

# ПРОБИОТИК *ESCHERICHIA COLI* ШТАММ NISSLE 1917 В СРАВНЕНИИ С ПЛАЦЕБО ПРИ ЛЕЧЕНИИ ДИАРЕИ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬЮ БОЛЕЕ 4 ДНЕЙ У ДЕТЕЙ ГРУДНОГО И МЛАДШЕГО ВОЗРАСТА\*

Jobst Henker, MD<sup>1</sup> Martin W. Laass, MD<sup>1</sup> Boris M. Blokhin, MD<sup>2</sup>, Vitaliy G. Maydannik, MD<sup>3</sup>, Yuriy K. Bolbot, MD<sup>4</sup>, Martina Elze, PhD<sup>5</sup>, Corinna Wolff, MSc, Armin Schreiner, MSc, Jürgen Schulze, PhD

<sup>1</sup>Department of Pediatrics, University Carl—Gustav—Carus, Dresden, Germany

<sup>2</sup>Outpatient Pediatrics, Russian State Medical University Akademika, Moscow, Russia

<sup>3</sup>City Pediatric Clinical Hospital No. 6, National Medical University O. O. Bogomolets, Kyiv, Ukraine

<sup>4</sup>Dnepropetrovsk State Medical Academy, Dnepropetrovsk, Ukraine

<sup>5</sup>Clin Research, Institute for Monitoring, Data Management, Biometrics and Medical Writing, Cologne, Germany

TI Ardeypharm, Herdecke, Germany

**Краткая информация.** Введение пробиотиков может предотвращать или лечить некоторые формы диареи. Эффективность терапии при применении пробиотика *Escherichia coli* штамм Nissle 1917 (EcN) у детей грудного и младшего возраста с продолжительностью диареи более 4-х дней была оценена в мультицентровом рандомизированном плацебо-контролируемом двойном слепом клиническом исследовании.

**Методы.** В исследовании принял участие 151 ребенок в возрасте 1–47 месяцев с неспецифической диареей. Дети были рандомизированы в две группы: группа Мутафлор (EcN) — n=75, группа плацебо — n=76. В исследование допускались дети с такими характеристиками: частота стула более 3 раз в сутки, стул жидкой консистенции в течение более 4-х дней, но не более 14 дней. Все дети имели среднюю степень упитанности или степень упитанности ниже среднего; отмечалась дегидратация средней степени; в начале исследования была проведена пероральная регидратация. В зависимости от возраста и принадлежности к группе участники исследования получали перорально 1–3 мл препарата «Мутафлор» (EcN) суспензию (1 мл содержит 10<sup>8</sup> жизнеспособных клеток) или плацебо ежедневно в течение 21 дня. Цель исследования — подтвердить лучший терапевтический эффект (сокращение частоты стула до 3 раз в сутки, водянистого или жидкого по консистенции на протяжении 4 дней).

**Результаты.** Показатель положительного терапевтического эффекта на 7 день лечения был выше в группе Мутафлор (EcN) — 78,7%, чем в группе плацебо, — 59,2%. Значимые отличия наблюдались на 14 день лечения (группа Мутафлор (EcN) — 93,3%, группа плацебо — 65,8%, P=0,0017) и на 21 день: группа Мутафлор (EcN) — 98,7%, группа плацебо — 71,1%, p<0,001. Анализ выживаемости по Каплан—Мейеру показал достоверные отличия в 3,3 дня между группами (p<0,0001); средняя продолжительность диареи до проявления положительного терапевтического эффекта в группе Мутафлор (EcN) составила 2,4, в группе плацебо — 5,7. Мутафлор (EcN) был безопасным и хорошо переносился.

**Выводы.** В условиях исследования Мутафлор (EcN) был подходящим лекарственным средством для лечения диареи продолжительностью более 4 дней у детей младшего возраста.

**Ключевые слова:** диарея, дети грудного и младшего возраста, пробиотик, *Escherichia coli* штамм Nissle 1917, EcN.

Накопленный клинический опыт свидетельствует о том, что введение пробиотиков может предотвратить и излечить некоторые формы диареи. Данный факт был продемонстрирован в различных клинических исследованиях с участием пациентов разных возрастных групп, включенных в опубликованные мета-анализы [1–5]. В данных исследованиях были использованы различные пробиотики: лактобактерии, бифидобактерии а также *Saccharomyces boulardii* при таких патологиях, как гастро-энтерит у детей, антибиотикоассоциированная диарея, диарея путешественников. Цель исследования состояла в сокращении длительности и уменьшении выраженности ведущих симптомов заболевания.

Непатогенный штамм *Escherichia coli* штамм Nissle 1917 (EcN) используется в Европе в качестве лицензированного пробиотического препарата для лечения хронических воспалительных, инфекционных и функциональных заболеваний кишечника на протяжении почти 90 лет. В 1917 *Escherichia coli* штамм Nissle 1917 был выделен А. Nissle из

фекалий солдата, у которого в годы Первой мировой войны в высокозараженной среде не развивался энтероколит; впоследствии была выявлена способность *Escherichia coli* штамм Nissle 1917 подавлять рост энтеропатогенов [6]. *Escherichia coli* штамм Nissle 1917 был введен в медицинскую практику А. Nissle и изначально предназначался для лечения диареи. С тех пор при применении *Escherichia coli* штамм Nissle 1917 отмечается терапевтический успех в лечении диареи в клинической практике [7]. Открытые исследования, а также исследования, проводившиеся в соответствии с этическими принципами Надлежащей Клинической Практики (GCP), подтверждают эти данные [8–10]. Одно из таких исследований было сфокусировано на лечении острой диареи непосредственно после проявления заболевания [9]. Кроме того, была проведена оценка переносимости, иммуномодулирующего действия, эффективности профилактики колонизаций патогенными микроорганизмами *Escherichia coli* штамм Nissle 1917 у доношенных и недоношенных детей [11–13].

\*Опубликовано: *Pediatr Infect Dis J* 2008;27: 494–499. Address for correspondence: Jobst Henker, MD, Department of Pediatrics, University Hospital Carl-Gustav-Carus, Fetscherstrabe 74, 01307 Dresden, Germany. E-mail: Jobst.Henker@uniklinikum-dresden.de.

В настоящее время *Escherichia coli* штамм Nissle 1917 представлен на рынке в виде препарата «Мутафлор» в форме капсул и суспензии. В данном исследовании препарата Мутафлор (EcN) суспензии принимали участие дети грудного и младшего возраста, страдающие диареей в течение более 4 дней. **Цель** исследования — изучение эффективности терапии, оценка скорости достижения положительного терапевтического эффекта при применении препарата Мутафлор (EcN) по сравнению с плацебо.

**Материалы и методы**

**Дизайн исследования:** мультицентровое, проспективное, рандомизированное, плацебо-контролируемое, двойное слепое, трёхфазное. Исследование проводилось в соответствии с этическими принципами Медицинского исследования, проводимого на людях, которые были приняты Хельсинской декларацией и Надлежащей Клинической Практикой (GCP). Исследование было одобрено Независимым Этическим Комитетом Федерального Агентства Контроля Качества Препаратов (Россия) и Независимым этическим комитетом государственного предприятия «Центр иммунобиологических препаратов» при Министерстве здравоохранения Украины.

Исследование проводилось в 11 университетских клиниках в г. Москва (Россия), в гг. Киев и Днепропетровск (Украина) в период с февраля по апрель 2005 года. Лечение проводилось амбулаторно. Перед принятием в исследование законные попечители каждого пациента были проинформированы исследователем о природе, значении и возможных последствиях данного исследования и его процедур, об эффективности и побочных эффектах исследуемого препарата. Были получены письменные согласия.

Под наблюдением находился 151 ребенок в возрасте от 1 до 47 месяцев с неспецифической диареей, для которой были характерны следующие характеристики: частота стула более 3 раз в сутки, стул без примеси крови, водянистый и жидкий по консистенции, в течение 4 дней подряд, но не дольше 14 дней. Все пациенты были без признаков каких-либо других органических или инфекционных заболеваний. Были сформированы 2 группы: группа Мутафлор (EcN) — 75 пациентов, и группа плацебо — 76 пациентов (рис. 1). Персонал клиник и участники исследования не были осведомлены о

задании на период исследования. Только независимые статисты и Наблюдательный Комитет по Независимым Данным (НКНД) обладали данными по поводу исследования, но ни один из них не контактировал с участниками исследования.

Критерии включения в исследование: возраст до 4-х лет, наличие диареи с характерными признаками, указанными выше, умеренная дегидратация (5–10% потери веса) и письменное информированное согласие от законного попечителя каждого пациента.

Критерии исключения: участие в другом клиническом исследовании, приём препарата Мутафлор (EcN) в течение последних 3 месяцев перед включением в исследование, приём пищевых добавок; применение препаратов, содержащих живые микроорганизмы или их метаболические продукты, в течение 7 дней перед включением или во время исследования, приём антибиотиков или других препаратов для лечения текущего эпизода диареи. Кроме того, из протокола были исключены пациенты с дегидратацией тяжелой степени (>10% потери массы тела), пациенты со смещением показателя СО соотношения массы тела к росту ниже -2, выше 2; пациенты, находящиеся на грудном вскармливании; недоношенные дети, а также дети с тяжелыми хроническими заболеваниями кишечника или тяжелыми сопутствующими заболеваниями.

График рандомизации был создан с использованием метода случайной перестановки блоков (размер блока 4, программное обеспечение SAS, версия 9,1).

**Исходные данные.** Не наблюдалось значимых отличий между группами сравнения в отношении демографических и других базовых характеристик, таких как пол, возраст, рост, вес и степень уштанности детей (табл. 1). Также не было никаких различий в показателях систолического и диастолического артериального давления, частоты сердечных сокращений и температуры тела между группами сравнения в начале исследования. Стандартный микробиологический анализ на основе ПЦР [15] был использован для проверки наличия различных патогенных микроорганизмов (например, норовирусов, аденовирусов, ротавирусов, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Shigella* и патогенных штаммов *E.coli*). Основные характеристики пациентов, принимавших участие в исследовании, приведены в табл. 1.

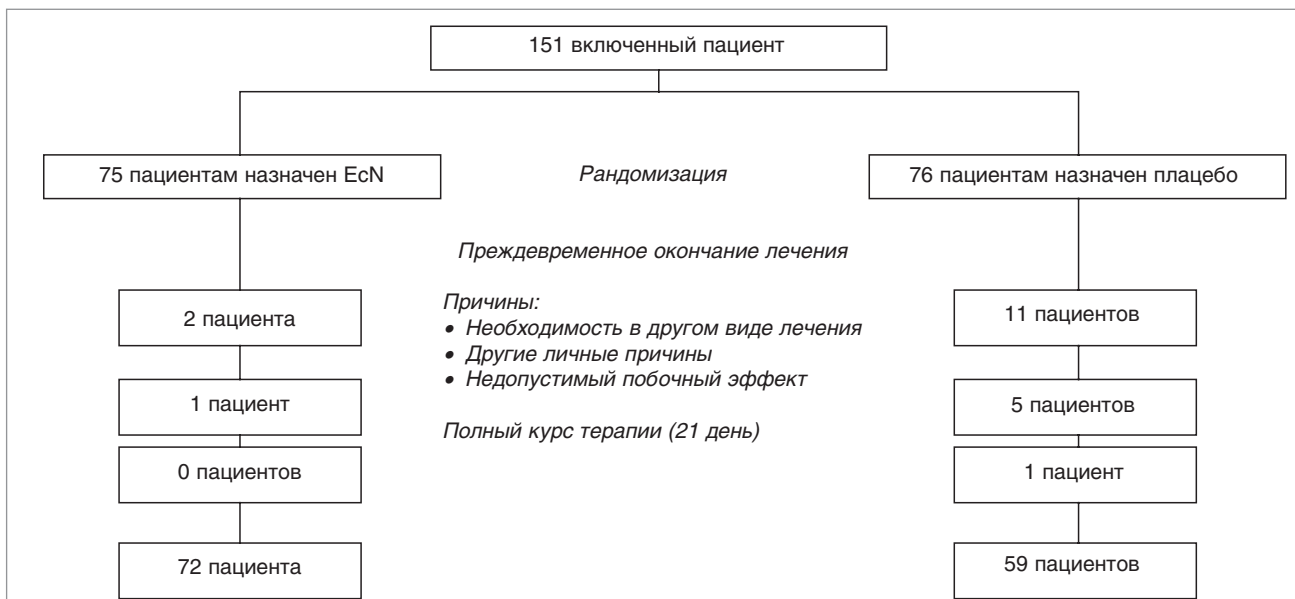


Рис. 1. Состав участников исследования

Таблица 1

**Демографические и другие основные характеристики**

Основные характеристики	Группа Мутафлор(ЕсN) Среднее ± СО (Мин-Макс) [Среднее]	Группа Плацебо Среднее ± СО (Мин-Макс) [Среднее]
Количество пациентов	75	76
Возраст	26,1 mo (1-47) [26,0]	23,7 mo (1-46) [24,0]
ИМТ		
<P5*	2,7%	3,9%
P5-P95	93,3%	89,5%
>P95	4,0%	6,6%
Артериальное давление		
Систолическое	89,1±11,0 [88,0] мм рт.ст.	89,5±11,9 [87,5] мм рт.ст.
Диастолическое	52,2±9,1 [50,0] мм рт.ст.	53,1±10,5 [51,0] мм рт.ст.
Частота сердечных сокращений	111,5±11,9 [110,0] уд.в мин.	113,1±10,9 [112,0] уд.в мин.
Температура тела	37,5 ± 0,5 [37,4]°C	37,5 ± 0,4 [37,5]°C
Средняя степень упитанности	69,3%	63,2%
Степень упитанности ниже среднего	17,3%	21,1%
Продолжительность диареи	5,8±1,8 [5,0] d	5,8±2,4 [5,0] d
Частота стула	5,1±0,9 [5,0]	5,1±0,9 [5,0]
Дегидратация	Средняя степень дегидратации (5-10% потери массы тела)	
Возможные причины текущего эпизода диареи :		
Предшествующее лечение антибиотиками	1,3%	1,3%
Бактериальная инфекция	20,0%	25,0%
Вирусная инфекция	16,0%	21,1%
Неопределённая инфекция	58,7%	50,0%
Другие причины	4,0%	2,6%

Примечания: \* – незначительное нарушение протокола; † – информация о степени упитанности является неполной по причине отсутствия данных. Однако пациенты показателем ИМТ ниже 5-го перцентиля были исключены из протокола исследования.

**Исследуемый препарат.** Исследуемый препарат Мутафлор представляет собой суспензию для перорального применения, содержащую непатогенный штамм *Escherichia coli* штамм Nissle 1917; (10<sup>8</sup> жизнеспособных микроорганизмов в 1 мл). В качестве плацебо была использована суспензия, лишённая активного вещества. В зависимости от возраста, суточные дозы исследуемого препарата Мутафлор (ЕСN) или плацебо составляли:

- дети до 1 года – 1 мл один раз в день;
  - дети от 1 до 3 лет – 1 мл два раза в день;
  - дети от 3 до 4 лет – 1 мл 3 раза в день
- Терапия проводилась в течение 21 дня.

**Дизайн исследования.** В течение 4 часов до начала лечения каждому пациенту была проведена регидратационная терапия перорально в соответствии с руководством ВОЗ «Лечение диареи» (2001). Все данные относительно питьевого поведения, частоты и консистенции стула, примеси крови и слизи в стуле, боли в животе, эпизодов рвоты вносились родителями в дневник в домашних условиях. При последующих визитах в госпиталь на 3, 5, 7, 10, 14 и 21 дни, эти данные проверялись и, дополненные новыми показателями (например, масса тела, температура тела, общее состояние здоровья), переносились исследователями в электронную версию истории болезни.

Пустые упаковки препаратов возвращались в центры для проверки комплаентности пациентов. Как нарушение протокола рассматривались случаи, когда пациент принимал менее 45% общей дозировки препарата. При контрольных визитах регистрировалось наличие побочных эффектов. Все процедуры, относящиеся к исследованию, строго следовали указаниям текущей международной конференции по гармонизации в соответствии с этическими принципами GCP.

**Оценка.** Первичная переменная эффективности: положительный терапевтический эффект, определяемый как снижение частоты стула до 3-х раз в сутки, водянистого

или жидкого по консистенции, в течение 4-х дней подряд. Первичная конечная точка – коэффициент достижения положительного терапевтического эффекта. Вторичные конечные точки: продолжительность диареи до проявления положительного терапевтического эффекта, положительная динамика клинических симптомов (частота, характеристика стула, наличие боли в животе, рвота, температура тела), общее состояние здоровья («очень хорошо», «хорошо», «удовлетворительно» или «неудовлетворительно»), появление побочных эффектов, переносимость исследуемого препарата («очень хорошо», «хорошо», «удовлетворительно» или «неудовлетворительно»).

**Статистический анализ.** Исследование проводилось в соответствии с 3-этапным групповым последовательным исследовательским дизайном (метод О'Брайена Флеминга) с возможной адаптацией [16] размера выборки после запланированных промежуточных анализов (первый и второй промежуточный анализ – оценка терапии 50 и 100 пациентов, соответственно, окончательный анализ – 150 пациентов). 2 первичные переменные эффективности – коэффициенты достижения положительного терапевтического эффекта на 7 и 14 дни лечения, соответственно. Для того, чтобы оценить преимущество применения препарата Мутафлор (ЕсN) по сравнению с плацебо, сравнивалось наступление положительного терапевтического эффекта на 7 и 14 дни лечения (общая доля ошибки типа I – α=0,025, односторонний тест). В связи с исследованием двух первичных переменных эффективности, условная доля ошибки типа I для каждой переменной была равна 0,0125 (двухсторонний тест).

Статистическое сравнение коэффициента достижения положительного терапевтического эффекта при применении препарата Мутафлор (ЕСN) в сравнении с плацебо на 7 день терапии, так же, как и на 14 день, проводили с использованием 2-выборочного теста χ<sup>2</sup> при предварительном и окончательном анализе (противоположный

нормальный метод для объединения значений Р этапов). Далее был проведен последующий исследовательский анализ. Коэффициенты достижения терапевтического эффекта на 21 день лечения были подсчитаны и сравнены между группами лечения посредством 2-выборочного теста  $\chi^2$  для коэффициентов (односторонний). Кроме того, был выполнен анализ времени проявления терапевтического эффекта (метод Каплана—Мейера). Исследовательское сравнение кривых времени проявления терапевтического эффекта выполнялось с использованием логрангового теста (односторонний тест). Данные, полученные после всех расчетов, были включены в таблицу с описательными статистиками. Первичный анализ осуществлялся на основании полного набора данных (основывался на принципе ИТТ), включая всех рандомизированных пациентов, кто принимал, по крайней мере, одну дозу исследуемого препарата. В анализе по протоколу (ПП) исключались пациенты, существенно нарушающие протокол. Совокупность анализов была обозначена в слепом обзоре данных.

Размер выборки оценивался перспективно следующим образом: допускалась проявление положительного терапевтического эффекта при применении препарата Мутафлор (ЕсN) — 45% и 50% на 7 и 14 дни лечения соответственно, и допускалось 25% отличие по сравнению с группой плацебо для обеих конечных точек; предполагалось, что статистическая мощность исследовательской процедуры должна быть не менее 80%, если каждая из 3 стадий исследования состояла из 25 пациентов на группу лечения ( $\alpha=0,0125$  односторонний тест, предварительный анализ после 1/3 и 2/3 от запланированного числа пациентов). Независимый комитет по мониторингу данных (НКМД) был ответственным за обзор открытых результатов предварительных анализов и за обеспечение рекомендаций для продолжения исследования с предварительно запланированной или переоценённой выборкой исследования, либо за окончание исследования. НКНД действовала на основании письменного устава, который включал чётко определённые конкретные стандартные операционные процедуры. Осуществлялись два предварительных анализа. Не требовалось адаптации для объёма выборки. НКНД рекомендовал продолжать исследование до тех пор, пока не будет достигнут предварительно запланированный объём выборки в 150 пациентов.

### Результаты

Анализ эффективности осуществлялся на основании наборов данных ИТТ (к-во=151) ПП (к-во=149). Так как ИТТ и ПП анализ были практически идентичными (2 пациента, принимавших плацебо, были исключены из ПП анализа по причине продолжительности диареи 3 и 19 дней, соответственно), все представленные результаты относятся к ИТТ набору данных.

В ходе исследования на 21 день лечения и наблюдения из 151 ребёнка, принимающего участие в исследовании, положительный терапевтический эффект был зафиксирован у 84,8% детей. Количество детей, у которых положительный терапевтический эффект отмечался на 7 день лечения, было выше в группе Мутафлор (ЕсN) — 59 (78,7%) пациентов, чем в группе плацебо — 45 (59,2%) пациентов ( $p=0,0758$ ). Значимые отличия наблюдались на 14 день лечения: в группе Мутафлор (ЕсN): положительный терапевтический эффект наблюдался у 70 пациентов (93,3%), в то время как в группе плацебо у 50 (65,8%) пациентов, ( $p=0,0017$ ; 97,5% ДИ: 0,05–0,38); на 21 день лечения — в группе Мутафлор (ЕсN) — у 74 (98,7%) пациентов, в группе плацебо — у 54 (71,1%) пациентов ( $p<0,001$ ).

Анализ выживаемости по Каплан—Мейеру показал значимые отличия между группами — 3,3 дня ( $p<0,0001$ ); среднее время до проявления положительного терапевтического эффекта в группе Мутафлор (ЕсN) составило 2,4 дня (95% ДИ: 1,53–3,99), в группе плацебо — 5,7 дня (95% ДИ: 3,79–7,24) (рис. 2).

В конце исследования эффективность лечения в группе Мутафлор (ЕсN) была выше, чем в группе плацебо. Снижение частоты стула отмечалось в двух группах исследования (группа Мутафлор (ЕсN) —  $3,9\pm 1,1$  раза в сутки, группа плацебо —  $3,7\pm 1,2$  раза в сутки), однако положительный терапевтический эффект (снижение частоты стула до 3 раз в день) отмечался в группе Мутафлор (ЕсN) на 5 день, тогда как в группе плацебо — на 7 день.

Ни у одного из пациентов не обнаруживалась примесь крови в стуле. Количество пациентов с примесью слизи в стуле, болями в животе или судорогами постепенно снижалось в течение исследования (табл. 2). В обеих группах только у нескольких пациентов отмечалась рвота в начале исследования. Температура тела снижалась идентично в обеих группах лечения (группа Мутафлор (ЕсN) —  $0,4\pm 0,4^\circ\text{C}$ ; группа плацебо —  $0,3\pm 0,4^\circ\text{C}$ ). В ходе исследования в обеих группах масса тела пациентов увеличивалась, а степень дегидратации — уменьшалась. Прибавка массы тела была выше в группе Мутафлор (ЕсN) ( $0,7\pm 0,4$  кг), чем в группе плацебо ( $0,5\pm 0,4$  кг), в конце исследования количество пациентов с дегидратацией средней степени было меньше в группе Мутафлор (ЕсN) — 1 пациент, что составило 1,3%, по сравнению с группой плацебо — 11 (14,5%) пациентов. В группе Мутафлор (ЕсN) значительно улучшилось общее состояние здоровья пациентов. В начале исследования в 97% случаев в группе Мутафлор (ЕсN) общее состояние здоровья пациентов оценивалось как «удовлетворительное», в ходе исследования эта оценка улучшилась до показателя «хорошее» или «очень хорошее». В группе плацебо данный показатель составил 62,3%.

Побочные эффекты отмечались в группе Мутафлор (ЕсN) у 3-х пациентов (4,0%), в группе плацебо — у 4-х пациентов (5,3%). У пациентов в группе Мутафлор (ЕсN) были выявлены травмы внутренних органов, травматические гематомы, гиперчувствительность; в группе плацебо — грипп, рвота, боли в животе, кашель, ринорея, дерматит, вирусные инфекции верхних дыхательных путей, назофарингит).

Ни один из побочных эффектов не расценивался как серьёзный, однако некоторые из них могли быть связаны с назначаемой терапией. В группе Мутафлора (ЕсN) — гиперчувствительность; в группе плацебо — рвота, боли в животе, дерматит. Данные побочные эффекты определялись и в конце исследования. Другие побочные эффекты в конце исследования не определялись. Один пациент

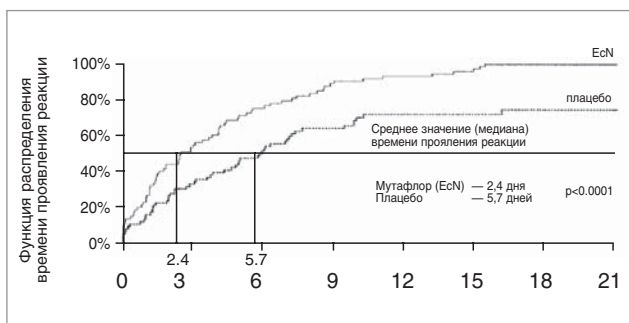


Рис. 2. Время проявления положительного терапевтического эффекта — метод Каплана—Мейера (ИТТ)

Таблица 2

Динамика клинических проявлений диареи на фоне лечения

Симптом	Группа Мутафлор (EcN)				Группа плацебо			
	Начало исследования		Конец исследования		Начало исследования		Конец исследования	
Примесь крови в стуле	–	–	–	–	–	–	–	–
Слизь в стуле	19/75	25,3%	0/19	0,0%	28/76	36,8%	3/28	10,7%
Боль в животе	22/75	29,3%	1/22	4,5%	21/76	27,6%	4/21	19,0%
Судороги	18/75	24,0%	1/18	5,6%	15/76	19,7%	3/15	20,0%

в группе плацебо был исключён из исследования в связи с гриппом.

Мутафлор (EcN) был признан безопасным и хорошо переносимым. Не было существенных отличий в оценках исследователей и родителей (рис. 3).

**Обсуждение**

Для взрослых характерен высокий процент самоизлечения диареи, поэтому антидиарейная терапия актуальна не во всех случаях. Для детей грудного и младшего возраста раннее лечение является важным для улучшения качества жизни (как для детей, так и для их родителей) и даже может спасти жизни. Цель настоящего мультицентрового, проспективного, рандомизированного двойного слепого плацебо-контролируемого трёхфазного исследования состояла в оценке терапевтической эффективности применения препарата Мутафлор (*E. coli* штамм Nissle 1917) — суспензии для лечения диареи продолжительностью более 4-х дней у детей грудного и младшего возраста. Применение препарата Мутафлор (EcN) имело преимущества по сравнению с плацебо уже на 14 и 21 день лечения. В исследовании были включены пациенты с продолжительностью диареи более 4-х дней для исключения случаев возможного самоизлечения заболевания. В течение первых 3-х дней лечения наблюдалось отличие во времени проявления положительного терапевтического эффекта. При применении препарата Мутафлор (EcN) была отмечена положительная динамика в течении заболевания, достигнуто

сокращение продолжительности диареи на 3,3 дня по сравнению с плацебо, что являлось статистически значимым и клинически соответствующим. На сегодня диарея продолжительностью более 4 дней не была тщательно изучена в клинических исследованиях. Для пациента, не получающего лечение, существует риск хронизации заболевания. После полного курса терапии (21 день) при применении препарата Мутафлор (EcN) у 74 пациентов был отмечен положительный терапевтический эффект, в то время как в группе плацебо диарея еще продолжалась у почти одной трети пациентов. Применение препарата Мутафлор (EcN), возможно, позволит предотвратить хронизацию заболевания.

Эффективность применения суспензии Мутафлор (EcN) при лечении диареи была подтверждена также в мультицентровом проспективном рандомизированном двойном слепом плацебо-контролируемом трёхфазном исследовании [9]. В данном исследовании у детей с острой диареей положительный терапевтический результат применения препарата Мутафлор (EcN) был отмечен в среднем на 2,5 день лечения, плацебо — в среднем на 4,8 день. Разница начала наступления положительного терапевтического эффекта при применении препарата Мутафлор (EcN) по сравнению с плацебо составила 2,3 дня (p=0,0007, метод Каплан—Мейера). В ходе исследования при применении препарата Мутафлор (EcN) острая диарея купировалась в 94,5% случаев. Доля пациентов, у которых было отмечено улучшение, в группе Мутафлор (EcN) превзошла группу плацебо (67%, p=0,0003). На основании последних данных о применении различных пробиотиков при острой диарее была установлена ограниченная эффективность большинства исследуемых штаммов [17]. В отношении сокращения продолжительности диареи ни один из этих пробиотиков не достиг показателя в два дня.

Данные, полученные в настоящем исследовании, подтверждают опыт других исследователей, использующих различные пробиотики для лечения гастроэнтерита. В этой области было опубликовано значительное количество клинических исследований (например, с использованием лактобактерий, бифидобактерий и *Saccharomyces boulardii* [1–5]). Большинство продемонстрировало улучшение клинической картины и сокращение продолжительности диареи на 0,5–1,5 дня. Тем не менее, невозможно сравнивать эффективность результатов различных клинических исследований из-за различий в демографических параметрах, исходной степени упитанности детей и длительности заболевания до начала исследования.

Оценка состояния здоровья исследователями и родителями в определенной степени является субъективной, а также трудно определить степень выраженности боли и колик в животе у детей младшего возраста, тем не менее, данные характеристики оценивались в качестве вторичных конечных точек и помогли лучше понять полную клиническую картину заболевания и его течение. Данные показатели подчеркивают значение первичных выводов.

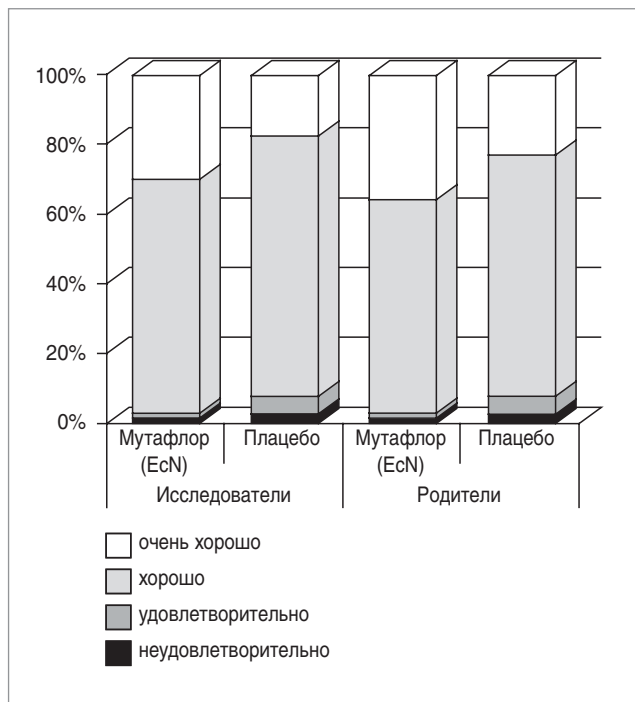


Рис. 3.

То же относится к оценке переносимости лечения. Определение дозировки препарата Мутафлор (EcN) используемой в данном исследовании, основывалось на рекомендациях производителя [9,11–13].

*E. coli* Nissle штамм 1917 (Мутафлор) является одним из штаммов, получившим наилучшую характеристику среди пробиотических препаратов. Описаны различные штаммоспецифические характеристики (нп. 6 систем, захватывающих железо), секреция 2 микроцинов, образование биопленок при различных условиях и уникальная структура липополисахаридов [18–21]. Мутафлор (EcN) стабилизирует слизистый барьер толстого кишечника, обладает способно-

стью ингибировать инвазию энтероинвазивных патогенов в слизистую оболочку толстой кишки [22]. Было доказано, что Мутафлор (EcN) оказывает иммуномодулирующее действие (нп, путем стимуляции секреции IgA лимфоцитами) [13] и индуцирует человеческий  $\beta$ -дефензин-2 в энтероцитах [23]. В недавних исследованиях было продемонстрировано, что применение препарата Мутафлор (EcN) предотвратило острую секреторную диарею при моделировании кишечной инфекции у свиней [24]. Считаем разумным дальнейшее исследование антагонистической активности *Escherichia coli* штамм Nissle 1917 (Мутафлор) против различных патогенных микробов *in vivo*.

## ЛИТЕРАТУРА

- Szajewska H, Ruszczynski M, Radzikowski A. Probiotics in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea in children: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Pediatr*. 2006;149:367–372.
- McFarland LV, Elmer GW, McFarland M. Meta-analysis of probiotics for the prevention and treatment of acute pediatric diarrhea. *Int J Probiotics Prebiotics*. 2006;1:63–76.
- Sazawal S, Hiremath G, Dhingra U, et al. Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a meta-analysis of masked, randomized, placebo-controlled trials. *Lancet Infect Dis*. 2006;6:374–382.
- Szajewska H, Mrukowicz JZ. Probiotics in the treatment and prevention of acute infectious diarrhea in infants and children: a systematic review of published randomized, double-blind, placebo-controlled trials. *Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2001;33:S17–S25.
- van Niel CW, Feudtner C, Garrison MM, et al. Lactobacillus therapy for acute infectious diarrhea in children: a meta-analysis. *Pediatrics*. 2002;109:678–684.
- Nissle A. Weiteres über Grundlagen und Praxis der Mutaflorbehandlung. [More on the basic science and practice of Mutaflor treatment.] *Dtsch Med Wochenschr*. 1925;44:1809–1813.
- Krammer HJ, Kamper H, von Bunau R, et al. Probiotic drug therapy with *Escherichia coli* strain Nissle 1917 (EcN): results of a prospective study of the records of 3807 patients. *Z Gastroenterol*. 2006;44:651–656.
- Rohrenbach J, Matthes A, Maier R, et al. *Escherichia coli* Stamm Nissle 1917 (EcN) bei Kindern: Ergebnisse einer prospektiven Datenerhebung mit 668 Patienten. [*Escherichia coli* strain Nissle 1917 (EcN) in children: results of a prospective survey in 668 patients.] *Kinder Jugendartz*. 2007;3:164–167.
- Henker J, Blokhin BM, Bolbot YK, et al. The probiotic *E. coli* Nissle 1917 stops acute diarrhoea in infants and toddlers. *Eur J Pediatr*. 2007;166:311–318.
- Tromm A, Niewerth U, Khoury M, et al. The probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917 (EcN) for the treatment of collagenous colitis: first results of an open-label trial. *Z Gastroenterol*. 2004;42:365–369.
- Lodinova-Zadnikova R, Tlaskalova-Hogenova H, Sonnenborn U. Local and serum antibody response in fullterm and premature infants after artificial colonization of the intestine with *E. coli* strain Nissle 1917 (Mutaflor®). *Pediatr Allergy Immunol*. 1992;3:43–48.
- Lodinova-Zadnikova R, Sonnenborn U. Effect of preventive administration of a nonpathogenic *Escherichia coli* strain on the colonization of the intestine with microbial pathogens in newborn infants. *Biol Neonate*. 1997;71:224–232.
- Cukrowska B, Lodinova-Zadnikova R, Enders C, et al. Specific proliferative and antibody response of premature infants to intestinal colonization with nonpathogenic probiotic *E. coli* strain Nissle 1917. *Scand J Immunol*. 2002;55:204–209.
- Pirlich M, Schwenk A, Muller MJ. DGEM guidelines enteral nutrition: nutritional status. *Aktuel Ernähr Med*. 2003;28(Suppl 1):S10–S25.
- Woodford N, Johnson AP. *Methods in molecular medicine. Molecular Bacteriology: Protocols and Clinical Applications*. 15th ed. Totowa, NJ: Humana Press; 2004.
- Lehmacher W, Wassmer G. Adaptive sample size calculations in group sequential trials. *Biometrics*. 1999;55:1286–1290.
- Canani RB, Cirillo P, Terrin G, et al. Probiotics for treatment of acute diarrhoea in children: randomised clinical trial of five different preparations. *BMJ*. 2007;335:340.
- Blum G, Marre R, Hacker J. Properties of *Escherichia coli* strains of serotype O6. *Infection*. 1995;23:234–236.
- Blum-Oehler G, Oswald S, Eiteljorge K, et al. Development of strain-specific PCR reactions for the detection of the probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917 in fecal samples. *Res Microbiol*. 2003;154:59–66.
- Grozdanov L, Zahringer U, Blum-Oehler G, et al. A single nucleotide exchange in the wzy gene is responsible for the semirough O6 lipopolysaccharide phenotype and serum sensitivity of *Escherichia coli* strain Nissle 1917. *J Bacteriol*. 2002;184:5912–5925.
- Grozdanov L, Raasch C, Schulze J, et al. Analysis of the genome structure of the nonpathogenic probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917. *J Bacteriol*. 2004;186:5432–5441.
- Altenhoefer A, Oswald S, Sonnenborn U, et al. The probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917 interferes with invasion of human intestinal epithelial cells by different enteroinvasive bacterial pathogens. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2004;40:223–229.
- Wehkamp J, Harder J, Wehkamp K, et al. NF- $\kappa$ B- and AP-1-mediated induction of human beta defensin-2 in intestinal epithelial cells by *Escherichia coli* Nissle 1917: a novel effect of a probiotic bacterium. *Infect Immun*. 2004;72:5750–5758.
- Schroeder B, Duncker S, Barth S, et al. Preventive effects of the probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917 on acute secretory diarrhea in a pig model of intestinal infection. *Dig Dis Sei*. 2006;51:724–731

# Мутафлор®

Суспензия

Escherichia coli штамма NISSLE 1917

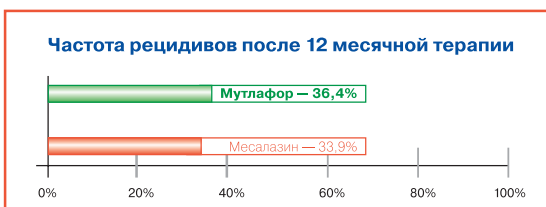
Детям с 1-го дня жизни

## Природное восстановление микрофлоры кишечника



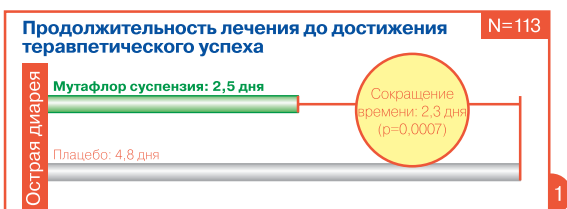
### Доказанная эффективность

#### Доказана равнозначность Мутафлора и Месалазина для достижения ремиссии при НЯК

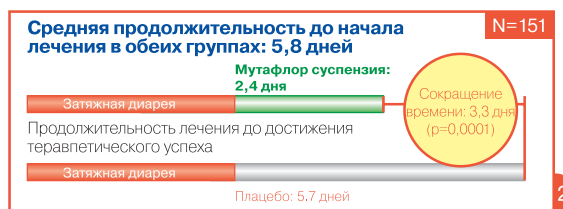


- Henker J et al. Поддерживающая терапия Няк у детей и подростков при применении E.coli штамм Nissle1917. Medi-mond, 2004: 523-527
- Kruis W et al. Поддержание ремиссии при НЯК с применением пробиотика Escherichia coli штамм Nissle 1917 так же эффективно как стандарта месалазина Gut 2004, 53: 1617-1623
- Rembacken BJ et al. Непатогенная Escherichia coli в сравнении с месалазином при терапии НЯК: рандомизированное исследование Lancet 1999;354:365-639
- Kruis W et al. Двойное-слепое сравнительное исследование орального применения Escherichia coli и месалазина для поддержания ремиссии при НЯК. Aliment Pharma-col ther 1997; 11: 853-588

#### Результаты мультицентровых рандомизированных плацебо-контролируемых двойных слепых исследований



- Сокращение длительности проявлений острой диареи на 2,3 дня.
- Нормализация консистенции стула(78%) в отличие от плацебо-группы (41%)
- 94,5 % случаев успешной терапии.



- Сокращение длительности проявлений затяжной диареи на 3,3 дня.
- Нормализация консистенции стула (96%) по сравнению с плацебо-группой(59%).
- 99% случаев успешной терапии

Инструкция приведена в сокращенном варианте.

P.C.№ UA/10280/02/01 от 17.03.2010 № 235

Мутафлор. Состав: действующее вещество (биомасса) \*: Escherichia coli штамм NISSLE 1917;

2.\*Пробиотик Escherichia coli Nissle 1917 versus placebo for treating diarrhea of greater than 4 days duration in infants and toddlers» Henker J, Laass M, Blokhin BM, Bolbot YK, Maydannik VG; Infect Dis J.2008 Jun 27(6):494-9

Показания:

— Профилактика патологических колонизаций в кишечнике новорожденных (недоношенных и зрелых);

— Повышение иммунитета новорожденных (недоношенных и зрелых);

— Диарея у детей грудного и дошкольного возраста, в том числе при кормлении через зонд.

Способ применения и дозы.

Перед применением взболтать! Суспензию можно накапать непосредственно в рот из ампулы, детям грудного возраста — перед питьем, детям дошкольного возраста — после приема пищи. Суспензию можно также вводить через назогастральный зонд.

Профилактика колонизации: недоношенные и зрелые новорожденные — 1 мл в день на протяжении как минимум 5 дней.

Повышение иммунитета новорожденных: первая неделя жизни — 1 раз в день по 1 мл; 2–3 неделя — 3 раза в неделю по 1 мл в день.

Диарея: дети грудного и дошкольного возраста — по 1 мл в день на протяжении 1–3 дней. При острой диарее — по 1 мл в день на протяжении 5 дней;

при затяжной диарее — по 1 мл в день до 15 дней.

Диарея при кормлении через зонд: дети грудного и дошкольного возраста — 1 раз в день по 1–5 мл, до 5 дней в зависимости от периодов диареи. После достижения позитивных результатов лечение следует продолжать еще несколько дней.

Условия хранения. Хранить при температуре 2–8 °С .

Производитель Ардейфарм ГмбХ, Германия

Информация для специалистов здравоохранения. Для размещения в специализированных изданиях, для распространения на семинарах, конференциях, симпозиумах по медицинской тематике.

За дополнительной информацией обращайтесь:  
«Би-фарма» т/ф.: (044)501-69-79  
e-mail: info@b-pharma.com.ua

1.«The probiotic Escherichia coli strain Nissle 1917 (EcN) stops acute diarrhoea in infants and toddlers» Henker J, Laass M, Blokhin BM, Bolbot YK, Maydannik VG. Eur J Pediatr.2007 Apr;166 (4):311-8.

2.«Probiotic Escherichia coli Nissle 1917 versus placebo for treating diarrhea of greater than 4 days duration in infants and toddlers» Henker J, Laass M, Blokhin BM, Bolbot YK, Maydannik VG; Pediatr Infect Dis J.2008 Jun 27(6):494-9

### ПРОБИОТИК *ESCHERICHIA COLI* ШТАММ NISSLE 1917 У ПОРІВНЯННІ З ПЛАЦЕБО ПРИ ЛІКУВАННІ ДІАРЕЇ ТРИВАЛІСТЮ ПОНАД 4 ДНІВ У ДІТЕЙ ГРУДНОГО І МОЛОДШОГО ВІКУ

*Jobst Henker, MD, Martin W. Laass, MD, Boris M. Blokhin, MD, Vitaliy G. Maydannik, MD, Yuriy K. Bolbot, MD, Martina Elze, PhD, Corinna Wolff, MSc, Armin Schreiner, MSc, Jurgen Schulze, PhD*

Department of Pediatrics, University Carl—Gustav—Carus, Dresden, Germany;  
 Outpatient Pediatrics, Russian State Medical University Akademika, Moscow, Russia  
 City Pediatric Clinical Hospital No. 6, National Medical University O. O. Bogomolets, Kyiv, Ukraine  
 Dnepropetrovsk State Medical Academy, Dnepropetrovsk, Ukraine  
 Clin Research, Institute for Monitoring, Data Management, Biometrics and Medical Writing, Cologne, Germany  
 TIArdeypharm, Herdecke, Germany

**Коротка інформація.** Введення пробіотиків може запобігати або лікувати деякі форми діареї. Ефективність терапії при застосуванні пробіотика *Escherichia coli* штам Nissle 1917 (EcN) у дітей грудного і молодшого віку з тривалістю діареї понад 4 дні оцінювалася у мультицентровому рандомізованому плацебо-контрольованому подвійному сліпому клінічному дослідженні.

**Методи.** У дослідженні взяла участь 151 дитина віком 1–47 місяців з неспецифічною діареєю. Діти були рандомізовані у дві групи: група Мутафлор (EcN) —  $n=75$ , група плацебо —  $n=76$ . У дослідження допускались діти з наступними характеристиками: частота випорожнень понад 3 рази на добу, випорожнення рідкої консистенції протягом понад 4 дні, але не більше 14 днів. Усі діти мали середній або нижчий за середній ступінь вгодованості; спостерігалася дегідратація середнього ступеня; на початку дослідження проводилася пероральна регідратація. Залежно від віку та приналежності до групи учасники дослідження отримували перорально 1–3 мл препарату «Мутафлор» (EcN) суспензію (1 мл містить  $10^8$  життєздатних клітин) або плацебо щодня протягом 21 дня. Мета дослідження — підтвердити кращий терапевтичний ефект (скорочення частоти випорожнень до 3 разів на добу, водянистою чи рідкої консистенції протягом 4 днів).

**Результати.** Показник позитивного терапевтичного ефекту на 7 день лікування був вищим в групі Мутафлора (EcN) — 78,7%, ніж в групі плацебо, — 59,2%. Значущі відмінності спостерігалися на 14 день лікування (група Мутафлор (EcN) — 93,3%, група плацебо — 65,8%,  $p=0,0017$ ) і на 21 день: група Мутафлор (EcN) — 98,7%, група плацебо — 71,1%,  $p<0,001$ . Аналіз виживаності за Каплан—Меєром показав достовірні відмінності у 3,3 дня між групами ( $p<0,0001$ ); середня тривалість діареї до появи позитивного терапевтичного ефекту в групі Мутафлора (EcN) склала 2,4, в групі плацебо — 5,7. Мутафлор (EcN) був безпечним і добре сприймався.

**Висновки.** В умовах дослідження Мутафлор (EcN) підходить для лікування діареї тривалістю понад 4 дні у дітей молодшого віку.

**Ключові слова:** діарея, діти грудного і молодшого віку, пробіотик, *Escherichia coli* штам Nissle 1917, EcN.

### PROBIOTIC *ESCHERICHIA COLI* NISSLE 1917 VERSUS PLACEBO FOR TREATING DIARRHEA OF GREATER THAN 4 DAYS DURATION IN INFANTS AND TODDLERS

*Henker, Jobst MD; Laass, Martin W. MD; Blokhin, Boris M. MD; Maydannik, Vitaliy G. MD; Bolbot, Yuriy K. MD; Elze, Martina PhD; Wolff, Corinna MSc; Schreiner, Armin MSc; Schulze, Jurgen PhD*

Department of Pediatrics, University Carl—Gustav—Carus, Dresden, Germany;  
 Outpatient Pediatrics, Russian State Medical University Akademika, Moscow, Russia  
 City Pediatric Clinical Hospital No. 6, National Medical University O. O. Bogomolets, Kyiv, Ukraine  
 Dnepropetrovsk State Medical Academy, Dnepropetrovsk, Ukraine  
 Clin Research, Institute for Monitoring, Data Management, Biometrics and Medical Writing, Cologne, Germany  
 TIArdeypharm, Herdecke, Germany

**Background:** Administering probiotics can prevent or cure some forms of diarrhea. The efficacy of probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN) in infants and toddlers with diarrhea >4 days was tested by a double-blind trial.

**Methods:** One hundred fifty-one children aged 1–47 months with nonspecific diarrhea were randomized to receive either EcN suspension ( $N=75$ ) or placebo ( $N=76$ ). Diarrhea had to meet the following definition: >3 watery or loose nonbloody stools in 24 hours of a diarrheal episode persisting for >4 consecutive days but < or =14 days. All children were well nourished or only moderately malnourished, mildly dehydrated, and received oral rehydration at study commencement. They were treated orally with 1–3 mL EcN suspension (1 mL contains 10 viable cells) or placebo daily for 21 days. Primary objective was to confirm a better response rate (reduction of daily stool frequency to < or =3 watery or loose stools over > or =4 days) with EcN.

**Results:** The 7-day response was higher for the EcN group than placebo (EcN 78.7%, placebo 59.2%). Significant differences were observed on days 14 (EcN 93.3%, placebo 65.8%,  $P=0.0017$ ) and 21 (EcN 98.7%, placebo 71.1%,  $P<0.001$ ). Kaplan-Meier survival analysis resulted in a significant difference of 3.3 days between the groups ( $P<0.0001$ ); median time to response for EcN was 2.4 and 5.7 for placebo. EcN was safe and well tolerated.

**Conclusions:** In the conditions of this trial EcN was a suitable remedy for diarrhea >4 days in young children.

**Key word:** diarrhea, infants and toddlers, probiotic, *Escherichia coli* Nissle 1917, EcN.