

УДК 576.8:616–053.31
М79

А в т о р ы:

Бондаренко В. М., д-р мед. наук, профессор ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава РФ;

Бондаренко К. Р., канд. мед. наук, ассистент кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета РНИМУ им. Н. И. Пирогова;

Рыбальченко О. В., д-р биол. наук, профессор кафедры физиологии медицинского факультета СПбГУ;

Набока Ю. Л., д-р мед. наук, профессор кафедры микробиологии и вирусологии № 1 РостГМУ (ГБОУ ВПО РостГМУ Минздрава России (Ростов-на-Дону));

Рымашевский А. Н., д-р мед. наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии № 1 РостГМУ;

Свирава Э. Г., канд. мед. наук, врач отделения гинекологии клиники РостГМУ

Р е ц е н з е н т ы:

В. Г. Лиходед — д-р мед. наук, профессор, академик РАМТ, ведущий научный сотрудник ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи»;

Г. Е. Афиногенов — д-р мед. наук, профессор факультета стоматологии и медицинских технологий СПбГУ

Микробиота матери в формировании микробиоценоза
М79 **новорожденного** : учебно-методическое пособие / В. М. Бондаренко, К. Р. Бондаренко, О. В. Рыбальченко [и др.]. — Санкт-Петербург : СпецЛит, 2018. — 150 с.

ISBN 978-5-299-00889-0

В книге приводятся сведения о микробиоте репродуктивного тракта женщин в норме и при гестации с учетом влияния на нее нормальной микрофлоры кишечника. Впервые представлена динамика заселения нормальной микрофлорой организма новорожденных при естественном и абдоминальном способах родоразрешения. Показано, что в формировании микробиоты новорожденного доминирующую роль играет микрофлора кишечника матери, при этом колонизация возможна как при естественном контакте, так и при транслокации бактерий из различных биотопов матери в системный кровоток плода. Материалы по микробному пейзажу вагинального биотопа женщин и представленная в книге клинико-лабораторная характеристика бактериальных вагинозов, так же как и оценка микробного пейзажа новорожденных, имеют важное значение для прогнозирования бактериального инфекционного процесса.

Учебно-методическое пособие написано в соответствии с новой программой по микробиологии для студентов медицинских вузов и предназначено для самостоятельной подготовки специалистов к лабораторной и клинической практике. Материал, представленный в пособии, может быть полезен аспирантам и врачам, специализирующимся в области акушерства и гинекологии.

Печатается по постановлению редакционно-издательского Совета Санкт-Петербургского государственного университета.

УДК 576.8:616–053.31

ISBN 978-5-299-00889-0

© ООО «Издательство „СпецЛит“», 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

Условные сокращения	5
Слово к читателю	6
Введение	9
Глава 1. ОСОБЕННОСТИ ДЕМОГРАФИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ В РОССИИ	11
Глава 2. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБИОТЫ ЧЕЛОВЕКА ...	13
Глава 3. МИКРОБИОТА ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА ЧЕЛОВЕКА	16
Глава 4. ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИАЛЬНЫХ БИОПЛЕНОК СИМБИОНТНОЙ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА	20
4.1. Общие сведения о бактериальных биопленках	20
4.2. Ультраструктура бактериальных биопленок in vivo и in vitro	21
4.3. Морфофизиологические изменения в клетках бактерий- мишеней при антагонистическом воздействии лактобактерий	26
Глава 5. ВЛАГАЛИЩНАЯ МИКРОБИОТА КАК ОДНА ИЗ СОСТАВЛЯЮЩИХ РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВЬЯ ЖЕНЩИНЫ	30
Глава 6. ОСОБЕННОСТИ ВЛАГАЛИЩНОЙ МИКРОЭКОСИСТЕМЫ ПРИ БАКТЕРИАЛЬНОМ ВАГИНОЗЕ	41
Глава 7. ВЛИЯНИЕ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ НА РЕПРОДУКТИВНОЕ ЗДОРОВЬЕ ЖЕНЩИНЫ	48
Глава 8. ОСОБЕННОСТИ СТАНОВЛЕНИЯ МИКРОБИОТЫ ТОЛСТОЙ КИШКИ НОВОРОЖДЕННЫХ	56
Глава 9. ФЕНОМЕН ТРАНСЛОКАЦИИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ АУТОФЛОРЫ И ЕГО МЕХАНИЗМЫ	62
9.1. Общие понятия и термины	62
9.2. Роль симбионтной аутофлоры	63
9.3. Барьерная функция кишечника	64
9.4. Признаки и механизмы развития дисбиозов	67
9.5. Бактериальная транслокация	68
9.6. Нарушение барьерной функции кишечника	69
Глава 10. КОРРЕКЦИЯ МИКРОЭКОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРОБИОТИЧЕСКИМИ ПРЕПАРАТАМИ	74
10.1. Негативные проявления при нарушении микроэкологии	74
10.2. Возможность коррекции дисбиозов с помощью пробиотических препаратов	76
10.3. Пробиотики в акушерстве, гинекологии и урологии	81

Глава 11. КОМПЛЕКСНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РАНДОМИЗИРОВАННЫХ ГРУПП ЖЕНЩИН И НОВОРОЖДЕННЫХ	86
11.1. Дизайн исследования	86
11.2. Обследуемый контингент беременных женщин и показатели общего анализа крови 1-й и 2-й групп по триместрам	94
11.3. Биохимический анализ крови пациенток 1-й и 2-й групп по триместрам и в раннем послеродовом периоде	96
11.4. Показатели общего анализа мочи обследуемых 1-й и 2-й групп по триместрам и в послеродовом периоде	98
11.5. Инструментальные неинвазивные методы диагностики во время беременности	100
11.6. Сравнительная оценка объема кровопотери при различных видах родоразрешения	102
11.7. Оценка температурных показателей в послеродовом периоде	103
11.8. Характеристика плаценты	103
11.9. Оценка состояния новорожденных 3-й и 4-й групп в раннем неонатальном периоде	105
Глава 12. ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБИОЦЕНОЗОВ ВЛАГАЛИЩА, ТОЛСТОЙ КИШКИ БЕРЕМЕННЫХ, МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА И НОСОГЛОТОЧНОЙ СЛИЗИ НОВОРОЖДЕННЫХ	105
12.1. Общие понятия	105
12.2. Характеристика микробиоты влагалища беременных женщин	106
12.3. Характеристика микробиоты толстой кишки беременных женщин	111
12.4. Характеристика микробиоты толстой кишки новорожденных 3-й и 4-й групп в динамике	115
12.5. Характеристика микробиоты носоглоточной слизи новорожденных 3-й и 4-й групп	122
12.6. Сравнительная характеристика пар «беременные – новорожденные»	125
12.7. Выводы	132
Заключение	136
Литература	139

УСЛОВНЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

- БВ – бактериальный вагиноз
ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
ДИ – доверительный интервал
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
ИЛ – интерлейкин
ИМТ – индекс массы тела
ИППП – инфекции, передающиеся половым путем
ИФ – интерферон
КЖК – короткоцепочечные жирные кислоты
КС – кесарево сечение
КОС – коагулазоотрицательные стафилококки
ЛПС – липополисахариды
НАБ – неклостридиальные анаэробные бактерии
ОШ – отношение шансов
ПЦР – полимеразная цепная реакция
СЭМ – сканирующая электронная микроскопия
ТЭМ – трансмиссионная электронная микроскопия
УПМ – условно-патогенные микроорганизмы
ФНО – фактор некроза опухолей
ЭПС – экзополисахариды
- BLIS – bacteriocin-like inhibitory substances (бактериоциноподобные ингибирующие субстанции)
BPI – bactericidal/permeability-increasing protein (бактерицидный белок гранул нейтрофилов, повышающий проницаемость мембран)
BVAB – Bacterial Vaginosis Associated Bacteria (бактериальный вагиноз-ассоциированная бактерия)
LBP – lipopolysaccharide-binding protein (липополисахарид-связывающий белок)
TLR – Toll-like receptor (Толл-подобный рецептор)

СЛОВО К ЧИТАТЕЛЮ

В книге представлена информация, касающаяся глобальных вопросов демографии, тесно связанных с родоразрешением и последующим формированием у новорожденного микробиоты открытых полостей его организма, что напрямую зависит от состояния вагинальной микробиоты. Внимание врачей различных специальностей, в том числе акушеров-гинекологов, обращено на проблему инфекций, этиологическими агентами которых выступают представители транзиторной потенциально-патогенной нормальной микробиоты. В условиях физиологической нормы женский организм контактирует с множеством видов бактерий, находясь с ними в симбиотических взаимоотношениях. В случае воздействия негативных экзогенных или эндогенных факторов хрупкий баланс в системе макроорганизм/микробиота нарушается, что приводит к развитию целого ряда заболеваний и патологических синдромов, в частности — к бактериальному вагинозу. Дисбиотические состояния, связанные с микрoэкологическими изменениями открытых полостей организма человека, в настоящее время стали одной из ведущих проблем здравоохранения, а пробиотические препараты, корригирующие состав нормальной микробиоты, обсуждаются на уровне Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ). Однако следует отметить, что формирование нормальной микробиоты у новорожденных и детей раннего возраста наблюдаемое явление сукцессии (смены бактериальных сообществ) при созревании макроорганизма и условия, обеспечивающие стабильность нормобиоценоза, до настоящего времени изучены недостаточно. Недостаток информации связан с тем, что применяемые в настоящее время селективные питательные среды позволяют выявлять не более 20–30 видов аэробных (как правило) микроорганизмов, и только исследования, проведенные молекулярно-генетическими методами, способны обнаружить как аэробные, так и анаэробные виды микробиоты. Качественная и количественная ПЦР (полимеразная цепная реакция — метод ДНК¹-диагностики), метод матрично-активированной лазерной десорбционно/ионизационной времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS²), позволяющие в полном объеме оценить состояние микробиоты определенного биотопа организма хозяина, пока доступны только крупным клиническим центрам.

¹ ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота.

² Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation Time of Flight Mass-Spectrometry.

В исследованиях микрoэкологии человека в настоящее время происходит очередной бум, связанный с применением новых научных технологий, получивших обозначение «ОМИК-технологии». Это геномика, протеомика, метаболомика, транскриптомика, информатика как инструментарий для комплексного изучения геномов человека и микробиома (генофонда) нормальной микрофлоры. Использование ОМИК-технологий позволило констатировать, что важными являются первые 1000 дней с момента появления новорожденного. Именно характер взаимоотношений между хозяином и его микробиотой в конкретных условиях среды обитания определяет рост, развитие, здоровье и среднюю продолжительность жизни человека. Не только мутации, но биологические и абиотические факторы способны стабильно или обратимо модифицировать ДНК организма хозяина, что может predispose к риску возникновения и развития патологических состояний. В то же время заселение симбионтной микрофлорой новорожденного, обмен микробиотой матери с ребенком и окружающей средой, роль бактериального вагиноза у беременных изучены недостаточно. В связи с вышеуказанным, важными являются исследования микрoэкологии родовых путей во время беременности с целью выявления их колонизации условно-патогенными микроорганизмами, которые могут стать причиной инфицирования плода с последующим развитием осложнений инфекционного генеза как у матери, так и у новорожденного. Известно, что нарушения микрoэкологии родовых путей, в частности вагинального биотопа у женщин фертильного возраста, коррелируют с повышенной частотой воспалительных заболеваний органов малого таза, невынашиванием беременности, неудачными попытками экстракорпорального оплодотворения, увеличением риска инфицирования патогенами, передаваемыми половым путем, инфертильностью. Все это сопровождается снижением качества жизни женщины.

Применение современной технологии позволило значительно расширить спектр микроорганизмов, ассоциированных с бактериальным вагинозом, который в настоящее время включает *Atopobium vaginae*, *Gardnerella vaginalis*, BVAB1 (Bacterial Vaginosis Associated Bacteria), BVAB2, BVAB3, *Megasphaera* type 1, *Megasphaera* type 2, *Mycoplasma hominis*, *Mobiluncus* spp., *Eggerthella* spp., *Leptotrichia* spp., *Sneathia* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Prevotella* spp. Однако технические ограничения в значительной степени определяют диагностические ошибки при установлении этиологических инфекционных агентов женской репродуктивной системы и препятствуют созданию эффективной лечебной стратегии, направленной на поддержание нормальной микробиоты.

В данном учебно-методическом пособии представлены авторские данные комплексного сравнительного исследования пейзажа симбионтной микробиоты матери и новорожденного, а также образцов

мекония и носоглоточной слизи у новорожденных, рожденных естественным путем и с помощью кесарева сечения (КС). Впервые показана общность в становлении микробиоты новорожденных, родившихся от здоровых женщин при естественном и абдоминальном способах родоразрешения. Выявлены закономерности начала формирования колонизации организма новорожденного аэробными и анаэробными представителями микробиоты матери и взаимосвязей в системе кишечная микробиота — организм ребенка. Полученные результаты убедительно показывают, что качественные и количественные показатели, характеризующие состояние кишечной микробиоты у новорожденных, на протяжении первых дней после рождения претерпевают значительные изменения. Эти изменения выражаются в постоянно протекающих процессах селективного вытеснения из кишечника разнообразных условно-патогенных микроорганизмов, которые наряду с индигенными представителями нормальной микрофлоры колонизируют еще недостаточно защищенные системой врожденного иммунитета носоглотку и желудочно-кишечный тракт новорожденного. Анализ и обобщение довольно обширных данных литературы последних лет позволил авторам предложить новую, так называемую транслокационную концепцию заселения организма плода и новорожденного микробиотой матери, согласно которой нарушение защитного барьера слизистой оболочки кишечника и нижних отделов родовых путей ведет к гематогенному проникновению аутофлоры в организм плода и новорожденного. Определенную роль в этом процессе играет взаимодействие рецепторов врожденного иммунитета с их экзогенными и эндогенными лигандами симбионтных бактерий аутофлоры. В книге рассмотрена возможность коррекции дисбиозов вагинального биотопа и кишечника с помощью пробиотических препаратов. Результаты клинических наблюдений подтверждают положительные эффекты применения пробиотических штаммов лактобактерий, представителей доминантной вагинальной микробиоты для терапии вагинозов.

Пособие может представить значительный интерес не только для студентов и аспирантов медицинских учебных заведений, но и для широкого круга специалистов — неонатологов, акушеров-гинекологов, педиатров, микробиологов, иммунологов, патологов, клиницистов.

*Н. Н. Костюкова,
заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук,
профессор*

ВВЕДЕНИЕ

Состояние здоровья женщин репродуктивного возраста напрямую связано с течением беременности и родов, а также здоровьем новорожденных. Возрастающий в последние годы удельный вес экстрагенитальной и генитальной патологии, нежелательных беременностей и, как следствие, аборт, а также заболеваний, передаваемых половым путем, лишь подчеркивает масштабы данной проблемы. Поэтому изучение различных аспектов физиологически протекающей беременности в современных условиях невозможно ограничивать стандартным клинико-лабораторным обследованием беременных. В настоящее время стала известна важная роль микробиоты влагалища и кишечника, микроорганизмы которой постоянно взаимодействуют с Toll-подобными рецепторами (TLR)¹, что обеспечивает осуществление важных физиологических функций в макроорганизме: защиту от инфекции и поддержание тканевого гомеостаза. Для стабильной колонизационной резистентности в осуществлении обеих функций важное значение имеют лиганды и биологически активные вещества, в основном бифидобактерий и лактобактерий, населяющих организм здоровой женщины. Исследование микробиоты влагалища со сложной эволюционно сложившейся экосистемой особенно актуально для беременных, так как аксиомой является тот факт, что в первую очередь именно данный биотоп является источником симбионтной микробиоты для новорожденного.

Однако наряду с классической теорией заселения микроорганизмами основных экологических ниш новорожденного появилась и другая точка зрения, свидетельствующая о транслокационном механизме заселения плода, в частности желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), во второй половине беременности. Данное обстоятельство требует более детального изучения формирования микробиоты новорожденного при естественном родоразрешении, что находится в контексте фундаментальных исследований микробиома организма человека.

Увеличивающаяся в последние годы частота применения КС подчеркивает актуальность изучаемой проблемы становления симбионтной микробиоты новорожденного. Литературные данные по микробиоте новорожденных с различными способами родоразрешения свидетельствуют о вариабельности данного процесса, чему способствует

¹ Толл-подобные рецепторы (*англ.* Toll-like receptor, TLR; *от нем.* toll – замечательный) – класс клеточных рецепторов с одним трансмембранным фрагментом, которые распознают консервативные структуры микроорганизмов и активируют клеточный иммунный ответ.

ряд факторов: анамнез беременных, их соматический и гинекологический статус, течение беременности, наличие осложнений, показания к КС, осложнения в родах, состояние новорожденных при рождении, сроки прикладывания к груди, вид вскармливания и другие. Более того, в современной литературе практически не освещен вопрос становления микробиоты условно здоровых новорожденных, рожденных от условно здоровых матерей с различными способами родоразрешения, когда показанием к КС являлась лишь миопия высокой степени. Динамическое исследование становления микробиоты новорожденного, в частности ЖКТ, чаще основано не на сравнительном анализе «меконий — фекалии», а на изучении непосредственно фекальной микробиоты в раннем неонатальном периоде. Считается парадигмой положение о том, что источником колонизации микроорганизмами новорожденного в первые часы жизни является мать, родовспомогательный персонал и объекты окружающей среды. К осложнению беременности могут вести нарушенная микроэкология нижних отделов генитального тракта беременных женщин, условия окружающей среды, а также социально-экономические и демографические неблагоприятные факторы риска. Широко дискутируется проблема заселения нормофлорой организма новорожденного путем транслокации микроорганизмов из просвета кишечника и генитального тракта матери в лимфу и системный кровоток с заносом в различные биотопы ребенка.

Глава 1

ОСОБЕННОСТИ ДЕМОГРАФИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ В РОССИИ

Сложная демографическая ситуация является одной из ключевых проблем в России в настоящее время. С начала 1990-х гг. в стране наблюдается «демографическая деградация», которую не в состоянии перекрыть возросший иммиграционный поток из стран ближнего зарубежья (WHO¹, 2010). Специфика российской демографической ситуации заключается в том, что наряду с ростом уровня смертности населения наблюдается низкий уровень рождаемости, который ниже уровня простого воспроизводства. Совершенно очевидным является тот факт, что стратегия демографической безопасности страны обеспечивается, в первую очередь, должным уровнем рождаемости (Архангельский В. Н., 2011).

В качестве основных причин демографического неблагополучия специалисты выделяют следующие факторы: значимый уровень младенческой и детской смертности, низкий коэффициент суммарной рождаемости, невысокую по сравнению со странами Евросоюза и США продолжительность жизни, увеличивающийся эмиграционный отток. Однако некоторые из вышеперечисленных показателей имеют положительную динамику. Например, уровень общей младенческой и детской смертности в расчете на 1000 случаев снизился с 26,5 в 1990 г. до 11,6 — в 2010 г. Вместе с тем этот показатель все еще остается достаточно высоким. Для сравнения в 2010 г. этот же показатель в США составил 7,5, в Германии — 4,1. В настоящее время отмечают резкое снижение уровня младенческой смертности в России на 1000 родов (16,2 случая в 2002 г. и 9,1 — в 2010 г.). Уровень материнской смертности практически не изменился и составил 39 случаев с летальным исходом на 100 тыс. родов. Также практически не изменилось число женщин, рожавших в стационарных условиях (99,6 %) (WHO, 2010; Радзинский В. Е., 2012). Коэффициент суммарной рождаемости (среднее количество детей у одной женщины фертильного возраста) в 2010 г. в России составил 1,54. В мире он составил 2,47, а максимальный был зарегистрирован в Афганистане — 6,42 (Трепель В. Г. [и др.], 2011). Средняя продолжительность жизни в России в 2009 г. составила 68,6 лет, в мире — 69,4, в США — 78,1. При этом средняя ожидаемая

¹ WHO — World Health Organization (Всемирная организация здравоохранения — ВОЗ).

продолжительность жизни женщины в России составляет 75,4 года, мужчин — 62,8 (Бокерия Л. А. [и др.], 2012). В последние годы в мире и в России вырос удельный вес КС, что обусловлено не только генитальной и экстрагенитальной патологией беременной, но и боязнью женщины самого процесса родов (Кравченко В. П., 2009; WHO, 2010).

Таким образом, программа поддержки здоровья беременных и новорожденных является ключевым инструментом, позволяющим улучшить демографическую ситуацию в нашей стране (Шарапова О. В., Кокорина Е. В., 2006).

Одним из показателей здоровья женщины является нормальное функциональное состояние репродуктивной системы, так как только здоровая мать может родить здорового ребенка и только здоровая девочка может впоследствии стать здоровой матерью (Адамян Л. В. [и др.], 2012). Первостепенные задачи в акушерстве и гинекологии до настоящего времени: повышение рождаемости, уменьшение количества аборт, понижение материнской и перинатальной смертности (Милованов А. П. [и др.], 2012).

В комплексе мер, способствующих снижению уровня младенческой смертности, немаловажную роль занимает поддержка грудного вскармливания новорожденных. Естественное вскармливание в течение первого года жизни предотвращает отставание ребенка в росте и сокращает детскую (в возрасте до пяти лет) смертность на 13,0 % (Баранов А. А. [и др.], 2009).

Учебное пособие

МИКРОБИОТА МАТЕРИ
В ФОРМИРОВАНИИ МИКРОБИОЦЕНОЗА
НОВОРОЖДЕННОГО

Учебно-методическое пособие

Редактор *Дудина Е. И.*
Корректор *Полушкина В. В.*
Верстка *Пугачевой О. В.*

Подписано в печать 15.08.2018. Формат 60 × 88¹/₁₆.
Печ. л. 9,5 печ. л. Тираж 500 экз. Заказ №

ООО «Издательство „СпецЛит“».
190103, Санкт-Петербург, 10-я Красноармейская ул., 15.
Тел./факс: (812)495-36-09, 495-36-12
<http://www.speclit.spb.ru>

Отпечатано в АО «Т 8 Издательские технологии».
109316, Москва, Волгоградский пр., д. 42, корп. 5, к. 6