

Kan tillskott av probiotika ha effekt på stress och ångest?

- En systematisk översiktsartikel

Emma Olsson och Susanna Vallin

Självständigt arbete i klinisk nutrition 15 hp

Dietistprogrammet 180/240 hp

Handledare: Jenny van Odijk

Examinator: Heléne Bertéus Forslund

2021-03-31

Sahlgrenska akademien



Sammanfattning

Titel:	Kan tillskott av probiotika ha effekt på stress och ångest? – En systematisk översiktsartikel
Författare:	Emma Olsson
Handledare:	Jenny van Odiijk
Examinator:	Heléne Bertéus Forslund
Linje:	Dietistprogrammet, 180/240 hp
Typ av arbete:	Självständigt arbete i klinisk nutrition, 15 hp
Datum:	21-03-31

Bakgrund: Stress och ångest som generella symtom drabbar många människor. Upplevs dessa frekvent och under lång tid kan det leda till ohälsa. Det pågår mycket forskning kring hur tarmfloran kan påverka stress och ångest genom ”gut-brain axis”. Probiotika ger flera hälsofördelar och kan potentiellt även påverka dessa symtom.

Syfte: Syftet med den här systematiska översikten var att undersöka om tillskott av enskilda probiotiska stammar hade effekt på stress och ångest hos stressade, vuxna individer.

Sökväg: En systematisk litteratursökning genomfördes i databaserna PubMed och Scopus. Relevanta sökord användes t.ex. ”Lactobacill*”, ”Bifidobacter*”, ”Probiotic*”, ”Psychological Stress*”, ”Perceived stress”, ”Chronic Stress”, ”Stress Symptoms”, ”Anxiety”, ”Symptoms of Anxiety”, ”Random*” samt ”blind*”.

Urvalskriterier: Inkluderades: Friska vuxna, 18-65 år, RCT-studier skrivna på svenska eller engelska, humanstudier, probiotika-tillskott som intervention och placebo som kontroll, studier som har undersökt förändring i subjektiv stress eller ångest utifrån validerade självskattningsskalor samt eventuellt förändring i stress mätt som kortisol, populationen bestod av stressade individer fastställt utifrån ett frågeformulär. Exkluderades: Studier som undersökt flera probiotika-stammar utan att separera dessa, studier som hade en annan intervention än enbart probiotikatillskott eller som inte redovisar enskilda effekter för probiotika, studier där interventionen varit ”inaktiv” probiotika, studier där deltagarna hade en psykiatrisk diagnos, sekundära analyser av RCT-studier, pilot-studier, studier publicerade innan år 2000.

Datainsamling och analys: Sökningen genomfördes 21-01-29 och genererade totalt 398 träffar. Efter läsning av titel och abstract återstod 18 artiklar att läsa i fulltext. Fyra artiklar valdes ut för granskning. Efter att resultaten analyserades exkluderades ytterligare en artikel. Slutligen återstod tre artiklar som inkluderades i översiktsartikeln. En kvalitetsgranskning genomfördes först med SBU:s mall ”*Bedömning av randomiserade studier (effekt av att tilldelas en intervention (ITT))*” och därefter bedömdes evidensen med mallen ”*Underlag för sammanvägd bedömning enligt GRADE*”.

Resultat: Två studier från Asien och en studie från Europa inkluderades. Studiepopulationen bestod av 376 individer. Interventionerna pågick mellan fem och tolv veckor. Probiotikan som studerades bestod av olika stammar av laktobaciller av liknande koncentration. Effekten mättes med självskattnings-skalar (PSS-10 och DASS) samt kortisolprov. Resultaten för PSS-10 var inte helt samstämmiga mellan studierna, där endast en av studierna visade signifikant minskade stressnivåer i intervention jämfört med kontroll. För stress och ångest mätt med DASS sågs inga signifikanta resultat. Endast en av studierna kunde visa en signifikant minskning av kortisolnivåer. Detta värde var dock svårt att jämföra med de övriga två studierna.

Slutsatser: Det finns en låg tillförlitlighet (++) att supplementering med probiotika möjligen inte kan ge effekt på upplevd stress och ångest samt mycket låg tillförlitlighet (+), d.v.s. det går inte att bedöma ifall supplementering med probiotika inte har effekt på stressmarkören kortisol.

Nyckelord: probiotika, gut-brain axis, stress, ångest, kortisol, självskattningsskalor

Abstract

Title: Can supplementation of probiotics have an effect on stress and anxiety? -
A systematic review
Author: Emma Olsson & Susanna Vallin
Supervisor: Jenny van Odiijk
Examiner: Heléne Bertéus Forslund
Programme: Programme in dietetics, 180/240 ECTS
Type of paper: Bachelor's thesis in clinical nutrition, 15 higher education credits
Date: 21-03-31

Background: Stress and anxiety as general symptoms affect many people. If these are experienced frequently and for a long time, it can lead to illness. There is a lot of ongoing research about how the intestinal flora can affect stress and anxiety through the "gut-brain axis". Probiotics provide several health benefits and can potentially also affect these symptoms.

Objectives: The purpose of this systematic review was to investigate whether supplementation of single-strain probiotic had an effect on stress and anxiety in stressed, adult individuals.

Search strategy: A systematic literature search was performed in the databases PubMed and Scopus. Relevant keywords were used, for example "Lactobacill*", "Bifidobacter*", "Probiotic*", "Psychological Stress*", "Perceived stress", "Chronic Stress", "Stress Symptoms", "Anxiety", "Symptoms of Anxiety", "Random*" and "blind*".

Selection criteria: Included: Healthy adults, 18-65 years, RCT studies written in Swedish or English, human studies, probiotic supplements as intervention and placebo as control, studies that have examined change in subjective stress or anxiety based on validated self-assessment scales and possible change in stress measured Like cortisol, the population consisted of stressed individuals determined from a questionnaire. Excluded: Studies that examined several probiotic strains without separating them, studies that had an intervention other than probiotic supplements alone or that did not report individual effects for probiotics, studies where the intervention was "inactive" probiotics, studies where participants had a psychiatric diagnosis, secondary analyzes of RCT studies, pilot studies, studies published before the year 2000.

Data collection and analysis: The search was conducted on 21-01-29 and generated a total of 398 hits. After reading the title and abstract, 18 articles remained to be read in full text. Four articles were selected for review. After the results were analyzed, another article was excluded. Finally, three articles remained which were included in the review article. A quality review was first carried out with SBU's template "*Assessment of randomized trials (effect of awarding an intervention (ITT))*" and then the evidence was assessed with the template "*Basis for weighted assessment according to GRADE*".

Main results: Two studies from Asia and one study from Europe were included. The study population consisted of 376 individuals. The interventions lasted between five and twelve weeks. The probiotics studied consisted of different strains of lactobacilli of similar concentration. The effect was measured with self-assessment scales (PSS-10 and DASS) and cortisol tests. The results for PSS-10 were not consistent between the studies, only one of the studies showed significantly reduced stress levels in the intervention group compared to control. No significant results were seen for stress and anxiety measured with DASS. Only one of the studies could show a significant reduction in cortisol levels. However, this value was difficult to compare with the other two studies.

Conclusions: There is a *low reliability* (++) that supplementation with probiotics may not have an effect on perceived stress and anxiety and *very low reliability* (+), in other words, it is not possible to assess whether supplementation with probiotics dose not have an effect on the stress marker cortisol.

Keywords: probiotics, gut-brain axis, stress, anxiety, cortisol, self-assessment scales

Förkortningar och ordförklaringar

APA	American Psychological Association
ACTH	Adrenocorticotrophic hormone. Hormon som utsöndras från hypofysen och bla stimulerar utsöndring av kortisol.
BAI	Beck Anxiety Inventory. Självsfattningsskala som mäter ångest.
BMI	Body mass index
CAR	Cortisol Awakening Response. Utsöndring av kortisol som följer dygnsrytmen.
CBB	CogState Brief Battery. Ett test som utvärderar kognitionsförmåga.
CFU	Colony Forming Units. Enhet som anger antalet bakterier.
DASS	The Depression Anxiety Stress Scales. Självsfattningsskala som mäter stress, ångest och depression.
ELISA	Enzyme-linked Immunoabsorbent Assay. Instrument för att t.ex. analysera plasmakortisol.
FAO	Food and Agriculture Organization
GAD	Generalized Anxiety Disorder
GF	germ free= bakteriefri. Studier använder ofta bakteriefria möss (utan tarmflora) för att undersöka tarmfloran kopplat till andra faktorer.
GRADE	The Grading of Recommendations Assessments, Development and Evaluation
Gut-brain axis	"tarm-hjärn axeln". Koppling mellan tarmen och hjärnan.
HPA	Hypothalamus, Pituitary gland, and Adrenal cortex. Stress-axel.
HR	Heart rate
IBD	Inflammatory bowel disease
IBS	Irritable bowel syndrome
ICD-10	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10
I	Intervention
ITT	Intention to treat
K	Kontroll
MeSH	Medical Subject Headings.
RCT	Randomized Controlled Trial
SBU	Statens Beredning för medicinsk och social Utvärdering
SLV	Livsmedelsverket
TICS	Trier Inventory for Chronic Stress. Självsfattningsskala som mäter kronisk stress
TSST	The Trier Inventory for Chronic Stress. Ett akut stress-test.
PSS	Perceived Stress Scale. Självsfattningsskala som mäter generell stress.
PP	Per Protocol
VAS	Visual Analogue Scale
WHO	World Health Organization

Innehållsförteckning

1. Bakgrund	6
1.1 Psykologisk stress och ångest.....	6
1.1.1 Stress.....	6
1.1.2 Kronisk stress.....	6
1.1.3 Ångest.....	7
1.1.4 Behandling av stress och ångest.....	7
1.1.5 Mätmetoder för stress och ångest.....	7
1.2 Tarmfloran.....	8
1.3 Probiotika.....	9
1.4 Gut-brain axis.....	10
2. Problemformulering	10
3. Syfte	11
4. Frågeställningar	11
5. Metod	11
5.1 Effektmått.....	11
5.2 Inklusions- och exklusionskriterier.....	11
5.3 Datainsamlingsmetod.....	11
5.4 Databearbetning.....	13
5.5 Granskning av relevans och kvalitet.....	13
6. Resultat	14
6.1 Studier samt studiekvalitet (SBU).....	14
6.1.1 Studie 1 – Patterson et al., 2020.....	15
6.1.2 Studie 2 – Chong et al., 2019.....	16
6.1.3 Studie 3 – Lew et al., 2019.....	17
6.2 Resultatens tillförlitlighet (GRADE).....	18
7. Diskussion	19
7.1 Metoddiskussion.....	20
7.2 Resultatdiskussion.....	20
7.2.1 Ingående studier.....	21
7.5 Etik, miljö och mänskliga rättigheter.....	25
8. Slutsats	25
9. Litteraturlista	26

1. Bakgrund

Ett flertal studier har de senaste åren studerat huruvida probiotika kan ha en effekt på mentala och psykosociala faktorer så som stress, oro, ångest och depression (Romijn, Rucklidge, Kuijer, & Frampton, 2017; Mohammadi et al., 2016; Kelly et al., 2017). Resultaten från dessa studier varierar och därför är det svårt att dra några entydiga slutsatser. En del studier visar att probiotika kan minska nivåerna av upplevd stress och eller ångest (Mohammadi et al., 2016; Sawada et al., 2019; Messaudi et al., 2011), medan andra studier visar att probiotika inte har effekt på stress och ångest (Romijn et al., 2017; Kelly et al., 2017). Vidare har ett flertal meta-analyser och systematiska översikter gjorts, som utvärderar det underlag som finns på området (McKean, Naug, Nikbakht, Amiet & Colson, 2017; Zhang et al., 2020; Vitellio, Chira, De Angelis, Dumitrascu & Portincasa, 2020; Liu et al., 2018).

1.1 Psykologisk stress och ångest

1.1.1 Stress

Termen stress är ett brett och invecklat begrepp som har flera olika definitioner. Gemensamt för de flesta är att stress uppkommer av att individen föreställer sig hot eller upplever faktiska hot i sin omgivning som ger både fysiologiska (kroppsliga) och beteendemässiga reaktioner. Detta kan liknas vid ett system som har utvecklats genom evolutionen för att öka våra chanser att överleva i livshotande situationer (Schacter, Gilbert, Werner & Hood, 2012; Kalat, 2014). Förenklat kan den fysiologiska responsen på stress delas in i två olika system. Det ena är det sympatiska (automatiska) nervsystemet som initierar flera reaktioner. Exempelvis ökar blodtrycket och hjärtfrekvensen, blodsockret höjs och binjurarna stimuleras till att frisläppa stresshormoner som adrenalin och noradrenalin. Den här reaktionen kallas allmänt för "fight-flight"-responsen och är en akut respons som syftar till att förbereda individen på att fly från eller kämpa i en akut situation genom att mobilisera kroppens resurser (Schacter et al., 2012). Det andra systemet som aktiveras vid stress, men mer långsamt, är HPA-axeln (hypothalamus, pituitary gland, and adrenal cortex- axis), där hypothalamus skickar signaler till hypofysen att utsöndra ACTH- hormon (adrenocorticotropic hormone) som i sin tur stimulerar binjurarna att utsöndra kortisol samt ovan nämnda hormoner. Kortisol bidrar bland annat till att öka energitillförseln, förbättra andningen samt höja blodsockret (Kalat, 2014). Aktiveringen av dessa system är ofta till individens fördel. De är däremot programmerade för att vara aktiva under en kortare tid, som inte bör vara längre än några minuter eller timmar (Socialstyrelsen, 2003). Stress aktiverar även immunsystemet, bland annat genom att frisätta cytokiner och andra ämnen som kan ge sjukdomslikande symptom (Kalat, 2014). Förutom att kortisol utsöndras vid stress sker även en basal utsöndring som följer dygnsrytmen. Utsöndringen börjar med en kraftig höjning av kortisolnivåer vid uppvaknandet, även kallat cortisol awakening response (CAR), som sedan minskar under dagen. Som lägst är kortisolnivåerna under de tidiga morgontimmarna innan uppvaknandet (Dedovic, Duchesne, Andrews, Engert & Pruessner, 2009).

1.1.2 Kronisk stress

Som nämnts tidigare så är dessa stresssystem endast programmerade för att vara aktiva under en kortare tid. I dagens moderna samhälle möts vi av andra hot än vi gjorde förr, därför riskerar stresssystemen att aktiveras alltför ofta och under längre perioder. Toleransen för stress samt vad man upplever som stressfyllt är individuellt (Kalat, 2014). Men om kraven blir för stora för individen att hantera där stresspåslaget är aktiverat under en längre tid, utan att kroppen återhämtas, kan stressen orsaka negativa kroppsliga, psykiska och beteendemässiga symptom som

kännetecknar en stressrelaterad ohälsa. Denna form av stress kan kallas för “kronisk stress” (Schacter et al., 2012; Kalat, 2014). Typiskt kroppsliga symptom vid kronisk stress är törst, magont, trötthet, illamående, aptitlöshet etc. Psykiska symptom kan yttra sig som en svårighet att hantera utmaningar, oförmåga att slappna av etc. och typiskt beteendemässiga konsekvenser kan vara att man får sömnproblem, högre alkoholkonsumtion, blir sjukskriven etc. (Seňová & Antořová, 2014). Vid långvarig stress är det främst HPA-axeln som är aktiv. En konstant utsöndring av kortisol kan bland annat skada cellerna i hippocampus, ett centra i hjärnan som associeras med kognitiva förmågor, t.ex. inlärning, minne och stresskontroll (Schacter et al., 2012). Långvarig stress kan också leda till att hjärtat påverkas negativt och att immunsystemet försämras (Kalat, 2014). Kronisk stress är ingen diagnos i sig men är en indirekt riskfaktor för flera sjukdomar, t.ex. hjärt-och kärlsjukdomar och även psykiatriska sjukdomar så som depression, där man ser en ökad aktivitet i HPA-axeln (Schacter et al., 2012). Vidare är utmattningssyndrom en direkt konsekvens av kraftig stress (McEwen, 2007; Socialstyrelsen, 2003).

1.1.3 Ångest

Stress, ångest och oro hänger på många sätt ihop och det kan vara svårt att skilja dem åt då symtomen ofta liknar varandra. Några symptom som är liknande är insomni, trötthet, muskelspänning, irritation och koncentrationssvårigheter (American psychological association, 2020). Statens beredning för medicinsk utvärdering (SBU) (2005) beskriver ångest som *“olustkänslor eller kroppsliga spänningssymtom inför en förväntad fara eller olycka där det upplevda hotet kan komma utifrån eller inifrån”* (s. 15). Det är vanligt med ångest och oro som enskilda symptom utan koppling till någon sjukdom men de förekommer även vid flera psykiatriska sjukdomar, t.ex. depression (SBU, 2005). Ångestsyndrom är en klass av psykiatriska störningar som har ångest som det dominerande kännetecknet t.ex., generaliserat ångestsyndrom (GAD), fobier eller paniksyndrom (Schacter et al., 2012). För att diagnostisera depression och ångestsyndrom krävs ett antal kriterier enligt diagnossystemet ICD-10. Dessa kriterier används i Sverige vanligtvis inom hälso- och sjukvården (Socialstyrelsen, 2020).

1.1.4 Behandling av stress och ångest

Det finns idag en rad olika åtgärder för att motverka och minska stress- och ångestsymtom, som obehandlade kan leda till psykologiska sjukdomar, exempelvis depression och utbrändhet. Några åtgärder som både kan behandla befintliga symptom eller fungera förebyggande är träning, livsstilsrådgivning och terapi. Även mindfulness/meditation har på senare tid lyfts fram som en alternativ behandlingsform, även inom vården (SBU, 2014b). Vad gäller träning så har man sett att det kan ha en effekt på kortisol-nivåerna, både hos friska och hos personer med diagnostiserad depression samt personer med kronisk stress (Beserra Heloisa Nascimento et al., 2018) Det finns även läkemedel man kan ta mot ångest och oro, både receptbelagda och receptfria (Schacter et al., 2012).

1.1.5 Mätmetoder för stress och ångest

Det finns en rad subjektiva skalor och frågeformulär kopplade till generella symptom på stress och ångest som är till för att genom självskattning undersöka vilken grad av stress och ångest personen har. Dessa mätmetoder är alltså inte till för att ställa en diagnos. De skalor som presenteras är de som berörs i den här systematiska översikten. En skala är *“The Depression Anxiety Stress Scales”* (DASS). Skalan består av två subskalor och togs fram för att mäta depression och ångest utan att blanda dessa tillstånd med varandra. Även en subskala för psykologisk stress lades till och bildade DASS-42 och består av dessa tre subskalor (Shea, Tennant & Pallant, 2009;

Lovibond & Lovibond, 1995). *“Perceived Stress Scale”* (PSS) togs fram av Cohen et al. (1983) för att mäta den generella stressnivån. Originalskalan (PSS-14) består av 14 frågor och idag finns även PSS-10, som är en uppdaterad variant bestående av 10 frågor. PSS har blivit en av de mest använda skalorna för att mäta generell stress men kan även användas för att utvärdera nivå av kronisk stress. Skalan anses ha god validitet (Cohen, Kamarck & Mermelstein, 1983). *“The Trier Inventory for Chronic Stress”* (TICS) är en skala som används för att mäta kronisk stress genom självskattning. Skalan består av 57 frågor som är uppdelade i nio kategorier. Skalan har vissa svårigheter med att skilja kronisk stress från depression då symptomen för dessa tillstånd ofta liknar varandra (Petrowski, Kliem, Albani, Hinz & Brähler, 2019). Se *tabell 1* för ytterligare beskrivning av skalorna.

Tabell 1: Självskattningsskalor

Skala /Subskala	Vad skalan mäter <i>Exempel</i>	Tidsspänn	Antal frågor	Poäng eller gradering	Utvärdering
DASS-42 (total)	Stress, ångest och depression <i>Mäter de negativa känslomässiga tillstånden.</i>	Senaste veckan	42	Ånger i vilken grad man upplevt varje symptom enligt en 4-gradig skala	Ju högre gradering desto starkare upplevs känslan
/DASS-anxiety	Ångest <i>Undersöker tex paniksymtom, rädsla och kroppsliga symtom kopplade till ångest.</i>	Enligt ovan	14	0-20+ poäng	Moderat: 10-14 poäng Svår: 15-19 poäng
/DASS-stress	Stress <i>Undersöker tex irritation, svårighet att slappna av och upprördhet.</i>	Enligt ovan	14	0-34+ poäng	Moderat: 19-25 poäng Svår: 26-33 poäng
/DASS-depression	Depression <i>Undersöker tex hopplöshet, entusiasm/intresse och initiativförmåga.</i>	Enligt ovan	14	0-28+ poäng	Moderat: 14-20 poäng Svår: 21-27 poäng
PSS-10	Generell stressnivå/kronisk stressnivå <i>Undersöker tex i vilken grad individen upplever kontroll, nervositet och hanterbarhet</i>	Senaste månaden	10	Ånger hur ofta man upplevt varje tillstånd/känsla Max 40 poäng	Ju högre gradering desto högre nivå av generell stress/kronisk stress
TICS	Kronisk stress <i>Undersöker tex prestationsångest, kronisk oro och överbelastning på jobbet</i>	Senaste 6 månaderna	57		Ju högre gradering desto högre nivå av kronisk stress Poäng ≤13: ”låg kronisk stress” Poäng ≥14 ”hög kronisk stress”

Förklaringar: DASS-42: Depression Anxiety and Stress Scale; PSS: Perceived Stress Scale; TICS: The Trier Inventory for Chronic Stress
Under resultat redovisas resultat för subskalorna DASS-anxiety, DASS-stress samt skalan PSS-10.

Vidare finns även objektiva (fysiologiska) mått för att mäta stress. Ett vanligt mått att använda är kortisol-nivå som kan mätas i urin, blodplasma och saliv. Kortisol kan mätas och analyseras i blodet med “ELISA” och mätas i saliven med “Salivette®” (El-Farhan, Rees & Evans, 2017).

1.2 Tarmfloran

Tarmen och dess mikroorganismer, som till största delen utgörs av bakterier, räknas som ett av kroppens största organ. Det har visat sig att sammansättningen av tarmfloran har stor betydelse för vår hälsa. Några av tarmfloras uppgifter är att bryta ned maten vi äter samt producera olika näringsämnen och tarmfloran har även en roll i att stärka immunsystemet och skydda mot skadliga mikroorganismer. Utvecklingen av tarmfloran sker genom hela livet och påverkas av en rad faktorer. Då vi föds är tarmfloran under utveckling för att sedan bli som mest stabil i vuxen

ålder, när vi sedan blir äldre minskar mångfalden i tarmfloran igen (Livsmedelsverket, 2018; McBurney et al., 2019).

Bakterierna i tarmen utgörs av mer än 1000 olika arter, vilka delas in i släktskap t.ex. Lactobacillus, Prevotella och Bifidobakterier (Livsmedelsverket, 2018). Sammansättningen av tarmfloran varierar mellan individer, både vad gäller antal olika arter samt det totala antalet. Sammansättningen påverkas till viss del av genetiska faktorer men främst av kosten, mediciner, ålder och miljö. Det är inte helt klarlagt vad som räknas som en hälsosam tarmflora men det verkar som att den utgörs av en bred artrikedom och ett stort antal bakterier (Livsmedelsverket, 2018). En kost med låg andel fett och animaliskt protein och som är rik på fibrer har kopplats till en mer artrik tarmflora. Medan en typisk västerländsk kost, med ett högt intag av animaliska produkter, fett och ett relativt lågt intag av fibrer skulle kunna påverka tarmens sammansättning på ett negativt sätt (Livsmedelsverket, 2018; McBurney et al., 2019).

Infektioner, antibiotika-kurer eller ohälsosamma matvanor kan tillfälligt störa tarmen, vilket efter en tid kan skapa obalans i tarmfloran, så kallad dysbios. Dysbios kan förklaras som att de goda bakterierna (t.ex. Lactobaciller) till viss del konkurreras ut av patogena bakterier där förhållandet mellan dessa inte längre blir balanserat (Livsmedelsverket, 2018; Petersen & Round, 2014). En obalans i tarmfloras sammansättning och en störd funktion kan påverka flera faktorer t.ex. omsättningen av näringsämnen, genomsläppligheten, inflammation och leda till att tarmfloras skyddande funktion försämras (Livsmedelsverket, 2018). Dysbios har, med varierande bevisgrad, kopplats till olika sjukdomar och tillstånd såsom IBS, födoämnesallergi, kardiovaskulära sjukdomar samt även psykiatriska sjukdomar, t.ex. depression (Livsmedelsverket, 2018). I en del djurstudier har man även sett att stress kan ge en ofördelaktig sammansättning i tarmfloran (Marin et al., 2017).

1.3 Probiotika

Ordet probiotika sägs enligt FAO/WHO (2006) betyda "*for life*" (s. 2), (fritt översatt: "*för livet*"). Deras definition av probiotika är "*Live microorganisms which when administered in adequate amounts confer a health benefit on the host*" (s. 2), (fritt översatt: "*levande mikroorganismer som vid ett adekvat intag ger hälsofördelar till värden*"). Stammar från släktena Lactobacillus och Bifidobakterier är de som främst används i probiotiska tillskott. Men även andra stammar kan användas, t.ex. Lactococcus lactis, Streptococcus thermophilus, propionibakterier och jästsvampen Saccharomyces. Levande mikroorganismer finns även naturligt i vår föda, framför allt i fermenterade produkter, t.ex. kimchi (Livsmedelsverket, 2018).

Som FAO/WHO (2006) påpekar, krävs ett adekvat intag av probiotika för att ge effekt, dock är det inte helt klart vad som är ett adekvat intag. Resultaten från kliniska studier pekar ofta åt olika håll, men det föreslås att 10^9 kolonibildande enheter (CFU) bör ses som den lägsta nivån (Gibson et al., 2017; Bertazzoni, Donelli, Midtvedt, Nicoli & Sanz, 2013). Vidare är effekten av probiotika ofta stamberoende (Livsmedelsverket, 2018), därför är det svårt att överföra effekten från en sorts probiotika till andra sorters probiotika på marknaden. I studier blandas ofta flera stammar (multi-strain) och det kan då vara svårt att härleda effekten till en viss probiotikastam (singel-strain) (Bertazzoni et al., 2013). De studier som finns kopplade till probiotika undersöker dessutom ofta specifika patientgrupper, därför är det svårt att säga att en viss sorts probiotika kan ha en hälsofrämjande effekt på olika hälsotillstånd (Livsmedelsverket, 2018).

Exakta mekanismer för hur probiotiska bakterier utövar sin effekt är inte klarlagda men probiotika kan skapa en mer gynnsam miljö för bakterierna i tarmen, dels genom att producera kortkedjiga fettsyror (SCFA) som sänker pH-värdet i tarmen samt konkurrera ut patogena

mikroorganismer (Livsmedelsverket, 2018; Gibson, et al., 2017). Vidare kan probiotiska mikroorganismer stärka tarmens skyddande barriär bl.a. genom att öka produktionen av mucin samt reducera inflammation i tarmen (Livsmedelsverket, 2018). Det är ännu inte helt fastställt att probiotika kan förändra tarmfloras sammansättning hos friska, däremot kan probiotika hjälpa till att återställa den "normala" tarmfloran hos friska efter tillfällig dysbios, t.ex. i samband med antibiotikabehandling (Livsmedelsverket, 2018).

1.4 Gut-brain axis

Forskning har funnit att det finns ett komplext kommunikationssystem mellan tarmen och hjärnan, känt som "gut-brain axis" (fritt översatt: "tarm-hjärn axeln"). Hur denna kommunikation fungerar är ännu inte helt klarlagd men den sker troligtvis genom neurala, endokrina och immunologiska processer där flera olika mekanismer är involverade (Collins, Surette & Bercik, 2012). Vidare verkar den även fungera dubbelriktat, d.v.s. att tarmfloran signalerar till hjärnan och tvärtom. Senare forskning menar att detta samband skulle kunna påverka kognitiva och psykologiska funktioner i hjärnan och därigenom påverka vårt beteende och mående (Rea, Dinan & Cryan, 2020).

Den forskning som undersökt sambandet mellan tarmfloran och kognitiva och psykologiska processer har till största del gjorts på djur (Rea et al., 2020). Kopplat till stress har man sett att tarmfloran skulle kunna påverka stressresponsen men även omvänt- att stress kan påverka tarmfloran. År 2004 gjordes en viktig upptäckt där man i en studie jämförde möss med och utan tarmbakterier. Studien fann att möss som växt upp i en steril miljö utan bakterier i tarmen (germ-free (GF) mice), visade en överdriven reaktion på akut stress jämfört med de som hade en normal tarmflora. När mössen utan tarmbakterier sedan behandlades med probiotika såg man att stressresponsen inte blev lika kraftig (Sudo et al., 2004). Omvänt har forskning också visat att stress kan inducera förändringar i mössens tarmflora, framförallt vad gäller artmångfald där man i en studie såg att antalet Lactobaciller reducerades hos möss som utsattes för kronisk stress (Marin et al., 2017). Mekanismerna bakom gut-brain axis är dock svåra att fastställa utifrån den forskning som gjorts. Det kan finnas flera potentiella direkta och indirekta vägar (Cryan & Dinan, 2012). Vagusnerven är den mest etablerade kommunikationsvägen, vidare tror man även att kommunikationen kan ske via bakteriernas metaboliter (t.ex. SCFA), cytokiner, neurotransmittorer (serotonin) och endokrina processer (Bailey et al., 2011). Då det kommer till stresshormoner såsom kortisol skulle de kunna påverka tarmens funktion och sammansättning. Dessa stresshormon kan t.ex. störa tarmens barriärfunktion och därigenom bland annat öka genomsläppligheten (Sarkar., 2016). Dock krävs mer forskning på människor för att kunna bekräfta vilken inverkan tarmfloran har på stress och ångest och tvärtom samt vilka mekanismer som är involverade i detta kommunikationssystem (Foster, Rinaman & Cryan, 2017).

2. Problemformulering

Stress och ångest som generella symtom är något som drabbar många människor men som kan leda till allvarigare symptom och sjukdomar om de upplevs under en lång tid. Idag behandlas dessa symptom bland annat genom att göra individuella förändringar i levnadsvanor. Forskning visar på att det finns ett samband mellan tarmen och hjärnan (gut-brain axis) och att detta samband eventuellt kan påverka det psykiska måendet, däribland stress och ångest. Eftersom probiotika kan ha en positiv inverkan på tarmfloran har forskning på senare tid undersökt dess effekt på stress och ångest via gut-brain axis. Sedan den senaste meta-analysen publicerades på området har det tillkommit en del nya originalstudier, därför ansågs det relevant att sammanställa en ny översikt.

3. Syfte

Syftet med den här systematiska översikten var att undersöka underlaget kring om tillskott av enskilda probiotiska stammar hade effekt på stress och ångest hos stressade, vuxna individer.

4. Frågeställningar

- Kan tillskott av enskilda probiotiska stammar jämfört med placebo ha effekt på stress-och ångestrelaterade symtom hos stressade vuxna?

- Kan tillskott av enskilda probiotiska stammar jämfört med placebo ha effekt på stressmarkören kortisol?

5. Metod

Studien är utformad som en systematisk översiktsartikel där systematiska metoder har använts för att samla in och bearbeta data. En litteratursökning genomfördes i två olika databaser där relevanta artiklar utifrån frågeställningen valdes ut. Studieurvalet baserades på valda inklusions- och exklusionskriterier och sedan genomfördes en kvalitetsgranskning av studierna, vidare gjordes en bedömning av resultatens tillförlitlighet enligt GRADE för två effektmått.

5.1 Effektmått

De effektmått som studerades var primärt förändring i subjektiv stress och ångest mätt med självskattningsskalorna DASS-42 och PSS-10 samt sekundärt förändring i objektiv stress mätt med stressmarkören kortisol i blod och saliv. I den här översikten redovisas endast resultat för två subskalor av DASS-42, nämligen DASS-anxiety och DASS-stress eftersom det är ångest och stress som undersöks.

5.2 Inklusions- och exklusionskriterier

Studier som inkluderades var: Humanstudier, randomiserade kontrollerade studier, studier som är skrivna på engelska eller svenska, studier som undersöker probiotikatillskott som intervention och placebo som kontroll, där deltagarna är friska vuxna individer (18-65 år). Vidare inkluderades studier som har undersökt förändring i subjektiv stress eller ångest utifrån validerade självskattningsskalor samt eventuellt förändring i stress mätt som kortisol och studier där populationen består av stressade individer fastställt utifrån ett frågeformulär.

Studier som exkluderades var: Studier som undersökt flera probiotika-stammar utan att separera dessa, studier som har en annan intervention än enbart probiotikatillskott eller som inte redovisar enskilda effekter för probiotika, studier där interventionen varit "inaktiv" probiotika (icke-levande bakteriekultur) (eng: "heat-inactivated") och studier där deltagarna hade en psykiatrisk diagnos. Vidare exkluderades sekundära analyser av randomiserade kontrollerade studier, pilotstudier samt studier publicerade innan år 2000.

5.3 Datainsamlingsmetod

Datainsamlingen genomfördes i de två databaserna PubMed och Scopus den 29/1 – 2021. Sökord togs fram innan sökningarna, dessa redovisas i *tabell 2*. I syfte att försöka fånga in alla

relevanta studier för frågeställningen delades sökningen upp i tre olika block: block 1 ”probiotika”, block 2 ”stress och ångest” och block 3 ”randomiserade kontrollerade studier” som sedan lades ihop till en slutgiltig sökning. För att generera en så bred sökning som möjligt adderades ett flertal sökord till varje block. Sökningarna gjordes genom ”advanced search” där ”AND” användes mellan varje block och ”OR” mellan varje term. Sökstrategierna anpassades något till de två olika databaserna. I PubMed användes både fritextord i form av olika termer och synonymmer (sökts i titel/abstract) men även ämnesord från Svensk MeSH (Medical Subject Headings) (Karolinska institutet, u.å), som är en medicinsk ordlista (tesaurus) tillhörande PubMed (SBU, 2017). Då Scopus inte har någon tillhörande ordlista användes alla termer som fritextord. I Scopus adderades ”TITLE-ABS-KEY” framför varje block för att få träffar i titel, abstract samt i nyckelorden. Fritextorden som användes i de båda databaserna togs fram genom att dels hämta synonymmer under respektive MeSH-term som valdes, och dels genom att ta reda på vilka ord och termer som vanligtvis används inom området, t.ex. genom att se vilka nyckelord som förekommer i studier som berör ämnet. Vad gäller val av sökord för block 1 - ”probiotika” inkluderades de vanligaste formerna av probiotika, d.v.s. laktobaciller och bifidobakterier men även streptokocker och laktokocker inkluderades då dessa kan användas som probiotiska tillskott (SLV, 2018). En del av fritextorden trunckerades med asterisk (*), vidare var alla söktermer på engelska. Den slutgiltiga sökningen genererade 119 träffar i PubMed och 279 träffar i Scopus, totalt 398 träffar.

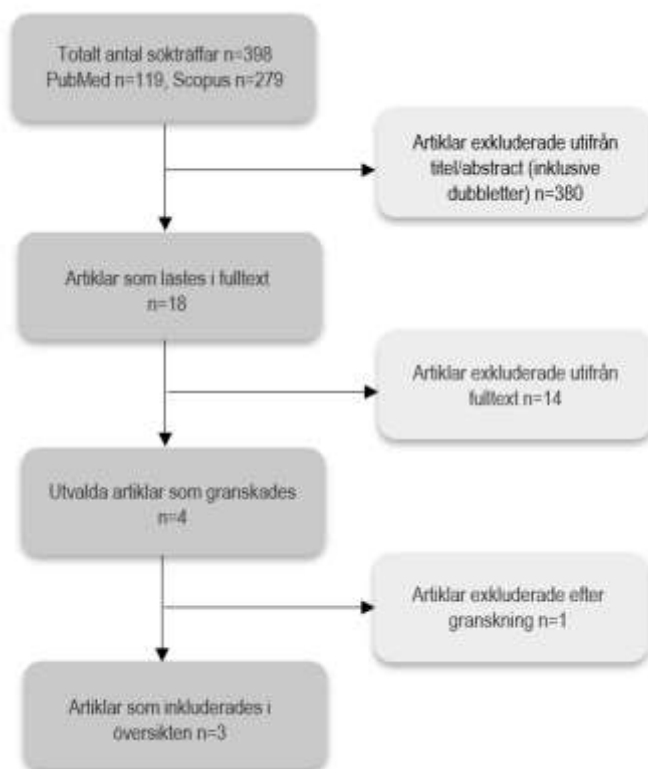
Tabell 2: Sökning i databaser

Databas	Sökning # block	Söksträngar	Datum	Antal träffar	Utvalda (dubletter)	Referens
PubMed	# 1	(Lactobacill*[Title/Abstract] OR Bifidobacter*[Title/Abstract] OR Streptococc*[Title/Abstract] OR Probiotic*[Title/Abstract] OR Lactococc*[Title/Abstract] OR “Limosilactobacillus-reuteri”Limosilactobacillus reuteri*[Title/Abstract] OR Lactobacillus [Mesh] OR Bifidobacterium [Mesh] OR Probiotics[Mesh])	29/1–2021	169,796	-	-
PubMed	# 2	(“Psychological Stress*”[Title/Abstract] OR “Stressed Adults” [Title/Abstract] OR “Perceived stress” [Title/Abstract] OR “Chronic Stress” [Title/Abstract] OR “Stress Symptoms” [Title/Abstract] OR “symptoms of stress” [Title/Abstract] OR “Life Stress*”[Title/Abstract] OR “Mental Suffering” [Title/Abstract] OR Anxiety[Title/Abstract] OR “Symptoms of Anxiety”[Title/Abstract] OR Worry[Title/Abstract] OR Nervousness[Title/Abstract] OR “Stress, Psychological”[Mesh] OR Anxiety[Mesh])	29/1-2021	354,476	-	-
PubMed	# 3	Random*[Title/Abstract] OR blind*[Title/Abstract]	29/1–2021	1,337,435	-	-
PubMed	Slutgiltig- #1, #2, #3	((#1) AND (#2) AND (#3))	29/1–2021	119	4	Patterson et al., 2020; Chong et al., 2019; Lew et al., 2019; Önning et al. 2020
Scopus	# 1	TITLE-ABS-KEY(Lactobacill* OR Bifidobacter* OR Streptococc* OR Probiotic* OR Lactococc* OR “Limosilactobacillus reuteri”)	29/1–2021	299,461	-	-
Scopus	# 2	TITLE-ABS-KEY(“Psychological stress*” OR ”stress*, Psychological” OR “Stressed adults” OR “Perceived stress” OR “Chronic Stress” OR “Stress Symptoms” OR “symptoms of stress” OR “Life stress*” OR ”Mental Suffering” OR Anxiety OR “Symptoms of Anxiety” OR Worry OR Nervousness)	29/1–2021	5551,395	-	-
Scopus	# 3	TITLE-ABS-KEY(Random* OR blind*)	29/1–2021	2,898,035	-	-
Scopus	Slutgiltig- #1, #2, #3	((#1) AND (#2) AND (#3))	29/1–2021	279	4 (4)	Patterson et al., 2020; Chong et al., 2019; Lew et al., 2019; Önning et al. 2020

Förkortningar: #1: ”probiotika”; #2: ”Stress och ångest”; #3: ”Randomiserade kontrollerade studier”

5.4 Databearbetning

Första steget i urvalsprocessen var att välja ut de artiklar som inte matchade inklusions- och exklusionskriterierna sett utifrån titel och abstract samt att ta bort dubletter. Antal artiklar som lästes i fulltext blev då 18 stycken, av dessa exkluderades 14 artiklar. En valdes bort på grund av att målgruppen var fel (Romijn et al., 2017), fem valdes bort eftersom de undersökte en population vars stressnivå från början inte var fastställd utifrån en validerad mätmetod (Sawada et al., 2017; Takada et al., 2017; Kelly JR et al., 2017; Andersson, 2016; Takada et al., 2016), tre valdes bort eftersom de varken hade ett validerat mått för subjektiv stress eller mätt kortisol (Adikari, 2020; Wang, 2019; Langkamp-Henken, 2015), fem valdes bort på grund av att de inte undersökte enskilda bakterier (single-strain) eller undersökte bakterierna separat (Gualtieri, 2020; Diop, 2007; Messaoudi, 2010; Talbott, 2019; Marcos, 2004). Efter exkludering återstod fyra artiklar (Patterson et al., 2020; Chong et al., 2019; Lew et al., 2019) att granska utifrån varje enskilt effektmått. I samband med granskningen uteslöts ännu en artikel eftersom den saknade data vid baslinjen och kunde därmed inte jämföras med resterande studier (Önning et al. 2020), se *figur 1*.



Figur 1: flödesschema

5.5 Granskning av relevans och kvalitet

Kvalitetsgranskningen av studierna gjordes med mallen "Bedömning av randomiserade studier (effekt av att tilldelas en intervention (ITT))" från SBU (2014a). Syftet med denna granskning var att bedöma om det fanns risk för systematiska fel/bias utifrån fem olika områden: *randomisering, avvikelser från planerade interventioner, bortfall, mätning av utfall* samt *rapportering*. Vidare bedömdes även om jäv och *intressekonflikter* fanns. Granskningen gjordes till en början var för sig mellan författarna, därefter diskuterades varje kategori tills konsensus nåddes. Låg, måttlig eller hög risk för bias bedömdes för varje kategori i mallen. Därefter bedömdes den övergripande risken för bias för varje enskild studie som låg, måttlig eller hög. Studierna granskades utifrån det primära och sekundära

effektmåttet var för sig men redovisades tillsammans för att ge en helhetsbedömning av studiekvaliteten.

För att bedöma resultatens tillförlitlighet gjordes en sammanvägd bedömning med mallen "Underlag för sammanvägd bedömning enligt GRADE" framtagen av Göteborgs universitet. Det primära och sekundära effektmåttet bedömdes var för sig. Resultatens tillförlitlighet bedömdes utifrån fem olika kategorier: *risk för bias* utifrån underlaget från SBU:s mall, hur *samstämmiga* studiernas resultat var, hur *precisionen* var, ifall resultaten var *överförbara* till en svensk kontext samt om det fanns risk för *publikationsbias*. Eftersom alla studier var RCT-studier utgick bedömningen från hög tillförlitlighet (+++), där avdrag (0-2) sedan kunde göras utifrån varje kategori. En slutgiltig bedömning för resultatens tillförlitlighet redovisades för varje effektmått som hög (+++), måttlig (++), låg (+) eller mycket låg (+).

6. Resultat

6.1 Studier samt studiekvalitet (SBU)

Totalt inkluderades tre studier som alla var dubbelblindade. Den totala studiepopulationen var 376 deltagare som alla var friska vuxna och som tilldelats antingen interventionen probiotika eller placebo. Alla studier undersökte både det primära och sekundära effektmåttet som valdes ut för översikten. I *tabell 3* redovisas studiernas karakteristika och kvalitet där en hög studiekvalitet indikerade låg risk för bias. I *tabell 4* och *5* redovisas studiernas resultat. Slutligen redovisas den sammanvägda bedömningen enligt GRADE i *tabell 6*.

Tabell 3: Beskrivning av inkluderade studier

Studie: Författare, design år, land	Studie	Population	Intervention <i>stam, dos</i>	Kontroll	Duration	Primärt effektmått <i>psykologiskt symptom/ mätmetod</i>	Sekundärt effektmått <i>stressmarkör/ mätmetod</i>	Bortfall antal (%)	Risk för bias
1: Patterson et al., 2020, Finland, Tyskland	RCT	120 friska vuxna (60 män, 60 kvinnor) 18–45 år gamla. Rekryteras genom TICS.	<i>Lactocaseibacillus paracasei (Lpc-37®)</i> , 1 dos (kapsel) /dag: 1.75 × 1010 CFU	Placebo, 1 dos (kapsel) /dag	5 v.	<i>stress/ PSS-10 stress och ångest/ DASS-anxiety, DASS-stress</i>	<i>kortisol/ Salviette (i saliven)</i>	3 (2,5)	låg
2: Chong et al., 2019 Malaysia	RCT	124 friska vuxna 18–60 år gamla. Rekryteras genom PSS-10.	<i>Lactobacillus plantrum DR7</i> , 1 dos (pulver) /dag: 2 × 109 CFU	Placebo, 1 dos (pulver) /dag	12 v.	<i>stress/ PSS-10 stress och ångest/ DASS-anxiety, DASS-stress</i>	<i>kortisol/ blodprov (analys med ELISA)</i>	3 (2,5)	låg- måttlig
3: Lew et al., 2019 Malaysia	RCT	132 friska vuxna (24 män, 79 kvinnor), 18–60 år gamla Rekryteras genom PSS-10.	<i>Lactobacillus plantrum P8</i> , 1 dos (pulver) /dag: 2 × 1010 CFU	Placebo, 1 dos (pulver) /dag	12 v.	<i>stress/ PSS-10 stress och ångest/ DASS-anxiety, DASS-stress</i>	<i>kortisol/ blodprov (analys med ELISA)</i>	29 (22)	måttlig- hög

Förkortningar: RCT: Randomized Controlled Trial; CFU: colony forming units; TICS: The Trier Inventory for Chronic Stress; PSS: Perceived Stress Scale; DASS: Depression Anxiety and Stress Scale; ELISA; enzyme-linked immunoabsorbent assay

6.1.1 Studie 1: *Lacticaseibacillus paracasei* Lpc-37® improves psychological and physiological markers of stress and anxiety in healthy adults: a randomized, double-blind, placebo-controlled and parallel clinical trial (the Sisu study)

Patterson et al (2020) hade som syfte att undersöka om probiotikan "*Lacticaseibacillus paracasei*-37" (Lpc-37) kunde ha effekt på stress, humör och välbefinnande hos individer med kronisk stress. Interventionen bestod av en kapsel per dag innehållandes 1.75×10^{10} CFU av Lpc-37 och kontroll var placebo. Populationen utgjordes av friska män och kvinnor från Tyskland i åldern 18-45 år som genom frågeformuläret TICS fastställdes vara kroniskt stressade. Exklusionskriterier var bland annat graviditet, diagnostiserad IBS eller IBD, BMI >30 samt intag av antibiotika eller probiotika i samband med studien. Interventionen pågick i fem veckor. Det primära utfallsmåttet var att undersöka probiotikas effekt på hjärtfrekvens (HR) i samband med akut stress (TSST) och sekundära utfall var bland annat att undersöka om den subjektiva stressnivån mätt med olika självskattningsskalor (STAI-T, STAI-S, PSS, BAI, DASS-42, VAS) och den objektiva stressnivån mätt med stressmarkören kortisol förändrades över tid (under interventionen) och i samband med akut stress (TSST). Totalt 120 deltagare rekryterades och bortfallet bestod av tre deltagare. Därmed var det 117 personer som genomförde hela studien, vilka alla analyserades med ITT. PP-analysen inkluderade 113 deltagare (n=55 intervention, n=58 placebo). Från början delades deltagarna upp i två grupper beroende på om de hade "låg kronisk stress" eller "hög kronisk stress" och analyser gjordes på respektive grupp samt för hela populationen. Vidare analyserades deltagarna utifrån låg, normal och hög kortisolnivå som fastställdes utifrån första mätningen.

Resultaten visade att upplevd stress mätt med PSS-10 minskade signifikant i interventionsgruppen ($p = 0.048$), jämfört med placebo efter fem veckor. Se *tabell 4*. För subskalorna DASS-stress och DASS-anxiety sågs ingen signifikant skillnad mellan interventionsgruppen och kontroll. Däremot sågs en något större minskning i poäng för DASS-stress och -anxiety i interventionsgruppen jämfört med kontroll vid fem veckor. Vid en jämförelse mellan intervention och kontroll för låg, normal och hög kortisolnivå kunde man se att det inte var någon skillnad vid "awakening" och "8 pm". De har dock inte jämfört värdena mellan dessa grupper från baslinjen till slutet av studien, därmed saknas värden, se *tabell 5*.

Studiekvaliteten bedömdes utifrån SBU:s mall som hög eftersom risken för bias bedömdes som låg. Risken för *randomiseringsbias* ansågs vara låg eftersom gruppindelningen gjordes med dold block-randomisering som var datorgenererad samt att grupperna ansågs vara likartade vid baslinjen. Risken för bias kring *avvikelser från planerade interventioner* ansågs vara låg då både deltagare och behandlare var blindade under hela studien. Relevanta metoder användes för att uppskatta effekten, genom både ITT- och PP-analys. Risken för *bortfallsbias* ansågs vara låg då de redovisade hur stort bortfallet var samt anledningen till bortfallet. En power-beräkning visade att den analyserade populationen var tillfredsställande stor. Risken för bias kring *mätning av utfall* ansågs vara låg eftersom de som mätte utfallet (deltagarna själva) var omedvetna om grupptillhörigheten. Inget tydde heller på att datainsamlingen skiljde sig åt mellan grupperna, även fast detta hade kunnat redovisas tydligare. Risken för *rapporteringsbias* ansågs vara låg eftersom de följde studieprotokollet vad gäller val av effektmått samt hur de skulle mäta utfallet. Dock fanns ingen information om hur de planerade att analysera resultatet, men risken för bias ökades inte på grund av detta då metoden var tydligt beskriven i studien. Slutligen ansågs risken för *intressekonfliktbias* vara måttlig eftersom författarna inte deklarerar att de saknar intressekonflikter då tre av författarna var anställda på företaget som tillverkade studieprodukten (Lpc-37). De var dock transparenta med detta och det bedömdes därför inte ha påverkat studiens resultat. Den slutgiltiga bedömningen blev därmed "låg risk för bias" för den här studien.

6.1.2 Studie 2: *Lactobacillus plantarum* DR7 alleviates stress and anxiety in adults: a randomised, double-blind, placebo-controlled study

Chong et al (2019) hade som syfte att undersöka om probiotikan "*Lactobacillus plantarum* DR7" hade effekt på stress, ångest, depression samt kognitiva förmågor hos moderat stressade individer. Interventionen bestod av en kapsel per dag innehållandes 2×10^9 CFU av *Lactobacillus plantarum* DR7 och kontroll var placebo. Populationen utgjordes av friska män och kvinnor från Malaysia i åldern 18-60 år som genom frågeformuläret PSS-10 fastställdes vara moderat stressade. Exklusionskriterier var bland annat typ 1-diabetes, HIV/AIDS samt långvarig medicineri. Interventionen pågick i tolv veckor. Studien pågick under 12 veckor. De utfallsmått som undersöktes var om interventionen kunde påverka graden av upplevd stress, ångest och depression genom självskattningsformulären PSS-10 och DASS-42 samt kognitiv förmåga och minne genom testet CogState Brief Battery (CBB). Även förändring i kortisol mätt i blodet och cytokiner undersöktes. Totalt 124 deltagare rekryterades och bortfallet bestod av fem deltagare samt ytterligare sju som inte fullföljde alla moment. Därmed analyserades totalt 111 deltagare (n=56 intervention, n=55 placebo). För analysen delades deltagarna upp i två subgrupper, >30 års ålder och <30 års ålder.

Resultaten visade att upplevd stress mätt med PSS-10 minskade i båda grupper över tolv veckor, dock något mer i kontroll men skillnaderna var inte signifikanta. För subskalorna DASS-stress och DASS-anxiety sågs en viss minskning i poäng för både intervention och kontroll med en något större minskning i intervention, dock var resultaten inte signifikant säkerställda (se tabell 4). Vad gäller kortisol visade resultatet att *Lactobacillus plantarum* DR7 signifikant minskade nivåerna jämfört med placebo efter tolv veckor ($p = 0.008$), se tabell 5.

Studiekvaliteten bedömdes utifrån SBU:s mall som medelhög-hög eftersom risken för bias bedömdes som låg-måttlig. Risken för *randomiseringsbias* ansågs vara låg eftersom gruppindelningen var datorgenererad och utförd av tredje part och därmed dold för resterande undersöknings-personal till slutet av studien. Skillnaderna vid baslinjen var små, dock redovisas inte fördelningen vad gäller kön, men detta var inget som påverkade bedömningen. Risken för bias kring *avvikelser från planerade interventioner* ansågs vara låg då både deltagare och behandlare var blindade under hela studien. Den analysmetod som användes för att uppskatta effekten tolkades som PP-analys och ansågs därför vara relevant. Risken för *bortfallsbias* ansågs vara låg-måttlig, detta på grund av att de redovisar hur stort bortfallet var men inte anledningen till bortfall. En power-beräkning visade att den analyserade populationen var tillfredsställande stor, dock var det inte helt tydligt de tagit hänsyn till effektstorleken. Risken för bias kring *mätning av utfall* ansågs vara låg eftersom inget tydde på att datainsamlingen skiljde sig åt mellan grupperna och de som mätte utfallet (deltagarna själva) var omedvetna om grupptillhörigheten. Mätmetoden var densamma för samtliga deltagare och insamlingen ägde rum vid samma tillfällen. Risken för *rapporteringsbias* ansågs vara måttlig. De följde studieprotokollet vad gäller det primära effektmåttet. För det sekundära effektmåttet saknas information i studieprotokollet. Det råder viss osäkerhet kring hur stor den rekryterade populationen var eftersom det står olika antal i studieprotokoll och metod. Vidare fanns ingen information om hur de planerade att analysera resultatet men detta var tydligt beskrivet i metoden. Slutligen ansågs risken för *intressekonfliktbias* vara låg eftersom författarna deklarerar att de saknar intressekonflikter. Den slutgiltiga bedömningen blev "låg-måttlig risk för bias" för den här studien.

6.1.3 Studie 3: Probiotic *Lactobacillus plantarum* P8 alleviated stress and anxiety while enhancing memory and cognition in stressed adults: A randomised, double-blind, placebo-controlled study

Lew et al (2019) hade som syfte att undersöka om probiotikan "*Lactobacillus plantarum* P8" hade effekt på stress hos moderat stressade individer. Interventionen bestod av en kapsel per dag innehållandes 10^{10} CFU av *Lactobacillus plantarum* P8 och kontroll var placebo. Populationen utgjordes av friska män och kvinnor från Malaysia i åldern 18-60 år som genom frågeformuläret PSS-10 fastställdes vara moderat stressade. Exklusionskriterier var bland annat typ 1-diabetes, HIV/AIDS samt långvarig medicinering. Interventionen pågick i tolv veckor. De utfallsmått som undersöktes var om interventionen kunde påverka graden av upplevd stress, ångest och depression genom självskattningsskalorna PSS-10 och DASS-42 samt kognitiv förmåga och minne genom testet CBB. Även förändring i kortisol mätt i blodet samt cytokiner undersöktes. Totalt 132 deltagare rekryterades och bortfallet bestod av två deltagare samt ytterligare 27 som inte fullföljde alla moment. Därmed analyserades totalt 103 deltagare, genom PP-analys.

Resultaten visade att stress mätt med PSS-10 minskade i båda grupper över tolv veckor, dock något mer i kontroll men skillnaderna var inte signifikanta. För DASS-stress och DASS-anxiety sågs en minskning i poäng för både intervention och kontroll med en något större minskning i intervention, dock var resultaten inte signifikant säkerställda, se *tabell 4*. Enligt DASS-anxiety gick interventionsgruppen från att ha moderat ångest vecka noll till att ha normala ångestnivåer vecka tolv medan placebogruppen gick från att ha moderat ångest vecka noll till att ha mild ångest vecka tolv, dock utan signifikans. Kortisolnivåerna minskade i interventionsgruppen över tolv veckor medan de ökade i placebogruppen, denna skillnad var dock inte signifikant, se *tabell 5*.

Studiekvaliteten bedömdes utifrån SBU:s mall som låg-medelhög eftersom risken för bias bedömdes som måttlig-hög. Risken för *randomiseringsbias* ansågs vara låg eftersom gruppindelningen var datorgenererad och utförd av tredje part och därmed dold för resterande undersöknings-personal till slutet av studien. Skillnaderna vid baslinjen vad gäller kön var stora med en överrepresentation av kvinnor, dock ansågs inte detta bero på brister i randomiseringsprocessen. Risken för bias kring *avvikelser från planerade interventioner* ansågs vara låg då både deltagare och behandlare var blindade under hela studien. Den analysmetod som användes för att uppskatta effekten tolkades som PP-analys och ansågs därför vara relevant. Risken för *bortfallsbias* ansågs vara måttlig-hög främst då power-beräkningen visade att antalet som analyserades inte var tillfredsställande. De redovisade hur stort bortfallet var men inte anledningen till bortfall. De hade ett stort antal deltagare som inte fullföljde alla moment, detta hade man kunnat analysera med t.ex. en ITT-analys. Det var därmed svårt att avgöra om resultaten var robusta. Risken för bias kring *mätning av utfall* ansågs vara måttlig-hög. Inget tydde på att datainsamlingen skiljde sig åt mellan grupperna och de som mätte utfallet (deltagarna själva) var omedvetna om grupptillhörigheteten. Däremot var det frivilligt för deltagarna att lämna blodprov för mätning av kortisol, vidare anges inte hur många som gjorde det. Risken för *rapporteringsbias* ansågs vara måttlig. De följde studieprotokollet vad gäller det primära effektmåttet. För det sekundära effektmåttet saknas information i studieprotokollet. Det råder viss osäkerhet kring hur stor den rekryterade populationen var eftersom det står olika antal i studieprotokoll och metod. Vidare fanns ingen information om hur de planerade att analysera resultatet men detta var tydligt beskrivet i metoden. Slutligen ansågs Risken för *intressekonfliktbias* vara låg eftersom författarna deklarerade att de saknade intressekonflikter. Den slutgiltiga bedömningen blev "måttlig-hög risk för bias" för den här studien.

Tabell 4: Beskrivning av resultat för det primära effektmåttet "subjektiv stress mätt med självskattningsskalor"

Studie	Skala	Effekt ΔI	Effekt ΔK	Interventionseffekt $\Delta I - \Delta K$	p-värde för differans***
1. Patterson et al., 2020	PSS-10	-1,4	0,84	-2,24	0,048
	DASS-stress	-0,85	0,68	0,35	0,248
	DASS-anxiety	-0,16	0,38	0,22	0,224
2. Chong et al., 2019	PSS-10	-5,7*	-6,5*	0,8*	ns
	DASS-stress	-9,0*	-6,8*	2,2*	0,593
	DASS-anxiety	-7,5*	3,4*	4,1*	0,170
3. Lew et al., 2019	PSS-10	-6,2**	-6,7**	-0,5**	0,820
	DASS-stress	-11,4**	-8,3**	-3,1**	0,293
	DASS-anxiety	-8,1**	-5,5**	-2,6**	0,170

Förkortningar: PSS: Perceived Stress Scale; DASS: Depression Anxiety and Stress Scale.

*framtagna värden utifrån figur 2 vilket kan påverka felmarginal

**framtagna värden utifrån figur 5 vilket kan påverka felmarginal

***p-värde för differans mätt med ANOVA. Signifikant värde $p=0,05$

Tabell 5: Beskrivning av resultat för det sekundära effektmåttet "objektiv stress mätt med kortisol"

Studie	Stressmarkör	Effekt ΔI	Effekt ΔK	Interventionseffekt $\Delta I - \Delta K$	p-värde för differans
1. Patterson et al., 2020	Kortisol "awakening"	-	-	-	-
	Kortisol "8 PM"	-	-	-	-
2. Chong et al., 2019	Plasmakortisol	-0,6*	-0,1*	-0,5*	0,008
3. Lew et al., 2019	Plasmakortisol	-	-	-3,28	0,090

Förklaringar: awakening: vid uppvaknandet; 8 pm: kl. 20.00. Tomma rutor indikerar att värden saknas.

*framtagna värden utifrån figur 7 vilket kan påverka felmarginal.

**p-värde för differans mätt med ANOVA. Signifikant värde $p=0,05$.

6.2 Resultatens tillförlitlighet (GRADE)

Eftersom samtliga studier var RCT-studier utgick bedömningen från att resultatens tillförlitlighet var hög (++++). För det primära effektmåttet analyserades tre av studierna med en population på totalt 376 individer. Kategori A *Risk för bias* bedömdes ha vissa begränsningar (?), framför allt på grund av att två av studierna (Chong et al., 2019; Lew et al., 2019) hade vissa brister i bortfall. Utöver detta ansågs studiekvaliteten vara genomgående hög. Kategori B *Bristande samstämmighet* bedömdes ha viss heterogenitet (?). Detta p.g.a. att resultaten för PSS-10 inte var helt samstämmiga mellan studierna, där en av studierna kunde visa på ett svagt signifikant värde (Patterson et al., 2020). För DASS-stress och -anxiety sågs en marginell minskning i poäng i interventionsgruppen för samtliga studier men samstämmigheten brast då två av studierna (Chong et al., 2019; Lew et al., 2019) även kunde visa på en minskning i poäng i kontrollgruppen. Samtliga p-värden för DASS-stress och -anxiety för alla studier var däremot osignifikanta. Effektstorleken skiljde sig något mer för DASS än vad den gjorde för PSS-10, detta är också något som påverkade samstämmigheten. Kategori C *Bristande precision* nedgraderades med ett steg (-1). Generellt så var redovisningen av resultaten bristfällig, en del resultat saknades och vissa värden var ottydligt redovisade, vilket gör det svårt att bedöma dem. Vidare inkluderades ett litet antal studier (med en totalt liten population) i den här analysen, där olika sorters probiotika undersöktes, vilket ytterligare bidrog till brister i precision. Kategori D *Bristande överförbarhet* bedömdes ha vissa begränsningar (?) eftersom forskarna i två av studierna inte ansågs ha god kontroll på följsamheten (Chong et al., 2019; Lew et al., 2019). Vidare hade inte faktorer i deltagarnas naturliga miljö kontrollerats i någon av studierna. Däremot skulle behandlingen kunna överföras till en svensk kontext och populationen var även överförbar eftersom den

bestod av friska, stressade, vuxna individer. Det fanns viss risk för *publikationsbias* (kategori E) (?) eftersom två av studierna hade kopplingar mellan sig då de till stor del verkade bestå av samma forskargrupp. Efter en sökning i “Clinicaltrials” kunde konstateras att inga opublicerade studieprotokoll hittades på området. Då hänsyn tagits till de smärre bristerna beslutades att göra ytterligare ett avdrag. Sammantaget blev resultatet för det här effektmåttet *låg tillförlitlighet* (++) , d.v.s. att interventionen möjligen inte kan ha effekt.

För det sekundära effektmåttet analyserades tre av studierna med en population på totalt 376 individer. Kategori A *Risk för bias* nedgraderades med ett steg (-1), framför allt på grund av att en av studierna (Lew et al., 2019) hade hög risk för bias för det här effektmåttet. Vidare hade den och en annan studie (Chong et al., 2019) vissa brister i bortfall. Gällande rapportering sågs även brister då man i studieprotokollet inte angett att man planerade att mäta kortisol i två av studierna (Chong et al., 2019; Lew et al., 2019). Kategori B *Bristande samstämmighet* minskades med ett steg (-1) då den bedömdes ha bekymmersam heterogenitet. Detta på grund av att endast en av studierna (Chong et al., 2019) såg signifikanta värden, vidare saknades värden för en av studierna (Patterson et al., 2020). Dessutom mättes kortisol vid olika tidpunkter och studierna använde sig av olika mätmetoder. Detta gjorde det svårt att bedöma resultaten och samstämmigheten. Kategori C *Bristande precision* minskades med ett steg (-1), detta på grund av samma anledningar som för det primära utfallsmåttet. Kategori D *Bristande överförbarhet* bedömdes ha vissa begränsningar (?), av samma anledningar som för det primära utfallsmåttet. Det fanns viss risk för *publikationsbias* (kategori E) (?), även detta av samma anledningar som för det primära utfallsmåttet. Då hänsyn tagits till de smärre bristerna beslutades att dem inte räckte till ytterligare avdrag. Sammantaget blev resultatet för det här effektmåttet *mycket låg tillförlitlighet* (+), d.v.s. det går inte att säga om interventionen inte har effekt.

Tabell 6 Sammanvägd bedömning av resultatens tillförlitlighet enligt GRADE

	Primärt effektmått Subjektiv stress och ångest	Sekundärt effektmått Objektiv stress
Antal studier	3 (++++)	3 (++++)
Risk för bias (A)	Vissa begränsningar (?)	Allvarliga begränsningar (-1)
Bristande samstämmighet (B)	Viss heterogenitet (?)	Bekymmersam heterogenitet (-1)
Bristande precision (C)	Brister i precision (-1)	Brister i precision (-1)
Bristande överförbarhet (D)	Vissa begränsningar (?)	Vissa begränsningar (?)
Publikationsbias (E)	Vissa problem (?)	Vissa problem (?)
Resultatets tillförlitlighet	Låg tillförlitlighet (++)	Mycket låg tillförlitlighet (+)

7. Diskussion

Probiotikas effekter på hälsan har länge varit ett område som väckt forskarnas intresse, där det visat sig att probiotika kan ge positiva effekter på flera hälsotillstånd. Senare forskning på området har framför allt undersökt om probiotika kan påverka det psykiska måendet via kopplingen mellan hjärnan och tarmen (gut-brain axis). I den här systematiska översikten var syftet att undersöka om probiotika kan ha effekt på stress- och ångestrelaterade symtom hos friska vuxna. Sammantaget visade resultatet att det fanns *låg tillförlitlighet* (++) , d.v.s. att supplementering med probiotika möjligen inte kan ge effekt på upplevd stress och ångest, samt *mycket låg tillförlitlighet* (+), d.v.s. det går inte att bedöma ifall supplementering med probiotika inte har effekt på stressmarkören kortisol.

7.1 Metoddiskussion

En styrka med den här systematiska översikten är att den har en tydligt formulerad frågeställning som är unik inom det här området, framför allt så har endast enskilda stammar av probiotika undersökts samt en stressad population. Tidigare metaanalyser och systematiska översikter inom det här området har inte haft dessa avgränsningar. Även inklusion- och exklusionskriterierna har noga övervägts för att få fram en så tydlig studiepopulation som möjligt, detta för att det ska vara lättare att uttala sig om resultaten. Endast RCT-studier har inkluderats och dessa var även dubbelblindade, vilket ses som en styrka. Studieurvalet begränsades till att inte inkludera artiklar som publicerats innan år 2000 för att få fram de senaste publikationerna, då mycket händer inom detta område, dock var det endast en mindre andel studier som föll bort på grund av detta. De söktermer som användes vid litteratursökningen valdes på grund av att sökningen skulle bli så bred som möjligt, däremot finns alltid en risk för att missa relevanta studier. Anledningen till att termen ”single strain” (enskilda probiotiska stammar), som undersöktes i översikten, inte lades till som sökterm var för att inte riskera att missa studier som eventuellt undersökt flera stammar av probiotika men som redovisat enskilda effekter av dem.

Den största svagheten med den här systematiska översikten är att ett litet antal artiklar inkluderades (tre stycken), vilket kan göra det svårt att uttala sig om resultatens tillförlitlighet. Sökningarna gjordes i två databaser som båda två innehåller ett stort antal vetenskapliga publikationer, däremot hade antalet relevanta artiklar kunnat utökas vid sökning i fler databaser. Vidare granskades endast studier på svenska och engelska, även där kan relevanta studier inom det här området ha missats. Studien är systematiskt genomförd, vilket är positivt. Dock är den utförd av två oerfarna granskare, vilket kan ha påverkat resultatet. De mallar som användes för att göra granskningarna, SBU:s mall ”*Bedömning av randomiserade studier (effekt av att tilldelas en intervention (ITT))*” för att bedöma risk för bias och mallen ”*Underlag för sammanvägd bedömning enligt GRADE*” för att bedöma resultatens tillförlitlighet, är till stor del subjektiva i sin bedömning. Detta betyder att bedömningen kan se olika ut beroende på vem som gör den och bedömningen till stor del bygger på tolkningar. En annan svaghet är att en av studierna som inkluderades hade ”måttlig-hög risk för bias” (Lew et al, 2019). Denna risk gällde dock främst det sekundära effektmåttet, vilket därför påverkade bedömningen av resultatens tillförlitlighet för detta utfall. Vidare hade en av studierna (Patterson et al., 2020) inte tydligt redovisat resultat för det sekundära utfallet vilket påverkade bedömningen ytterligare. Vad gäller resultaten för det primära effektmåttet var även dessa otydligt redovisade för två av studierna (Chong et al., 2019; Lew et al., 2019). På grund av detta fick vissa resultat tas fram från figurer vilket kan påverka felmarginalen, se *tabell 4* och *5*. En annan svaghet är att undersökningen inte gjordes på samma stam av probiotisk bakterie, det kan därmed diskuteras om dessa resultat är tillförlitliga och överförbara. Att undersöka endast en bakteriestam var dock inte möjligt utifrån frågeställningen och det underlag som fanns på området.

7.2 Resultatdiskussion

Resultaten från den här systematiska översikten visar på att det finns *låg tillförlitlighet* (++) gällande om probiotika inte har effekt på subjektiv stress samt *mycket låg tillförlitlighet* (+) gällande om probiotika inte har effekt på stressmarkören kortisol. Det finns viss motstridighet i resultaten från tidigare översikter men de flesta menar att probiotika inte har effekt på stress och ångest eller att probiotika möjligen kan ha en viss positiv effekt. En tidigare metaanalys som bara inkluderat friska individer och som även gjorde subgruppsanalyser för att separera effekterna av single-strain och multi-strain visade att probiotika *tenderade* att minska individens subjektiva stressnivå och kunde *möjligen* förbättra stressrelaterad ångest. Dock var inga resultat signifikanta (Zhang et al., 2020). En annan översikt visade att probiotika inte kunde minska den upplevda ångestnivån. Den

översikten skiljer sig dock något från den här då den inkluderade studier där deltagarna hade olika hälsotillstånd, var ≥ 65 år och de undersökte både single-strain och multi-strain (Liu et al., 2018). Slutligen kan sägas att de flesta systematiska översikter menar att fler studier behövs på området innan det går att uttala sig kring vilken effekt probiotika har på stress och ångest. (Vitellio, Chira, De Angelis, Dumitrascu & Portincasa, 2020; Liu et al., 2018; Zhang et al., 2020),

Det primära effektmåttet för denna översikt utvärderades genom PSS-10 och två subskalor för DASS-42, nämligen DASS-stress och DASS-anxiety. Resultaten för PSS-10 var inte helt samstämmiga mellan studierna, där en av studierna kunde visa på ett svagt signifikant värde (Patterson et al., 2020), för de resterande två studierna (Chong et al., 2019; Lew et al., 2019) sågs ingen signifikans och dessutom en något större minskning i poäng i kontrollgruppen. För DASS-stress och DASS-anxiety visades en marginell minskning av poäng i interventionsgruppen för samtliga studier, dock sågs även en minskning i kontrollgruppen för två av studierna (Chong et al., 2019; Lew et al., 2019), vilket tyder på att interventionen inte hade effekt. Samtliga p-värden för DASS var icke-signifikanta i en jämförelse mellan placebo och intervention och detta är även något som tyder på att interventionen inte hade effekt. Det sekundära effektmåttet utvärderades genom kortisol och visade på signifikanta resultat för endast en av studierna (Chong et al., 2019). Detta värde är dock svårt att jämföra i förhållande till de andra studierna då det inte finns resultat redovisade för en av studierna (Patterson et al., 2020) samt då en av studierna har måttlig-hög risk för bias (Lew et al., 2019). Effekterna i tidigare studier har varierat. Messaudi et al (2011) visade att probiotika signifikant minskade kortisolnivåerna (mätt i urinen under 24 h) och även att probiotika minskade den upplevda stressnivån enligt några självskattningsskalor. Även andra studier har visat att probiotika till viss del kan förbättra den upplevda stress-och/eller ångestnivån hos deltagarna (Mohammadi et al 2016; Sawada et al., 2019). Däremot har en del studier även visat att effekten av probiotika på stress och ångest är knapp eller icke-existerande (Romijn et al., 2017; Kelly et al., 2017) och resultaten är därför motstridiga. Det kan också finnas vissa svårigheter i att jämföra resultat mellan studierna. Skillnader kan ligga i att olika sorters probiotika undersökts samt att stress och ångest utvärderas på olika sätt. Skillnader i population kan också ses, även kontroll på följsamhet och andra livsstilsfaktorer. Detta gör det svårt att dra slutsatser kring effekten av probiotika på psykiska tillstånd.

7.2.1 Ingående studier

För samtliga studier finns en rad gemensamma styrkor som kan lyftas fram. Alla studier var dubbel-blindade och hade en placeboprodukt som var identisk med interventionsprodukten. Vidare så använde de sig av flera mätmetoder, både subjektiva och objektiva, för att utvärdera effekten av interventionen på stress och ångest. Det var däremot överlag svårt att läsa ut resultaten från samtliga studier. Exempelvis hade det varit önskvärt med fler tabeller för att redovisa siffrorna samt förklarande texter. I flera av studierna görs inga jämförelser mellan intervention och kontroll från baslinjen till slutet av studien utan de resultat som främst redovisas är skillnad inom grupperna. Detta kan vid en första anblick då tolkas mer positivt vilket kan ge missvisande resultat. I diskussionen för en av studierna (Chong et al, 2019) redovisas dessutom resultat som inte togs upp i varken metod eller resultat, vilket ytterligare bidrar till förvirring rörande resultatet.

Studiepopulation

Den här systematiska översikten ämnade undersöka friska vuxna individer (utan någon psykiatrisk diagnos) som upplevde stress och ångest. Chong et al (2019) och Lew et al (2019) rekryterade en moderat stressad population beroende på hur de svarat på PSS-10 medan Patterson et al (2020) från start delade in deltagarna i "låg kronisk stress" och "hög kronisk stress" beroende på hur de svarat på TICS. Trots att dessa populationer till viss del skiljer sig åt

gällande stressnivå så bedömdes de ändå vara jämförbara då gemensamt var att alla upplevde någon form av generell stress. Själva skalorna ansågs också vara likvärdiga eftersom både PSS-10 och TICS kan användas för att utvärdera kronisk stress. De ingående studierna har undersökt populationer bestående av både män och kvinnor i åldrarna 18-45 och 18-60 år. Fördelning i kön var jämn i Patterson et al (2020), i Lew et al. (2019) så var det en överrepresentation av kvinnor och i Chong et al (2019) så anges inte fördelningen. Detta kan påverka överförbarheten eftersom flera faktorer kan påverkas av kön. Exempelvis så visar statistik att kvinnor generellt sett är mer stressade och i högre grad upplever ångest (Folkhälsomyndigheten, 2021). Även kortisolnivåerna skulle kunna påverkas då studier visat att kortisol-regleringen kan skilja sig beroende på kön, detta är dock något som man behöver mer forskning kring (Dedovic, Duchesne, Andrews, Engert & Pruessner, 2009). Vad gäller exklusionskriterier så hade Patterson et al (2020) valt kriterier som kan ses som relevanta i förhållande till det som undersöks, då de bland annat exkluderar deltagare som konsumerat annan typ av probiotika eller antibiotika i samband med studien samt individer med IBS och IBD. Både Chong et al (2019) och Lew et al (2019) har missat flera viktiga exklusionskriterier då de rekryterat sina populationer, bland annat de som nämns ovan, vilket då kan påverka resultaten.

Bortfall

Studiernas bortfall är viktigt att ta hänsyn till då en tillräckligt stor population krävs för att bedöma om interventionen har effekt. För två av studierna bedömdes bortfallet ha vissa brister. Både Chong et al (2019) och Lew et al (2019) har gjort powerberäkningar dock har Lew et al (2019) ett större bortfall än de räknat med, dessutom görs ingen ITT-analys. Det är också anmärkningsvärt att det i protokollet står att färre deltagare rekryterades än vad som behövdes, och vid en jämförelse med studien överensstämmer inte dessa siffror. Vidare har varken Chong et al (2019) eller Lew et al (2019) redovisat anledningen till bortfall. På grund av dessa anledningar är det svårt att avgöra om populationen var tillräckligt stor för att visa på effekt.

Följsamhet

Följsamheten är en viktig faktor att analysera för att kunna bedöma om interventionen fungerat eller inte. Patterson et al (2020) lät deltagarna dagligen dokumentera hur väl interventionen efterföljdes i en dagbok på internet. Vidare gavs 40 kapslar i början av studien och 35 förväntades intas, hur många kapslar som intogs av deltagarna kontrolleras sedan i slutet av studien. Lew et al (2019) och Chong et al (2019) redovisar inte alls hur deltagarnas följsamhet till interventionen var. Av den anledningen kan man inte bortse från att resultaten kan ha påverkats av bristande följsamhet. Detta är något som togs hänsyn till i bedömningen. Ytterligare faktorer som kan ha påverkat interventionens effekt är att de i samtliga studier inte kontrollerar för livsstilsfaktorer som kan påverka deltagarnas grad av stress och ångest. Inte heller deltagarnas kostintag registrerades, vilket måste vägas in i bedömningen av de redovisade resultaten. Detta diskuteras vidare längre ner i det här avsnittet.

Effektmått och mätmetoder

Eftersom den här systematiska översikten undersöker generella stress- och ångestsymtom analyserades inte några resultat från subskalan DASS-depression eller för DASS-42 (total) då denna inkluderar depressionsskalan. Det framkom vissa skillnader i resultatet mellan PSS-10 och DASS-stress och - anxiety, både inom studierna men också mellan dem. Denna skillnad kan möjligen beror på skalornas utformning. DASS-stress och - anxiety undersöker främst upplevda känslor kopplade till stress och ångest den senaste veckan och används både i kliniska och icke-kliniska miljöer (Lovibond & Lovibond, 1995), medan PSS-10 främst undersöker hur individen upplever sitt liv som kontrollerbart den senaste månaden och används främst inom en klinisk forskningsmiljö (Cohen et al., 1983). Chong et al (2019) och Lew et al (2019) kunde inte visa på några signifikanta resultat i förändring av stress mätt med PSS-10. Eftersom de använde sig av

samma skala som Patterson et al (2020) så kan skillnaden bero på andra saker, t.ex. intervention, population, analys eller studieupplägg. Slutligen kan konstateras att det finns en viss osäkerhet kopplad till självskattningsskalor. Detta har främst att göra med att det är en subjektiv mätmetod där svaren kan skilja sig beroende på många olika faktorer, t.ex. dagsform hos individen. Trots detta är subjektiva effektmått relevanta att använda sig av i forskningssammanhang, speciellt om forskaren använder sig av validerade skalor som används inom klinisk forskning.

Mätningen av kortisol skiljde sig åt mellan studierna. Patterson et al (2020) mätte kortisol i *saliv* hos deltagarna både vid baslinjen och i slutet av studien, på morgonen samt på kvällen och även i samband med akut stress (TSST). Chong et al (2019) och Lew et al (2019) mätte istället kortisol i *blodet* vid baslinjen och i slutet av studien. De anger dock inte vid vilka tidpunkter mätningarna sker. Det är viktigt att veta vilka tidpunkter kortisol mäts eftersom förändring i kortisolnivåer sker naturligt över dygnet, vilket därmed kan påverka testresultaten (Dedovic et al., 2009). Förutom tidpunkt på dygnet så påverkas kortisol även av en rad andra faktorer såsom ålder, kön, diabetes, BMI, graviditet, östrogeninnehållande preventivmedel och menstruationscykeln (El-Farhan et al., 2017). Patterson et al (2020) har till viss del tagit hänsyn till detta i sin studie då de valt att exkludera bland annat deltagare med ett BMI >30, deltagare med sjukdomar och gravida. Chong et al (2019) och Lew et al (2019) har endast exkluderat personer med diabetes typ-1. Eftersom studierna använde sig av olika metoder för att mäta kortisol är det svårt att jämföra resultaten och att avgöra om resultaten beror på interventionen eller mätmetoden. Deltagarna i Patterson et al (2020) mätte kortisol själva hemma, vilket potentiellt skulle kunna ge ett mindre stresspåslag än att låta någon annan ta ett blodprov i en mer klinisk miljö. Däremot gör det att undersökarna har minskad kontroll över själva mätningarna. I Lew et al (2019) var mätningen av kortisol frivillig för deltagarna, vilket skapar en stor osäkerhet i förhållande till resultaten.

Anledningen till att det sekundära effektmåttet, kortisol, valdes ut för översikten var för att styrka upp det subjektiva måttet, som självskattningsskalor är. Däremot sågs inte ett samband mellan dessa två effektmått vid en jämförelse av resultaten. Det kunde inte noteras att en signifikant minskning i kortisol också genererade en signifikant minskning i upplevd stress mått med självskattningsskalor och tvärt om. Detta kan bero på ett flertal saker och det är troligt att de felkällor som diskuteras ovan har en stor påverkan.

Placebo

Då de ingående studierna använt sig av placebo som kontroll så anses det relevant att diskutera placebo-effekten. Denna effekt har som kännetecknen att ge en effekt hos personen som får en behandling, endast på grund av själva behandlingen, inte på grund av innehållet i behandlingen (Wager & Atlas, 2015). Man kan alltså inte utesluta att de resultat som sågs i kontrollgruppen kan förklaras genom placebo-effekten. Detta gäller även för interventionsgruppen om man tänker sig att interventionen inte har effekt.

Probiotika

I den här systematiska översikten exkluderades studier som undersökte icke-levande (heat-inactivated) probiotika eftersom det inte går i linje med WHO/FAOs definition av probiotika som menar att probiotika är "levande bakteriekultur" (WHO/FAO, 2006). Probiotika återfinns i flera olika former, både som tillskott och naturligt i mat och dryck. Vid en jämförelse av dessa så innehåller mat och dryck vanligtvis en lägre koncentration (CFU) än tillskott, där det heller inte går att kontrollera innehållet i lika hög grad (Gibson et al., 2017). Därför valdes tillskott framför mat och dryck i den här översikten. Det är även lättare att blinda studien om intervention och kontroll är kosttillskott. Vad gäller stammar av probiotika har det visat sig att olika probiotiska stammar ger olika effekt beroende på vad som undersöks. Då flera olika probiotiska stammar (multi-strain) används så är det svårt att hänvisa effekten till en enskild bakterie (Liu et al., 2018).

I den här systematiska översikten undersöktes därför endast enskilda probiotiska stammar där alla var någon form av *Lactobacill* (*Lactobacillus plantarum* P8, *Lacticaseibacillus paracasei* 37 (L_{pc}-37®) och *Lactobacillus plantarum* DR7). Detta kan ses som en styrka samtidigt som det hade varit önskvärt att endast undersöka en stam för att kunna dra mer precisa slutsatser. Detta var dock, som nämnts tidigare inte möjligt utifrån frågeställningen och det underlag som fanns på området.

Mängden (koncentrationen) probiotika var relativt lika hos de inkluderade studierna. Detta gör dem mer samstämmiga och resultaten kan lättare jämföras med varandra. Det är dock inte helt klarlagt vilken mängd och koncentration av probiotiska bakterier som krävs för att ge effekt, vanligen används 10⁹ CFU per dos (Bertazzoni et al., 2013). Detta värde har dock till största del baserats på studier som undersöker olika mag-tarmsymtom och det kan inte säkert sägas att denna dos också krävs för att se effekt på stress via gut-brain axis. Vidare har ingen av studierna rapporterat deltagarnas kostintag under interventionen, framför allt intaget av fibrer och andra typer av pro- och prebiotika som skulle kunna finnas i maten och därmed kan påverka resultatet. Det blir alltså svårt att säga om det verkligen är den undersökta probiotikan som haft effekt eller inte. Vidare har ingen av studierna undersökt huruvida de probiotiska mikroorganismerna koloniserats i tarmen, vilket genererar en stor osäkerhet kring effekten (Bertazzoni et al., 2013).

Tarmfloran och gut-brain axis

Senare forskning har undersökt sambandet mellan tarmfloran och hjärnan via gut-brain axis och hur detta samband kan påverka vårt mående och beteende (Rea, Dinan & Cryan, 2020). I djurstudier har det visat sig att stress kan förändra sammansättningen i tarmen, bland annat genom att minska artrikedomen och påverka tarmbarriären, där probiotika har visat sig effektivt för att motverka detta. Dessa fynd har lett till att man vill se om människors stressnivå kan påverkas av probiotika. Det finns dock många aspekter som gör att denna typ av intervention (probiotika) och resultaten som efterföljer blir osäkra. Först och främst kan ifrågasättas om resultat från prekliniska studier, på råttor och möss är överförbara till människor, då deras mikrobiota troligtvis är olik människans. Som nämnts ovan har de inkluderade studierna inte heller undersökt deltagarnas tarmflora före och efter så man kan inte veta om dessa probiotiska bakterier etablerats i tarmen vilket bör vara en förutsättning för att utvärdera effekten av probiotika.

Bevis för probiotikas effekt har främst genererats i patientpopulationer, och det är inte heller helt fastställt att probiotika kan förändra tarmfloras sammansättning hos friska (Livsmedelsverket, 2018). Detta skulle kunna tala för att probiotika inte heller har effekt på tarmfloran hos stressade men i övrigt friska vuxna människor. Det finns studier som menar att stress kan vara en bidragande faktor till att personer får IBS samt att stress kan förstärka magtarmsymptomen (Moloney et al., 2016). Vidare bekräftar en del studier att personer med IBS har en förändrad sammansättning i tarmfloran (Lynch et al., 2016). Detta skulle kunna tala för att stress eventuellt kan förändra tarmfloras sammansättning hos människor. Om vi nu ska hypotisera att stress kan påverka tarmfloras sammansättning, som dessutom bekräftats i en del djurstudier sågs vikten av att inkludera studier där forskarna fastställt deltagarnas stressnivå från början. Mekanismerna kring hur tarmfloran påverkar hjärnan är inte klarlagda och framförallt inte gällande koppling till det psykiska måendet, såsom stress (Rea et al., 2020). Av den anledningen är det svårt att veta om tarmfloras sammansättning faktiskt påverkade deltagarnas stressnivå via gut-brain axis. Det finns många saker som påverkar måendet och man kan inte utesluta att andra faktorer i deltagarnas liv påverkat deras stressnivå. Den psykiska hälsa är komplex och individuell, vilket även vår tarmflora är. Därför kanske man inte kan förvänta sig att probiotika som enda behandling kan ha stor effekt på individnivå. I framtiden krävs mer forskning där man får större förståelse för mekanismerna som ligger bakom kopplingen mellan tarmen och hjärnan. Detta är viktigt eftersom stress och ångest kan leda till allvarligare symptom och sjukdomar utan

behandling. Med dagens kunskap finns det inte tillräckligt mycket kliniska bevis för att probiotika kan påverka stress och ångest.

7.5 Etik, miljö och mänskliga rättigheter

Gällande etik kan diskuteras för vem probiotiska tillskott egentligen är till för. Ur en socioekonomisk synpunkt så kan det konstateras att det inte är alla som har råd att själva bekosta den här typen av tillskott. Då det fortfarande inte är helt klarlagt vilken effekt probiotika har så kan det också vara så att kostnaden överstiger den faktiska nyttan för individen. Trots detta så framställs det ofta som att probiotika är en mirakelprodukt för konsumenten. Konsumenten behöver vara påläst om de olika typerna av probiotika och dess effekt på olika symtom. I framtiden kanske probiotiska tillskott har hittat sin plats inom sjukvården, där specialister kan ge evidensbaserade rekommendationer, men där är vi inte ännu. I nuläget används till stor del beprövad erfarenhet då det t.ex. kommer till olika mag- och tarmproblem.

Hälsa är en mänsklig rättighet, både fysisk och psykisk (Regeringskansliet, 2011). Stress och ångest har visat sig vara vanligare bland kvinnor i Sverige (Folkhälsomyndigheten, 2021), vilket också gör det till en fråga om jämställdhet. Kopplat till stress och ångest kan även diskuteras vilken behandlingsmetod eller förebyggande åtgärd som egentligen har störst nytta eller effekt. Kan probiotika jämföras med t.ex. träning eller terapi i det avseendet? (SBU, 2014b). Det kanske är rimligare att tänka sig probiotika som ett komplement till annan behandling, snarare än som enda behandling. Det kan också diskuteras huruvida det är just tillskott av probiotika som behövs eller om det kan räcka med att få i sig probiotiska bakterier via maten.

Slutligen så är probiotikas effekt på miljön inte helt klarlagt idag. Det som kan diskuteras är hur probiotika i form av tillskott produceras och hur de når konsumenten. Probiotika kommer ofta från någon form av mejeriprodukt, framför allt då det handlar om laktobaciller. Detta kan ses som negativt ur ett miljöperspektiv då det är känt att animaliska mejeriprodukter har en stor miljöpåverkan (Livsmedelsverket, 2020).

8. Slutsats

Syftet med den här systematiska översikten var att undersöka underlaget kring om tillskott av enskilda probiotika kan ha effekt på stress- och ångestrelaterade symptom hos vuxna stressade individer samt ifall probiotika kan påverka stressmarkören kortisol. Sammantaget visade resultatet att det finns *låg tillförlitlighet* (++) att supplementering med probiotika möjligen inte kan ge effekt på upplevd stress och ångest samt *mycket låg tillförlitlighet* (+), d.v.s. det går inte att bedöma ifall supplementering med probiotika inte har effekt på stressmarkören kortisol. Resultatens tillförlitlighet visar att det inte går att rekommendera probiotikatillskott för behandling av stress och ångest hos friska vuxna. Däremot har inga allvarliga biverkningar av probiotikatillskott hittills rapporterats för vuxna (Livsmedelsverket, 2018), därmed finns ingen anledning att avråda från supplementering. I framtiden behövs mer omfattande forskning på människor. Det vore även nödvändigt att den prekliniska forskningen fokuserar mer på att urskilja mekanismerna som ligger bakom olika probiotiska stammars inverkan på hjärnan. Förståelsen för detta samband skulle kunna bidra med nya kompletterande behandlingar för dessa symptom.

9. Litteraturlista

- Adikari, A., Appukutty, M., & Kuan, G. (2020). Effects of Daily Probiotics Supplementation on Anxiety Induced Physiological Parameters among Competitive Football Players. *Nutrients*, 12(7), 1920. <https://doi.org/10.3390/nu12071920>
- American Psychological Association (APA). (2020). *What's the difference between stress and anxiety?* Hämtad 2020-03-11 från <http://www.apa.org/topics/stress/anxiety-difference>
- Andersson, H., Tullberg, C., Ahrné, S., Hamberg, K., Lazou Ahrén, I., Molin, G., Sonesson, M., & Håkansson, Å. (2016). Oral Administration of *Lactobacillus plantarum* 299v Reduces Cortisol Levels in Human Saliva during Examination Induced Stress: A Randomized, Double-Blind Controlled Trial. *International journal of microbiology*, 8(4)6901 <https://doi.org/10.1155/2016/8469018>
- Bailey, M. T., Dowd, S. E., Galley, J. D., Hufnagle, A. R., Allen, R. G., & Lyte, M. (2011). Exposure to a social stressor alters the structure of the intestinal microbiota: implications for stressor-induced immunomodulation. *Brain, behavior, and immunity*, 25(3), 397–407
- Bertazzoni, E., Donelli, G., Midtvedt, T., Nicoli, J., & Sanz, Y. (2013). Probiotics and clinical effects: is the number what counts?. *Journal of chemotherapy (Florence, Italy)*, 25(4), 193–212. <https://doi.org/10.1179/1973947813Y.0000000078>
- Beserra, Ana Heloisa Nascimento, Kameda, Priscila, Deslandes, Andrea Camaz, Schuch, Felipe Barreto, Laks, Jerson, & Moraes, Helena Sales de. (2018). Can physical exercise modulate cortisol level in subjects with depression? A systematic review and meta-analysis. *Trends in Psychiatry and Psychotherapy*, 40(4), 360–368. <https://dx.doi.org/10.1590/2237-6089-20170155>
- Chong, H. X., Yusoff, N., Hor, Y. Y., Lew, L. C., Jaafar, M. H., Choi, S. B., Yusoff, M., Wahid, N., Abdullah, M., Zakaria, N., Ong, K. L., Park, Y. H., & Liong, M. T. (2019). *Lactobacillus plantarum* DR7 alleviates stress and anxiety in adults: a randomised, double-blind, placebo controlled study. *Beneficial microbes*, 10(4), 355–373. <https://doi.org/10.3920/BM2018.0135>
- Cohen, S., Kamarck, T., & Mermelstein, R. (1983). A global measure of perceived stress. *Journal of health and social behavior*, 24(4), 385–396.
- Collins, S. M., Surette, M., & Bercik, P. (2012). The interplay between the intestinal microbiota and the brain. *Nature reviews. Microbiology*, 10(11), 735–742. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2876>
- Cryan, J. F., & Dinan, T. G. (2012). Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nature reviews. Neuroscience*, 13(10), 701–712. <https://doi.org/10.1038/nrn3346>
- Culpepper, T., Christman, M. C., Nieves, C., Jr, Specht, G. J., Rowe, C. C., Spaiser, S. J., Ford, A. L., Dahl, W. J., Girard, S. A., & Langkamp-Henken, B. (2016). *Bifidobacterium bifidum* R0071 decreases stress-associated diarrhoea-related symptoms and self-reported stress: a secondary analysis of a randomised trial. *Beneficial microbes*, 7(3), 327–336. <https://doi.org/10.3920/BM2015.0156>

- Dedovic, K., Duchesne, A., Andrews, J., Engert, V., & Pruessner, J. C. (2009). The brain and the stress axis: the neural correlates of cortisol regulation in response to stress. *NeuroImage*, 47(3)
- Diop, L., Guillou, S., & Durand, H. (2008). Probiotic food supplement reduces stress-induced gastrointestinal symptoms in volunteers: a double-blind, placebo-controlled, randomized trial. *Nutrition research (New York, N.Y.)*, 28(1), 1–5.
<https://doi.org/10.1016/j.nutres.2007.10.001>
- El-Farhan, N., Rees, D. A., & Evans, C. (2017). Measuring cortisol in serum, urine and saliva - are our assays good enough? *Annals of clinical biochemistry*, 54(3), 308–322.
<https://doi.org/10.1177/0004563216687335>
- Food and agriculture organization of the united nations/World health organization (FAO/WHO). (2006). *Probiotics in food: Health and nutritional properties and guidelines for evaluation*. Hämtad från FAO: <http://www.fao.org/3/a0512e/a0512e.pdf>
- Folkhälsomyndigheten. (2021). *Stress*. Hämtad 2020-03-17 från <https://www.folkhalsomyndigheten.se/folkhalsorapportering-statistik/tolkad-rapportering/folkhalsans-utveckling/resultat/halsa/stress/>
- Folkhälsomyndigheten. (2021). *Ängslan, oro eller ångest*. Hämtad 2020-03-19 från: <https://www.folkhalsomyndigheten.se/folkhalsorapportering-statistik/tolkad-rapportering/folkhalsans-utveckling/resultat/halsa/angslan-oro-eller-angest/>
- Foster, J. A., Rinaman, L., & Cryan, J. F. (2017). Stress & the gut-brain axis: Regulation by the microbiome. *Neurobiology of stress*, 7, 124–136. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2017.03.001>
- Fries, E., Dettenborn, L., & Kirschbaum, C. (2009). The cortisol awakening response (CAR): facts and future directions. *International journal of psychophysiology: official journal of the International Organization of Psychophysiology*, 72(1), 67–73.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2008.03.014>
- Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K. S., Cani, P. D., Verbeke, K., & Reid, G. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 14(8), 491–502. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>
- Gualtieri, P., Marchetti, M., Cioccoloni, G., De Lorenzo, A., Romano, L., Cammarano, A., Colica, C., Condò, R., & Di Renzo, L. (2020). Psychobiotics Regulate the Anxiety Symptoms in Carriers of Allele A of IL-1 β Gene: A Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial. *Mediators of inflammation*, 2020, 2346126. <https://doi.org/10.1155/2020/2346126>
- Julian L. J. (2011). Measures of anxiety: State-Trait Anxiety Inventory (STAI), Beck Anxiety Inventory (BAI), and Hospital Anxiety and Depression Scale-Anxiety (HADS-A). *Arthritis care & research*, 63 Suppl 11(0 11), S467–S472. <https://doi.org/10.1002/acr.20561>
- Kalat, W. J. (2014). *Biological psychology* (12 E). CENGAGE Learning Custom Publishing.

- Karolinska institutet. (u.å). *Svenske MeSH*. Hämtad 21-03-01 från Karolinska institutet: <https://mesh.kib.ki.se/>
- Kelly, J. R., Allen, A. P., Temko, A., Hutch, W., Kennedy, P. J., Farid, N., Murphy, E., Boylan, G., Bienenstock, J., Cryan, J. F., Clarke, G., & Dinan, T. G. (2017). Lost in translation? The potential psychobiotic *Lactobacillus rhamnosus* (JB-1) fails to modulate stress or cognitive performance in healthy male subjects. *Brain, behavior, and immunity*, 61, 50–59. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.11.018>
- Lew, L. C., Hor, Y. Y., Yusoff, N., Choi, S. B., Yusoff, M., Roslan, N. S., Ahmad, A., Mohammad, J., Abdullah, M., Zakaria, N., Wahid, N., Sun, Z., Kwok, L. Y., Zhang, H., & Liong, M. T. (2019). Probiotic *Lactobacillus plantarum* P8 alleviated stress and anxiety while enhancing memory and cognition in stressed adults: A randomised, double-blind, placebo controlled study. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 38(5), 2053–2064. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.09.010>
- Livsmedelsverket. (2018). *Risk och nyttoprofil: interaktioner mellan maten och tarmfloran - en övergripande sammanfattning av kunskapsläget*. Hämtad 21-03-18 från Livsmedelsverket: https://www.livsmedelsverket.se/globalassets/publikationsdatabas/rapporter/2018/mikrobiomet_risk-och-nyttoprofil-livsmedelsverket-rapportserie-nr-11-2018.pdf
- Livsmedelsverket. (2020). *Miljösmarta matval*. Hämtad 2020-03-15 från <https://www.livsmedelsverket.se/matvanor-halsa--miljo/miljo/miljosmarta-matval>
- Liu, B., He, Y., Wang, M., Liu, J., Ju, Y., Zhang, Y., Liu, T., Li, L., & Li, Q. (2018). Efficacy of probiotics on anxiety-A meta-analysis of randomized controlled trials. *Depression and anxiety*, 35(10), 935–945. <https://doi.org/10.1002/da.22811>
- Lovibond, P. F., & Lovibond, S. H. (1995). The structure of negative emotional states: comparison of the Depression Anxiety Stress Scales (DASS) with the Beck Depression and Anxiety Inventories. *Behaviour research and therapy*, 33(3), 335–343. [https://doi.org/10.1016/0005-7967\(94\)00075-u](https://doi.org/10.1016/0005-7967(94)00075-u)
- Lynch S. V, Pedersen O. (2016). The Human Intestinal Microbiome in Health and Disease. *N Engl J Med.*: 375(24), 2369–2379.
- Marcos, A., Wärnberg, Nova E., Gómez, S., Alvarez, A., Alvarez, Cobo, J.M. (2004). The effect of milk fermented by yogurt cultures plus *Lactobacillus casei* DN-114001 on the immune response of subjects under academic examination stress *Eur J Nutr* 43 :381–389 DOI 10.1007/s00394-004-0517-8
- Marin, I. A., Goertz, J. E., Ren, T., Rich, S. S., Onengut-Gumuscu, S., Farber, E., Wu, M., Overall, C. C., Kipnis, J., & Gaultier, A. (2017). Microbiota alteration is associated with the development of stress-induced despair behavior. *Scientific reports*, 7, 43859. <https://doi.org/10.1038/srep43859>
- McBurney, M. I., Davis, C., Fraser, C. M., Schneeman, B. O., Huttenhower, C., Verbeke, K., Walter, J., & Latulippe, M. E. (2019). Establishing What Constitutes a Healthy Human Gut Microbiome: State of the Science, Regulatory Considerations, and Future Directions. *The Journal of nutrition*, 149(11), 1882–1895. <https://doi.org/10.1093/jn/nxz154>

- McEwen B. S. (2007). Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiological reviews*, 87(3), 873–904. <https://doi.org/10.1152/physrev.00041.2006>
- McKean, J., Naug, H., Nikbakht, E., Amiet, B., & Colson, N. (2017). Probiotics and Subclinical Psychological Symptoms in Healthy Participants: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of alternative and complementary medicine (New York, N.Y.)*, 23(4), 249–258. <https://doi.org/10.1089/acm.2016.0023>
- Messaoudi, M., Lalonde, R., Violle, N., Javelot, H., Desor, D., Nejdi, A., Bisson, J-F., Rougeot, C., Pichelin, M., Cazaubiel, M., Cazaubiel, J-M. (2011). Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects *British Journal of Nutrition*, 105, 755–764 doi:10.1017/S0007114510004319
- Mohammadi, A. A., Jazayeri, S., Khosravi-Darani, K., Solati, Z., Mohammadpour, N., Asemi, Z., Adab, Z., Djalali, M., Tehrani-Doost, M., Hosseini, M., & Eghtesadi, S. (2016). The effects of probiotics on mental health and hypothalamic-pituitary-adrenal axis: A randomized, double blind, placebo-controlled trial in petrochemical workers. *Nutritional neuroscience*, 19(9), 387–395. <https://doi.org/10.1179/1476830515Y.0000000023>
- Moloney, R.D., Johnson, A.C., O'Mahony, S.M., Dinan, T.G., Greenwood-Van Meerveld, B., Cryan, J.F., (2016). Stress and the microbiota-gut-brain Axis in visceral pain: relevance to irritable bowel syndrome. *CNS Neurosci. Ther.* 22, 102e117.
- Patterson, E., Griffin, S. M., Ibarra, A., Ellsiepen, E., & Hellhammer, J. (2020). *Lactobacillus paracasei* Lpc-37® improves psychological and physiological markers of stress and anxiety in healthy adults: a randomized, double-blind, placebo-controlled and parallel clinical trial (the Sisu study). *Neurobiology of stress*, 13, 100277. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2020.100277>
- Petersen, C., & Round, J. L. (2014). Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease. *Cellular microbiology*, 16(7), 1024–1033. <https://doi.org/10.1111/cmi.12308>
- Petrowski K, Kliem S, Albani C, Hinz A, Brähler E. (2019). Norm values and psychometric properties of the short version of the Trier Inventory for Chronic Stress (TICS) in a representative German sample. *PLOS ONE* 14(11): e0222277. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222277>
- Rea, K., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2020). Gut Microbiota: A Perspective for Psychiatrists. *Neuropsychobiology*, 79(1), 50–62. <https://doi.org/10.1159/000504495>
- Regeringskansliet (2011) *FN:s konventioner om Mänskliga rättigheter*. A11.017. Elanders Sverige. <https://www.regeringen.se/contentassets/d6d5653029e14e338a4b86f5f4b34c6b/fnskonventioner-om-manskliga-rattigheter>
- Romijn, A. R., Rucklidge, J. J., Kuijter, R. G., & Frampton, C. (2017). A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of *Lactobacillus helveticus* and *Bifidobacterium longum* for the symptoms of depression. *The Australian and New Zealand journal of psychiatry*, 51(8), 810–821. <https://doi.org/10.1177/0004867416686694>

- Sarkar, A., Lehto, S. M., Harty, S., Dinan, T. G., Cryan, J. F., & Burnet, P. (2016). Psychobiotics and the Manipulation of Bacteria-Gut-Brain Signals. *Trends in neurosciences*, 39(11), 763–781. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2016.09.002>
- Sawada, D., Kuwanob, Y., Tanakab, H., Harac, S., Uchiyamac, Y., Sugawaraa, T., Fujiwaraa, S., Rokutanb, K., (2019) Nishidab Daily intake of Lactobacillus gasseri CP2305 relieves fatigue and stressrelated symptoms in male university Ekiden runners: A double-blind, randomized, and placebo-controlled clinical trial. 57(6)465-476 <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.04.022>
- Schacter, D., Gilbert, D. Wegner, D. Hood, B. (2012). *Psychology: second european edition*. Palgrave Mcmillan.
- Seňová, N., Antošová, M. (2014). Work stress as a worldwide problem in present time Procedia - Social and Behavioral Sciences 109 312 – 316 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877042813050957>
- Shea, T. L., Tennant, A., & Pallant, J. F. (2009). Rasch model analysis of the Depression, Anxiety and Stress Scales (DASS). *BMC psychiatry*, 9, 21. <https://doi.org/10.1186/1471-244X-9-21>
- Socialstyrelsen. (2020). *Nationella riktlinjer för vård vid depression och ångestsyndrom: Stöd för styrning och ledning*. Hämtad från Socialstyrelsen: <https://www.socialstyrelsen.se/globalassets/sharepoint-dokument/artikelkatalog/nationella-riktlinjer/2020-9-6936.pdf>
- Socialstyrelsen. (2003). *Utmattningssyndrom: Stressrelaterad psykisk ohälsa* Hämtad från Socialstyrelsen: <https://www.socialstyrelsen.se/globalassets/sharepoint-dokument/artikelkatalog/ovrigt/2003-123-18.pdf>
- Statens beredning för medicinsk utvärdering (SBU). (2005). *Behandling av ångestsyndrom: en systematisk litteraturoversikt*. Stockholm: SBU.
- Statens Beredning för Medicinsk och Social Utvärdering (SBU). (2014a). *Mall för kvalitetsgranskning av randomiserade studier*. Hämtad 21-03-15 från Statens beredning för medicinsk utvärdering: https://www.sbu.se/globalassets/ebm/metodbok/mall_randomiserade_studier.pdf
- Statens beredning för medicinsk utvärdering (SBU). (2014b). *Mediationsprogram mot stress vid ohälsa*. Hämtad 21-03-17 från Statens beredning för medicinsk utvärdering: <https://www.sbu.se/contentassets/3e22b5206cd7465683d57dd29e4a9de9/sbuk-meditationsprogram-mot-stress-vid-ohalsa.pdf>
- Statens beredning för medicinsk utvärdering (SBU). (2017). *Metodbok*. Hämtad 2021-03-10 från Statens beredning för medicinsk utvärdering: https://www.sbu.se/globalassets/ebm/metodbok/sbushandbok_kapitel04.pdf
- Sudo, N., Chida, Y., Aiba, Y., Sonoda, J., Oyama, N., Yu, X. N., Kubo, C., & Koga, Y. (2004). Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *The Journal of physiology*, 558(Pt 1), 263–275. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2004.063388>
- Takada, M., Nishida, K., Gondo, Y., Kikuchi-Hayakawa, H., Ishikawa, H., Suda, K., Kawai, M., Hoshi, R., Kuwano, Y., Miyazaki, K., & Rokutan, K. (2017). Beneficial effects of Lactobacillus casei strain Shirota on academic stress-induced sleep disturbance in healthy adults: a double

- blind, randomised, placebo-controlled trial. *Beneficial microbes*, 8(2), 153–162.
<https://doi.org/10.3920/BM2016.0150>
- Takada, M., Nishida, K., Kataoka-Kato, A., Gondo, Y., Ishikawa, H., Suda, K., Kawai, M., Hoshi, R., Watanabe, O., Igarashi, T., Kuwano, Y., Miyazaki, K., & Rokutan, K. (2016). Probiotic *Lactobacillus casei* strain Shirota relieves stress-associated symptoms by modulating the gut brain interaction in human and animal models. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society*, 28(7), 1027–1036
<https://doi.org/10.1111/nmo.12804>
- Talbott, S.M. Talbott, J.A., Stephens, B.J., Oddou, M.P. (2019) Effect of coordinated probiotic/prebiotic/phytobiotic supplementation on microbiome balance and psychological mood state in healthy stressed adults *Functional Food Institute* 9(4)265-275.
DOI: <https://doi.org/10.31989/ffhd.9459>
- Turpeinen, U., & Hämäläinen, E. (2013). Determination of cortisol in serum, saliva and urine. Best practice & research. *Clinical endocrinology & metabolism*, 27(6), 795–801.
<https://doi.org/10.1016/j.beem.2013.10.008>
- Vitellio, P., Chira, A., De Angelis, M., Dumitrascu, D. L., & Portincasa, P. (2020). Probiotics in Psychosocial Stress and Anxiety. A Systematic Review. *Journal of gastrointestinal and liver diseases JGLD*, 29(1), 77–83. <https://doi.org/10.15403/jgld-352>
- Wager, T. D., & Atlas, L. Y. (2015). The neuroscience of placebo effects: connecting context, learning and health. *Nature reviews. Neuroscience*, 16(7), 403–418.
<https://doi.org/10.1038/nrn3976>
- Wang, H., Braun, C., Murphy, E. F., & Enck, P. (2019). *Bifidobacterium longum* 1714™ Strain Modulates Brain Activity of Healthy Volunteers During Social Stress. *The American journal of gastroenterology*, 114(7), 1152–1162.
- Zhang, N., Zhang, Y., Li, M., Wang, W., Liu, Z., Xi, C., Huang, X., Liu, J., Huang, J., Tian, D., Mu, J., Liao, X., & Zhai, S. (2020). Efficacy of probiotics on stress in healthy volunteers: A systematic review and meta-analysis based on randomized controlled trials. *Brain and behavior*, 10(9), e01699. <https://doi.org/10.1002/brb3.1699>
- Önning, G., Hillman, M., Hedin, M., Montelius, C., Eriksson, J., Ahrné, S., & Jönsson, P. (2020). Intake of *Lactiplantibacillus plantarum* HEAL9 reduces the inflammatory markers soluble fractalkine and CD163 during acute stress: A randomized, double blind, placebo-controlled study. *Physiology & behavior*, 225, 113083.