

Эффективность профилактического применения препарата МУТАФЛОР и его влияние на колонизацию кишечника патогенами у новорожденных.

R. Lodinova-Zadnikova, U. Sonnenborn

Institute for Care of Mother and Child, Prague, Czech Republic

Microbiological and Serological Research and Diagnostic Laboratories, Ardeypharm, Germany

Резюме

В рандомизированном двойном слепом исследовании изучалась эффективность применения препарата МУТАФЛОР, содержащего непатогенный штамм *Escherichia coli*-Nissle 1917 (1мл=10⁸КОЕ). В исследовании принимали участие 54 новорожденных. Дети были разделены на 2 группы: основная группа включала 27 здоровых новорожденных, которые получали препарат МУТАФЛОР в виде суспензии по 1 мл 1 раз в день в течение 5 дней; контрольная группа состояла из 27 новорожденных, которые получали суспензию плацебо (1 мл фосфат-буферного раствора). Всем детям проводился бактериологический анализ стула на 1, 2, 3, 5, 21 день исследования, и в возрасте 6 месяцев. Образцы стула исследовались на наличие непатогенного штамма *E.coli*-Nissle 1917, а также патогенной и условно-патогенной флоры.

Непатогенный штамм *E.coli*-Nissle 1917 был обнаружен в стуле новорожденных, получавших МУТАФЛОР, со 2 дня применения на протяжении всего исследования более, чем у 90% детей. По данным микробиологического анализа колонизация кишечника патогенными и условно-патогенными микроорганизмами была значительно ниже у новорожденных, получавших препарат МУТАФЛОР, по сравнению с контрольной группой детей, получавших плацебо.

Введение

В течение первых постнатальных дней новорожденные подвержены воздействию большого количества микроорганизмов, включая патогены, которые пытаются немедленно колонизировать слизистые. Тем не менее, факторы, определяющие, какие из этих микроорганизмов станут частью нормальной кишечной микрофлоры, по большей степени, неизвестны [1-3]. Одним из факторов микробного происхождения может

быть специфическая фимбриация, обеспечивающая связывание со слизистой.

Большинство штаммов *Escherichia coli* и другие энтеробактерии имеют маннозо-чувствительные фимбрии общего типа 1, обеспечивающие специфическую адгезию к эпителиальным клеткам толстого кишечника [4]. Другие типы фимбрий, такие как Р- фимбрии, могут также способствовать колонизации кишечника штаммами *E.coli* [5,6]. Помимо адгезии к слизистой поверхности, другие факторы, такие как метаболическая пластичность, конкурентоспособность и антагонистическая активность в отношении других микроорганизмов, могут также способствовать заселению кишечника бактериальными штаммами.

Первые штаммы микроорганизмов, колонизирующие кишечник новорожденного, в основном, идентичны штаммам матери [1,2], хотя приобретение госпитальных штаммов является обычным явлением [7]. Постепенно, на 4-7 день жизни, анаэробная *Bifidobacterium*-флора становится доминантной, т.к. при ранней колонизации кишечника аэробными микроорганизмами, такими как *E.coli*, для этого были созданы благоприятные микробиологические условия путем потребления кислорода и снижения окислительно-восстановительного потенциала. Данная микрофлора остаётся доминантной в течение периода кормления грудью; и изначально большое количество колиформ уменьшается [8,9]. Микрофлора кишечника новорожденных, не находящихся на грудном вскармливании, содержит большое количество бактериоидов, больше серотипов *E.coli*, различные виды энтеробактерий, низкое количество бифидобактерий [10,11].

Помимо алиментарных факторов, стабилизации микрофлоры кишечника новорожденных способствуют факторы иммунологической и неиммунологической защиты, обеспечиваемые грудным молоком. Необходимо подчеркнуть, что секре-

торный IgA, содержащийся в молозиве и грудном молоке, предотвращает контакт и адгезию патогенных штаммов к слизистой поверхности кишечника.

Спектр антибиотиков в молоке отображает спектр микробных антигенов, существующих в кишечнике [12].

Гастроинтестинальные и другие инфекции в младшем возрасте всегда рассматриваются как серьёзные проблемы со стороны здоровья. Таким образом, некоторыми авторами были предприняты попытки вытеснить неконтролируемую и приобретенную случайным образом интестинальную микрофлору и колонизировать кишечник «начальными культурами», известными непатогенными бактериальными штаммами *E.coli* [13-15] и *Lactobacillus* [16,17]. В предыдущих экспериментах мы замещали натуральную, но случайную колонизацию кишечника новорожденных непатогенным штаммом *E.coli* (штамм АО34-86, серотип O83:K24:H31) с благоприятными свойствами, введенным перорально [18].

В данном рандомизированном двойном слепом исследовании изучалась эффективность применения препарата МУТАФЛОР в форме суспензии, содержащего непатогенный штамм *E.coli* - Nissle 1917, в качестве профилактического средства у новорожденных и его влияние на колонизацию кишечника патогенными и условно-патогенными микроорганизмами.

Пациенты и методы

В исследовании принимали участие 54 новорожденных, которые были разделены на 2 группы: в основную группу входили 27 новорожденных (средний вес при рождении = $3,377 \pm 424$ г, средний гестационный возраст = $39,2 \pm 0,9$ недель), получавших суспензию МУТАФЛОР (1 мл-*E.coli* штамм Nissle 1917 10^8 КОЕ) по 1 мл 1 раз в день с первого дня жизни на протяжении 5 дней; контрольная группа, состоявшая из 27 новорожденных (средний вес при рождении = $3,483 \pm 475$ г, средний гестационный возраст = $39,6 \pm 1,1$ недель), получала суспензию плацебо (1 мл фосфат-буферного раствора, pH 7.4), которая вводилась таким же образом, начиная с 1-го дня жизни. Суспензии МУТАФЛОР и плацебо были произведены компанией Ардейфарм. Аликвоты, 1 мл каждая, были заполнены в условиях ламинарного потока воздуха в одноразовые матовые стерильные пластиковые ампулы. Ампулы были визу-

ально неотличимы и закупорены пробкой, каждая из пяти ампул (для 1 ребёнка) была отмечена в соответствии со списком рандомизации, помещена в стерильные пластиковые пакеты и запечатана. Запечатанные пакеты отмечались и отправлялись в госпиталь Праги.

Дети распределялись в две группы лечения случайным образом. Введение препаратов осуществлялось двойным слепым способом. Все новорожденные направлялись в Институт по Уходу за Матерью и Ребёнком, Прага; дети пребывали в госпитале на протяжении 5 дней после рождения. Матери и дети были приглашены в госпиталь для дальнейших обследований на 21 день и в 6 месяцев после рождения.

Исследование было одобрено этическим комитетом госпиталя. Новорожденные принимали участие в исследовании после информированного согласия их матерей.

Бактериологические посевы образцов стула осуществлялись в 1, 2, 3, 5, 21 день и в 6 месяцев после рождения.

Характеристики вводимого штамма *E.coli*

E.coli штамм Nissle 1917 (DSM 6601), серотип O6:K5:H1 представляет собой непатогенный штамм *E.coli*, являющийся частью нормальной микрофлоры кишечника человека и обладает типичными биохимическими свойствами. *E.coli* штамм Nissle 1917 *in vitro* проявляет сильное антагонистическое действие по отношению к различным патогенным и условно-патогенным микроорганизмам, вероятно в связи с продукцией микроцинов [9]. Антагонистическая активность в отношении патогенных энтеробактерий также была продемонстрирована *in vivo* с использованием гнотобиотических животных [19]. Штамм не продуцирует энтеротоксины или цитотоксины; не является энтероинвазивным, уропатогенным, серорезистентным [20,21]. *E.coli* штамм Nissle 1917 не образует P-, M-, S-фимбрий, но имеет фимбрию общего типа 1 [21]. Также данный штамм не является резистентным к обычно используемым антибиотикам и является плохим реципиентом чужеродных плазмид ДНК [20].

Бактериологическое исследование

Образцы стула ежедневно исследовались в микробиологической лаборатории госпиталя Праги посредством аэробной культивации на кровяном, дезоксихолатном, Эндо-агарах при температуре 37°C в течение 24 часов; были выделены изоляты для биохимических реакций. Образцы стула из

одной и той же серии параллельно культивировались на кровяном агаре Колумбия и на агаре МакКонки. Эти чашки инкубировались в течение 24 часов при температуре 37°C, герметически закатывались в пленку Parafilm® и отправлялись в микробиологическую и серологическую лаборатории Ардейфарм для дальнейших исследований. Определение вводимого непатогенного штамма E.coli-Nissle 1917 в образцах стула осуществлялось в госпитале Праги путем агглютинации 20-30 колоний из каждой чашки со специфической кроличьей антисывороткой (J.Bockemithl, S.Aleksic, Hygiene-Institut Hamburg, Germany), приготовленной для данного штамма в качестве антигена (titer 1:2,048).

Верификация E.coli штамма Nissle 1917 осуществлялась независимо в микробиологической и серологической исследовательских лабораториях в Хердеке следующим образом: из каждого образца стула случайным образом было выбрано 20 колоний с типичными признаками E.coli, выращенных на питательной среде при температуре 37°C в течение 24 часов (Standard I medium, Merck, Darmstadt, Germany). Культуры анализировались с помощью биохимических реакций (GNI gramnegative identifikation system, Biotest, Frankfurt, and api 20E system, bioMerieux, Nürtingen, Germany). Тесты на агглютинацию выполнялись с помощью анти-O6 и анти-H1 антисывороток (полученных из I, и F.Orskof, Statens Serum Institute, Copenhagen, Denmark). Для выявления K5 капсулы был использован K5-специфический бактериофаг (предоставленный H.Tschape, Robert Koch Institut, Bereich Wernigerode, Germany). Белковые обзорные пептидные хроматограммы цельноклеточных лизатов были получены посредством использования однонаправленного метода электрофореза в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия с подготовленным прерывистым полиакриламидным гелевым градиентом (4-20% полиакриламид, Mini-PROTEAN II, BioRad, Munich, Germany). Поскольку E.coli штамм Nissle 1917 не имеет специфических маркеров, данная комбинация биохимических, серологических и фаготипирующих анализов, также как и анализ цельноклеточных белков были использованы для точной идентификации данного штамма.

Анализ данных

Вес при рождении и гестационный возраст детей представлены как среднее значение \pm СО. Данные относительно выделения патогенных и

условно-патогенных микроорганизмов представлены в качестве абсолютных величин и в процентном соотношении. Статистический анализ данных выполнялся с использованием χ^2 теста для результатов относительно колонизации патогенами, тест Стьюдента – для результатов относительно количества одиночных патогенных изолятов. При сравнении основной и контрольной групп величина $p < 0,05$ рассматривалась в качестве порогового статистически значимого различия между группами.

Результаты

В ходе исследования 6 детей в контрольной группе оказались перекрёстно-контаминированными непатогенным штаммом E.coli, вероятно, по причине нахождения в одной комнате с новорожденными, получавшими непатогенный штамм E.coli-Nissle 1917. Результаты, полученные в данной группе новорожденных, представлены отдельно. Дети считались контаминированными при обнаружении E.coli штамма Nissle 1917, по крайней мере, в двух образцах стула, что было отмечено у 1 новорожденного, тогда как у других новорожденных E.coli штамма Nissle 1917 был обнаружен три или более раза в ходе исследования (табл.1).

У 5 из 6 детей перекрёстно-контаминированных E.coli штамма Nissle 1917, данный штамм был доминантным по отношению к другим штаммам E.coli, по крайней мере, в 2 (диапазон 2-4) случаях. Однако после 6 месяцев доминирование было утрачено и другие штаммы E.coli определялись чаще. Несмотря на это, 4 из 5 новорожденных в возрасте 6 месяцев по-прежнему были носителями E.coli штамма Nissle 1917. В ходе исследования ни у одного из новорожденных, получавшего E.coli штамма Nissle 1917, и ни у одного из перекрёстно-контаминированных новорожденных не было выявлено никаких побочных эффектов. Все дети, принимавшие участие в исследовании находились на грудном вскармливании в течение 1-ой недели жизни. На 21 день после рождения на грудном вскармливании находились 79% детей основной группы и 47% детей контрольной группы; 28% новорожденных основной группы и 36% новорожденных контрольной группы оставались на грудном вскармливании в возрасте 6 месяцев. Для окончательного исследования в возрасте 6 месяцев явились 36 детей (67%) всех групп (18 детей основной группы, 13 детей контрольной группы, 5 контаминированных новорожденных). В 1-й день после рождения 61%

(33/54) из образцов стула детей были стерильными (67% в основной группе, 33% в группе перекрёстно-контаминированных детей, 62% в контрольной группе). На 2-й день после рождения в 11% образцов стула детей основной группы, ни в одном из образцов стула перекрёстно-контаминированных новорожденных, и в 14% образцах стула детей контрольной группы было обнаружено отсутствие роста микроорганизмов. Начиная с 3-го дня исследования, образцы стула всех новорожденных содержали бактерии. Вводимый штамм *E.coli*-Nissle 1917 (DSM 6601) впервые был обнаружен на 2-й день после начала

исследования в стуле 14 (52%) из 27 детей, получавших МУТАФЛОР, на 3-й день еще у 9 новорожденных, и на 5-й день еще у 2 новорожденных. На 5-й день исследования у 2 новорожденных по-прежнему не был обнаружен вводимый штамм, однако на 21 день данный штамм был выделен. Процентное соотношение позитивных образцов стула постоянно увеличивалось с 52% на 2-й день до 93% на 5-й день (табл. 1). Данный штамм обнаруживался в кишечнике новорожденных на 21 день в 96% случаев и в 94% случаев в возрасте 6 месяцев (табл. 1).

Табл. 1. Типирование *E.coli* штамма Nissle 1917 (DSM 6601) в образцах стула колонизированных и перекрёстно-контаминированных новорожденных ^a

	Дни					Месяц
	1	2	3	5	21	6
Новорожденные						
Колонизированная группа	27	27	27	27	24	18
Контаминированная группа	6	6	6	6	5	5
<i>E.coli</i> штамма Nissle 1917 -позитивные новорожденные						
Колонизированная группа	0	14	23	25	23 ^b	17
Контаминированная группа	0	1	3	5	5	4
<i>E.coli</i> штамма Nissle 1917 -позитивные новорожденные, %						
Колонизированная группа	0	52	85	93	96	94
Контаминированная группа	0	17	50	83	100	80

^a - Колонизированная группа-новорожденные основной группы лечения, получавшие ежедневно *E.coli* штамма Nissle 1917 в виде суспензии в течение первых 5 дней жизни. Контаминированная группа - новорожденные контрольной группы, находившиеся в одной комнате с детьми основной группы, в образцах стула которых был обнаружен *E.coli* штамма Nissle 1917.

^b -1 новорожденный основной группы, в образце стула которого *E.coli* штамма Nissle 1917 был обнаружен только на 21 день после рождения. Образец в 6 месяцев не был получен.

Рис.1 Колонизация кишечника *E.coli* штамма Nissle 1917 у новорожденных основной группы, получавших МУТАФЛОР. Общее количество изолятов *E.coli* штамма Nissle 1917 (чёрные полосы) по сравнению с количеством изолятов других штаммов *E.coli* (штрихованные полосы), полученных из всех образцов стула в соответствующие промежутки времени.

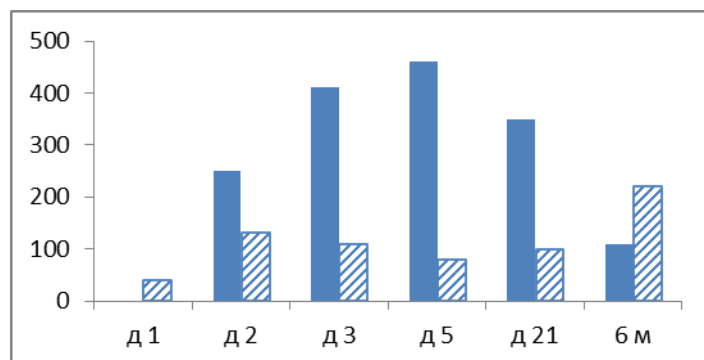


Табл. 2. Влияние профилактического введения *E.coli* штамма Nissle 1917 в виде суспензии на колонизацию кишечника патогенными и условно-патогенными микроорганизмами у новорожденных.

	Дни					Месяц
	1	2	3	5	21	6
Новорожденные						
Колонизированная группа	27	27	27	27	24	18
Контаминированная группа	6	6	6	6	5	5
Контрольная группа	21	21	21	21	17	13
Всего	54	54	54	54	46 (85%)	36 (67%)
Новорожденные с патогенными микроорганизмами						
Колонизированная группа	5	10	4	4	8	5
Контаминированная группа	3	5	4	1	3	3
Контрольная группа	4	9	12	13	8	11
Новорожденные с патогенными микроорганизмами, %						
Колонизированная группа	19	37	15	15	33	28
Контаминированная группа	50	83	67	17	60	60
Контрольная группа	19	43	57	62	47	85

Продолжительное увеличение количества вводимого *E.coli* штамма Nissle 1917 также отмечалось по кинетике колонизации (рис. 1). Параллельно с увеличением числа изолятов *E.coli* штамма Nissle 1917 (DSM 6601) с 2 по 5 день в ходе исследования число изолятов других штаммов *E.coli* снижалось. На 21 день, через 2 недели после окончания введения *E.coli* штамма Nissle 1917, данный штамм оставался доминантным. На момент окончания исследования в возрасте 6 месяцев, вводимый *E.coli* штамм Nissle 1917 по-прежнему присутствовал в образцах стула у 17 из 18 новорожденных. У 1 ребёнка данный штамм присутствовал со 2 по 21 день после рождения, но не был обнаружен в возрасте 6 месяцев. Уже в 1-й день после рождения патогенные и условно-патогенные бактерии были обнаружены во всех группах новорожденных и были равномерно распределены между основной и контрольной группами. Патогенные микроорганизмы были обнаружены у 19% новорожденных в обеих группах (табл. 2). Из группы перекрестно-контаминированных новорожденных 50% детей были носителями патогенных микроорганизмов с 1 дня после рождения.

В период колонизации кишечника новорожденных *E.coli* штамма Nissle 1917 отмечались различия между двумя группами лечения, которые становились значительнее на 3-й день исследова-

ния (обнаружение патогенных микроорганизмов в образцах стула детей основной группы-15% случаев, контрольной группы-57%, $p<0.003$). Данные различия между группами увеличивались до последнего дня госпитализации (5 день исследования-15% в основной группе по сравнению с 62% в контрольной группе, $p<0.001$). На 21-й день различия между группами в отношении колонизации патогенными микроорганизмами достигло 33% в основной группе (verum) по сравнению с 47% в контрольной группе, однако, эта разница не была статистически значимой. В возрасте 6 месяцев наличие патогенных микроорганизмов в образцах стула новорожденных было снова значительно выше в контрольной группе (85%) по сравнению с основной группой (28%), ($p<0.002$). В то же время процентное соотношение новорожденных, являвшихся носителями патогенных или условно-патогенных микроорганизмов, увеличилось во всех группах по сравнению с данными показателями с 1 по 5 день исследования (табл. 2). Это было связано, в основном, с перемещением в бактериальной колонизации, за счет снижения количества грамм-положительных бактерий и увеличения грамм-негативных (табл. 3).

В отличие от контрольной группы, в группе перекрестно-контаминированных новорожденных отмечалось снижение концентрации патогенных микроорганизмов в образцах стула во время гос-

питализации (со 2 по 5 день исследования), однако частота выделения патогенов была выше, чем в основной группе в ходе исследования (табл. 2). Количество одиночных и условно-патогенных изолятов, полученных из образцов стула новорожденных, значительно отличалось в основной (28 детей) и контрольной (58 детей) группах в течение госпитализации, ($p < 0.001$) (табл. 3). В группе перекрестно-контаминированных новорожденных на 1-5 день исследования были обнаружены 16 патогенных или условно-патогенных изолятов (табл. 3). На 21 день исследования различия между основной и контрольной группами уменьшились (9 по сравнению с 12 одиночными патогенными микроорганизмами; статистически

незначимо), но увеличились снова в возрасте 6 месяцев (5 по сравнению с 13, $p < 0.004$). Микроорганизмы, выделенные из образцов стула детей в ходе исследования, были отнесены к патогенным или условно-патогенным микроорганизмам: *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Acinetobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Streptococcus agalactiae* и другие гемолитические стрептококки. В ходе исследования в основной группе и группе перекрестно-контаминированных детей количество микроорганизмов и их видов было ниже по сравнению с контрольной группой (табл. 3).

Табл. 3. Выделение патогенной и условно-патогенной флоры в образцах стула новорожденных.

Патогенные, условно-патогенные микроорганизмы		Группы новорожденных								
		колонизированные			контаминированные			пlacebo		
		д 1-5 (n=27)	д 21 (n=34)	м 6 (n=18)	д 1-5 (n=6)	д 21 (n=5)	м 6 (n=5)	д 1-5 (n=21)	д 21 (n=17)	м 6 (n=13)
Грамм- позитивные изоляты	<i>S.epidermidis</i>	19	4	0	11	2	2	30	4	2
	<i>S.aureus</i>	7	3	0	3	1	0	16	3	0
	<i>S.haemolyticus</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	<i>S.agalactiae</i>	1	0	0	0	0	0	4	0	0
	Др. гемолитич. стрепт.	0	0	0	0	0	0	2	0	0
Грамм- негативные изоляты	<i>Klebsiella</i>	1	0	3	0	1	0	0	1	7
	<i>Enterobacter</i>	0	2	1	0	0	0	0	1	0
	<i>Proteus</i>	0	0	1	0	0	0	1	2	4
	<i>Citrobacter</i>	0	0	0	0	0	2	0	1	0
	<i>Acinetobacter</i>	0	0	0	2	0	0	4	0	0
Всего	10	28	9	5	16	4	4	58	12	13
Бактериальная нагрузка/ новорожденные		1.04	0.38	0.28	2.67	0.80	0.80	2.67	0.71	1.00
Патогены /группа		42			24			83		
д 1-5-показатели, полученные на 1-5 день пребывания в госпитале и введения <i>E.coli</i> штамма Nissle 1917; д 21-показатели на 21 день исследования, новорожденные были выписаны на 5-й день после рождения, когда приём препарата был прекращён; м 6- показатели, полученные в возрасте 6 месяцев.										

Обсуждение

Превентивная бактериальная колонизация кишечника новорожденных посредством орального введения непатогенного штамма *E.coli*, обладающего антагонистическими свойствами, была предложена проф. Nissle [22] в 1916 в качестве профилактики кишечных инфекций. Позже многочисленные авторы последовали данному подходу; они проводили эксперименты на животных [19, 23, 24] и людях [13,14, 25] для обеспечения

благоприятной микрофлоры кишечника [14], ограничения заселения антибиотико-резистентных микроорганизмов [13] и предотвращения кишечных инфекций [14, 26].

В предыдущей работе мы показали, что длительное присутствие в кишечнике непатогенного штамма *E.coli*, введенного per os, стимулировало местную и системную выработку иммуноглобулинов, которые были обнаружены в стуле, слюне, сыворотке крови доношенных и недоношенных

новорожденных [27, 28], и, вероятно, защищало новорожденных, получавших молочную смесь, посредством ранней стимуляции выработки секреторного IgA [27]. У новорожденных группы высокого риска и недоношенных новорожденных превентивная колонизация кишечника непатогенным штаммом *E.coli* снизила наличие патогенных микроорганизмов, количество инфекций и долю смертности [29].

В данном двойном слепом исследовании применение МУТАФЛОРА (*E.coli* штамм Nissle 1917), введенного перорально, обеспечило эффективную колонизацию кишечника здоровых новорожденных, находящихся на грудном вскармливании. *E.coli* штамм Nissle 1917 определялась у 52% новорожденных на 2-й день, у 93% на 5-й день введения; и по-прежнему присутствовала после окончания лечения в возрасте 6 месяцев у 94% младенцев. Несмотря на то, что реинфекция непатогенного штамма *E.coli* в течение первых дней исследования не являлась доказательством его способности к колонизации, поскольку данный штамм вводился ежедневно на протяжении 5 дней, его присутствие в образцах стула, полученных на 21-й день исследования и в возрасте 6 месяцев, явно демонстрирует тот факт, что *E.coli* штамм Nissle 1917 является хорошим колонизатором. Данный результат подтверждают результаты ранних наблюдений [14], в которых *E.coli* штамм Nissle 1917 была обнаружена в кишечнике детей на протяжении 12 месяцев после колонизации, что доказывает тот факт, что непатогенный штамм *E.coli* способен заселять кишечник детей в качестве резидентного штамма. В настоящем исследовании, также как и в предыдущих экспериментах [14,28], побочные эффекты при применении препарата МУТАФЛОР отсутствовали во время и после колонизации.

Тот факт, что вводимый штамм *E.coli* не был обнаружен у 100% детей, получавших лечение, частично объясняется различиями в начале колонизации отдельных новорожденных, что описано в разделе «Результаты». 100% колонизация не была достигнута на 21 день исследования, т.к. анализ образцов стула 1 ребенка дал отрицательный результат в данный период времени, хотя положительные результаты образцов стула данного ребенка были получены со 2 по 5-й день исследо-

вания, а также в возрасте 6 месяцев. В возрасте 6 месяцев образец стула другого младенца, ранее колонизированного, со 2 по 21-й день был отрицательным на наличие *E.coli* штамм Nissle 1917. Вопрос, какие микробные виды являются патогенными или условно-патогенными для новорожденного, доставленного в госпиталь, пока ещё не решен. Госпитальные инфекции у взрослых пациентов, вызванные *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *S.aureus*, и др., приводящие к бактериемии кишечного происхождения, описываются довольно часто [30]. Однако неонатальный период отличается от других периодов жизни во многих аспектах: незрелая иммунная система не способна эффективно бороться с локализованными инфекциями, которые часто вызывают сепсис или менингит [31,32]. Более того, любой условно-патогенный микроорганизм может стать патогенным у новорожденного, если концентрация данного микроорганизма значительно увеличена.

Виды микроорганизмов, перечисленные в табл.3, которые мы повторно культивировали из образцов стула младенцев, рассматривались нами как патогенные или условно-патогенные для новорожденных. Наши заключения чётко демонстрируют, что результаты относительно количества и вида обнаруженных патогенных микроорганизмов существенно отличаются в основной группе детей, колонизированных непатогенным штаммом *E.coli*, по сравнению с контрольной группой детей.

Благоприятное воздействие *E.coli* штамм Nissle 1917 может быть хорошим дополнением к его известным антагонистическим и иммуностимулирующим эффектам [14, 19, 28], являясь результатом количественного доминирования штамма *E.coli* в кишечнике, таким образом, занимая или маскируя рецепторы слизистой оболочки кишечника и предотвращая адгезию патогенных микроорганизмов. На основании результатов настоящего исследования можно сделать выводы, что оральное введение препарата МУТАФЛОР (непатогенный штамм *E.coli*-Nissle 1917) у новорожденных эффективно предотвращает колонизацию кишечника патогенными и условно-патогенными микроорганизмами, и, таким образом, обеспечивает защиту детей, восприимчивых к инфекциям.

Список литературы:

1. Bettelheim K.A, Teoh-Chan CH, Chandler ME, O'Farrell SM, Rahamin I, Shaw EJ, Shooter RA: Further studies on *Escherichia coli* in babies after normal delivery. *J Hyg* 1974;73:277-285.
2. Gareau FE, Mackel DG, Boring JR, Paine FJ, Hammett FL: The acquisition of fecal flora by infants from their mothers during birth. *J Pediatr* 1959;54:313-318.
3. Gothefors L, Catlsson B, Ahlstedt S, Hanson LA, Winberg J: Influence of maternal gut flora and colostrum and cord blood antibodies on presence of *Escherichia coli* in faeces of the newborn infant. *Acta Paediatr Scand* 1976;65:225-232.
4. Wold AE, Thorssén M, Hull S, Svanborg-Edén C: Attachment of *Escherichia coli* via mannose of Gal α 4Gal β containing receptors to human colonic epithelial cells. *Infect Immun* 1988;56:2531-2537.
5. Tullus K, Kuhn I, Orskov I, Orskof F, Molly R.: The importance of P and type I fimbriae for the persistence of *Escherichia coli* in the human gut. *Epidemiol Infect* 1992; 108:415
6. Wald AE, Caugant OA, Lidin-Janson G, de Man P, Svanborg C: Resident colonic *Escherichia coli* strains frequently display uropathogenic characteristics. *J Infect Dis* 1992; 165:46-53.
7. Sonnenborn U, Stobernack HP, Proppert Y: Die Entwicklung der aeroben Darmflora bei Neugeborenen. *Fortsehr Med* 1990;108:420-424.
8. Balmer SE, Wharton BA: Diet and faecal flora in the newborn. Breast milk and infant formula. *Arch Dis Child* 1989; 64:1672-1 677.
9. Sonnenborn U, Greinwald R: Beziehungen zwischen Wirtsorganismus und Darmflora, Stuttgart. Schattauer, 1991. pp 5 1
10. Lunderquist B, Nord CE, Wineberg J; The composition of the fecal microflora, in breast-fed infants from birth to eight weeks. *Acta Paediatr Scand* 1985;74:45-51.
11. Ducluzeau R: Development, equilibrium and role of microbial flora in the newborn. *Ann Pediatr (Paris)* 1993; 40:13-22,
12. Hanson LA, Adlerberth I, Carlsson B, Dahlgren U, Hahn-Zoric M, Lalli F, Khan SR, Larsson F, Midtvedt T, Robertson D, Svanborg-Eden C, Wold A: Colonization with Enterobacteriaceae and immune response, especially in the neonate: in Grubb R, Midtvedt T, Norin E (eds): The regulatory and protective role of the normal microflora. London. Macmillan Press New York Stockton Press, 1989. PP 59-69.
13. Duval-Iflah Y, Ouriet MF, Moreau C, Daniel N, Gabilan JC, Raibaud P; Implantation precoce d'une souche de *Escherichia coli* dans l'intestin de nouveau-nés humains; Effet de arriere vis-a-vis de souches de *E.coli* antibiotiques. *Ann Microbiol* 1982;133A:393-408.
14. Schröder H: Entwicklung der aeroben Darmflora bei Neugeborenen nach Kolonisierung mit dem *E.coli* Stamm Nissle 1917. *Kinderarzt* 1992;23:1619-1625.
15. Lodinova R, Jouja V, Lane A: Influence of the intestinal flora on the development of immune reactions in infants. *J. Bacteriol* 1967;93:797-800.
16. Millar MR, Bacon C, Smith SL, Walker V, Hall MA: Enteral feeding of premature infants with *Lactobacillus CG*. *Arch Dis Child* 1993;69: 453-491.
17. Reuman PD, Duckworth DH, Smith KL, Kagan R, Bucciarelli RL, Ayoub EM: Lack of effect of *Lactobacillus* on gastrointestinal bacterial colonization in premature infants. *Pediatr Infect Dis J* 1986;5:663-668.
18. Lodinova R, Jouja V, Wagner V: Serum immunoglobulins and coproantibody formation in infants after artificial intestinal colonization with *Escherichia coli* O83 and oral lysozyme administration, *Pediatr Res* 1973;7:659-669,
19. Schulze J, Lorenz A, Mandel L: Colonization of *Escherichia coli* in different animal models. *Microb. Ecol Health Dis* 1992;5:iv-v.
20. Schulze J, Sonnenborn U; Oral admin of a certain strain of live *Escherichia coli* for intestinal disorders *Infection* 1995;23:184-186.
21. Blum G, Mairre R, Hacker J: Properties of *Escherichia coli* strains of serotype O6. *Infection* 1995;23:234-236.
22. Nissle A: Über die Grundriegen einer neuen ursachliehen Bekämpfung der pathologischen Darmflora. *Dtsch Med Wochenschr* 1916;
23. Slerzl J, Mandel L, Miler I, Riha I: Development of immune reactions in the absence and presence of an antigenic stimulus; in Sterzl J (ed); *Molecular and Cellular Basis of Antibody Formation*. Prague Academia, 1965 pp 351-370.
24. Tlaskalova H, Kamarytova V, Mandel L, Prokesova L, Kruml J, Lane A, Miler I: The immune response of germ-free piglets after peroral monocontamination with living *Escherichia coli* O 86. *Folia Biol* 1970;16:177-182.
25. Poisson DM, Borderon JC, Amorim-Senn JC, Laugier J: Evolution of the barrier effects against an exogenous drug-sensitive *Escherichia coli* strain after single or repeated oral administration to newborns and infants aged up to three months admitted to an intensive care unit. *Biol Neonate* 1986;49:1-7.
26. Rastegar Lari A, Gold F, Borderon JC, Laugier J, Lafom JP: Implantation and in vivo antagonistic effect of antibiotic-susceptible *Escherichia coli* strains administered to premature newborns. *Biol. Neonate* 1990; 58:73-78.