

# Probiotici u prevenciji i liječenju akutnog proljeva u djece

---

**Kovačević, Vinka**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2014**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:348972>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2020-10-21**



*Repository / Repozitorij:*

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Vinka Kovačević**

**Probiotici u prevenciji i liječenju akutnog  
proljeva u djece**

**DIPLOMSKI RAD**



Zagreb, 2014.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Klinici za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Zagreb, Zavod za gastroenterologiju, hepatologiju i prehranu, pod vodstvom doc. dr. sc. Irene Senečić-Čala i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2013/2014.

## KRATICE

CDC: Centar za kontrolu bolesti i prevenciju (eng. *Centers for Disease Control and Prevention*)

CFU: broj koloniformnih jedinica (eng. *number of colony-forming units*)

ESPGHAN: Europsko društvo za dječju gastroenterologiju, hepatologiju i prehranu (eng. *European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition*)

ESPID: Europsko društvo za dječje infektivne bolesti (eng. *European Society for Paediatric Infectious Diseases*)

FAO: Organizacija za prehranu i poljoprivredu (eng. *Food and Agriculture Organization*)

IFN- $\gamma$ : interferon gama

IgA: imunoglobulin A

IL-: interleukin-

LA: mliječna kiselina (eng. *lactic acid*)

LGG: *Lactobacillus rhamnosus* GG

NICE: Nacionalni institut za zdravlje i kliničku izvrsnost (eng. *National Institute for Health and Care Excellence*)

PAMP: dijelovi stijenke mikroorganizma koji se vežu za receptore na stanicama imunološkog sustava (eng. *Pathogen-Associated Molecular Patterns*)

RCT: randomizirani kontrolirani klinički pokus (eng. *randomised control trial*)

Th1: pomoćnički T limociti 1 (eng. *T helper 1*)

TLR: eng. *toll-like receptors*

TNF- $\alpha$ : čimbenik tumorske nekroze alfa (eng. *Tumor Necrosis Factor alpha*)

WHO: Svjetska zdravstvena organizacija (eng. *World Health Organization*)

# SADRŽAJ

Sažetak .....	VI
Summary .....	VIII
1. UVOD .....	1
2. AKUTNI PROLJEV U DJECE .....	3
2.1 Etiologija .....	3
2.2 Klinička prezentacija .....	6
2.3 Dijagnostički postupak .....	7
2.3.1 Anamneza i fizikalni pregled .....	7
2.3.2 Laboratorijske pretrage .....	8
2.4 Liječenje .....	8
3. PROBIOTICI .....	11
3.1 Definicija .....	11
3.2 Vrste probiotika .....	12
3.2.1 Rod <i>Bifidobacterium</i> .....	13
3.2.2 Rod <i>Lactobacillus</i> .....	14
3.2.3 Ostali probiotici .....	14
3.3 Mehanizmi djelovanja .....	15
3.3.1 Blokiranje djelovanja patogenih bakterija .....	15
3.3.2 Regulacija funkcije crijevnog epitela .....	16
3.3.3 Regulacija imunološkog odgovora sluznice .....	17
3.4 Klinička primjena .....	18
4. PREVENCIJA I LIJEČENJE AKUTNOG PROLJEVA U DJECE PROBIOTICIMA ..	20
4.1 Terapija probioticima .....	20
4.1.1 <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG .....	21
4.1.2 <i>Saccharomyces boulardii</i> .....	22
4.1.3 <i>Lactobacillus reuteri</i> DSM 17938 .....	22
4.2 Prevencija .....	23

4.3	Sigurnost.....	24
5.	ZAHVALE.....	25
6.	LITERATURA .....	26
7.	ŽIVOTOPIS.....	34

## Sažetak

### PROBIOTICI U PREVENCIJI I LIJEČENJU AKUTNIH PROLJEVA U DJECE

Vinka Kovačević

Proljev se definira kao više od 3 stolice u 24 sata, promijenjene konzistencije (mekane ili vodene) i/ili povećanog volumena za jednu trećinu uobičajene stolice, katkad s primjesama sluzi i krvi. Akutni proljev obično traje kraće od 7, ali ne dulje od 14 dana. Akutne crijevne infekcije glavni su uzrok akutnog proljeva u djece. Najviše slučajeva je posljedica virusne infekcije rotavirusom. Terapija ima za cilj spriječiti pojavu dehidracije i uspostaviti ponovnu elektrolitsku i acidobaznu ravnotežu primjenom otopina za oralnu rehidraciju, te iznimno u teškim slučajevima dehidracije, intravenskom rehidracijom.

Probiotici su živi mikroorganizmi koji, ako se konzumiraju u odgovarajućoj dozi kao dodatak hrani, imaju pozitivan učinak na zdravlje domaćina. Zbog svojih osobina da blokiraju djelovanje patogenih bakterija natječući se s njima za nutrijente i vezno mjesto, snižavanjem lokalnog pH u lumenu crijeva, lučenjem antibakterijskih supstanci i regulacijom imunološkog odgovora sluznice, probiotici mogu imati ulogu u terapiji određenih bolesti probavnog sustava.

Probiotici primijenjeni u terapiji akutnog proljeva, smanjuju intenzitet simptoma i skraćuju trajanje proljeva za 1 dan. Njihov je učinak ovisan o vrsti i dozi probiotika, značajan je za vodenasti virusni, ali ne i za invazivni bakterijski gastroenteritis, očitiji pri što ranijoj primjeni probiotika u tijeku bolesti i kod proljeva u djece u razvijenim zemljama. U posljednjim ESPGHAN/ESPID smjernicama o postupanju u akutnom gastroenteritisu, 2014. godine, preporučena su 3 probiotika, *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG), *Saccharomyces boulardii* i *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 kao dodatak oralnoj rehidraciji. Postoje jasni dokazi da i mnogi drugi probiotici imaju jednako terapijsko djelovanje, no potrebne su detaljnije studije o učinku, dozi i sigurnosti svakoga od njih. Rezultati nekoliko



randomiziranih kontroliranih kliničkih pokusa ukazali su na učinak probiotika u prevenciji akutnog proljeva u djece no trenutni podaci nisu dovoljni za rutinsku primjenu probiotika u te svrhe.

Ključne riječi: akutan proljev, probiotici, ESPGHAN smjernice.

## Summary

### PROBIOTICS IN PREVENTION AND TREATMENT OF ACUTE DIARRHEA IN CHILDREN

Vinka Kovačević

Diarrhea is defined as more than 3 bowel movements in 24 hours, with stools of abnormal (loose or watery) consistency and/or increased volume to one third of usual stool, sometimes also with traces of mucus and blood. Diarrhea typically lasts less than 7 days and no longer than 14 days. Acute intestinal infections are the leading causes of diarrhea in children. Most cases are caused by a rotavirus infection. The therapy is aimed at preventing dehydration and re-establishing electrolyte and acid base balance. This is achieved through the use of oral rehydration solutions and through intravenous rehydration (only in the case of serious dehydration).

Probiotics are live microorganisms which, if consumed in appropriate amounts as a food supplement, have a beneficial effect on the health of the host. Because of their characteristic to block the activity of pathogenic bacteria, competing with them for nutrients and binding sites, by lowering the pH value in the intestinal lumen, by secreting antibacterial substances, and regulating the immune response of the mucosa, probiotics can play a role in the therapy of some gastrointestinal diseases.

If used in the treatment of acute diarrhea, probiotics alleviate the symptoms and reduce the duration of diarrhea by 1 day. The effect depends on the type and dosage of the probiotic, it is significant in watery, viral diarrhea, but not in invasive bacterial gastroenteritis, and it is more evident when probiotics are applied early in the course of the disease and in sick children from the developed countries. The latest (2014) ESPGHAN/ESPID guidelines for management of acute gastroenteritis recommend 3 probiotics – *Lactobacillus rhamnosus* GG

(LGG), *Saccharomyces boulardii* and *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 – as supplementary to oral rehydration. There is clear evidence that many other probiotics have the same therapeutic effects. However, there is a need for more detailed studies of the effects, dosage and safety of each of these subtypes. The results of several randomized controlled clinical trials indicate that probiotics may be efficient in the prevention of acute diarrhea in children, but current data is insufficient to warrant routine use of probiotics for this purpose.

Key words: acute diarrhea, probiotics, ESPGHAN guidelines.

# 1. UVOD

Akutni infektivni proljev je jedna od najčešćih akutnih bolesti, ali i jedan od globalno vodećih uzroka mortaliteta u djece. Zbog svoje je raširenosti vodeći javnozdravstveni problem suvremene pedijatrije. Vodeći je uzrok pothranjenosti i drugi uzrok smrti među djecom ispod 5. godine života, a svake godine od posljedica proljeva u toj dobnoj skupini umre oko 750 000 djece. Godišnji broj epizoda akutnog proljeva je 6–12 u zemljama u razvoju i 2 epizode u razvijenim zemljama (Savarino 1993). Posljedice su dehidracija i oštećenje crijevne apsorpcije makro i mikronutrijenata. U akutnom proljevu djeca su sklona teškoj dehidraciji koja se može razviti već za nekoliko dana i opasno ugroziti život (McFarland et al. 2006). Bitno je reći da je ove posljedice moguće prevenirati i liječiti. Pranje ruku, poboljšanje sanitarnih uvjeta, kontrola pitke vode i konzerviranja hrane, opće su mjere prevencije (Vollaard et al. 2004), a kao specifična mjera prevencije dostupno je cjepivo protiv rotavirusne infekcije, najčešćeg uzročnika akutnog infektivnog proljeva u djece. Terapija je ograničena na suportivno i simptomatsko liječenje, najčešće oralnom rehidracijom. Upotreba antibiotika nije od koristi u 85–95 % slučajeva jer je etiologija najčešće nepoznata ili virusna (McFarland et al. 2006).

Crijevne bakterije imaju važnu ulogu u razvoju imunološkog sustava, a zdrava crijevna mikroflora blokira kolonizaciju i djelovanje egzogenih patogenih mikroorganizama (Tancrede 1992). Probiotici su živi mikroorganizmi koji kao dodaci hrani povoljno djeluju na mikrobiološku ravnotežu i zdravlje domaćina (Fuller 1991). Spoznaja da crijevne bakterije imaju bitnu ulogu u crijevnoj imunosti, omogućila je razvoj koncepta uporabe probiotika u terapijske svrhe. Zbog svojih osobina da blokiraju djelovanje patogenih bakterija natječući se s njima za nutrijente i vezna mjesta, snižavanjem lokalnog pH u lumenu crijeva, lučenjem antibakterijskih supstanci i

regulacijom imunološkog odgovora sluznice, probiotici bi mogli biti dobra alternativa za prevenciju i suportivnu terapiju akutnog proljeva te su kao takvi u centru mnogih kliničkih istraživanja i metaanaliza.

„Neka tvoja hrana bude tvoj lijek, a tvoj lijek neka bude tvoja hrana.“

Hipokrat 5. st. pr. Krista

## 2. AKUTNI PROLJEV U DJECE

Akutni proljev jedan je od najčešćih simptoma i uzroka mortaliteta u djece diljem svijeta. Podaci za Europu pokazuju incidenciju između 0.5 do 1.9 epizoda proljeva u djece do tri godine (Guarino et al. 2008). Češći je među populacijom slabijeg socio-ekonomskog statusa te u dječjim kolektivima, čak 2-3 puta. Akutne crijevne infekcije glavni su uzrok akutnog proljeva.

### 2.1 Etiologija

Etiologija akutnog proljeva u djece može biti infektivne i neinfektivne prirode. Iako su infektivni uzročnici daleko najučestaliji, diferencijalno dijagnostički, akutni proljev može biti simptom i nekih izvancrijevnih infekcija, neinfektivnih gastrointestinalnih upalnih bolesti te kirurških bolesti trbuha.

Najviše slučajeva akutnog proljeva posljedica je virusne infekcije rotavirusom, a nakon njega norovirusom. *Campylobacter jejuni* i *Salmonella spp* najčešći su bakterijski uzročnici. Tablica 1. prikazuje najvažnije uzročnike akutnog infektivnog proljeva s obzirom na dob i učestalost.

**Tablica 1.** Najčešći uzročnici s obzirom na dob (Guarino et al. 2008).

< 1. godine	1.-4. godine	> 5. godine
Rotavirus	Rotavirus	<i>Campylobacter</i>
Norovirus	Norovirus	<i>Salmonella</i>
Adenovirus	Adenovirus	Rotavirus
<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella</i>	
	<i>Campylobacter</i>	
	<i>Yersinia</i>	

## **Rotavirus**

Rotavirusne infekcije javljaju se jednako u razvijenim kao i u nerazvijenim zemljama. Među djecom mlađom od 5 godina, u centralnoj i istočnoj Europi, akutni gastroenteritis u 22–55 % slučajeva uzrokuje rotavirus (Ogilvie et al. 2011). Infekcija se prenosi feko-oralnim putem. Izaziva pojedinačna oboljenja, ali i manje epidemije u obiteljima i ustanovama kao što su bolnice ili vrtići. Širenju epidemije pogoduje to što zaraženi izlučuju mnogo virusa stolicom, u okolišu je virus prilično otporan, a infektivna doza mu je niska. Najčešće obolijevaju djeca do 5. godine, ali zahvaća i stariju djecu i odrasle među kojima je bolest blaža zbog stečenog imuniteta. Inkubacija traje između 48 do 72 sata.

Kliničku sliku teško je razlikovati od akutnog proljeva druge infektivne etiologije. Komplikacije povezane s proljevom rotavirusne etiologije najčešće su posljedica dehidracije uslijed obilnih vodenastih proljeva i povraćanja.

## ***Salmonella spp***

Salmonele su gram-negativni bacili čiji su prirodni rezervoar životinje (miševi, domaća perad, goveda, svinje). Izvor i put infekcije je kontaminirana hrana i piće, nedovoljno kuhano ili pečeno meso, jaja u prahu ili smrznuta jaja, mliječni proizvodi (sladoled, kreme i sir), neki kućni ljubimci (kornjače, gušteri), te direktni kontakt s bolesnikom ili kliconošom preko kontaminiranih ruku ili predmeta. Inkubacija infekcije salmonelom je između 8 i 24 sata. Infekcija se očituje s nekoliko kliničkih sindroma: akutni gastroenteritis, salmonelna vrućica, sepsa i trbušni tifus.

Najčešći među njima je akutni gastroenteritis koji traje 3 do 4 dana. Počinje naglo s povišenom temperaturom, proljevom i povraćanjem. Stolica može biti zelene boje zbog ubrzane peristaltike, a u dojenčadi se katkad nađu tragovi sluzi i krvi. Dehidracija je česta. Salmonelna vrućica, uz simptome gastroenteritisa, ima protrahiranu vrućicu koja traje dulje od 6 dana. Sepsa je puno rjeđa, ali moguća manifestacija infekcije salmonelom posebno u dojenčadi i male djece.

## *Campylobacter*

*Campylobacter* je gram-negativni spiralni štapić. Najčešće dolazi do zaraze indirektnim prijenosom preko termički nedovoljno obrađenog mesa (posebno piletine) i nepasteriziranog mlijeka. Karakteristično je da bolest počinje ili je praćena bolovima u sredini trbuha, a stolica može sadržavati tragove krvi.

**Tablica 2.** Izvancrijevne infekcije i neinfektivni uzroci akutnog proljeva u djece

Bolest
<i>Izvancrijevne infekcije:</i> <ul style="list-style-type: none"><li>• Pneumonija</li><li>• Urinarna infekcija</li><li>• Meningitis</li><li>• Akutni otitis media</li><li>• Sindrom toksičnog šoka</li></ul>
<i>Neinfektivne upalne bolesti crijeva:</i> <ul style="list-style-type: none"><li>• Crohnova bolest u egzacerbaciji</li><li>• Ulcerozni kolitis u egzacerbaciji</li><li>• Glutenska enteropatija u akutnoj egzacerbaciji</li><li>• Anafilaktoidna purpura Schönlein-Henoch</li></ul>
<i>Akutni metabolički poremećaji:</i> <ul style="list-style-type: none"><li>• Kongenitalni adrenogenitalni sindrom s gubitkom soli (u dojenčeta)</li><li>• Dijabetička ketoacidoza</li><li>• Hemolitičko-uremički sindrom</li></ul>
<i>Kirurške bolesti trbuha:</i> <ul style="list-style-type: none"><li>• Akutni apendicitis</li><li>• Invaginacija crijeva</li><li>• Nepotpune opstrukcije crijeva (paradoksalne dijareje)</li></ul>
<i>Alimentarni uzroci</i> <ul style="list-style-type: none"><li>• Preopterećenje teško probavljivom hranom (np. prepečeni kukuruz, nezrelo voće i sl.)</li><li>• Nagle promjene (inače kvalitetne) hrane u malog dojenčeta</li><li>• Gastrointestinalne alergijske reakcije</li><li>• Antibiotici</li></ul>



## 2.2 Klinička prezentacija

Proljev se definira kao više od 3 stolice u 24 sata, promijenjene konzistencije (mekane ili vodene) i/ili povećanog volumena za jednu trećinu uobičajene stolice, katkad s primjesama sluzi i krvi. Akutni proljev obično traje kraće od 7, ali ne dulje od 14 dana. U dojenčadi za dijagnozu proljeva mnogo je bitnija promjena u konzistenciji i povećanje volumena stolice u odnosu na broj stolica.

Patofiziološka definicija kvantitativno opisuje proljev kao pojavu prekomjernog gubitka vode i elektrolita stolicom: količina stolice koja je veća od 15 g/kg na dan u dojenčadi i male djece, odnosno veća od 200 g na dan u djece starije od 3 godine (Mardešić et al. 2003).

Akutni infektivni proljev može početi postupno ili naglo, stolicama koje mogu biti kašaste, nehomogene, isjeckane ili tekuće, vodene ili pjenušave. Mogu sadržavati primjese sluzi ili krvi. Većina djece s akutnim gastroenteritisom povraća u tijeku bolesti, a ona koja ne povrate imaju mučninu i odbijaju hranu. Proljev često prati bol u trbuhu, palpatorna osjetljivost, distendiran trbuh, osobito u male dojenčadi, povišena tjelesna temperatura različitog stupnja, tijeka i trajanja. U slučaju izvancrijevne infekcije mogu biti prisutni i simptomi drugih organskih sustava kao što su kašalj, dispneja, dizurija, bol u uhu, promijenjena svijest, iritabilnost.

Dehidracija različitog stupnja uvijek prati proljev i predstavlja temeljni klinički, dijagnostički i terapijski problem. Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO) i preporukama Centra za kontrolu bolesti i prevenciju (CDC) s obzirom na gubitak tjelesne mase dehidracija može biti: minimalna ili bez dehidracije kod gubitka manjeg od 3 % tjelesne mase, blaga do umjerena kod gubitka 3–9 % tjelesne mase i teška kod gubitka više od 9 % tjelesne mase (Guarino et al. 2008). U minimalnoj, blagoj dehidraciji simptomi su žeđ, podočnjaci i suh jezik. Kod umjerene dehidracije primjećuju se suha usta i jezik, halonirane oči, uvučena fontanela, oslabljen turgor kože, oligurija i eventualna acidotična hiperpneja. Teška dehidracija praćena je znakovima

hipovolemije s centralizacijom krvotoka. Uz sve nabrojene simptome dehidracije dijete će biti blijedo s hladnom periferijom, ubrzanim pulsom, tihim srčanim tonovima, anurijom, hiperventilacijom zbog acidoze i slabijim ili jačim pomućenjem svijesti. Prema NICE smjernicama iz 2009. povećan rizik za razvoj dehidracije imaju:

- dojenčad, posebno mlađa od 6 mjeseci,
- dojenčad niske porođajne težine,
- djeca s više od 5 proljevastih stolica u 24 sata,
- djeca koja su povratila više od 2 puta u 24 sata,
- djeca koja nisu uzimala ili podnosila uzimanje tekućine tijekom bolesti,
- dojenčad koja je prestala dojiti tijekom bolesti,
- djeca sa znakovima malnutricije.

## **2.3 Dijagnostički postupak**

U dijagnostici akutnog proljeva potrebno je odrediti opseg dehidracije i prepoznati indikacije za primjenu antimikrobne terapije.

### **2.3.1 Anamneza i fizikalni pregled**

Anamnestički bitno je utvrditi vrijeme, način nastanka i tijek proljeva, konzistenciju, količinu i broj stolica te da li su prisutne primjese krvi, sluzi ili gnoja, postoje li drugi simptomi kao što je povraćanje (broj, količina i frekvencija), povišena temperatura i bolovi u truhu. Epidemiološki podaci o akutnom proljevu i povraćanju u djetetovoj okolini (obitelj, dječji vrtić, škola) i konzumaciji mikrobiološki sumnjive hrane i pića mogu upućivati na infektivnu etiologiju bolesti. Radi procijene dehidracije potrebno je još zabilježiti podatke o posljednjoj izmjerenoj tjelesnoj

težini, broju promijenjenih pelena, podatke o mokrenju, opće stanje i aktivnost djeteta te podaci o količini kod kuće unesene tekućine (Guarino et al. 2008).

U fizikalnom pregledu treba procijeniti vitalne znakove i opće stanje djeteta, postoje li znakovi dehidracije i acidoze. Prema ESPGHAN/ESPID smjernicama najbolja 3 znaka dehidracije su: produljeno kapilarno punjenje, oslabljen turgor kože i hiperpneja (Guarino et al. 2008). Preporuča se učiniti i digitorektalni pregled.

### **2.3.2 Laboratorijske pretrage**

Potrebno je učiniti kompletnu krvnu sliku, odrediti vrijednost C-reaktivnog proteina, pregled urina, te u slučaju umjerene do teške dehidracije acidobazni i elektrolitski status. ESPGHAN/ESPID smjernice navode da nema potrebe za rutinskim mikrobiološkim testiranjem stolice. Mikrobiološko testiranje treba učiniti tijekom epidemija posebno u dječjim vrtićima, školama i bolnicama, gdje je od javnozdravstvenog značaja odrediti uzročnika i izvor zaraze. Mikrobiološko testiranje treba uzeti u obzir kod kronično bolesne djece (npr. onkološke bolesti, upalne bolesti crijeva), u djece teškog općeg stanja, kod produljenog trajanja proljeva kada se razmatra specifična terapija, kod djece s teškim krvavim proljevima te kada postoji podatak o nedavnom putovanju u rizična područja (Guarino et al. 2014). Ostale pretrage, kao što su rendgen i endoskopija rade se po potrebi.

## **2.4 Liječenje**

Liječenje akutnog proljeva dojenčeta i djeteta ima za cilj:

- spriječiti pojavu dehidracije, suzbiti dehidraciju ako se već razvila i uspostaviti poremećenu elektrolitsku i acidobaznu ravnotežu,
- što prije osigurati puni unos hrane nakon vrlo kratke poštete crijeva od unosa hrane za vrijeme trajanja peroralne rehidracije,

- samo u iznimnim slučajevima antimikrobnom terapijom suzbiti infektivni uzrok proljeva (Guarino et al. 2014).

Peroralna rehidracija elektrolitno-glukoznom (hipoosmolarnom, 50 ili 60 mmol/L Na) otopinom za oralnu rehidraciju je terapija izbora i zlatni standard u liječenju akutnog proljeva. Treba ju započeti što je ranije moguće. Aktivna terapija probioticima (LGG, *S. boulardi* i *L. reuteri* DSM 17938), te primjena adsorbensa, npr. smektita i antisekrecijskog lijeka racekadotriola može skratiti trajanje proljeva i ublažiti kliničku sliku (Guarino et al. 2014). Prema stanju dehidracije potrebno je odabrati plan liječenja:

- A. Blagi proljev bez dehidracije – prevenirati pojavu dehidracije oralnom elektrolitno-glukoznom otopinom;
- B. Proljev s blagom do težom dehidracijom bez znakova hipovolemičnog šoka – rehidrirati oralnom elektrolitnom-glukoznom otopinom;
- C. Proljev s teškom dehidracijom i prijetećim ili razvijenim hipovolemičnim šokom – rehidrirati intravenski, na što se nastavlja oralna rehidracija elektrolitno-glukoznom otopinom.

Uobičajeno hranjenje ne bi trebalo biti prekinuto više od 4 do 6 sati od početka rehidracije (Guarino et al. 2014). Dojenčadi na prsima ne prekida se dojenje (Guarino et al. 2014).

Velika većina akutnih proljeva u dojenčadi i djece prolazi uz rehidracijsku terapiju. Upotreba antibiotika nije od koristi u 85–95 % slučajeva jer je etiologija najčešće nepoznata ili virusna (McFarland et al. 2006).

Primjena antibiotika nužna je samo za određene skupine bolesnika:

- svako novorođenče,
- teže pothranjena dojenčad te dojenčad i djeca s prirodnom i stečenom oslabljenom imunošću,
- novorođenčad i dojenčad u zatvorenim dječjim zajednicama ako je uzročnik dijarogena *E. coli*, *Shigella* ili *Campylobacter*, radi zaustavljanja širenja infekcije,
- dojenčad i djeca s težom kliničkom slikom šigeloze i infekcije *Campylobacterom*,
- dojenčad i djeca s kliničkom slikom salmonelne vrućice, novorođenčad i imunokompromitirana djeca sa salmonelnim enterokolitisom te djeca s izvancrijevnim septičkim žarištima uzrokovanim *Salmonellom* (Guarino et al. 2014).

Prema preporukama indikacije za hospitalizaciju su: šok, teška dehidracija (> 9 % tjelesne težine), neurološki simptomi (letargija, konvulzije, itd.), nezaustavljivo povraćanje, povraćanje žuči, neuspjeh terapije otopinama za oralnu rehidraciju, sumnja na akutnu kiruršku bolest trbuha i socijalna situacija djeteta koja ne jamči uspjeh liječenja kod kuće (Guarino et al. 2008).

## 3. PROBIOTICI

### 3.1 Definicija

Pojam probiotik dolazi od grčkog *pro bios* što znači *za život*. 1965. prvi su ga upotrijebili Lilly i Stillwell i opisali kao „supstance koje izlučuje jedan mikroorganizam, a koje stimuliraju rast drugog mikroorganizma“ te su ih na taj način suprotstavili antibioticima (Lilly & Stillwell 1965). Parker je 1974. prvi definirao pojam probiotik u smislu u kojem se danas koristi, „Probiotik je organizam ili supstanca koja dovodi u ravnotežu crijevnu mikrofloru“ (Fioramonti et al. 2003). Takva definicija bila je preopćenita jer su se pod terminom supstance ubrajali brojni dodaci, uključujući i antibiotike. Iz tog je razloga Fuller 1989. pokušao unaprijediti definiciju ističući važnost da se radi o živim organizmima te je predložio definiciju koja je glasila: „živi mikroorganizmi koji imaju pozitivan učinak na životinje poboljšavajući ravnotežu crijevne flore“ (Fuller 1989). Želeći izbjeći ograničenost učinka samo na životinje, Havenaar je 1992. definirao probiotike kao „žive mono ili miješane kulture mikroorganizama koji, ako se daju ljudima ili životinjama, imaju pozitivan učinak na domaćina poboljšavajući vlastitu mikrofloru“ (Havenaar & Huis In't Veld 1992). Salminen je 1996. godine je još više proširio definiciju ne ograničavajući zdravstvene učinke probiotika samo na probavni sustav: „Probiotici su žive kulture mikroba ili dijetetskih proizvoda koji sadrže navedene kulture, a koji imaju pozitivan učinak na zdravlje i prehranu domaćina.“ (Salminen 1996). Napokon, 2001. godine u Cordobi FAO i WHO donijeli su definiciju koja najbolje opisuje probiotike i njihovu primjenu: „živi mikroorganizmi koji, ako se konzumiraju u odgovarajućoj dozi kao dodatak hrani, imaju pozitivan učinak na zdravlje domaćina“ (FAO/WHO 2001).

Mikroorganizmi moraju zadovoljiti nekoliko kriterija da bi se upotrebljavali kao probiotici.

Moraju biti:

- ljudskog podrijetla,
- nepatogeni,
- rezistentni na probavljanje tijekom prolaska kroz probavni trakt,
- stabilni u kiselom mediju i otporni na žuč,
- živi do dolaska u debelo crijevo,
- sposobni prijanjati na epitel,
- opstati u probavnom sustavu,
- producirati antimikrobne supstance,
- modulirati imunološki sustav,
- utjecati na metabolizam (Dunne et al. 2001).

Učinak probiotika ovisi o njegovoj vrsti i o upotrebljavanoj dozi. Pripravak probiotika mora sadržavati određeni minimum kolonija po dozi (eng. nuber of colony-forming units (CFU)) da bi se postigao učinak. Smatra se da pozitivan učinak probiotika nije moguć bez dnevnog unosa od  $10^6$  do  $10^9$  CFU (Sarowska et al. 2013). Probiotici mogu biti uneseni u tijelo u obliku lijeka ili suplementa, te mogu biti dodani ili prirodno postojati u funkcionalnoj hrani (Thomas et al. 2010).

### **3.2 Vrste probiotika**

Probiotici su tipično fermentativne, nepokretne bakterije, obligatni ili fakultativni anaerobi i većina ih proizvodi mliječnu kiselinu (LA). Najčešće su članovi rodova *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* i *Streptococcus*, ali i drugi rodovi bakterija te nepatogene gljive imaju probiotičko djelovanje (Thomas et al. 2010).

**Tablica 3.** Mikroorganizmi s probiotičkim djelovanjem (Holzapfel et al. 2001).

<b>Rod <i>Lactobacillus</i></b>	<b>Rod <i>Bifidobacterium</i></b>	<b>Ostale LA bakterije</b>	<b>Ne-LA bakterije i gljive</b>
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Bacillus cereus</i> var. <i>toyoi</i>
<i>L. amylovorus</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Escherichia coli</i> Nissle
<i>L. casei</i>	<i>B. bifidus</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Propionibacterium</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. breve</i>	<i>Leuconstoc</i>	<i>freudenreichii</i>
<i>L. delbrueckii</i> subsp.	<i>B. infantis</i>	<i>mesenteroides</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>bulgaricus</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Pediococcus</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. gallinarum</i>	<i>B. longum</i>	<i>acidilactici</i>	
<i>L. gasseri</i>		<i>Sporolactobacillus</i>	
<i>L. johnsonii</i>		<i>inulinus</i>	
<i>L. paracasei</i>		<i>Streptococcus</i>	
<i>L. plantarum</i>		<i>thermophilus</i>	
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. rhamnosus</i>			

### 3.2.1 Rod *Bifidobacterium*

Bifidobakterije su gram-pozitivne, nesporogene, nepokretne, katalaza-negativne, anaerobne bakterije oblika nepravilnih štapića (Sgorbati et al. 1995). Fermentacijom šećera proizvode mliječnu i octenu kiselinu. Trenutno je poznato 30 vrsta bifidobakterija od kojih je 10 ljudskog podrijetla (karijes, feces, vagina), 17 naseljava probavne sustave životinja, 2 vrste se mogu naći u otpadnim vodama, a samo se jedna nalazi u fermentiranom mlijeku (Gomes & Malcata 1999). To su mikroorganizmi od velike važnosti za mikrobiom probavnog i genitourinarnog sustava



čovjeka, a njihov je omjer i raspored određen životnom dobi i prehranom. U crijevnoj flori dojenčadi bifidobakterije su dominantne. Nedugo nakon rođenja njihova kolonizacija i proliferacija stimulirana je glikoproteinskom komponentom  $\kappa$ -kaseina iz kolostruma, a kasnije majčinog mlijeka (Soccol et al. 2010). Odrastanjem, broj bifidobakterija se smanjuje te čini 25 % bakterija crijevne flore odraslog čovjeka, što je treće mjesto po učestalosti iza rodova *Bacteriodes* i *Eubacterium* (Finegold et al. 1983).

### 3.2.2 Rod *Lactobacillus*

Laktobacili su aerotolerantni ili anaerobni, gram-pozitivni, nesporogeni štapići. Mliječna kiselina glavni je produkt njihovog fermentativnog metabolizma. Naseljavaju različite ekološke niše kroz probavni i genitalni sustav čovjeka i životinja. Raspodjela laktobacila ovisi o nekoliko okolišnih faktora kao što su pH, dostupnosti kisika, količini supstrata i bakterijskih interakcija (Soccol et al. 2010). Najpoznatiji član ovog roda i najbolje proučen probiotik je *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG).

### 3.2.3 Ostali probiotici

U rodove koji luče mliječnu kiselinu (LA bakterije), uz *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*, ubrajaju se i streptokoki, enterokoki, laktokoki te leukonostoki. Probiotici mogu biti i bakterije koje ne luče mliječnu kiselinu, tzv. ne-LA bakterije kao što su na primjer bakterije iz roda *Bacillus*. Rod *Bacillus* čine gram-pozitivne, sporogene bakterije štapićastog oblika koje mogu biti obligatni aerobi ili fakultativni anaerobi. Zbog svoje sposobnosti stvaranja spora otporne su na toplinu te se mogu skladištiti na sobnoj temperaturi, u suhom obliku. Njihova najveća prednost je otpornost na antibiotike. Kao što je već spomenuto i neke gljive mogu imati ulogu probiotika. *Saccharomyces*, kvasac, najčešći je rod gljiva među probioticima. *S. cerevisiae* i *S. boulardii* mogu tolerirati niski pH okoliša i žučne soli, te štite organizam od bakterijske infekcije regulirajući imunološki odgovor crijevne sluznice (van der Aa Kühle et al. 2005).

### 3.3 Mehanizmi djelovanja

Potencijal probiotika i njihovi mehanizmi djelovanja, uvelike se razlikuju između i unutar različitih rodova. Općenito, mehanizmi su višestruki i možemo ih podijeliti u 3 modela:

1. blokiranje djelovanja patogenih bakterija,
2. regulacija funkcije crijevnog epitela,
3. regulacija imunološkog odgovora crijevne sluznice.

#### 3.3.1 Blokiranje djelovanja patogenih bakterija

- Lučenje antibakterijskih supstanci

Probiotici imaju direktan učinak na patogene stvaranjem supstanci kao što su organske kiseline (mliječna, octena i mravlja kiselina) i antibakterijski peptidi. Organske kiseline, posebno octena i mliječna kiselina, imaju snažno inhibitorno djelovanje na rast gram-negativnih bakterija. U nedisociranom obliku, kiseline ulaze u stanicu bakterije te disociraju u citoplazmi. Smatra se da snižavanjem pH citoplazme dolazi do smrti patogene bakterije (Russell & Diez-Gonzalez 1998). Mnoge LA bakterije stvaraju antibakterijske peptide, bakteriocine. Bakteriocini imaju uzak spektar djelovanja i najviše su toksični za gram-pozitivne bakterije kao što su streptokoki, stafilokoki, listerija, ali i mikobakterije (Nielsen et al. 2010). Mehanizam kojim postižu svoj učinak je stvaranje pora u citoplazmi osjetljivih bakterija te ometanje sinteze stanične stijenke (Hassan et al. 2012). Različiti probiotici proizvode različite bakteriocine, npr. laktacin B proizvodi *L. acidophilus*, plantaricin *L. plantarum*, lantibiotike *Lactococcus lactis* (Bermudez-Brito 2012).

- Kompetitivna inhibicija patogena

Sposobnost probiotika da adherira na crijevni epitel i ostvaruje interakcije između bakterijskih lektina i ugljikohidrata, te receptora stanične površine epitela, omogućuje im da inhibiraju kolonizaciju patogenih bakterija (Servin 2004). Natjecanjem za nutrijente i

slobodna vezna mjesta na epitelu, ostvaruju antagonističko djelovanje. Neki laktobacili i bifidobakterije dijele specifične površinske ugljikohidrate s određenim enteropatogenima (Nesser et al. 2000) što omogućuje kompeticiju probiotika sa specifičnim patogenom za receptor na sluznici crijeva.

### **3.3.2 Regulacija funkcije crijevnog epitela**

Crijevni je epitel važan obrambeni sustav koji štiti organizam od patogenih mikroba i crijevnog sadržaja. Crijevna barijera sastoji se jednog sloja stanica epitela koje su međusobno povezane nepropusnim čvrstim vezama tzv. *tight junctions*, sloja sluzi i stvaranja citoprotektivnih supstanci (Ohland & Macnaughton 2010). Postoje brojni dokazi da konzumacija nepatogenih bakterija pospješuje funkciju crijevne barijere.

- Utjecaj na čvrste spojeve između enterocita

Nekoliko studija ukazalo je na sposobnost određenih probiotika da potaknu ekspresiju gena uključenih u regulaciju stvaranja čvrstih spojeva. Na primjer, laktobacili moduliraju regulaciju gena koji kodiraju E-kadherin i  $\beta$ -kadherin, proteine čvrstih spojeva, u *in vitro* modelu crijevne barijere (Anderson et al. 2010). Također, novija istraživanja pokazala su da probiotici mogu potaknuti oporavak crijevne barijere nakon ozljede. *Escherichia coli* Nissle 1917, ne samo da priječi oštećenje crijevne barijere enteropatogenom *E. coli* već potiče obnovu i redistribuciju čvrstih spojeva (Sonnenborn & Schmidt 2007).

- Stvaranje citoprotektivnih tvari

U stanju izloženosti stresu stanica luči proteine toplinskog šoka (*heat shock* proteini) čija je uloga zaštititi stanicu od daljnje ozljede. Dokazano je da određene topive tvari u LGG kulturi potiču sintezu citoprotektivnih proteina toplinskog šoka (Tao et al. 2006).

- Prevencija citokinima potaknute apoptoze

Mogući mehanizam kojim probiotici djeluju u inflamatornim bolestima crijeva je sprječavanje djelovanja proinflamatornih citokina. LGG, posredstvom proteina p40 i p75, sprječava citokinima potaknutu apoptozu stanica crijevnog epitela, stimulirajući put ovisan o fosfatidilinozitol-3'-kinazi (PI3K) i inhibirajući aktivaciju p38/mitogen-aktiviranu protein kinazu (MAPK) (Yan & Polk 2002; Yan et al. 2007).

### **3.3.3 Regulacija imunološkog odgovora sluznice**

Mnoge studije su pokazale da probiotici mogu modulirati imunološki sustav domaćina. Međudjelovanjem s dendritičkim i epitelnim stanicama započinju odgovor posredovan makrofagima te T i B limfocitima.

Prirođena imunost sprječava prodor patoloških i komenzalnih mikroorganizama. Crijevne dendritičke stanice mogu obuzdati komenzalne bakterije selektivno aktivirajući B limfocite na proizvodnju sekretornog IgA (sIgA), koji smanjuje prodor bakterija kroz sluznicu (Vanderpool et al. 2008). Probiotici mogu pojačati prirodni imunološki odgovor što pokazuju i studije kojima je dokazano da *B. animalis* podiže koncentraciju fekalnog sIgA u dojenčadi (Bakker-Zierikzee et al. 2006). LGG, uz značajno povećanje fekalnog sIgA, podiže i ukupnu razinu IL-6 na periferiji koji onda pojačava IgA odgovor na sluznici (He et al. 2005). Prirodni imunološki odgovor mora biti jačine koja odgovara razini prijetnje patogena. Još jedan važan mehanizam djelovanja probiotika je modulacija ravnoteže proizvodnje pro i antiinflamatornih citokina. Sazrijevanje dendritičih stanica rezultira povećanom proizvodnjom citokina i očitovanjem molekula potrebnih za aktivaciju T i B limfocita. Većina studija je pokazala da probiotici potiču dendritičke stanice na proizvodnju antiinflamatornih citokina, uključujući IL-10 koji suprimira Th1 odgovor

(Vanderpool et al. 2008). Mješavina probiotika VSL#3 potaknula je proizvodnju IL-10 u ljudskim i mišjim stanicama (Drakes et al. 2004, Hart et al. 2004). Probiotici također suprimiraju nastajanje proinflamatornih citokina. LGG kultura stanica smanjuje stvaranje TNF- $\alpha$  u makrofagima, potičući vrlo velike količine čimbenika stimulacije kolonije granulocita (G-CSF), koji onda suprimiraju proizvodnju TNF- $\alpha$  (Pena & Versalovic 2003, Kim et al. 2006).

Probiotici također stimuliraju imunološki odgovor domaćina aktivirajući Th1 odgovor posredovan dendritičkim stanicama (Vanderpool et al. 2008). Istraživanja su pokazala da tijekom kolonizacije crijevne sluznice miša s *B. fragilis*, dendritičke stanice vežu i zadržavaju bakterijske polisaharide koji onda potiču sazrijevanje dendritičkih stanica, stvaranje Th1 citokina, uključujući IL-4, IL-12 i IFN- $\gamma$  (Macpherson et al. 2005), dok laktobacili u dendritičkim stanicama potiču stvaranje IL-12, IL-18 i INF- $\gamma$  (Mohamadzadeh et al. 2005).

Slično patogenim bakterijama i probiotici imaju dijelove stijenke (PAMP) koji se vežu za receptore na stanicama imunološkog sustava tzv. *toll-like receptors* (TLR), ali probiotici ne započinju patogeni imunološki odgovor. Različiti probiotici djeluju preko različitih TLR-ova (Vanderpool et al. 2008). T stanice kultivirane s *E.coli* Nissle 1917, izražavaju povećani broj TLR2 i TLR4. Suprotno tome, mješavina probiotika VSL#3 ne potiče imunološki odgovor bez TLR9 (Rachmilewitz et al. 2004). Navedeno upućuje na zaključak da različiti probiotici stimuliraju točno određene TLR na stanicama domaćina, što ima vrlo važnu ulogu u njihovoj mogućoj terapijskoj primjeni.

### **3.4 Klinička primjena**

Provedena su mnoga istraživanja i naknadno učinjene metaanalize koje potvrđuju da probiotici imaju ulogu u prevenciji i liječenju određenih bolesti. 2008. godine izdane su i smjernice o uporabi probiotika, a 2011. godine su revidirane.

Indikacije su podijeljene u tri kategorije: A kategorija – preporuka temeljena na čvrstim, pozitivnim, dobro provedenim, kontroliranim studijama, probiotici imaju klinički dokazanu ulogu; B kategorija – temeljena na pozitivnim kontroliranim studijama, ali uz neke negativne rezultate, probiotici se mogu preporučiti; C kategorija – za sada se, zbog nedostatka dokaza, probiotici ne mogu preporučiti (Floch et al. 2008).

**Tablica 4.** Smjernice o uporabi probiotika (Floch et al. 2011)

<b>Indikacija</b>	<b>Kategorija</b>
<b>1. Proljev</b>	
Infektivni proljev u djece	<b>A</b>
Prevenција infekcije	<b>B</b>
Prevenција antibiotikom uzrokovanog proljeva	<b>A</b>
Prevenција rekurentnog proljeva uzrokovanog <i>Cl. difficile</i>	<b>B/C</b>
Prevenција proljeva uzrokovanog <i>Cl. difficile</i>	<b>B/C</b>
<b>2. Upalne bolesti crijeva</b>	
Pouchitis	
Prevenција i održanje remisije	<b>A</b>
Indukcija remisije	<b>C</b>
Ulcerozni kolitis	
Indukcija remisije	<b>B</b>
Održavanje remisije	<b>A</b>
Crohnova bolest	<b>C</b>
<b>3. Iritabilni kolon</b>	<b>B</b>
<b>4. Nekrotizirajući enterokolitis</b>	<b>B</b>
<b>5. Atopijski ekcem</b>	
Liječenje	<b>A</b>
Prevenција	<b>A</b>
<b>6. Radijacijski enteritis</b>	<b>C</b>
<b>7. Vaginitis/vaginoza</b>	<b>C</b>

## 4. LIJEČENJE I PREVENCIJA AKUTNOG PROLJEVA U DJECE PROBIOTICIMA

### 4.1 Terapija probioticima

Mnoge su metaanalize i sustavni pregledni članci potvrdili učinkovitost probiotika u liječenju akutnog proljeva u djece. U sustavnom pregledu 10 radomiziranih kontroliranih kliničkih pokusa (RCT) u kojima se uspoređivao učinak probiotika nasuprot placebo, u djece između 1 do 48 mjeseci oboljele od akutnog gastroenteritisa, probiotici (LGG, *Lactobacillus reuteri* (ATC 55730), *L. acidophilus* LB, *S. Boulardii* i smjesa *Streptococcus thermophilus*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*) su značajno smanjili trajanje proljeva (RR=0.40, 95% CI 0.25–0.57) i to posebno u rotavirusnom gastroenteritisu (Szajewska & Mrukowicz 2001). McFarland i suradnici 2006. objavili su metaanalizu 41 RCT-a, u kojoj su probiotici značajno skratili trajanje proljeva (SMD=-0.56 dana, 95% CI -0.73, -0.38) i smanjili rizik neuspjeha liječenja (RR=0.38, 95% CI 0.28, 0.52) (McFarland et al. 2006). Jedna od najrecentnijih metaanaliza je ona Cochrane kolaboracije iz 2010. godine, u kojoj su prikupljeni podaci iz 63 RCT-a (n=8014), o terapiji akutnog proljeva probioticima, pretežno među dojenčadi i malom djecom. Probiotici, kao skupina, skratili su trajanje proljeva za 1 dan (n=4555, MD -25 sati, 95% CI 16–34) i smanjili rizik trajanja proljeva više od 4 dana (n=2853, RR=0.41, 95% CI 0.32-0.53) (Martinez et al. 2010).

Probiotici primijenjeni u aktivnoj terapiji akutnog proljeva u djece, učinkovito smanjuju intenzitet simptoma i skraćuju trajanje proljeva za 1 dan (Guarino et al. 2014). Njihov koristan učinak ovisan je o vrsti i dozi probiotika ( $> 10^{10}$ - $10^{11}$  CFU), značajan je za vodenasti virusni, ali

ne i za invazivni bakterijski gastroenteritis, očitiji pri što ranijoj primjeni probiotika u tijeku bolesti i kod proljeva u djece u razvijenim zemljama (Guarino et al. 2008).

U posljednjim ESPGHAN/ESPID smjernicama o postupanju u akutnom gastroenteritisu, 2014. godine, preporučena su 3 probiotika, LGG, *S. boulardi* i *L. reuteri* DSM 17938, kao dodatak oralnoj rehidraciji. Postoje jasni dokazi da i mnogi drugi probiotici imaju jednako djelovanje, no potrebne su detaljnije studije o učinku, dozi i sigurnosti svakoga od njih.

#### **4.1.1 Lactobacillus rhamnosus GG**

Prema Cochrane metaanalizi, 2010., u 11 RCT-a na uzorku od 2072 pacijenta, LGG je skratio trajanje proljeva (MD -27 sati, 95% CI od -41 do -13), smanjio frekvenciju stolica 2. dan bolesti (MD -0.8, 95% CI od -1.3 do -0.2) i rizik trajanja proljeva više od 4 dana (RR=0.6, 95% CI 0.4–0.9) (Martinez et al. 2010).

Metaanaliza Szajewske i suradnika iz 2013. usmjerena je isključivo na studije o upotrebi LGG-a u terapiji akutnog proljeva u djece. Odabrano je 15 RCT-a koji su uključili 2963 djece. Na uzorku od 2444 pacijenta (11 RCT-a), uspoređujući s placebom i grupom koja nije uzimala terapiju LGG je značajno skratio trajanje proljeva (MD -1.05 dana, 95% CI od -1.7 do -0.4). U ovisnosti o dozi LGG se pokazao učinkovitiji pri dnevnom unosu  $\geq 10^{10}$  CFU (u pravilu 5–7 dana) nego  $< 10^{10}$  CFU. U ne-europskim uvjetima razlika između grupe koja je koristila LGG i kontrolne grupe nije bila od statističke važnosti (Szajewska et al. 2013).

Prema preporuci posljednjih ESPGHAN/ESPID smjernica i ESPGHAN grupe za probiotike i prebiotike, LGG se može koristiti u aktivnoj terapiji akutnog proljeva kao dodatak rehidracijskoj terapiji (Guarino et al. 2014).



#### 4.1.2 *Saccharomyces boulardii*

Metanaliza 9 RTC-a, provedenih na 1117 pacijenata, pokazala je da kvasac *S. boulardii* skraćuje trajanje proljeva za otprilike 1 dan (Szajewska & Skórka 2009). Cochrane metanaliza, provedena na 606 pacijenata, zabilježila je da *S. boulardii* smanjuje rizik od trajanja proljeva  $\geq 4$  dana (RR=0.37, 95% CI 0.2–0.65) (Martinez et al. 2010). Najnoviji pregled literature uključio je 13 RCT-a provedenih u Europi i nekim ne-europskim zemljama. Dnevna doza *S. boulardii*, kroz 5–7 dana, bila je od 250 do 750 mg. Uspoređujući s placebom ili grupom koja nije primila terapiju primjena *S. boulardii* skratila je trajanje proljeva (MD=-0.99, 95% CI od -1.4 do -0.6), smanjila rizik od proljeva 3. dan bolesti (RR=0.52, 95% CI 0.4–0.65) te u hospitalizirane djece skratila trajanje boravka u bolnici (MD=-0.8 dana, 95% CI od -1.1 do -0.5) (Dinleyici et al. 2012).

Prema preporuci posljednjih ESPGHAN/ESPID smjernica i ESPGHAN grupe za probiotike i prebiotike *S. boulardii* se može koristiti u aktivnoj terapiji akutnog proljeva kao dodatak rehidracijskoj terapiji (Guarino et al. 2014).

#### 4.1.3 *Lactobacillus reuteri* DSM 17938

*L. reuteri* ATCC 55730 u prošlosti je zabilježen kao učinkovit probiotik u liječenju akutnog proljeva u djece, no nađeno je da taj soj nosi potencijalno prenosiv plazmid koji ga čini otpornim na tetracikline i linkomicin (Szajewska et al. 2014). Iz tog je razloga razvijen soj *L. reuteri* DSM 17938 koji nema plazmid za rezistenciju i bioekvivalentan je *L. reuteri* ATCC 55730 (Rosander et al. 2008). Metanaliza, provedena posebno za preporuke ESPGHAN grupe za probiotike i prebiotike, uključila je 2 RCT-a (n=196) koji ocjenjuju učinkovitost *L. reuteri* DSM 17938 i 3 RCT-a (n=156) o učinkovitosti *L. reuteri* ATCC 55730, u hospitalizirane djece od 3 do 60 mjeseci. Uspoređujući s placebom ili grupom koja nije primila terapiju DSM 17938 je značajno skratio trajanje proljeva (MD -32 sata, 95% CI od -41 do -24) i povećao vjerojatnost ozdravljenja

3. dana bolesti (RR=3.5, 95% CI 1.2–10.8). Slični su rezultati zabilježeni i u originalnog soja ATCC 55730.

Prema preporuci posljednjih ESPGHAN/ESPID smjernica i ESPGHAN grupe za probiotike i prebiotike, *L. reuteri* DSM 17938 se može koristiti u aktivnoj terapiji akutnog proljeva kao dodatak rehidracijskoj terapiji (Guarino et al. 2014).

## 4.2 Prevencija

Prevencija akutnog proljeva u djece jedan je od velikih izazova. Posebno su ugrožena djeca u dječjim kolektivima i na bolničkim odjelima. Uz cjepivo protiv rotavirusne infekcije probiotici bi mogli biti djelotvorni u prevenciji drugih uzročnika. Rezultati nekoliko randomiziranih kontroliranih kliničkih pokusa ukazali su na povoljan učinak probiotika u prevenciji akutnog proljeva u djece.

U dvostruko slijepom RCT-u, 201 dojenče (4–10 mjeseci) primilo je dojenački adaptirani mliječni pripravak koji je sadržavao probiotik, *B. lactis* ili *L. reuteri*, ili kontrolni pripravak bez probiotika, kroz 12 tjedana. Dojenčad u kontrolnoj skupini imala je prosječno 0.59 dana proljeva (95% CI 0.34–0.84), dojenčad koja je primila *B. lactis* 0.37 dana (95% CI 0.08–0.66), a skupina koja je primila *L. reuteri* 0.15 dana (95% CI 0.12–0.18) proljeva. Dojenčad hranjena pripravkom s probiotikom, imala je manje epizoda akutnog proljeva i to kraćeg trajanja, u odnosu na kontrolnu skupinu (Weizman et al. 2005).

Dva su RCT-a provedena o prevenciji nozokomijalnih proljeva u djece pomoću LGG-a. Prvi dvostruko slijepi RCT uključio je 81 dijete, od 1–36 mjeseci. Pokazalo se da unos od  $6 \times 10^9$  CFU LGG-a dva puta na dan, značajno smanjuje rizik od nozokomijalnog proljeva u odnosu na placebo (Szajewska et al. 2001). Drugi RCT uključio je 220 djece dobi između 1 do 18 mjeseci. Doza od  $10^{10}$  CFU LGG-a jednom dnevno uz dojenje, nije smanjila učestalost nozokomijalnih

rotavirusnih infekcija u usporedbi s placeboom, ali je stopa simptomatskih rotavirusnih gastroenteritisa bila niža u skupini koja je uzimala LGG (Mastretta et al. 2002).

Iako postoje dokazi o preventivnom učinku probiotika u akutnom proljevu u djece trenutni podaci nisu dovoljni za rutinsku upotrebu probiotika u te svrhe.

### **4.3 Sigurnost**

U teoriji, probiotici bi mogli biti odgovorni za četiri tipa štetnih učinaka: sistemske infekcije, štetnu metaboličku aktivnost, pretjeranu imunološku stimulaciju i prijenos gena (plazmida) (Marteau 2001). U praksi, zabrinutost postoji u sigurnost primjene probiotika u visokorizičnih pacijenata koji uključuju imunokompromitiranu novorođenčad, dojenčad i djecu te djecu s centralnim venskim kateterom ili bilo kojim drugim stranim tijelom.

Land i suradnici objavili su prikaz slučaja sepse u imunokompromitiranog dojenčeta starog 6 tjedana uzrokovane LGG probiotikom, kojeg je primao kao suplement (Land et al. 2005). Neonatalne sepse i meningitis, povezani s uzimanjem suplementa probiotika također su zabilježeni u literaturi (Thomas et al. 2010). Cochrane metaanaliza na 63 RCT-a nije zabilježila niti jednu nuspojavu probiotika. Većina djece u studijama bila je prije bolesti zdrava, zato se naglašava potreba istraživanja sigurnosti primjene probiotika u imunokompromitirane i pothranjene djece (Martinez et al. 2010).

## 5. ZAHVALE

*Zahvaljujem se mentorici, doc. dr. sc. Ireni Senečić-Čali, na svim savjetima, smjernicama i sugestijama, te strpljivosti i vremenu koje mi je posvetila tijekom izrade mog diplomskog rada.*

*Želim zahvaliti svojoj obitelji na podršci i strpljivosti kojom su me pratili tijekom cijelog studija. Na kraju hvala i svim prijateljima bez kojih bi ovo iskustvo studiranja bilo nepotpuno.*

## 6. LITERATURA

- Allen SJ, Martinez EG, Gregorio GV, Dans LF (2010) Probiotics for treating acute infectious diarrhoea. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 11: CD003048.
- Anderson RC, Cookson AL, McNabb WC, Park Z, McCann MJ, Kelly WJ, Roy NC (2010) *Lactobacillus plantarum* MB452 enhances the function of the intestinal barrier by increasing the expression levels of genes involved in tight junction formation. *BMC Microbiol.* 10: 316.
- Bakker-Zierikzee AM, Tol EA, Kroes H, et al. (2006) Faecal SIgA secretion in infants fed on pre- or probiotic infant formula. *Pediatr Allergy Immunol.* 17: 134–140.
- Begovac J, Božinović D, Lisić M, Barišić B, Schöenwald S (2006) Gastrointestinalne infekcije i otrovanja hranom. *Infektologija*. Zagreb: Profil International.
- Bermudez-Brito M, Plaza-Díaz J, Muñoz-Quezada S, Gómez-Llorente C, Gil A (2012) Probiotic Mechanisms of Action. *Ann Nutr Metab.* 61: 160–174.
- Coppi F, Ruoppolo M, Mandressi A, Bellorofonte C, Gonnella G, Trinchieri A (1985) Results of treatment with *Bacillus subtilis* spores (Enterogermina) after antibiotic therapy in 95 patients with infection calculus. *Chemioterapia.* 4: 467–470.
- Dinleyici EC, Eren M, Ozen M, et al. (2012) Effectiveness and safety of *Saccharomyces boulardii* for acute infectious diarrhea. *Expert Opin Biol Ther.* 12: 395–410.
- Drakes M, Blanchard T, Czinn S (2004) Bacterial probiotic modulation of dendritic cells. *Infect Immun.* 72: 3299–3309.
- Dunne C, O'Mahony L, Murphy L, et al. (2001) In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings. *Am J Clin Nutr.* 73 (2): 386S–92S.

- Finegold SM, Sutter VL, Mathisen GE (1983) Normal Indigenous Intestinal Flora. In: *Human Intestinal Microflora in Health and Disease*. Hentges DJ. Academic Press, New York, NY, USA. 3–31.
- Fioramonti J, Theodorou V, Bueno L (2003) Probiotics: What are they? What are their effects on gut physiology?. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 17: 711-724.
- Floch MH, Walker WA, Guandalini S, Hibberd P, Gorbach S, Surawicz C, Sanders ME, Garcia-Tsao G, Quigley EMM, Isolauri E, Fedorak RE, Dieleman LA (2008) Recommendations for Probiotic Use—2008. *J Clin Gastroenterol*. 42: S104–S108.
- Floch MH, Walker WA, Madsen K, Sanders ME, Macfarlane GT, Flint HJ, Dieleman LA, Ringel Y, Guandalini S, Kelly CP, Brandt LJ (2011) Recommendations for Probiotic Use—2011 Update. *J Clin Gastroenterol*. 45: S168–S171.
- Food and Agriculture Organization/World Health Organization (FAO/WHO) (2001) Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria, ([http://www.who.int/foodsafety/publications/fs\\_management/en/probiotics.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf))
- Fuller R (1989) Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol*. 66: 365–78.
- Fuller R (1991) Probiotics in human medicine. *Gut*. 32: 439-442.
- Gomes AMP, Malcata FX (1999) Bifidobacterium spp. and Lactobacillus acidophilus: Biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends Food Sci Technol*. 10: 139–157.
- Guarino A, Albano F, Ashkenazi S, Gendrel D, Hoekstra JH, Shamir R, Szajewska H (2008) European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/European

Society for Paediatric Infectious Diseases Evidence-based Guidelines for the Management of Acute Gastroenteritis in Children in Europe. *JPGN*. 46: S81–S122.

- Guarino A, Ashkenazi S, Gendrel D, Lo Vecchio A, Shamir R, Szajewska H (2014) European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/European Society for Paediatric Infectious Diseases Evidence-based Guidelines for the Management of Acute Gastroenteritis in Children in Europe: Update 2014. *JPGN*. DOI: 10.1097/MPG.0000000000000375.
- Hart AL, Lammers K, Brigidi P, et al. (2004) Modulation of human dendritic cell phenotype and function by probiotic bacteria. *Gut*. 53: 1602–1609.
- Hassan M, Kjos M, Nes IF, Diep DB, Lotfipour F (2012) Natural antimicrobial peptides from bacteria: characteristics and potential applications to fight against antibiotic resistance. *J Appl Microbiol*. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2012.05338.
- Havenaar R, Huis In't Veld MJH (1992) Probiotics: a general view. In: Lactic acid bacteria in health and disease. Vol 1. Amsterdam: Elsevier Applied Science Publishers.
- He F, Morita H, Kubota A, et al. (2005) Effect of orally administered non-viable *Lactobacillus* cells on murine humoral immune responses. *Microbiol Immunol*. 49: 993–997.
- Holzapfel WH, Haberer P, Geisen R, Björkroth J, Schillinger U (2001) Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am J Clin Nutr*. 73: 365S–73S.
- Hosono A (1992) Fermented Milk in the Orient. In: *Functions of Fermented Milk: Challenges for the Health Sciences*. Nagasawa Y, Hosono A. Elsevier Applied Science, London, UK. 61–78.

- Kim SO, Sheikh HI, Ha SD, et al. (2006) G-CSF-mediated inhibition of JNK is a key mechanism for *Lactobacillus rhamnosus*-induced suppression of TNF production in macrophages. *Cell Microbiol.* 8: 1958–1971.
- Land MH, Rouster-Stevens K, Woods CR, Cannon ML, Cnota J, Shetty AK (2005) *Lactobacillus* sepsis associated with probiotic therapy. *Pediatrics.* 115(1): 178–181.
- Lilly DM, Stillwell RH (1965) Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms. *Science.* 147: 747-748.
- Macpherson AJ, Geuking MB, McCoy KD (2005) Immune responses that adapt the intestinal mucosa to commensal intestinal bacteria. *Immunology.* 115: 153–162.
- Mardešić D et al. (2003) *Pedijatrija*. Zagreb: Školska knjiga.
- Marteau P (2001) Safety aspects of probiotic products. *Scand. J. Nutr./Näringsforskning.* 45: 22–30.
- Mastretta E, Longo P, Laccisaglia A, et al. (2002) *Lactobacillus* GG and breast feeding in the prevention of rotavirus nosocomial infection. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 35: 527Y31.
- McFarland LV, Elmer GW, McFarland M (2006) Meta-analysis of probiotics for prevention and treatment of acute diarrhea. *International Journal of Probiotics and Prebiotics.* 1(1): 63–76.
- Mohamadzadeh M, Olson S, Kalina WV, et al. (2005) *Lactobacilli* activate human dendritic cells that skew T cells toward T helper 1 polarization. *Proc Natl Acad Sci USA.* 102: 2880–2885.
- National Collaborating Centre for Women’s and Children’s Health. Diarrhoea and vomiting caused by gastroenteritis. Diagnosis, assessment and management in children younger than 5 years. RCOG Press. <http://www.nice.org.uk/nicemedia/pdf/CG84FullGuideline.pdf>.



- Nesser JR, Granato D, Rouvet M, Servin A, Teneberg S, Karlsson KA (2000) *Lactobacillus johnsonii* La1 shares carbohydrate-binding specificities with several enteropathogenic bacteria. *Glycobiology*. 10: 1193–1199.
- Nielsen DS, Cho GS, Hanak A, Huch M, Franz CM, Arneborg N (2010) The effect of bacteriocin-producing *Lactobacillus plantarum* strains on the intracellular pH of sessile and planktonic *Listeria monocytogenes* single cells. *Int J Food Microbiol*. 141: S53–S59.
- Ogilvie I, Khoury H, El Khoury AC, Goetghebeur MM (2011) Burden of rotavirus gastroenteritis in the pediatric population in Central and Eastern Europe: serotype distribution and burden of illness. *Hum Vaccin*. 7(5): 523-33.
- Ohland CL, Macnaughton WK (2010) Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier function. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 298: 807-819.
- Pena JA, Versalovic J (2003) *Lactobacillus rhamnosus* GG decreases TNF- $\alpha$  production in lipopolysaccharide-activated murine macrophages by a contact-independent mechanism. *Cell Microbiol*. 5: 277–285.
- Rachmilewitz D, Katakura K, Karmeli F, et al. (2004) Toll-like receptor 9 signaling mediates the anti-inflammatory effects of probiotics in murine experimental colitis. *Gastroenterology*. 126: 520–528.
- Rosander A, Connolly E, Roos S (2008) Removal of antibiotic resistance plasmids from *Lactobacillus reuteri* ATCC 55 730 and characterization of the resulting daughter strain, *L reuteri* DSM 17 938. *Appl Environ Microbiol*. 74: 6032–40.
- Russell JB, Diez-Gonzalez F(1998) The effects of fermentation acids on bacterial growth. *Adv Microb Physiol*. 39: 205–234.
- Salminen S (1996) Uniqueness of probiotic strains. *IDF Nutr News Lett*. 5: 16–8.

- Sarowska J, Choroszy-Krol I, Regulska-Ilow B, Frej-Mądrzak M, Jama-Kmiecik A (2013) The Therapeutic Effect of Probiotic Bacteria on Gastrointestinal Diseases. *Adv Clin Exp Med.* 759–766.
- Savarino SJ, Bourgeois AL (1993) Diarrhoeal disease: current concepts and future challenges. Epidemiology of diarrhoeal diseases in developed countries. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.* 87 (3): 7–11.
- Servin AL (2004) Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. *FEMS Microbiol Rev.* 28: 405–440.
- Sgorbati B, Biavati B, Palenzona D (1995) The Genus Bifidobacterium. In: The Lactic Acid Bacteria. Vol. 2, Wood BJB, Holzapfel WH. Chapman and Hall, London, UK. 279–306.
- Socol CR et al. (2010) The Potential of Probiotics: A Review. *Food Technol Biotechnol.* 48(4): 413-434.
- Szajewska H, Kotowska M, Mrukowicz JZ, Armanska M, Mikolajczyk W (2001) Efficacy of *Lactobacillus* GG in prevention of nosocomial diarrhea in infants. *J Pediatr.* 138(3): 361–365.
- Szajewska H, Mrukowicz JZ (2001) Probiotics in the Treatment and Prevention of Acute Infectious Diarrhea in Infants and Children: A Systematic Review of Published Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trials. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition.* 33: S17–S25.
- Szajewska H, Skórka A (2009) *Saccharomyces boulardii* for treating acute gastroenteritis in children: updated meta-analysis of randomized controlled trials. *Aliment Pharmacol Ther.* 30: 955–63.

- Szajewska H, Skórka A, Ruszczyński M, et al. (2013) Meta-analysis: *Lactobacillus* GG for treating acute gastroenteritis in children—updated analysis of randomised controlled trials. *Aliment Pharmacol Ther.* 38: 467–76.
- Szajewska H, Guarino A, Hojsak I, Indrio F, Kolacek S, Shamir R, Vandenplas Y, Weizman Z (2014) Use of Probiotics for Management of Acute Gastroenteritis: A Position Paper by the ESPGHAN Working Group for Probiotics and Prebiotics. *JPGN.* 58: 531–539.
- Tancrede C (1992) Role of human microflora in health and disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 11(11): 1012–5.
- Tao Y, Drabik KA, Waypa TS, Musch MW, Alverdy JC, Schneewind O, Chang EB, Petrof EO (2006) Soluble factors from *Lactobacillus* GG activate MAPKs and induce cytoprotective heat shock proteins in intestinal epithelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol.* 290: C1018–C1030.
- Thomas DW, Greer FR, Committee on Nutrition (2010) Probiotics and Prebiotics in Pediatrics. Section on Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition, *Pediatrics.* 126: 1217–1231.
- van der Aa Kühle A, Skovgaard K, Jespersen L (2005) *In vitro* screening of probiotic properties of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* and food-borne *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Int J Food Microbiol.* 101: 29–39.
- Vanderpool C, Yan F, Brent Polk D (2008) Mechanisms of probiotic action: Implications for therapeutic applications in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis.* 14: 1585–1596.
- Vollaard AM, Ali S, van Asten HA, et al. (2004) Risk factors for typhoid and paratyphoid fever in Jakarta, Indonesia. *JAMA.* 291: 2607–15.

- Weizman Z, Asli G, Alsheikh A (2005) Effect of a probiotic infant formula on infections in child care centers: comparison of two probiotic agents. *Pediatrics*. 115(1): 5–9.
- Yan F, Polk DB (2002) Probiotic bacterium prevents cytokine-induced apoptosis in intestinal epithelial cells. *J Biol Chem*. 277: 50959–50965.
- Yan F, Cao H, Cover TL, Whitehead R, Washington MK, Polk DB (2007) Soluble proteins produced by probiotic bacteria regulate intestinal epithelial cell survival and growth. *Gastroenterology*. 132: 562–575.
- Zyrek AA, Cichon C, Helms S, Enders C, Sonnenborn U, Schmidt MA (2007) Molecular mechanisms underlying the probiotic effects of *Escherichia coli* Nissle 1917 involve ZO-2 and PKC redistribution resulting in tight junction and epithelial barrier repair. *Cell Microbiol*. 9: 804–816.

## 7. ŽIVOTOPIS

Rođena sam u Zagrebu, 1.12.1989. godine. Srednjoškolsko obrazovanje ostvarila sam u prirodoslovno-matematičkoj, XV. gimnaziji. Paralelno uz gimnaziju pohađala sam srednju umjetničku školu, Škola za suvremeni ples Ane Maletić, i stekla zvanje plesača suvremenog plesa.

Medicinski fakultet upisujem 2008. godine. Demonstratorica sam na Katedri za kliničku propedeutiku od akademske godine 2012./2013. do danas te od ove godine i na Katedri za pedijatriju. Uz redovito obavljanje fakultetskih obaveza aktivno sudjelujem u radu studentskih sekcija. Član sam vodstva Studentske sekcije za neuroznanost od 2012. godine. U sklopu sekcije, u listopadu 2013. godine, pokrenuli smo tromjesečni *online* studentski neuroznanstveni časopis *Gyrus*, gdje sam ujedno član osnivačkog i uredničkog tima. Aktivni sam član Studentske pedijatrijske sekcije. U kolovozu 2012. godine sudjelovala sam u profesionalnoj studentskoj razmijeni International Federation of Medical Student's Associations (IFMSA), u Češkoj, Hradec Králové, na odjelu ginekologije i porodništva. Kao pasivan sudionik prisustvovala sam 4. hrvatskom kongresu neuroznanosti i 1. međunarodnom kongresu nutricionista.

Volontersko iskustvo prikupljam kroz rad s mladima kao animator u ljetnom kampu Modrave i držanjem besplatnih instrukcija za učenike osnovnih i srednjih škola u župi. Nedavno sam položila drugi stupanj hrvatskog znakovnog jezika. Aktivno se služim engleskim i osnovno poznajem njemački jezik.