Pronalaženje dokaza o djelotvornosti i sigurnosti probiotika u prevenciji proljeva povezanih s antibioticima u djece

Matas, Martina

Master's thesis / Diplomski rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:582638

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

I

MEDICINSKI FAKULTET

Martina Matas

PRONALAŽENJE DOKAZA O DJELOTVORNOSTI I SIGURNOSTI PROBIOTIKA U PREVENCIJI PROLJEVA POVEZANIH S ANTIBOTICIMA, U DJECE: „SUSTAVNI“ PREGLED LITERATURE

Diplomski rad

Akademska godina: 2015/16.

Mentor:

izv. prof. dr. sc. Darko Modun

Split, ožujak 2016.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

I

MEDICINSKI FAKULTET

Martina Matas

PRONALAŽENJE DOKAZA O DJELOTVORNOSTI I SIGURNOSTI PROBIOTIKA U PREVENCIJI PROLJEVA POVEZANIH S ANTIBOTICIMA, U DJECE: „SUSTAVNI“ PREGLED LITERATURE

Diplomski rad

Akademska godina: 2015/16.

Mentor:

izv. prof. dr. sc. Darko Modun

Split, ožujak 2016.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Kemijsko-tehnološki fakultet i Medicinski fakultet
Integrirani preddiplomski i diplomski studij FARMACIJA
Sveučilište u Splitu, Republika Hrvatska

Znanstveno područje: Biomedicinske znanosti
Znanstveno polje: Farmacija
Nastavni predmet:
Tema rada je prihvaćena na sjednici Vijeća studija Farmacija te potvrđena na sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko tehnološkog fakulteta i sjednici fakultetskog vijeća Medicinskog fakulteta
Mentor: izv. prof. dr. sc. Darko Modun
Pomoć pri izradi:

PRONALAŽENJE DOKAZA O DJELOTVORNOSTI I SIGURNOSTI PROBIOTIKA U PREVENCIJI PROLJEVA POVEZANIH S ANTIBOTICIMA, U DJECE: „SUSTAVNI“ PREGLED LITERATURE

Martina Matas, broj indeksa: 14

Sažetak:

Cilj istraživanja: Pronaći najbolje dostupne dokaze o sigurnosti i učinkovitosti probiotika u prevenciji proljeva u djece povezanih s antibioticima.

Materijal i metode: Na stranici Cochrane knjižnice je pronađen sustavni pregled „Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea“ koji je bio okosnica daljnjeg istraživanja. Dalje su pretražene baze podataka MEDLINE (PubMed), DARE i CENTRAL u potrazi za novim randomiziranim kontoliranim pokusima i sustavnim pregledima, a prema ulaznim i izlaznim kriterijima navedenima u Cochrane sustavnom pregledu. Nakon pretraživanja literature napravljena je procjena kvalitete Cochrane sustavnog pregleda i novih pronađenih sustavnih pregleda pomoću R-AMSTAR ljestvice.

Rezultati: Prema Cochrane sustavnom pregledu rezultati analiza pokazuju da probiotici mogu biti djelotvorni u prevenciji proljeva povezanih s antibioticima (eng. antibiotic-associated diarrhea, AAD) (RR 0.52, 95%CI 0.38 - 0.72, I2 = 56%). Nakon ITT analize osjetljivosti koja je provedena koristeći random-effect modele, korist probiotika u prevenciji AAD nije bila statistički značajna (RR 0.81, 95% CI 0.63 - 1.04, I2 = 59%) dok je analiza osjetljivosti podgrupe bila granično značajna za probiotike visokih doza. U nijednoj od 11 studija koje su prijavile nuspojave nisu zabilježene nikakve ozbiljne nuspojave. Pronađene su i 3 nove studije u kojima se jasno navodi postojanje signifikantne razlike između skupina s probiotikom i kontrolnih skupina. Rezultati dviju studija nedvojbeno ističu djelotvornost probiotika u prevenciji i smanjenju rizika od AAD (RR = 0.419, 95% CI 0.217 - 0.808; P = 0.008). U trećoj studiji rezulati su pokazali da su probiotici osim u prevenciji djelotvorni i u terapiji AAD skraćujući trajanje proljeva (P<0.001) i smanjujući učestalost stolice (P<0.05). U 2 od 3 studije nisu zapažene nuspojave povezane s primjenom probiotika dok su u trećoj studiji nuspojave bile rijetke i blage. Noviji Cochrane sustavni pregled donosi dokaze umjerene kvalitete koji potvrđuju da probiotici mogu biti djelotvorni u prevenciji AAD (RR 0.46, 95% CI 0.35 - 0.61). Uporaba sojeva Lactobacillus rhamnosus ili Saccharomyces boulardii u dozi od 5 - 40 bilijuna CFU/dan može biti opravdana s obzirom na skroman broj osoba koje treba liječiti (engl. Number needed to treat, NNT) od 10 i malu vjerojatnost nuspojava. U inače zdrave djece nisu zapažene ozbiljne nuspojave, ali su se one javljale kod ozbiljno oslabljene, imunokompromitirane ili djece koja su koristila centralni venski kateter. U oba Cochrane sustavna pregleda zaključeno je da je prerano za donošenje zaključaka o djelotvornosti i sigurnosti drugih probiotskih pripravaka za pedijatrijski AAD. Prvi Cochrane sustavni pregled je prema R-AMSTAR procjeni ocijenjen sa 37, a drugi sa 35 bodova.

Zaključak: Na temelju pregledanih sustavnih pregleda i randomiziranih kontroliranih pokusa nema dovoljno podataka o djelotvornosti i sigurnosti primjene probiotika za prevenciju proljeva povezanih antibioticima, u djece.

Ključne riječi: antibiotici, probiotici, proljev, djeca

Rad sadrži: 110 stranica, 6 slika, 2 tablice, 118 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. - predsjednik
2. - član
3. - član-mentor

Datum obrane: 31.03.2016.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 35 i Medicinskog fakulteta Split, Šoltanska 2.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

Faculty of Chemistry and Technology and School of Medicine
Integrated Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy
University of Splitu, Croatia

Scientific area: Biomedical sciences
Scientific field: Pharmacy
Course title:
Thesis subject was approved by Council of Integrated Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy, session no. as well as by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. and Faculty Council of School of Medicine, session no.

Mentor: izv. prof. dr. sc. Darko Modun
Technical assistence: :

Finding the evidence about efficacy and safety of probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea: systematic review

Martina Matas, index number: 14

Summary:

Diploma Thesis Title: Finding the evidence about efficacy and safety of probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea: systematic review approach

Objectives: Finding the best available evidence of efficacy and safety of probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea.
Material and Methods: „Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea“ systematic review was found by searching the Cochrane Library website. Further, MEDLINE (PubMed), DARE and CENTRAL databases were searched in order to find new randomised controlled trials and systematic reviews, following the same criteria that were used in Cochrane systematic review. After the search for studies was done, we made quality assessment of all systematic reviews using R-AMSTAR tool.

Results: According to the Cochrane systematic review, the results of the analysis indicate that probiotics may be effective in preventing AAD (RR of 0.52, 95% CI 00:38 - 0.72, I2 = 56%). After ITT sensitivity analysis that was conducted using random-effect models, the benefit of probiotics in preventing AAD was not statistically significant (RR 0.81, 95% CI 0.63 - 1.04, I2 = 59%) while the ITT subgroup analysis was marginally significant for high dose probiotics. None of the 11 trials that reported on adverse events documented any serious adverse events. We found 3 new RCTs which clearly state the existence of significant differences between the groups with probiotic and control groups. Results of two studies undeniably highlight the effectiveness of probiotics in preventing and reducing the risk of AAD (RR = 0.419, 95% CI 0.217 - 0.808; P = 0.008). In a third study, results show that probiotics are effective in the prevention and treatment of diarrhoea and AAD shortening the duration of diarrhea (P <0.001) and reducing the frequency of stools (P <0.05). In 2 of 3 studies no adverse events associated with the use of probiotics were observed while the third studie reported some miled and rare adverse events. More recent Cochrane systematic review provides evidence of moderate quality that confirmed that probiotics may be effective in preventing AAD (RR 0.46, 95% CI 0.35 - 0.61). Lactobacillus rhamnosus or Saccharomyces boulardii at 5 to 40 billion CFU/day may be appropriate given the modest NNT and the likelihood that adverse events are very rare. Although no serious adverse events were observed among otherwise healthy children, serious adverse events have been observed in severely debilitated or immuno-compromised children with underlying risk factors including central venous catheter useas. Both Cochrane systematic reviews concluded that it is premature to draw conclusions about the efficacy and safety of other probiotic agents for pediatric AAD. Total R-AMSTAR score for the first Cochrane systematic review was 37 and for the second 35.

Conclusion: Based on the reviewed systematic reviews and randomized controlled trials, there is no enough evidence supporting efficacy and safety of probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea.

Key words: antibiotics, probiotics, diarrhea, children

Thesis contains: 110 pages, 6 figures, 2 tables, 118 references

Original in: Croatian

Defence committee:

1.	- PhD, associate prof	chair person
2.	- PhD, full prof.	member
3.	- PhD- associate prof	supervisor

Defence date: 31.03.2016.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposed in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35 and Library of School of Medicine, Šoltanska 2.

SADRŽAJ

1. UVOD 2

1.1. Crijevna mikroflora 3

1.2. Razvoj crijevne mikroflore 4

1.3. Uloga i fukcije crijevne mikroflore 6

1.4. Utjecaj antibiotika na crijevnu mikrofloru 8

1.5. Proljev poveznan s antibioticima 9

1.6. Mehanizam nastanka proljeva povezanog s antibioticima 10

1.7. Probiotici 11

2. CILJ ISTRAŽIVANJA 14

3. MATERIJALI I METODE 16

3.1. Kriteriji odabira studija za Cochrane sustavni pregled 18

3.2. Metode pretraživanja za identifikaciju studija 19

3.3. Prikupljanje i analiza podataka 20

3.4. Procjena kvalitete sustavnih pregleda 23

4. REZULTATI 30

4.1. Rezultati Cochrane sustavnog pregleda 31

4.2. Pretraživanje literature objavljene nakon Cochrane sustavnog pregleda 68

4.3. R-AMSTAR procjena sustavnih pregleda 77

5. RASPRAVA 78

6. ZAKLJUČCI 82

7. POPIS CITIRANE LITERATURE 84

8. SAŽETAK 95

9. SUMMARY 98

10. POPIS KRATICA 101

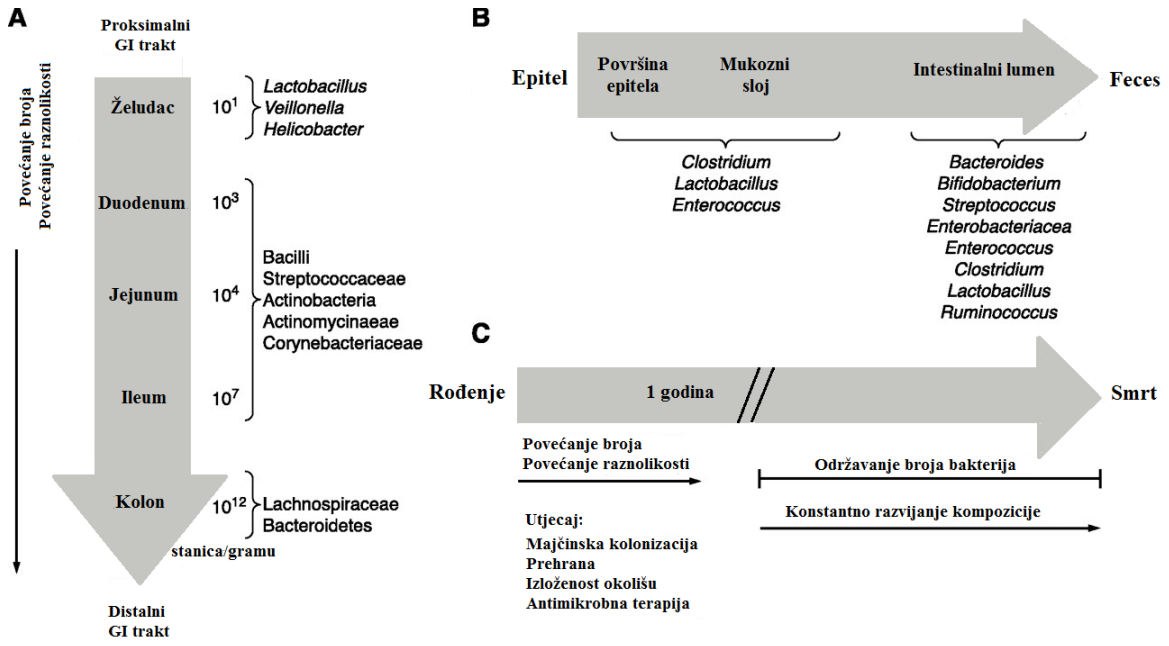
11. ŽIVOTOPIS 103

1. UVOD

1.1. Crijevna mikroflora

Gotovo svi višestanični organizmi žive u bliskoj povezanosti s mikroorganizmima koji ih okružuju, a ljudi nisu iznimka (1). Velika većina površine ljudskog tijela koja je izložena okolišu ima vlastiti mikrobiološki sastav s različitim vrstama mikroorganizama i funkcijama koje se uz njih vezuju (2). Skup mikroorganizama koji žive u mirnoj koegzistenciji sa svojim domaćinima naziva se mikrobiom, mikroflora ili normalna flora (3). Mikroorganizmi tako nastanjuju kožu, gastrointestinalni, urogenitalni i respiratorni trakt (4). Daleko najkoloniziraniji organ su crijeva; procjenjuje se da sam kolon sadrži preko 70% svih mikroorganizama prisutnih u ljudskom tijelu (5).

Ljudski crijevni mikrobiom složen je ekosustav koji uključuje najmanje 10^{14} bakterija (oko 1,5 kg odnosno oko 10 puta više od broja ljudskih stanica u tijelu), a sadržava 150 puta više gena od čovjekovog genoma (6), uključujući do 2000 vrsta, s prevlašću anaerobnih bakterija, a također i drugih mikroorganizama kao što su virusi, kvasci i bakteriofagi (7). Međutim, crijevni mikrobiom u ljudi nije homogen. Dokazano je da se veličina i raznolikost mikrobioma povećavaju distalno od gornjeg prema donjem dijelu gastrointestinalnog trakta. Tako se broj bakterija kreće od 10^1 do 10^3 bakterija po gramu sadržaja u želucu i doudenumu povećavajući se na 10^4 do 10^7 bakterija po gramu sadržaja u jejunumu i ileumu i kulminirajući sa 10^{11} do 10^{12} stanica po gramu sadržaja u kolonu (8). Dodatno, mikrobna kompozicija varira od mjesta do mjesta . Anaerobi su za nekoliko redova veličine u većem izobilju od aeroba u bakterijskoj zajednici, a većinu bakterija (60% - 90%) čine predstavnici 2 reda: *Bacteroidetes* i *Firmicutes* (9, 10), dok su *Proteobacteria, Verrucomicrobia, Actinobacteria, Fusobacteria* i *Cyanobacteria* prisutne u manjim količinama kao što je prikazano na Slici 1 (11).



Slika 1. Prostorni i vremenski aspekti sastava crijevne mikroflore. A: varijacije u broju mikroorganizama i sastavu po dužini gastrointestinalnog trakta. B: uzdužne varijacije u sastavu mikroba u crijevima. C: vremenski aspekti mikrobioma; uspostava, održavanje i čimbenici koji utječu na mikrobiološki sastav (1).

1.2. Razvoj crijevne mikroflore

Razvoj crijevne mikroflore prvenstveno se događa tijekom djetinjstva i pod utjecajem je mnogih čimbenika, uključujući prenatalnu izloženost, gestacijsku dob, način poroda, vrstu hranjenja, prebiotike, probiotike, antibiotike i genetiku domaćina (12). Crijevna mikroflora započinje se razvijati puno prije samog rođenja. Suprotno dosadašnjim vjerovanjima, amnionska tekućina nije sterilna (13). U nekim je slučajevima bakterijska prisutnost u amnionskoj tekućini povezana s bolestima, a trudnice s vaginalnim infekcijama češće prerano rađaju. Ipak, bakterijska prisutnost u aminionskoj tekućini i placenti potvrđena je i kod potpuno zdrave dojenčadi rođene na vrijeme (14, 15).

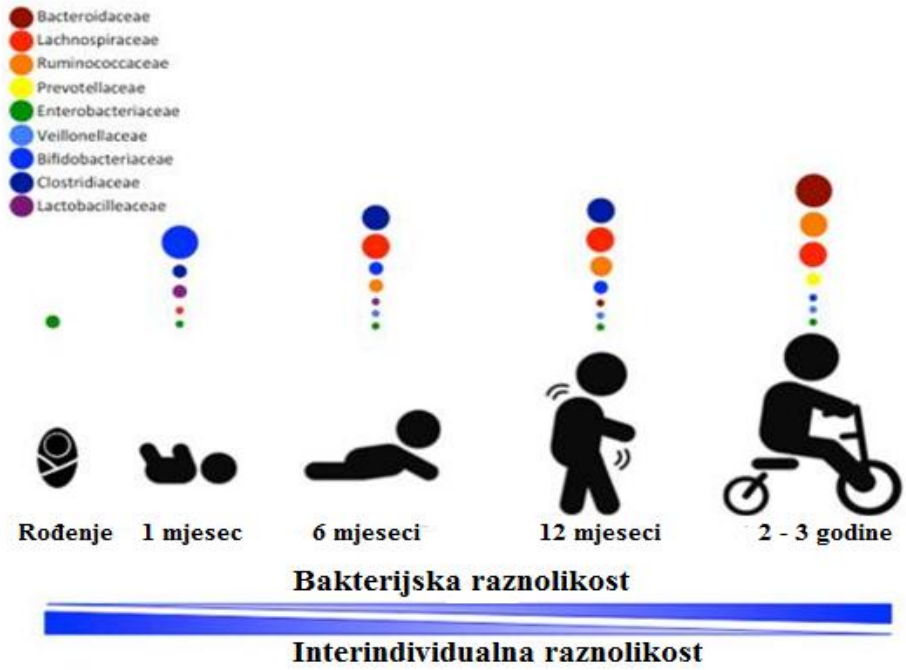
Nakon prolaska kroz porođajni kanal djeca su izložena kompleksnoj mikrobnoj populaciji (1). Dokaz, da trenutačan kontakt s mikrobima tijekom porođaja može utjecati na razvoj crijevne mikroflore djece, proizlazi iz činjenice da fekalna bakterijska kompozicija vaginalno porođene djece najviše sliči vaginalnoj bakterijskoj zajednici majki, s dominantnim vrstama kao što su *Lactobacillus*, *Prevotella* i *Atopobium*. Suprotno, fekalna bakterijska

kompozicija djece porođene carskim rezom bila je najsličnija sastavu majčine kože, s prevlašću vrsta *Staphylococcus* i *Corynebacterium*. Stoga, početna je kolonizacija određena prvim mikrobima s kojima se dijete susreće, bilo onima s majčine kože, vagine ili fecesa (16).

Crijevo novorođenčeta pri rođenju je aeroban okoliš u kojem samo fakultativni anaerobi, kao što su članovi obitelji *Enterobacteriaceae,* mogu rasti. U samo nekoliko dana, međutim, crijevni lumen postaje anaeroban, omogućujući kolonizaciju strogim anaerobima, kao što su *Bifidobacterium, Clostridium i Bacteroides* (17).

Tijekom prvih nekoliko tjedana, mikroflora crijeva novorođenčeta nalikuje majčinoj koži i vaginalnoj mikroflori, a prevladavaju *Enterococcaceae, Streptococcaceae, Lactobacillaceae, Clostridiaceae i Bifidobacteriaceae*. Tijekom prvih nekoliko mjeseci, prehrana djeteta gotovo isključivo je mlijeko, što omogućava napredovanje oligosaharidnim fermentorima mlijeka, kao što je *Bifidobacterium*. Uvođenje krute hrane obilježava još jednu brzu i značajnu promjenu u crijevnom mikrobiomu. Uvođenje raznih hranjivih tvari, od kojih su mnoge polisaharidi koje ne mogu probaviti enzimi domaćina, aktivira povećanje brojnosti vrsta *Bacteroides, Clostridium, Ruminococcus* i smanjenje *Bifidobacterium* i *Enterobacteriaceae* (18, 19). U sljedećih 12-30 mjeseci, crijevna mikroflora djeteta napreduje, postaje nalik mikroflori odrasle osobe i obiluje mikroorganizmima kao što su *Ruminococcaceae, Lachnospiraceae, Bacteroidaceae* i *Prevotellaceae* (20).

Raznolikost crijevnog mikrobioma je relativno jednostavna u dojenčadi, ali postaje sve složenija sa starenjem i doseže visok stupanj složenosti u odraslih (21). Do 1. godine starosti, crijevna mikroflora djeteta nalikuje složenom uzorku kakvog nalazimo u odrasla čovjeka (22). Ponašanje djece u prve 3 godine života jasno promiče značajnu izloženost mikrobima: hranjenje izravno s majčine kože, stalno uvođenje ruku, nogu i drugih objekata u usta, kontakt ruku s podnim površinama, posebno tijekom puzanja i rane faze hodanja. Mikroflora djece do 3. godine starosti znatno oscilira i više je osjetljiva na faktore okoliša, nego mikroflora odraslih (19). Dob je glavni pokretač razlika crijevne mikroflore u nekoliko studija na ljudima (20). Međutim, dok u crijevnoj mikroflori djece dominira manji broj bakterijskih vrsta, interindividualna varijabilnost u ovoj dobnoj skupini značajno je veća nego u odraslih (Slika 2) (23).



Slika 2. Stadiji mikrobne kolonizacije crijeva novorođenčeta i djeteta (17).

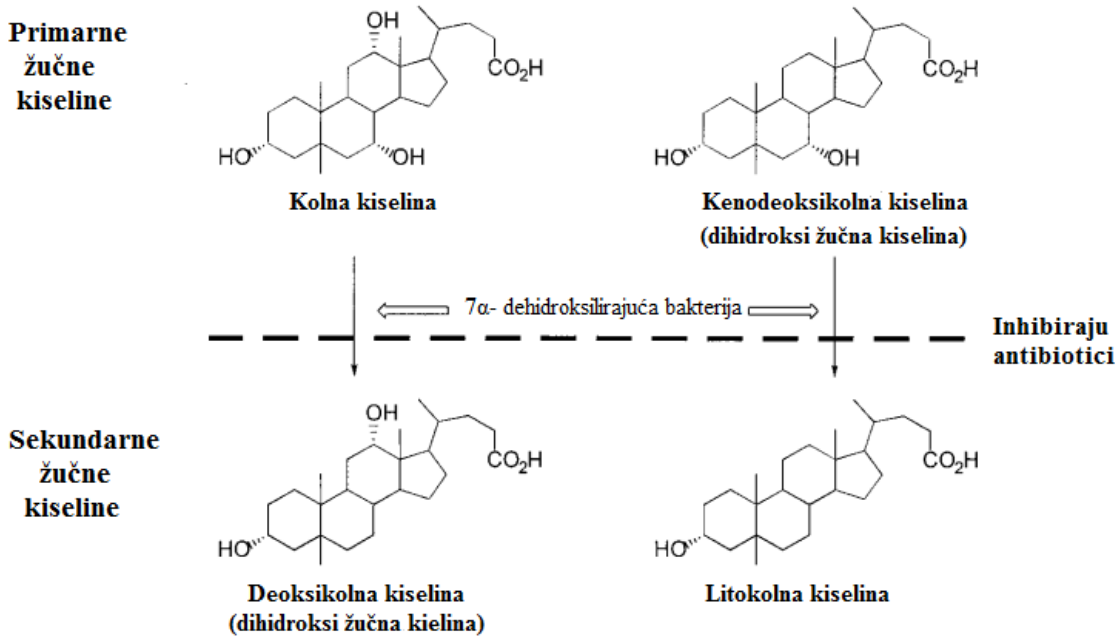
1.3. Uloga i funkcije crijevne mikroflore

Interakcija između domaćina i njegove mikroflore bitno doprinosi cjelokupnom zdravlju. Crijevna mikroflora uključena je u mnogobrojne funkcije kao što su:

- metabolizam i apsorpcija inače neprobavljivih ugljikohidrata i kratkolančanih masnih kiselina, lijekova i ksenobiotika
- regulacija mnogih metaboličkih putova
- održavanje epitelnog integriteta jer adhezijom na sluznicu djeluje kao barijera protiv patogena
- modulacija gastrointestinalne pokretljivosti
- stimulacija i sazrijevanje sustavnog i imuniteta sluznice (enterički imunološki sustav)
- proizvodnja esencijalnih metabolita poput vitamina K i drugih mikronutrijenata (24, 25).

Otprilike 70 g ugljikohidrata dnevno dođe do kolona zdrave osobe. Složene ugljikohidrate kolon ne može apsorbirati, slabo se probavljaju u ljudskom probavnom sustavu pa je za njihovu razgradnju potrebna prisutnost crijevnih bakterija koje ih metaboliziraju do izvora energije. Anaerobni metabolizam dovodi do nastanka mliječne kiseline i kratkolančanih masnih kiselina kao što su acetat, butirat i propionat koje se u kolonu lako

apsorbiraju. Najučinkovitiji organizmi u proizvodnji kratkolančanih masnih kiselina su *Firmicutes* poput *Clostridium* vrste i *Bifidobacterium* vrste. Kratkolančane masne kiseline važan su izvor energije za epitel kolona i domaćina, zadovoljavajući otprilike 5-15% ljudskih potreba za energijom. Primarne žučne kiseline koje se ne apsorbiraju u tankom crijevu dekonjugiraju se i dehidroksiliraju do sekundarnih žučnih kiselina uz pomoć bakterija koje nastanjuju kolon (Slika 3) (26, 27).



Slika 3. Metabolizam primarnih žučnih kiselina (26).

U zdravom organizmu, crijevna je barijera u stanju zadovoljiti takve potrebe. Organizirana je kao višeslojni sustav, koji se sastoji od dvije glavne komponente: fizičke površinske barijere, koja sprječava bakterijsku adheziju i regulira međustanično širenje na tkiva domaćina i duboko funkcionalne barijere, koja je u stanju razlikovati patogene i komenzalne mikroorganizme, organizirajući imunološku toleranciju i imunološki odgovor na patogene (28).

Ravnoteža između crijevne mikroflore i domaćina održava se putem nekoliko mehanizama, kao što su crijevna sekrecija (želučana kiselina, žučne soli, mukozni imunoglobulini), barijera sluznice, intestinalna pokretljivost, sistemska i sluznična imunost , interakcija između različitih sojeva bakterija i drugi (28).

Mnogi čimbenici kao što su starenje, nezdrava prehrana, lijekovi (npr. steroidi, inhibitori protonske pumpe ili antibiotici) i neke (gastrointestinalne, krvožilne, infektivne i neurološke) bolesti mogu slomiti takvu homeostazu. Kvalitativne i kvantitativne promjene crijevne mikroflore mogu uzrokovati disbiozu i dovesti do bolesti povezanih s crijevnom mikroflorom. Promjene crijevne mikroflore mogu dovesti do različitih bolesti kao što su: upalne bolesti crijeva, alergije i netolerancije na hranu, rak, pretilost i metabolički sindrom, astma, bolesti jetre i bolesti kao što je sindrom iritabilnog crijeva (4, 29).

1.4. Utjecaj antibiotika na crijevnu mikrofloru

Ekološka ravnoteža između ljudskog domaćina i mikroorganizama može biti ometana putem nekoliko čimbenika, a najdramatičnije primjenom antimikrobnih lijekova (30).

Uporaba antibiotika kontinuirano raste tijekom proteklog desetljeća; oni su trenutno među najpropisivanijim lijekovima u svijetu (31, 32). Antibiotska terapija može utjecati ne samo na ciljane patogene, nego i na komenzale koji nastanjuju ljudskog domaćina. Opseg utjecaja na neciljane mikrobne populacije u crijevnoj mikroflori ovisi o nekoliko čimbenika:

- Korištenom antibiotiku i njegovom spektru djelovanja
- Dozi i trajanju liječenja
- Stupnju rezistencije u zajednici
- Načinu primjene antibiotika
- Farmakokinetičkim i farmakodinamičkim svojstvima antibiotika (30).

Najčešće korišteni antibiotici su penicilini, cefalosporini, aminoglikozidi, fluorokinoloni, makrolidi i tetraciklini (33). Različita antimikrobna sredstva na različite načine utječu na normalnu crijevnu mikrofloru. Oni imaju višestruke učinke na gastrointestinalni trakt, uključujući i neke neovisne o antimikrobnom djelovanju (30). Eritromicin djeluje kao agonist receptora za motilin, koji je gastrointestinalni peptid koji

stimulira kontrakcije u duodenumu i antrumu, i ubrzava pražnjenje želuca. Iako su ovi učinci eritromicina većinom primjetni u gornjim dijelovima gastrointestinalnog trakta, ubrzano pražnjenje želuca može također uzrokovati proljev. Oralno administriran neomicin uzrokuje gastrointestinalne simptome i malapsorpciju, morfološke promjene u sluznici crijeva kao što su povećana mitoza, skraćivanje crijevnih vilija, oštećenje epitelnih stanica. Čini se da klavulanat u amoksicilin-klavulanatu stimulira pokretljivost tankog crijeva, a u rijetkim slučajevima penicilini mogu uzrokovati kolitis (26, 34).

Iako je većina antibiotika općenito sigurna, liječenje antibioticima često je praćeno značajnom promjenom sastava crijevne mikroflore i smanjenjem, čak do jedne trećine, mikrobne raznolikosti u probavnom traktu (35). S obzirom na prethodno spomenute uloge crijevne mikroflore i ne čudi činjenica da njihova uporaba rezultira mnoštvom kliničkih simptoma od kojih su neki i po život opasni. Antimikrobne nuspojave uključuju jedan ili više organskih sustava (36), a najčešće nuspojave su proljev, mučnina, povraćanje, bolovi u trbuhu i nadutost (37). Gastrointestinalni poremećaji poznata su komplikacija antibiotika širokog spektra, posebno beta-laktama, klindamicina i vankomicina. Ti antibiotici mogu utjecati na funkciju normalne crijevne flore, uzrokujući bujanje nepovoljnih vrsta kao što su *Staphylococcus, Candida, Enterobacteriaceae, Klebsiella* i *Clostridium* (38). Ostale nuspojave nekih antibiotika uključuju poremećaj metabolizma i apsorpcije vitamina, promjenu osjetljivosti na infekcije, pretjerani rast gljivica i/ili bakterije *Clostridium difficile* (30). Od svih nuspojava koje uzrokuje terapija antibioticima, najpoznatija je proljev (39).

1.5. Proljev povezan s antibioticima

Oko 6,9 milijuna smrtnih slučajeva djece mlađe od pet godina u 2011. godini dogodilo se zbog uzroka koji su se mogli spriječiti ili liječiti. Proljev je jedan od najčešćih uzroka morbiditeta i mortaliteta djece u svijetu. Akutni proljev odgovoran je za 2 do 3 milijuna smrtnih slučajeva godišnje, a najčešće se javlja među malom djecom u zemljama u razvoju. Učestalost proljeva pala je sa 3,4 epizode/djetetu na godinu u 1990. na 2,9 epizoda/djetetu na godinu u 2010. Hospitalizacija i izvanbolnička skrb djece s proljevom rezultira troškovima većim od 2 bilijuna američkih dolara godišnje (40, 41).

Proljev povezan s antibioticima (eng. *antibiotic-associated diarrhea*, AAD) je inače neobjašnjiv proljev koji se javlja 2 sata do 2 mjeseca nakon početka terapije antibioticima,

gdje je proljev definiran kao 2 neformirane stolice kroz 2 ili više dana. Antibiotici koji su povezani s proljevom su: penicilin G i V (3%), penicilin A i M (11%), amoksicilin-klavulanat (23%), cefalosporini (9%), makrolidi (8%), trimetoprim-sulfametoksazol (6%) i eritromicin (16%) (42). Učestalost proljeva ovisi o definiciji proljeva, dobi pacijenta, komorbiditetima, a najviše o odabiru antibiotika (43). Procjenjuje se da se javlja u 2-20% pacijenata kojima su dani cefalosporini, fluorokinoloni, makrolidi ili tetraciklini, 5-10% pacijenata kojima je dan ampicilin i 10-25% onih kojima je dan koamoksiklav (44). Proljev izazvan antibioticima pogađa između 5-39% odraslih i 11-40% djece koja uzimaju oralne antibiotike (43, 45). AAD je važan faktor slabe suradljivosti pacijenata pri terapiji antibioticima i povećanih troškova u zdravstvu (32).

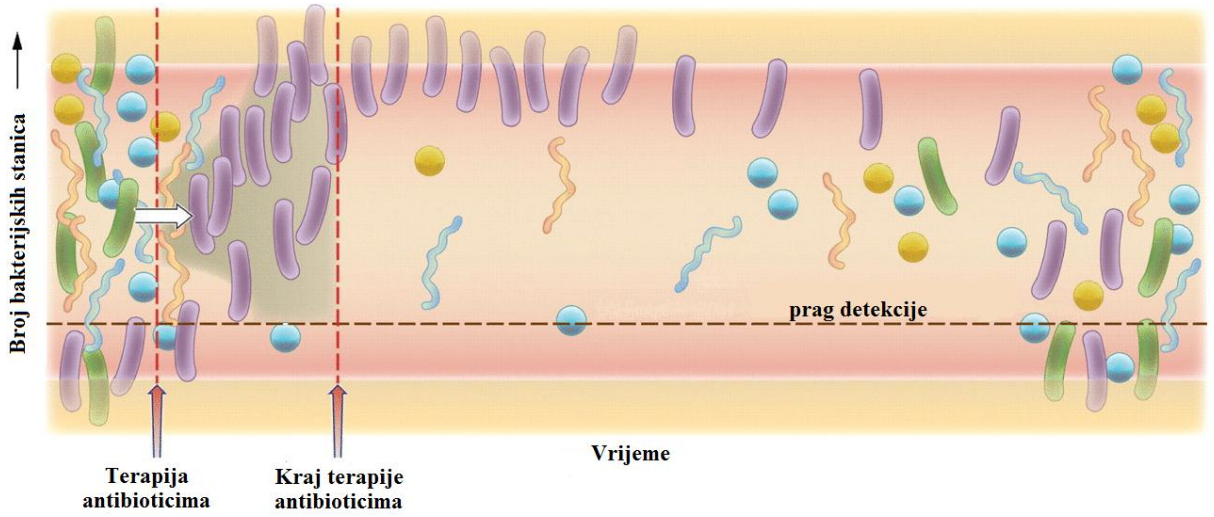
1.6. Mehanizam nastanka proljeva povezanog s antibioticima

Antibiotici širokog spektra često su propisivani za dojenčad u zapadnom svijetu u pokušaju da se dijete u razvoju zaštiti od bolesti (46). Uporaba antibiotika u ranom životu može značajno utjecati na rast inače dominantnih bakterijskih skupina u ljudskom crijevu. (47). Osim rezistencije na antibiotike koja je posljedica stjecanja i širenja gena otpornosti na antibiotike između i unutar bakterijskih zajednica (48), pretjerana uporaba antibiotika može značajno poremetiti ukupnu ekologiju mikroflore crijeva, mijenjajući brojnost crijevnih bakterija i potencijalnu sklonost djeteta prema određenim bolestima (49-51). Iako je crijevna mikroflora prilično otporna na antibiotike (20), ekologija te guste mikrobne populacije može biti jako promijenjena ako je prerano izložena antibioticima tijekom svog razvoja i/ili kroz dulji period vremena (47).

Antibiotici mogu značajno smanjiti koncentraciju fekalnih anaeroba koji su normalno prisutni u crijevnoj mikroflori. Kao posljedica toga, metabolizam ugljikohidrata može se smanjiti, a to dovodi do intraluminalnog nakupljanja organskih kiselina, kationa i malapsorpcije ugljikohidrata koja dovodi do osmotskog proljeva. Proljev, čini se, ovisi o količini ugljikohidrata koji se slabo apsorbiraju u hrani (fruktoza, sorbitol ili vlakna). Uz to dolazi i do funkcionalnih promjena u sluznici kolona koja može ostati uskraćena za energiju koju dobiva iz n-butirata putem stanične oksidacije. Dihidroksi žučne kiseline potentni su sekretorni agensi i njihova prisutnost u kolonu rezultira sekretornim proljevom. Redukcija broja bakterija koje vrše dehidroksilaciju smanjuje brzinu razgradnje primarnih žučnih kiselina čime se njihova koncentracija u kolonu povećava. Učinak antibiotika na smanjenje

metabolizma ugljikohidrata i dehidroksilacije žučnih kiselina može biti sinergistički jer smanjenje metabolizma ugljikohidrata dovodi do većeg fekalnog pH što povećava topljivost dihidroksi žučnih kiselina (26, 34).

Mikroflora je relativno otporna i vraća se u prvobitno stanje nekoliko tjedana nakon prestanka korištenja lijeka (Slika 4) (52).



Slika 4. Prikaz utjecaja terapije antibioticima na bakterijske zajednice debelog crijeva (30).

1.7. Probiotici

Probiotici se definiraju kao "živi mikroorganizmi“ koji, kada se konzumiraju u odgovarajućim količinama, dovode do zdravstvene koristi za domaćina (53). Razlikujemo ih od prebiotika (prehrambene tvari kao što su neprobavljivi oligosaharidi koji pružaju zdravstvenu korist selektivnim promicanjem rasta korisnih bakterija u crijevima) i simbiotika (proizvodi koji sadržavaja sinergističku kombinaciju probiotika i prebiotika) (54).

Riječ "probiotik" dolazi od grčke riječi *probios* što znači "za život“. Pojam "probiotici" pojavio se u medicinskoj terminologiji 1954. godine zbog Ferdinand Vergina, koji je u radu "Anti und Probiotika" opisano negativne učinke antibiotika i drugih antimikrobnih pripravaka na crijevnu mikrofloru u usporedbi s bakterijama koje pokazuju pozitivan učinak nazivajući ih "probiotika". Već su u drevnim vremenima ljudi bili svjesni pozitivnih učinaka fermentirane hrane na ljudsko zdravlje (55). Probiotici tako imaju dugu

povijest korištenja u Europi i Aziji te su na američkom tržištu više od 14 godina (56). Zadnjih desetak godina zabilježeno je drastično povećanje uporabe probiotika (32).

1.7.1. Mehanizam djelovanja probiotika

Sam mehanizam djelovanja probiotika još nije u potpunosti objašnjen. Međutim, pronađeni su brojni načini na koje probiotici utječu na ljudsko tijelo, uključujući:

- Blagotvorno djelovanje na crijevnu mikrofloru
- Prevenciju crijevnih infekcija
- Povećanje tolerancije na laktozu
- Poboljšanje imunološkog sustava
- Anti-alergijske učinke
- Prevenciju kardiovaskularnih bolesti
- Prevenciju raka (55).

Probiotici se natječu za receptore ili adheriraju na endotelne stanice, čime sprječavaju pristup patogena na intestinalni epitel (57), proizvode antimikrobne spojeve (58), natječu se s drugim mikroorganizmima za nutrijente, uzrokuju zakiseljavanje crijevnog sadržaja čime inhibiraju rast nekih patogenih bakterija kao što je npr. *Escherichia coli* (59), utječu na enzimsku modifikaciju receptora za bakterijske toksine, pokazuju modificirajući učinak na staničnu i humoralnu imunost aktivacijom limfocita, stimulacijom fagocitoze i sinteze IgA antitijela te stimulacijom proizvodnje INF citokina (60).

1.7.2. Vrste probiotskih sojeva

Najčešći mikroorganizmi koji se koriste u probiotičkim formulacijama uključuju vrste *Lactobacillus, Bifidobacterium, Saccharomyces, Streptococcus* i *Enterococcus* (37).

Većina probiotskih mikroorganizama pripada skupini bakterija mliječne kiseline (engl. lactic acid bacteries, LAB). Oni su gram-pozitivni koki koji ne formiraju spore, kokobacili ili štapići iz rodova *Lactobacillus, Lactococcus, Bifidobacterium, Streptococcus, Leuconostoc, Oenococcus, Pediococcus, Carnobacterium, Tetragenococcus, Vagococcus, Weissella* (61). Zajednička osobina tih bakterija je sposobnost anaerobne razgradnje saharida i proizvodnja mliječne kiseline. Te mikroorganizme karakterizira otpornost pri niskom pH i tolerancija u

širokom rasponu temperatura. Za razliku od bifidobakterija, koji su aktivne u nižim dijelovima kolona, laktobacili prevladavaju u gornjem gastointenstinalnom traktu (GIT). Bifidobakterije koje se koriste kao probiotici uključuju sojeve koji pripadaju vrstama *Bifidobacterium lactis, B. bifidum, B. animalis, B. thermophilum, B. breve, B. longum, B. Infantis* i *B. Adolescentis.* Normalni su članovi mikroflore, pronađeni u usnoj šupljini, tankom crijevu i vaginalnom epitelu (36). Od korisnih učinaka, laktobacili mogu poboljšati probavu, apsorpciju i dostupnost hranjivih tvari (62). Još jednu skupinu LAB, koju se promovira kao probiotik, čine enterokoki, za koje se smatra da pomažu u održavanju normalne crijevne mikroflore i stimuliraju imunološki sustav (63). *Saccharomyces boulardii* jedna je od najbolje istraženih probiotičkih vrsta, s dugom poviješću uspješnog korištenja u liječenju mnogobrojnih gastrointestinalnih poremećaja (64). Unatoč tome što su jako sigurni za korištenje, kvasci i dalje mogu biti uzrok lokaliziranih infekcija u imunokompromitiranih bolesnika (65).

Probiotski jogurti/pića sve se više ističu kao atraktivna sredstva za dostavu probiotika, jer su lako dostupni, ekonomični, lako se gutaju i imaju nisku incidenciju nuspojava (38). Proizvodi koji sadrže probiotske bakterije obično uključuju dodatke prehrani i hranu. Prisutni su u različitim dozama i formulacijama kao što su kapsule, vrećice s prašcima, jogurti i fermentirani mliječni ili voćni napitci (66).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj ovog rada je pronaći najbolje dostupne dokaze o djelotvornosti i sigurnosti probiotika u prevenciji proljeva povezanih s antibioticima, u djece. Vodeći se načelima farmakoterapije utemeljene na dokazima, cilj je pronaći sustavne preglede randomiziranih kontroliranih pokusa (razina dokaza 1a) i pojedinačne randomizirane kontrolirane pokuse (razina dokaza 1b), kao najpouzdanije izvore dokaza.

3. MATERIJALI I METODE

Prvi korak u pretraživanju literature o sigurnosti i učinkovitosti probiotika u prevenciji proljeva povezanih s antibioticima u djece bio je na stranici Cochrane knjižnice (engl. *Cochrane Library*), gdje je pronađen sustavni pregled: „Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea (Review)“ (67). Taj sustavni pregled bio je okosnica daljnjeg istraživanja. Naime, nakon detaljnog proučavanja navedenog sustavnog pregleda, dalje su pretraživane stranice MEDLINE (PubMed), DARE i CENTRAL u potrazi za novim kliničkim istraživanjima i sustavnim pregledima objavljenima nakon Cochrane sustavnog pregleda (67), a prema istim ulaznim i izlaznim kriterijima.

Baza MEDLINE pretaživana je prema ključnim riječima „*antibiotic-associated diarrhea*“ i „*probiotics*“. Korišten je filter „*Clinical Trial*“, te je prilagođen „*Publication date*“ (24.05. 2010.). Sljedeći korak bila je eliminacija publikacija za koje se iz naslova vidjelo da ne odgovaraju temi, odnosno u kojima predmet istraživanja nije bila uloga probiotika kod proljeva izazvanih primjenom antibiotika. Potom je uslijedilo čitanje sažetaka preostalih studija. Nakon čitanja sažetaka, preostali radovi su detaljnije proučeni te je odlučeno jesu li prikladni za rad (odgovaraju li kriterijima Cochrane sustavnog pregleda) (67). Baza MEDLINE također je pretražena i za sustavne preglede, korišten je filter „*Systematic Reviews*“.

Na mrežnoj stranici Cochrane knjižnice u tražilicu su upisane ključne riječi: „*antibiotic-associated diarrhea*“ i „*probiotics*“. Oznaka „*Trials*“ daje rezultate iz baze CENTRAL, što je baza Cochrane knjižnice koja indeksira kliničke pokuse. Biranjem izbornika „*Trials*“ možemo vidjeti koliko kliničkih pokusa na zadanu temu je indeksirano i kad su objavljeni. Oznaka „*Other Reviews*“ pokazuje koliko je drugih sustavnih pregleda i meta-analiza objavljeno na tu temu u bazi DARE (engl. *Database of Abstracts of Reviews of Effect*) što je jedna od baza Cochrane knjižnice koja indeksira druge sustavne preglede i pritom se daje procjena njihove kvalitete.

Nakon pretraživanja literature, napravljena je procjena kvalitete Cochrane sustavnog pregleda (67) i drugih pronađenih sustavnih pregleda pomoću R-AMSTAR obrasca (68).

3.1. Kriteriji odabira studija za Cochrane sustavni pregled

Vrste studija

Svi randomizirani kontrolirani pokusi neovisno o jeziku ili statusu publikacije, u kojima su specificirani probiotski agensi bili uspoređivani s placebom, aktivnom terapijom ili bez terapije u kontrolnoj skupini, uzeti su u obzir za uključivanje (67).

Vrste sudionika

Djeca (starosti od 0 do 18 godina), muškarci ili žene bilo koje etničke skupine kojima je prepisana terapija antibioticima iz bilo kojeg razloga uzeti su u obzir za uključenje.

Vrste intervencija

Skupina s intervencijom: specificirani, identificirani probiotik u bilo kojem obliku (npr. kapsule, vrećice, jogurti). Pokusi u kojima su korišteni nespecificirani probiotici ili jogurti (npr. proizvodi na kojima nije deklariran soj probiotika i doza) nisu uzeti u obzir. Pokusi koji su kombinirali probiotike s prebioticima uključeni su ukoliko je doza prebiotika bila manja od 2.5 grama jer je ocjenjeno da u toj dozi imaju ograničeni učinak na promjenu crijevne mikroflore (67).

Kontrolna skupina: Placebo, aktivna terapija ili bez terapije kao kontrole. Sve studije koje su uspoređivale probiotike s konvencionalnim liječenjem (tj. diosmektit, loperamid) ili probiotik plus konvencionalno liječenje nasuprot konvencionalnom liječenju uz placebo ili bez terapije, uzete su u obzir za pregled.

Vrste mjerenih ishoda

Primarni ishodi

1) Incidencija proljeva koristeći primarnu definiciju istraživača (tj. učestalost, konzistencija i kretnje crijeva)
2) Broj i vrsta nuspojava (npr. bakterijemija, meningitis)

Sekundarni ishodi

1) Prosječno trajanje proljeva
2) Prosječna učestalost stolice

3.2. Metode pretraživanja za identifikaciju studija

U svibnju 2010. provedena je sveobuhvatna pretraga relevantnih baza podataka neovisno o statusu publikacije ili jeziku: The Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL) on the Cochrane Library (2010., izdanje 2), registar pokusa Cochrane IBD/FBD Review Group, Cochrane Complementary Medicine Field's Register of Controlled Trials, MEDLINE (1966. do 2010.), EMBASE (1980. do 2010.), CINAHL (1982. do 2010.), AMED (1985. do 2010.), Web of Science (1945. do 2010.).

Ručna pretraga

Bibliografije randomiziranih, kontroliranih pokusa i pregledni članci pretraženi su za dodatne studije koje nisu identificirane elektroničkim putem.

Dodatna pretraga

Pretražena je International Bibliographic Information on Dietary Supplements (IBIDS) kao i pokusi u tijeku preko ClinicalTrials.gov i Current Controlled Trial Register koji obuhvaća NHS Controlled Trials Register, the National Institute of Health Register, the National Research Register i International Standard Randomized Controlled Trial Number Register.

MEDLINE je pretražen koristeći sljedeću strategiju:

1. PROBIOTICS or probiotic$
2. LACTOBACILLUS or lactobacill or "l acidophilus" or "l casei" or bifidobacter or "b infantis" or "b bifidum" or "b longum" or saccharomyce or "s boulardii" or clostridium butyricum or clostridium difficile or "streptococcus thermophilus" or enterococcus faecium
3. antibiosis or biotherapeutic agent$
4. or/1-3
5. Anti-Bacterial Agents/ or antimicrobial$ or antibiotic$
6. ((antimicrobial or anti microbial or antimycrobial or antimycobacteri$ or antibacteri$ or bacteriocid$) agent$)
7. 5 or 6
8. DIARRHEA/ or diarrhea or diarrhoe$ or diarhe$ or diahoe$ or dysenter$ or gastro enteritis$ or gastroenteriti$
9. and/4,7-8

10. child/ or infant/ or adolescence/ or infant, new born/ or child, preschool
11. (child$ or newborn$ or adolescen$ or infan$)
12. (preschool$ or pre-school$)
13. teen$
14.(kindergarten$ or kindergarden$).
15. elementary school$
16. secondary school$
17. nursery school$
18. high school$
19. highschool$
20. youth$
21. (baby$ or babies$ or preemie$ or premature$).
22. (schoolchild$ or “school child$”)
23.(schoolage$ or school age$)
24. toddler$
25. pubert$
26. (pre-pubescen$ or prepubescen$ or post-pubescen$ or postpubescen$).
27. (kid or kids or boy$ or girl$)
28. juvenile
29. or/10-28
30. 9 and 29
31. Cochrane RCT filter
32. 30 and 31

3.3. Prikupljanje i analiza podataka

Odabir studije

Rezultati pretrage probrani su pregledavanjem naslova radova i, gdje je bilo dostupno, sažetaka. Puni tekstovi odabranih članaka preuzeti i ocjenjeni u skladu s prethodno specificiranim kriterijima odabira.

Izvlačenje podataka

Koristeći standardizirani oblik izvlačenja podataka izdvojeni su sljedeći podaci: autor, godina publiciranja, jezik, postavke studije, izvor financiranja, definicije i dijagnostički

kriteriji za proljev, kriteriji uključenja i isključenja za sudionike, karakteristike pacijenata (dob, spol, dijagnoza, socioekonomski status), broj pacijenata razvrstanih u pojedinu skupinu, prisutnost/odsutnost (engl. intention to treat, ITT) analize (jesu li pacijenti čiji su podaci bili dostupni analizirani kao randomizirani), pacijenti koji su izgubljeni u procesu praćenja (engl. lost to follow up, LTFU), i ako jesu, opis razloga, mjere suradljivosti, specificirani antibiotici, specificirani probiotici, trajanje, doziranje i raspored antibiotika, trajanje, doziranje i raspored probiotika i mjere ishoda (incidencija proljeva, broj nuspojava, prosječno trajanje proljeva, prosječna konzistencija i učestalost stolice).

Procjena kvalitete

Komponente kvalitete za svaki uključeni RCT ocjenjene su za selekciju, detekciju, izvedbu, izvješće i pristranost zbog gubitaka u praćenju. Svaka od uključenih studija vrednovana je koristeći alat za procjenu rizika pristranosti da bi procijenili slijed generiranja, prikrivanje razvrstavanja, zasljepljenje, nepotpune podatke o ishodima i druge izvore pristranost (67) .

Korišten je GRADE sistem za ocjenjivanje ukupne kvalitete dokaza za svaki pojedini ishod. Randomizirani pokusi počinju kao dokazi visoke kvalitete, ali mogu biti slabije ocjenjeni zbog jedne ili više od ukupno 5 kategorija ograničenja:

1) rizik pristranosti
2) dosljednost
3) direktnost
4) nepreciznost
5) prijavljena pristranost

Kvaliteta dokaza za svaki glavni ishod može biti određena nakon razmatranja svakog od ovih elemenata i kategorizirana kao *visoka* (vrlo smo uvjereni da stvarni učinak vrlo blizu onome što smo procijenili za taj učinak); *umjerena* (umjereno smo uvjereni u procijenjeni učinak: stvarni učinak je blizu onog procijenjenog, ali postoji mogućnost da je značajno različit); *niska* (naše povjerenje u procijenjeni učinak je ograničeno: stvarni učinak može biti značajno različit od procijenjenog učinka); *vrlo niska* (imamo vrlo malo povjerenja u procijenjeni učinak; stvarni je učinak najvjerojatnije značajno različit od onog procijenjenog) (67).

Statistička analiza

Rezultati su kombinirani ukoliko raznolikost (klinička i/ili statistička heterogenost) ne sugerira da je to nerazumno. Broj osoba koje treba liječiti (engl. number needed to treat, NNT) ili broj osoba kojima se škodi (number needed to harm, NNH) izračunat je za statistički značajne dihotomne ishode. Nuspojave su sumirane koristeći razliku rizika budući su ovi događaji bili rijetki. Korišteni su modeli randomiziranog učinka, a modeli fiksnog učinka korišteni su u analizi osjetljivosti. Heterogenost je istražena koristeći I^2 statistiku. Meta regresija ili χ^2 test za heterogenost – ovisno o broju pokusa koji su uključeni – korišteni su u naglašavanju *a priori* hipoteze objašnjavajući heterogenost.

Kako bi istražili moguća objašnjenja za heterogenost, analize podskupina podijeljene su po: soju probiotika (kad su 2 ili više pokusa koristili isti soj), antibioticima koji su specifični za anaerobe (npr. ≥ 3 vodenaste/tekuće stolice na dan 2 dana za redom nasuprot ≥ 3 vodenaste/tekuće stolice na dan), dozi probiotika (≥ 5 ili < 5 bilijuna jedinki živih bakterija/kvasaca koje formiraju kolonije,) i kriteriju kvalitete (npr. alat za procjenu rizika pristranosti). Da bi naglasili potencijalni utjecaj izostalog odgovora (npr. djeca izgubljena u periodu praćenja), autori su proveli analizu osjetljivosti na primarnom ishodu, incidenciji proljeva. Iako postoji mnogo pristupa vrednovanju osjetljivosti rezultata zbog izostalog odgovora, autori su izabrali napraviti pretpostavku o izostalim podacima koji su bili ekstremni, ali i dalje uvjerljivi (tj. 60% djece koja su izgubljena u periodu praćenja u skupini s probiotikom i 20% djece koja su izgubljena u periodu praćenja u kontrolnoj skupini imalo je proljev). Za vrednovanje potencijala pristranosti zbog pristranog objavljivanja, ljevkasti grafikon, test korelacije ranga i težinska regresija primijenjeni su na glavne ishode djelotvornosti, incidenciju proljeva. Ako je otklon zbog pristranog objavljivanja bio očit, razmatrane su prilagodbe skupnih procjena koristeći metode skraćivanja i punjenja. Za evaluaciju pristranosti objavljivanja razmotreno je više od jedne metode jer glavne značajke metoda nisu dobro utvrđene.

3.4. Procjena kvalitete sustavnih pregleda

Iz rada Archibalda Cochranea (1909. – 1988.) potekla je znanost sinteze istraživanja u zdravstvenoj skrbi (69). Glavni cilj takve sinteze istraživanja je sakupiti, ispitati i sustavno procijeniti podatke iz istraživanja koja nastoje odgovoriti na pažljivo izrađena istraživačka pitanja (PICO, engl. ***P**atient, **I**ntervention, **C**omparison, **O**utcome*). Pitanja su formulirana na način da se nedvosmisleno i jasno navede problematična populacija pacijenata, razmatrana intervencija, alternativne intervencije za usporedbu i klinički ishod (70). Rezultat sustavnog pregledavanja istraživačke literature primjerene za istraživačka pitanja (PICO) naziva se sustavni pregled. Sustavni pregled nije istovjetan pretraživanoj literaturi jer se temelji na objektivnom i transparentnom pristupu, koji se temelji na znanosti istraživačke sinteze sa specifičnom namjerom i ciljem da se umanji pristranost. Zapravo se većina sustavnih pregleda temelji na eksplicitnoj kvantitativnoj analizi mjerljivih podataka. Činjenica da je znatan dio sustavnih pregleda kvalitativne prirode, a uz poštivanje prihvaćenih standarda za sakupljanje, procjenu i objavljivanje dokaza, ne dopušta kvantitativnu procjenu podataka (68).

Međutim, nisu svi sustavni pregledi jednako pouzdani i dovoljne kvalitete da zadovoljavajuće umanje pristranost (71). Kako bi se taj problem što uspješnije riješio, razvijeno je i validirano nekoliko instrumenata kojima se procjenjuje kvaliteta sustavnih pregleda. Jedan od takvih je i AMSTAR upitnik koji procjenjuje 11 najvažnijih svojstava sustavnog pregleda (72). AMSTAR je bio naveliko prihvaćen i korišten od strane profesionalnih zdravstvenih udruga i drugih institucija, te je stekao respektabilnost, pouzdanost i reproducibilnost (68). Međutim, AMSTAR, iako prikladan i jednostavan za korištenje, ne daje kvantitativnu ocjenu kvalitete sustavnog pregleda. Iz tog razloga AMSTAR je revidiran, ništa nije izbačeno iz njegovog sadržaja i izgrađene vrijednosti, te je proizveden revidirani AMSTAR (R-AMSTAR), koji uspješno kvantificira kvalitetu sustavnih pregleda (68).

Kvantitativna mjera ljestvice R-AMSTAR su bodovi za svaku od individualnih 11 domena originalnog instrumenta (AMSTAR-a). Bodovi svake domene u rasponu su od 1 do 4 (najveći broj bodova), a R-AMSTAR ukupni zbroj bodova je u rasponu od 11 do 44 (najveći broj bodova). Prema tome, ukupni rezultat 11 bodova pokazuje da nijedan od AMSTAR kriterija nije zadovoljen među navedenih 11 domena. Naprotiv, ukupan rezultat od 44 boda pokazuje da su svi kriteriji izvrsnosti sustavnog pregleda zadovoljeni (68).

REVIDIRANI AMSTAR (R-AMSTAR) (68)

1. Jesu li autori definirali protokol prije („*a priori*“) početka provedbe istraživanja?

Ako zadovoljava 3 kriterija → 4

Ako zadovoljava 2 kriterija → 3

Ako zadovoljava 1 kriterij → 2

Ako zadovoljava 0 kriterija → 1

Kriteriji:

(A) „*a priori*“ dizajn je spomenut.
(B) Navedeni su kriteriji uključenja.
(C) Istraživačko pitanje je navedeno prema PICO/PIPO modelu (engl. *population, intervention, comparison/prediction, outcome*).

2. Jesu li dva autora neovisno birali studije i vadili podatke?

Ako zadovoljava 3 kriterija → 4

Ako zadovoljava 2 kriterija → 3

Ako zadovoljava 1 kriterij → 2

Ako zadovoljava 0 kriterija → 1

Kriteriji:

(A) Trebalo bi u radu biti spomenuto, izravno ili posredno, da su najmanje dvije nezavisne osobe vadile podatke.
(B) U radu je opisano kako je postignut konsenzus (suglasje) ako se dva autora nisu slagala u procjeni.
(C) Neslaganje među autorima koji su birali studije ili vadili podatke je prikladno riješeno, izravno ili posredno

3. Je li provedena opsežna pretraga literature?

Ako zadovoljava 4 ili 5 kriterija → 4

Ako zadovoljava 3 kriterija → 3

Ako zadovoljava 2 kriterija → 2

Ako zadovoljava 1 ili 0 kriterija → 1

Kriteriji:

(A) Trebala bi biti pretražena barem dva elektronička izvora.
(B) U radu moraju biti navedene godine za koje je napravljeno pretraživanje i pretražene baze podataka (primjerice, CENTRAL, EMBASE i MEDLINE).
(C) Ključne riječi i/ili MeSH termini trebaju biti navedeni **i** gdje je moguće treba navesti strategiju pretraživanja tako da se može pratiti proces filtriranja uključenih članaka.
(D) Kao dodatak elektroničkim bazama podataka (PubMed, EMBASE, MEDLINE), svaka pretraga bi trebala biti nadopunjena konzultiranjem Current Contents, pregleda literature, knjiga, specijaliziranih registara ili eksperata u određenom području istraživanja, i pregledavanjem referencija u pronađenim studijama.
(E) Časopisi su ručno pretraženi (primjerice, definiranje značajnih časopisa u nekom području i provođenje ručne pretrage (stranica po stranica), pretraga njihova cjelokupnog sadržaja tražeći potencijalno prihvatljive studije).

4. Je li status publikacije (npr. „siva literatura“) korišten kao kriterij uključenja?

(„Siva literatura“ je literatura proizvedena na svim razinama uprave, akademske zajednice, poduzeća i industrije u tiskanom ili elektroničkom obliku, ali bez kontrole komercijalnih izdavača. Primjeri mogu biti, ali nisu ograničeni na disertacije i zbornike sa znanstvenih sastanaka.)

Ako zadovoljava 3 kriterija → 4

Ako zadovoljava 2 kriterija → 3

Ako zadovoljava 1 kriterij → 2

Ako zadovoljava 0 kriterija → 1

Kriteriji:

(A) Autori bi trebali navesti da su pretražili radove bez obzira na vrstu publikacije.
(B) Autori bi trebali navesti jesu li ili nisu isključili bilo kakva izvješća (iz sustavnog pregleda) temeljem njihova publikacijskog statusa, jezika i slično.
(C) Radovi koji nisu na engleskom jeziku su prevedeni ili su osobe koje su ih pročitale dovoljno obrazovane za taj strani jezik.
(D) Nisu navedena ograničenja u smislu jezika na kojem je rad objavljen ili priznavanja i članaka koji nisu na engleskom jeziku.

5. Je li naveden popis studija (uključenih i isključenih)?

Ako zadovoljava 4 kriterija → 4

Ako zadovoljava 3 kriterija → 3

Ako zadovoljava 2 kriterija → 2

Ako zadovoljava 1 ili 0 kriterija → 1

Kriteriji:

(A) U radu treba biti tablica/lista/ ili broj **uključenih** studija; samo popis referencija nije dovoljan.
(B) U redu je ako se tablica/lista/ili broj **isključenih** studija nalazi bilo u članku bilo u dodatnom izvoru (primjerice, na mrežnim stranicama). (Isključene studije se odnose na one studije koje su ozbiljno razmatrane na temelju naslova i/ili sažetka, ali isključene nakon čitanja cijelog teksta).
(C) Autor je zadovoljavajuće/dovoljno obrazložio **razlog za isključenje** ozbiljno razmatranih studija.
(D) Osoba koja čita članke može **ući u trag** uključenim **i** isključenim studijama bilo gdje u bibliografiji članka, referencama ili dodatnim izvorima.

6. Jesu li navedena obilježja uključenih studija?

Ako zadovoljava 3 kriterija → 4

Ako zadovoljava 2 kriterija → 3

Ako zadovoljava 1 kriterij → 2

Ako zadovoljava 0 kriterija → 1

Kriteriji:

(A) U skupnom obliku kao što je tablica, trebali bi biti navedeni podatci iz izvornih studija o sudionicima, intervencijama **i** ishodima.
(B) Navesti raspone **relevantnih** obilježja iz analiziranih studija (primjerice, trebali bi biti navedeni dob, rasa, spol, važni socioekonomski podatci, status bolesti, trajanje, težina ili druge bolesti.)
(C) Navedene informacije izgledaju potpune i precizne (ovo se može smatrati subjektivnom procjenom. Tijekom čitanja rada, ima li što upitno vezano za obilježja uključenih studija? Ako da, navesti potrebne informacije i obrazloženje).

7. Je znanstvena kvaliteta <u>uključenih studija</u> procijenjena i dokumentirana?

Ako zadovoljava 4 kriterija → 4

Ako zadovoljava 3 kriterija → 3

Ako zadovoljava 2 kriterija → 2

Ako zadovoljava 1 ili 0 kriterija → 1

Kriteriji:

(A) Trebala bi biti navedena „*a priori*“ metoda procjene (primjerice, za studije o djelotvornosti, jesu li autori odlučili uključiti samo randomizirane, dvostruko-slijepe, placebom kontrolirane studije, ili one koje su opisale prikrivanje razvrstavanja ispitanika kao kriterij uključenja); za druge tipove studija alternativne stavke će biti relevantne.
(B) Čini se da je znanstvena kvaliteta uključenih studija smislena.
(C) Rasprava/priznavanje/svijest o razini dokaza.
(D) Kvaliteta dokaza bi trebala biti rangirana temeljem definiranih instrumenata. (Definirani instrument je ljestvica koja rangira razinu dokaza, npr. GRADE [Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation.])

8. Je li znanstvena kvaliteta uključenih studija prikladno korištena pri formiranju zaključka?

Ako zadovoljava 4 kriterija → 4

Ako zadovoljava 3 kriterija → 3

Ako zadovoljava 2 kriterija → 2

Ako zadovoljava 1 ili 0 kriterija → 1

Kriteriji:

(A) Rezultati provjere metodološke strogosti i znanstvene kvalitete bi trebali biti razmotreni u analizi i zaključku sustavnog pregleda.
(B) Rezultati provjere metodološke strogosti i znanstvene kvalitete su **eksplicitno navedeni** u formuliranju preporuka.
(C) Postoje zaključci koji su integrirani/vode prema konsenzusnoj kliničkoj tvrdnji.
(D) Ova konsenzusna klinička tvrdnja vodi prema reviziji ili potvrdi praktičnih kliničkih smjernica.

9. Jesu li metode korištene za kombiniranje rezultata studija prikladne?

Ako zadovoljava 4 kriterija → 4

Ako zadovoljava 3 kriterija → 3

Ako zadovoljava 2 kriterija → 2

Ako zadovoljava 1 ili 0 kriterija → 1

Kriteriji:

(A) Navođenje kriterija koji su korišteni za procjenu jesu li analizirane studije dovoljno slične da se skupno analiziraju (spoje u jednu analizu)?
(B) Za spojene rezultate, treba se napraviti test koji osigurava da su se studije mogle kombinirati, da se ocijeni njihova homogenost (hi-kvadrat test za homogenost, I^2).
(C) Postoji li informacija o heterogenosti studija ili ta informacija nedostaje?
(D) Ako postoji heterogenost, trebao bi se koristiti „random effects" model meta-analize i/ili bi se trebao uzeti u obzir razlog (klinička prikladnost) zašto su studije kombinirane (je li razumno kombinirati te studije?), ili je to izričito navedeno.
(E) Ako postoji homogenost, treba navesti razlog ili statistički test.

10. Je li ocijenjena mogućnost pristranosti u objavljivanju (engl. *publication bias*), odnosno jesu li uključene studije dale pretežno pozitivne rezultate (tzv „*file drawer*" učinak – znači da autori studija koje daju negativne rezultate „gurnu u ladicu" i ne objave ih)?

Ako zadovoljava 3 kriterija → 4

Ako zadovoljava 2 kriterija → 3

Ako zadovoljava 1 kriterij → 2

Ako zadovoljava 0 kriterija → 1

Kriteriji:

(A) Autori spominju mogućnost pristranosti u objavljivanju ili učinka „ladice".
(B) Procjena pristranosti u objavljivanju trebala bi uključivati grafički prikaz (npr. *funnel plot* i druge dostupne testove).
(C) Korišteni su odgovarajući statistički testovi za procjenu pristranosti u objavljivanju (npr. *Egger regression* test).

11. Je li naveden sukob interesa?

Ako zadovoljava 3 kriterija →4

Ako zadovoljava 2 kriterija →3

Ako zadovoljava 1 kriterij →2

Ako zadovoljava 0 kriterija →1

Kriteriji:

(A) Naveden je izvor potpore.
(B) Nema sukoba interesa. Ovo je subjektivno i može zahtijevati zaključivanje iz drugih informacija ili traženje odgovarajućih informacija.
(C) Ispitano je postoji li sukob interesa u uključenim **primarnim** studijama.

4. REZULTATI

4.1. Rezultati Cochrane sustavnog pregleda

4.1.1. Opis studija

Karakteristike studija koje su uključene u sustavni pregled (67)

Arvola 1999 (73)

Metode	Randomizirana, dvostruko slijepa, s placebom kao kontrolom Gubitak iz praćenja: 48 ispitanika (28.7%) ITT: Ne Razdoblje praćenja: 3 mjeseca	
Sudionici	N = 167 uključenih Dijagnoza: Akutne respiratorne infekcije Zemlja: Finska Mjesto: Centri zdravstvene skrbi - Grad Tampere i Tampere University Hospital Dob: 2 tjedna do 12.8 god (prosjek 4.5 god)	
Intervencije	Probiotici: LC, LR (4 bilijuna CFU/dan, oralno kroz 2 tjedna) Antibiotici: Nije specificirano	
Ishodi	Incidencija proljeva: Skupina s terapijom 5% nasuprot 16% u skupini s placebom Prosječna učestalost stolice: Terapija i placebo 4 (2 do 8) Prosječno trajanje proljeva: Terapija i placebo 5 (3 do 6) Definicija proljeva: Najmanje 3 vodenaste ili kašaste stolice/dan najmanje 2 dana za redom	
Napomene	Financiranje = Nije prijavljeno	
Rizik od pristranosti		
Pristranost	**Procjena autora**	**Podrška za procjenu**
Generiranja randomiziranog slijeda (rizik odabira)	Nizak rizik	Kompjuterski generirano
Prikrivanje razvrstavanja (rizik odabira)	Nejasan rizik	Nije opisano
Zasljepljivanje (pristranost		Lactobacillus GG i placebo

izvedbe i detekcije) Svi ishodi	Nizak rizik	kapsule nisu se mogle razlikovati u izgledu ili okusu
Nepotpuni podaci ishoda Svi ishodi	Visok rizik	Gubitak iz praćenja: 48 ispitanika (28.7%)
Selektivno prijavljivanje (pristranost prijavljivanja)	Nizak rizik	Svi očekivani ishodi su prijavljeni
Druge pristranosti	Nizak rizik	Studija je oslobođena drugih izvora otklona

Benhamou 1999 (74)

Metode	Randomizirana, dvostruko slijepa, s aktivnom kontrolom Gubitak iz praćenja: 163 ispitanika (21%) ITT: Ne Razdoblje praćenja: Duljina intervencije antibioticima	
Sudionici	N = 779 uključenih Dijagnoza: Nije specificirano Zemlja: Francuska Mjesto: Prakse skrbi u zajednici, Dob: 1 do 5 godina	
Intervencije	Probiotici: SB (4.5 bilijuna CFU/dan) Kontrola: Diosmektit 6 g/dan (1 do 2 godine), 9 g/dan (> 2 godine), Antibiotik: Nije specificirano	
Ishodi	Incidencija proljeva: Skupina s terapijom 7.6% nasuprot 5.5% u kontrolnoj skupini Definicija dijareje: > 3 tekuće stolice/dan	
Napomene	Financiranje = Nije prijavljeno	
Rizik od pristranosti		
Pristranost	**Procjena autora**	**Podrška za procjenu**
Generiranja randomiziranog slijeda (rizik odabira)	Nejasan rizik	Spomenuta randomizacija, inače nije opisano
Prikrivanje razvrstavanja (rizik odabira)	Nejasan rizik	Nije opisano

Zasljepljivanje (pristranost izvedbe i detekcije) Svi ishodi	Nejasan rizik	Opisano kao „dvostruko slijepi“ bez drugih detalja
Nepotpuni podaci ishoda Svi ishodi	Visok rizik	Gubitak iz praćenja: 163 ispitanika (21%). Autori nisu opisali što se dogodilo ovim pacijentima
Selektivno prijavljivanje (pristranost prijavljivanja)	Nizak rizik	Svi očekivani ishodi su prijavljeni
Druge pristranosti	Nejasan rizik	Nisu spomenuti pronalasci u industriji ili drugim izvorima

Contardi 1991 (75)

Metode	Randomizirana, s placebom kao kontrolom Gubitak iz praćenja: 0 ispitanika ITT: Nije primjenjivo Razdoblje praćenja: Nije specificirano
Sudionici	N = 40 uključenih Dijagnoza: Infekcije gornjeg i donjeg respiratornog trakta, dermatološke infekcije Zemlja: Italija Mjesto: Privatne prakse primarne zdravstvene skrbi Dob: 1 mjesec do 3 godina
Intervencije	Probiotici: LA, BB (3 bilijuna CFU/dan kroz 10 dana) Antibiotik: Amoksicilin
Ishodi	Prosječan broj stolica: 2 u skupini s terapijom nasuprot 2.7 u skupini s placebom (P < 0.0001)) Prosječna konzistencija stolice: 2 u skupini s terapijom nasuprot 2.5 u skupini s placebom (P = 0.008) Definicija dijareje: Nije prijavljeno
Napomene	Financiranje = Nije prijavljeno
Rizik pristranosti	

Pristranost	Procjena autora	Podrška za procjenu
Generiranja randomiziranog slijeda (rizik odabira)	Nejasan rizik	Napisano „suddivisi a randon [podijeljeno nasumce]", inače nije opisano
Prikrivanje razvrstavanja (rizik odabira)	Nejasan rizik	Nije opisano
Zasljepljivanje (pristranost izvedbe i detekcije) Svi ishodi	Nejasan rizik	Zasljepljivanje nije korišteno
Nepotpuni podaci ishoda Svi ishodi	Visok rizik	Svi su ispitanici završili studiju
Selektivno prijavljivanje (pristranost prijavljivanja)	Nizak rizik	Svi očekivani ishodi su prijavljeni
Druge pristranosti	Nejasan rizik	Studija je oslobođena drugih izvora pristranosti

Conway 2007 (76)

Metode	Randomizirana, kontrolirana, dvostruko slijepa Gubitak iz praćenja: 0 (podaci autora) ITT: Da (pedijatrijski podaci dobiveni od autora) Razdoblje praćenja: 12 dana
Sudionici	N = 106 uključenih Dijagnoza: Nije specificirano Zemlja: Engleska Mjesto: Ruralne opće prakse Dob: 1 do 17 god uključujući
Intervencije	Probiotici: ST, LA, BA, LD (1 bilijun CFU bakterija/dan). Antibiotik: Nije specificirano

Ishodi	Incidencija dijareje (terapija 10.8% nasuprot kontrola 6.3%) Definicija dijareje: 3 ili više kašastih ili tekućih stolica na dan najmanje 2 dana za redom	
Napomene	Financiranje = Industrija (lijekovi)	
Rizik od pristranosti		
Pristranost	**Procjena autora**	**Podrška za procjenu**
Generiranja randomiziranog slijeda (rizik odabira)	Nizak rizik	Tablica s randomiziranim brojevima
Prikrivanje razvrstavanja (rizik odabira)	Nizak rizik	Zapečaćene, neprozirne omotnice
Zasljepljivanje (pristranost izvedbe i detekcije) Svi ishodi	Visok rizik	Zasljepljivanje za 2 grupe kojima je dodijeljen jogurt, treća skupina nije zaslijepljena. Kako bi izbjegli jedinicu analize pogreške,kombinirali smo grupe s jogurtom i uspoređivali s trećom grupom (bez terapije). S obzirom na našu tehniku analize, smatrat će se nezaslijepljena
Nepotpuni podaci ishoda Svi ishodi	Nejasan rizik	Ukupno je 38 pacijenata izgubljeno iz praćenje kombinirajući podatke djece i odraslih (n = 12, n = 9, n = 17). Nejasno koliko je djece izgubljeno
Selektivno prijavljivanje (pristranost prijavljivanja)	Nizak rizik	Svi očekivani ishodi su prijavljeni
Druge pristranosti	Nizak rizik	Priznanje autora: Odstupanja za prethodni AAD možda su

		iskrivila rezultate glavnog ishoda

Correa 2005 (77)

Metode	Randomizirana, dvostruko slijepa, formula kao kontrola Gubitak iz praćenja: 12 ITT: Ne Razdoblje praćenja: 15 dana	
Sudionici	N = 169 uključenih Dijagnoza: Nije specificirano Zemlja: Brazil Mjesto: Bolničke ambulante zdravstvene skrbi Dob: Prosjek 1.8 godina	
Intervencije	Probiotici: BL, ST (približno 825 milijuna CFU/dan) Kontrola: Formula (3.3 g proteina, 4.4 g masti, 11.8 g ugljikohidrata na 100 kcal plus vitamini i minerali) Antibiotik: Ampicilin n = 119, amoksicilin n = 101, cefalosporin n = 31, amoksicilin + klavulanska kiselina n = 16, penicilin n = 10, oksacilin n = 9, drugi n = 20	
Ishodi	Incidencija proljeva: Skupina s terapijom 16.3% nasuprot 31.2% u kontrolnoj skupini Prosječno trajanje proljeva: Skupina s terapijom 3.92 +/- 2.47 nasuprot 5.00 +/- 2.80 u kontrolnoj skupini Definicija proljeva: 3 ili više tekućih stolica/dan najmanje 2 dana za redom	
Napomene	Financiranje= Industrija (Nestle, inače nejasno re: lijekovi nasuprot operacijama) i nezavisno	
Rizik od pristranosti		
Pristranost	**Procjena autora**	**Podrška za procjenu**
Generiranja randomiziranog slijeda (rizik odabira)	Nejasan rizik	Nije opisano
Prikrivanje razvrstavanja	Nejasan rizik	Nije opisano

(rizik odabira)		
Zasljepljivanje (pristranost izvedbe i detekcije) Svi ishodi	Nizak rizik	Dvostruko slijepo: Izgled i miris probiotika i formule bili su identični
Nepotpuni podaci ishoda Svi ishodi	Nizak rizik	12 pacijenata je odustalo (<10% i relativno jednako za svaku grupu). 7 iz grupe s probiotikom i 5 iz kontrolne. Dani su razlozi zašto, ali oni nisu bili jednoliko distribuirani. Kontrolna skupina je izgubila 4 iz praćenja dok skupina s probiotikom nije nikoga izgubila iz tog razloga. Skupina s probiotikom izgubila je 5 zbog nedostatne ingestije a kontrola nikoga zbog toga. Minimalna doza za ingestiju opisana je naizgled *a priori.*
Selektivno prijavljivanje (pristranost prijavljivanja)	Nizak rizik	Svi očekivani ishodi su prijavljeni
Druge pristranosti	Nejasan rizik	*Nestle* je kao tvorac intervencije probiotikom pružio neka sredstva. Ne postoji ko-autorstvo od strane kompanije, ali nije razjašnjena uloga *Nestlea* osim osiguravanja nekih sredstava

Destura unpublished (78)

Metode	Randomizirana, bez intervencije u kontroli, open label studija Gubitak iz praćenja: 0 (podatke osigurali autori) ITT: N/A Razdoblje praćenja: Do kraja terapije antibioticima (7 do 21 dan)	
Sudionici	N = 323 Dijagnoza: Respiratorne, uro-genitalne, infekcije kože i mekih tkiva Zemlja: Filipini Mjesto: Bolničke opće prakse zdravstvene skrbi (pacijenti koji ne ostaju i ostaju7 u bolnici) Dob: terapija 4.1 godina and kontrola 4 godine (prosjek)	
Intervencije	Probiotici: BC (4 bilijuna CFU bakterija/dan) Antibiotik: Penicilini n = 151, cefalosporin n = 112, koamoksiklav/ampicilin-sulbaktam n = 25,drugi n = 35	
Ishodi	Incidencija proljeva: 1.85% u skupini terapijom nasuprot 4.35% u kontrolnoj skupini Prosječno trajanje proljeva: 4.00 (SD 3.46) u skupini s terapijom nasuprot 3.86 (SD 2.26) u kontrolnoj skupini Definicija dijareje: Promjene u pražnjenju crijeva s pasažom 3 ili više tekućih stolica/dan najmanje 2 dana za redom, 48 sati nakon početka terapije antibioticima	
Napomene	Financiranje = Industrija (inače nejasno)	
Rizik od pristranosti		
Pristranost	**Procjena autora**	**Podrška za procjenu**
Generiranja randomiziranog slijeda (rizik odabira)	Nizak rizik	Kompletni blokovi različitih veličina su nasumično dodijeljeni od „treće strane“ kroz centralni telefonski sustav randomizacije
Prikrivanje razvrstavanja	Nejasan rizik	„Kompletni blokovi različitih

(rizik odabira)		veličina su nasumično dodijeljeni od „treće strane“ kroz centralni telefonski sustav randomizacije“ „Svaki je pacijent identificiran koristeći broj centra, broj terapija (na temelju koda terapije pronađenog na naljepnici lijeka za intervenciju) i pacijentove inicijale“ „Asistent u istraživanju dodijeljen svakom centru imao je plan randomizacije i otvarao ga kada bi podobni pacijent započeo studiju“
Zasljepljivanje (pristranost izvedbe i detekcije) Svi ishodi	Visok rizik	Nije bilo zasljepljivanja - open label study
Nepotpuni podaci ishoda Svi ishodi	Nizak rizik	2 pacijenta izgubljena su iz praćenja nakon što su izmjereni klinički ishod. Na taj način nisu nedostajali podaci o ishodima
Selektivno prijavljivanje (pristranost prijavljivanja)	Nizak rizik	Protokol objavljen na clinicaltrials.gov i rezultati koje su nam predstavili autori se poklapaju
Druge pristranosti	Nizak rizik	Studiju financira industrija. Nije jasno je li autor zaposlen u industriji, ali tako pretpostavljamo. Nema jasne izjave o utjecaju industrije na

		dizajn studije. Studija je oslobođena drugih izvora pristranosti

Erdeve 2004 (79)

Metode	Randomizirani, kontrola bez terapije Gubitak iz praćenja: 187 ispitanika (28.6%) ITT: Ne Razdoblje praćenja: Nije specificirano	
Sudionici	N = 653 uključenih Dijagnoza: Nije specificirano Zemlja: Turska Mjesto: Nejasno Dob: 1 do 15 godina	
Intervencije	Probiotici: SB (5 bilijuna CFU/dan) Antibiotik: Sulbaktam-ampicilin n = 234, azitromicin n = 232	
Ishodi	Incidencija dijareje: U skupini s terapijom 5.7% nasuprot 18.9% u kontrolnoj skupini Definicija dijareje: Vodenasta stolica 3 ili više puta bilo koji dan terapije antibioticima	
Napomene	Financiranje = Nije prijavljeno	
Rizik od pristranosti		
Pristranost	**Procjena autora**	**Podrška za procjenu**
Generiranja randomiziranog slijeda (rizik odabira)	Nizak rizik	Randomizacija nije opisana, ipak kontakt s autorima upućuje na to da je studija bila randomizirana
Prikrivanje razvrstavanja (rizik odabira)	Nejasan rizik	Nije opisano
Zasljepljivanje (pristranost izvedbe i detekcije) Svi ishodi	Nejasan rizik	Nije spomenuto zasljepljivanje
Nepotpuni podaci ishoda		Gubitak iz praćenja: 187

Svi ishodi	Visok rizik	ispitanika (28.6%). Nije spomenut omjer proporcija tj. koliko je pacijenata iz koje grupe izgubljeno iz praćenja
Selektivno prijavljivanje (pristranost prijavljivanja)	Nizak rizik	Svi očekivani ishodi su prijavljeni
Druge pristranosti	Nejasan rizik	Nije spomenuto financiranje

Jirapinyo 2002 (80)

Metode	Randomizirana, dvostruko slijepa, placebo kao kontrola Gubitak iz praćenja: 0 ispitanika ITT: Nije primjenjivo Razdoblje praćenja: Nije navedeno	
Sudionici	N = 18 uključenih Dijagnoza: Meningitis i/ili sepsa Zemlja: Tajland Mjesto: Bolnica u jednom mjestu s bolničkim pacijentima Dob: 1 do 36 mjeseci	
Intervencije	Probiotici: LA, BI (1 kapsula oralno, broj CFUa nije naveden), Antibiotik: Defprozil n = 16, ampicilin n = 4, gentamicin n = 2, kloksacilin n = 1	
Ishodi	Incidencija proljeva: U skupini s terapijom 37.5% nasuprot 80% u skupini s placebom Definicija dijareje: Nije navedeno	
Napomene	Financiranje = Nije prijavljeno	
Rizik od pristranosti		
Pristranost	**Procjena autora**	**Podrška za procjenu**
Generiranja randomiziranog slijeda (rizik odabira)	Nejasan rizik	Na temelju randomizacijske liste, nejasno kako je to generirano
Prikrivanje razvrstavanja	Nejasan rizik	Nije opisano

(rizik odabira)		
Zasljepljivanje (pristranost izvedbe i detekcije) Svi ishodi	Nejasan rizik	Nisu spomenuti gubici iz praćenja. Spomenuta su 3 slučaja sepse. Također je spomenuto da slučajevi u kojima je moguća probiotska sepsa neće biti zaslijepljeni iako nije bilo jasnu jesu li ta tri bila zaslijepljena. Nije bilo statističke analize
Nepotpuni podaci ishoda Svi ishodi	Nejasan rizik	Nije spomenuta definicija proljeva. U dijelu Metode spomenuli su da će „karakteristike i učestalost“ stolice biti promatrani. U rezultatima su naznačeni broj pacijenata s proljevom i dani proljeva. Nejasno je što se misli pod karakteristike i zašto nisu prijavljene
Selektivno prijavljivanje (pristranost prijavljivanja)	Nejasan rizik	Svi očekivani ishodi su prijavljeni
Druge pristranosti	Nejasan rizik	Nije spomenut izvor financiranja

Kotowska 2005 (45)

Metode	Randomizirana, dvostruko slijepa, placebo kao kontrola Gubitak iz praćenja: 23 ispitanika (8.5%) ITT: Da Razdoblje praćenja: 2 tjedna nakon završetka terapije antibioticima
Sudionici	N = 269 uključenih

	Dijagnoza: Bronhitis n = 64, otitis media n = 79, pneumonia n = 62, tonzillitis n = 58, druge respiratorne infekcije n = 6) Zemlja: Poljska Mjesto: 3 sveučilišne bolnice (n = 72) i 2 klinike (ambulante) (n = 197) Dob: 6.2 do 182 mjeseca (5 mjeseci to 15 godina)	
Intervencije	Probiotici: SB (10 bilijuna CFU/dan za vrijeme trajanja terapije antibioticima), raspon od 7 do 9 dana Antibiotici: Cefuroksim aksetil = 72, amoksicilin klavulanat = 46, amoksicilin = 33, cefuroksim (IV) = 39, penicilin = 33, klaritromicin = 20, roksitromicin = 13, drugi = 13	
Ishodi	Incidencija proljeva: U skupini s terapijom 7.5% nasuprot 23% u skupini s placebom Definicija proljeva: 3 ili više kašastih ili vodenastih stolica/dan minimalno 48 sati, koje se javljaju tijekom i/ili do 2 tjedna nakon terapije antibioticima	
Napomene	Financiranje = Nije prijavljeno	
Rizik od pristranosti		
Pristranost	**Procjena autora**	**Podrška za procjenu**
Generiranja randomiziranog slijeda (rizik odabira)	Nizak rizik	Kompjuterski generirano
Prikrivanje razvrstavanja (rizik odabira)	Nizak rizik	Da bi se osiguralo prikrivanje razvrstavanja, nezavisni član je pripremio raspored randomizacije i nadgledao pakiranje i etiketiranje terapija u pokusu
Zasljepljivanje (pristranost izvedbe i detekcije) Svi ishodi	Nizak rizik	Dvostruko slijepa: Svi istraživači, ispitanici, procjenitelji ishoda i analitičari podataka su zaslijepljeni za dodijeljenu terapiju kroz studiju

Nepotpuni podaci ishoda Svi ishodi	Nizak rizik	<10% ispitanika izgubljeno iz praćenja. Izgubljeni iz praćenja balansiraju u broju kroz grupe s intervencijom sa sličnim razlozima za nedostatak podataka kroz grupe. Osim toga, autori su proveli scenarij ekstremnih slučajeva
Selektivno prijavljivanje (pristranost prijavljivanja)	Nizak rizik	Svi očekivani ishodi su prijavljeni
Druge pristranosti	Nejasan rizik	Nije spomenuto financiranje

LaRosa 2003 (81)

Metode	Randomizirana, dvostruko slijepa, placebo kao kontrola Gubitak iz praćenja: 22 ispitanika (18.3%) ITT: Da Razdoblje praćenja: Nije navedeno
Sudionici	N = 120 uključenih Dijagnoza: Faringitis n = 48, tonzilitis n = 46, otitis n = 22, bronhitis n = 18, drugo n = 10 (neka su djeca imala više od jedne infekcije) Zemlja: Italija Mjesto: Multicentrično Dob: Prosjek 6.6 godina
Intervencije	Probiotici: LS (5.5 bilijuna CFU/dan) s prebiotikom: FOS (250 mg/dan) kroz 10 dana) Antibiotici: Mješavina, nije specificirano
Ishodi	Incidencija proljeva: U skupini s terapijom 29% nasuprot 62% u skupini s placebo0m Prosječno trajanje proljeva: 0.7 nasuprot 1.6 dana (P = 0.002) Definicija proljeva: 2 ili više tekućih stolica u tijeku 24 sata
Napomene	Financiranje = Nije prijavljeno

Rizik od pristranosti		
Pristranost	**Procjena autora**	**Podrška za procjenu**
Generiranja randomiziranog slijeda (rizik odabira)	Nizak rizik	Kompjuterski generirano
Prikrivanje razvrstavanja (rizik odabira)	Nizak rizik	Svakome pacijentu je dan kod, a pakiranje terapija odgovaralo je kodu
Zasljepljivanje (pristranost izvedbe i detekcije) Svi ishodi	Nizak rizik	Dvostruko slijepo, identičan placebo
Nepotpuni podaci ishoda Svi ishodi	Nizak rizik	Izgubljeni iz praćenja balansiraju u broju kroz grupe s intervencijom sa sličnim razlozima za nedostatak podataka kroz grupe.
Selektivno prijavljivanje (pristranost prijavljivanja)	Visok rizik	Dio Metode upućuje na "condizioni generale" [generalni uvjeti], ali ishod nije prijavljen
Druge pristranosti	Nizak rizik	Studija je oslobođena drugih pristranosti

Merenstein 2009 (82)

Metode	Randomizirana, dvostruko slijepa, placebo kao kontrola Gubitak iz praćenja: 8 ispitanika (6.4%) ITT: Ne Razdoblje praćenja: 15 dana
Sudionici	N = 125 uključenih Dijagnoza: Infekcije gornjeg respiratornog trakta Zemlja: USA Mjesto: Prakse primarne zdravstvene skrbi Dob: 2.9 godina skupina s terapijom i 3.2 godine kontrolna

	skupina	
Intervencije	Probiotici:LL, LP, LR, LC, LL subspecies diacetylactis, Leuconostoc cremoris, Bifidobacterium longum, BB, LA, SF (najmanje pola od 150 ml pića koje sadržava 7 do 10 bilijuna bakterijskih/kvaščevih CFU/dan) Antibiotici: Nije specificirano	
Ishodi	Incidencija proljeva: 18.0% u skupini s terapijom nasuprot 21.9% u kontrolnoj skupini Definicija dijareje: Nije specificirano	
Napomene	Financiranje = Industrija (lijekovi i operacije)	
Rizik od pristranosti		
Pristranost	**Procjena autora**	**Podrška za procjenu**
Generiranja randomiziranog slijeda (rizik odabira)	Nejasan rizik	Shema randomizacije je generirana koristeći permutirane blokove čija je veličina bila 8
Prikrivanje razvrstavanja (rizik odabira)	Nejasan rizik	Nije opisano
Zasljepljivanje (pristranost izvedbe i detekcije) Svi ishodi	Nizak rizik	Dvostruko slijepa: „Svo osoblje istraživanja i statističari bili su zaslijepljeni tijekom studije uključujući i razdoblje tijekom početnog pregleda podataka.“ Odgovarajući placebo je korišten
Nepotpuni podaci ishoda Svi ishodi	Nizak rizik	Gubitak ispitanika iz praćenja bio je iznimno nizak. Samo su 4 pacijenta u svakoj skupini bila nedostupna za kontakt nakon razdoblja praćenja od 15 dana
Selektivno prijavljivanje	Nizak rizik	Ishodi identični onima

(otklon prijavljivanja)		prijavljenim na clinicaltrials.gov
Druge pristranosti	Nizak rizik	*Lifeway foods* je osigurao pića i financiranje iako nijedan od autora nije bio povezan s kompanijom

Ruszczynski 2008 (83)

Metode	Randomizirana, dvostruko slijepa, placebo kao kontrola Gubitak iz praćenja: 0 ITT: Da Razdoblje praćenja: 2 tjedna nakon završetka terapije antibioticima	
Sudionici	N = 240 uključenih Dijagnoza: Infekcije gornjeg i donjeg respiratornog trakta, otitis, urinarne infekcije, drugo Zemlja: Poljska Mjesto: 2 bolnice i jedna privatna praksa Dob: U skupini s terapijom 4.6 godina, a u kontrolnoj skupini 4.5 godine (prosjek)	
Intervencije	Probiotici: LR (40 bilijuna CFU bakterija/dan) Antibiotici: Penicilini = 15, penicilini širokog spektra = 119, cefalosporini = 89, makrolidi = 15, klindamicin = 2	
Ishodi	Incidencija proljeva: U skupini s terapijom 7.5% nasuprot 16.7% u kontrolnoj skupini Definicija proljeva: 3 ili više kašastih stolica na dan minimalno 48sati, koje se javljaju za vrijeme i/ili do 2 tjedna nakon završetka terapije antibioticima	
Napomene	Financiranje = Industrija (inače nejasno: lijekovi nasuprot operacije) i nezavisno (Medicinski fakultet Varšava)	
Rizik od pristranosti		
Pristranost	**Procjena autora**	**Podrška za procjenu**

Generiranja randomiziranog slijeda (rizik odabira)	Nizak rizik	Kompjuterski generirano: Blokovi od 6 (tri primaju placebo, a tri aktivnu terapiju). Odvojene liste randomizacije pripremljene su za svako mjesto
Prikrivanje razvrstavanja (rizik odabira)	Nizak rizik	Da bi osigurali prikrivanje razvrstavanja, nezavisni je član pripremio raspored randomizacije i nadgledao pakiranje i etiketiranje terapija u pokusu
Zasljepljivanje (pristranost izvedbe i detekcije) Svi ishodi	Nizak rizik	Svi istražitelji, ispitanici, procjenitelji ishoda i analitičari podataka bili su zaslijepljeni od dodijeljene terapije i tijekom studije
Nepotpuni podaci ishoda Svi ishodi	Nizak rizik	3 od randomizirane djece (jedno u skupini s probiotikom i 2 u skupini s placebom) prekinuli su intervenciju studije i počeli koristiti komercijalno dostupne probiotike. Ipak, nijedan pacijent nije izgubljen iz praćenja
Selektivno prijavljivanje (pristranost prijavljivanja)	Nizak rizik	Svi primarni i sekundarni ishodi spomenuti u dijelu metode prijavljeni su u dijelu rezultati
Druge pristranosti	Nizak rizik	*Biomed* je osigurao intervenciju, ali „oni nisu imali ulogu u konceptu,

		dizajnu ili provođenju studije ili u analizi i interpretaciji podataka“

Szajewska 2009 (84)

Metode	Randomizirana, dvostruko slijepa, placebo kao kontrola Gubitak iz praćenja: 17 (20.9%) ITT: Da Razdoblje praćenja: 3 tjedna (2 tjedna nakon završetka terapije antibioticima)	
Sudionici	N = 83 Dijagnoza: Infekcija H. Pylori Zemlja: Poljska Mjesto: Hospitalizirani/bolnički pacijenti Dob: U skupini s terapijom 12.3 godina, a u kontrolnoj skupini 11.9 godina (prosjek)	
Intervencije	Probiotici: Lactobacillus GG (1 bilijun CFU/dan) Antibiotici: Svi pacijenti primali su amoksicilin i klaritromicin (svi su primali i omeprazol, inhibitor protonske pumpe)	
Ishodi	Incidencija proljeva: U skupini s terapijom 6% nasuprot 20% u kontrolnoj skupini Definicija dijareje: 3 ili više kašastih ili vodenastih stolica na dan minimalno 48sati, koje se javljaju za vrijeme i/ili do 2 tjedna nakon završetka terapije antibioticima	
Napomene	Financiranje = Industrija (lijekovi) i nezavisno (Medicinski fakultet Varšava)	
Rizik od pristranosti		
Pristranost	**Procjena autora**	**Podrška za procjenu**
Generiranja randomiziranog slijeda (rizik odabira)	Nizak rizik	Kompjuterski generirano
Prikrivanje razvrstavanja	Nizak rizik	LGG i proizvodi za kontrolu

(rizik odabira)		identično su pakirani. Randomizacijski kodovi su čuvani dok nije završen unos podataka
Zasljepljivanje (pristranost izvedbe i detekcije) Svi ishodi	Nizak rizik	Svo osoblje studije, pacijenti i osoblje uključeno u provođenje studije nije znalo za terapiju koji im je dodijeljena tijekom studije
Nepotpuni podaci ishoda Svi ishodi	Visok rizik	10 izgubljenih tijekom praćenja nasuprot 7 izgubljenih tijekom praćenja. Podaci su analizirani iz suprotnih krajnosti za pretpostavke vezane za one izgubljene u praćenju za H.Pylori, ali ne i za nuspojave
Selektivno prijavljivanje (pristranost prijavljivanja)	Nizak rizik	Svi ishodi spomenuti u dijelu metode prijavljeni su u dijelu rezultati
Druge pristranosti	Nizak rizik	Osnovne su karakteristike vrlo blizu. *Dicofarm* je osigurao proizvode za studiju ali „nisu imali ulogu u konceptu, dizajnu ili provođenju studije ili u analizi i interpretaciji podataka“

Szymanski 2008 (85)

Metode	Randomizirana, dvostruko slijepa, placebo kao kontrola

	Gubitak iz praćenja: 0 ITT: Da Razdoblje praćenja:4 tjedna ili manje (2 tjedna nakon završetka terapije antibioticima)	
Sudionici	N = 78 Dijagnoza: Otitis media, infekcija respiratornog trakta, šarlahna groznica, drugo Zemlja: Poljska Mjesto: Pedijatrijske bolnice i ambulante Dob: Medijan dobi 7 godina (raspon 1 do 15)	
Intervencije	Probiotici: Bifidobacterium longum PL03, LRKL53A, LP PL02 (200 milijuna CFU bakterija/dan) Antibiotici: Amoksicilin sa/bez klavulanata = 34, cefalosporini = 20, penicilin = 5, makrolidi = 18, aminoglikozidi = 1	
Ishodi	Incidencija proljeva: U skupini s terapijom 2.5% nasuprot 5.3% u kontrolnoj skupini Prosječna učestalost stolice: 1.0 +/- 0.4 u skupini s terapijom nasuprot 1.3 +/- 0.6 u kontrolnoj skupini Definicija proljeva: 3 ili više kašastih ili vodenastih stolica na dan, minimalno 48sati, koje se javljaju za vrijeme i/ili do 2 tjedna nakon završetka terapije antibioticima	
Napomene	Financiranje = Industrija (lijekovi)	
Rizik od pristranosti		
Pristranost	**Procjena autora**	**Podrška za procjenu**
Generiranja randomiziranog slijeda (rizik odabira)	Nizak rizik	Kompjuterski generirano
Prikrivanje razvrstavanja (rizik odabira)	Nizak rizik	Da bi osigurali prikrivanje razvrstavanja, nezavisni je član pripremio raspored randomizacije i nadgledao pakiranje i etiketiranje terapija u pokusu

Zasljepljivanje (pristranosti izvedbe i detekcije) Svi ishodi	Nizak rizik	Svo osoblje studije, roditelji i skrbnici nisu znali koja je skupina dodijeljena. Randomizacijski kodovi su čuvani dok nije završen unos podataka
Nepotpuni podaci ishoda Svi ishodi	Nizak rizik	Analiza je bazirana na ITT principu, sa svim uključenim pacijentima iz njima dodijeljenih skupina. Nisu prijavljeni gubici u praćenju
Selektivno prijavljivanje (pristranosti prijavljivanja)	Nizak rizik	Svi očekivani ishodi su prijavljeni
Druge pristranosti	Nejasan rizik	"Aktivana terapija i placebo za studiji pripremio je *IBSS Biomed S.A.*, Krakow, Poljska." Nijedan komentar vezano za ulogu IBSS Biomeda u dizajnu studije i analizi nije ponuđen

Tankanow 1990 (86)

Metode	Randomizirana, dvostruko slijepa, placebo kao kontrola Gubitak iz praćenja: 22 ispitanika (36.6%) ITT: Ne Razdoblje praćenja: Nije spomenuto
Sudionici	N = 60 Dijagnoza: Djeca s infekcijama u kojima je amoksicilin bio razumna terapija Zemlja: USA Mjesto: Lokalne pedijatrijske prakse tijekom razdoblja od 13 mjeseci

	Dob: 5 mjeseci do 6 godina (prosječna dob 29+/-17 mjeseci)	
Intervencije	Probiotici: LA, LB ((paketi od 1 grama (500 milijuna po paketu) 4 puta na dan što je približno jednako 2 bilijuna CFU/dan) kroz 5 do 12 dana Antibiotici: Samo amoksicilin – doza bazirana na kliničkom iskustvu i postojećim smjernicama za doziranje	
Ishodi	Incidencija proljeva: U skupini s terapijom 66% nasuprot 69.5% u kontrolnoj skupini Definicija proljeva: 1 ili više abnormalno tekućih pražnjenja crijeva/dan za vrijeme trajanja studije od 1 do 10 dana	
Napomene	Financiranje = u potpunosti osiguravaju *Hynson, Westcott & Dunning Products*	
Rizik od pristranosti		
Pristranost	**Procjena autora**	**Podrška za procjenu**
Generiranja randomiziranog slijeda (rizik odabira)	Nejasan rizik	Randomizaciju osigurao proizvođač, inače nije jasno kako je generirana randomizacija
Prikrivanje razvrstavanja (rizik odabira)	Nejasan rizik	Nije opisano
Zasljepljivanje (pristranost izvedbe i detekcije) Svi ishodi	Visok rizik	Dvostruko slijepa, inače nije opisano. Kodove za zasljepljivanje je imao proizvođač. Jedan od spomenutih razloga zbog kojih neki nisu nastavili istraživanje je bio „okus“. Postoji neravnoteža u broji izgubljenih iz praćenja među skupinama. Je li okus bio različit za svaku intervenciju? Je li ovo utjecalo na zasljepljivanje pacijenata?

		Nejasno je koliko ih je izgubljeno iz praćenja zbog problema s okusom
Nepotpuni podaci ishoda Svi ishodi	Visok rizik	37% ispitanika je izgubljeno iz praćenja. Konačan broj analiziranih nije bio jednak u veličini (15 aktivni terapija, 23 placebo). Broj ispitanika koji nisu završili studiju bio je visok kad je uspoređen sa zamijećenim ishodima (22 nisu završila studiju, 26 slučajeva proljeva (10 u skupini a aktivnom terapijom, 16 u kontrolnoj).
Selektivno prijavljivanje (pristranost prijavljivanja)	Nizak rizik	Ishodi spomenuti u odjeljku Metode bili su u skladu s onim u odjeljku Rezultati
Druge pristranosti	Visok rizik	Studiju je u potpunosti financirao proizvođač (osigurao je proizvode i placebo, randomizaciju i imao kodove)

Vanderhoof 1999 (87)

Metode	Randomizirana, dvostruko slijepa, placebo kao kontrola Gubitak iz praćenja: 14 ispitanika (6.9%) ITT: Ne Razdoblje praćenja: Dok terapija antibioticima ne završi ili dok ne prestane proljev
Sudionici	N = 202 uključenih Dijagnoza: Za djecu koja su praćena do kraja (otitis n = 109,

	Faringitis n = 37, bronhitis n = 19, dermatološke infekcije n = 11, sinusitis n = 10, drugo n = 2) Zemlja: USA Mjesto: Privatne pedijatrijske prakse Dob: 4 do 12 godina (prosječna dob 4 godine)	
Intervencije	Probiotici: LGG (10 bilijuna za djecu koja teže manje od 12 kg; 20 bilijuna za djecu težine 12 kg ili više za vrijeme trajanja terapije antibioticima (7 do 14 dana) Antibiotici: Amoksicilin n = 65, amoksicilin klavulanat n = 33, cefprozil n = 13, klaritromicin n = 18, drugo n = 59	
Ishodi	Incidencija proljeva: U skupini s terapijom 8% nasuprot 26% i kontrolnoj skupini Prosječno trajanje dijareje: 4.7 nasuprot 5.9 Prosječna konzistencija stolice: 5.29 nasuprot 5.04 Prosječna učestalost stolice: 1.51 nasuprot 1.59 Definicija proljeva: 2 ili više tekućih stolica/dan u > 2 prilike tijekom trajanja studije	
Napomene	Financiranje = Industrija (sredstva od ConAgra Inc). Autor je ujedno konzultant za ConAgra	
Rizik od pristranosti		
Pristranost	**Procjena autora**	**Podrška za procjenu**
Generiranja randomiziranog slijeda (rizik odabira)	Nizak rizik	Randomizacija putem kompjuterski generiranog rasporeda randomizacije
Prikrivanje razvrstavanja (rizik odabira)	Nejasan rizik	Randomizacija proizvoda putem zaslijepljenih brojčanih kodova obavljena je od strane dobavljača prije nego su proizvodi poslani na mjesto istraživanja. Dobavljač je zadržao kodove dok nisu prikupljeni svi podaci

Zasljepljivanje (pristranost izvedbe i detekcije) Svi ishodi	Nizak rizik	„LGG i placebo pakirani su u identične boce s identičnim omotačima kapsula.” “Dobavljač je zadržao kodove dok nisu prikupljeni svi podaci.”
Nepotpuni podaci ishoda Svi ishodi	Nizak rizik	Studiju je završilo 188 djece (median dobi 4 godine); 14 ih nije završilo studiju, primarno zbog nesuradljivosti vezano za antibiotike ili zbog nemogućnosti autora da kontaktiraju liječnike opće prakse u zadanom razdoblju praćenja. Nijedan od pacijenata nije odustao od 10-dnevnog uzimanja antibiotika zbog promjena u konzistenciji ili učestalosti stolice. Nije bilo propusta zbog nepovoljnih učinaka LGG ili placeba. I skupina s aktivnom terapijom i kontrolna skupina s placebom imali su sličnu raspodjelu po dobi, spolu, tipu antibiotika, a svi koji su završili studiju nisu imali problema s konzumacijom prepisane doze
Selektivno prijavljivanje (pristranost prijavljivanja)	Nizak rizik	Svi očekivani ishodi su prijavljeni.
Druge pristranosti	Nejasan rizik	Vodeći autor konzultant je u

		CAG nutrition (dio *ConAgra*) koji je proizvođač korištenih proizvoda

Tablica 1. Karakteristike isključenih studija (67)

Studija	Razlog isključenja
Beausoleil 2007 (88)	Nije uključivala djecu
Brunser 2006 (89)	Nije uključivala intervenciju probioticima
Can 2006 (90)	Nije uključivala djecu
Chapoy 1985 (91)	Nije randomizirana
Czerwionka 2006 (92)	Nije randomizirana
Erdeve 2005 (93)	Pismo uredniku vezano za pedijatrijski AAD
Honeycutt 2007 (94)	Probiotik nije uziman s antibiotikom
Kim 2008 (95)	Nije uključivala djecu
Koning 2008 (96)	Nije uključivala djecu
Lei 2006 (97)	Nije povezana s uporabom antibiotika
Lionetti 2006 (98)	Koristila ljestvicu procjene gastrointestinalnih simptoma koji su uključivali učestalost i konzistenciju stolice, ali nisu prijavljeni podaci za te ishode
McFarland 2005 (99)	Pismo uredniku vezano za pedijatrijsku AAD
Michielutti 1996 (100)	Studija o akutnoj dijareji, nije vezana za uporabu antibiotika
Savas-Erdeve 2009 (101)	Korišten *Sacchromyces boulardii* za pedijatrijski infektivni proljev (tj. dijareja povezna s amebijazom), proljev nije povezan s uporabom antibiotika
Schrezenmeir 2004 (102)	Nisu prijavljeni ishodi specifični za AAD
Seki 2003 (103)	Nije randomizirana
Siitonen 1990 (104)	Populacija nije pedijatrijska
Srinivasan 2006 (105)	Nisu prijavljeni ishodi specifični za AAD
Sykora 2005 (106)	Nisu prijavljeni ishodi specifični za AAD
Thomas 2001 (107)	Populacija nije pedijatrijska
Weizman 2005 (108)	Nije povezna s uporabom antibiotika
Wenus 2008 (109)	Nije uključivala djecu

Witsell 1995 (110)	Populacija nije pedijatrijska
Zoppi 2001(111)	Primarni ishod nije proljev. Studija se bavi utjecajem antibiotika na crijevnu floru

Tijekom prethodnog pretraživanja literature koje je provedeno u kolovozu 2006. godine, pronađeno je 10 studija koje su uključene u ovaj sustavni pregled (7 engleskih, 2 talijanske i 1 francuska). Novo istraživanje provedeno je u svibnju 2010. (datumi pretrage: od siječnja 2006. do 25.svibnja 2010.). Pronađeno je ukupno 416 studija iz primarnih elektronskih baza podataka (Medline 144, EMBASE 92, CENTRAL 41, CINAHL 41, Web of Science 98, AMED 0). Od njih 416, 173 studije bile su duplikati ostavljajući 243 sažetka i/ili naslova koji su bili originalne publikacije. Pretragom sive literature (Clinicaltrials.gov, NHS Evidence, IBIDS) otkrivena je 1 dodatna relevantna studija za pregled cjelovitog teksta. Pregledom naslova i/ili sažetaka otkriveno je 14 potencijalno relevantnih studija za pregled cjelokupnog teksta. Studije su nezavisno ocijenjene i identificirano je 6 studija koje podliježu kriterijima uključenja

Razlozi isključenja studija bili su sljedeći: 5 studija nije uključivalo djecu (88, 90, 95, 96, 109), jedna je studija koristila skalu za ocjenu gastrointestinalnih simptoma koja, iako je uključivala učestalost stolice i njenu konzistenciju, nije uključivala podatke specifične za te ishode (98), jedna je studija uključivala uporabu *Sacchromyces boulardii* za pedijatrijski infektivni proljev (tj. proljev povezan s amebijazom) (101), a u jednoj od studija pacijenti nisu istovremeno dobivali probiotike i antibiotike (94).

4.1.2. Sudionici

Za svrhe ovog sustavnog pregleda gubitak pacijenata iz praćenja (eng. *loss to follow up*, LTFU) može biti shvaćen kao nepotpuna konstatacija primarnih ishoda za neke od sudionika u randomiziranim kliničkim pokusima. Pacijenti čiji podaci o primarnim ishodima nisu bili dostupni klasificirani su kao LTFU. Nakon uračunavanja LTFU, 16 studija uključivalo je ukupno 2941 pacijenta (1516 s terapijom, 1425 kao kontrola). Pacijentima su dijagnosticirane infekcije gornjeg i donjeg dišnog trakta, uha, gastrointestinalne infekcije, dermatološke ili druge infekcije (45, 73-75, 78, 81-87) te meningitis ili sepsa (80). U jednoj studiji nije prijavljen tip infekcije koji je zahtijevao terapiju antibioticima (76). 14 studija

uključivalo je: pacijente privatnih praksi (74-76, 82, 86, 87), hospitalizirane bolničke pacijente (77, 80, 84), pacijente sveučilišne nastavne bolnice (45, 73) i hospitalizirane i ne hospitalizirane bolničke pacijente (78). Kao dodatak hospitaliziranim i ne hospitaliziranim bolničkim pacijentima, jedna je studija uključila i pacijente iz privatnih praksi (83), a druga pacijente iz ambulanta (85).

Uključena djeca bila su iz obitelji različitog socioekonomskog statusa, uključujući razvijene i zemlje u razvoju poput Brazila (77), Filipina (78), Poljske (83-85), Tajlanda (80) i Turske (79). Djeca su bila u rasponu od 1 mjeseca do 18 godina starosti. 11 studija osiguralo je podatke o prosječnoj starosti sudionika: 4.5 godina (73), 2.4 godine (74), 1.8 godina (77), 4.1 godina u skupini s intervencijom i 4 godine u kontrolnoj skupini (78), 4.8 godina (45), 6.6 godina (81), 2.9 godina u skupini s intervencijom i 3.2 godine u kontrolnoj skupini (82), 4.6 godina u skupini s intervencijom i 4.5 godina u kontrolnoj skupini (83), 12.3 godina u skupini s intervencijom i 11.9 u kontrolnoj skupini (84), 2.5 godine (86) i 4 godine (87). 2 studije pružile su samo podatke o rasponu godina uključenih sudionika: od 8 mjeseci do 3 godine (75) i od 1 mjeseca do 3 godine (80). Jedna je studija osigurala podatke o medijanu dobi s rasponom: 7 godina (raspon 1 do 15) (85). 11 studija uključilo je i muškarce i žene (838 muškaraca i 821 žena), a 5 studija nije sadržavalo dovoljno informacija vezano za spol (73, 74, 76, 79, 80).

4.1.3. Intervencije

Ukupno gledano, u svim je pokusima terapija antibioticima trajala između 3 i 30 dana. U većini pokusa korišteni su oralni antibiotici. U trima pokusima pacijenti su dobivali intravenske antibiotike (npr. cefuroksim): 60/246 (24.3%) (45); 87/240 (36.3%) (83); 6/78 (7.7%) (85). U jednoj od studija korišteni su i intravenski antibiotici (83) nakon kojih su slijedili oralni (17/240; 7.1%) i intramuskularni antibiotici (2/240; 0.8%). U tri pokusa nije bilo jasno koji su antibiotici i/ili putovi primjene korišteni (76, 78, 82). Dvije su studije koristile samo oralni amoksicilin (75, 86) koristeći standardni pedijatrijski raspon doziranja (20 do 50 mg/kg/dan), dok su preostali pokusi koristili mješavinu oralnih antibiotika uključujući: baktericidne cefalosporine (npr. cefotaksim,cefprozil), bakteriostatske makrolide (npr. klaritromicin, eritromicin) i baktericidne beta-laktame/peniciline. Konkretno, devet studija opisalo je vrstu antibiotika koja je korištena. U četiri studije primjenjen je niz cefalosporina (n = 341) i beta-laktama/penicillina (n = 931) (45, 74, 77, 78), u jednoj studiji cefalosporini (n = 49), beta-laktami/penicillini u obliku amoksicilin-klavunalata (n = 36) i

makrolidi u obliku eritromicina (n = 34) (81), a jedna je studija koristila beta-laktame/peniciline u obliku sulbaktam-ampicilina (n = 234) i makrolide u obliku azitromicina (n = 232) (79). U jednoj su studiji svim pacijentima (n=83) istovremeno dana tri lijeka: amoksicilin, klaritromicin i omeprazol (84). Cefalosporini (n = 20), beta-laktami/penicilini u obliku penicilina, amoksicilina ili amoksicilin-klavulanata (n =39); makrolidi (n = 18) i aminoglikozid (n = 1) korišteni su u jednoj od studija (85), dok su u idućoj korišteni cefalosporini (n = 89), beta-laktami/penicilini u obliku penicilina, ampicilina, amoksicilina ili amoksicillin+klavulanata (n = 134), makrolidi (n = 15) i klindamicin (n = 2) (83).

Pokusi su uključivali korištenje *Bacillus spp., Bifidobacterium spp., Lactobacilli spp., Lactococcus spp., Leuconostoc cremoris, Saccharomyces spp.* ili *Streptococcus spp*. Soj/evi i dnevne doze u intervenciji probioticima uključuju: *Lactobacillus GG*, 1 bilijun bakterijskih CFU (jedinki koje formiraju kolonije)/dan (84), *Lactobacillus GG*, 20 do 40 bilijuna bakterijskih CFU/dan (73); *Lactobacillus GG* i inulin (prebiotik), 10 do 20 bilijuna bakterijskih CFU/dan što odgovara 100 mg i 225 mg prebiotika inulina/dan (jedina studija koja je koristila pristup temeljen na masi) (87); *Saccharomyces boulardii*, 4.5 bilijuna kvasaca/dan (74); *Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacterium bifidus*, 3 bilijuna bakterijskih CFU/dan (75); *Bifidobacterium lactis* i *Streptococcus thermophilus*, 825 milijuna bakterijskih CFU/dan (77); *Bacillus clausii*, 4 bilijuna CFU/dan (78); *Saccharomyces boulardii*, 5 bilijuna CFU kvasaca/dan (79); *Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacterium infantis*, doze nisu objavljene (80); *Saccharomyces boulardii*, 10 bilijuna jedinica kvasca koje formiraju kolonije/dan (45); *Lactobacillus sporogenes* i frukto-oligosaharid (prebiotik); 5.5 bilijuna bakterijskih CFU/dan i 250 mg prebiotika/dan (81); *Lactococcus lactis, L. plantarum, L. rhamnosus, L. casei, L. lactis subspecies diacetylactis, Leuconostoc cremoris, Bifidobacterium longum, B. breve, Lactobacillus acidophilus* i *Saccharomyces florentinus,* najmanje pola od 150 ml pića koje sadrži 7 do 10 bilijuna bakterijskih/kvaščevih jedinica koje formiraju kolonije/dan (82); *Lactobacilluss rhamnosus,* 40 bilijuna bakterijskih CFU/dan (83); *Bifidobacterium longum* PL03, *Lactobacillus rhamnosus* KL53A i *Lactobacillus plantarum* PL02, 200 milijuna bakterijskih CFU/dan (85); *Lactobacillus acidophilus* i *Lactobacillus bulgaricus*, 2 bilijuna bakterijskih CFU/dan (86) i konačno *Streptococcus thermophillus, Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacteria anamalis* subsp. *lactus* ili *Streptococcus thermophillus* i *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaris,* 1 bilijun bakterijskih CFU/dan (76).

4.1.4. Usporedbe

U 10 studija, intervencija probiotikom/icima uspoređivana je s placebom u kontrolnoj skupini, 2 studije uspoređivale su probiotike s konvencionalnom terapijom uključujući formulu i diosmektit (74, 77), dvije probiotike sa skupinom u kojoj nije bilo terapije (78, 79), a u jednoj su uspoređivani napitak sa živim probioticima i napitkom koji je sadržavao toplinom ubijene probiotike (82), jedan je pokus koristio 3 sredstva: „bio jogurt“ i komercijalni jogurt dok jedna skupina nije koristila jogurt (76). U jednoj studiji koja je koristila placebo kao kontrolu, u kontaktu s autorima, otkriveno je da je placebo sadržavao inertnu količinu inulina (325 mg) - prebiotika koji se koristi kao punilo za kapsule (87). Pet dodatnih studija koje su koristile placebo kao kontrolu pružilo je informacije o izboru za usporedbu tvrdeći da su placeba sadržavala maltodekstrin, bezmasno mlijeko i saharozu, saharoza laktat, odnosno „šećer“ i „laktozu“ (45, 80, 83, 84, 86). Od dvije studije koje su uključivale kontrolnu skupinu s konvencionalnom, aktivnom terapijom, u jednoj je korišten diosmektit (antidijarejični gastrointestinalni zaštitni lijek) (74), a drugoj formula koja je sadržavala vitamine, minerale i proteine (77).

4.1.5. Ishodi

15 studija (n = 2882) pružilo je podatke o incidenciji proljeva, 11 studija (n = 1583) izvijestilo je o nuspojavama, 5 studija (n = 897) o prosječnom trajanju proljeva i 4 studije (n = 425) o prosječnoj učestalosti stolice. Kriterij za definiranje incidencije proljeva varirao je od studije do studije u rasponu kliničkih odrednica incidencije proljeva (82), 1 ili više abnormalno tekućih stolica na dan (86), 2 ili više tekućih stolica na dan u barem 2 navrata tijekom trajanja studije (87), 3 ili više tekućih/vodenastih stolica na dan (74, 79), 3 ili više tekućih/vodenastih/kašastih stolica na dan 2 dana za redom (45, 73, 76, 77), promjene u pražnjenju crijeva s 3 ili više tekućih stolica na dan najmanje 2 dana za redom 48 sati nakon početka terapije antibioticima (78), 3 ili više kašastih ili vodenastih stolica na dan, minimalno 48 sati, koje se javljaju tijekom i/ili do 2 tjedna nakon završetka terapije antibioticima (83-85).

Tri su studije izvijestile o virusnoj i bakterijskoj analizi uzoraka fecesa (45, 73, 78). Uz virusnu i bakterijsku analizu fecesa, u jednoj od studija govori se i o metaboličkoj aktivnosti crijevne mikroflore: aktivnosti fekalne ureaze, ß-glukozidaze i ß-glukuronidaze (73). Dvije studije izvještavaju o učestalosti retrovirusnih proljeva, proljeva izazvanih salmonellom, shigellom i *C. difficile* (45, 83). Drugi ishodi od potencijalnog interesa

uključuju prosječnu inkubaciju proljeva i postotak onih koji pate zbog dehidracije (77), fekalni laktoferin (78) i potrebu za intravenskom rehidracijom, hospitalizacijom nebolničkih pacijenata i/ili diskontinuitet u terapiji antibioticima (83, 85). Dodatno, jedna je studija izvijestila o ishodima vezanim za *H. Pylori* kao što su pozitivan brzi urea test, pozitivan histopatološki nalaz i pozitivan urea C13 izdisajni test (84). Nijedna od studija nije iznijela podatke o troškovima i isplativosti povezanoj s izostankom s posla, iz dječjih vrtića ili škole između kontrolne i skupine s intervencijom.

4.1.6. Rizik pristranosti u uključenim studijama

Pet studija sadrži informacije o *a priori* izračunu veličine uzorka (45, 76, 82, 83, 87). Gubitak ispitanika iz praćenja (LTFU) bio je značajan (tj. > 20%) u 5 od 15 studija u kojima su navedeni podaci o incidenciji proljeva (73, 74, 79, 84, 86). LTFU je bio 37% u jednoj (86) i 29% drugoj studiji (73). U šest studija objavljeni su dijagrami toka (za praćenje ispitanika) uz koje su bili i detalji vezani za gubitak ispitanika iz praćenja (45, 76, 82-85). Sve su studije bili dizajnirane kao randomizirane s paralelnim skupinama. 14 studija koristilo je metodu dvostrukog zasljepljivanja. Međutim, procjenom rizika pristranosti utvrđeno je da u dvije studije vjerojatno nije bilo zasljepljivanja pacijenata tijekom intervencije (76, 86). Dvije su studije bile *open label* (75, 78). Validirani alat za procjenu rizika pristranosti dijeli rizik u 3 kategorije: visok, nizak i nejasan rizik pristranosti. Za osam je studija utvrđeno da imaju nizak rizik (45, 77, 81-85, 87) dok je preostalih 8 imalo visok rizik pristranosti (73-76, 78-80, 86).

4.1.7. Učinci intervencija

Primarni ishodi

1) Incidencija proljeva

15 studija (n = 2882) sadržava podatke o incidenciji proljeva. Koristeći dostupne slučajeve (npr. pacijenti koji nisu dovršili istraživanje nisu uključeni u studiju) za primarnu analizu, 4 su studije, u kojima je placebo korišten kao kontrola, pokazale statistički značajno smanjenje incidencije AAD ($P < 0.05$) (45, 81, 83, 87). Statistički značajno smanjenje incidencije AAD zabilježeno je u još dvije studije, od kojih je u jednoj korištena aktivna formula u kontrolnoj skupini (77) , dok u drugoj nije bilo intervencije u kontrolnoj skupini (79). Šest studija u kojima je placebo korišten kao kontrola (73, 80, 82, 84-86), 2 studije bez

terapije u kontrolnoj skupini (76, 78) i jedna studija s aktivnom kontrolom (diosmektit) (74) nisu pokazale statistički značajnu razliku, ali je 7 od ovih 9 studija pokazalo neznačajnu prednost u korist probiotika.

Sveukupni zbirni podaci, koristeći analizu dostupnih slučajeva, pokazali su da uporaba probiotika dovodi do statistički značajnog smanjenja incidencije AAD. Incidencija AAD u skupini s probiotikom bila je 9% u usporedbi s 18% u kontrolnoj skupini s , sa ili bez terapije. Ipak, detektirana je statistički značajna heterogenost (P = 0.004) koja je bila umjerena s obzirom na postotak varijabilnosti između (ili unutar) studija (I^2 = 56%) (67).

2) Nuspojave

Nijedna od ovih studija nije a priori specifično definirala nuspojave. U 3 studije nije bilo prijavljenih nuspojava (45, 80, 87). U 4 studije nuspojave su prijavljene (77, 82, 84, 86). U jednoj od studija prijavljeno je 14 nuspojava uključujući osip, nadutost, povraćanje, povećanu bol u prsima (86). Ipak, za svaku od 14 nuspojava nije bilo jasno u kojoj su se skupini pojavile (kontrolna ili skupina s intervencijom). Čini se kako se svih 14 nuspojava javilo u 3 pacijenta (86). Za meta analizu, pretpostavljeno je da su se nuspojave dogodile u skupini koja je preimala terapiju. U jednoj od studija prijavljene su nuspojave kod 5 pacijenata u skupini s terapijom (77). Nuspojave su bile vezane za toleranciju formule s dodatkom probiotika. Povraćanja u skupini s terapijomi slučaj konstipacije u kontrolnoj skupini prijavljeni su u jednoj od studija (82). 18 nuspojava u skupini s terapijomi 13 u kontrolnoj skupini prijavljeno je u drugoj studiji. U obje skupine, nuspojave su uključivale mučninu, povraćanje, konstipaciju, nadutost, poremećaj okusa i smanjen apetit (84). Između skupina nije pronađena statistički značajna razlika u pojavnosti nuspojava. Meta analiza svih pokusa koji su uključivali nuspojave pokazuje da ne postoji statistički značajna razlika u incidenciji nuspojava (RD 0.00; 95% CI 0.01 - 0.02).

Sekundarni ishodi

1) Prosječno trajanje proljeva

U 5 studija objavljeni su podaci o prosječnom trajanju proljeva (73, 77, 78, 81, 87). Standardna devijacija (SD) za studiju Vanderhoof 1999 (87) nije bila navedena pa je informacija naknadno zatražena od autora, ali oni na upit nisu odgovorili. Standardna devijacija za tu studiju (87) je pretpostavljena na temelju studije sa sličnim prosječnim trajanjem proljeva u kontrolnoj i skupini s terapijom (Arvola 1999) (73). Provedena je post

hoc analiza osjetljivosti da bi se testirala robusnost rezultata prosječnog trajanja proljeva prije i poslije umetanja pretpostavljenih podataka. WMD nije bio statistički značajan prije uključivanja studije Vanderhoof 1999 (WMD 0.42, 95%CI 1.01 - 0.16), dok je nakon umetanja podataka o standardnoj devijaciji bio statistički značajan (WMD 0.60, 95% CI 1.18 - 0.02). Detektirana je statistički značajna heterogenost (P = 0.008) koja je bila visoka u odnosu na postotak varijabilnosti između (ili unutar) studija (I^2 = 79%) (67).

2) Prosječna učestalost stolice

U 4 randomizirana klinička pokusa (RCTs) objavljeni su podaci o prosječnoj učestalosti stolice (73, 75, 85, 87). Podaci o standardnoj devijaciji su pretpostavljeni za studiju Arvola 1999 (73). Ova je studija izvijestila o rasponu prosječne učestalosti stolice i za kontrolnu i skupinu s intervencijom što je iskorišteno za pretpostavljanje standardne devijacije za svaki dio studije. Provedena je *post hoc* analiza osjetljivosti da bi se testirala robusnost rezultata prosječne učestalosti stolice prije i poslije umetanja pretpostavljenih podataka. WMD je, isključujući Arvola 1999, bio 0.36 (95% CI 0.70 - 0.02). Nakon umetanja podataka o standardnoj devijaciji WMD (0.30) nije bio statistički značajan (95% CI 0.60 - 0.00, I^2 = 78%).

4.1.8. Analize podskupina

Vrste probiotika

U 4 studije od njih ukupno15 korišten je *Lactobacillus rhamnosus* (3 studije koristile su soj *Lactobacillus GG*: Szajewska 2009, Arvola 1999, Vanderhoof 1999; 1 je koristila sojeve E/N, Oxy i Pen: Ruszczynski 2008) (73, 83, 84, 87), dok su 3 koristile kvasac *Saccharomyces boulardii* (soj lyo) (Kotowska 2005, Erdeve 2004, Benhamou 1999) (45, 74, 79). Kombinirani rezultati četiriju studija s *L. rhamnosus* (n = 611) bili su statistički značajni upućujući na zaštitno djelovanje probiotika (RR0.35, 95% CI 0.22 - 0.56, I^2 = 0%). Sažetak statistike za studije sa *Saccharomyces boulardii* (n = 1328) nije bio statistički značajan (RR 0.45; 95% CI 0.14 to 1.48, I2 = 88%). Test interakcija otkrio je statistički neznačajnu heterogenost povezanu s vrstama.

Doza probiotika

Dnevna doza probiotika veoma je varirala (od 200 milijuna do 40 bilijuna CFU/dan). U 14 od 15 studija koje su navele incidenciju proljeva navedeni su podaci o doziranju (45, 73, 74, 76-79, 81-87). *A priori* analiza podskupina uspoređivala je dozu manju od 5 bilijuna

CFU/dan nasuprot dozi jednakoj ili većoj od 5 bilijuna CFU/dan. 7 studija u kojima su djeca dobivala 5 do 40 bilijuna bakterijskih ili stanica kvasca na dan pokazalo je dokaze o preventivnom djelovanju probiotika (45, 73, 79, 81-83, 87). U studijama u kojima su se upotrebljavale visoke doze probiotika zajednička incidencija AAD iznosila je 8% u skupini s probiotikom, a 22% u skupini bez probiotika (kontrolna, skupina s terapijom ili skupina bez ikakve terapije) (RR 0.40, 95% CI 0.29 - 0.55, I^2 = 29%). Za 7 studija u kojima su ispitanici dobivali manje od 5 bilijuna bakterijskih/kvaščevih CFU/dan (200 milijuna CFU/dan (85), 825 milijuna CFU/dan (77), 1 bilijun CFU/dan (76, 84), 2 bilijun CFU/dan (86), 4 bilijuna CFU/dan (78) i 4.5 bilijuna CFU/dan) (74) zbirni rezultati nisu bili statistički značajni. U studijama niskih doza skupna incidencija AAD iznosila je 8% u skupini s probiotikom, a u skupini bez probiotika 11% (kontrolna, skupina s terpijom ili skupina bez ikakve terapije) (RR 0.80, 95% CI 0.53 - 1.21, I^2 = 36%). Test interakcija otkrio je statistički značajnu heterogenost povezanu s dozom (P = 0.010; I^2 = 85.1%). Koristeći 11 kriterija za procjenu vjerodostojnosti analize podskupine, dobiveni su rezultati koji upućuju na to da je učinak ovisan o dozi (≥ 5 bilijuna CFU/dan) u podskupini bio uvjerljiv.

Kvaliteta

Od 15 studija koje su sadržavale podatke o incidenciji proljeva, 8 studija bilo je niskog rizika pristranosti (45, 77, 81-85, 87), a preostalih 7 visokog rizika pristranosti (73, 74, 76, 78-80, 86). Analiza podskupina onih studija niskog rizika pristranosti nasuprot onima izloženim visokom riziku pristranosti pokazala je statistički značajne rezultate za studije niskog rizika (RR 0.45, 95% CI 0.34 - 0.60) nasuprot visokom riziku (RR 0.65, 95% CI 0.37 - 1.13). Test interakcija nije bio statistički značajan (P = 0.26). Dodatno, sažetak statistike iz podskupina visokog i niskog rizika pristranosti ne pokazuje obrnuti trend između kvalitete i terapeutskog učinka. Drugim riječima, kako kvaliteta raste (npr. randomizacija, zaslijepljene, prikrivanje razvrstavanja), terapeutski učinak probiotika se ne smanjuje.

Definicija proljeva

Kriterij za proljev varirao je između studija, uz 13 studija koje su definirale početak/dijagnozu proljeva. 8 studija (45, 73, 76-78, 83-85) definiralo je proljev kao ≥ 3 kašaste/vodenaste/tekuće stolice na dan, najmanje 2 dana za redom (RR 0.40, 95% CI 0.28 - 0.59). 2 studije (74, 79) definirale su proljev kao ≥ 3 vodenaste/tekuće stolice u 24 sata (RR 0.65, 95% CI 0.15 - 2.85). Studija Tankanow 1990 (86) definira proljev kao jedan ili više abnormalno tekućih pražnjenja crijeva u 24 sata (RR 0.96, 95% CI 0.6 - 1.50). LaRosa 2003

(81) definira proljev kao najmanje 2 vodenasta pražnjenja crijeva u razdoblju od 24 sata (RR 0.47, 95% CI 0.29 - 0.77). Vanderhoof 1999 (87) definira proljev kao 2 ili više kašastih stolica u 2 ili više navrata tijekom trajanja studije (RR 0.29, 95% CI 0.13 - 0.63). Trend između definicija proljeva korištenih u uključenim studijama nije pronađen (tj. porast učinkovitosti probiotika u studijama s konzervativnijim definicijama AAD [tj. 1 ili više kašastih stolica na dan]).

Antibiotici

6 od 15 studija pružilo je prikladne detalje u vezi antibiotika koji su korišteni (koadministriran s probiotikom) (45, 74, 77-79, 83). Antibiotici su kategorizirani u klase (npr. beta-laktami/penicilini, cefalosporini, makrolidi) i provedena je analiza podgrupe na 3 od 6 studija u kojima je korišteno ≥ 5 bilijuna CFU/dan (45, 79, 83). U podskupini pacijenata koji su dobivali samo beta-laktame/peniciline primijećena je statistički značajna razlika (RR 0.27, 95%CI 0.15 - 0.46) između kontrolne skupine i one u kojoj su ispitanici primali probiotik (45, 79, 83). 2 su studije objavile su stopu incidencije AAD u pacijenta koji su primali cefalosporine (45, 83), a 2 stopu incidencije u pacijenata koji su primali makrolide (79, 83) i obje su pokazale nesignifikantnu razliku (RR 0.49, 95% CI 0.17 - 1.45; i RR 0.50, 95% CI 0.21 - 1.19). Testovi interakcije (beta-laktami/penicilini nasuprot cefalosporinima; beta-laktami/penicilini nasuprot makrolidima) nisu bili statistički značajni (P = 0.33, P = 0.24).

4.1.9. Analize osjetljivosti

Nasumičan nasuprot fiksnom učinku

Analiza osjetljivosti koristeći nasumični (RR 0.52, 95% CI 0.38 - 0.72) nasuprot modelima fiksnog učinka za incidenciju proljeva pokazuje ograničenu razliku između relativnog rizika i odgovarajućeg 95%-tnog raspona pouzdanosti. Ipak, zbog toga što je I^2 statistika pokazala umjerenu heterogenost unutar i između studija, model nasumičnog učinka korišten je za sve statističke analize.

Analiza incidencije proljeva

3392 pedijatrijska pacijenta originalno su randomizirana u 15 studija koje su sadržavale podatke o primarnom ishodu (incidenciji proljeva). 11 od 15 studija prijavilo je gubitak ispitanika iz praćenja od čega je 5 prijavilo značajnu zabrinutost zbog osipanja.

Gubitak ispitanika iz praćenja u tim studijama bio je 20% (84), 21% (73), 28% (74), 28% (79) i 36% (86).

Napravljene su pretpostavke o podacima koji su nedostajali i bili ekstremni, ali uvjerljivi za dvije odvojene analize. Prva je uključivala 7 studija koje su koristile visoke doze probiotika (≥ 5 bilijuna CFU/dan) za analizu primarne djelotvornosti, dok je druga analiza uključivala sve studije koje su sadržavale podatke o analizi primarne djelotvornosti. 6 od 7 studija koje su koristile ≥ 5 bilijuna CFU/dan imalo je gubitak ispitanika iz praćenja (6 do 28%) dok je 11 od 15 onih koje su sadržavale podatke o djelotvornosti primarnog ishoda imalo gubitke u praćenju. Ako podaci o broju pacijenata randomiziranih u svaku skupinu ili broju ispitanika izgubljenih u praćenju u svakoj skupini nisu bili dostupni, pretpostavljeno je da je gubitak ispitanika u praćenju bio što jednakiji (blokirana randomizacija).

Nakon umetanja podataka za odgovore koji su nedostali, ekstremno uvjerljiva ITT analiza (60% djece izgubljene iz praćenja u skupini s probiotikom i 20% iz kontrolne skupine imalo je proljev), uključujući 7 pokusa s visokim dozama, pokazala je granično značajnu korist na stranu probiotika. U studijama u kojima su se upotrebljavale visoke doze probiotika zajednička incidencija AAD iznosila je 17% u skupini s probiotikom, a 22% u skupini bez probiotika (kontrolna, skupina s terapijom ili skupina bez ikakve terapije) (RR 0.72, 95% CI 0.53 - 0.99, I^2 = 57%). Rezultati ekstremno uvjerljive ITT analize temeljene na svih 15 studija pokazuju da uporaba probiotika u prevenciji početka proljeva nije bila statistički značajna. Skupna incidencija AAD u skupini s probiotikom bila je 16%, a u skupini bez probiotika iznosila je 18% (kontrolna, skupina s terapijom ili skupina bez terapije) (RR 0.8, 95% CI 0.6 - 1.04, I^2 = 59%).

Analiza nuspojava

Pretpostavljajući da su pacijenti izgubljeni tijekom praćenja u svakoj od studija mogli imati nuspojave, provedena je analiza osjetljivosti da bi testirali robusnost primarno dostupne analize slučaja. Među 4 studije koje su prijavile nuspojave, proporcija nuspojava bila je 14,4% (27/187) u skupini s terapijom i 7,29% (14/192) u kontrolnoj skupini. Za svih 11 studija u kojima je prijavljen gubitak iz praćenja, autori su dodijelili istu stopu nuspojava kao i za one koji su do kraja praćeni u svojim randomiziranim skupinama (14,4% i 7,29% ispitanika s nuspojavama u skupini s terapijom i kontrolnoj skupini). Slično našoj analizi štete primarno dostupnih slučajeva (RD 0,00, 95% CI 0,01 - 0,02), ista stopa nuspojava pretpostavlja da je analiza koja uključuje svih 16 pokusa doprinijela zajedničkoj (ili sumarnoj) procjeni učinka (RD 0.01, 95% CI 0.00 - 0.02).

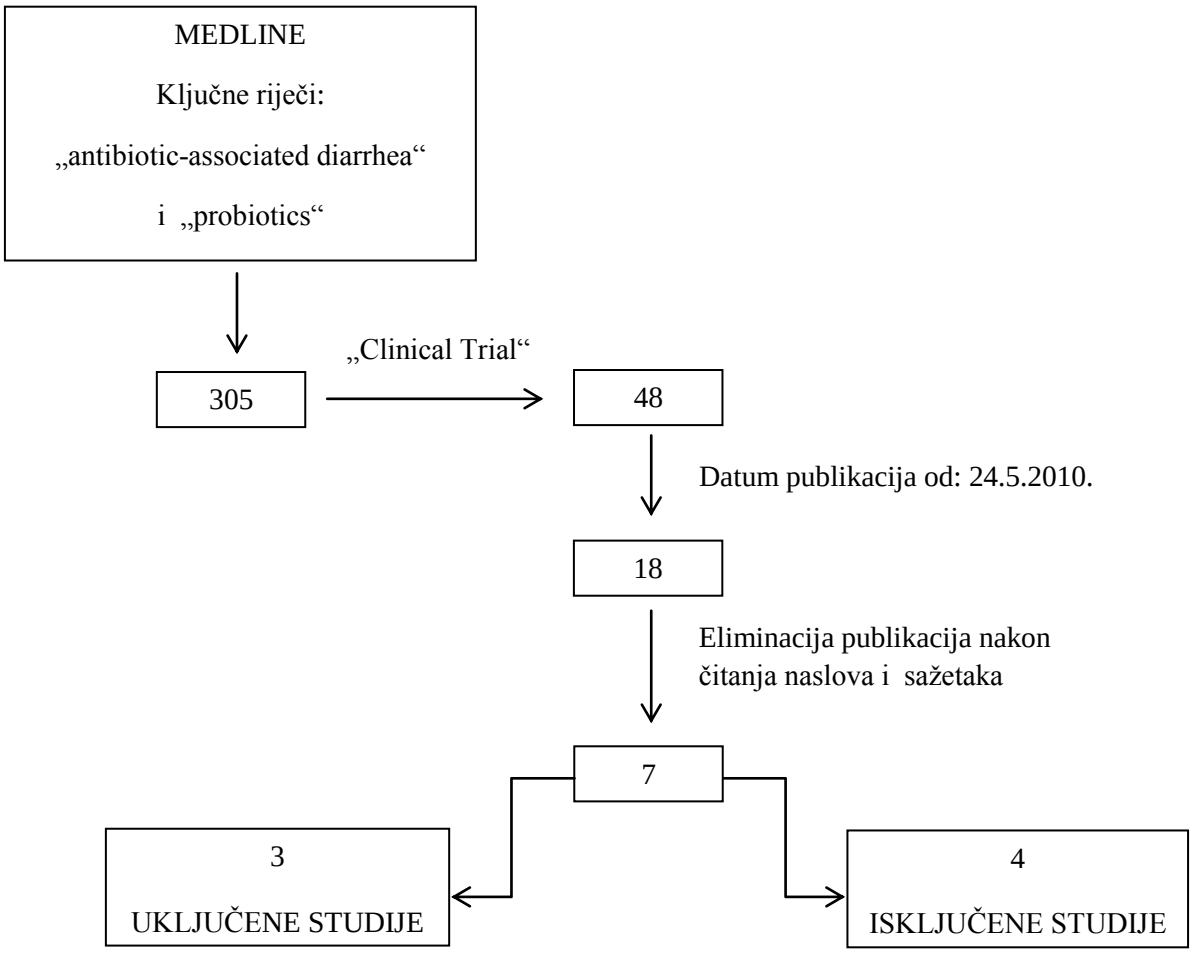
Otklon zbog pristranog objavljivanja

Analiza ljevkastog dijagrama ne pruža indikacije zbog pristranog objavljivanja pokazujući generalnu simetriju lijevka za odnos između stope rizika i standardne greške. Iako ograničen broj studija izvještava o incidenciji proljeva (n = 15), dodatni testovi temeljeni na Beggsovom testu korelacije (P = 0.55) i Eggersovom regresijskom testu također nisu uspjeli predložiti dokaze o pristranom objavljivanju. Iako test samih autora za pristranost objavljivanja nije uspio dokazati da su negativne studije ostale neobjavljene, literatura sugerira da su ovi testovi, u najbolje slučaju, subjektivni. Vrijednost ovih testova nije utemeljena i kao rezultat jakih zahtjeva za ili protiv, pristranost objavljivanja trebala bi biti izbjegavana ako ne postoje jasni dokazi koji sugeriraju prisutnost ili odsutnost negativnih rezultata koji su ostalo neobjavljeni (67).

4.2. Pretraživanje literature objavljene nakon Cochrane sustavnog pregleda

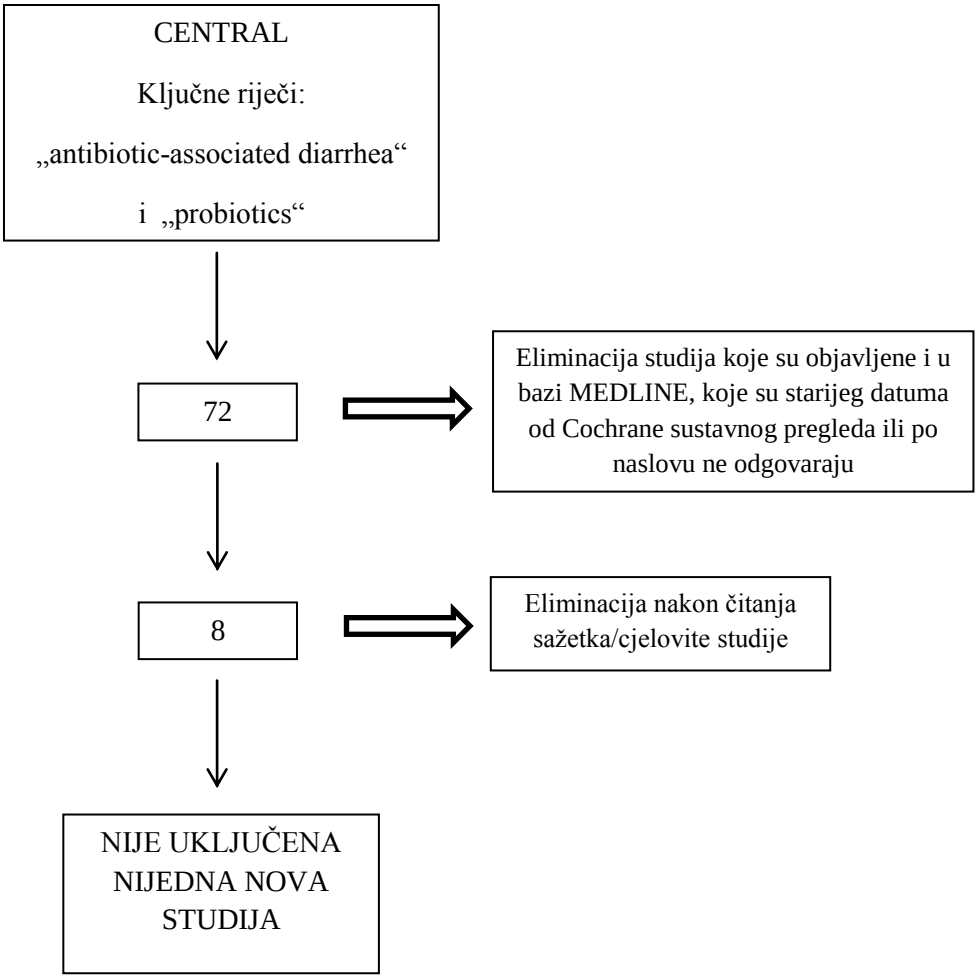
4.2.1. Pretraživanje baza MEDLINE (PubMed) i CEENTRAL za randomizirane kliničke pokuse (RCT)

Na Slici 5 prikazan je postupak pretraživanja baze MEDLINE. U tražilici na mrežnoj stranici PubMed upisane su ključne riječi: „*antibiotic-associated diarrhea*“ i „*probiotics*“. Nakon početne pretrage dobiveno je 305 rezultata. Nakon toga uključen je filter „*Clinical Trial*“ jer nas zanimaju samo kontrolirani klinički pokusi pa se broj rezultata smanjio na 48. U Cochrane sustavnom pregledu (67) navedeno je da je baza MEDLINE pretraživana od 1966. do svibnja 2010. godine. Zbog toga je kao filter dodan i datum publikacije te su pretraživanje sve publikacije objavljene od 24. svibnja 2010. godine. Time se broj publikacija smanjio na 18. Sljedeći korak bila je eliminacija publikacija za koje se iz naslova ili čitanjem sažetka vidjelo da ne odgovaraju temi. Nakon čitanja sažetaka preostalo je 7 radova koje je trebalo detaljnije proučiti i odlučiti odgovaraju li radovima odabranima za Cochrane sustavni pregled (67). Od preostalih 7 studija, 4 su eliminirane, a 3 su studije uključene u rad.



Slika 5. Pretraživanje baze MEDLINE.

Nakon te pretrage uslijedilo je pretraživanje baze CENTRAL koja indeksira kliničke pokuse. Isto kao i prilikom pretrage baze MEDLINE, upisane su ključne riječi: „*antibiotic-associated diarrhea*“ i „*probiotics*“. Pronađena su 72 indeksirana klinička pokusa koje smo najprije usporedili s onima na PubMedu pa su isti odmah isključeni, a nakon toga su isključeni i oni starijeg datuma od Cochrane sustavnog pregleda, te radovi koji po naslovu ne odgovaraju temi. Preostalo je 8 kliničkih pokusa, koji su nakon čitanja cjelovite publikacije eliminirani zbog različite populacije (odrasli, a ne djeca) u odnosu na onu u radovima koji su obrađeni u Cochrane sustavnom pregledu (67). Na Slici 6 prikazan je opisani postupak pretraživanja baze CENTRAL.



Slika 6. Pretraživanje baze CENTRAL.

Karakteristike studija objavljenih nakon Cochrane sustavnog pregleda (67) koje zadovoljavaju kriterije

Investigating Group for Prevention of AAD in Children with Pneumonia by Clostridium Butyricum and Bifidobacterium

„Multicenter, randomized, controlled clinical trial on preventing antibiotic-associated diarrhea in children with pneumonia using the live Clostridium butyricum and Bifidobacterium combined Powder“ **(112)**

Metode	Randomizirana, multicentrična studija *Gubitak iz praćenja*: 8 ispitanika (2%) *Vremenski period trajanja studije:* Od travnja do prosinca 2011. *Razdoblje praćenja*: 1 tjedan
Sudionici	N=380 *Dijagnoza:* Upala pluća *Zemlja:* Kina *Dob:* 3 mjeseca do 3 godine
Intervencije	*Probiotici:* Kombinirani prah s Clostridium butyricum i Bifidobacterium u dozi od 5×10^9 CFU/dan kroz 7 dana tijekom terapije antibioticima
Ishodi	*Incidencija proljeva:* 7.8% (13/193) u skupini s probiotikom nasuprot 16.8% (30/179) u kontrolnoj skupini; redukcija rizika od AAD za 53.6% (RR = 0.419, 95%CI 0.217 - 0.808; P = 0.008) *Nuspojave:* Nisu zabilježene nikakve nuspojave

Shan 2013

„Prevention and treatment of diarrhoea with Saccharomyces boulardii in children with acute lower respiratory tract infections“ **(113)**

Metode	Randomizirana, paralelna studija *Gubitak iz praćenja*: 50 ispitanika (15%)
Sudionici	N=333 *Dijagnoza*: Akutna infekcija donjeg respiratornog trakta Sudionici su najprije razvrstani u dvije grupe (A ili B). Nakon što su neki od pacijenata iz grupe B dobili proljev (N = 42), razvrstani su u dvije podgrupe (B1 i B2) i nastavili su primati probiotik još 5 dana kako bi se provjerila učinkovitost i sigurnost *S. Boulardii* u prevenciji, ali i tretiranju proljeva
Intervencije	*Probiotici*: *S. boulardii* 500 mg/dan (A i B1) *Antibiotici:* Intravenski antibiotici
Ishodi	*Prevlanecija proljeva*: 7.9% u skupini s probiotikom nasuprot 29.2% u kontrolnoj skupini (RR: 0.27, 95% CI 0.1-0.5) Nakon razvrstavanja u podgrupe: *Manja učestalost stolice* (P<0.05) i viša stopa oporavka u podskupini B1 (91.3% nasuprot 21.1% u B2, P<0.001). *Prosječno trajanje proljeva*: 2.31±0.95 dana u B1nasuprot 8.97±1.07 dana u B2, P<0.001 *Nuspojave:* Nisu zapažene nuspojave povezane sa *S. boulardii* *Definicija proljeva:* ≥ 3 tekuće/vodenaste stolice/dan tijekom najmanje 2 dana, koje se javljaju tijekom terapije i/ili do 2 tjedna nakon završetka terapije antibioticima

Fox 2015

„***Can probiotic yogurt prevent diarrhoea in children on antibiotics? A double-blind, randomised, placebo-controlled study***“ **(38)**

Metode	Randomizirana, dvostruko slijepa, multicentrična, paralelna studija, s placebom kao kontrolom *Gubitak iz praćenja*: 2 ispitanika (3%) *Razdoblje praćenja*: tijekom trajanja i 1 tjedan nakon završetka terapije antibioticima *Razvrstavanje u terapijske skupine*: Da bi se osiguralo prikrivanje razvrstavanja, nezavisna osoba je nadgledala pakiranje i etiketiranje terapija na temelju randomizacijskog rasporeda *Zaslijepljivanje*: Svi istražitelji, sudionici, procjenitelji ishoda i analitičari su bili zaslijepljeni tijekom trajanja studije
Sudionici	N=72 *Dijagnoza:* Nije specificirano *Zemlja:* Australija *Mjesto*: 2 ordinacije opće prakse i 4 ljekarne *Dob:* 1-12 godina *Kriteriji isključenja:* Alergija ili netolerancija mlijeka, ako je pacijent bio na terapiji antibioticima kroz prethodna 2 mjeseca prije početka studije, profilaktička terapija antibioticima, korištenje probiotskih proizvoda u medicinske svrhe kroz prethodnih 7 dana prije početka studije, imunodeficijencija, kronična bolest GI sustava i akutni ili kronični proljev
Intervencije	*Probiotici: Lactobacillus rhamnosus* GG (prosječna doza 5.2×109 CFU/dan),

	Bifidobacterium lactis (prosječna doza 5.9×109 CFU/dan) i *Lactobacillus acidophilus* (prosječna doza 8.3×109 CFU/dan) *Kontrola:* Placebo jogurt koji je sadržavao S.thermophilus (prosječna doza 4.4×104 CFU/dan) i L. bulgaricus (prosječna doza 1.2×103 CFU/dan) *Antibiotici:* beta-laktami, makrolidi, tetraciklini
Ishodi	*Incidencija proljeva*: Nije bilo slučajeva ozbiljnog proljeva u skupini s probiotikom dok ih je u skupini s placebom bilo 6(konzistencija stolice ≥6, ≥3 stolice/dan kroz ≥2 dana za redom) (Fisher's exact p=0.025). Zabilježen je 1 slučaj manje ozbiljnog proljeva u skupini s probiotikom u usporedbi s 21 u skupini s placebom (konzistencija stolice ≥5, ≥2 stolice/dan kroz ≥2 dana) (Fisher's exact p<0.001) Nuspojave: Više je nuspojava prijavljeno u skupini s placebom (6 je osjećalo abdominalnu bol, 4 je izgubilo apetit, a 1 je pacijent osjećao mučninu), nego u skupini s probiotikom (1 je pacijent osjećao abdominalnu bol, 1 je povraćao, a 1 imao glavobolju). *Dijagnoza proljeva*: Različite dijagnoze, podijeljene po stupnju ozbiljnosti ovisno o učestalosti i konzistenciji stolice (A) konzistencija stolice ≥ 5 i učestalost stolice ≥2/dan kroz više od 2 dana (B) konzistencija stolice ≥ 5 i učestalost

	stolice ≥3/dan kroz više od 2 dana; (C) konzistencija stolice ≥ 6 i učestalost stolice ≥2/dana kroz više od 2 dana, (D) konzistencija stolice ≥ 6 i učestalost stolice ≥3/dan kroz više od 2 dana

Tablica 2. Razlozi isključenja studija

Studija	**Razlog isključenja**
Dietrich 2014 *„Commercially available probiotic drinks containing Lactobacillus casei DN-114001 reduce antibiotic-associated diarrhea*“ (114)	Nije uključivala djecu
Wong 2014 *„A Lactobacillus casei Shirota probiotic drink reduces antibiotic-associated diarrhoea in patients with spinal cord injuries: a randomised controlled trial“* (115)	Nije uključivala djecu
Souza 2012 *„The effect of Lactobacillus casei and Bifidobacterium breve on antibiotic-associated diarrhea treatment: randomized double-blind clinical trial“* (116)	Nije uključivala djecu
Szajewska 2012 *„Inulin and fructo-oligosaccharides for the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children: report by the ESPGHAN Working Group on Probiotics and Prebiotics“* (117)	Različita intervencija, korišten je prebiotik umjesto probiotika

4.2.2. Pretraživanje Cochrane knjižnice i baze DARE za sustavne preglede

Prilikom pretraživanja Cochrane knjižnice po ključnim riječima „*antibiotic-associated diarrhea*“ i „*probiotics*“ pronađena su 4 Cochrane sustavna pregleda i 12 sustavnih pregleda u bazi DARE. Zatim je uslijedila eliminacija radova starijeg datuma od Cochrane sustavnog pregleda (67) te onih kojima se iz naslova vidjelo da ne odgovaraju zadanoj temi. Na kraju nam je preostao samo 1 Cochrane sustavni pregled koji je odgovarao kriterijima uključenja. Radi se o sustavnom pregledu „*Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea“* iz 2015. godine (118). Od sustavnih pregleda iz baze DARE preostala su samo 2 koja su, nakon čitanja cjelovite studije, također eliminirana.

Goldenberg 2015

„*Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea“* (118)

Primarni cilj ovog sustavnog pregleda bio je procijeniti djelotvornost i sigurnost probiotika (bilo koji navedeni soja ili doza) koji se koriste za prevenciju AAD u djece. Istraživači su ispitivali sprječavaju li probiotici AAD u djece koja su primala terapiju antibioticima i uzrokuju li probiotici nuspojave.

Uključene su 23 studije (3938 sudionika) koje su zadovoljile kriterije uključenja. U studijama su korišteni različiti sojevi probiotika, pojedinačno ili u kombinaciji. Utvrđeno je da je rizik od pristranosti bio visok ili nejasan u 13 studija i nizak u 10 studija. Učestalost AAD u skupini s probiotikom iznosila je 8% (163/1992) u odnosu na 19% (364/1906) u kontrolnoj skupini (RR 0.46, 95% CI 0.35 – 0.61, I^2 = 55%). U nijednoj od 16 studija (n = 2455) koje su izvijestile o nuspojavama nisu zabilježene ozbiljne nuspojave koji se mogu pripisati probioticima.

Dokazi umjerene kvalitete upućuju na zaštitni učinak probiotika u prevenciji AAD. Skupna procjena autora sugerira precizan učinak probiotika (RR 0.46. 95% CI 0.35 – 0.61) uz NNT od 10. Između različitih probiotika koji su proučavani, *Lactobacillus rhamnosus* ili *Saccharomyces boulardii*, u dozi od 5 do 40 milijardi CFU/dan, mogu biti prikladni s obzirom na skroman NNT i vjerojatnost da su nuspojave vrlo rijetke. Prerano je zaključivati o djelotvornosti i sigurnosti drugih probiotičkih sredstava za pedijatrijski AAD. Dok se ne provedu daljnja istraživanja, uporaba probiotika treba se izbjegavati u dječjoj populaciji u kojoj postoji rizik od nuspojava.

4.3. R-AMSTAR procjena sustavnih pregleda

1) *„Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea“* (67)
    1. Zadovoljava kriterije A, B, C → 4 BODA
    2. Zadovoljava kriterij A, C → 3 BODA
    3. Zadovoljava kriterije A, B, C, D, E → 4 BODA
    4. Zadovoljava kriterij A, B, D → 4 BODA
    5. Zadovoljava kriterije A, B, C, D → 4 BODA
    6. Zadovoljava kriterije A, C→ 3 BODA
    7. Zadovoljava kriterije A, B, D → 3 BODA
    8. Zadovoljava kriterije A, B → 2 BODA
    9. Zadovoljava kriterije B, C, D→ 3 BODA
    10. Zadovoljava kriterije A, B, C → 4 BOD
    11. Zadovoljava kriterije A, B → 3 BODA

UKUPNA OCJENA KVALITETE SUSTAVNOG PREGLEDA: **37 BODOVA**

2) *„Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea“* (118)
    1. Zadovoljava kriterije A, B, C → 4 BODA
    2. Zadovoljava kriterije A, C → 3 BODA
    3. Zadovoljava kriterije A, B, C, D, E → 4 BODA
    4. Zadovoljava kriterije A, B, D → 4 BODA
    5. Zadovoljava kriterije A, B, C, D → 4 BODA
    6. Zadovoljava kriterije A, C→ 3 BODA
    7. Zadovoljava kriterije A, B, D → 3 BODA
    8. Zadovoljava kriterije A, B → 2 BODA
    9. Zadovoljava kriterije B, C, D→ 3 BODA
    10. Zadovoljava kriterij B → 2 BODA
    11. Zadovoljava kriterije A, B → 3 BODA

UKUPNA OCJENA KVALITETE SUSTAVNOG PREGLEDA: **35 BODOVA**

5. RASPRAVA

Cilj ovog rada bio je pronaći dokaze o sigurnosti i učinkovitosti primjene probiotika u prevenciji proljeva u djece povezanih s antibioticima. Pronalaženje kvalitetnih dokaza u mnoštvu raznih informacije koje su nam svakodnevno dostupne, i istodobno pravilno vrednovanje i prosuđivanje na temelju istih, predstavlja izazov s kojim se susrećemo prilikom implementiranja farmakoterapije temeljene na dokazima u rad s pacijentima. Dokazi razine 1 smatraju se najpouzdanijim izvorom dokaza. Razinu 1 čine sustavni pregledi RCT-ova (1a), koji se smatraju zlatnim standardom i najvišom razinom dokaza jer su nastali zajedničkim radom više autora i opsežnim pretraživanje svih studija koje se bave istim kliničkim pitanjem, i pojedinačni RCT-ovi (1b). Upravo zato, ovaj se rad temelji na Cochrane sustavnim pregledima i pojedinačnim randomiziranim kontroliranim pokusima.

Pretraživanje literature započelo je Cochrane sustavnim pregledom (67) prema kojem, usprkos heterogenosti između sojeva probiotika, doza, trajanja i kvalitete studija, ukupni dokazi sugeriraju protektivni učinak probiotika u prevenciji AAD. Ovaj sustavni pregled uključuje 16 studija i 3432 pacijenta. 9 studija koristilo je probiotike samo jednog soja, dok su u preostalih 7 studija korištene kombinacije različitih sojeva. 8 studija imalo je visok rizik od pristranosti, a preostalih 8 nizak. Analizom rezultata dostupnih slučajeva (djeca koja nisu završila studiju nisu uključena u analizu) za 15 od 16 studija koje su prijavile incidenciju proljeva pokazana je velika, precizna prednost probiotika u odnosu na grupe u kojima su pacijenti primali placebo, aktivnu terapiju ili nisu primali nikakvu terapiju. Međutim, ITT analiza osjetljivosti pokazala je da korist probiotika u prevenciji AAD nije statistički značajna (60% djece koja su izgubljena u vremenu praćenja u skupini koja je primila probiotik i 20% u kontrolnoj skupini imalo je proljev). A priori analiza podskupina koja je provedena i za dozu probiotika istražujući heterogenost sugerira da su visoke doze (≥5 bilijona CFU/dan) djelotvornije od niskih doza (< 5 bilijona CFU/dan). Provedena ITT analiza bila je granično značajna za probiotike u visokim dozama. U nijednoj od 11 studija (n=1583) u kojima su prijavljene, nisu zabilježene nikakve ozbiljne nuspojave.

Koristeći 11 kriterija za procjenu vjerodostojnosti analize podskupina, rezultati pokazuju da je učinak u podskupini temeljen na dozi (≥5 bilijuna CFU/dan) bio vjerodostojan. Na temelju probiotika visoke doze, NNT je bio 7. Ipak, GRADE analiza pokazuje da je ukupna kvaliteta dokaza za primarni ishod (incidenciju proljeva) bila niska zbog problema s rizikom od pristranosti (zbog velikih gubitaka iz praćenja) i nepreciznosti.

Zbog svega što je prethodno navedeno, korist od probiotika u visokim dozama (*Lactobacillus rhamnosus* ili *Saccharomyces boulardii*) mora biti potvrđena velikim, dobro ustrojenim randomiziranim pokusima. Potrebno je više specifičnih pokusa koji bi analizirali pojedinačne sojeve probiotika i procijenili njihovu djelotvornost (incidencija i trajanje proljeva) i sigurnost probiotika s ograničenim gubicima iz praćenja. Prerano je za donošenje zaključaka o djelotvornosti i sigurnosti drugih probiotskih pripravaka za pedijatrijski AAD. Budući bi pokusi svakako profitirali od standardnih i valjanih rezultata u mjerenju AAD.

Nakon Cochrane sustavnog pregleda (67) pretraživanjem literature pronađeni su novi randomizirani kontrolirani pokusi. Ukupno su 3 studije uključene u ovaj rad (38, 112, 113). Svaka od te tri studije koristila je specifičan probiotski soj ili kombinaciju sojeva. Za razliku od Cochrane sustavnog pregleda, ove su studije obuhvaćale puno manji broj pacijenata. Prema rezultatima prve studije, jogurt koji je sadržavao kombinaciju sojeva *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG), *Bifidobacterium lactis* (Bb-12) i *Lactobacillus acidophilus* (La-5) pokazao se učinkovitim u redukciji incidencije AAD u djece. (38). Međutim, pacijenti su praćeni samo tjedan dana nakon terapije antibioticima, a studija je rađena na malom broju paciijenata, svega 72. Druga studija uključila je 380 pacijenata, a korišten je kombinirani prah sa živim sojevima *Clostridium butyricum* i *Bifidobacterium.* Rezultati pokazuju da je ta kombinacija učinkovito smanjila rizik od AAD u hospitalizirane djece s upalom pluća. Djeca su praćena 7 dana kao i u prvoj studiji (112). Treću je studiju završilo 283 djece koja su primala probiotski soj *Saccharomyces boulardii*. Djeca su praćena 2 tjedna, a razultati pokazuju da je *Saccharomyces boulardii* učinkovit u prevenciji i terapiji djece s AAD (113). Iako rezultati ovih studija, za razliku od onih iz Cochrane sustavnog pregleda (67), jasno navode da su probiotici djelotvorni u prevenciji AAD, ne možemo donositi zaključke o djelotvornosti i sigurnosti svih probiotika na temelju samo 3 studije koje su uključivale relativno mali broj djece i specifične probiotske sojeve, a karakterizira ih i kratak period praćenja pacijenata.

Na samom kraju, pronađen je noviji Cochrane sustavni pregled (118). On je uključivao 23 studije i 3938 pacijenata. Analizom rezultata dostupnih slučajeva za 22 od 23 studije koje su prijavile incidenciju proljeva pokazana je velika, precizna prednost probiotika u odnosu na grupe u kojima su pacijenti primali placebo, aktivnu terapiju ili nisu primali nikakvu terapiju. Međutim, za razliku od starijeg sustavnog pregleda, nakon analize osjetljivosti korist probiotika u prevenciji AAD ostala je statistički značajna, a GRADE analizom ukupna snaga

dokaza procijenjena je kao umjerena. U nijednoj od 16 studija (n=2455) u kojima su prijavljene, nisu zabilježene nikakve ozbiljne nuspojave.

Dokazi umjerene kvalitete sugeriraju protektivni učinak probiotika u prevenciji AAD s NNT koji je 10. S obzirom na umjeren NNT i malu vjerojatnost nuspojava, *Lactobacillus rhamnosus* ili *Saccharomyces boulardii* u dozi od 5 do 40 bilijuna CFU/dan mogli bi biti prikladni u prevenciji AAD u djece na terapiji antibioticima. Ipak, autori smatraju da je prerano donositi zaključke o djelotvornosti i sigurnosti drugih probiotskih pripravaka. Nuspojave nisu zabilježene u inače zdrave djece, ali jesu u ozbiljno oslabljenje, imunokompromitirane i djece koja su koristila centralni venski kateter pa se do daljnjih istraživanja i novih spoznaja preporučuje izbjegavati upotrebu probiotika u takvoj pedijatrijskoj populaciji.

Napravljena je R-AMSTAR procjena kvalitete za oba sustavna pregleda, od kojih je Cochrane sustavni pregled (67) dobio višu ocjenu (37 od maksimalno 44 boda). Drugi sustavni pregled dobio je 35 bodova (118).

Iz svih navedenih sustavnih pregleda i pojedinačnih randomiziranih studija izgledno je da postoji korist od primjene probiotika u prevenciji AAD, ali je ona još nedovoljno potvrđena pa su potrebna daljnja dobro ustrojena klinička ispitivanja.

6. ZAKLJUČCI

1. Rezultati studija ukazuju da bi probiotici mogli biti djelotvorni u prevenciji AAD.
2. Prema rezultatima dviju studija koje su koristile različite probiotske sojeve, probiotici su učinkoviti u smanjenju rizika i incidencije AAD dok je u trećoj studiji, koja je kao probiotik koristila *Saccharomyces boulardii*, istaknuta i učinkovitost u terapiji AAD.
3. Oba sustavna pregleda posebno su istaknula sojeve *Lactobacillus rhamnosus* i *Saccharomyces boulardii* kao korisne u prevenciji AAD, ali i nemogućnost donošenja zaključaka o sigurnosti i djelotvornosti probiotika na temelju rezultata čija je kvaliteta varirala od niske do umjerene.
4. Nuspojave se rijetko javljaju u normalno zdrave djece i u njih nisu zabilježene nikakve ozbiljnije nuspojave. Međutim, u imunokompromitirane, ozbiljno oslabljene djece i djece s centralnih venskim kateterom opažne su ozbiljne nuspojave zbog čega se uporaba probiotika ne preporuča u toj pedijatrijskoj populaciji.
5. S obzirom na različitu snagu dokaza, veliku raznolikost probiotskih sojeva i postojanje pedijatrijske skupine u kojoj je uporaba probiotika rizična, prerano je za donošenje zaključaka o sigurnosti i djelotvornosti drugih probiotskih pripravaka u prevenciji AAD.
6. Dosadašnje rezultate potrebno je potvrditi dobro ustrojenim randomiziranim kliničkim pokusima na što većem broju pacijenata, s ograničenim gubicima u tijeku praćenja pacijenata, a s naglaskom na ispitivanje specifičnih probiotskih sojeva.

7. POPIS CITIRANE LITERATURE

1. Sekirov I, Russell SL, Antunes LC, Finlay BB. Gut microbiota in health and disease. Physiol Rev. 2010;90:859-904.
2. Antunes LC, Han J, Ferreira RB, Lolic P, Borchers CH, Finlay BB. Effect of antibiotic treatment on the intestinal metabolome. Antimicrob agents ch. 2011;55:1494-503.
3. Morelli L. Postnatal development of intestinal microflora as influenced by infant nutrition. J Nutr. 2008;138:1791S-5S.
4. Neish AS. Microbes in gastrointestinal health and disease. Gastroenterology. 2009;136:65-80.
5. Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ. Prokaryotes: the unseen majority. Proc Natl Acad Sci U S A. 1998;95:6578-83.
6. Lee KN, Lee OY. Intestinal microbiota in pathophysiology and management of irritable bowel syndrome. World J Gastroentero. 2014;20:8886-97.
7. Lepage P, Leclerc MC, Joossens M, Mondot S, Blottiere HM, Raes J, et al. A metagenomic insight into our gut's microbiome. Gut. 2013;62:146-58.
8. O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. EMBO Rep. 2006;7:688-93.
9. Scupham AJ, Presley LL, Wei B, Bent E, Griffith N, McPherson M, et al. Abundant and diverse fungal microbiota in the murine intestine. Appl Environ Microb. 2006;72:793-801.
10. Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007;104:13780-5.
11. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. Science. 2005;308:1635-8.
12. Li M, Wang M, Donovan SM. Early development of the gut microbiome and immune-mediated childhood disorders. Semin Reprod Med. 2014;32:74-86.
13. DiGiulio DB, Romero R, Amogan HP, Kusanovic JP, Bik EM, Gotsch F, et al. Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labor: a molecular and culture-based investigation. PloS one. 2008;3:e3056.
14. Steel JH, Malatos S, Kennea N, Edwards AD, Miles L, Duggan P, et al. Bacteria and inflammatory cells in fetal membranes do not always cause preterm labor. Pediatr Res. 2005;57:404-11.
15. Satokari R, Gronroos T, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E. Bifidobacterium and Lactobacillus DNA in the human placenta. Lett Appl Microbiol. 2009;48:8-12.

16. Biasucci G, Benenati B, Morelli L, Bessi E, Boehm G. Cesarean delivery may affect the early biodiversity of intestinal bacteria. J Nutr. 2008;138:1796S-800S.
17. Arrieta MC, Stiemsma LT, Amenyogbe N, Brown EM, Finlay B. The intestinal microbiome in early life: health and disease. Front Immunol. 2014;5:427.
18. Fallani M, Amarri S, Uusijarvi A, Adam R, Khanna S, Aguilera M, et al. Determinants of the human infant intestinal microbiota after the introduction of first complementary foods in infant samples from five European centres. Microbiology. 2011;157:1385-92.
19. Koenig JE, Spor A, Scalfone N, Fricker AD, Stombaugh J, Knight R, et al. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011;108 Suppl 1:4578-85.
20. Lozupone CA, Stombaugh J, Gonzalez A, Ackermann G, Wendel D, Vazquez-Baeza Y, et al. Meta-analyses of studies of the human microbiota. Genome Res. 2013;23:1704-14.
21. Fanaro S, Chierici R, Guerrini P, Vigi V. Intestinal microflora in early infancy: composition and development. Acta Paediatr Suppl. 2003;91:48-55.
22. Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. Development of the human infant intestinal microbiota. PLoS Biol. 2007;5:e177.
23. Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. Nature. 2012;486:222-7.
24. Rutten NB, Rijkers GT, Meijssen CB, Crijns CE, Oudshoorn JH, van der Ent CK, et al. Intestinal microbiota composition after antibiotic treatment in early life: the INCA study. BMC Pediatr. 2015;15:204.
25. Sommer F, Backhed F. The gut microbiota--masters of host development and physiology. Nat Rev Microbiol. 2013;11:227-38.
26. Hogenauer C, Hammer HF, Krejs GJ, Reisinger EC. Mechanisms and management of antibiotic-associated diarrhea. Clin infect dis: an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 1998;27:702-10.
27. Topping DL, Clifton PM. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. Physiol Rev. 2001;81:1031-64.
28. Viggiano D, Ianiro G, Vanella G, Bibbo S, Bruno G, Simeone G, et al. Gut barrier in health and disease: focus on childhood. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2015;19:1077-85.
29. Cammarota G, Ianiro G, Bibbo S, Gasbarrini A. Gut microbiota modulation: probiotics, antibiotics or fecal microbiota transplantation? Intern Emerg Med. 2014;9:365-73.
30. Jernberg C, Lofmark S, Edlund C, Jansson JK. Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. Microbiology. 2010;156:3216-23.

31. Goldenberg JZ, Ma SS, Saxton JD, Martzen MR, Vandvik PO, Thorlund K, et al. Probiotics for the prevention of Clostridium difficile-associated diarrhea in adults and children. Cochrane Database Syst Rev. 2013;5:CD006095.

32. Issa I, Moucari R. Probiotics for antibiotic-associated diarrhea: do we have a verdict? World J Gastroentero. 2014;20:17788-95.

33. Cunha BA. Antibiotic therapy, Part II. Introduction. Med Clin North Am. 2001;85:xi-xvi.

34. Bartlett JG. Clinical practice. Antibiotic-associated diarrhea. N Engl J Med. 2002;346:334-9.

35. Panda S, El khader I, Casellas F, Lopez Vivancos J, Garcia Cors M, Santiago A, et al. Short-term effect of antibiotics on human gut microbiota. PloS one. 2014;9:e95476.

36. Varankovich NV, Nickerson MT, Korber DR. Probiotic-based strategies for therapeutic and prophylactic use against multiple gastrointestinal diseases. Front Microbiol. 2015;6:685.

37. Zhu R, Chen K, Zheng YY, Zhang HW, Wang JS, Xia YJ, et al. Meta-analysis of the efficacy of probiotics in Helicobacter pylori eradication therapy. World J Gastroentero. 2014;20:18013-21.

38. Fox MJ, Ahuja KD, Robertson IK, Ball MJ, Eri RD. Can probiotic yogurt prevent diarrhoea in children on antibiotics? A double-blind, randomised, placebo-controlled study. BMJ open. 2015;5:e006474.

39. Johnston BC, Supina AL, Vohra S. Probiotics for pediatric antibiotic-associated diarrhea: a meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. CMAJ. 2006;175:377-83.

40. Dennehy PH. Acute diarrheal disease in children: epidemiology, prevention, and treatment. Infect Dis Clin North Am. 2005;19:585-602.

41. Das JK, Lassi ZS, Salam RA, Bhutta ZA. Effect of community based interventions on childhood diarrhea and pneumonia: uptake of treatment modalities and impact on mortality. BMC Public Health. 2013;13 Suppl 3:S29.

42. Alam S, Mushtaq M. Antibiotic associated diarrhea in children. Indian Pediatr. 2009;46:491-6.

43. Haran JP, Hayward G, Skinner S, Merritt C, Hoaglin DC, Hibberd PL, et al. Factors influencing the development of antibiotic associated diarrhea in ED patients discharged home: risk of administering IV antibiotics. Am J Emerg Med. 2014;32:1195-9.

44. Allen SJ, Wareham K, Wang D, Bradley C, Hutchings H, Harris W, et al. Lactobacilli and bifidobacteria in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea and Clostridium

difficile diarrhoea in older inpatients (PLACIDE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. Lancet. 2013;382:1249-57.

45. 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 Pharm Therap. 2005;21:583-90.

46. Tanaka S, Kobayashi T, Songjinda P, Tateyama A, Tsubouchi M, Kiyohara C, et al. Influence of antibiotic exposure in the early postnatal period on the development of intestinal microbiota. FEMS Immunol Med Mic. 2009;56:80-7.

47. Fouhy F, Guinane CM, Hussey S, Wall R, Ryan CA, Dempsey EM, et al. High-throughput sequencing reveals the incomplete, short-term recovery of infant gut microbiota following parenteral antibiotic treatment with ampicillin and gentamicin. Antimicrob agents ch. 2012;56:5811-20.

48. Jakobsson HE, Jernberg C, Andersson AF, Sjolund-Karlsson M, Jansson JK, Engstrand L. Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome. PloS one. 2010;5:e9836.

49. Cho I, Yamanishi S, Cox L, Methe BA, Zavadil J, Li K, et al. Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity. Nature. 2012;488(7413):621-6.

50. Kamada N, Chen GY, Inohara N, Nunez G. Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota. Nat Immunol. 2013;14:685-90.

51. Ng KM, Ferreyra JA, Higginbottom SK, Lynch JB, Kashyap PC, Gopinath S, et al. Microbiota-liberated host sugars facilitate post-antibiotic expansion of enteric pathogens. Nature. 2013;502:96-9.

52. De La Cochetiere MF, Durand T, Lepage P, Bourreille A, Galmiche JP, Dore J. Resilience of the dominant human fecal microbiota upon short-course antibiotic challenge. J Clin Microbiol. 2005;43:5588-92.

53. Mugambi MN, Young T, Blaauw R. Application of evidence on probiotics, prebiotics and synbiotics by food industry: a descriptive study. BMC Res Notes. 2014;7:754.

54. Hungin AP, Mulligan C, Pot B, Whorwell P, Agreus L, Fracasso P, et al. Systematic review: probiotics in the management of lower gastrointestinal symptoms in clinical practice -- an evidence-based international guide. Aliment Pharm Therap. 2013;38:864-86.

55. Sarowska J, Choroszy-Krol I, Regulska-Ilow B, Frej-Madrzak M, Jama-Kmiecik A. The therapeutic effect of probiotic bacteria on gastrointestinal diseases. Adv Clin Exp Med. 2013;22:759-66.

56. McFarland LV. Evidence-based review of probiotics for antibiotic-associated diarrhea and Clostridium difficile infections. Anaerobe. 2009;15:274-80.
57. Sherman PM, Johnson-Henry KC, Yeung HP, Ngo PS, Goulet J, Tompkins TA. Probiotics reduce enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7- and enteropathogenic E. coli O127:H6-induced changes in polarized T84 epithelial cell monolayers by reducing bacterial adhesion and cytoskeletal rearrangements. Infect Immun. 2005;73:5183-8.
58. Doron S, Gorbach SL. Probiotics: their role in the treatment and prevention of disease. Expert review of anti-infective therapy. 2006;4:261-75.
59. Alvarez-Olmos MI, Oberhelman RA. Probiotic agents and infectious diseases: a modern perspective on a traditional therapy. Clin Infect Dis : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2001;32:1567-76.
60. Morrow LE, Gogineni V, Malesker MA. Probiotics in the intensive care unit. Nutrition in clinical practice : official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition. 2012;27:235-41.
61. Naidu AS, Bidlack WR, Clemens RA. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). Crit Rev Food Sci. 1999;39:13-126.
62. Wallace TC, Guarner F, Madsen K, Cabana MD, Gibson G, Hentges E, et al. Human gut microbiota and its relationship to health and disease. Nutr Rev. 2011;69:392-403.
63. Bhardwaj A, Malik RK, Chauhan P. Functional and safety aspects of enterococci in dairy foods. Indian journal of microbiology. 2008;48:317-25.
64. McFarland LV. Meta-analysis of probiotics for the prevention of traveler's diarrhea. Travel medicine and infectious disease. 2007;5:97-105.
65. Thygesen JB, Glerup H, Tarp B. Saccharomyces boulardii fungemia caused by treatment with a probioticum. BMJ case reports. 2012;2012.
66. Gardiner GE, O'Sullivan E, Kelly J, Auty MA, Fitzgerald GF, Collins JK, et al. Comparative survival rates of human-derived probiotic Lactobacillus paracasei and L. salivarius strains during heat treatment and spray drying. Appl Environ Microb. 2000;66:2605-12.
67. Johnston BC, Goldenberg JZ, Vandvik PO, Sun X, Guyatt GH. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. Cochrane Database Syst Rev. 2011:CD004827.
68. Kung J, Chiappelli F, Cajulis OO, Avezova R, Kossan G, Chew L, et al. From Systematic Reviews to Clinical Recommendations for Evidence-Based Health Care:

Validation of Revised Assessment of Multiple Systematic Reviews (R-AMSTAR) for Grading of Clinical Relevance. The open dentistry journal. 2010;4:84-91.

69. Cochrane AL. Archie Cochrane in his own words. Selections arranged from his 1972 introduction to "Effectiveness and Efficiency: Random Reflections on the Health Services" 1972. Control Clin Trials. 1989;10:428-33.

70. Huang X, Lin J, Demner-Fushman D. Evaluation of PICO as a knowledge representation for clinical questions. AMIA Annual Symposium proceedings / AMIA Symposium AMIA Symposium. 2006:359-63.

71. Moher D, Tetzlaff J, Tricco AC, Sampson M, Altman DG. Epidemiology and reporting characteristics of systematic reviews. PLoS medicine. 2007;4:e78.

72. Shea BJ, Grimshaw JM, Wells GA, Boers M, Andersson N, Hamel C, et al. Development of AMSTAR: a measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. BMC medical research methodology. 2007;7:10.

73. Arvola T, Laiho K, Torkkeli S, Mykkanen H, Salminen S, Maunula L, et al. Prophylactic Lactobacillus GG reduces antibiotic-associated diarrhea in children with respiratory infections: a randomized study. Pediatrics. 1999;104:e64.

74. Benhamou PH BP, Danjou G, Plique O, Jessueld, D DC. Antibiotic-associated diarrhoea in children: A computer monitored double-blind outpatients trial comparing a protective and a probiotic agent. Médecine & Chirurgie Digestives. 1999;28:163–8.

75. Contardi I. [Oral bacterial therapy in prevention of antibiotic-induced diarrhea in childhood]. La Clinica terapeutica. 1991;136:409-13. Batterioterapia orale quale prevenzione della diarrea da antibiotici in eta pediatrica.

76. Conway S, Hart A, Clark A, Harvey I. Does eating yogurt prevent antibiotic-associated diarrhoea? A placebo-controlled randomised controlled trial in general practice. Brit J Gen Pract : the journal of the Royal College of General Practitioners. 2007;57:953-9.

77. Correa NB, Peret Filho LA, Penna FJ, Lima FM, Nicoli JR. A randomized formula controlled trial of Bifidobacterium lactis and Streptococcus thermophilus for prevention of antibiotic-associated diarrhea in infants. J Clin Gastroenterol. 2005;39:385-9.

78. Destura R. Bacillus clausii in preventing antibioticassociated diarrhea among Filipino infants and children: A multi-center, randomized, open-label clinical trial of efficacy and safety. Unpublished.

79. Erdeve O, Tiras U, Dallar Y. The probiotic effect of Saccharomyces boulardii in a pediatric age group. J Trop Pediatrics. 2004;50:234-6.

80. Jirapinyo P, Densupsoontorn N, Thamonsiri N, Wongarn R. Prevention of antibiotic-associated diarrhea in infants by probiotics. J Med Assoc Thailand = Chotmaihet thangphaet. 2002;85 Suppl 2:S739-42.

81. La Rosa M, Bottaro G, Gulino N, Gambuzza F, Di Forti F, Ini G, et al. [Prevention of antibiotic-associated diarrhea with Lactobacillus sporogens and fructo-oligosaccharides in children. A multicentric double-blind vs placebo study]. Minerva Pediatr. 2003;55:447-52. Prevenzione della diarrea associata ad antibiotici con Lactobacillus sporogenes e frutto-oligosaccaridi. Studio pediatrico multicentrico in doppio cieco vs placebo.

82. Merenstein DJ, Foster J, D'Amico F. A randomized clinical trial measuring the influence of kefir on antibiotic-associated diarrhea: the measuring the influence of Kefir (MILK) Study. Arch Pediat Adol Med. 2009;163:750-4.

83. Ruszczynski 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 Pharm Ther. 2008;28:154-61.

84. Szajewska H, Albrecht P, Topczewska-Cabanek A. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial: effect of lactobacillus GG supplementation on Helicobacter pylori eradication rates and side effects during treatment in children. J Pediatr Gastr Nutr. 2009;48:431-6.

85. Szymanski H, Armanska M, Kowalska-Duplaga K, Szajewska H. 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;78:13-7.

86. Tankanow RM, Ross MB, Ertel IJ, Dickinson DG, McCormick LS, Garfinkel JF. A double-blind, placebo-controlled study of the efficacy of Lactinex in the prophylaxis of amoxicillin-induced diarrhea. DICP : the annals of pharmacotherapy. 1990;24:382-4.

87. Vanderhoof JA, Whitney DB, Antonson DL, Hanner TL, Lupo JV, Young RJ. Lactobacillus GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children. J Pediatr. 1999;135:564-8.

88. Beausoleil M, Fortier N, Guenette S, L'Ecuyer A, Savoie M, Franco M, et al. 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 = Journal canadien de gastroenterologie. 2007;21:732-6.

89. Brunser O, Gotteland M, Cruchet S, Figueroa G, Garrido D, Steenhout P. Effect of a milk formula with prebiotics on the intestinal microbiota of infants after an antibiotic treatment. Pediatr Res. 2006;59:451-6.

90. Can M, Besirbellioglu BA, Avci IY, Beker CM, Pahsa A. Prophylactic Saccharomyces boulardii in the prevention of antibiotic-associated diarrhea: a prospective study. Med Sci monitor : international medical journal of experimental and clinical research. 2006;12:PI19-22.

91. Chapoy P. [Treatment of acute infantile diarrhea: controlled trial of Saccharomyces boulardii]. Ann Pediatr-Paris. 1985;32:561-3. Traitement des diarrhees aigues infantiles: essai controle de Saccharomyces boulardii.

92. Czerwionka-Szaflarska M KR, Mierzwa G, Bala G,Murawska S. Effect of probiotic bacteria supplementation on the tolerance of helicobacter pylori eradication therapy in children and youth. Pediatria Polska. 2006;81:334–41.

93. Erdeve O, Tiras U, Dallar Y, Savas S. Saccharomyces boulardii and antibiotic-associated diarrhoea in children. Aliment Pharm Ther. 2005;21:1508-9; author reply 9.

94. Honeycutt TC, El Khashab M, Wardrop RM, 3rd, McNeal-Trice K, Honeycutt AL, Christy CG, et al. Probiotic administration and the incidence of nosocomial infection in pediatric intensive care: a randomized placebo-controlled trial. Pediatr Crit Care Me : a journal of the Society of Critical Care Medicine and the World Federation of Pediatric Intensive and Critical Care Societies. 2007;8:452-8; quiz 64.

95. Kim MN, Kim N, Lee SH, Park YS, Hwang JH, Kim JW, et al. The effects of probiotics on PPI-triple therapy for Helicobacter pylori eradication. Helicobacter. 2008;13:261-8.

96. Koning CJ, Jonkers DM, Stobberingh EE, Mulder L, Rombouts FM, Stockbrugger RW. The effect of a multispecies probiotic on the intestinal microbiota and bowel movements in healthy volunteers taking the antibiotic amoxycillin. Am J Gastroenterol. 2008;103:178-89.

97. Lei V, Friis H, Michaelsen KF. Spontaneously fermented millet product as a natural probiotic treatment for diarrhoea in young children: an intervention study in Northern Ghana. Int J Food Microbiol. 2006;110:246-53.

98. Lionetti E, Miniello VL, Castellaneta SP, Magista AM, de Canio A, Maurogiovanni G, et al. Lactobacillus reuteri therapy to reduce side-effects during anti-Helicobacter pylori treatment in children: a randomized placebo controlled trial. Aliment Pharm Ther. 2006;24:1461-8.

99. McFarland LV. Can Saccharomyces boulardii prevent antibiotic-associated diarrhea in children? Nat Clin Pract Gastr. 2005;2:262-3.

100. Michielutti F, Bertini M, Presciuttini B, Andreotti G. [Clinical assessment of a new oral bacterial treatment for children with acute diarrhea]. Minerva Med. 1996;87:545-50. Valutazione clinica di un nuovo batterioterapico orale in pazienti di eta pediatrica con diarrea acuta.

101. Savas-Erdeve S, Gokay S, Dallar Y. Efficacy and safety of Saccharomyces boulardii in amebiasis-associated diarrhea in children. Turkish J Pediatr. 2009;51:220-4.

102. Schrezenmeir J, Heller K, McCue M, Llamas C, Lam W, Burow H, et al. Benefits of oral supplementation with and without synbiotics in young children with acute bacterial infections. Clin Pediatr. 2004;43:239-49.

103. Seki H, Shiohara M, Matsumura T, Miyagawa N, Tanaka M, Komiyama A, et al. Prevention of antibiotic-associated diarrhea in children by Clostridium butyricum MIYAIRI. Pediatr Int : official journal of the Japan Pediatric Society. 2003;45:86-90.

104. Siitonen S, Vapaatalo H, Salminen S, Gordin A, Saxelin M, Wikberg R, et al. Effect of Lactobacillus GG yoghurt in prevention of antibiotic associated diarrhoea. Ann Med. 1990;22:57-9.

105. Srinivasan R, Meyer R, Padmanabhan R, Britto J. Clinical safety of Lactobacillus casei shirota as a probiotic in critically ill children. Journal Pediatr Gastr Nutr. 2006;42:171-3.

106. Sykora J, Valeckova K, Amlerova J, Siala K, Dedek P, Watkins S, et al. Effects of a specially designed fermented milk product containing probiotic Lactobacillus casei DN-114 001 and the eradication of H. pylori in children: a prospective randomized double-blind study. J Clin Gastroenterol. 2005;39:692-8.

107. Thomas MR, Litin SC, Osmon DR, Corr AP, Weaver AL, Lohse CM. Lack of effect of Lactobacillus GG on antibiotic-associated diarrhea: a randomized, placebo-controlled trial. Mayo Clin Proc. 2001;76:883-9.

108. Weizman Z, Asli G, Alsheikh A. Effect of a probiotic infant formula on infections in child care centers: comparison of two probiotic agents. Pediatrics. 2005;115:5-9.

109. Wenus C, Goll R, Loken EB, Biong AS, Halvorsen DS, Florholmen J. Prevention of antibiotic-associated diarrhoea by a fermented probiotic milk drink. Eur J Clin Nutr. 2008;62:299-301.

110. Witsell DL, Garrett CG, Yarbrough WG, Dorrestein SP, Drake AF, Weissler MC. Effect of Lactobacillus acidophilus on antibiotic-associated gastrointestinal morbidity: a prospective randomized trial. J Otolaryngol. 1995;24:230-3.

111. Zoppi G CM, Benini A, Bonamini E, Minelli EB. Modulation of the intestinal ecosystem by probiotics and lactulose in children during treatment with ceftriaxone. Curr Ther Res. 2001;62:418–35.
112. [Multicenter, randomized, controlled clinical trial on preventing antibiotic-associated diarrhea in children with pneumonia using the live Clostridium butyricum and Bifidobacterium combined Powder]. Zhonghua er ke za zhi Chinese journal of pediatrics. 2012;50:732-6.
113. Shan LS, Hou P, Wang ZJ, Liu FR, Chen N, Shu LH, et al. Prevention and treatment of diarrhoea with Saccharomyces boulardii in children with acute lower respiratory tract infections. Beneficial microbes. 2013;4:329-34.
114. Dietrich CG, Kottmann T, Alavi M. Commercially available probiotic drinks containing Lactobacillus casei DN-114001 reduce antibiotic-associated diarrhea. World J Gastroentero. 2014;20:15837-44.
115. Wong S, Jamous A, O'Driscoll J, Sekhar R, Weldon M, Yau CY, et al. A Lactobacillus casei Shirota probiotic drink reduces antibiotic-associated diarrhoea in patients with spinal cord injuries: a randomised controlled trial. Brit J Nutr. 2014;111:672-8.
116. Souza DN, Jorge MT. The effect of Lactobacillus casei and Bifidobacterium breve on antibiotic-associated diarrhea treatment: randomized double-blind clinical trial. Rev Soc Bras Med Tro. 2012;45:112-6.
117. Szajewska H, Weizman Z, Abu-Zekry M, Kekez AJ, Braegger CP, Kolacek S, et al. Inulin and fructo-oligosaccharides for the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children: report by the ESPGHAN Working Group on Probiotics and Prebiotics. J Pediatr Gastr Nutr. 2012;54:828-9.
118. Goldenberg JZ, Lytvyn, L. , Steurich, J. , Parkin, P. , Mahant, S., Johnston, B. C. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. Cochrane Database Syst Rev. 2015(12).

8. SAŽETAK

Cilj istraživanja: Pronaći najbolje dostupne dokaze o sigurnosti i učinkovitosti probiotika u prevenciji proljeva povezanih s antibioticima u djece.

Materijal i metode: Na stranici Cochrane knjižnice je pronađen sustavni pregled „Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea“ koji je bio okosnica daljnjeg istraživanja. Dalje su pretražene baze podataka MEDLINE (PubMed), DARE i CENTRAL u potrazi za novim randomiziranim kontoliranim pokusima i sustavnim pregledima, a prema ulaznim i izlaznim kriterijima navedenima u Cochrane sustavnom pregledu. Nakon pretraživanja literature napravljena je procjena kvalitete Cochrane sustavnog pregleda i novih pronađenih sustavnih pregleda pomoću R-AMSTAR ljestvice.

Rezultati: Prema Cochrane sustavnom pregledu rezultati analiza pokazuju da probiotici mogu biti djelotvorni u prevenciji AAD (RR 0.52, 95%CI 0.38 - 0.72, I^2 = 56%). Nakon ITT analize osjetljivosti koja je provedena koristeći random-effect modele, korist probiotika u prevenciji AAD nije bila statistički značajna (RR 0.81, 95% CI 0.63 - 1.04, I^2 = 59%) dok je analiza osjetljivosti podgrupe bila granično značajna za probiotike visokih doza. U nijednoj od 11 studija koje su prijavile nuspojave nisu zabilježene nikakve ozbiljne nuspojave. Pronađene su i 3 nove studije u kojima se jasno navodi postojanje signifikantne razlike između skupina s probiotikom i kontrolnih skupina. Rezultati dviju studija nedvojbeno ističu djelotvornost probiotika u prevenciji i smanjenju rizika od AAD (RR = 0.419, 95% CI 0.217 - 0.808; P = 0.008). U trećoj studiji rezulati su pokazali da su probiotici osim u prevenciji djelotvorni i u terapiji AAD skraćujući trajanje proljeva (P<0.001) i smanjujući učestalost stolice (P<0.05). U 2 od 3 studije nisu zapažene nuspojave povezane s primjenom probiotika dok su u trećoj studiji nuspojave bile rijetke i blage. Noviji Cochrane sustavni pregled donosi dokaze umjerene kvalitete koji potvrđuju da probiotici mogu biti djelotvorni u prevenciji AAD (RR 0.46, 95% CI 0.35 - 0.61). Uporaba sojeva *Lactobacillus rhamnosus* ili *Saccharomyces boulardii* u dozi od 5 - 40 bilijuna CFU/dan može biti opravdana s obzirom na skroman NNT od 10 i malu vjerojatnost nuspojava. U inače zdrave djece nisu zapažene ozbiljne nuspojave, ali su se one javljale u ozbiljno oslabljene, imunokompromitirane ili djece koja su koristila centralni venski kateter. U oba Cochrane sustavna pregleda zaključeno je da je prerano za donošenje zaključaka o djelotvornosti i sigurnosti drugih probiotskih pripravaka za pedijatrijski AAD. Prvi Cochrane sustavni pregled je prema R-AMSTAR procjeni ocijenjen sa 37, a drugi sa 35 bodova.

Zaključak: Na temelju pregledanih sustavnih pregleda i randomiziranih kontroliranih pokusa nema dovoljno podataka o djelotvornosti i sigurnosti primjene probiotika za prevenciju proljeva povezanih antibioticima u djece.

9. SUMMARY

Diploma Thesis Title: Finding the evidence about efficacy and safety of probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea: systematic review approach

Objectives: To find the best available evidence of efficacy and safety of probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea.

Material and Methods: „Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea" systematic review was found by searching the Cochrane Library website. Further, MEDLINE (PubMed), DARE and CENTRAL databases were searched in order to find new randomised controlled trials and systematic reviews, following the same criteria that were used in Cochrane systematic review. After the search for studies was done, we made quality assessment of all systematic reviews using R-AMSTAR tool.

Results: According to the Cochrane systematic review, the results of the analysis indicate that probiotics may be effective in preventing AAD (RR of 0.52, 95% CI 00:38 - 0.72, I^2 = 56%). After ITT sensitivity analysis that was conducted using random-effect models, the benefit of probiotics in preventing AAD was not statistically significant (RR 0.81, 95% CI 0.63 - 1.04, I^2 = 59%) while the ITT subgroup analysis was marginally significant for high dose probiotics. None of the 11 trials that reported on adverse events documented any serious adverse events. We found 3 new RCTs which clearly state the existence of significant differences between the groups with probiotic and control groups. Results of two studies undeniably highlight the effectiveness of probiotics in preventing and reducing the risk of AAD (RR = 0.419, 95% CI 0.217 - 0.808; P = 0.008). In a third study, results show that probiotics are effective in the prevention and treatment of diarrhoea and AAD shortening the duration of diarrhea (P <0.001) and reducing the frequency of stools (P <0.05). In 2 of 3 studies no adverse events associated with the use of probiotics were observed while the third study reported some mild and rare side effect. More recent Cochrane systematic review provides evidence of moderate quality that confirmed that probiotics may be effective in preventing AAD (RR 0.46, 95% CI 0.35 - 0.61). *Lactobacillus rhamnosus* or *Saccharomyces boulardii* at 5 to 40 billion CFU/day may be appropriate given the modest NNT and the likelihood that side effects are very rare. Although no serious adverse events were observed among otherwise healthy children, serious side effects have been observed in severely debilitated or immuno-compromised children with underlying risk factors including central venous catheter useas. Both Cochrane systematic reviews concluded that it is to early to draw

conclusions about the efficacy and safety of other probiotic agents for pediatric AAD. Total R-AMSTAR score for the first Cochrane systematic review was 37 and for the second 35.

Conclusion: Based on the reviewed systematic reviews and randomized controlled trials, there is no enough evidence supporting efficacy and safety of probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea.

10. POPIS KRATICA

AAD - proljev povezan s antibioticima (engl. Antibiotic-associated diarrhea)

AMSTAR - *Assessment of Multiple Systematic Reviews*

CENTRAL - Cochrane Central Register of Controlled Trials

CFU – jedinica koja formira koloniju (engl. *Colony-forming unit*)

DARE - Database of Abstract of Reviews of Effect

ITT – intention to treat

LTFU - gubitak (ispitanika) iz praćennja (engl. *Loss to follow up*)

NNH - broj osoba kojima se škodi (engl. *Number needed to harm*)

NNT - broj osoba koje treba liječiti (engl. *Number needed to treat*)

PICO - *Patient, Intervention, Comparison, Outcome*

R-AMSTAR - revidirani AMSTAR

RCT - randomizirani kontrolirani pokus (engl. *Randomised controlled trial*)

11. ŽIVOTOPIS

OSOBNI PODATCI

Ime i prezime: Martina Matas

Adresa: Vukovarska 175, 21000 Split

Telefon: +385977942386

Elektronička pošta: mmatas285@gmail.com

Državljanstvo: hrvatsko

Datum i mjesto rođenja: 28. svibnja 1991. godine, Split

ŠKOLOVANJE

- 2010. – 2016. Kemijsko-tehnološki fakultet i Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu - Integrirani preddiplomski i diplomski studij Farmacija
- 2006. – 2010. III. gimnazija, Split
- 1998. – 2006. Osnovna škola Pujanki, Split

STRANI JEZICI

- Engleski jezik – tečno
- Španjolski jezik – tečno
- Talijanski jezik - osnovno

ČLANSTVA

- Od 2013. članica Udruge studenata farmacije i medicinske biokemije Hrvatske (CPSA)