

РОЛЬ И ЗНАЧЕНИЕ ЭНДОЦЕРВИКАЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ БЕРЕМЕННЫХ В ФОРМИРОВАНИИ КИШЕЧНОГО МИКРОБИОЦЕНОЗА НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ С КЛИНИЧЕСКИМИ ПРИЗНАКАМИ ВНУТРИУТРОБНОГО ИНФИЦИРОВАНИЯ

Л.М. Куновская

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Украина

Цели исследования: изучить видовой состав и состояние микробиоценоза влагалища у беременных женщин группы риска; оценить влияние дисбиотических нарушений микробиоценоза влагалища беременных на процессы адаптации, микробной колонизации и формирования кишечного микробиоценоза у новорожденных детей с клиническими проявлениями внутриутробного инфицирования (ВУИ).

Пациенты и методы. В исследование были включены 300 новорожденных с клиническими проявлениями ВУИ и их матери. С помощью стандартных бактериологических методов исследовали мазки из влагалища, амниотическую жидкость, плаценту, плодовые оболочки, пуповину и два локуса новорожденных (нос и зев). С целью коррекции выявленных нарушений кишечного биоценоза у детей применялся пробиотик *Saccharomyces boulardii* (Энтерол® 250).

Результаты. Бактериологические исследования мазков из влагалища беременных и желудочного аспирата у их новорожденных детей выявили рост патогенной микрофлоры. В большинстве случаев были верифицированы полимикробные ассоциации грамположительных кокков *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus aureus* в сочетании с грибами рода *Candida* и условно-патогенной *Escherichia coli*.

Выводы. Выделенная из родильных путей и желудочного аспирата младенцев микрофлора была идентична материнской, что указывало на корреляционную связь между восходящим путем ВУИ у новорожденных детей и дисбиотическими нарушениями во влагалище беременных. Включение в комплекс медикаментозного лечения новорожденных детей с клиническими признаками ВУИ пробиотика *Saccharomyces boulardii* (Энтерол® 250) способствовало достоверной ($p < 0,05$) элиминации патогенной микрофлоры и формированию кишечного микробиоценоза у подавляющего большинства новорожденных детей (81,7%) с доминированием колоний *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.*

Ключевые слова: микробиоценоз влагалища, беременная женщина, новорожденный, внутриутробное инфицирование, пробиотик.

Введение

Приоритетная роль эндоцервикальной микрофлоры матери в процессе микробной колонизации кишечника новорожденных однозначна и определяюща [1,2,3]. Однако следует отметить, что микрофлора влагалища матери в разные сроки беременности очень вариативна, а вагинальный нормоценоз определяется только у 35–40% беременных из группы риска [1,2], в то время как умеренные нарушения в составе вагинальной флоры констатированы даже у практически здоровых беременных [2,3]. Учитывая рост количества беременных женщин с разной степенью дисбиотических нарушений микробиоценоза влагалища на фоне сопутствующей хронической воспалительно-инфекционной патологии влагалища [4,5], изучение проблемы влияния этих нарушений на процессы формирования кишечного биоценоза у новорожденных, несомненно, является актуальной проблемой.

Цели исследования: на основании статистического анализа результатов бактериологических и цитологических обследований изучить видовой состав и состояние микробиоценоза влагалища у беременных женщин группы риска; оценить влияние дисбиотических нарушений микробиоценоза влагалища беременных на процессы адаптации, микробной колонизации и формирования кишечного микробиоценоза у новорожденных детей с клиническими проявлениями внутриутробного инфицирования (ВУИ).

Материал и методы исследования

Проспективное исследование учитывало проведение статистического анализа результатов бактериологических

обследований выборочной группы из 300 новорожденных с клиническими проявлениями ВУИ и их матерей. Лечение новорожденных (2006–2010 гг.) проводилось в условиях Львовского областного клинического Перинатального центра г. Львова, соответственно с действующими приказами и клиническими протоколами МЗ Украины.

Среди всех новорожденных мальчиков было 145 (48,3%), девочек — 155 (51,7%). Со сроками гестации 30–36 недель родились 168 (56%) детей, в сроки гестации 37–40 недель — 132 (44%) ребенка.

Масса детей при рождении колебалась от 1000 г до 4500 г и более. Однако среди новорожденных преобладали (73%, 219 детей) младенцы с массой тела в пределах от 1500 ± 124 до 2989 ± 243 г. Следует отметить, что среди доношенных новорожденных (сроки гестации 30–36 недель) масса тела младенцев составляла 1500 ± 342 г, среди доношенных новорожденных (сроки гестации 37–40 недель) масса тела колебалась в пределах от 2750 ± 185 г до 4050 ± 274 г.

Подавляющее большинство — 273 (91%) новорожденных родились с оценкой жизненных показателей по шкале Апгар 5–7 баллов.

Основу исследования составили результаты бактериологических исследований мазков из влагалища, амниотической жидкости, плаценты, плодовых оболочек, пуповины и двух локусов новорожденных (нос и зев), которые проводили с помощью стандартных бактериологических методов, с выделением чистых микроорганизмов и идентификацией их по биохимическим, серологическим свойствам. После окраски препаратов по Грамму в модифика-

ции Kopeloff, Blerman, проводилось распределение микроорганизмов за грамм-соответствием. Все полученные материалы были обработаны методами вариационной статистики (критерий Стьюдента). Статистический анализ данных проводили с помощью статистических пакетов Excel for Windows и Statistica 7.0. for Windows.

Результаты исследования и их обсуждение

Тяжесть клинического течения ВУИ у новорожденных обусловлена, в первую очередь, периодом беременности (время инфицирования) и патогенным фактором (видом возбудителя, его вирулентностью, путем проникновения микроорганизмов от матери к плоду, тропизмом возбудителя к органам и тканям плода, способностью плода к иммунному ответу) [2,5,6].

Общезвестно, что привести к возникновению внутриутробного инфицирования плода способны разнообразные патогены [5,7,8]. Однако среди основных патогенов доминирует комплекс инфекций TORCH, где Т — toxoplasmosis (токсоплазмоз), О — other (другие инфекции, среди которых абсолютные — сифилис, хламидиоз, энтеровирус, гепатит А, В, гонорея, листериоз; достоверные — корь, паротит и гипотетические — грипп А, папилломавирусная инфекция), R — rubeola (краснуха), С — cytomegalia (ЦМВ), Н — herpes (герпесвирусная инфекция).

Проведенные, в соответствии с целью работы, бактериологические исследования микробиоценоза влагалища беременных констатировали рост аэробной и анаэробной микрофлоры во всех наблюдениях, как в виде монокультуры, так и в виде микробных ассоциаций. Однако следует отметить, что микрофлора влагалища и зоны шейки у беременных отличается от внутрисрединной флоры, как количественным, так и качественным составом. Так, в зоне канала шейки матки верифицировано сравнительное уменьшение колоний бифидобактерий (с 4,8 до 3,8 lg КОЕ/мл), стрептококков (с 4,2 до 2,3 lg КОЕ/мл), пептострептококков (с 5,2 до 4,4 lg КОЕ/мл), с появлением актиномицетов (4,1 lg КОЕ/мл). В то время как доминирующее место во влагалищном микробиоценозе просветной флоры занимали колонии Lactobacillus spp. (6,2–7,1 lg КОЕ/мл), которые и были основной микрофлорой практически во всех наблюдениях.

В структуре аэробной микрофлоры доминировали грамположительные микроорганизмы (315), их соотношение к грамотрицательным (205) составило 61% к 39%. Среди культивируемых аэробных бактерий, представленных преимущественно условно-патогенными микроорганизмами, чаще всего выявлялись грамположительные кокки *Staphylococcus epidermidis* (166; 31,9%), *Staphylococ-*

cus aureus (149; 28,7%), грамотрицательная кишечная палочка *Escherichia coli* (144; 27,7%) и *Klebsiella spp.* (34; 6,5%), а такие виды грамотрицательной микрофлоры, как *Enterobacter spp.* (2,1%), *Proteus spp.* (1,9%) и *Citrobacter spp.* (1,2%) определялись лишь в одиночных случаях и не достигали значимых величин. В 47 случаях в исследуемом материале были выделены анаэробные возбудители. Среди отдельных видов бактерий встречались *Bifidobacterium spp.* (25; 53%), *Clostridium pneumoniae* (7; 15%) и *Clostridium difficile* (15; 32%).

В большинстве исследований (216; 72%) высевались полимикробные ассоциации аэробных микроорганизмов, представленные, преимущественно, грамположительными кокками *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus aureus* в сочетании с грибами рода *Candida*, *Escherichia coli* и *Chlamydia spp.*

Для клинической оценки микроскопической характеристики биоценоза влагалища нами была использована классификация Е.Ф. Кира, которая учитывала количественный состав лактобактерий, эпителиальных клеток, дрожжеподобных грибов и лейкоцитов. По результатам цитологических и бактериологических исследований у подавляющего большинства (89%) женщин была верифицирована картина дисбиоза влагалища, когда на фоне количественного снижения *Lactobacillus spp.* определялся абсолютный рост грамположительных аэробных кокков (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*) и количественный рост грибов *Candida*. Такие мазки были оценены как микробиологическая картина бактериального вагиноза. Промежуточный тип биоценоза влагалища выявлен в 2,7% наблюдений. У 25 (8,3%) беременных констатирован воспалительный тип мазка, характерный для микробиологической картины вагинита, что в 11 (44%) случаях было обусловлено грибами рода *Candida*, в 9 (36%) — аэробными грамотрицательными условно-патогенными микроорганизмами и стафилококками. В 5 (20%) случаях имела место сочетанная форма бактериального вагиноза и влагалищного кандидоза.

Отметим, что беременные женщины с разными типами влагалищного биоценоза имели неодинаковую частоту и степень проявлений дисбиотических нарушений со стороны желудочно-кишечного тракта. Кишечный дисбиоз среди 25 пациенток с вагинитом верифицирован у 24 (96%) женщин, в то время как среди 267 беременных с бактериальным вагинозом развитие кишечного дисбиоза наблюдалось лишь у 117 (43,8%) женщин. При промежуточном типе биоценоза влагалища дисбиоз кишечника не наблюдался.

Обобщая полученные результаты бактериологических исследований 216 (72%) мазков из влагалища, можно утверждать, что дисбиотические нарушения влагалищного микробиоценоза у беременных женщин осложняют течение беременности, родового и послеродового периода и являются одной из причин ВУИ плода, невынашивания беременности, мертворождения и постнатальной смертности младенцев.

С целью оптимизации лечения детей с ВУИ и для подтверждения восходящего пути инфицирования у новорожденных был проведен анализ результатов бактериологических исследований биологического материала (желудочный аспират). Забор материала для исследований проводился в первые сутки неонатального периода, из двух локусов младенцев (нос, зев). Проведенные исследования показали рост аэробной и анаэробной микрофлоры во всех наблюдениях, как в виде монокультуры, так и в виде микробных ассоциаций, что было подтверждением корреляционной связи между дисбиотическими нарушениями биоценоза влагалища беременных и составом кишечной флоры у новорожденных детей (рис. 1).



Рис. 1. Корреляционная связь между дисбиотическими нарушениями биоценоза влагалища беременных и составом кишечной флоры у новорожденных детей

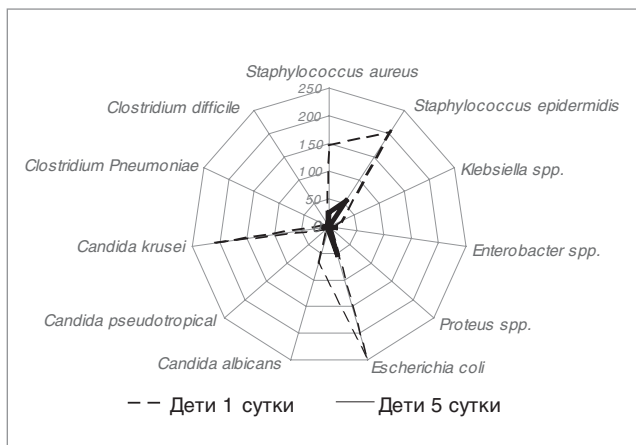


Рис. 2. Видовой состав кишечной флоры у новорожденных детей (1 и 5 сутки лечения)

По результатам бактериологических исследований желудочного аспирата новорожденных было доказано доминирование аэробной грамположительной микрофлоры (350), соотношением грамположительной к грамотрицательной (280) микрофлоре составило 55,5% к 44,5%. Среди культивируемых аэробных бактерий преобладали грамположительные кокки *Staphylococcus epidermidis* (203; 32,2%) и *Staphylococcus aureus* (147; 23,3%), а также грамотрицательная кишечная палочка *Escherichia coli* (244; 87,1%) и *Klebsiella spp.* (23; 8,2%). Рост таких видов грамотрицательной микрофлоры, как *Enterobacter spp.* (7; 2,5%) и *Proteus spp.* (6; 2,2%), отмечался лишь в единичных случаях и не достигал статистически значимых величин. В 40 наблюдениях отмечен рост анаэробных колоний *Clostridium pneumoniae* (16; 5,3%) и *Clostridium difficile* (24; 8%).

В большинстве проведенных исследований (263; 87,7%) биологического материала, полученного от новорожденных детей, верифицированная микрофлора (как и у их матерей) была представлена полимикробными ассоциациями аэробных возбудителей (*Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus aureus*) с грибами рода *Candida* и условно-патогенной *Escherichia coli*, что является подтверждением восходящего пути ВУИ в раннем неонатальном периоде у детей, рожденных от беременных с дисбиотическими нарушениями биоценоза влагалища.

Результаты полученных бактериологических исследований были использованы для проведения коррекции медикаментозного лечения у новорожденных с клиническими проявлениями ВУИ. С целью восстановления кишечной микрофлоры у новорожденных с ВУИ нами было предложено использование в комплексе медикаментозной терапии препарата из группы пробиотиков *Saccharomyces boulardii* (препарат «Энтерол® 250», разрешен к использованию у детей с первого дня жизни). Применение данного препарата способствовало восстановлению кишечной микрофлоры у большинства новорожденных детей.

Пробиотик *Saccharomyces boulardii* использовался в течении 10 дней по следующей схеме: — первые-третьи сутки по 250 мг дважды в сутки, четвертые-шестые сутки по 125 мг трижды в сутки, последующие четверо суток по 125 мг дважды в сутки [9].

Курс комплексного медикаментозного лечения детей с клиническими признаками ВУИ, проведенный на фоне грудного вскармливания с включением пробиотика

Saccharomyces boulardii, способствовал достоверной ($p < 0,05$) элиминации патогенной микрофлоры и формированию кишечного микробиоценоза у подавляющего большинства новорожденных детей с доминированием колоний *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.*

Подтверждением клинической эффективности применения пробиотика *Saccharomyces boulardii* в формировании кишечного микробиоценоза у новорожденных детей с признаками ВУИ были повторные бактериологические исследования, проведенные в процессе комплексного медикаментозного лечения.

Бактериологические исследования состава кишечной микрофлоры у новорожденных (прямая кишка), проведенные на пятые сутки неонатального периода, верифицировали достоверное ($p < 0,05$) прогрессирующее уменьшение колоний *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* и *Candida krusei* (рис. 2) на фоне количественного роста колоний *Bifidobacterium spp.* и *Lactobacillus spp.*

По результатам наших наблюдений, оптимальное количественное содержание бифидобактерий (10^9 – 10^{11} КОЕ/г) на пятые сутки жизни отмечено у 267 (89%) новорожденных. У 272 (90,7%) новорожденных количественное содержание лактобактерий на фоне грудного вскармливания на пятые сутки исследований определялись в разведении 10^6 – 10^8 КОЕ/г, что отвечает бактериологической норме.

Следует также отметить, что у 37 (12,3 %) новорожденных детей, у матерей которых был констатирован выраженный дисбиоз микробиоценоза влагалища или вагинит, достичь оптимального количественного содержания бифидо- и лактобактерий не удалось в течении всего периода медикаментозного лечения. Именно эти новонарожденные и составили значительную часть детей, которые для дальнейшего лечения были переведены на второй этап.

Выводы

1. Бактериологические исследования мазков из влагалища беременных и желудочного аспирата у новорожденных детей с клиническими проявлениями ВУИ позволили констатировать рост патогенной микрофлоры в виде полимикробных ассоциаций в 72% и 87,7% наблюдений соответственно.

2. В большинстве проведенных бактериологических исследований были верифицированы полимикробные ассоциации грамположительных кокков *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus aureus* в сочетании с грибами рода *Candida* и условно-патогенной *Escherichia coli*.

3. Микрофлора, выделенная из родильных путей и желудочного аспирата младенцев, была идентичной материнской, что указывало на корреляционную связь между восходящим путем ВУИ у новорожденных детей и дисбиотическими нарушениями биоценоза влагалища беременных.

4. Включение в комплекс медикаментозного лечения новорожденных детей с клиническими признаками внутриутробного инфицирования пробиотика *Saccharomyces boulardii* (Энтерол® 250) способствует достоверной ($p < 0,05$) элиминации патогенной микрофлоры и формированию кишечного микробиоценоза у подавляющего большинства новорожденных детей (81,7%) с доминированием колоний *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.*

ЛІТЕРАТУРА

1. Comito Donatella Dysbiosis in the Pathogenesis of Pediatric Inflammatory Bowel Diseases / Donatella Comito, Claudio Romano // Int. J. Inflamm. — 2012. — P. 68—71.
2. Агаронян Н. Г. Анализ акушерских и перинатальных исходов при внутриутробной инфекции / Н. Г. Агаронян, Н. В. Орджоникидзе // Инфекции в акушерстве и перинатологии : матер. межд. сем. — М., 2007. — С. 20—21.
3. Система иммунокоррекции при хронических инфекционно-воспалительных заболеваниях у беременных / Тареева Т. Г., Малиновская В. В., Шугинин И. О. [и др.] // Рос. вестн. акушеров-гинекологов. — 2004. — Т. 4, № 5. — С. 82—87.
4. Michael P. Sherman. New Concepts of Microbial Translocation in the Neonatal Intestine: Mechanisms and Prevention Clin Perinatol. Author manuscript; available in PMC 2011 September / Michael P. Sherman // 1. Published in final edited form as: Clin. Perinatol. — 2010. — Vol. 37 (3). — P. 565—579.
5. Бусуек Г. П. Актуальные проблемы эпидемиологии перинатальных инфекций / Г. П. Бусуек // Эпидемиол. и инфекционные болезни. — 2006. — № 1. — С. 4—7.
6. Marie-Claire Arrieta The Commensal Microbiota Drives Immune Homeostasis / Marie-Claire Arrieta, Barton Brett Finlay // Am. J. Front Immunol. — 2012. — Vol. 3. — P. 33.
7. Елизарова М. Г. Варианты адаптационных реакций у новорожденных группы высокого риска по внутриутробному инфицированию / М. Г. Елизарова // Акушерство и гинекология. — 2005. — № 4. — С. 19—23.
8. Особенности становления микрофлоры недоношенных новорожденных в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии / Кафарская Л. И., Шуникова М. Л., Бабак О. А. [и др.] // Вопр. практич. педиатрии. — 2008. — Т. 3. — № 5. — С. 26.
9. Пат. 54104 UA, МПК 7 А 61К35/72. Спосіб відновлення внутрішньокішкової флори у новонароджених дітей з клінічними ознаками внутрішньоутробного інфікування в ранньому неонатальному періоді / Куновська Л.М., Коржинський Ю.С, Савчак Н.Є.; — Опубл. 17.02.03. Бюл. 2.

МЕТА І ЗНАЧЕННЯ ЕНДОЦЕРВІКАЛЬНОЇ МІКРОФЛОРИ ВАГІТНИХ У ФОРМУВАННІ КИШКОВОГО МІКРОБІОЦЕНОЗУ НОВОНАРОДЖЕНИХ ДІТЕЙ З КЛІНІЧНИМИ ОЗНАКАМИ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОГО ІНФІКУВАННЯ

Л.М. Куновська

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна

Цілі дослідження: вчити видовий склад і стан мікробіоценозу піхви у вагітних жінок групи ризику; оцінити вплив дисбіотичних порушень мікробіоценозу піхви вагітних на процеси адаптації, мікробної колонізації та формування кишкового мікробіоценозу у новонароджених дітей з клінічними проявами внутрішньоутробного інфікування (ВУІ).

Пацієнти і методи. У дослідження було включено 300 новонароджених з клінічними проявами ВУІ та їхні матері. За допомогою стандартних бактеріологічних методів досліджували мазки з піхви, амніотичну рідину, плаценту, плодової оболонки, пуповину і два локуса новонароджених (ніс і зів). З метою корекції виявлених порушень кишкового біоценозу у дітей застосовувався пробіотик *Saccharomyces boulardii* (Ентерол® 250).

Результати. Бактеріологічні дослідження мазків з піхви вагітних та шлункового аспірату у їхніх новонароджених дітей виявили ріст патогенної мікрофлори. У переважній більшості випадків були верифіковані полімікробні асоціації грампозитивних коків *Staphylococcus epidermidis* і *Staphylococcus aureus* у поєднанні з грибами роду *Candida* та умовно-патогенною *Escherichia coli*.

Висновки. Виділена з родових шляхів і шлункового аспірату немовлят мікрофлора була ідентична материнській, що вказувало на кореляційний зв'язок між висхідним шляхом ВУІ у новонароджених дітей та дисбіотичними порушеннями у піхві вагітних. Включення в комплекс медикаментозного лікування новонароджених дітей з клінічними ознаками ВУІ пробіотика *Saccharomyces boulardii* (Ентерол® 250) сприяло достовірній (p<0,05) елімінації патогенної мікрофлори і формуванню кишкового мікробіоценозу у переважній більшості новонароджених дітей (81,7%) з домінуванням колоній *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.*

Ключові слова: мікробіоценоз піхви, вагітна жінка, новонароджений, внутрішньоутробне інфікування, пробіотик.

THE ROLE AND VALUE OF ENDOCERVICAL MICROFLORA OF PREGNANT WOMEN IN DEVELOPMENT OF INTESTINAL MICROBIOCENOSIS OF INFANTS WITH CLINICAL SIGNS OF INTRAUTERINE INFECTION

L.M. Kunovskaya

Danylo Galytskyi Lviv National Medical University, Ukraine

Objectives: to study the species composition and condition of the vaginal microbiocenosis in pregnant women of the risk group; to evaluate the effect of disbiotic disorders of vaginal microbiocenosis in pregnant women on the processes of adaptation, microbial colonization and formation of intestinal microbiocenosis in infants with clinical signs of intrauterine infection (IUI).

Patients and methods. The study included 300 infants with clinical signs of IUI and their mother. With the use of standard bacteriological methods the vaginal swabs, amniotic fluid, placenta, fetal membranes, cord and two loci of newborns (nose and throat) are examined. It is used probiotic *Saccharomyces boulardii* (Enterol 250) with the aim of correction of identified disorders of intestinal biocenosis in children.

Results. Bacteriological tests of vaginal swabs of pregnant women and gastric aspirates of their infants had shown the growth of pathogenic microflora. In most of cases were verified polymicrobial associations of gram-positive cocci as *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* in combination with *Candida* and opportunistic *Escherichia coli*.

Conclusions. In the discharges from maternal passages and infant gastric aspirate microflora was identical to the mother that is indicating on correlation interaction between rising way of IUI in infants and vaginal disbiotic disorders in pregnant women. Inclusion of probiotic *Saccharomyces boulardii* (Enterol 250) to the complex medical treatment of infants with clinical signs of IUI contributed to significant (p <0.05) elimination of pathogenic microflora and the formation of the intestinal microbiota in the vast majority of infants (81.7%) with *Lactobacillus spp.* and *Bifidobacterium spp.* colonies domination

Key words: vaginal microbiocenosis, pregnant women, newborn, intrauterine infection, probiotic.