

УДК 618.4:616-003.293:579.61

DOI: 10.17816/pmj37613-24

## ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОТЫ ОКОЛОПЛОДНЫХ ВОД ПРИ ДОНОШЕННОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

М.А. Каганова<sup>1\*</sup>, Н.В. Спиридонова<sup>1</sup>, Л.К. Медведчикова-Ардия<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Самарский государственный медицинский университет,

<sup>2</sup>Самарская областная клиническая больница имени В.Д. Середавина, Россия

## FEATURES OF AMNIOTIC FLUID MICROBIOTA IN FULL-TERM PREGNANCY

М.А. Kaganova<sup>1\*</sup>, N.V. Spiridonova<sup>1</sup>, L.K. Medvedchikova-Ardiya<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Samara State Medical University,

<sup>2</sup>Samara Regional Clinical Hospital named after V.D. Seredavin, Russian Federation

**Цель.** Изучить микробный пейзаж околоплодных вод при физиологическом течении доношенной беременности. В последние несколько лет после публикации ряда исследований, связанных с изучением микробиома человека (The Human Microbiome Project – HMP), произошла смена парадигмы о безусловной стерильности плодных оболочек, плаценты и околоплодных вод при физиологически протекающей беременности.

**Материалы и методы.** У 19 беременных в сроке 37–41 неделя с интактными плодными оболочками во время elective кесарева сечения проводился забор амниотической жидкости на ПЦР-РВ следующих микроорганизмов: *Lactobacillus spp.*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Gardnerella vaginalis* / *Prevotella bivia* / *Porphyromonas spp.*, *Eubacterium spp.*, *Sneathia spp.* / *Leptotribia spp.* / *Fusobacterium spp.*, *Megasphaera spp.* / *Veillonella spp.* / *Dialister spp.*, *Lachnobacterium spp.* / *Clostridium spp.*, *Mobiluncus spp.* / *Corynebacterium spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Atopobium vaginae*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma (urealyticum + parvum)*, *Candida spp.*, *Mycoplasma genitalium*.

**Результаты.** При интактных плодных оболочках общая бактериальная масса (ОБМ) околоплодных вод составляет  $10^{3.02}$  Гэ/копий, в 47,4 % случаев околоплодные воды стерильны. Микробиота наиболее часто представлена семейством *Enterobacteriaceae spp.* – 37 %, на долю остальных идентифицированных бактерий – приходится 28 %, на долю «неизвестных» – 35 %.

© Каганова М.А., Спиридонова Н.В., Медведчикова-Ардия Л.К., 2020

тел. +7 462 071 968

e-mail: mkaganova@yandex.ru

[Каганова М.А. (\*контактное лицо) – кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии; Спиридонова Н.В. – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии; Медведчикова-Ардия Л.К. – акушер-гинеколог].

© Kaganova M.A., Spiridonova N.V., Medvedchikova-Ardiya L.K.

tel. +7 462 071 968

e-mail: mkaganova@yandex.ru

[Kaganova M.A. (\*contact person) – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Obstetrics and Gynecology; Spiridonova N.V. – MD, PhD, Professor, Head of Department of Obstetrics and Gynecology; Medvedchikova-Ardiya L.K. – obstetrician-gynecologist].

**Выводы.** При физиологически протекающей беременности и интактных плодных оболочках общая бактериальная масса околоплодных вод низкая (ОБМ =  $10^{3.02} \pm 345$  Гэ/мл). При целом плодном пузыре наиболее характерными видами микроорганизмов, обитающими в амниотической жидкости, является *Enterobacteriaceae spp.* (37 %), остальные представлены в единичных случаях. Наличие представителей анаэробного дисбиоза влагалища, а также лактобацилл нехарактерно при целых плодных оболочках.

**Ключевые слова.** Беременность, фемофлор, амниотическая жидкость, полимеразная цепная реакция, ДНК-технологии, микробиота.

**Objective.** To study the microbial landscape of amniotic fluid in physiological process of full-term pregnancy. Recently, after publication of a number of studies regarding human microbiota (The Human Microbiome Project – HMP), there occurred a change in paradigm on absolute sterility of fetal membranes and amniotic fluid in physiologically developing pregnancy.

**Materials and methods.** At the City Clinical Hospital № 1 named after N.I. Pirogov, during elective cesarean section of 19 pregnant women (at the terms of 37–41 weeks) with intact fetal membranes, an amniotic fluid of the following microorganisms was taken by means of PCR-PB: *Lactobacillus spp.*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Gardnerella vaginalis* / *Prevotella bivia* / *Porphyromonas spp.*, *Eubacterium spp.*, *Sneathia spp.* / *Leptotribia spp.* / *Fusobacterium spp.*, *Megasphaera spp.* / *Veillonella spp.* / *Dialister spp.*, *Lachnobacterium spp.* / *Clostridium spp.*, *Mobiluncus spp.* / *Corynebacterium spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Atopobium vaginae*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma (urealyticum + parvum)*, *Candida spp.*, *Mycoplasma genitalium*.

**Results.** The general bacterial mass (GBM) of amniotic fluid in intact fetal membranes is  $10^{3.02}$  Ge/copies, in 47.4 % of cases the amniotic fluid is sterile. Microbiota is most often presented by *Enterobacteriaceae spp.* – 37 %, the share of the rest, identified bacteria is 28 %, the share of “unknown” is 35 %.

**Conclusions.** In case of physiologically developing pregnancy and intact fetal membranes, the general bacterial mass is low (GBM =  $10^{3.02} \pm 345$  Ge/ml). In the intact amniotic sac the most typical microorganisms living in amniotic fluid are *Enterobacteriaceae spp.* (37 %), the rest are presented in single instances. The presence of the representatives of anaerobic vaginal dysbiosis as well as lactobacilli is not typical for the intact fetal membranes.

**Keywords.** Pregnancy, femoflor, amniotic fluid, polymerase chain reaction, DNA-technology, microbiota.

## ВВЕДЕНИЕ

В последние несколько лет после публикации ряда исследований, связанных с изучением микробиома человека (The Human Microbiome Project – HMP), произошла смена парадигмы о безусловной стерильности плодных оболочек, плаценты и околоплодных вод при физиологически протекающей беременности. Ранее считалось, что полость матки, плацента, плод и околоплодные воды должны быть стерильны, что обеспечивает рождение здорового ребенка при доношенной беременности.

Недавние исследования имеют противоречивые данные о наличии микробиоты

внутри амниотической полости. Исходно предполагалось, что амниотическая полость стерильна, новорожденные рождаются и колонизируются по-разному в зависимости от способа родоразрешения (например кесарево сечение или вагинальные роды) [1, 2]. Однако появились исследования, показывающие наличие низкой бактериальной массы и низкой численности микробов в децидуальной оболочке, фаллопиевых трубах, в амниотической жидкости, плаценте, амнионе и хорионе, что в свою очередь свидетельствует о воздействии микробов (или по крайней мере их метагеномов) на физиологически развивающийся плод еще задолго до родов [3–8]. В целом изучение влияния из-

менения качественного и количественного состава околоплодных вод на состояние плода и новорожденного при доношенной беременности является актуальным [9].

По мнению ряда авторов [10, 11], внутриамниотическая полость по степени микробной обсемененности отличается от плаценты. Предполагается, что плацента отдельно колонизирована микробами и, возможно, ее защитные механизмы препятствуют проникновению этих бактерий в околоплодные воды [12].

Часть исследований демонстрирует, что при физиологически протекающей беременности при культуральном исследовании амниотическая жидкость в середине второго триместра стерильна [13–16], а выявление даже незначительного количества изолированных бактерий ассоциировано с различными осложнениями беременности: преждевременные роды, преждевременный разрыв плодных оболочек, преэклампсия, синдром задержки развития плода [14]. По данным других авторов, выявление любых микроорганизмов в околоплодных водах является признаком внутриутробной инфекции и хориоамнионита [17, 18], однако не всегда при клинических признаках хориоамнионита удается выявить микробную инвазию амниотической полости. При этом более современные способы диагностики микроорганизмов, такие как секвенирование, ПЦР-диагностика, демонстрируют наличие бактериальных сообществ в небольшом количестве в околоплодных водах при доношенной физиологически протекающей беременности [19, 20].

Таким образом, прежде чем отнести различные микроорганизмы, выявленные в фетоплацентарном комплексе, к факторам риска развития материнских и перинатальных осложнений, необходимо иметь четкое представление о его нормальной микробиоте.

*Цель исследования* – изучение микробного пейзажа околоплодных вод при доношенной физиологически протекающей беременности с интактным плодным пузырем.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Для реализации поставленной цели были включены в исследование 19 беременных в сроке беременности 37–41 неделя, с интактными плодными оболочками без признаков начала родовой деятельности, исследование проводилось на базе родильных отделений ГБУЗ ГКБ№ 1 им. Н.И. Пирогова, г. Самара. Все пациентки были родоразрешены путем операции кесарева сечения в плановом порядке (показаниями к операции являлись неправильное положение и предлежание плода, наличие рубца на матке после предыдущей операции кесарева сечения, бесплодие в сочетании с отягощенным акушерским анамнезом или возрастом).

Критерии исключения:

1. Критериями исключения из исследования являлись: беременные, относящиеся к группе высокого риска, согласно порядку оказания помощи по профилю «Акушерство и гинекология» № 572 от 01.11.2012 г., по соматической патологии (сахарный диабет, гестационный диабет), особенностям плацентации.

2. Наличие острых и обострения хронических воспалительных заболеваний, в том числе наличие кольпита.

3. Антибактериальная терапия во время беременности.

Всем пациенткам было выполнено исследование амниотической жидкости методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени (набор «Фемофлор 16») и применением детектирующего амплификатора ДТ-96 производства ООО «НПО ДНК-Технология»

(РУ ФСР 2009/04663, патент № 2362808 от 13.02.08). ПЦР-исследования осуществлялись на базе лаборатории научного отдела компании ООО «НПФ ДНК-Технология». Забор амниотической жидкости проводился интраоперационно при вскрытии матки и плодного пузыря с применением специального разработанного устройства для сбора околоплодных вод [21], препятствующего загрязнению материала во время операции. Исходно методика «Фемофлор-16» была разработана для оценки состояния влагалища, в данном случае применялась с целью оценки микробного состава околоплодных вод. Технология предусматривает анализ биоты различных биотопов, в том числе может быть использована для анализа амниотической жидкости [22–24], включающего определение микроорганизмов: *Lactobacillus spp.*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Gardnerella vaginalis* / *Prevotella bivia* / *Porphyromonas spp.*, *Eubacterium spp.*, *Sneathia spp.* / *Leptotribia spp.* / *Fusobacterium spp.*, *Megasphaera spp.* / *Veillonella spp.* / *Dialister spp.*, *Lachnobacterium spp.* / *Clostridium spp.*, *Mobiluncus spp.* / *Corynebacterium spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Atopobium vaginiae*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma (urealyticum + parvum)*, *Candida spp.*, *Mycoplasma genitalium*.

Околоплодные воды подвергали центрифугированию в течение 15 мин при 2000g, удалялся супернатант, осадок переносился в транспортную среду («Проба-Рапид», производство ООО «НПО ДНК-Технология»). Затем выполнялся анализ методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени.

После амплификации автоматически устанавливали общее количество бактериальной массы (ОБМ) – лабораторная ОБМ, *Lactobacillus spp.* и различных видов условно-патогенных микроорганизмов согласно возможностям панели «Фемофлор-16». Все

образцы имели достаточное количество взятого материала (КВМ) для проведения оценки выявленных микроорганизмов. Количественная оценка приводилась как в абсолютных, так и в относительных показателях к лабораторной ОБМ. Абсолютный показатель – количество ДНК искомого микроорганизма в образце, выраженное в ГЭ, представленное в виде десятичного логарифма – lg. Рассчитанная ОБМ представляет собой суммарное количество микроорганизмов в процентах.

Обработку результатов исследования проводили с помощью программы Statistica 10.0, SPSS 13. Результаты исследования ПЦР-РВ представлены в виде среднего ( $M$ ) абсолютного количества микроорганизмов в десятичных логарифмах. Частота выявления микроорганизмов – в процентах, а также в относительных процентах – относительно лабораторной ОБМ. Количественные показатели представлены средним арифметическим десятичных логарифмов ( $M$ ) со стандартным отклонением ( $\delta$ ). Сравнение абсолютного количества в группах выполнялось с помощью критерия Манна – Уитни.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно критериям исключения пациентки не имели соматической патологии, средний возраст составил –  $29,1 \pm 5,9$  г, из них у 30 % предстояли первые роды, паритет беременности в среднем составил  $2,8 \pm 2,1$ . Срок гестации в среднем  $39,8 \pm 0,78$  недели (39–40,5 недели). В табл. 1 представлен микробный пейзаж каждой обследуемой.

Исследование околоплодных вод при физиологически протекающей беременности методом ПЦР-РВ дало следующие результаты. КВМ был адекватным у всех пациенток ( $10^{4,73} \pm 10^{4,23}$  ГЭ/мл).

Из табл. 2 видно, что лабораторная ОБМ выше, чем рассчитанная ОБМ. Это касалось как для абсолютного количества ОБМ (ОБМл =  $10^{3,02}$  Гэ/мл и ОБМр =  $10^{2,83}$  Гэ/мл), как и частоты выявления в целом. Лабораторная ОБМ присутствовала у 10 пациенток (52,6 %), а расчетная ОБМ получена только для 6 беременных (31,6 %). У 9 (47,4 %) беременных в околоплодных водах микроорганизмы выявлены не были (лабораторная ОБМ

и расчетная ОБМ равны нулю), то есть околоплодные воды были стерильны. В 3 случаях (15,8 %) лабораторная ОБМ превышала расчетную, данную разницу мы склонны объяснить выявлением некой бактериальной массы, ДНК микроорганизмов которой не идентифицируются данным методом, так называемые «неизвестные» виды. Вероятно, в околоплодных водах могут быть презентированы совершенно иные микроорганизмы.

Таблица 1

**Микробный пейзаж околоплодных вод пациенток  
(значения представлены в виде lg)**

| Результат<br>«Фемофлор-16»   | Порядковый номер обследуемой |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |    |     |     |     |     |     |     |
|--|------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|  | 1                            | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   | 7   | 8   | 9   | 10  | 11  | 12  | 13 | 14  | 15  | 16  | 17  | 18  | 19  |
| КВМ  | 5,3                          | 5,4 | 4,4 | 4,4 | 5,1 | 4,1 | 4,2 | 3,5 | 4,6 | 5,2 | 3,4 | 4,9 | 4  | 3,7 | 4,3 | 4,2 | 3,8 | 3,8 | 4,2 |
| ОБМ лабораторная   | -                            | 3,1 | -   | 3,1 | 3,3 | 3,5 | 3,3 | -   | 3,5 | 3,6 | 3,7 | -   | -  | -   | -   | 3,4 | -   | -   | 0,7 |
| ОБМ расчетная  | -                            | -   | -   | -   | 3,1 | 3,5 | -   | -   | 3,5 | 3,6 | 3,1 | -   | -  | -   | -   | -   | -   | -   | 0,7 |
| <i>Lactobacillus spp.</i>  | -                            | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | 3,3 | -   | -   | -   | -  | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| <i>Enterobacteriaceae spp.</i>   | -                            | -   | -   | -   | -   | 3,1 | -   | -   | 3   | 3,6 | 3,1 | -   | -  | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| <i>Streptococcus spp.</i>  | -                            | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -  | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| <i>Staphylococcus spp.</i>   | -                            | -   | -   | -   | -   | 3   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -  | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| <i>Gardnerella vaginalis</i> +<br><i>Prevotella bivia</i> +<br><i>Porphyromonas spp.</i> | -                            | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -  | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| <i>Eubacterium spp.</i>  | -                            | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -  | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| <i>Sneathia spp.</i> +<br><i>Leptotrichia spp.</i> +<br><i>Fusobacterium spp.</i>        | -                            | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -  | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| <i>Megasphaera spp.</i> +<br><i>Veillonella spp.</i> +<br><i>Dialister spp.</i>          | -                            | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -  | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| <i>Lachnobacterium spp.</i> +<br><i>Clostridium spp.</i>                                 | -                            | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -  | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| <i>Mobiluncus spp.</i> +<br><i>Corynebacterium spp.</i>                                  | -                            | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -  | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| <i>Peptostreptococcus spp.</i>   | -                            | -   | -   | -   | 3,1 | 3,1 | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -  | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| <i>Atopobium vaginae</i>   | -                            | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -  | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| <i>Candida spp.</i>  | -                            | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -  | -   | -   | -   | -   | -   | 0,7 |
| <i>Mycoplasma hominis</i>  | -                            | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -  | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| <i>Ureaplasma</i><br>( <i>urealyticum</i> + <i>parvum</i> )                              | -                            | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -  | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| <i>Mycoplasma genitalium</i>   | -                            | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -  | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| Неизвестные виды   | -                            | 3,1 | -   | 3,1 | 2,9 | -   | 3,3 | -   | -   | -   | 3,6 | -   | -  | -   | -   | 3,4 | -   | -   | -   |

**Распределение микроорганизмов в околоплодных водах  
при доношенной беременности, определенное методом ПЦР-РВ**

| Признак  | Частота случаев выявления, абс. (%) | Количество выявленного микроорганизма по отношению к ОБМл, $M \pm m, \%$ | Абс., lg (M) |
|--|-------------------------------------|--|--------------|
| КВМ  | 19 (100)                            | –  | 4,73         |
| ОБМ лабораторная (ОБМл)  | 10 (52,6)                           | 100  | 3,02         |
| ОБМ расчетная (ОБМр)   | 6 (31,6)                            | $64,67 \pm 1,47$   | 2,83         |
| <i>Lactobacillus spp.</i>  | 1 (5,3)                             | $10,00 \pm 0,93$   | 2,02         |
| <i>Enterobacteriaceae spp.</i>   | 4 (21,0)                            | $37,15 \pm 1,49$   | 2,59         |
| <i>Streptococcus spp.</i>  | –                                   | –  | –            |
| <i>Staphylococcus spp.</i>   | 1 (5,3)                             | $5,01 \pm 0,67$  | 1,72         |
| <i>Gardnerella vaginalis</i> + <i>Prevotella bivia</i> + <i>Porphyromonas spp.</i> | –                                   | –  | –            |
| <i>Eubacterium spp.</i>  | –                                   | –  | –            |
| <i>Sneathia spp.</i> + <i>Leptotrichia spp.</i> + <i>Fusobacterium spp.</i>        | –                                   | –  | –            |
| <i>Megasphaera spp.</i> + <i>Veillonella spp.</i> + <i>Dialister spp.</i>          | –                                   | –  | –            |
| <i>Lachnobacterium spp.</i> + <i>Clostridium spp.</i>                              | –                                   | –  | –            |
| <i>Mobiluncus spp.</i> + <i>Corynebacterium spp.</i>                               | 2 (10,6)                            | $12,02 \pm 1,00$   | 2,1          |
| <i>Peptostreptococcus spp.</i>   | –                                   | –  | –            |
| <i>Atopobium vaginae</i>   | 1 (5,3)                             | $0,48 \pm 0,21$  | 0,7          |
| <i>Candida spp.</i>  | –                                   | –  | –            |
| <i>Mycoplasma hominis</i>  | –                                   | –  | –            |
| <i>Ureaplasma (urealyticum + parvum)</i>   | –                                   | –  | –            |
| <i>Mycoplasma genitalium</i>   | –                                   | –  | –            |
| Неизвестные виды   | 12 (63,1)                           | $35,33 \pm 1,48$   | 2,56         |

По частоте выявления 4 (21,0 %) и абсолютному количеству ( $10^{2,59}$  Гэ/образец) преобладали представители семейства *Enterobacteriaceae spp.*, в соотношении с остальными видами –  $37,15 \pm 1,49$  %.

Большинство микроорганизмов в околоплодных водах выявлены в единичных случаях и крайне низких титрах: *Lactobacillus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Mobiluncus spp.* + *Corynebacterium spp.* и *Atopobium vaginae* (рисунок).

На протяжении многих десятилетий преобладала устойчивая точка зрения, что фетоплацентарный комплекс в норме стерилен, и первый контакт новорожденного с микроорганизмами происходит во время

родов [16, 25]. Применение новых методов исследования в микробиологии позволило изменить представления о микробиоте различных ниш, не только хорошо известных своим разнообразием (кишечник, влагалище и ротовая полость), но и тех локусов, которые всегда считались стерильными, и выявление в них каких-либо микроорганизмов интерпретировалось как инфицирование, например, амниотическая жидкость, полость матки и т.д. [26]. Появление методов амплификации генов и секвенирования ДНК сделали революционный прорыв метагеномики и позволили идентифицировать геном хозяина с обитающими микроорганизмами в различных локусах человеческого тела.

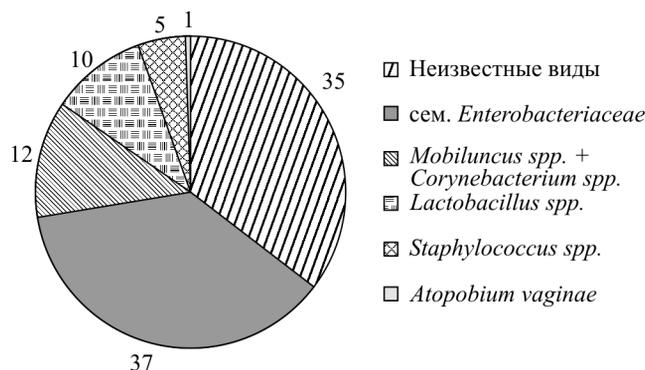


Рис. Относительная частота (%) (количество выявленного микроорганизма по отношению к лабораторной ОБМ) в околоплодных водах при физиологически протекающей беременности

Ранее считалось, что выявление микроорганизмов в околоплодных водах возможно только при поврежденных плодных оболочках или с началом родовой деятельности [11]. Сейчас же все больше исследований демонстрируют наличие микроорганизмов в полости матки и плаценте при физиологически протекающей беременности без каких-либо негативных последствий в плане реализации материнской и перинатальной инфекции [5, 10, 19, 27, 28]. Доказано, что при неповрежденных плодных оболочках микроорганизмы могут проникать в полость амниона и культивироваться у здоровых матерей и их новорожденных как в амниотической полости, так и на фетальных мембранах и плаценте [29, 30, 31]. Исследования Combs et al. [30, 31] показали, что нет никакой связи между интраамниотической инвазией бактериями с преждевременными родами при отсутствии воспаления, критериями которого являются гистологический хориоамнионит и/или IL-6 более 11,3 нг/мл.

Микробный пейзаж в околоплодных водах характеризуется меньшим разнообразием по сравнению с другими составляющими фетоплацентарного комплекса. Так, в исследовании

Lim et al. [12] анализ амниотической жидкости, собранной во время elective кесарева сечения, продемонстрировал ее низкую обсемененность –  $944 \pm 374$  Гэ/мл, что соответствовало очень низкой бактериальной массе. Исследователями сделан вывод, что в норме доношенный младенец внутриутробно не подвергается выраженному микробному воздействию накануне родов, определенная бактериальная масса в околоплодных водах все же может присутствовать. В нашем исследовании были получены сходные результаты: общая бактериальная масса составила  $1071 \pm 345$  Гэ/мл при интактных плодных оболочках с небольшим диапазоном выявленных микроорганизмов.

В исследовании Collado M.C. [32] было выдвинуто предположение, что амниотическая жидкость содержит определенное микробное сообщество, которое впоследствии способствует формированию собственной микробиоты и иммунитета у новорожденного. Основным микроорганизмом, характерным для амниотической жидкости, был *Proteobacteria*, наиболее многочисленная группа бактерий – 1534 вида, что составляет примерно треть от всех известных видов

бактерий [33]. Семейство *Enterobacteriaceae spp.* относится к данной группе бактерий, и его представители в нашем исследовании также были лидирующими как в абсолютном количестве ( $10^{2.59}$  Гэ/мл), так и по частоте выявления (22,2 %).

По данным другого исследования, *Propionibacterium*, *Bacillales spp.*, *Anoxybacillus*, *Caulobacteraceae spp.*, *Methylobacteriaceae spp.*, *Methylobacterium*, *Phyllobacterium*, *Sphingomonas*, *Comamonadaceae spp.*, и *Deinococcus* являются наиболее характерными представителями в амниотической жидкости [19]. По данным литературы [19, 34] менее 1 % приходится на *Streptococcus spp.* и *Staphylococcus spp.* в околоплодных водах, в нашем исследовании эти семейства представлены тоже в единичных случаях. *Lactobacillae spp.* не являются типичным представителем амниотической жидкости – 1,15 % в исследовании М.С. Collado [19], в нашем исследовании данный представитель определился в одном случае (5 %).

Микробиологическая колонизация матки, околоплодных вод и плаценты играет важную роль, позволяя плоду проявлять толерантность к бактериям после рождения через феномен прайминга, поскольку происходит формирование врожденной экспрессии генов иммунной реакции у плода и в дальнейшем создание здорового микробиома у новорожденного [19, 35]. Наконец, возможно, что в норме амниотическая жидкость действительно не содержит жизнеспособные бактерии, и фактически обнаруженный микробиом – это высвобожденное ДНК микроорганизмов, происходящих из других локусов, например из крови или плаценты [10, 28]. Микробиомная структура околоплодных вод была достаточно разнообразна, но ОБМ была низкой, возможно, некоторая часть ДНК бактерий может гематогенно распространяться

из крови в амниотическую полость [10, 26]. Данный взгляд может подтверждать и наше исследование, так как у 50 % обследованных околоплодные воды были стерильны.

Таким образом, во время физиологически протекающей беременности бактериальная колонизация амниотической полости возможна, однако детали и значение этого процесса еще предстоит выяснить.

### ВЫВОДЫ

1. В норме общая бактериальная масса околоплодных вод низкая (ОБМ =  $1071 \pm \pm 345$  Гэ/мл).
2. При целом плодном пузыре наиболее характерными видами микроорганизмов, обитающими в амниотической жидкости, является *Enterobacteriaceae spp.* (37 %), остальные представлены в единичных случаях.
3. Наличие представителей анаэробного дисбиоза влагалища, а также лактобацилл не характерно при целых плодных оболочках.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Biasucci G., Rubini M., Riboni S. et al. Mode of delivery affects the bacterial community in the newborn gut. *Early Hum Dev* 2010; 86 (1): 13–5.
2. Dominguez-Bello M.G., Costello E.K., Contreras M. et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(26): 11971–11975.
3. Zhu L., Luo F., Hu W. et al. Bacterial communities in the womb during healthy pregnancy. *Front Microbiol* 2018; 9: 2163.
4. Doyle R.M., Harris K., Kamiza S. et al. Bacterial communities found in placental tissues

are associated with severe chorioamnionitis and adverse birth outcomes. *PLoS One* 2017; 12(7): e0180167.

5. *Parnell L.A., Briggs C.M., Cao B. et al.* Microbial communities in placentas from term normal pregnancy exhibit spatially variable profiles. *Sci Rep* 2017; 7(1): 11200.

6. *Gomez-Arango L.F., Barrett H.L., McIntyre H.D. et al.* Contributions of the maternal oral and gut microbiome to placental microbial colonization in overweight and obese pregnant women. *Sci Rep* 2017; 7(1): 2860.

7. *Leon L.J., Doyle R., Diez-Benavente E. et al.* Enrichment of clinically relevant organisms in spontaneous preterm delivered placenta and reagent contamination across all clinical groups in a large UK pregnancy cohort. *Appl Environ Microbiol* 2018; 84 (14).

8. *Prince A.L., Chu D.M., Seferovic M.D. et al.* The perinatal microbiome and pregnancy: moving beyond the vaginal microbiome. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2015; 5 (6).

9. *Каганова М.А., Стуридонова Н.В., Нестеренко С.А. и др.* Анализ особенностей течения родов и перинатальных исходов при изолированном маловодии. *Аспирантский вестник Поволжья*. 2019: 5–6; 39–43.

10. *Aagaard K., Ma J., Antony K.M., Ganu R., Petrosino J., Versalovic J.* The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med* 2014; 6: 237–265.

11. *Rebbinder E.M., Lødrup K.C., Cathrine A.S., Angell I.L., Landrø L., Hilde K., Gaustad P., Rudi K.* Is amniotic fluid of women with uncomplicated term pregnancies free of bacteria? *Am J Obstet Gynecol* 2018; 219 (3): 289.e1–289.e12.

12. *Lim E.S., Rodriguez C., Holtz L.R.* Amniotic fluid from healthy term pregnancies

does not harbor a detectable microbial community. *Microbiome* 2018; 6: 87.

13. *Fernandez H., Montuclard B., Guibert M.* Does intraamniotic infection in the early phase of the second trimester really exist? *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175: 1077–1078.

14. *Gervasi M.T., Romero R., Bracalente G., Erez O., Dong Z., Hassan S.S., Yeo L., Yoon B.H., Chaiworapongsa T.* Midtrimester amniotic fluid concentrations of interleukin-6 and interferon-gamma-inducible protein-10: evidence for heterogeneity of intra-amniotic inflammation and associations with spontaneous early (32 weeks) preterm delivery. *J Perinat Med* 2012; 40: 329–343.

15. *Cherouny P.H., Pankuch G.A., Botti J.J.* Occult intraamniotic infection at the time of midtrimester genetic amniocentesis: a reassessment. *Infect Dis Obstet Gynecol* 1994; 2: 136–139.

16. *Han Y.W., Shen T., Chung P., Bubimtschi I.A., Bubimtschi C.C.* Uncultivated bacteria as etiologic agents of intra-amniotic inflammation leading to preterm birth. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 38–47.

17. *Tita A.T., Andrews W.W.* Diagnosis and management of clinical chorioamnionitis. *Clin Perinatol* 2010; 37: 339–354.

18. *Romero R., Chaemsaitbong P., Korzeniewski S.J., Kusanovic J.P., Docheva N., Martinez-Varea A. et al.* Clinical chorioamnionitis at term III: how well do clinical criteria perform in the identification of proven intra-amniotic infection? *J Perinat Med* 2016; 44: 23–32.

19. *Collado M.C., Rautava S., Aakko J., Isolauri E., Salminen S.* Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid. *Sci Rep* 2016; 6: 23129

20. *Дадаева Д.Г.* Микробиота плаценты и ее роль в развитии амниотической инфекции. *Журнал акушерства и женских болезней* 2020; 69 (1): 81–86.

21. Каганова М.А., Спиридонова Н.В. Устройство для сбора околоплодных вод. Патент РФ 198 317 U1; 30.06.2020.
22. Болдырева М.Н., Липова Е.В., Алексеев Л.П., Витвицкая Ю.Г., Гуськова И.А. Характеристика биоты урогенитального тракта у женщин репродуктивного возраста методом ПЦР в реальном времени. Журнал акушерства и женских болезней. 2009; LVIII (6): 36–42.
23. Сухих Г.Т., Прилепская В.Н., Трофимов Д.Ю., Донников А.Е., Айламазян Э.К. и др. Применение метода полимеразной цепной реакции в реальном времени для оценки микробиоценоза урогенитального тракта у женщин (тест «Фемофлор»): медицинская технология. М. 2011; 36.
24. Ворошилина Е.С., Тумбинская Л.В., Донников А.Е., Плотко Е.Э., Хаяутин Л.В. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной полимеразной цепной реакции: что есть норма? Акушерство и гинекология. 2011; 1: 57–65.
25. Ansbacher R., Boyson W.A., Morris J.A. Sterility of the uterine cavity. Am J Obstet Gynecol 1967; 99: 394–396.
26. Urushiyama D., Suda W., Obnishi E., Araki R., Kiyoshima Ch., Kurakazu M., Sanui A., Murata M., Nabeshima K., Yasunaga Sb., Saito Sb., Nomiya M., Hattori M., Miyamoto Sb., Hata K. Microbiome profile of the amniotic fluid as a predictive biomarker of perinatal outcome SCIENTIFIC Reports 2017; 7: 12171.
27. Solt I. The human microbiome and the great obstetrical syndromes: a new frontier in maternal-fetal medicine. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2015; 29: 165–175.
28. Parnell L.A., Briggs C.M., Cao B., Delannoy-Bruno O., Schrieffer A.E., Mysorekar I.U. Microbial communities in placentas from term normal pregnancy exhibit spatially variable profiles. Sci Rep 2017; 7: 11200.
29. Steel J.H., Malatos S., Kennea N., Edwards A.D., Miles L., Duggan P. et al. Bacteria and inflammatory cells in fetal membranes do not always cause preterm labor. Pediatr Res. 2005. 57: 404–411.
30. Combs C.A., Gravett M., Garite T.J. et al. Amniotic fluid infection, inflammation, and colonization in preterm labor with intact membranes. Am J Obstet Gynecol 2014; 210 (2): 125.e1–125.e15.
31. Combs C.A., Garite T.J., Lapidus J.A. et al. Detection of microbial invasion of the amniotic cavity by analysis of cervicovaginal proteins in women with preterm labor and intact membranes. Am J Obstet Gynecol 2015; 212 (4): 482.e1–482.e12.
32. Collado M.C., Ceranda M., Bäuierl Ch., Vento M., Pérez-Martínez G. Microbial ecology and host-microbiota interactions during early life stages. Gut Microbes 2012; 3 (4): 352–365.
33. Krieg N.R., Ludwig W., Whitman W., Hedlund B.P., Paster B.J., Staley J.T., Ward N., Brown D., Parte A. (Eds.) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2010; 925.
34. Younes J.A., Lievens E., Hummelen R., van der Westen R., Reid G., Petrova M.I. Women and their microbes: the unexpected friendship. Trends Microbiol 2017; 26: 16–32.
35. Bagga R., Arora P. Genital Micro-Organisms in Pregnancy. Front. Public Health 2020; 8: 225.

## REFERENCES

1. Biasucci G., Rubini M., Riboni S. et al. Mode of delivery affects the bacterial community in the newborn gut. *Early Hum Dev* 2010; 86 (1): 13–15.
2. Dominguez-Bello M.G., Costello E.K., Contreras M. et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial

microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107 (26): 11971–11975.

3. Zbu L., Luo F., Hu W. et al. Bacterial communities in the womb during healthy pregnancy. *Front Microbiol* 2018; 9: 2163.

4. Doyle R.M., Harris K., Kamiza S. et al. Bacterial communities found in placental tissues are associated with severe chorioamnionitis and adverse birth outcomes. *PLoS One* 2017; 12 (7): e0180167.

5. Parnell L.A., Briggs C.M., Cao B. et al. Microbial communities in placentas from term normal pregnancy exhibit spatially variable profiles. *Sci Rep* 2017; 7 (1): 11200.

6. Gomez-Arango L.F., Barrett H.L., McIntyre H.D. et al. Contributions of the maternal oral and gut microbiome to placental microbial colonization in overweight and obese pregnant women. *Sci Rep* 2017; 7 (1): 2860.

7. Leon L.J., Doyle R., Diez-Benavente E. et al. Enrichment of clinically relevant organisms in spontaneous preterm delivered placenta and reagent contamination across all clinical groups in a large UK pregnancy cohort. *Appl Environ Microbiol* 2018; 84 (14).

8. Prince A.L., Chu D.M., Seferovic M.D. et al. The perinatal microbiome and pregnancy: moving beyond the vaginal microbiome. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2015; 5 (6).

9. Kaganova M.A., Spiridonova N.V., Nesterenko S.A., Denisova N.G., Syresina S.V., Artyub Yu.A., Guryianova O.Yu. Analysis of the features of the labor and perinatal outcomes in isolated oligohydramnios. *Aspirantskiy Vestnik Povolzh'ya*. 2019; 5–6: 39–43 (in Russian).

10. Aagaard K., Ma J., Antony K.M., Ganu R., Petrosino J., Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med* 2014; 6: 237–265.

11. Rebbinder E.M., Lødrup K.C., Cathrine A.S., Angell I.L., Landrø L., Hilde K.,

Gaustad P., Rudi K. Is amniotic fluid of women with uncomplicated term pregnancies free of bacteria? *Am J Obstet Gynecol* 2018; 219 (3): 289.e1–289.e12.

12. Lim E.S., Rodriguez C., Holtz L.R. Amniotic fluid from healthy term pregnancies does not harbor a detectable microbial community. *Microbiome* 2018; 6: 87.

13. Fernandez H., Montuclard B., Guibert M. Does intraamniotic infection in the early phase of the second trimester really exist? *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175: 1077–1078.

14. Gervasi M.T., Romero R., Bracalente G., Erez O., Dong Z., Hassan S.S., Yeo L., Yoon B.H., Chaiworapongsa T. Midtrimester amniotic fluid concentrations of interleukin-6 and interferon-gamma-inducible protein-10: evidence for heterogeneity of intra-amniotic inflammation and associations with spontaneous early (32 weeks) preterm delivery. *J Perinat Med* 2012; 40: 329–343.

15. Cherouny P.H., Pankuch G.A., Botti J.J. Occult intraamniotic infection at the time of midtrimester genetic amniocentesis: a reassessment. *Infect Dis Obstet Gynecol* 1994; 2: 136–139.

16. Han Y.W., Shen T., Chung P., Bubimschi I.A., Bubimschi C.C. Uncultivated bacteria as etiologic agents of intra-amniotic inflammation leading to preterm birth. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 38–47.

17. Tita A.T., Andrews W.W. Diagnosis and management of clinical chorioamnionitis. *Clin Perinatol* 2010; 37: 339–354.

18. Romero R., Chaemsaitong P., Korzeniewski S.J., Kusanovic J.P., Docheva N., Martinez-Varea A. et al. Clinical chorioamnionitis at term III: how well do clinical criteria perform in the identification of proven intra-amniotic infection? *J Perinat Med*. 2016; 44: 23–32.

19. Collado M.C., Rautava S., Aakko J., Isolauri E., Salminen S. Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial

communities in the placenta and amniotic fluid. *Sci Rep* 2016; 6: 23129.

20. *Dadayeva D.G.* Placental microbiota and its role in the development of intra-amniotic infection. *Journal of obstetrics and women's diseases* 2020; 69 (1): 81–86 (in Russian).

21. *Kaganova M.A., Spiridonova N.V.* Amniotic fluid collection device. Patent RU 198 317 U1; 2020 (in Russian)

22. *Boldyreva M.N., Lipova E.V., Alekseyev L.P., Vitvitskaya Yu.G., Guskova I.A.* Characterization of the biota of the urogenital tract in women at the reproductive age by real-time PCR. *Zhurnal akusherstva i zbenskikh bolezney.* 2009; LVIII (6); 36–42 (in Russian).

23. *Sukbikh G.T., Prilepskaya V.N., Trofimov D.Yu., Donnikov A.E., Aylamazyan E.K. i soavt.* Application of the real-time polymerase chain reaction method to assess the microbiocenosis of womens' urogenital tract (femoflor test): medical technology. Moscow 2011. 36 (in Russian).

24. *Voroshilina E.S., Tumbinskaya L.V., Donnikov A.E., Plotko E.E., Kbayutin L.V.* Vaginal biocenosis in terms of quantitative polymerase chain reaction: what is the norm? *Akusherstvo i ginekologiya* 2011; 1: 57–65 (in Russian).

25. *Ansbacher R., Boyson W.A., Morris J.A.* Sterility of the uterine cavity. *Am J Obstet Gynecol* 1967; 99: 394–396.

26. *Urushiyama D., Suda W., Obnishi E., Araki R., Kiyoshima Ch., Kurakazu M., Sanui A., Murata M., Nabeshima K., Yasunaga Sh., Saito Sh., Nomiyama M., Hattori M., Miyamoto Sh., Hata K.* Microbiome profile of the amniotic fluid as a predictive biomarker of perinatal outcome. *SCIENTIFIC Reports* 2017; 7: 12171.

27. *Solt I.* The human microbiome and the great obstetrical syndromes: a new frontier in maternal-fetal medicine. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2015; 29: 165–175.

28. *Parnell L.A., Briggs C.M., Cao B., Delannoy-Bruno O., Schrieffer A.E., Mysorekar I.U.* Microbial communities in placentas from term normal pregnancy exhibit spatially variable profiles. *Sci Rep* 2017; 7: 11200.

29. *Steel J.H., Malatos S., Kennea N., Edwards A.D., Miles L., Duggan P. et al.* Bacteria and inflammatory cells in fetal membranes do not always cause preterm labor. *Pediatr Res* 2005; 57: 404–411.

30. *Combs C.A., Gravett M., Garite T.J. et al.* Amniotic fluid infection, inflammation, and colonization in preterm labor with intact membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2014; 210 (2): 125.e1–125.e15.

31. *Combs C.A., Garite T.J., Lapidus J.A. et al.* Detection of microbial invasion of the amniotic cavity by analysis of cervicovaginal proteins in women with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2015; 212 (4): 482.e1–482.e12.

32. *Collado M.C., Ceranda M., Bai erl Ch., Vento M., Pérez-Martínez G.* Microbial ecology and host-microbiota interactions during early life stages. *Gut Microbes.* 2012; 3 (4): 352–365.

33. *Krieg N.R., Ludwig W., Whitman W., Hedlund B.P., Paster B.J., Staley J.T., Ward N., Brown, D., Parte A. (Eds.)* Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2010; 925.

34. *Younes J.A., Lievens E., Hummelen R., van der Westen R., Reid G., Petrova M.I.* Women and their microbes: the unexpected friendship. *Trends Microbiol* 2017; 26: 16–32.

35. *Bagga R., Arora P.* Genital Microorganisms in Pregnancy. *Front. Public Health* 2020; 8: 225.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Материал поступил в редакцию 27.09.2020