse pa so dodatno preučile podskupino učinkovitosti različnih vrst probiotikov.

5.2.1 Pojavnost diareje

Glavno vprašanje, na katerega smo si želeli odgovora, je »Ali probiotiki pri terapiji z antibiotiki lahko preprečijo pojav diareje?«. Rezultati metaanalize so pokazali, da je incidenca diareje v primerjavi s placebom kar za 48 % manjša pri osebah, ki so tekom zdravljenja z antibiotiki uživali probiotike. Skoraj identičen rezultat je podala tudi metaanaliza Cremonini 2012 (20). V njihovi metaanalizi se je v celotni starostni populaciji incidenca diareje v skupini, ki je jemala probiotike, zmanjšala za 47 % v primerjavi s skupino, ki je uživala placebo.

V podskupini razdelitvi glede na starost je bil večji učinek zaznan v otroški populaciji. Pri otrocih, ki so dodatno uživali probiotike, je bila incidenca diareje za 59 % manjša kot pa pri otrocih brez hkratne probiotične terapije. Rezultati na otroški populaciji so primerljivi z rezultati metaanalize Goldenberg 2015 (2). Tam se je pojavnost diareje pri otrocih zmanjšala za 54 % v primerjavi s kontrolno skupino oz. skupino brez kontrole. V metaanalizi Cremonini 2012 (20) je bilo zmanjšanje nekoliko nižje. Incidenca diareje se je v primerjavi s placebom zmanjšala za 52 %. Pri odrasli populaciji je bila v naši metaanalizi pojavnost v primerjavi s placebom manjša za 43 %. V primerjavi z rezultati metaanaliz Jafarnejad 2016 (18) in Pattani 2013 (19) je bila v prvem primeru naša pojavnost diareje v odrasli populaciji manjša, v drugem pa večja. V metaanalizi Jafarnejad 2016 je bila incidenca v skupini, ki je jemala probiotike, manjša za 53 %, v metaanalizi Pattani 2013 pa za 39 %. V metaanalizi Cremonini 2012 je bilo v odrasli populaciji v primerjavi s placebom prisotno 47-% zmanjšanje pojavnosti diareje.

V podskupini razdelitve glede na vrsto probiotika je bila največja učinkovitost opazna pri vrsti *Bacillus clausii*. Pojavnost diareje se je pri osebah z uživanjem omenjenega probiotika zmanjšala za 70 % v primerjavi z osebami v skupini s placebom. Potrebno je opozoriti, da je bila pri omenjeni vrsti v analizo vključena samo ena študija. Za dokončno potrditev učinkovitosti bi bilo potrebno v analizo vključiti več študij. Prav tako se je incidenca za 68 % zmanjšala pri vrsti *Lactobacillus rhamnosus* (sev GG). V analizo je bilo vključenih pet študij (od tega tri otroške), kar poda večjo verjetnost za resnično učinkovitost omenjenega probiotika, vendar pa je število študij še vedno majhno. Pojavnost diareje se je v primerjavi s placebom

prav tako zmanjšala za 57 % pri rodu bifidobakterij v kombinaciji z dvema različnima vrstama iz rodu laktobacilov, za 54 % pri *Streptococcus thermophilus* v kombinaciji s probiotično vrsto iz drugih rodov ter za 51 % pri vrsti *Lactobacillus acidophilus* v kombinaciji z drugo vrsto iz rodu laktobacilov. Preostali probiotični razredi niso pokazali statistično značilnih razlik v primerjavi s placebom. V že objavljenih metaanalizah so bili najbolj učinkovite probiotične vrste iz rodu laktobacilov. V metaanalizi Cremonini 2012 (20) je 60-% zmanjšanje v pojavnosti diareje izkazal sev *Lactobacillus rhamnosus* GG. Ostali laktobacili v isti metaanalizi so v primerjavi s placebom, izkazali 44-% zmanjšanje, bifidobakterije 45-% zmanjšanje, vrsta *Saccharomyces boulardii* pa 54-% zmanjšanje. V metaanalizi Pattani 2013 (19) so podrobneje analizirali vrste iz rodu laktobacilov in pa *Saccharomyces boulardii*. Učinek je bil zaznan samo v skupini laktobacilov, kjer se je pojavnost diareje zmanjšala za 36 % v primerjavi s skupino brez kontrole ali placebom. V metaanalizi Goldenberg 2015 (2) sta največjo učinkovitost v otroški populaciji izkazala *Lactobacillus rhamnosus* GG (65-% zmanjšanje) in *Saccharomyces boulardii* (60-% zmanjšanje), ki pa pri nas sicer ni izkazal učinka. Prav tako sta bila omenjena seva najučinkovitejša v otroški metaanalizi delovne skupine za probiotike ESPGHAN (63).

V podskupini glede na dnevni odmerek težko podamo smiselni zaključek. Nizki in visoki dnevni odmerek sta podala skoraj identičen rezultat. Pri nizkem odmerku se je v primerjavi s placebom pojavnost diareje zmanjšala za 53 %, pri visokem pa za 55 %. V razredu s srednjim odmerkom se je pojavnost zmanjšala za 35 %. Učinkovitost je bila največja pri zelo visokem odmerku, saj se je pojavnost diareje v skupini, ki je jemala probiotike, zmanjšala za 62 %. Vseeno pa sta bili v analizo vključeni samo dve študiji, tako da trdnih zaključkov ne moremo podati. Pričakovali smo, da bo učinkovitost probiotika naraščala linearno z večanjem dnevnega odmerka, česar nismo uspeli dokazati. Možna razlaga, ki jo lahko v tej skupini podamo, je, da ima vsak probiotik svoj optimalni dnevni odmerek, pri katerem je najbolj učinkovit. Prav tako do sedaj v literaturi še vedno ni potrjenih točnih podatkov o številu in koncentraciji, ki mora biti presežena za optimalno delovanje probiotikov. Vpliv dnevnega probiotičnega odmerka so preučili tudi v metaanalizi Goldenberg 2015 (2). Odkrili niso nobenih statistično značilnih razlik v učinku med uporabljenimi odmerki probiotikov. Prav tako kot mi, tudi oni niso podali trdnih zaključkov.

V podskupini pojavnosti diareje glede na starost in okužbo je bila v razredu respiratornih okužb pri otrocih pojavnost diareja kar za 64 % manjša kot pri otrocih v skupini s placebom. Učinkovitost probiotikov je bila velika tudi v odrasli populaciji s pridruženo okužbo bakterije *Helicobacter pylori*. Incidenca se je zmanjšala kar za 63 % v primerjavi s placebom. Identičen

rezultat v zmanjšanju pojavnosti diareje v skupini okužb z bakterijo *Helicobacter pylori* je bil prav tako podan v metaanalizi Cremonini 2012 (20). Opazen učinek v naši metaanalizi je bil tudi v razredu ostalih študij v otroški populaciji (zmanjšanje za 57 %) ter v razredu mešanih okužb pri odrasli populaciji (zmanjšanje za 39 %). Pozitivne učinke probiotične terapije glede na okužbo so preučili tudi v metaanalizi Goldenberg 2015 (2). Incidenca diareje se je v primerjavi s kontrolno skupino oz. skupino brez kontrole zmanjšala pri otrocih, okuženih s *Helicobacter pylori* za 68 %, pri otrocih z respiratornimi infekcijami za 54 % in pri otrocih z mešanimi infekcijami za 60 %.

V podskupini sponzorstva študij s strani industrije je opazen malo večji učinek probiotikov v skupini sponzoriranih študij. Incidenca diareje se je v tem razredu v primerjavi s placebom zmanjšala za 46 %, v razredu nesponzoriranih študij pa je bila pojavnost diareje manjša za 41 %. Glede na majhne razlike v učinkovitosti med skupinama težko podamo končne zaključke. Prav tako je bil največji učinek opazen ravno v skupini neopredeljenih študij (zmanjšanje za 55 %) in je vključeval tudi največje število študij. To dejstvo otežuje presojo, ali sponzorstvo študij vpliva na končno podano učinkovitost probiotikov ali ne. Vsekakor pa rezultati metaanalize nakazujejo na dodatno previdnost pri interpretiranju rezultatov sponzoriranih študij.

5.2.2 Pojavnost diareje po definiciji SZO

Pojavnost diareje po definiciji SZO smo preučili z namenom zmanjšanja heterogenosti med vključenimi študijami. Študije marsikdaj podajajo različne definicije diareje, kar otežuje primerjavo z ostalimi rezultati objavljenih študij. Osemnajst študij je tako zadostilo kriterijem uradne definicije diareje. Incidenca diareje v skupini, ki je jemala probiotike, je manjša za 37 % v primerjavi s skupino, ki je uživala placebo. Učinkovitost je bila tako kar za 11 % manjša kot pa pri izidu pojavnosti diareje vseh vključenih definicij. Manjša učinkovitost je lahko tako posledica manjše heterogenosti med študijami ali pa manjšega števila vključenih študij.

V podskupini razdelitve glede na starost je bilo v otroški populaciji opazno 57-% zmanjšanje diareje, v odrasli populaciji pa zmanjšanje za 29 % v primerjavi s placebom. V primerjavi s prvim izidom pojavnosti diareje po vseh definicijah so rezultati skoraj identični pri populaciji otrok, za 14 % manjša pa je opazna učinkovitost na populaciji odraslih. Ponovno bi bila lahko manjša učinkovitost posledica večje heterogenosti študij prvega izida, po drugi strani pa je bilo pri podskupini izida pojavnosti diareje po definiciji SZO v odraslo populacijo vključenih devet študij manj kot pri podskupini prvega izida pojavnosti diareje po vseh definicijah.

V podskupini glede na vrsto probiotika je bilo največje zmanjšanje incidence diareje v primerjavi s placebom opazno pri vrsti *Lactobacillus rhamnosus* (sev GG). Pojavnost diareje se je zmanjšala za 59 %. Obe vključeni študiji sta bili izvedeni na otrocih. Pri ostalih probiotičnih razredih se je pojavnost diareje v skupini s probiotiki zmanjšala za 51 % pri vrsti *Lactobacillus acidophilus* v kombinaciji z drugo probiotično vrsto iz rodu laktobacilov, za 48 % pri *Streptococcus thermophilus* v kombinaciji s probiotično vrsto iz drugih rodov ter za 39 % pri rodu bifidobakterij v kombinaciji z dvema različnima vrstama iz rodu laktobacilov. Preostali probiotični razredi niso podali statistično značilnih razlik v učinkovitosti probiotikov v primerjavi s placebom. Vsi omenjeni probiotični razredi z izkazano učinkovitostjo so podali pozitivne rezultate tudi v podskupini prvega izida pojavnosti diareje po vseh definicijah. Večini se je učinkovitost v primerjavi s prvim izidom zmanjšala za nekaj procentov. Ponovno je to lahko vzrok manjše heterogenosti med študijami ali zmanjšanega števila vključenih študij.

V podskupini razdelitve glede na dnevni odmerek probiotika je bila največja učinkovitost opazna v skupini z zelo visokim odmerkom. Incidenca diareje se je zmanjšala za 65 %, vendar je bila v analizo vključena samo ena študija. Ostali razredi podskupine, tako kot pri prvem izidu, podajajo dokaj nesmiselne rezultate. Pojavnost v razredu z nizkim odmerkom se je v primerjavi s placebom zmanjšala za 53 %, v razredu s srednjim odmerkom za 29 %, v razredu z visokim odmerkom pa za 41 %. Zaenkrat lahko na podlagi naših rezultatov sklepamo, da učinkovitost probiotika ni odvisna od njegove količine, če le-ta presega minimalne količinske zahteve za njegovo učinkovitost. Torej je možna razlaga, da ima vsak posamezni probiotik svoj optimalni dnevni odmerek, pri katerem je najbolj učinkovit.

V podskupini razdelitve glede na starost in okužbo je tako kot pri prvem izidu največje zmanjšanje pojavnosti diareje v primerjavi s placebom opazno v razredu respiratornih okužb pri otrocih. Incidenca se je v skupini, ki je jemala probiotike, zmanjšala za 66 %. V razredu ostalih študij pri otrocih se je incidenca zmanjšala za 51 %. Oba rezultata sta dokaj identična z rezultati podskupine prvega izida pojavnosti diareje vseh vključenih definicij. Preostali razredi v primerjavi s placebom niso podali statistično značilnih rezultatov. Vzrok bi bil lahko v premajhnem številu vključenih študij v posamezne razrede.

V podskupini glede na sponzorstvo študije učinek v skupini brez sponzorstva ni bil opazen. V primerjavi s placebom je bilo zmanjšanje pojavnosti diareje za 44 % opazno v skupini sponzoriranih študij in zmanjšanje za 43 % v skupini neopredeljenih študij. Število vključenih

študij je bilo v primerjavi s podskupino prvega izida sicer manjše. Vendar pa je iz pridobljenih rezultatov jasno opazen vpliv sponzorstva na učinek probiotikov vključenih študij.

5.2.3 Trajanje diareje

Samo deset od skupno trideset vključenih študij je preučevalo, za koliko dni se v povprečju zmanjša trajanje že prisotne diareje. Od desetih študij tri študije niso podale ustreznih podatkov za nadaljnji izračun, tako da je bila končna analiza opravljena na sedmih študijah. Vse tri študije brez ustrezno podanih rezultatov smo označili z visokim tveganjem za pristranost. Končni rezultat je pokazal, da se ob hkratnem uživanju probiotikov ob terapiji z antibiotiki trajanje diareje v primerjavi s placebom skrajša za 1,4 dni.

Pri otroški populaciji razlik v trajanju diareje ni bilo opaziti. Vzrok je verjetno v premajhnem številu vključenih študij. Pri odrasli populaciji se je trajanje diareje skrajšalo za skoraj 2 dni v skupini, ki je jemala probiotike. Metaanaliza Goldenberg 2015 (2) je v skupini, kjer so otroci istočasno z antibiotiki uživali probiotike, zaznala skrajšanje trajanje diareje za 0,6 dni.

V podskupini razdelitve glede na vrsto probiotika je *Lactobacillus acidophilus* v kombinaciji z drugo vrsto iz rodu laktobacilov skrajšal trajanje diareje za 2,8 dni. Za 2 dni se je prav tako skrajšalo trajanje diareje v razredu *Lactobacillus acidophilus* v kombinaciji z vrsto iz rodu bifidobakterij. Trajanje diareje v razredu z vrsto iz rodu bifidobakterij v kombinaciji z dvema različnima vrstama iz rodu laktobacilov pa se je skrajšalo za 2,3 dni. Učinek v omenjenih razredih je bil sicer prisoten, vendar je bilo število vključenih študij majhno (1-2 študiji). Preostali razredi probiotikov niso podali statistično značilnih rezultatov v primerjavi s placebom.

V podskupini razdelitve glede na dnevni odmerek se je trajanje diareje v primerjavi s placebom skrajšalo za 3,6 dni v razredu z zelo visokim odmerkom. Visok in nizki odmerek nista podala statistično značilnih rezultatov. Trajanje v razredu s srednjim odmerkom pa se je v primerjavi s placebom skrajšalo za skoraj 2 dni. Skrajšanje trajanja v skupini z zelo visokim odmerkom je bilo sicer pričakovan rezultat, vendar je bila vključena samo ena študija. Pričakovali smo, da se bo število dni trajanje diareje zmanjšalo z višanjem dnevnega odmerka probiotikov, vendar do takšnih rezultatov nismo prišli. Smiselno razlago za omenjeno podskupino težko podamo.

V podskupini razdelitve glede na starost in okužbo je bil primerljiv učinek opazen v razredu respiratornih in mešanih okužb v odrasli populaciji. V prvem omenjenem razredu se je trajanje

diareje v primerjavi s placebom v skupini, ki je jemala probiotike, skrajšalo za 2 dni, v drugem razredu pa za 1,9 dni. Število vključenih študij v obeh razredih je bilo sicer majno. Preostali razredi statistično značilnih razlik v trajanju v primerjavi s placebom, niso podali.

V podskupini glede na sponzorstvo študij je bil učinek opazen le v razredu študij, sponzoriranih s strani industrije. V primerjavi s placebom se je trajanje diareje skrajšalo za 2,3 dni. Iz rezultatov podskupine je sicer jasno opazen vpliv sponzorstva, vendar je tudi število vključenih študij po razredih majhno.

5.2.4 Pojavnost okužbe z bakterijo *Clostridium difficile*

Eden izmed najpogostejših zapletov z antibiotiki povzročene diareje je nadaljnja okužba z bakterijo *Clostridium difficile*. Osemnajst študij je spremljalo pojavnost okužbe, vendar izračun pri štirih študijah ni bil mogoč. Skupno je tako rezultate podalo štirinajst študij. V primerjavi s placebom so rezultati metaanalize pokazali, da je incidenca okužbe za 58 % manjša pri osebah, ki so tekom zdravljenja z antibiotiki uživali probiotike. Metaanaliza Pattani 2013 (19) je podala za 5 % boljši rezultat od našega. Tako se je incidenca okužbe v dvanajstih analiziranih študijah skupno zmanjšala za 63 % pri osebah na probiotični terapiji v primerjavi s kontrolno skupino oz. s skupino brez kontrole. Leta 2013 je bila izvedena ena izmed Cochranovih metaanaliz (16), ki je preučevala vpliv probiotične terapije na incidenco diareje, povzročeno z okužbo bakterije *Clostridium difficile* ob zdravljenju z antibiotiki. Kot sekundarni izid so preučevali tudi preventivni vpliv probiotikov na samo okužbo z bakterijo *Clostridium difficile*. Rezultati so podali statistično neznačilno razliko v učinku med skupino, ki je jemala probiotike, in skupino s placebom.

V podskupini razdelitve glede na starost se je v odrasli populaciji okužba z bakterijo v primerjavi s placebom zmanjšala za 60 %. V otroški populaciji pa statistično značilnih razlik v primerjavi s placebom ni bilo opaziti. Eden od razlogov za neopazen učinek je lahko v majhnem številu vključenih študij. V splošnem pa velja, da je pojavnost okužbe z bakterijo *Clostridium difficile* manjša v otroški kot v odrasli populaciji (64).

V podskupini razdelitve glede na vrsto probiotika je zmanjšanje okužbe za 95 % v primerjavi s placebom podal razred *Streptococcus thermophilus* v kombinaciji s probiotično vrsto iz drugih rodov. Potrebno je omeniti, da je razred vključeval samo eno študijo. Drugi razred z izkazanim učinkom je bil razred *Lactobacillus acidophilus* v kombinaciji z drugo probiotično vrsto iz rodu laktobacilov. Okužba se je zmanjšala za 79 % pri osebah na probiotični terapiji. Učinek

omenjene probiotične vrste je v primerjavi s placebom sicer izkazan, vendar je število študij, vključenih v posamezni razred, zelo majhno. Preostali probiotični razredi niso izkazali statistično značilnih razlik v primerjavi s placebom. V metaanalizi Pattani 2013 (19) so edino učinkovitost na zmanjšanje okužbe v odrasli populaciji opazili pri vrstah laktobacilov. V skupini s probiotično terapijo je bilo zmanjšanje pojavnosti okužbe 67 %. V metaanalizi na otrocih delovne skupine za probiotike ESPGHAN (63) je največjo učinkovitost pred pojavom nadaljnje infekcije z bakterijo *Clostridium difficile* izkazala probiotična vrsta *Saccharomyces boulardii*.

V podskupini glede na dnevni odmerek probiotika, je bilo opazno zmanjšanje okužbe z bakterijo samo v razredu z zelo visokim odmerkom. Ostali razredi niso izkazali statistično značilnih razlik v primerjavi s placebom. V razredu z zelo visokim odmerkom se je pojavnost okužbe v primerjavi s placebom zmanjšala za 95 %, vendar je bilo število vključenih študij majhno. Za potrditev končnega učinka bi bilo v razred potrebno vključiti več študij. Pričakovali smo, da bo pojavnost okužbe z bakterijo *Clostridium difficile* padala z višanjem probiotičnega dnevnega odmerka, vendar do takšnih rezultatov nismo prišli.

V podskupini glede na starost in okužbo noben razred ni podal statistično značilnih razlik v učinku v primerjavi s placebom. Iz rezultatov bi lahko sklepali, da probiotična preventiva pred okužbo z bakterijo *Clostridium difficile* ni učinkovita pri hkratnem antibiotičnem zdravljenju ostalih okužb. Vendar pa je število vključenih študij v posamezni razred zelo majhno in ne moremo podati končnih zaključkov.

V podskupini glede na sponzorstvo študije se je pojavnost *Clostridium difficile* v primerjavi s placebom zmanjšala za 78 % v razredu sponzoriranih študij ter za 62 % v razredu z neopredeljenimi študijami. V razredu nesponzoriranih študij ni bilo zaznati učinka probiotikov na zmanjšanje pojavnosti nadaljnje okužbe. Ponovno se kaže vpliv sponzorstva na podajanje rezultatov vključenih študij.

5.2.5 Ocena pristranosti objavljanja

Študij, ki so podale pozitiven rezultat, je več kot študij, ki niso pokazale učinka. Prav tako razporeditev študij brez učinka ni enakomerna. Vsesplošno se to kaže v asimetriji diagrama, kar nakazuje tudi na heterogenost vključenih študij (slika 8). Vizualno rezultati kažejo na zmeren vpliv pristranosti objavljanja.

5.3 Omejitve

Tako kot vsaka izmed izvedenih metaanaliz, ima tudi naša metaanaliza nekaj omejitev. Med najbolj opaznimi je vpliv sponzorstva študij s strani industrije, kar je potrdila analiza podskupin pri vseh preučevanih glavnih izidih. Število vključenih študij v posamezni razred je bilo sicer majhno. Prav tako je bilo veliko študij vključenih v razred neopredeljenih študij. Glede na omenjeni dejstvi zato ne moremo zagotovo trditi, da nam je omenjeni vpliv spremenil končni izid, vendar rezultati podskupin nakazujejo na možen vpliv pristranosti. Prav tako se kaže vpliv zmernega vpliva pristranosti objavljanja.

Moteči so manjkajoči podatki študij, ki niso točno definirale uporabljenih probiotičnih vrst, dnevnih odmerkov uživanja probiotikov ter zdravstvenega stanja udeležencev. Te podatke bi bilo sicer možno pridobiti z neposrednim kontaktiranjem avtorjev, vendar se za ta postopek nismo odločili. Prav tako so posamezni rezultati določenih podskupin vprašljivi zaradi majhnega števila vključenih študij v posamezni razred. Ena izmed omejitev je tudi vključitev člankov, izključno v angleškem jeziku. V nadaljevanju bi bilo v raziskavo smiselno vključiti tudi članke v tujih jezikih. Časovno bi bilo to seveda zamudno, vendar bi s tem dobili več potencialnih študij za vključitev. Prav tako bi bil smiseln pregled literature po dodatnih podatkovnih bazah npr. EMBASE.

Tekom raziskave smo se vseskozi srečevali z veliko heterogenostjo med posameznimi študijami. Problem smo poskušali omejiti z uvedbo in analizo petih podskupin pri vsakem glavnem izidu, vendar nam vseh oblik heterogenosti ni uspelo zajeti. Ena izmed razlik posameznih študij je tudi sama oblika, v katero so bili probiotiki zajeti. Udeleženci študij so tako uživali probiotične jogurte, probiotične napitke, kapsule, tablete in praške. Prav tako so udeleženci istočasno s probiotiki uživali še različne vrste antibiotikov v različnem časovnem obsegu. Antibiotike so udeleženci študij uživali peroralno ali intravensko. V nadaljevanju raziskave bi bilo tako smiselno preveriti, kateri specifični antibiotiki so v vključeni populaciji povzročili največ zapletov in kako so različni časovni obsegi jemanja antibiotikov vplivali na pojavnost diareje. Predmet nadaljnje raziskave bi bil lahko tudi v primerjavi pojavnosti diareje med intravenskimi antibiotiki in antibiotiki po oralni aplikaciji. Tekom raziskave nismo posvečali posebne pozornosti rasi udeležencev, okolja, iz katerega so prihajali, ter ali je njihova probiotična terapija potekala v bolnišnici ali v domačem okolju. Opisani parametri bi po nadaljnji raziskavi lahko zmanjšali heterogenost študij in podali zaupljivejše rezultate.

6 SKLEP

Končni rezultati metaanalize nakazujejo, da probiotiki tekom zdravljenja z antibiotiki lahko preprečijo in skrajšajo trajanje diareje. Prav tako so uspešni tudi pri preprečevanju nadaljnje okužbe z bakterijo *Clostridium difficile*.

Študije so se razlikovale po terapiji z različnimi vrstami probiotikov, v različnih dnevniških odmerkih, po starosti vključenih oseb, definicijah diareje, pridruženih okužbah, terapiji z antibiotiki in sponzoriranju s strani industrije. Heterogenost med študijami smo poskušali zmanjšati z uvedbo in analizo posameznih podskupin, vendar določena stopnja heterogenosti še vedno ostaja.

Prav tako je vprašljiva kredibilnost končnih rezultatov zaradi vpliva pristranosti sponzorstva s strani industrije ter pristranosti zaradi pomanjkanja objav študij z manj ugodnimi rezultati.

V primerjavi s placebom je bil večji učinek jemanja probiotikov pred pojavom diareje zaznan v otroški populaciji. Učinkovitost preventive pred nadaljnjo okužbo z bakterijo *Clostridium difficile* pa je bila večja v odrasli populaciji. Vpliv probiotikov na skrajšanje trajanja diareje je bil opazen le v odrasli populaciji.

Večji učinek probiotikov v primerjavi s placebom se kaže tudi pri zmanjšanju pojavnosti diareje tekom antibiotičnega zdravljenja respiratornih okužb v otroški populaciji in pri okužbah s *Helicobacter pylori* v odrasli populaciji. Najkrajše trajanje diareje v primerjavi s placebom je bilo opazno v odrasli populaciji tekom antibiotičnega zdravljenja respiratornih okužb ob hkratni terapiji s probiotiki.

Med vrstami probiotikov so bili pri preventivi in skrajšanju trajanja diareje v primerjavi s placebom najbolj uspešni *Lactobacillus rhamnosus* (sev GG), *Bacillus clausii* ter *Lactobacillus acidophilus* v kombinaciji z drugo probiotično vrsto iz rodu laktobacilov. Razlik v učinkovitosti med posameznimi vrstami ali kombinacijami nismo uspeli dokazati. Prav tako nismo uspeli dokazati razlik v učinkovitosti med posameznimi razredi različnih probiotičnih odmerkov.

V primerjavi z rezultati preteklih metaanaliz smo v naši metaanalizi pri preučevanih glavnih izidih dobili podobne rezultate. Razlike nastajajo pri rezultatih analiz posameznih podskupin.

7 LITERATURA

1. Islam SU: Clinical Uses of Probiotics. *Medicine* (Baltimore) 2016; 95, 5: 1-5.
2. Goldenberg J, Lytvyn L, Steurich J in sod.: Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea (Review). *Cochrane database Syst Rev* 2015; 12: CD004827.
3. Verna EC, Lucak S: Use of probiotics in gastrointestinal disorders: what to recommend? *Therap Adv Gastroenterol* 2010; 3, 5: 307–19.
4. Vanderhoof JA, Young R: Probiotics in the United States. *Clin Infect Dis* 2008; 46, 2: 67–72.
5. Vandenplas Y, Huys G, Daube G: Probiotics: An update. *J Pediatr (Rio J)* 2015; 91, 1: 6–21.
6. Flesch AG, Poziomyck AK, Damin DC: The therapeutic use of symbiotics. *Arq Bras Cir Dig* 2014; 27, 3: 206–209.
7. Lacroix C, Yildirim S: Fermentation technologies for the production of probiotics with high viability and functionality, *Curr Opin Biotechnol* 2007; 18, 2: 176–183.
8. Enders G: Čarobno črevesje : vse, kar morate vedeti o najbolj prezrtem organu. 1. izd., Mladinska knjiga, Ljubljana, 2015: 234-246.
9. Minelli EB, Benini A: Relationship between number of bacteria and their probiotic effects. *Microb Ecol Health Dis* 2008; 20, 4: 180–183.
10. World health organization, Diarrhoeal disease. Dostopano: 21.11.2016
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/en/>.
11. Sketelj J: Motnje delovanja prebavil, Seminarji iz patološke fiziologije, 1. izd., Medicinska fakulteta, Inštitut za patološko fiziologijo, Ljubljana, 2008: 167–174.
12. McFarland LV: Meta-analysis of probiotics for the prevention of traveler's diarrhea. *Travel Med. Infect Dis* 2007; 5, 2: 97–105.
13. Allen SJ, Martinez EG, Gregorio G V in sod.: Probiotics for treating acute infectious diarrhoea. *Cochrane database Syst Rev* 2010; 2011, 11: CD003048.
14. McFarland LV, Dublin S: Meta-analysis of probiotics for the treatment of irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 2008; 14, 17: 2650–2661.
15. Rupnik M: Clostridium difficile : ali postaja pogostejši tudi v Sloveniji?. *JAMA-SI* 2009; 17, 3: 107–109.
16. Goldenberg JZ, Ma SS, Saxton JD in sod.: Probiotics for the prevention of Clostridium difficile-associated diarrhea in adults and children. *Cochrane database Syst Rev* 2013; 5, 5: CD006095.

17. Goldin BR, Gorbach SL: Clinical indications for Probiotics: An overview. *Clin Infect Dis* 2008; 46: S96–S100.
18. Jafarnejad S, Shab-Bidar S, Speakman JR in sod.: Probiotics reduce the risk of antibiotic-associated diarrhea in adults (18-64 years) but not the elderly (>65 Years): A Meta-Analysis. *Nutr Clin Pract* 2016; 44: 502-513.
19. Pattani R, Palda VA, Hwang SW in sod.: Probiotics for the prevention of antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile* infection among hospitalized patients: systematic review and meta-analysis. *Open Med* 2013; 7, 2: 56-67.
20. Videlock EJ, Cremonini F: Meta-analysis: Probiotics in antibiotic-associated diarrhoea. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 35, 12: 1355–1369.
21. The Cochrane Collaboration: Review Manager (RevMan) Computer Program, version 5.3. 2014.
22. Hemingway P, Brereton N: What is a systematic review? *Evid Based Nurs* 2009; 1, April: 1–8.
23. MEDLINE®/PubMed® resources guide. Dostopano: 21.11.2016, <https://www.nlm.nih.gov/bsd/pmresources.html>.
24. EU clinical trials register, About the EU clinical trials register. Dostopano: 21.11.2016, <https://www.clinicaltrialsregister.eu/about.html>.
25. ClinicalTrials.gov, About clinical studies. Dostopano: 21.11.2016 <https://clinicaltrials.gov/>.
26. Library subject guides, How to design a search protocol. Dostopano: 21.11.2016, <http://libguides.library.qut.edu.au/c.php?g=428088&p=2923165>.
27. Higgins JPT, Altman DG: Chapter 8. Assessing risk of bias in included studies. In: Higgins JPT, Green S (editors). *Cochrane Handbook for systematic Reviews of Interventions*. Version 5.1.0 (updated March 2011). The Cochrane Collab 2011. Dostopno na: www.cochrane-handbook.
28. Kastrin A: Metaanaliza in njen pomen za psihološko metodologijo. *Genetics* 2008; 42: 25–42.
29. Ried K: Interpreting and understanding meta-analysis graphs-a practical guide. *Aust Fam Physician* 2006; 35, 8: 635–638.
30. Ščuka L: Pomen metaanalize v medicini. *Zdrav Vestn* 2005; 74: 39–48.
31. Deeks JJ, Higgins JPT, Altman DG: Chapter 9: Analysing data and undertaking meta-analyses. In: Higgins JPT, Green S (editors). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* Version 5.1.0 (updated March 2011). The Cochrane Collab 2011. Dostopno na: www.cochrane-handbook.
32. Lau J, Ioannidis JPA, Terrin N in sod.: The case of the misleading funnel plot. *BMJ Br Med J* 2006; 333, 7568: 597–600.

33. Allen SJ, Wareham K, Wang D in sod.: A high-dose preparation of lactobacilli and bifidobacteria in the prevention of antibiotic-associated and clostridium difficile diarrhoea in older people admitted to hospital: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, parallel arm trial. *Health Technol Assess (Rockv)* 2013; 17, 57: 1–139.
34. Armuzzi F, Bartolozzi F, Canducci F in sod.: The effect of oral administration of Lactobacillus on antibiotic-associated gastrointestinal side-effects during Helicobacter Pylori eradication therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15, 2: 163–169.
35. Arvola T, Laiho K, Torkkeli S in sod.: Children with respiratory infections : A Randomized Study. *Pediatrics* 1999; 104, 5: 1-4
36. Beausoleil M, Fortier N, Guénette S in sod.: Effect of a fermented milk combining Lactobacillus acidophilus CL1285 and Lactobacillus casei in the prevention of antibiotic-associated diarrhea: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Can J Gastroenterol* 2007; 21, 11: 732–736.
37. Can M, Beşirbellioglu BA, Avci IY in sod.: Prophylactic Saccharomyces boulardii in the prevention of antibiotic-associated diarrhea: a prospective study. *Med Sci Monit* 2006; 12, 4: I19-I22.
38. Chatterjee S, Kar P, Das T in sod.: Randomised placebo-controlled double blind multicentric trial on efficacy and safety of Lactobacillus acidophilus LA-5 and Bifidobacterium BB-12 for prevention of antibiotic-associated diarrhoea. *J Assoc Physicians India* 2013; 61: 708–712.
39. Ciperman L, Bayless G, Best K in sod.: A radomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of Lactobacillus reuteri ATCC 55730 for the prevention of antibiotic-associated diarrhea in hospitalized adults. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: 785–789.
40. Cindoruk M, Erkan G, Karakan T in sod.: Efficacy and safety of Saccharomyces boulardii in the 14-day triple anti-helicobacter pylori therapy: A prospective randomized placebo-controlled double-blind study. *Helicobacter* 2007; 12, 4: 309–316.
41. Corrêa N, Filho L, Penna F: A randomized formula controlled trial of Bifidobacterium lactis and Streptococcus thermophilus for prevention of antibiotic-associated diarrhea in infants. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 385-389.
42. Cremonini F, Di Caro S, Covino M in sod.: Effect of different probiotic preparations on anti-helicobacter pylori therapy-related side effects: a parallel group, triple blind, placebo-controlled study. *Am J Gastroenterol* 2002; 97, 11: 2744–2749.
43. Fox MJ, Ahuja KDK, Robertson IK in sod.: Can probiotic yogurt prevent diarrhoea in children on antibiotics? A double-blind, randomised, placebo-controlled study. *BMJ Open* 2015; 5: 1-6
44. Gao XW, Mubasher M, Fang CY in sod.: Dose-response efficacy of a proprietary probiotic formula of Lactobacillus acidophilus CL1285 and Lactobacillus casei LBC80R for antibiotic-associated diarrhea and Clostridium difficile-associated diarrhea prophylaxis in adult patients. *Am J Gastroenterol* 2010; 105, 7: 1636–1641.

45. Hickson M, D'Souza AL, Muthu N in sod.: Use of probiotic *Lactobacillus* preparation to prevent diarrhoea associated with antibiotics: randomised double blind placebo controlled trial. *BMJ* 2007; 335, 7610: 1-5.
46. Koning CJM, Jonkers DMAE, Stobberingh EE in sod.: The effect of a multispecies probiotic on the intestinal microbiota and bowel movements in healthy volunteers taking the antibiotic amoxycillin. *Am J Gastroenterol* 2008; 103, 1: 178–189.
47. Kotowska M, Albrecht P, Szajewska H: *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea in children: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21, 5: 583–590.
48. Lewis S, Potts L: The lack of therapeutic effect of *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic related diarrhoea in elderly patients. *J Infect* 1998; 36: 171–174.
49. Lonnemark E, Friman V, Lappas G in sod.: Intake of *Lactobacillus plantarum* reduces certain gastrointestinal symptoms during treatment with antibiotics. *J Clin Gastroenterol* 2010; 44: 106–112.
50. Merenstein DJ, Foster J, D'Amico F.: A randomized clinical trial measuring the influence of kefir on antibiotic-associated diarrhea. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2009; 163, 8: 750–754.
51. Nista EC, Candelli M, Cremonini F in sod.: *Bacillus clausii* therapy to reduce side-effects of anti-*Helicobacter pylori* treatment: Randomized, double-blind, placebo controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20, 10: 1181–1188.
52. Ouwehand A, DongLian C, Weijian X: Probiotics reduce symptoms of antibiotic use in a hospital setting: a randomized dose response study. *Vaccine* 2014; 32, 4: 458–463
53. Pozzoni P, Riva A, Bellatorre AG in sod.: *Saccharomyces boulardii* for the prevention of antibiotic-associated diarrhea in adult hospitalized patients: a single-center, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Gastroenterol* 2012; 107, 6: 922–31.
54. Ruszczyński M, Radzikowski A, Szajewska H: Clinical trial: Effectiveness of *Lactobacillus rhamnosus* (strains E/N, Oxy and Pen) in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea in children. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 28, 1: 154–161.
55. Safdar N, Barigala R, Said A in sod.: Feasibility and tolerability of probiotics for prevention of antibiotic-associated diarrhoea in hospitalized US military veterans. *J Clin Pharm Ther* 2008; 33, 6: 663–668.
56. Selinger CP, Bell A, Cairns A in sod.: Probiotic VSL#3 prevents antibiotic-associated diarrhoea in a double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial. *J Hosp Infect* 2013; 84, 2: 159–165.
57. Song HJ, Kim J, Jung S in sod.: Effect of probiotic *Lactobacillus* (*Lacidofil*® cap) for the prevention of antibiotic-associated diarrhea: a prospective, randomized, double-blind, multicenter study. *J Korean Med Sci* 2010; 25, 12: 1784–91.

58. Szymański H, Armańska M, Kowalska-Duplaga K in sod.: *Bifidobacterium longum* PL03, *Lactobacillus rhamnosus* KL53A, and *Lactobacillus plantarum* PL02 in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children: a randomized controlled pilot trial. *Digestion* 2008; 78, 1: 13–17.
59. Tomažič J, Vukelič K, Verboten Kopriva R in sod.: Randomized, placebo controlled, double-blind, parallel group, multicentric phase IV study on the clinical efficacy of lactic acid bacteria in form of hard capsules (capsule contains not less than 2×10^9 CFU of lyophilised lactic acid bacteria *Lactobacillus acidophilus* (LA-5) and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12) in ration 1:1) as prevention of antibiotic associated acute diarrhea in adults. EudraCT No.2009-010713-69, 1-27
60. Vanderhoof JA, Whitney DB, Antonson DL in sod.: *Lactobacillus* GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children. *Int J Food Microbiol* 1999; 135, 5: 564–568.
61. De Vrese M, Kristen H, Rautenberg P in sod.: Probiotic lactobacilli and bifidobacteria in a fermented milk product with added fruit preparation reduce antibiotic associated diarrhea and *Helicobacter pylori* activity. *J Dairy Res* 2011; 78, 4: 396–403.
62. Wenus C, Goll R, Loken EB in sod.: Prevention of antibiotic-associated diarrhoea by a fermented probiotic milk drink. *Eur. J Clin Nutr* 2008; 62, 2: 299–301.
63. Szajewska H, Canani RB, Guarino A in sod.: Probiotics for the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children. *J Pediatr Gastroenterol. Nutr* 2016; 62, 3: 495–506.
64. McFarland LV, Ozen M, Dinleyici EC in sod.: Comparison of pediatric and adult antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile* infections. *W J Gastroentero* 2016; 22, 11: 3078–3104.

8 PRILOGE

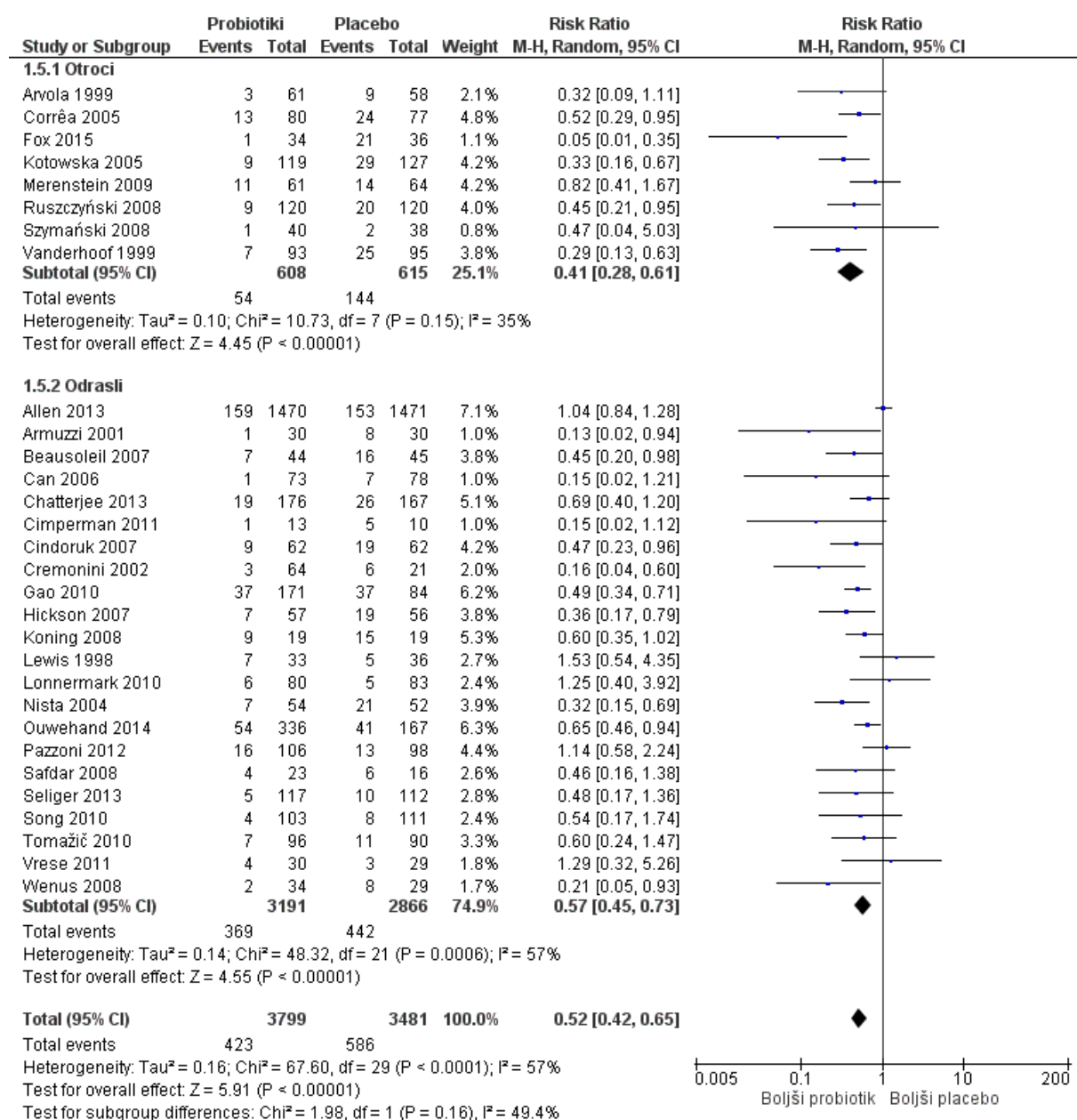
8.1 Priloga A: Grafični prikaz ocene tvegana za pristranost posameznih študij

	Random sequence generation (selection bias)	Allocation concealment (selection bias)	Blinding of participants and personnel (performance bias)	Incomplete outcome data (attrition bias)	Selective reporting (reporting bias)	Other bias	Funded by industry
Allen 2013	+	+	+	+	+	+	+
Armuzzi 2001	?	+	+	+	?	?	?
Arvola 1999	+	+	+	+	+	?	+
Beausoleil 2007	?	+	+	+	+	+	+
Can 2006	?	?	+	+	?	?	?
Chatterjee 2013	+	+	+	+	+	?	+
Cimperman 2011	?	?	+	+	?	+	+
Cindoruk 2007	+	+	+	+	?	?	?
Corrêa 2005	?	+	+	+	+	?	?
Cremonini 2002	+	+	+	+	?	?	+
Cremonini 2002 (multi strain)	+	+	+	+	?	?	+
Cremonini 2002 (strain L. G9)	+	+	+	+	?	?	+
Cremonini 2002 (strain S. bouardii)	+	+	+	+	?	?	+
Fox 2015	+	+	+	+	+	?	+
Gao 2010	+	+	+	+	+	+	+
Gao 2010 (nižja doza)	+	+	+	+	+	+	+
Gao 2010 (višja doza)	+	+	+	+	+	+	+
Hickson 2007	+	+	+	+	+	?	?
Koning 2008	?	+	+	+	+	+	+
Kotowska 2005	+	+	+	+	+	?	?
Lewis 1998	?	+	+	+	+	?	+
Lonnermark 2010	+	+	+	+	+	+	?
Merenstein 2009	?	+	+	+	?	+	+
Nista 2004	+	+	+	+	?	+	?
Ouwehand 2014	+	+	+	+	+	+	+
Ouwehand 2014 (nižja doza)	+	+	+	+	+	+	+
Ouwehand 2014 (višja doza)	+	+	+	+	+	+	+
Pazzoni 2012	+	+	+	+	+	+	+
Ruszczyński 2008	+	+	+	+	+	+	+
Safdar 2008	+	+	+	+	+	?	?
Seliger 2013	+	+	+	+	+	+	?
Song 2010	?	+	+	+	+	?	?
Szymański 2008	+	+	+	+	+	?	+
Tomažič 2010	?	+	+	+	+	?	+
Vanderhoof 1999	+	+	+	+	+	+	+
Vrese 2011	?	+	+	+	+	+	?
Wenus 2008	+	+	+	+	+	+	+

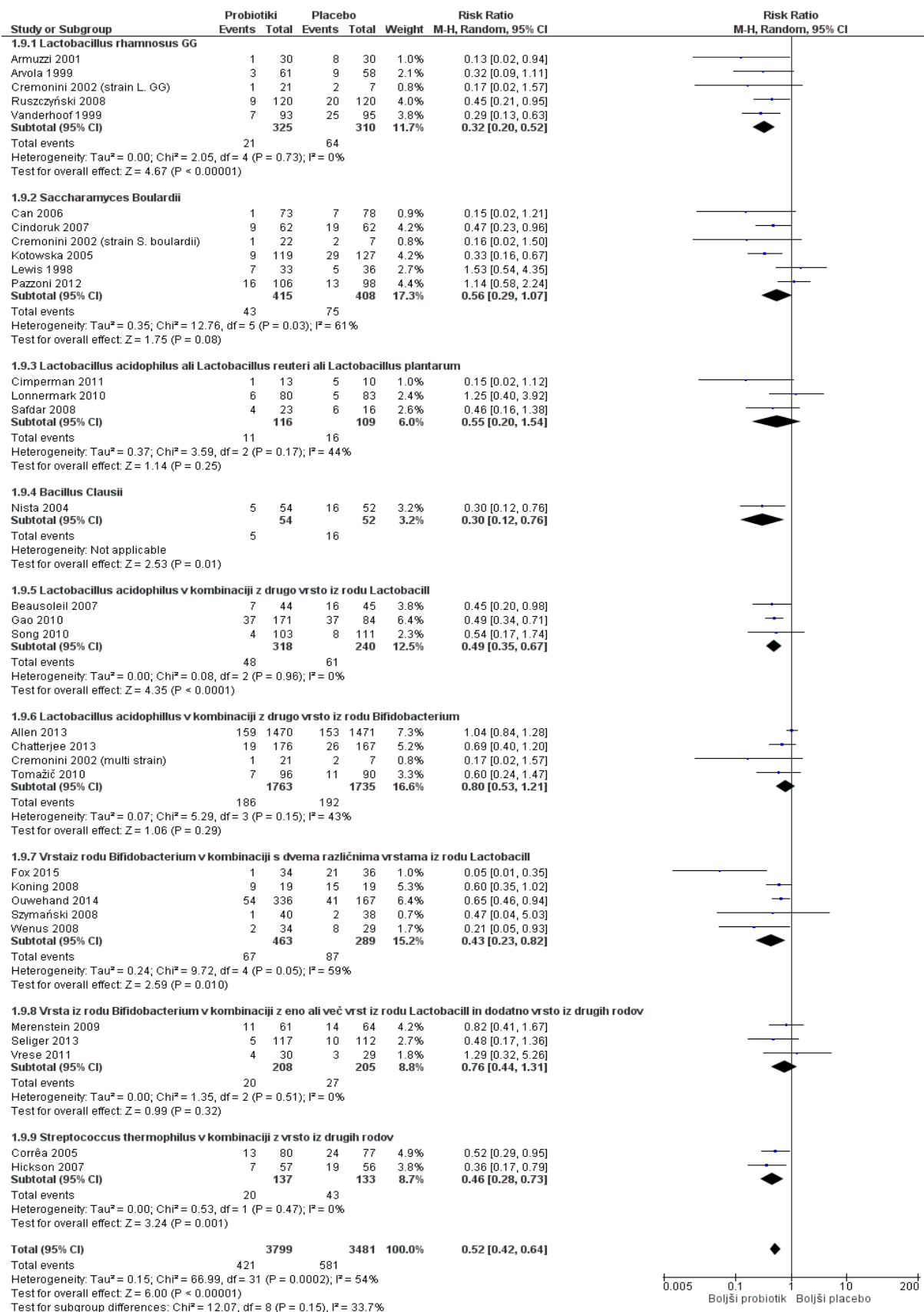
8.2 Priloga B: Drevesni diagrami

8.2.1 Pojavnost diareje

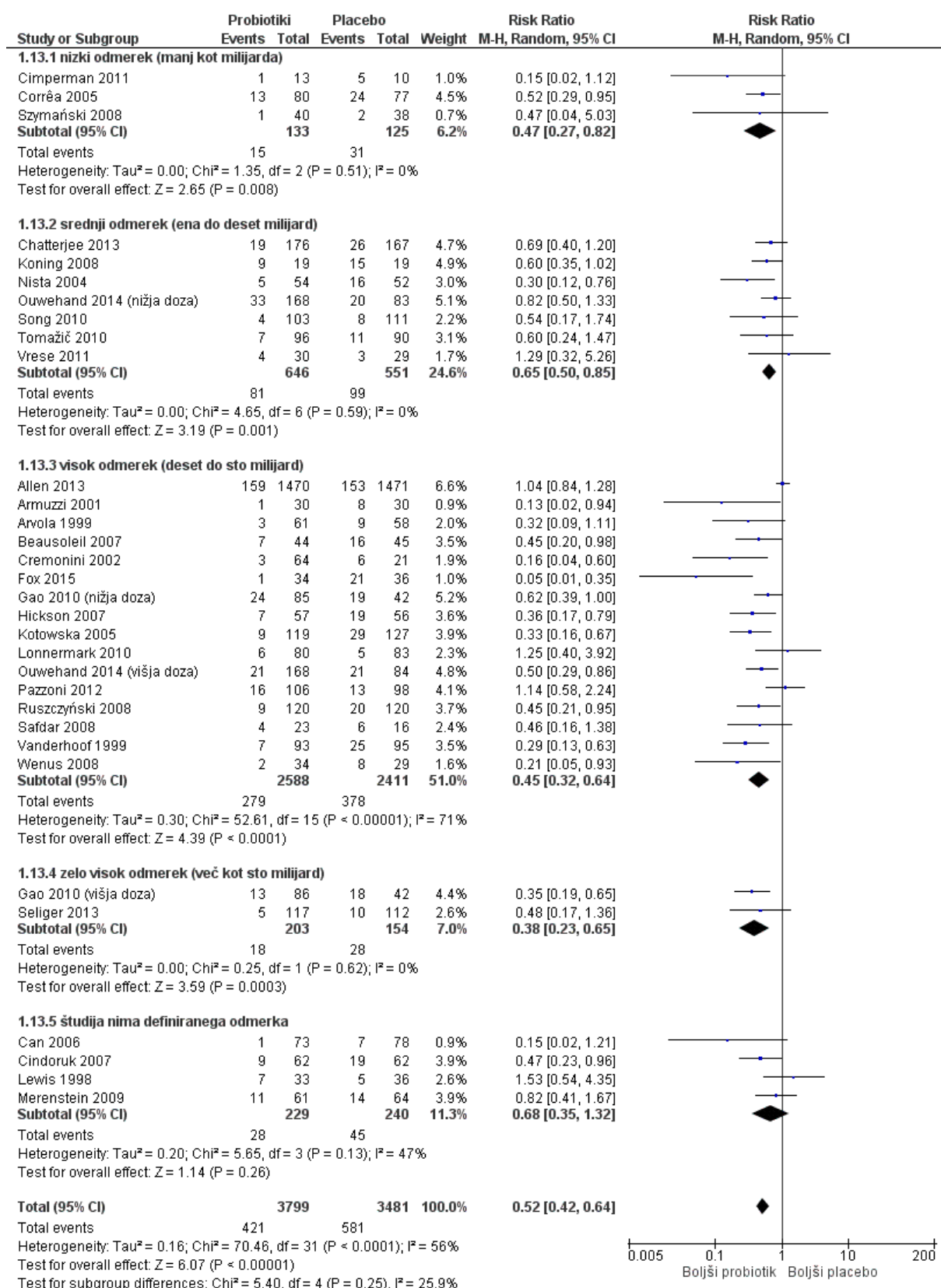
1. Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri pojavnosti diareje glede na starost



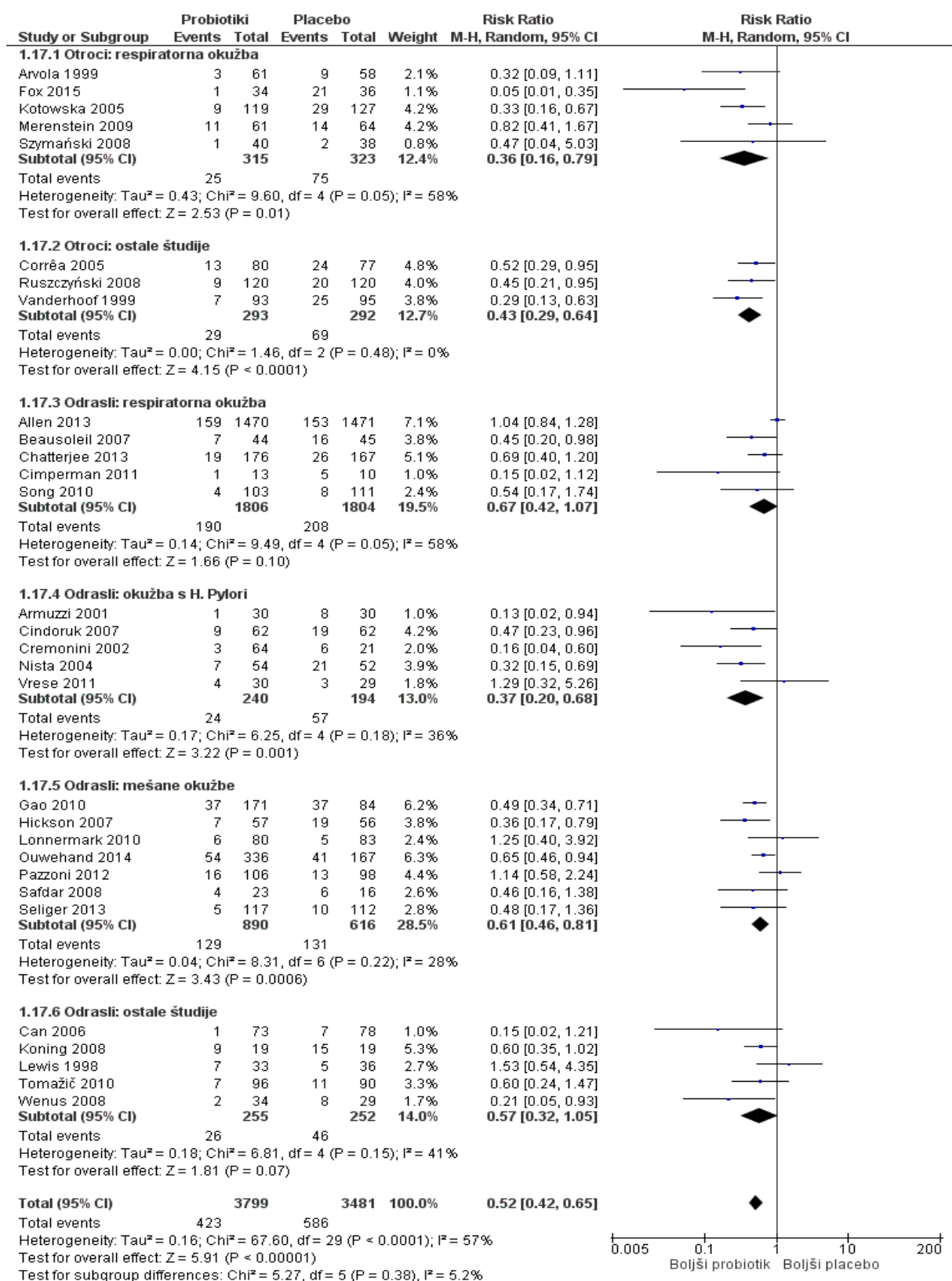
2. Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri pojavnosti diareje glede na vrsto probiotika



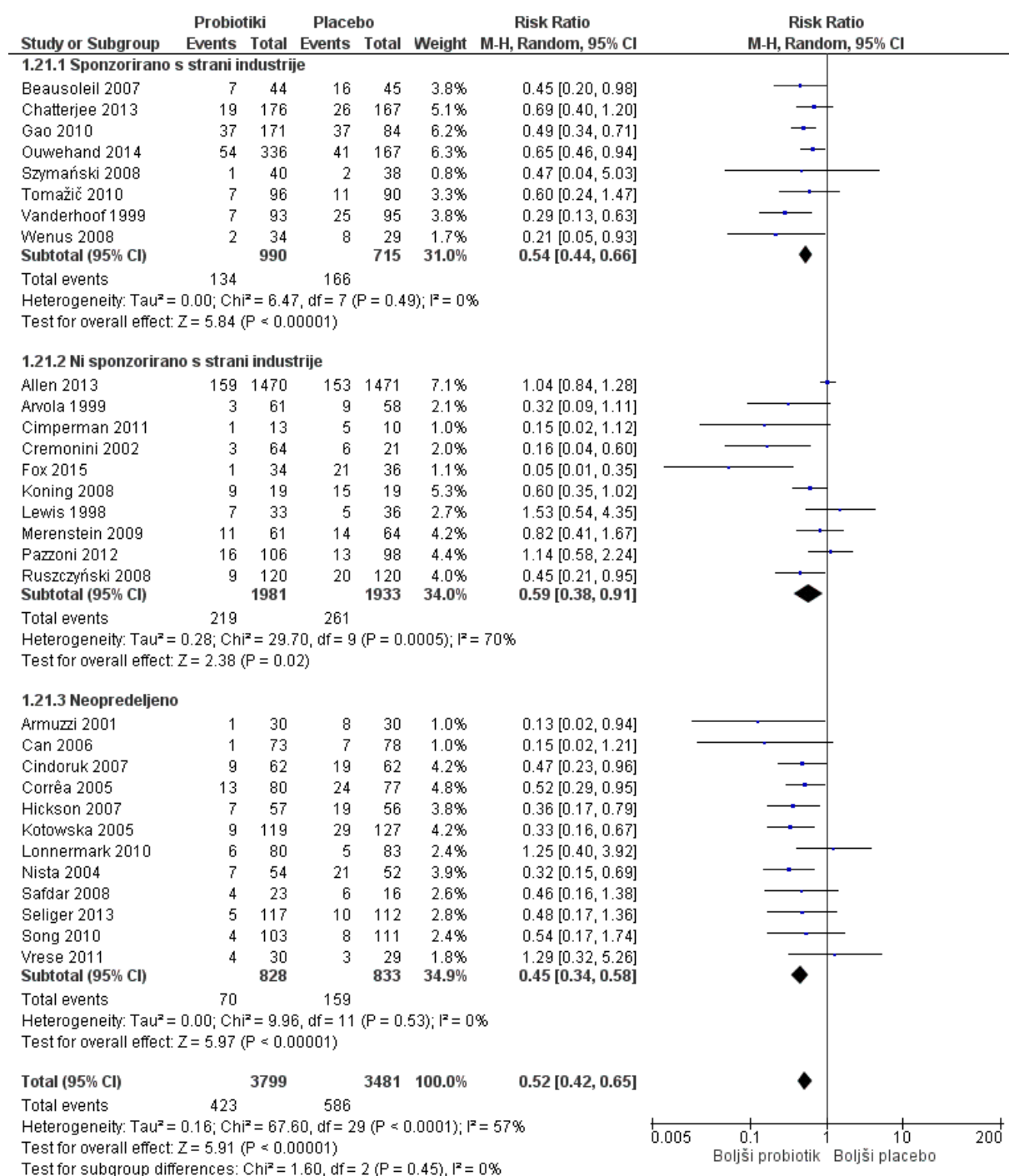
3. Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri pojavnosti diareje glede na dnevni odmerek probiotika



4. Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri pojavnosti diareje glede na starost in okužbo

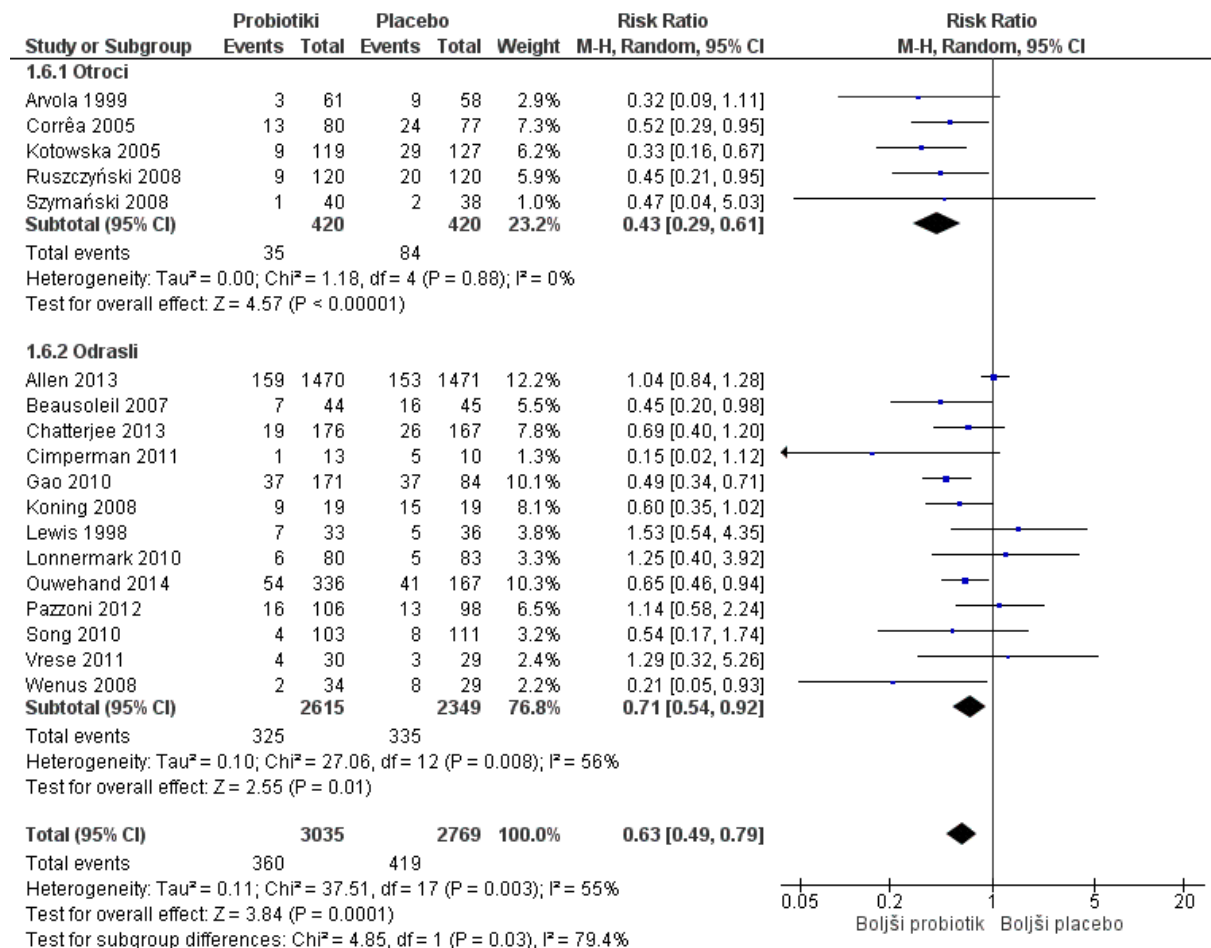


5. Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri pojavnosti diareje glede na sponzorstvo študije

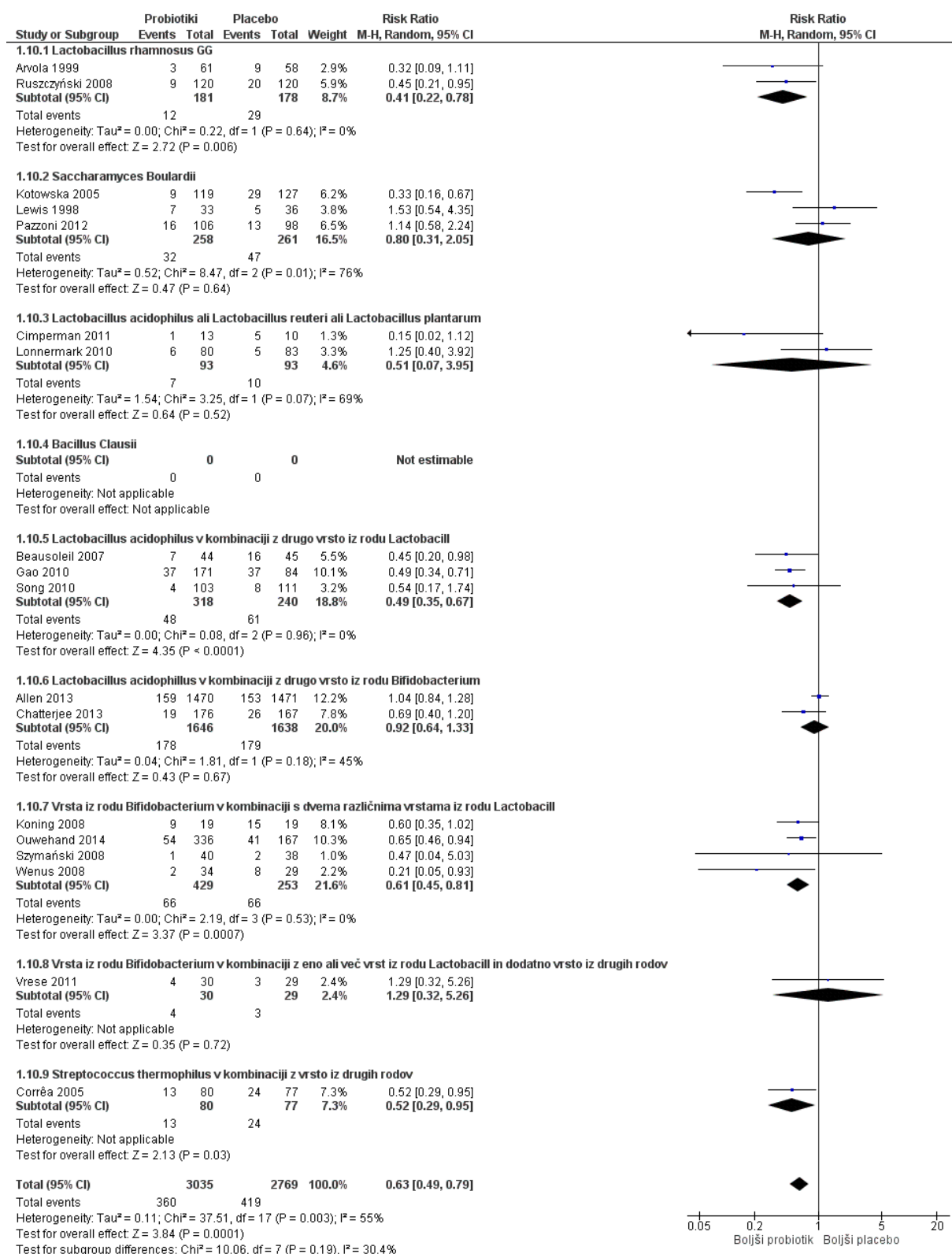


8.2.2 Pojavnost diareje po definiciji SZO

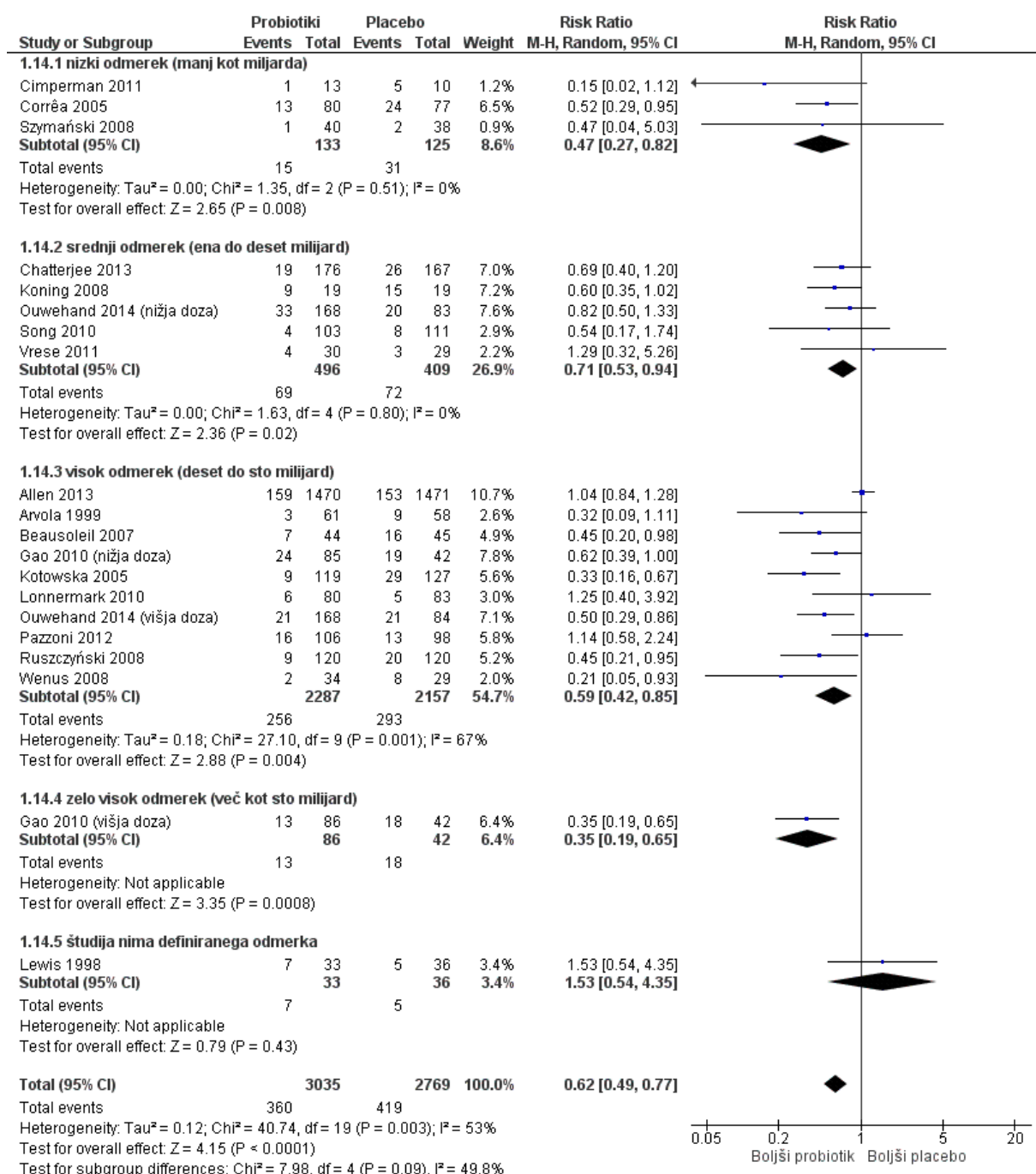
1. Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri pojavnosti diareje po definiciji SZO glede na starost



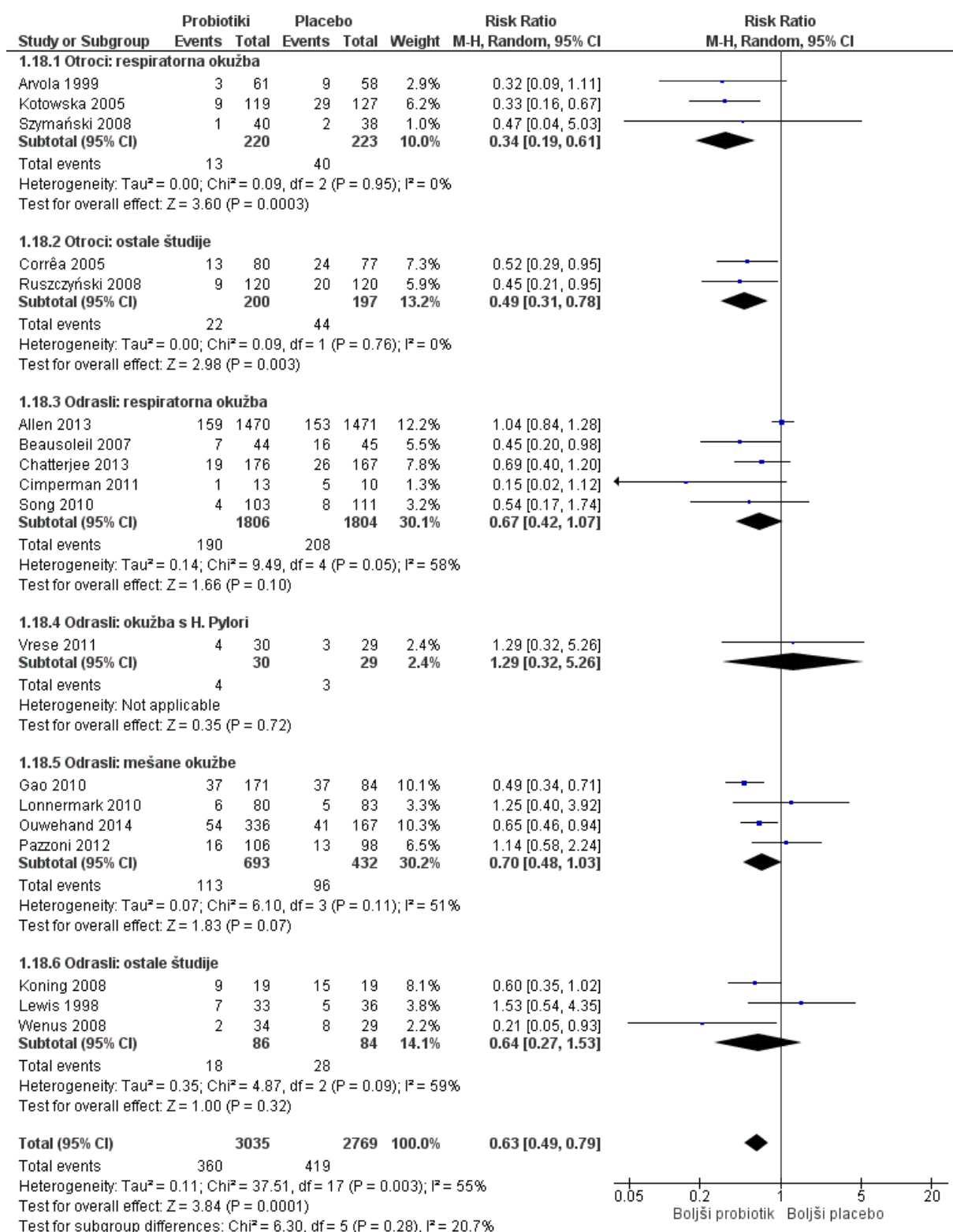
2. Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri pojavnosti diareje po definiciji SZO glede na vrsto probiotika



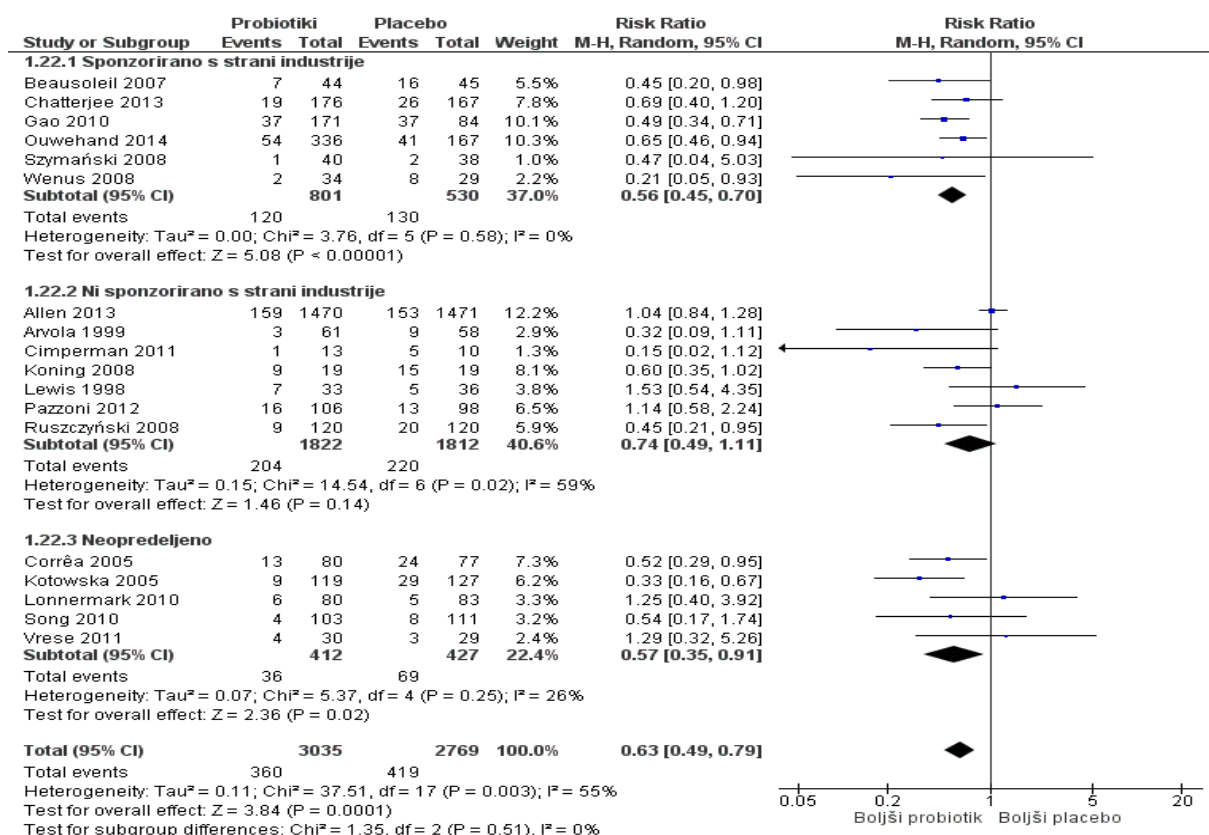
3. Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri pojavnosti diareje po definiciji SZO glede na dnevni odmerek probiotika



4. Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri pojavnosti diareje po definiciji SZO glede na starost in okužbo

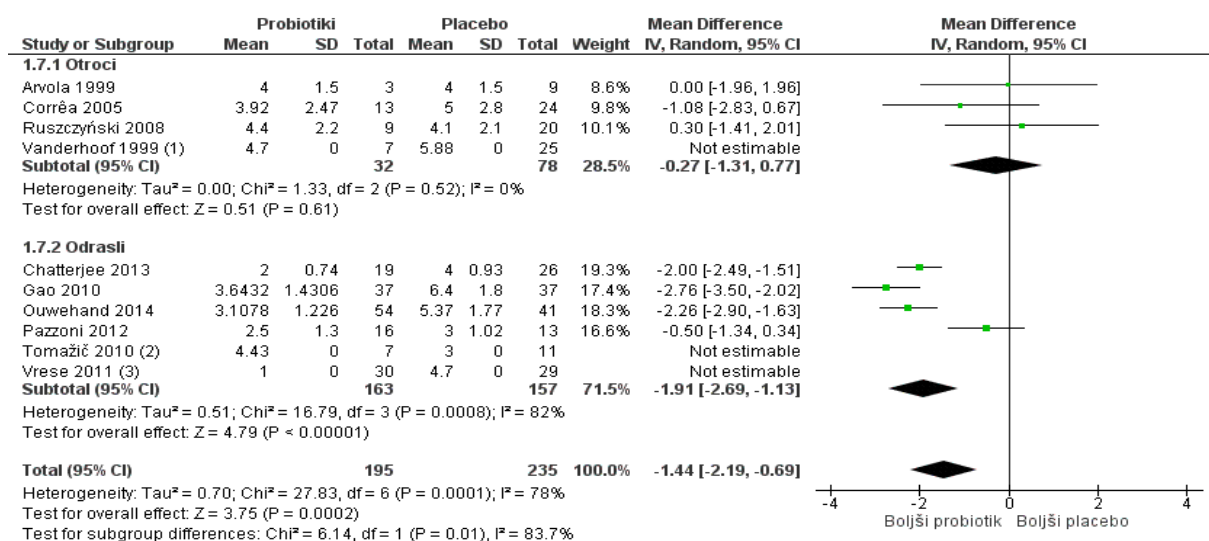


5. Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri pojavnosti diareje po definiciji SZO glede na sponzorstvo študije



8.2.3 Trajanje diareje

1. Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri trajanju diareje glede na starost



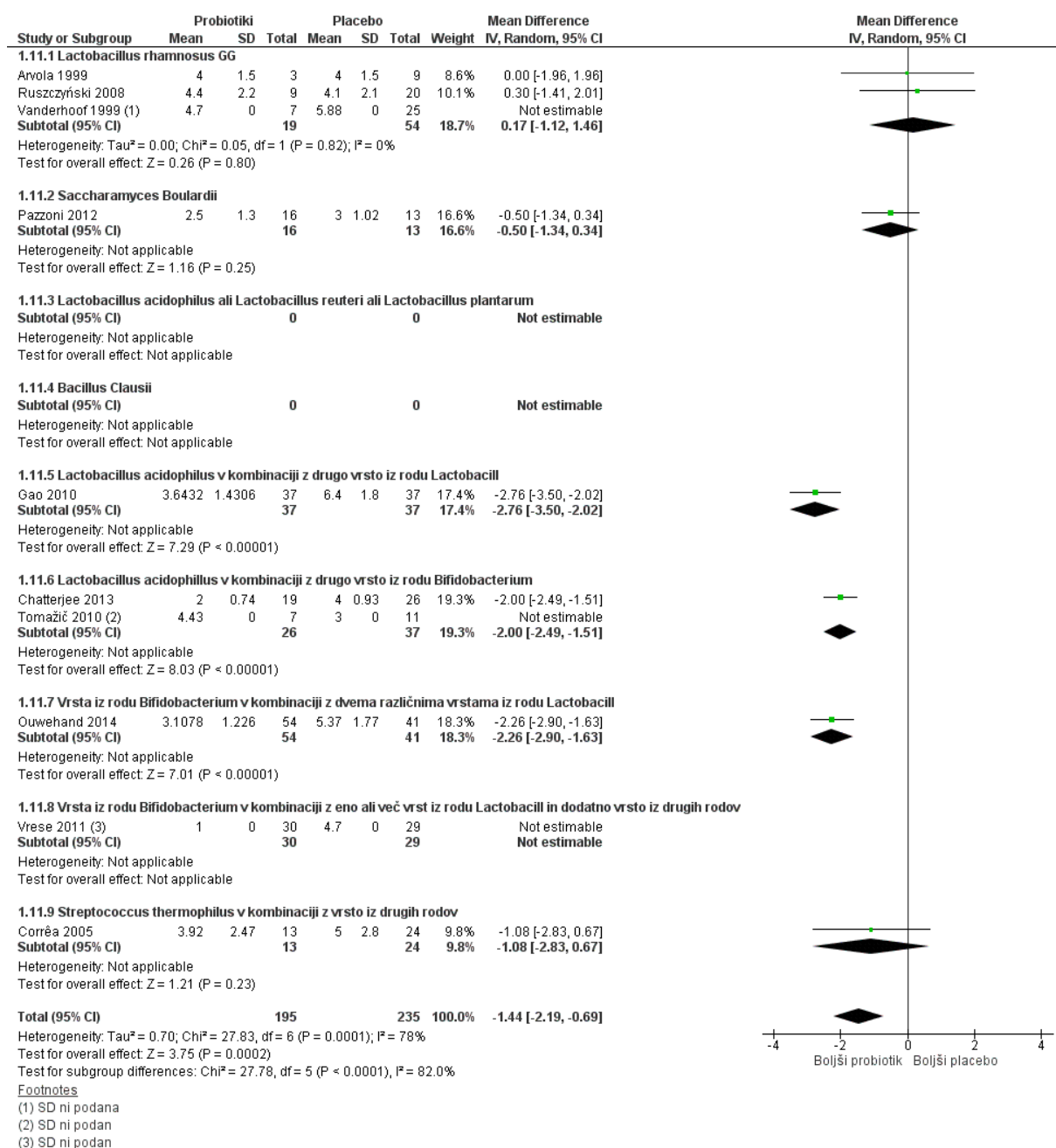
Footnotes

(1) SD ni podana

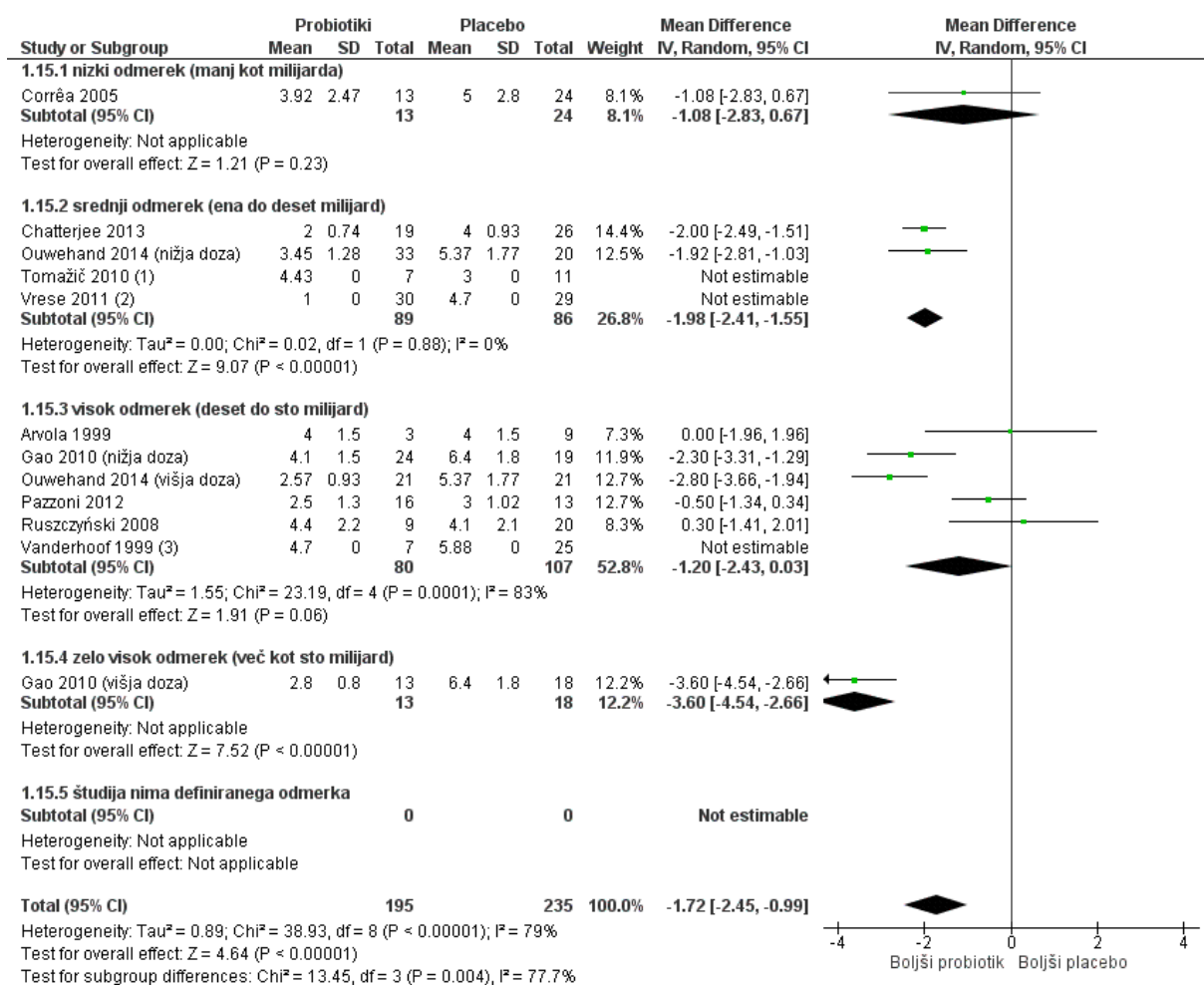
(2) SD ni podan

(3) SD ni podan

2. Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri trajanju diareje glede na vrsto probiotika



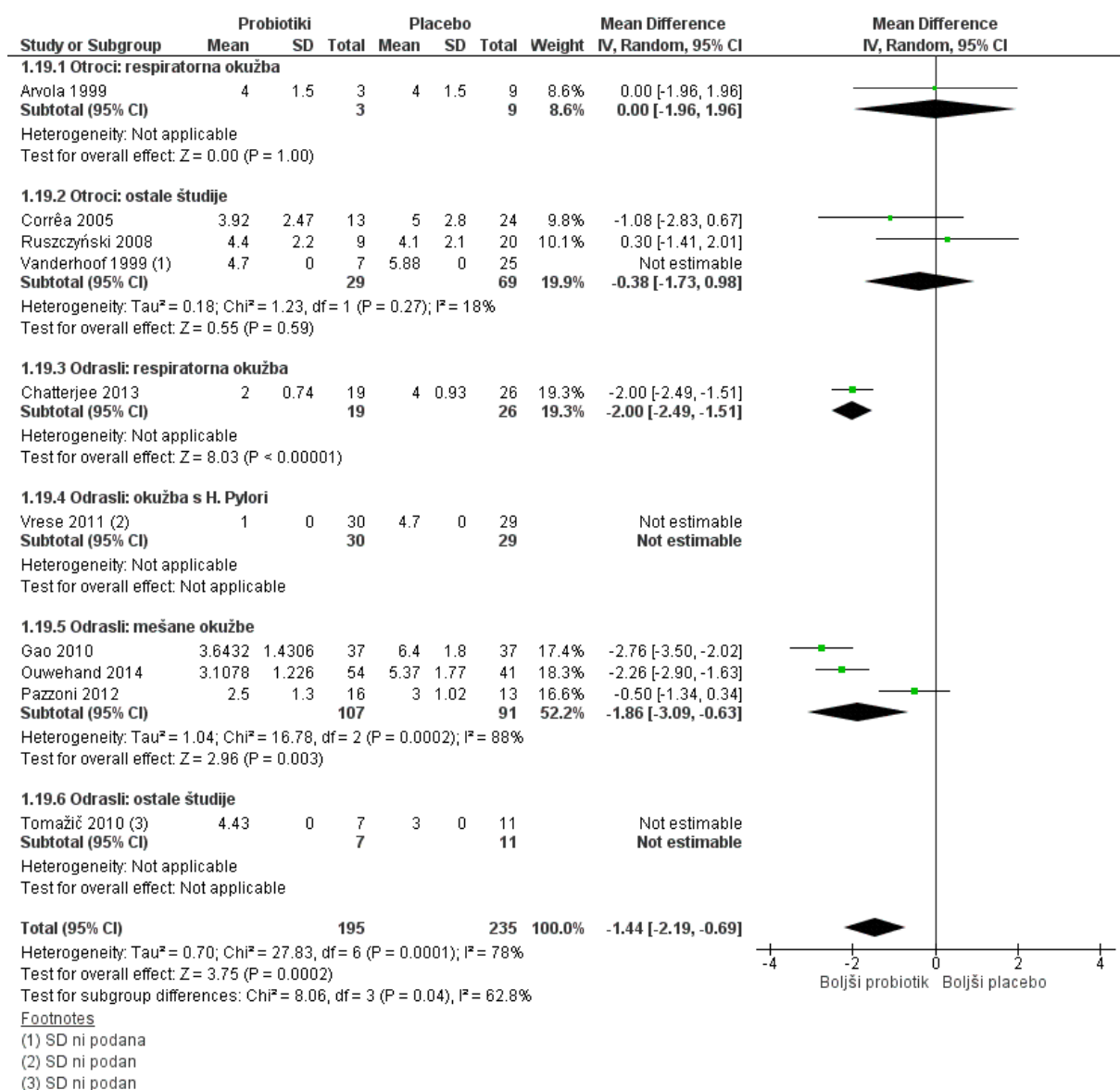
3. Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri trajanju diareje glede na dnevni odmerek



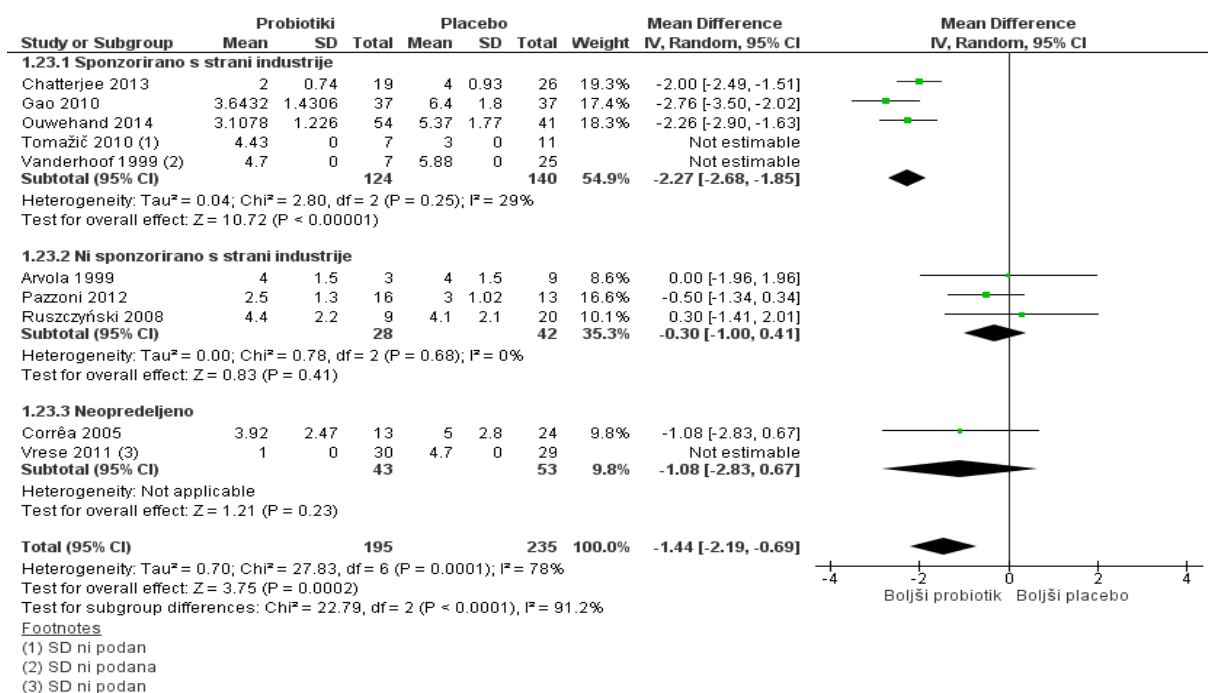
Footnotes

- (1) SD ni podan
(2) SD ni podan
(3) SD ni podana

4. Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri trajanju diareje glede na starost in okužbo

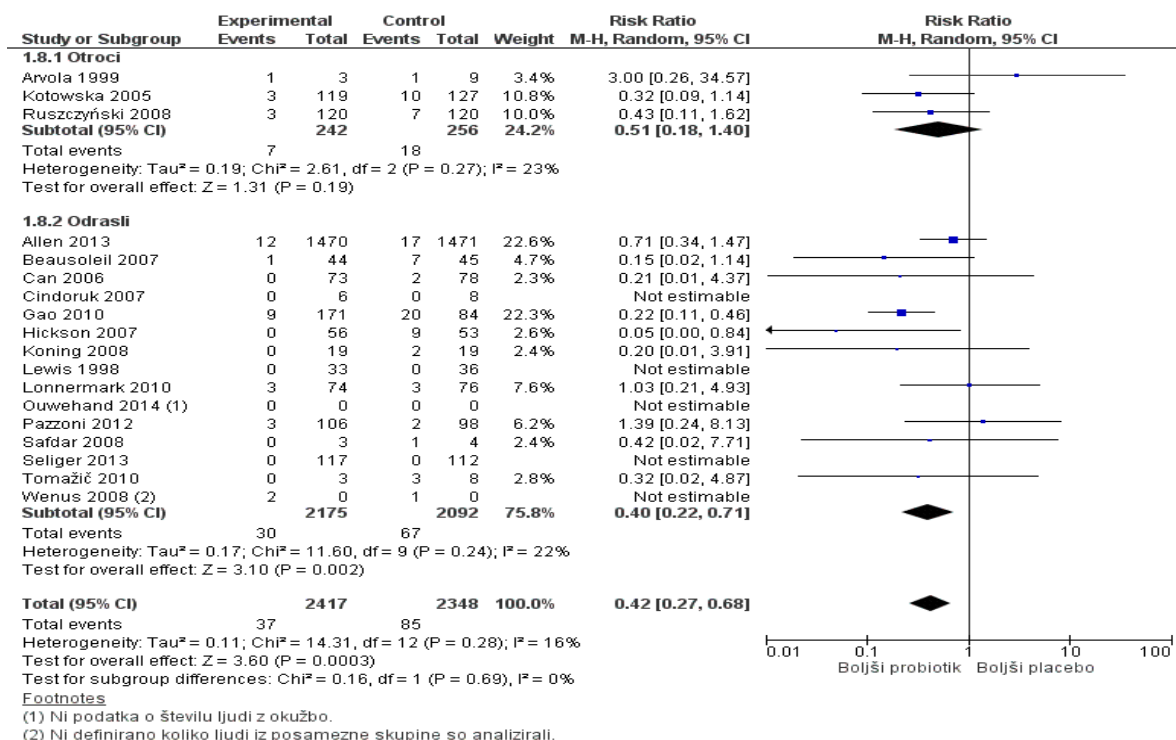


5. Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri trajanju diareje glede na sponzorstvo študije

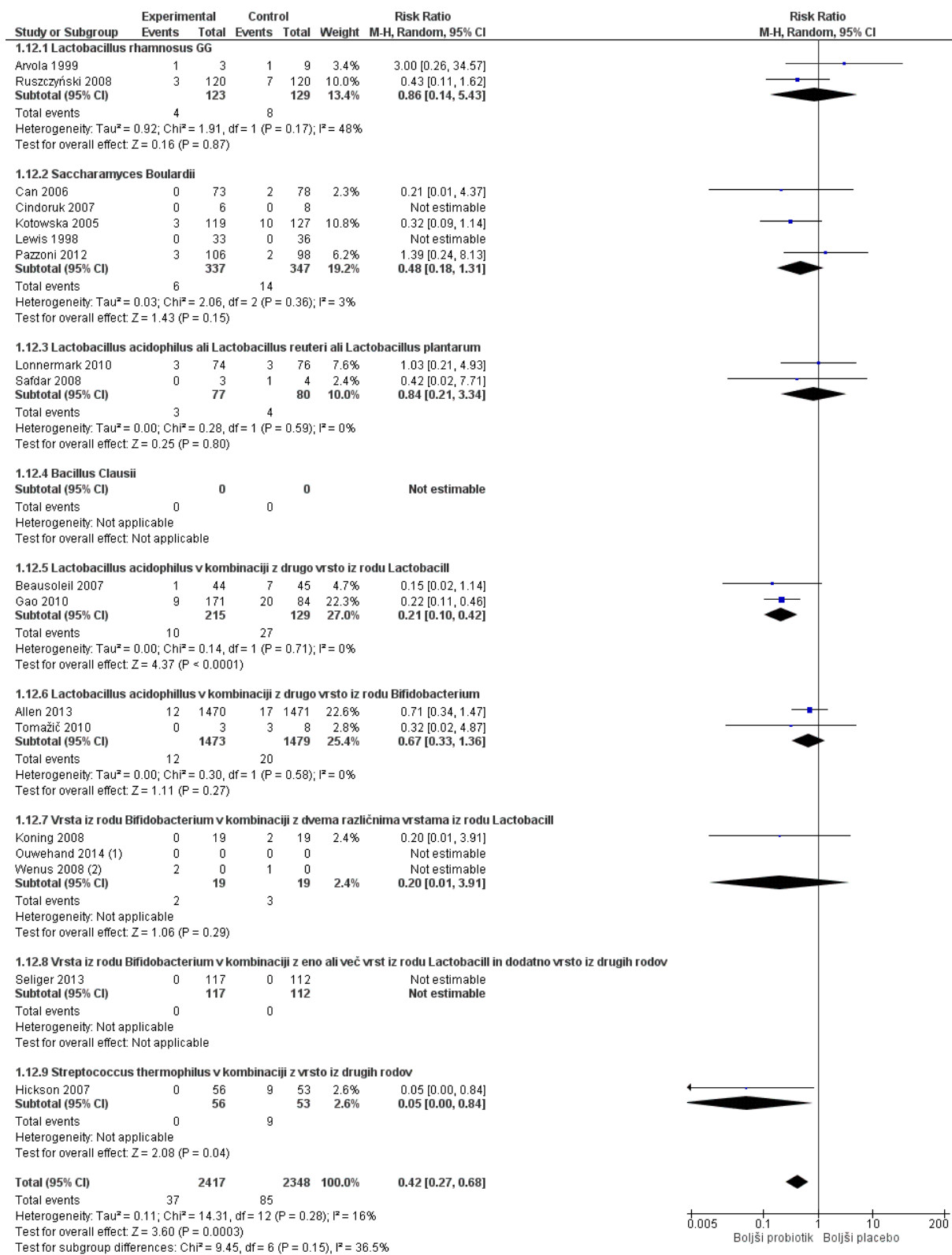


8.2.4 Pojavnost okužbe z bakterijo *Clostridium difficile*

1. Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri pojavnosti okužbe z bakterijo *Clostridium difficile* glede na starost



2. Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri pojavnosti okužbe z bakterijo *Clostridium difficile* glede na vrsto probiotika

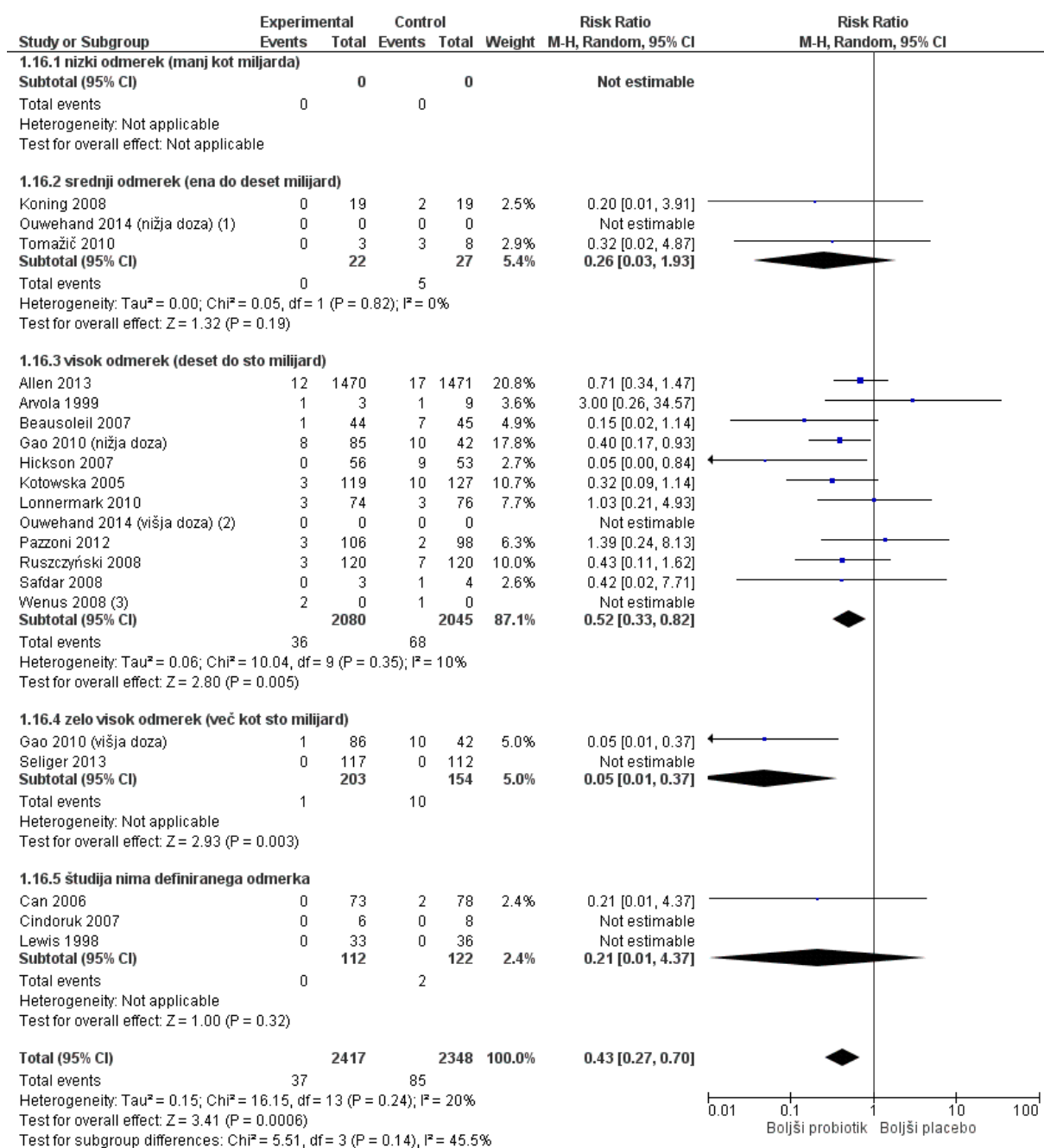


Footnotes

(1) Ni podatka o številu ljudi z okužbo.

(2) Ni definirano koliko ljudi iz posamezne skupine so analizirali.

3. Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri pojavnosti okužbe z bakterijo *Clostridium difficile* glede na dnevni odmerek



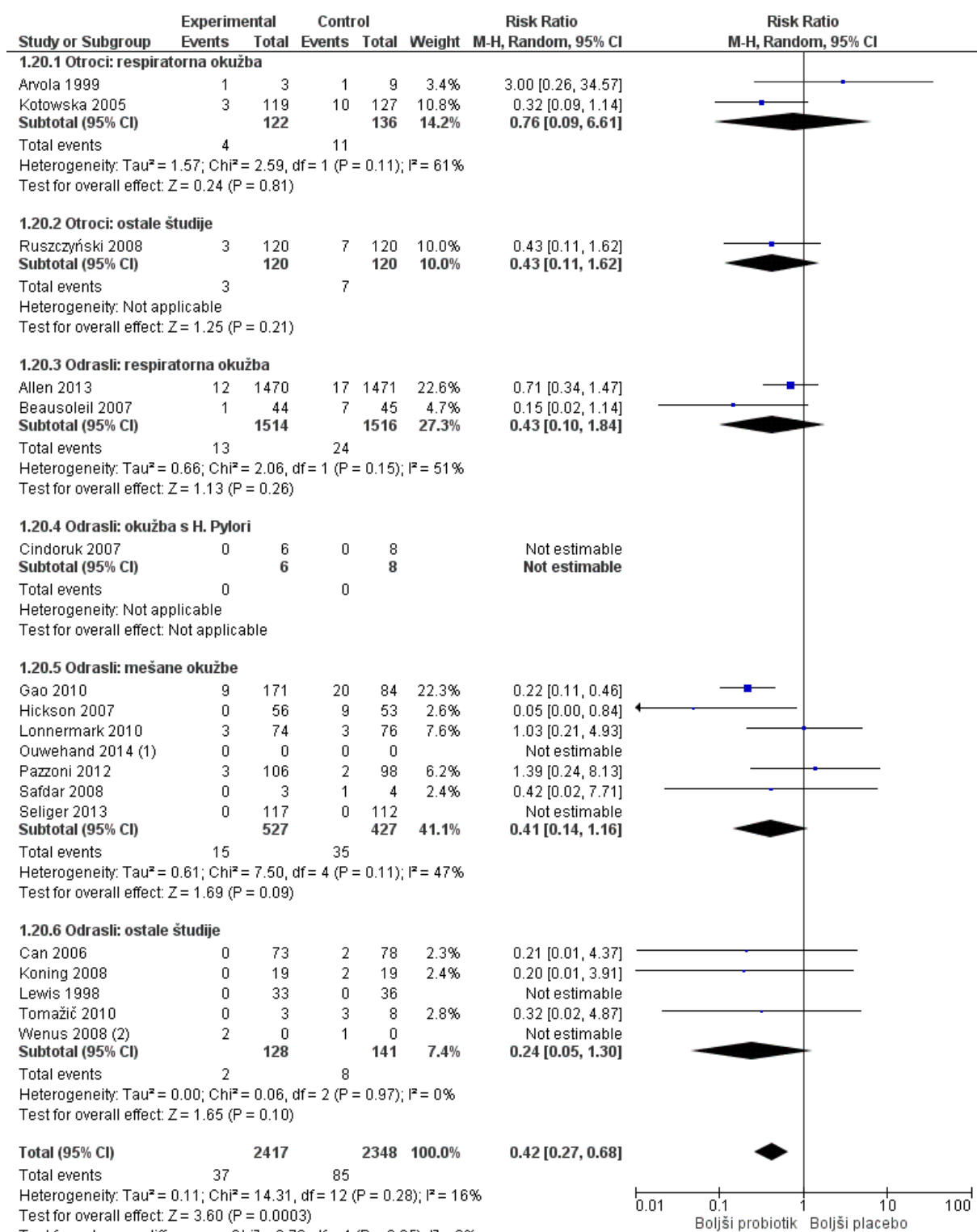
Footnotes

(1) Ni podatka o številu ljudi z okužbo.

(2) Ni podatka o številu ljudi z okužbo.

(3) Ni definirano koliko ljudi iz posamezne skupine so analizirali.

4. Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri pojavnosti okužbe z bakterijo *Clostridium difficile* glede na starost in okužbo

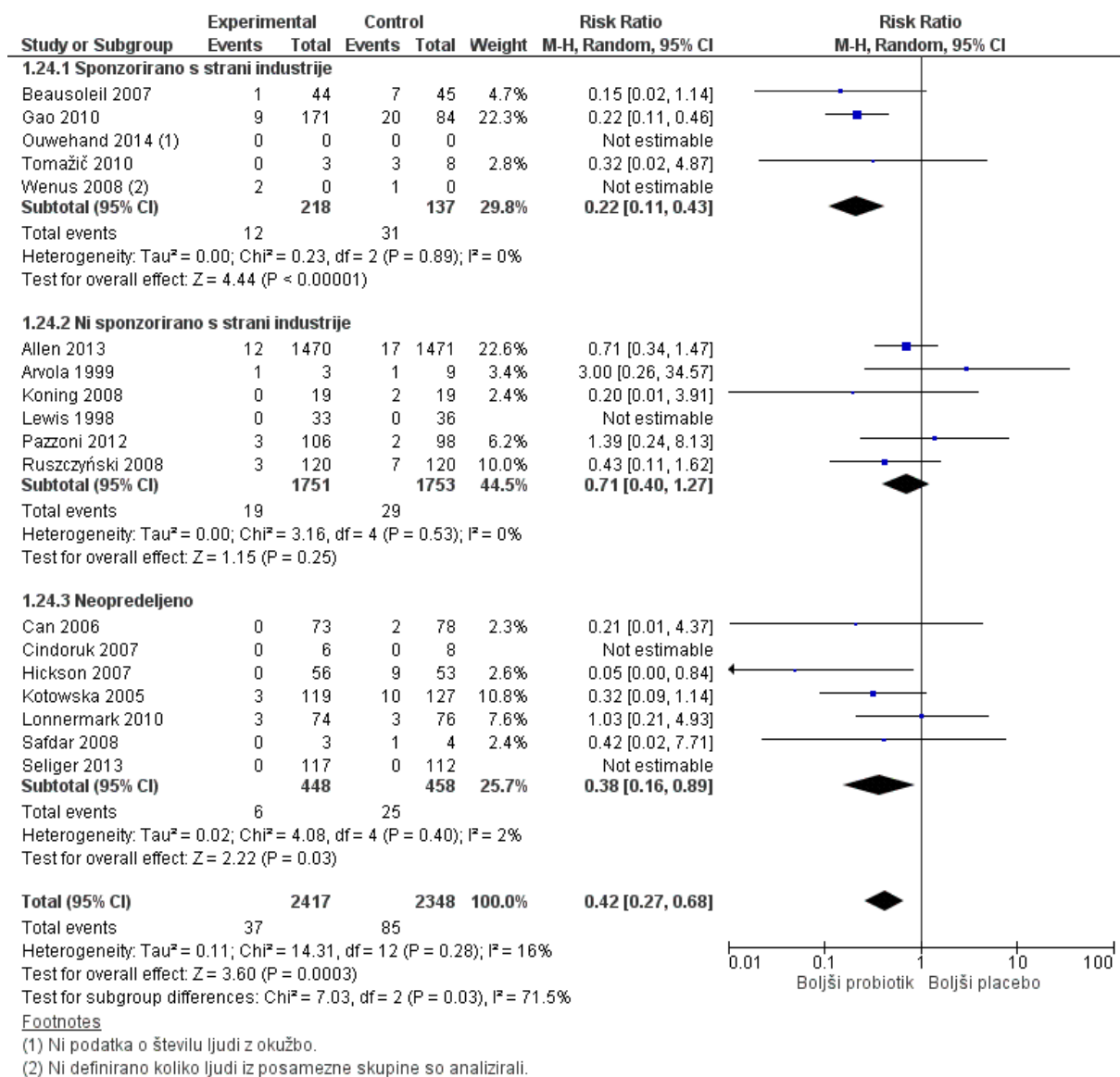


Footnotes

(1) Ni podatka o številu ljudi z okužbo.

(2) Ni definirano koliko ljudi iz posamezne skupine so analizirali.

5. Drevesni diagram prikaza učinka probiotikov v primerjavi s placebom pri pojavnosti okužbe z bakterijo *Clostridium difficile* glede na sponzorstvo študije



8.3 Priloga C: Pregled protimikrobnih učinkovin vključenih študij

AVTOR LETO	PREDPISANA PROTIMOKROBNA TERAPIJA
Allen 2013	penicilini, cefalosporini
Armuzzi 2001	klaritromicin, tinidazol
Arvola 1999	penicilin, amoksisilin, kefalosporin, eritromicin, trimetoprim
Beausoleil 2007	betalaktamski antibiotiki, kinoloni, makrolidi

AVTOR LETO	PREDPISANA PROTIMOKROBNA TERAPIJA
Can 2006	betalaktamski antibiotiki in drugi
Chatterjee 2013	cefadroksil, amoksicilin
Cimperman 2001	azitromicin, ceftriakson, moksifloksacin, vankomicin, drugi
Cindoruk 2007	klaritromicin, amoksicilin
Corrêa 2005	ampicilin, amoksicilin, cefalosporin, amoksicilin + klavulonska kislina, penicilin, oksacilin, drugi
Cremonini 2002	klaritromicin, tinidazol
Fox 2015	betalaktamski antibiotiki, tetraciklini, makrolidi
Gao 2010	penicilin, cefalosporin, klindamicin
Hickson 2007	Ni specificirano.
Koning 2008	amoksicilin
Kotowska 2005	cefuroksim aksetil, amoksicilin + klavulanska kislina, amoksicilin, penicilin, klaritromicin, roksitromicin , drugi
Lewis 1998	Ni specificirano.
Lonnermark 2010	klindamicin, cefalosporin, ampicilin
Merenstein 2009	Ni specificirano.
Nista 2004	klaritromicin, amoksicilin
Ouwehand 2014	penicilin, cefalosporin, klindamicin
Pazzoni 2012	ceftriakson, azitromicin, amoksicilin + klavulanska kislina, ciprofloksacin, levofloksacin, drugi
Ruszczyński 2008	penicilini, penicilini širokega spektra, cefalosporini, makrolidi , klindamicin
Safdar 2008	betalaktamski antibiotiki, fluorokinoloni, makrolidi
Selinger 2013	intravenski antibiotiki, penicilini, penicilini širokega spektra, cefalosporini, kinoloni, makrolidi, imidazoli, aminoglikozidi, drugi
Song 2010	cefalosporini, makrolidi, fluorokinoloni, klindamicin, penicilin, aminoglikozidi, metronidazol, sulfametoksazol, trimetoprim glukopeptidi
Szymański 2008	amoksicilin + klavulanska kislina, cefalosporini, penicilin, makrolidi, aminoglikozidi
Tomažič 2010	amoksicilin + klavulanska kislina
Vanderhoof 1999	amoksicilin, amoksicilin + klavulanska kislina, cefprozil, klaritromicin, drugi
Vrese 2011	klaritromicin, amoksicilin
Wenus 2008	betalaktamski antibiotiki

8.4 Priloga D: Preglednica metaanaliz podatkovne baze Cochrane library

NASLOV	LETO	VRSTA PROBIOTIKA	ŠTEVILO ŠTUDIJ	ŠTEVILO UDELEŽENCEV	VRSTA ŠTUDIJ	KOMPARACIJA
Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea	22.12. 2015	<i>Bacillus spp.</i> , <i>Bifidobacterium spp.</i> , <i>Clostridium butyricum</i> , <i>Lactobacilli spp.</i> , <i>Lactococcus spp.</i> , <i>Leuconostoc cremoris</i> , <i>Saccharomyces spp.</i> , ali <i>Streptococcus spp</i> (samostojno ali v kombinaciji)	23	3938 0 do 18 let	RCTs	placebo, alternativna aktivna profilaksa, brez kontrole
Probiotics for preventing ventilator-associated pneumonia	17.09. 2014	<i>Lactobacillus casei rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Synbiotic 2000FORTE</i> , <i>Ergyphilus</i> , kombinacija <i>Bifidobacterium longum</i> + <i>Lactobacillus bulgaricus</i> + <i>Streptococcus thermophilus</i>	8	1083 611 moških 378 žensk	RCTs	placebo ali druga kontrola
Probiotics for preventing acute upper respiratory tract infections	25.07. 2014	Ni specificirano.	12	3720 otroci, odrasli, starejši	RCTs	placebo
Probiotics for maintenance of remission in ulcerative colitis	04.07. 2011	Ni specificirano.	4	587	RCTs	1 študija placebo, 3 študije s mesalazinom.
Probiotics for induction of remission in ulcerative colitis	03.07. 2007	Ni specificirano.	Ni podatka.	Ni podatka.	RCTs	placebo ali ostali standardni medicinski pristopi (5-aminosalicilati, kortikosteroidi, sulfasalazin)
Probiotics for the treatment of bacterial vaginosis	31.12. 2008	Ni specificirano.	Ni podatka.	Ni podatka.	RCTs	placebo, placebo v primerjavi z antibiotiki
Probiotics for the prevention of Clostridium difficile -associated diarrhea in adults and children	21.02. 2013	Ni specificirano.	23	4492	RCTs	placebo, alternativna profilaksa, kontrola brez zdravljenja
Probiotics for preventing preterm labour	19.08. 2010	Ni specificirano.	3	344 žensk	RTCs	Ni podatka.
Probiotics for patients with hepatic encephalopathy	18.09. 2011	Vsaka študija je uporabila drug probiotik. Ni podatka o sevih.	7	550	RTCs	placebo v 4 študijah, laktuloza v 1 študiji, v preostalih 2 placebo in laktuloza
Probiotics for induction of remission in Crohn's disease	20.04. 2008	Ni specificirano.	1	11	RTCs	placebo
Probiotics for treating acute infectious diarrhoea	10.08. 2010	Ni specificirano.	63	8014 večinoma dojenčki in otroci	RTCs	placebo ali brez zdravljenja
Probiotics for treating eczema	27.04. 2008	Različni sevi iz rodu laktobacilov.	12	781 otroci	RTCs	placebo

NASLOV	LETO	VRSTA PROBIOTIKA	ŠTEVILO ŠTUDIJ	ŠTEVILO UDELEŽENCEV	VRSTA ŠTUDIJ	KOMPARACIJA
Probiotics for treating persistent diarrhoea in children	13.12. 2012	Ni specificirano.	4	464	RTCs	placebo ali brez kontrole
Probiotics for maintenance of remission in Crohn's disease	24.07. 2006	<i>Lactobacilli GG, Escherichia coli sev Nissle 1917, VSL#3, Saccharomyces boulardii.</i>	7	Ni specificirano.	RTCs	placebo
Probiotics for treatment of Clostridium difficile -associated colitis in adults	24.10. 2007	<i>Saccharomyces boulardii</i> in drugi.	4	Ni specificirano.	RTCs	placebo
Probiotics for non-alcoholic fatty liver disease and/or steatohepatitis	12.11. 2006	Ni podatka.	Ni podatka.	Ni podatka.	Ni podatka.	Ni podatka.
Probiotics in infants for prevention of allergic disease and food hypersensitivity	15.06. 2007	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> in drugi.	12	3026 dojenčki	RTCs	placebo
Methods of preventing bacterial sepsis and wound complications after liver transplantation	09.02. 2013	Ni specificirano. Omenjen je laktobacil.	7	614	RTCs	4 študije s placebom ali brez kontrole, aktivni laktobacil z vlakninami (probiotiki+prebiotiki) z neaktivnim laktobacilom s prebiotiki, primerjava probiotik+prebiotik s samostojnim prebiotikom
Probiotics for preventing gestational diabetes	31.08. 2013	Ni specificirano.	1	256	RTCs	probiotik+prehranska terapija, placebo+prehranska terapija, prehranska terapija
Enteral nutrition formulations for acute pancreatitis	28.02. 2014	Ni specificirano.	15	1376	RTCs	Ni podatka.
Interventions for treating collagenous colitis	02.01. 2008	Ni specificirano.	10	Ni podatka.	RTCs	Ni podatka.
Oral lactoferrin for the prevention of sepsis and necrotizing enterocolitis in preterm infants	06.09. 2014	Ni specificirano. Laktoferin in probiotiki v kombinaciji z laktoferinom.	4	1103 nedonošenčkov	RTCs	Ni podatka.
Interventions for prevention of post-operative recurrence of Crohn's disease	31.01. 2009	Ni specificirano.	23	Ni podatka.	RTCs	placebo
Treatment and prevention of pouchitis after ileal pouch-anal anastomosis for chronic ulcerative colitis	04.10. 2009	<i>VSL#3 Lactobacillus GG</i>	11	Ni podatka.	RTCs	placebo
Antibiotic treatment for Clostridium difficile -associated diarrhea in adults	12.10. 2010	Ni specificirano.	15	1152	RTCs	placebo

NASLOV	LETO	VRSTA PROBIOTIKA	ŠTEVILO ŠTUDIJ	ŠTEVILO UDELEŽENCEV	VRSTA ŠTUDIJ	KOMPARACIJA
Dietary supplements for established atopic eczema	08.07. 2010	Ni specificirano.	11	596	RTCs	placebo
Interventions for preventing recurrent urinary tract infection during pregnancy	20.05. 2015	Ni specificirano.	1	200 nosečih žensk	RTCs	placebo
Methods of decreasing infection to improve outcomes after liver resections	18.08. 2011	Ni specificirano.	7	521	RTCs	Ni podatka.
Dietary interventions for recurrent abdominal pain (RAP) and irritable bowel syndrome (IBS) in childhood	01.12. 2006	Članek je trenutno umaknjen zaradi posodabljanja podatkov.	/	/	/	/
Nutritional interventions for reducing gastrointestinal toxicity in adults undergoing radical pelvic radiotherapy	16.05. 2012	Probiotiki so bili izključeni iz študije.	/	/	/	/
The effects of antimicrobial therapy on bacterial vaginosis in non-pregnant women	04.12. 2007	Laktobacili v kombinaciji z antibiotiki.	24	4422 žensk	RTCs	placebo
Interventions for prevention and treatment of vulvovaginal candidiasis in women with HIV infection	17.11. 2010	Laktobacili v kombinaciji z antibiotiki.	2	Ni podatka.	RTCs	placebo