

На правах рукописи

САВЧЕНКО ТАТЬЯНА НИКОЛАЕВНА

МИКРОЭКОЛОГИЯ НОВОРОЖДЕННЫХ

03.02.03 – микробиология

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук**

Волгоград 2011

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор

**Крамарь
Олег Григорьевич**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор

**Яковлев
Анатолий Трофимович**

доктор медицинских наук,
профессор

**Меринова
Людмила Константиновна**

доктор медицинских наук,
главный научный сотрудник

**Терновская
Лариса Николаевна**

Ведущая организация:

ГОУ «Саратовский государственный
медицинский университет»

Защита состоится «__» _____ 2011 года в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.008.06 по защите докторских и кандидатских диссертаций при Волгоградском государственном медицинском университете по адресу: 400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, д.1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» (400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, д.1).

Автореферат разослан «__» _____ 2011 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор социологических наук,
доцент

М.Д.Ковалева

Общая характеристика работы

Актуальность проблемы. Обеспечение здоровья детского населения является важнейшей медико-социальной задачей, микробиологический аспект которой в общем виде может быть сформулирован как правильная закладка и формирование нормальной микрофлоры новорожденных (Г.А. Самсыгина, 2003; Е.М.Булатова, 2006).

У детей, живущих в городах с развитой химической промышленностью, при длительном воздействии неблагоприятных факторов происходит замедленное становление бифидо- и лактофлоры, что способствует нарушению формирования микрoэкологического и иммунобиологического статусов, снижению резистентности организма ребенка, возникновению с первых месяцев жизни стойких дисбиотических нарушений, затяжному течению заболеваний, развитию инфекционных и аллергических осложнений (Р.Б.Целкович, 2004; Л.И. Кафарская, 2006; Т.А.Федотова, 2006; Н.И.Урсова, 2008; С.П.Кокорева, 2008; Н.И.Karlsson, 2002).

Однако, в литературе вопросы колонизации и последующего формирования симбиотической микрофлоры новорожденных освещены фрагментарно. Большинство исследователей изучает микробиоценоз отдельного биотопа, чаще всего, толстого кишечника, что не позволяет сформировать целостного представления о становлении, модификации и функционировании микрoэкоcистемы ребенка.

Малоизученным остается вопрос влияния техногенных экотоксикантов на микрoэкологию женщин репродуктивного возраста в разные физиологические периоды, связанные с деторождением. В то же время, исследованиями ряда авторов (Н.А.Фролова, 2002; Л.Я.Плахий с соавт., 2003; Р.Б.Целкович, 2004; П.В.Буданов, 2005; Н.Г.Кошелева, 2006; Р.Е.Perez, 2007) показано, что микробиоценоз кишечника и влагалища матери влияет на формирование микрoэкоcистемы ребенка и характер течения периода новорожденности.

В литературе имеются немногочисленные сведения о воздействии экзогенных факторов на микрофлору человека (Л.А.Леванова, 2002; Л.Я.Плахий с соавт., 2003; Ю.В.Новиков, 2005; Л.В.Тонкушина, 2009). Загрязнение атмосферы промышленными выбросами нарушает экологическое равновесие в природе и изменяет состав и свойства микрофлоры внешней среды и человека. Вследствие этого повышается активность потенциально патогенных микроорганизмов, способных вызывать заболевания (В.М. Бондаренко, 2007; В.В.Кутырев с соавт., 2007; Л.В.Михайлова, 2011). Учитывая малую вероятность полного оздоровления окружающей среды в ближайшее время, формирование и поддержание оптимальных микробиоценозов и их коррекция при дисбиозах является важной задачей как для сохранения здоровья отдельных людей, так и человеческой популяции в целом.

До настоящего времени подробному исследованию подвергались биологические свойства представителей патогенной и условно-патогенной микрофлоры и лишь немногие работы посвящены нормальным симбионтам человеческого организма, их экологии в современном мире.

Как представители нормофлоры, лактобациллы играют важную роль в поддержании нормобиоценоза большинства биотопов человека, выполняют многочисленные функции, являются показателем микроэкологического благополучия макроорганизма (Т.В.Гасилина, 2009; С.G.Vinderola, 2004; R.I.Martin, 2005). Видовой и численный состав лактофлоры различных биотопов неоднозначен и может изменяться в зависимости от состояния макроорганизма (Б.А.Шендеров, 2001,2005; С.В.Черкасов, 2003; G.H.Perdigon, 2001; M.A.Antonio et al., 2005). Между тем, качественные и количественные характеристики лактобацилл, колонизирующих жителей неравнозначных по техногенному прессингу районов, до сих пор не изучались. Открытым остается вопрос о видовом составе и биологических свойствах этих симбионтов у лиц с нормоценозом и дисбиозом биотопов.

По мнению Г.С.Бусуек с соавт. (2003), Е.М.Булатовой (2006), Л.И.Кафарской (2006), М.М.Gronlund (1999, 2000) у новорожденных с нор-

мальным микробиоценозом отмечается меньшая обсемененность внутрибольничными штаммами, в связи с чем является перспективным искусственное заселение их бактериями-симбионтами. Однако, направленная микробная колонизация является еще недостаточно разработанным методом профилактики бактериальных инфекций у новорожденных и гнойно-воспалительных осложнений у родильниц, что диктует необходимость продолжить исследования в этом направлении.

В связи с вышеизложенным, **целью** работы явилось определение основных закономерностей формирования микроекосистемы новорожденного в зависимости от микробного статуса матери и условий окружающей среды, разработка методов прогнозирования и биологической коррекции микрофлоры матери и ребенка.

Для реализации указанной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Изучить динамику становления орального, кожного и кишечного микробиоценозов новорожденного в зависимости от микробиологического статуса матери.
2. Раскрыть закономерности и механизмы нарушения естественных микробиосистем человека в условиях техногенного загрязнения окружающей среды.
3. Определить качественный и количественный состав, а также распространенность условно-патогенных микроорганизмов в диаде «мать-дитя» в неравнозначных по техногенному прессингу районах.
4. Выявить основные биологические, персистентные и молекулярно-генетические характеристики микробов-ассоциантов матери, установить их роль в формировании микроекосистемы новорожденного.
5. Определить видовой состав оральной, фекальной и вагинальной лактофлоры матери и ребенка, как одного из основных симбионтов макроорганизма; провести сравнительный анализ ее качественных и количественных характеристик в зависимости от условий среды обитания.
6. Оценить комплекс биологических, персистентных свойств и молекулярно-генетический профиль лактобацилл открытых биосистем матери и их роль

в обеспечении колонизационной резистентности организма новорожденного, выявить доминирующие виды в различных экологических нишах.

7. Дать микроэкологическую оценку основных биоценозов женщин репродуктивного возраста в различные физиологические периоды, связанные с деторождением, и их новорожденных детей в регионах крупного промышленного города с неравнозначным техногенным прессингом.

8. Разработать критерии прогнозирования формирования микроэкосистемы новорожденного в зависимости от микробиологического статуса матери и условий внешней среды.

9. Обосновать биокоррекцию для защиты открытых биосистем организма матери и ребенка от колонизации условно-патогенными бактериями и профилактики развития дисбиотических и гнойно-воспалительных послеродовых осложнений.

Научная новизна

Впервые изучены микробиоценозы кожи, полости рта, кишечника и влагалища женщин репродуктивного возраста в различные физиологические периоды, связанные с деторождением, проживающих в трех модельных районах крупного промышленного города с неравнозначным техногенным прессингом.

Показана динамика становления микроэкологической системы новорожденных в зависимости от микробного статуса матери и условий среды обитания.

Выявлены основные биологические, персистентные и молекулярно-генетические характеристики условно-патогенных микробов-ассоциантов матери и их роль в формировании открытых экосистем новорожденного.

Проанализирован видовой и количественный состав оральной, фекальной и вагинальной лактофлоры в диаде «мать-дитя», как одного из основных компонентов нормальной микрофлоры соответствующих биотопов, выявлены доминантные виды.

Оценен комплекс биологических свойств и молекулярно-генетический профиль лактобацилл, колонизирующих различные экологические ниши,

проведен корреляционный анализ их качественных и количественных характеристик в зависимости от состояния микробиоты и топодема обследования.

Разработаны методы прогнозирования формирования микрэкосистемы новорожденного. Сформулированы рекомендации биокоррекции микрофлоры матери и ребенка.

Практическая значимость работы

Впервые проведен анализ динамики формирования микробиоценозов основных биотопов новорожденных, установлены качественные и количественные характеристики представителей облигатной и условно-патогенной микрофлоры матери и ребенка, проживающих в районах крупного промышленного города с неравнозначным техногенным прессингом. Обоснована совокупность факторов, определяющих становление микрофлоры новорожденного.

Разработаны принципы прогнозирования формирования микрэкосистемы новорожденного в зависимости от микрoэкологического статуса матери и условий внешней среды.

Определена эффективность применения лактосодержащих пробиотиков, сформулированы рекомендации биокоррекции микрофлоры матери и ребенка.

По результатам работы оформлено 7 рационализаторских предложений: «Способ прогностической оценки неспецифической резистентности кожи новорожденного по микрофлоре беременной женщины», «Метод определения микрококков в кожном микробиоценозе у детей, критерии оценки микробиоценоза влагалища», «Метод коррекции микрофлоры кожи молочной железы препаратом "Наринэ"», «Способ оценки колонизационной резистентности репродуктивного тракта женщины», «Прогностическая оценка колонизационной резистентности кишечника новорожденных по фекальной и вагинальной лактофлоре матери», «Оценка биосовместимости штаммов лактобацилл» (рац.пред.№№ 26 - 25.05.11; 27 - 25.05.11; 28 – 25.05.11; 29 - 25.05.11; 30 – 27.05.11; 31- 27.05.11; 32 – 27.05.11).

Опубликованы методические рекомендации для врачей «Колонизация микроорганизмами кожи в норме и патологии», 2003; «Микробиологический мониторинг и коррекция микробного статуса беременных», 2011; «Памятка для беременных», 2010; учебные пособия для студентов, аспирантов и ординаторов «Практикум по микробиологии» (УМО – 198 от 08.04.03); «Микрофлора новорожденных, ее становление» (УМО -195 от 08.04.03).

Результаты работы внедрены в практическую работу Волгоградского перинатального центра, научно-диагностической бактериологической лаборатории микроэкологии человека, учебный процесс на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии с курсом клинической микробиологии Волгоградского государственного медицинского университета, включены в курс лекций и практических занятий для студентов, интернов и клинических ординаторов.

Положения, выносимые на защиту

1. Микроэкологический статус матери играет ведущую роль в формировании микроэкосистемы новорожденного.
2. Структура основных микробиоценозов женского организма зависит от условий среды обитания и динамически изменяется в различные физиологические периоды, связанные с деторождением.
3. Неблагополучная экологическая обстановка приводит к иерархическому изменению микрофлоры открытых экосистем женского организма, заключающемуся в снижении доминирования и экологической значимости нормальных симбионтов и возрастании роли условно-патогенных микроорганизмов, а также к изменению их основных биологических и персистентных характеристик.
4. Задержка становления микроэкологической системы наблюдается у детей, рожденных женщинами с нарушением кишечного и вагинального микробиоценозов, в сравнении с младенцами, появившимися на свет от матерей с эубиозом этих микробиот. Группу риска формирования патобиоценоза и развития дисбактериоза составляют новорожденные в экологически неблагоприятных районах.

5. Штаммы лактобацилл, изолированные у женщин с нормоценозом основных биотопов, проживающих в условно «экологически чистом» модельном районе, обладают высокими значениями свойств, определяющих их колонизирующую и антагонистическую способность. Значительный уровень антибиотикорезистентности и низкие показатели биологической активности обнаружены у лактобацилл, выделенных от лиц с дисбактериозом в «техногенно-агрессивных» топодемах.

6. Данные мониторингового клинико-микробиологического наблюдения позволяют определить группы риска развития дисбактериоза и гнойно-воспалительных послеродовых осложнений у матери и ребенка и на этой основе разработать мероприятия по профилактике и коррекции возникающих микробиологических нарушений.

Апробация работы

Материалы исследований доложены на научных сессиях ВолгГМУ (2007, 2008, 2009, 2010, 2011 гг), 55-й региональной конференции профессорско-преподавательского коллектива ВолгГМУ «Современная инновационная медицина – населению Волгоградской области» 2008, региональной конференции «Инновационные достижения фундаментальных и прикладных медицинских исследований в развитии здравоохранения Волгоградской области» 2010, научно-практической конференции для врачей-бактериологов медицинских учреждений Волгоградской области «Современные подходы повышения качества исследований в клинической бактериологии» 13.04.2011, международных научных конференциях «Новые технологии, инновации, изобретения» 18-23 марта 2011г, Мальдивские острова и «Инновационные медицинские технологии» 16-25 марта 2011 г, Россия-Франция (Москва-Париж).

Публикация результатов работы

По материалам диссертации опубликовано 47 научных работ, из них 12 – в журналах, лицензированных ВАК РФ, 5 – в изданиях с международным участием.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 283 страницах машинописного текста, иллюстрирована 34 рисунками и 48 таблицами, состоит из введения, обзора литературы, 12 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и указателя литературы, включающего 225 отечественных и 214 зарубежных источников.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнялась в течение 1995-2010 гг. на базе научно-исследовательской бактериологической лаборатории микроэкологии человека кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ГОУ ВПО ВолгоГМУ, лаборатории молекулярной генетики ФГУЗ Волгоград НИПЧИ Роспотребнадзора, роддома № 1 МУЗ Тракторозаводского района (северный топодем), клинического роддома № 2 Центрального района (центральный топодем), роддома № 7 Советского района, роддома № 3 МУЗ Кировского района (южный топодем), женских и детских консультаций соответствующих районов. В диссертации использованы многолетние данные Роспотребнадзора г. Волгограда по погодно-климатическим условиям и характеру техногенного загрязнения атмосферного воздуха модельных территорий.

Материалы и методы исследования

Для решения поставленных задач нами было обследовано 1067 человек, из них 291 небеременная, 388 беременных (до и после родов) и 388 новорожденных в трех топодамах г. Волгограда с неравнозначным экологическим прессингом.

Волгоград - один из крупнейших промышленных центров Нижнего Поволжья. Мощные предприятия сконцентрированы преимущественно на южных и северных территориях, которые традиционно рассматриваются как экологически неблагоприятные, отличающиеся высоким техногенным прессингом на население. Эти особенности планирования города определили возможность выделения трех модельных территорий с разными характеристиками загрязнения окружаю-

щей среды: «юг», где сосредоточены предприятия химической промышленности, «север» - с развитым машиностроительным и металлургическим производством и условно благополучный «центр».

Наблюдаемые женщины проживали в районах обследования не менее пяти лет.

Дан анализ микробиоценозов: у женщин - 9 биотопов кожных покровов, слизистых оболочек полости рта и влагалища, содержимого кишечника; у новорожденных - 9 биотопов кожных покровов, слизистой полости рта, испражнений. Все дети обследованы в динамике на протяжении первого месяца жизни: в возрасте 1, 3, 5 суток (при выписке из родильного отделения) и 1 месяц (окончание неонатального периода).

Проанализированы обменные карты беременных (ф.-3), истории родов (ф.096-У), истории развития ребенка в ЛПУ (ф.112-У). Изучение анамнеза обследованных матерей и их детей осуществлялось при помощи специально разработанных анкет.

При отборе пар мать — дитя проведена рандомизация с учётом следующих критериев: возраст матери от 19 до 36 лет, срок беременности 36 - 40 недель, родоразрешение - через естественные родовые пути, отсутствие на момент обследования воспалительных заболеваний генитального и кишечного трактов, обострения хронических заболеваний, антимикробной терапии.

После проведения комплексного клиничко - микробиологического обследования в зависимости от результатов бактериологического скрининга все беременные были разделены на 3 группы: 1-ю группу составили пациентки с нормоценозом кишечника и влагалища, 2-ю - женщины с нарушением вагинального и 3-ю — с дисбалансом вагинального и кишечного микробиоценозов.

Сравнительному анализу подвергались младенцы, рожденные в срок через естественные родовые пути, приложенные к груди в 1-е часы жизни, пребывающие в родильном доме совместно с матерью и находящиеся на грудном вскармливании.

Новорожденные были разделены соответственно группам их матерей: 1-ю составили дети, рожденные женщинами с нормоценозом влагалища и кишечника; 2-ю - с дисбиозом влагалища; 3-ю - с дисбиозом обоих биотопов.

В работе использованы клинические, микробиологические, молекулярно-генетические, микрoэкологические и статистические методы исследования.

Для изучения кожного микробиоценоза забор материала проводили по методике В.С.Крамарь с соавт.(1991). Микрофлора полости рта определялась согласно Naenel (1979) в модификации С.К. Канарейкиной с соавт. (1981). Качественный и количественный состав фекальной и вагинальной микрофлоры исследовали в соответствии с методическими рекомендациями В.С.Крамарь (1994) и В.М.Коршунова с соавт. (1997).

Количество микробов каждого вида в 1 г клинического образца устанавливали по числу колоний, выросших на дифференциально-диагностических питательных средах с пересчетом на единицу посевного материала. Выделенные чистые культуры идентифицировали по морфологическим, тинкториальным, культуральным и биохимическим свойствам согласно определителю Берджи (1997).

Идентификацию энтеробактерий проводили с использованием отечественных микротестов для идентификации микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae*, выпускаемых Санкт-Петербургским НИИ эпидемиологии и микробиологии МЗ РФ им. Пастера (МТС-М-12 Е).

Анаэробные микроорганизмы культивировали в микроанаэротатах системы GasPak в присутствии палладиевых катализаторов и индикаторных ризазуриновых систем (OXOZD, Англия). Биохимическая идентификация лактобацилл производилась при помощи тест системы API 50 CHL.

Дрожжеподобные грибы дифференцировали до вида по типу филаментации, а также наличию хламидоспор и ферментативной активности по схеме, предложенной Р.Н.Ребровой (1989) и П.Н.Кашкиным с соавт.(1983).

Стафилококки изучались в соответствии с приказом МЗ № 691 от 21.12.1989 года и методическими рекомендациями А.К.Акатова с соавт.(1989) с использованием диагностических систем: 1) пластины биохимические, дифференцирующие стафилококки (ПБДС) «Диагностические системы» Н-Новгород; 2) набора СТАФИтест 16 (PLIVA-Lachema Diagnostika).

Выделенные чистые культуры микроорганизмов тестировали на наличие факторов патогенности (плазмокоагулазы, лецитоветиллазы, гиалуронидазы, гемолизина, ДНК- и РНК-нуклеазы), персистентных свойств (лизоцимной, антилизоцимной, антиинтерфероновой активности) и чувствительности к 20 антибиотикам методом стандартных дисков.

Качественное наличие и количественная выраженность признака антилизоцимной активности микроорганизмов определялись по методике О.В. Бухарина с соавт. (2000). Антиинтерфероновая активность (АИА) изучалась по методу О.В.Бухарина и В.Ю.Соколовой (1990). Исследование адгезивных свойств микроорганизмов проводилось по методике В.И. Брилис с соавт. (1986). Бактериоциногенность культур определяли по методу Мюррея - Шервуда (1947; 1949) в модификации Б.Я. Усвяцова (2006).

Анализ структуры микробиоценозов проводили с помощью методов микроэкологической оценки популяций микроорганизмов: индексов флористической значимости (М.П.Наткевичайте-Иванаускене, 1985), видового разнообразия сообщества микроорганизмов (по формуле R.Margalef,1958), доминирования вида (по формуле Р.Уиттекера, 1980). Оценка сходства бактериальных сообществ при дисбактериозе проводилась по показателям коэффициента общности и процентного сходства (Whittakker R.H., 1980).

Молекулярно-генетическое исследование выделенных культур осуществляли с помощью ПЦР. Тотальную ДНК выделяли с использованием модифицированного метода J.Marmur. ДНК растворяли в ТЕ-буфере, определяли концентрацию на спектрофотометре GeneQuant («Amersham Biosciences», США).

Аmplификацию ДНК проводили с соблюдением требований к проведению ПЦР на программируемом термоциклере «Терцик» (НПФ «ДНК-технология», Москва) с использованием «горячего старта». Фото пленки RAPD-паттернов сканировали при помощи слайд-адаптера. Для обработки ДНК-профилей использовали программу RFLPscan 3.12 (CSP Inc., USA). В результате получали RAPD-паттерны каждого штамма в виде бинарной характеристики признаков, где «1» – наличие признака (ампликона определенного размера), «0» – его отсутствие.

Кластерный анализ и графическое отображение матриц коэффициентов сходства проводили при помощи программы TreeCon for Windows v.1.3b. Группирование штаммов и построение дендрограмм проводили при помощи невзвешенного парно-группового метода UPGMA.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием стандартных программ «STATISTICA 5.0» и MS Excel 2003 в среде Windows XP в автоматическом режиме и режиме программирования (В.И.Крутов, В.В.Попов, 1989; В.К.Юрьев, 1993; В.М.Зайцев с соавт., 2003).

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ кожного, кишечного и вагинального микробиоценозов женщин репродуктивного возраста выявил, что при беременности плотность микробных популяций на всех биотопах возрастает. У жительниц экологически неблагоприятных территорий, наряду с увеличением общей микробной обсемененности, наблюдалось уменьшение удельного веса нормальных симбионтов и увеличение численности и частоты встречаемости условно-патогенных микроорганизмов.

Так, в кишечном содержимом беременных всех обследуемых групп зарегистрировано достоверное снижение бифидобактерий и повышение количества лактозонегативных эшерихий, клебсиелл, протей и дрожжеподобных грибов рода *Candida* по сравнению с небеременными (табл. 1).

Таблица 1

Микрофлора толстого кишечника небеременных и беременных женщин ((M±m; lg КОЕ/г)

Микроорганизмы	Группы обследуемых		Достоверность
	Небеременные	Беременные	
Bifidobacterium spp.	8,7 ± 0,1	7,8 ± 0,2	p < 0,05
Lactobacillus spp.	6,9 ± 0,1	6,6 ± 0,1	p > 0,05
Escherichia coli	7,2 ± 0,2	7,0 ± 0,4	P > 0,05
лактозонегативные	5,6 ± 0,3	7,1 ± 0,4	p < 0,05
гемолитические	4,8 ± 0,4	6,2 ± 0,3	p < 0,05
Staphylococcus epidermidis	4,2 ± 0,1	6,8 ± 0,5	p > 0,05
Staphylococcus aureus	3,8 ± 0,4	5,4 ± 0,3	p < 0,05
Enterococcus spp.	4,8 ± 0,1	6,1 ± 0,2	p < 0,05
Klebsiella spp.	3,9 ± 0,1	5,2 ± 0,3	p < 0,05
Citrobacter spp.	3,3 ± 0,2	3,2 ± 0,3	p > 0,05
Proteus spp.	3,1 ± 0,1	4,8 ± 0,2	p < 0,05
Enterobacter spp.	3,6 ± 0,3	3,5 ± 0,1	p > 0,05
Candida spp.	3,7 ± 0,2	5,1 ± 0,2	p < 0,05

Показатели кишечного нормоценоза были зарегистрированы у 41,7% (табл.2) беременных, что достоверно ниже, чем у небеременных (47,8%; p < 0,05). Незначительно возросло число лиц с нарушением микробиоценоза I (с 26,8 до 31,2%; p < 0,05) и III степени (с 7,2 до 11,1%; p > 0,05).

Таблица 2

Микробиоценоз кишечника беременных женщин обследуемых групп (P; %)

Ценотип	Север		Центр		Юг		Всего		Достоверность
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
Нормоценоз	51	31,5	65	40,1	46	28,4	162	41,7	P _{1,3-2} < 0,05
Дисбактериоз I степени	37	30,6	48	39,7	36	29,7	121	31,2	P _{1,3-2} < 0,05
II степени	25	40,3	13	21,0	24	38,7	62	16,0	P _{1,3-2} < 0,05
III степени	11	25,6	10	23,2	22	51,2	43	11,1	P _{1,2-3} < 0,05
Всего	124	32,0	136	35,1	128	32,9	388	100,0	

Дисбиотические нарушения II степени достоверно чаще регистрировались у беременных северного, а III степени - южного топодемов (p < 0,05). Таким образом, при беременности границы кишечного дисбиоза расширяются.

После родов средняя микробная обсемененность по всем биотопам снизилась по сравнению с беременными, но не достигла исходного уровня у небеременных ($p > 0,05$).

При этом у родильниц, проживающих в районах с высокой техногенной нагрузкой, дисбаланс микрофлоры основных биотопов нарастал, что выразилось в дальнейшем снижении удельного веса представителей нормальной и возрастании уровня условно-патогенной микрофлоры.

Нормоценоз кишечника зарегистрирован у 37,1% родильниц, что достоверно ниже, чем у беременных ($p < 0,05$). Незначительно возросло число лиц с нарушением микробиоценоза I (с 31,2 до 36,4 %; $p > 0,05$) и снижение III степени (с 11,4 до 10,2%; $p > 0,05$).

Таблица 3

Микробиоценоз кишечника родильниц

Ценотип	Север		Центр		Юг		Всего		Достоверность
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
Нормоценоз	51	31,5	65	40,1	46	28,4	162	37,1	$P_{1,3-2} < 0,05$
Дисбактериоз I степени	37	30,6	48	39,7	36	29,7	121	36,4	$P_{1,3-2} < 0,05$
II степени	25	40,3	13	21,0	24	38,7	62	16,3	$P_{1,2-3} < 0,05$
III степени	11	25,6	10	23,2	22	51,2	43	10,2	$P_{1,2-3} < 0,05$
Всего	124	32,0	136	35,1	128	32,9	388	100,0	

На этом фоне более глубокие дисбиотические сдвиги наблюдались у женщин южного модельного района, у которых показатели нормоценоза были наименьшими, а дисбактериоза – наибольшими в группе родильниц (табл.3).

Полученные данные свидетельствуют о том, что обстановка «техногенного прессинга» в районе проживания приводит к изменениям таксономической структуры кишечного микробиоценоза: снижению количества нормальных симбионтов и, как следствие, повышению содержания УПМ и возникновению дисбактериоза.

Исследование вагинального микробиоценоза у беременных показало увеличение общей микробной обсемененности родовых путей от $1g\ 8,4 \pm 1,9$ до $1g\ 9,2 \pm 1,9$ КОЕ/г ($p < 0,05$), частоты встречаемости бифидобактерий (до 86,7, $1g\ 4,8 \pm 0,2$ КОЕ/г), лактобацилл (до 90,0 %, $1g\ 6,9 \pm 0,9$ КОЕ /г), а также дрожжепо-

добных грибов (до 26,7 %, lg 3,8±0,4 КОЕ /г; p < 0,05) по сравнению с небеременными.

Одновременно отмечено снижение удельного веса стафилококков (до 56,7 %, lg 2,9±1,3 КОЕ /г; p < 0,05), энтеробактерий (до 20,0 %, lg 1,6±0,5 КОЕ /г; p < 0,05), энтерококков (до 23,3 %, lg 2,4±0,8 КОЕ /г; p < 0,05).

В микробиоценозе влагалища у беременных центрального топодема произошли существенные изменения: возросла плотность микробных популяций лактобацилл и бифидобактерий по сравнению с небеременными (p < 0,05), вместе с этим достоверно снизился удельный вес УПМ (p < 0,05).

У беременных экологически неблагополучных северного и южного топодемов также зарегистрировано увеличение плотности микробных популяций вагинальной биоты по сравнению с небеременными. Однако, снижение уровня лактобацилл и бифидобактерий сопровождалось повышением удельного веса условно-патогенных микроорганизмов: коагулазо положительных стафилококков, энтеробактерий, дрожжеподобных грибов.

При этом самые высокие показатели обсемененности влагалища условно-патогенной микрофлорой были выявлены у женщин, проживающих в южном топодеме.

У беременных северного и южного модельных районов достоверно чаще

Таблица 4

Микробиоценоз влагалища беременных женщин (Р; %)

Ценотип	Север		Центр		Юг		Всего		Досто- верность
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
Нормоценоз	35	28,2	57	45,9	32	25,9	124	31,9	P _{1,2-3} < 0,05
Дисбиоз									
I степени	51	34,7	51	34,7	45	30,6	147	37,9	P _{1,2-3} < 0,05
II степени	26	30,6	24	28,2	35	41,2	85	21,9	P _{1,2-3} < 0,05
III степени	12	37,5	4	12,5	16	50,0	32	8,3	P ₁₋₂₋₃ < 0,05
Всего	124	32,0	136	35,1	128	32,9	388	100,0	

регистрировался дисбиоз влагалища II и III степени (табл.4) по сравнению с небеременными этих топодемов и беременными группы сравнения (p < 0,05).

Таким образом, несмотря на улучшение, в среднем, микробиологического статуса влагалища перед родами, у беременных, проживающих в районах с высоким уровнем техногенной нагрузки, данный показатель ухудшился.

В составе вагинальной микробиоты **после родов** зарегистрированы качественные и количественные изменения. У рожениц, живущих в районах с высоким техногенным прессингом, отмечаются глубокие структурные изменения вагинальной микробиоты по сравнению с обследуемыми группы сравнения, заключающиеся в снижении удельного веса молочнокислой и возрастании транзитной микрофлоры (табл.5).

Таблица 5

Вагинальный микробиоценоз рожениц

Микроорганизм	Центр		Север		Юг		Досто- верность
	P, %	M±m, lg КОЕ/г	P,%	M±m, lgКОЕ/г	P,%	M±m, lg КОЕ/г	
Бифидобактерии	93,8	5,1±0,2	77,3	3,7±0,3	67,4	3,0±0,6	P ₁₋₂₋₃ <0,05
Лактобактерии	87,5	6,8±1,2	78,2	5,6±0,8	61	5,0±0,4	P ₁₋₂₋₃ <0,05
Энтеробактерии	25,0	1,8±0,1	27,3	1,8±0,6	32,3	3,7±0,2	P _{1,2-3} <0,05
Стафилококки(КОС)	59,4	2,8±1,6	66,7	2,9±1,1	58,1	4,1±0,3	P _{1,3-2} <0,05
Стафилококки(КПС)	25,0	1,2±0,1	27,3	1,5±0,2	32,3	3,5±0,6	P _{1,2-3} <0,05
Энтерококки	28,1	2,3±0,6	27,3	2,6±0,5	25,8	3,2±0,4	P _{1,3-2} <0,05
Дрожжеподобные грибы	21,9	2,6±0,5	42,4	4,0±0,5	61,3	5,3±0,6	P ₁₋₂₋₃ <0,05

На фоне снижения колонизационной резистентности родовых путей в период беременности и, особенно, после родов у жительниц техногенно-агрессивных районов создаются благоприятные условия для возникновения дисбиотических и воспалительных осложнений .

Для выявления взаимосвязей между микрoэкологическим статусом различных биотопов у женщин был проведен корреляционный анализ. Установлено, что основные характеристики кожной микрофлоры (плотность микробных популяций, частота встречаемости и обсемененность УПМ, степень дисбиотических отклонений) положительно коррелировали с таковыми кишечного и влагалищного микробиоценозов.

Получены положительные коэффициенты корреляции при оценке взаимосвязи микробного статуса влагалища и кишечника ($r=0,68$; $p < 0.01$), микро-

экологии кишечника и кожи ($\gamma=0,51$; $p<0,01$), влагалища и кожи ($\gamma= 0,46$; $p<0,01$) обследованных женщин.

Учитывая характер причин, способствующих нарушению нормоценоза и исходя из представлений о микрoэкологической системе человека как совокупности микроценозов, мы считаем более целесообразным говорить не об отклонениях от нормы в отдельном биотопе, а о едином дисбиотическом процессе в организме с доминирующим проявлением в репродуктивной, пищеварительной, кожной или любой другой системе.

Следующим этапом нашей работы явился анализ особенностей становления микробиоценозов основных биотопов новорожденных детей в зависимости от микрoэкологического статуса матери.

С этой целью обследуемые дети (388) были распределены по следующим группам: 1 группу составили 124 ребенка (31,9%), рожденные женщинами с эубиозом кишечника и влагалища, во 2 – ю вошли 147 младенцев (37,9%) от матерей с дисбиозом влагалища, 3 – ю – составили 117 человек (30,2%) от матерей с дисбиозом обоих биотопов (табл.6).

Таблица 6

Распределение новорожденных по группам

Группа новорожденных	Север		Центр		Юг		Всего	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
1	42	33,9	54	43,5	28	22,6	124	31,9
2	46	31,3	51	34,7	50	34,0	147	37,9
3	36	30,8	31	26,5	50	42,7	117	30,2
Всего	124	32,0	136	35,1	128	32,9	388	100,0

Установлено, что уже в первые часы жизни кожа всех обследованных новорожденных не была стерильной. Заселение микроорганизмами различных ее биотипов происходило с определенной закономерностью.

Уровень бактериальной обсемененности, минимальный в первые сутки, стремительно нарастал к третьему дню, после чего интенсивность контаминации снижалась. На шестые сутки происходило перераспределение микроорганизмов, изменение соотношения уровней обсемененности по биотопам. К концу первой недели жизни процесс колонизации стабилизировался.

Микрофлора кожи новорожденных, появившихся на свет у матерей с дисбалансом кишечного и вагинального (3-я группа) или только вагинального микробиоценоза (2-я группа), отличается от таковой у детей группы сравнения (1-я группа) по качественному и количественному составу. Выявлено, что удельный вес коагулазоотрицательных стафилококков, микрококков и коринебактерий был достоверно ниже, а встречаемость и обсемененность условно-патогенными микроорганизмами достоверно выше у детей 2-й и 3-й групп, по сравнению с 1-й. Эти отклонения в большей степени были выражены у новорожденных, матери которых имели дисбаланс микрофлоры обоих биотопов (3-я группа).

В микробиоценозе полости рта детей, рожденных женщинами с эубиозом кишечника и влагалища, к концу первой недели преобладающей микрофлорой явились представители резидентной флоры: лактобациллы (100,0 %, lg 4,6±0,6 КОЕ/ ед.суб.), бифидобактерии (75,0%; lg 2,7± 0,3 КОЕ/ ед.суб.), непатогенные стрептококки: *S.mitis* (50,0 %, lg3,5±0,5 КОЕ/ ед.суб.), *S.salivarius* (75,0%; lg 3,2±0,2 КОЕ/ ед.суб.), *S.sangvis* (59,7 %; lg 2,4± 0,6 КОЕ/ед.суб.); коагулазоотрицательные стафилококки: *S.epidermidis* (75,0 %; lg 3,4±0,6 КОЕ/ед.суб.). Представители транзитной микрофлоры обнаружены в небольшом проценте наблюдений и обсемененность ими была незначительной: *S.mutans* (12,1%; lg 2,2±0,2 КОЕ/ед.суб.), *S.aureus* (25,0 %; lg 2,2±0,8 КОЕ/ед.суб.), *Klebsiellae* (9,7 % ; lg 1,4±0,4 КОЕ/ ед.суб.), эшерихии (4,8 %; lg1,1±0,3 КОЕ/ед.суб.), грибы рода *Candida* (12,1%; lg 2,2±0,8 КОЕ/ ед.суб.).

Микробиота полости рта младенцев, рожденных женщинами с нарушениями микробной экологии влагалища и кишечника (2-я и 3-я группы) отличался от такового в группе сравнения достоверно меньшим содержанием резидентных и большей представленностью условно-патогенных видов.

Формирование кишечного микробиоценоза у здоровых доношенных детей, составивших три клинические группы, происходило различно. Так, у здоровых доношенных детей, рожденных женщинами с нормоценозом кишечника и влагалища, микрофлора кишечника характеризовалась ранним появлением в пищеварительном тракте лактобацилл и бифидобактерий, частота встречаемости и количество которых увеличивались в динамике первой недели жизни и к шестым суткам определялись в фекалиях всех детей в количествах $\lg 9 - 10$ КОЕ/г.

У младенцев второй группы установлено снижение удельного веса бифидобактерий и лактобацилл до $\lg 6 - 7$ и $\lg 5$ КОЕ/г соответственно. Такие представители как протей, цитробактер, энтеробактер выявлялись у них транзиторно, поэтому не могут считаться типичными для кишечного биоценоза здоровых детей.

У здоровых доношенных новорожденных третьей группы с первой недели жизни микробиоценоз кишечника носил дисбиотический характер, что обусловлено высоким удельным весом у 43,6 % (51) детей условно-патогенных микроорганизмов, таких как клебсиеллы, стафилококки, цитробактер, протей и энтеробактер и низким содержанием лакто- и бифидобактерий ($\lg 3 - 4$ и $\lg 4 - 5$ КОЕ/г соответственно). *E.coli* в половине случаев обладали сниженной ферментативной активностью. Следовательно, у детей данной группы фаза нарастающей инфекции пищеварительного тракта пролонгирована по времени и ее трансформации к концу первой недели жизни не происходит. У новорожденных формируется дисбактериоз кишечника, одной из характерных черт которого является заселение кишечника условно-патогенными микроорганизмами.

Выявлена прямая корреляционная связь между наличием дисбиоза кишечника и влагалища у матери и развитием дисбиотических отклонений в микрофлоре кожи у младенцев ($r=0,48$; $p < 0.01$), в микробиоценозе полости рта ($r=0,62$; $p < 0.01$) и кишечника у детей в возрасте 6 суток жизни ($r=0,68$; $p < 0.05$).

При оценке взаимосвязи микробного статуса различных биотопов у обследуемых детей получены следующие результаты: нарушение микробного балан-

са кишечника прямо коррелирует с нарушениями микроэкологии полости рта ($r=0,78$; $p < 0,05$). Также установлена прямая корреляционная связь между микробными дисбалансами кишечника и кожи ($r=0,65$; $p < 0,05$), полости рта и кожи ($r=0,48$; $p < 0,05$),

Таким образом, микробиоценозы различных биотопов ребенка находится в тесной взаимосвязи между собой. Анализ корреляционных взаимосвязей позволяет предположить, что кишечная и вагинальная микрофлора матери является важным звеном, определяющим состояние микробиоценозов других биотопов её собственного организма, а также определяет формирование микроэкологической системы новорожденного.

Нами проведен анализ результатов микробиологического исследования состава микрофлоры толстого кишечника у детей в возрасте 1 месяц (конец неонатального периода) в 3-х ранее обследованных группах. Все дети проживали в равноценных жилищных условиях и находились на грудном вскармливании.

Анализ полученных результатов выявил, что частота микробного дисбаланса кишечника II и III степени в 3 группе детей встречалась достоверно чаще, а нормценоз – достоверно реже, чем во 2 и 1-й.

У детей 1 группы выявленные нарушения в составе микробиоты кишечника были менее значительны, чем во 2 и 3-й и носили умеренный характер. Дисбиоз кишечника I и II степени был зарегистрирован в 36,7% и 26,6% наблюдений и дисбиоз III степени - у 2 детей (6,7%). Со стороны облигатной микрофлоры кишечника в этой группе были выявлены небольшие нарушения. Снижение содержания бифидобактерий (не более чем на 1 порядок) отмечалось только у 18,8% обследуемых. Удельный вес этих индигенных микроорганизмов в кишечной микробиоте был достоверно выше ($p < 0,05$), чем у младенцев 2 и 3 групп.

У новорожденных 1 группы был зарегистрирован умеренный дефицит лактобактерий при нормальном удельном весе бифидобактерий или незначительном его снижении (не более чем на 1 порядок). Типичные эшерихии отсутствовали только в 16,7% наблюдений, а лактозонегативные эшерихии выделяли у

23,3% детей и в меньшем количестве. При этом в микробиоценозе кишечника новорожденных 1 группы наблюдались, в основном, 2-х компонентные (33,3%) и гораздо реже 3 и 4-х компонентные ассоциации УПМ (23,3 и 13,4%).

Наиболее часто у детей 2-й подгруппы регистрировали одновременное присутствие лактозонегативных или гемолитических эшерихий, клебсиелл, грибов рода *Candida* (14,9%). Реже встречались ассоциации эшерихий с измененными ферментативными свойствами и дрожжеподобных грибов рода *Candida* с золотистым стафилококком – 12,8% или с клебсиеллами - 10,6%.

У новорожденных 3-й группы наиболее глубокие нарушения в облигатной микрофлоре кишечника выявлены со стороны лактобацилл. При этом удельный вес бифидобактерий был достоверно снижен по сравнению с пациентами 2-й группы. Особенностью нарушений со стороны эшерихий в 3-й группе детей явилась высокая частота обнаружения штаммов с гемолитической активностью в значительных количествах.

Факультативная кишечная микрофлора у подавляющего большинства младенцев (56,6%) этой группы была представлена 3-компонентными ассоциациями УПМ и в 26,7% случаев - 4-и компонентными. Среди различных вариантов ассоциаций наибольший удельный вес (36,6%) имели сочетания *E. coli* (гемолитические штаммы или с измененными ферментативными свойствами) с грибами рода *Candida* и золотистым стафилококком. Реже, в 26,6% случаев, отмечалось совместное присутствие гемолитических эшерихий, клебсиелл, грибов рода *Candida* и коагулазоотрицательных стафилококков.

Эти данные свидетельствуют о том, что к концу неонатального периода у большинства детей, рожденных женщинами с нарушением микробной экологии кишечного и репродуктивного трактов, не происходило трансформации кишечной микробиоты. Процесс неправильной закладки нормальной микрофлоры, начавшийся после рождения, в большинстве наблюдений к месячному возрасту не был скоординирован, несмотря на то, что все дети находились на грудном вскармливании. Основной причиной этого, на наш взгляд, является дефицит

нормальных симбионтов и высокая распространенность УПМ у матери, являющейся основным источником микробной колонизации ребенка.

Анализ кожного микробиоценоза новорожденных в конце неонатального периода выявил его качественные и количественные различия у детей, рожденных женщинами с неравнозначным микроэкологическим статусом. Так, у младенцев 2 и 3-й групп выявлена достоверно большая плотность микробных популяций на всех биотопах по сравнению с младенцами, рожденными практически здоровыми женщинами (1 группа).

При анализе структуры кожной микрофлоры установлена достоверно большая частота встречаемости и обсемененность УПМ и достоверно меньший удельный вес основных симбионтов кожи у новорожденных 2-й и 3-й группы, по сравнению с пациентами группы сравнения.

Так, нормоценоз кожи I и II порядков достоверно чаще встречались в 1 группе детей, рожденных женщинами с эубиозом основных локусов, а III порядка и дисбиоз – во 2 и 3 группах.

Приведенные варианты нормоценоза отражают разные градации нарушения биоценологических взаимоотношений от полной гармонии через дискомфорт до дисгармонии. Неправильная закладка кожной микрофлоры, начавшаяся сразу после рождения, в ряде случаев сохранялась до конца неонатального периода, что клинически выражалось в появлении у детей опрелостей, потницы, кожных высыпаний.

Представляло интерес исследование свойств УПМ, выделенных от матери и ребенка в неравнозначных по техногенному прессингу и гео-климатическим условиям топодемах города.

Результаты биологического типирования свидетельствуют, что в микробиоценозе кишечника женщин персистирует большое число биологических вариантов энтеробактерий. При этом, в южном и северном топодемах достоверно чаще, чем в центральном, встречались биологические варианты микроорганизмов со сниженной ферментативной активностью. Изучение факторов патогенности энтеробактерий выявило значительную гетерогенность популяций по изучаемым

признакам. Среди культур УПЭБ, выделенных у жителей центрального модельного района, ферменты агрессии и токсины определялись весьма редко. Микроорганизмы, выделенные из кишечника женщин, проживающих в северном топодеме, чаще всего обнаруживали способность утилизировать конго красный (от 24,4 до 37,8 % всех выделенных штаммов), реже отмечали наличие фосфатазы. Встречаемость РНК-азы и ДНК-азная активность регистрировались достоверно чаще ($p < 0,05$).

У жителей южного модельного района способность условно-патогенных бактерий продуцировать токсины и ферменты "агрессии" нарастала. Итак, свойство УПЭБ вырабатывать антилизозимный, антиинтерфероновый и антикомплементарный факторы находится в прямой зависимости от экологии ниши выделения.

Высокая степень корреляции основных характеристик микроорганизмов, изолированных от матери и ребенка, показывает приоритетную роль матери в формировании микроэкосистемы новорожденного. Достоверно более низкие показатели сопряженности микрофлоры в парах мать-дитя в северном и южном топодамах являются, на наш взгляд, результатом того, что в экологически неблагоприятных районах, где наблюдается дефицит нормальных симбионтов у матери, происходит колонизация организма новорожденного «нематеринскими» штаммами микроорганизмов, в том числе, и госпитальными.

Идентичность штаммов подтверждена молекулярно-генетическим методом. Большинство плазмидсодержащих штаммов *E. coli* (73,2%) были выделены от женщин с различной патологией. При этом, наибольшую гетерогенную группу по плазмидному спектру составляли культуры, колонизирующие кишечник женщин южного топодама. Штаммы эшерихий с идентичным генетическим профилем были высеяны у новорожденных уже в первые сутки жизни.

Культуры *K. pneumoniae*, изолированные у жительниц южного топодама, также содержали широкий спектр внехромосомных репликонов; в отдельных из них выявлено 6 типов различных плазмид. Чаще других обнаруживалась плазида 87 т.п.н., характерная для этого региона. Плазмиды размером 38 т.п.н. и 70 т.п.н. встречались у клебсиелл во всех топодамах. Плазмидная ДНК разме-

ром 80 т.п.н. выявлена только в центральном топодеме. Бесплазмидные штаммы встречались во всех географических регионах во всех группах обследуемых.

Плазмидные ДНК одинакового размера обнаружены в штаммах *S. aureus*, выделенных у родильниц и их новорожденных. Распространенность культур *S. aureus*, содержащих плазмиды, была достоверно выше среди жителей южного топодема. Эти штаммы характеризовались большей гетерогенностью плазмидного спектра по сравнению с изолятами, выделенными от женщин, проживающих в других топодемах.

В работах, посвященных изучению микроэкологии человека, подробному исследованию, обычно, подвергались биологические свойства представителей патогенной и условно-патогенной микрофлоры и лишь в немногих - нормальным симбионтам человеческого организма.

Поскольку качественные и количественные значения лактофлоры у жителей неравнозначных по уровню техногенного прессинга районов до сих пор не изучались, открытым остаётся вопрос о видовом составе и биологических свойствах лактобацилл у лиц с нормоценозом и дисбиозом биотопов, мы постарались ответить на эти вопросы в своей работе.

В ходе обследования 60 пар «мать-дитя» было выделено 304 штамма оральных, 287 - фекальных и 298 - вагинальных лактобацилл.

В популяции лактобацилл в экологически благополучном районе доминировали виды *L.acidophilus*, *L.fermentum* и *L.casei*, тогда как у жителей неблагополучных топодемов, наряду с *L.acidophilus*, преобладали *L.rhamnosus* и *L.plantarum* (рис.1).

Биофильные лактобацилл, выделенных женщин в центральном топодеме, характеризовались высокими значениями микробной обсемененности, индекса адгезии и лизоцимной активности. Культуры, изолированные в районах экологического неблагополучия, имели достоверно более низкие показатели указанных свойств, обладали выраженной антилизоцимной активностью и высокой бактериоциночувствительностью и антибиотикорезистентностью.

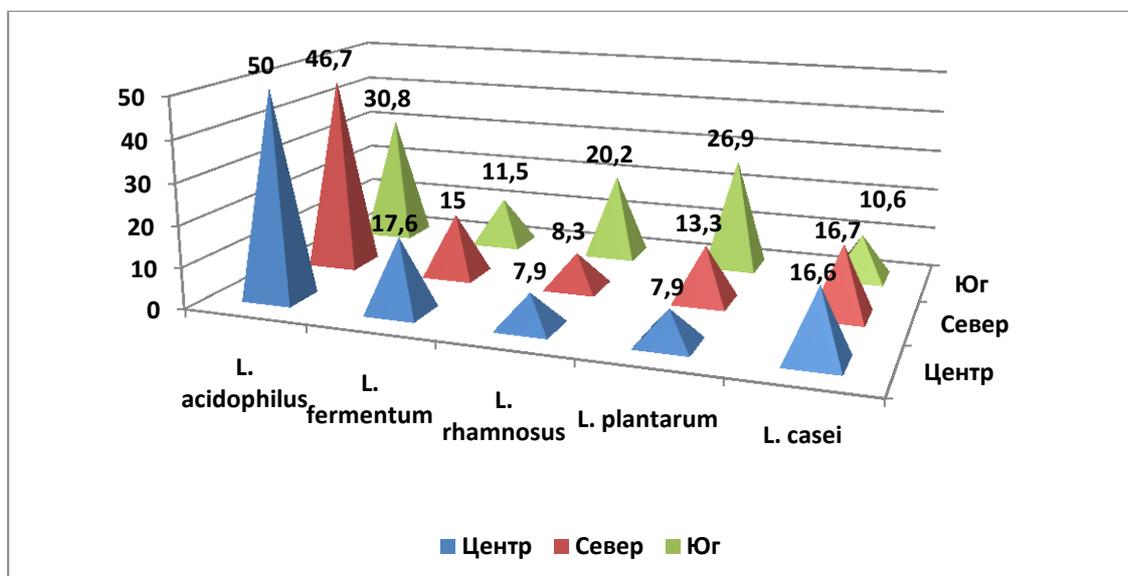


Рис. 1. Видовой состав лактофлоры (P, %).

Лактобациллы, имеющие высокий показатель микробной обсеменённости, обладали наибольшими показателями антилизоцимной активности и адгезивной способности.

Вагинальные лактобациллы имели достоверно большие значения антилизоцимной активности и индекса адгезии по сравнению со штаммами, выделенными из других биотопов. Культуры лактобацилл, выделенные у женщин с нормоценозом влагалища, обладали высокой колонизирующей способностью и характеризовались наличием выраженных значений антилизоцимной активности и высокой адгезивной способностью.

Установлено наличие высокого уровня антибиотикорезистентности вагинальных лактобацилл, выделенных от лиц с дисбиозом.

Для выявления возможных взаимосвязей между свойствами исследуемых изолятов был проведен корреляционный анализ. Установлено, что «состояние нормоценоза» положительно коррелировало с показателем микробной обсеменённости ($r=0,52$; $p < 0,01$), индексом адгезии ($r=0,71$; $p < 0,01$), антилизоцимной активностью ($r=0,53$; $p < 0,01$) и отрицательно коррелировало с маркером бактериоциночувствительности ($r=-0,48$; $p < 0,05$) и резистентности ($r=-0,45$; $p < 0,05$). При корреляционном анализе биологических свойств с «со-

стоянием дисбиоза» были получены коэффициенты корреляции обратные таковым при «состоянии нормоценоза».

Несмотря на разнообразие видового состава лактобацилл, выделяемых из кишечника и влагалища здоровых женщин, не удастся определить ни одного биовара, который присутствовал бы у всех женщин. Установлено, что видовой и количественный спектр лактобацилл был строго индивидуальным. Вместе с тем, прослеживается высокая прямая коррелятивная связь основных микробиологических характеристик лактофлоры матери и ребенка.

Выявлено, что основные свойства лактобацилл, выделенных у родильниц положительно коррелировали с таковыми у ребенка: показателем микробной обсемененности ($r=0,41$; $p>0,05$), индексом адгезии ($r=0,68$; $p<0,01$), лизоцимной ($r=0,48$; $p<0,01$) и антилизоцимной активностью ($r=0,45$; $p<0,01$), маркером бактериоциногенности ($r=0,44$; $p<0,05$) и бактериоциночувствительности ($r=0,51$; $p<0,01$).

Неспецифический праймер RA, использованный для внутривидового типирования лактобацилл, позволил выявлять их генетическое разнообразие, выделить различные группы штаммов, а также дифференцировать каждый из них. При изучении RAPD-профилей лактобацилл, выделенных от родильниц и их новорожденных, было выявлено, что все они имели сходные RAPD-паттерны, образованные как общими фрагментами, характерными для всех анализируемых культур, так и переменными ампликонами, на основе которых проводили внутривидовую дифференциацию изолятов.

Исследуемые штаммы лактобацилл удалось разделить на 3 кластерные группы на уровне 0,22 коэффициента генетической дистанции. Сравнительный анализ данных кластерных групп показал, что наиболее близкое сходство имели штаммы, выделенные от матери и ее ребенка (100% коэффициент подобия). Достоверность полученной генетической гетерогенности анализируемых изолятов не вызывает сомнения, поскольку она обеспечена различиями в 3-7 мажорных фрагментах.

При проведении плазмидного анализа лактобацилл установлено, что штаммы, выделенные в южном тополе, отличались большей гетерогенностью. Таким образом, использование праймера RA служит информативным инструментом для изучения закономерностей передачи лактобацилл от матери к новорожденному и доказывает, что индивидуальные особенности микробиологической системы и КР человека формируются в ходе онтогенеза и связаны с видовыми и штаммовыми характеристиками лактофлоры матери.

Полученные результаты убедительно доказывают, что дисбиоз кишечника и влагалища матери является патогенетически значимым механизмом неправильной закладки микробиосистемы новорожденных, их дезадаптации вследствие дисбаланса микробиоценозов основных биотопов, дезинтеграции адаптационных систем организма, снижения колонизационной резистентности, возникновения напряженности в функционировании иммунной системы и снижения общей резистентности.

Вместе с тем, адекватная коррекция дисбиотических изменений в микробиоте кишечника и репродуктивного тракта женщины позволят вывести ребенка раннего возраста на более высокий уровень адаптации. Следовательно, микробиологический подход к пониманию причин развития у новорожденных явлений дисадаптации является перспективным.

При выявлении клинических и микробиологических признаков дисбиоза кишечника и влагалища у беременной женщины необходимо проведение этиотропного лечения, конечной целью которого является восстановление нормоценоза.

В кишечнике и влагалище обследуемых женщин мы обнаруживали лактобациллы четырех, реже пяти видов, спектры утилизации углеводов у которых совпадали на протяжении всего периода наблюдения. Видовая принадлежность индигенных лактобацилл была индивидуальной для каждой женщины и мало отличалась на протяжении всего периода наблюдения. У новорожденных, как правило, обнаруживались индигенные лактобациллы одной таксономической

принадлежности с материнскими. В других парах «мать-дитя» лактобациллы нередко отличались по видовому составу.

Таким образом, при неэффективности коммерческих препаратов в силу слабости их приживляемости в организме могут быть использованы аутоштаммы лактобактерий.

Перед проведением биокоррекции необходимо выяснить, как повлияет выбранный для лечения препарат на состояние индигенной лактофлоры пациента. Для этого каждому пациенту до начала бактериотерапии следует определять биосовместимость пробиотических бактерий рода *Lactobacillus* с аутолактофлорой.

Считаем, что применение аутоштаммов является оптимальным способом восстановления индигенной микрофлоры при дисбактериозе и после антибиотикотерапии.

Исследование межштаммовых взаимоотношений индигенных лактобацилл одного вида, изолированных из фекалий матери и ребенка, показало их полную биосовместимость. Это косвенно подтверждает, что на взаимоотношения между лактобациллами могут оказывать влияние и селекционные факторы, связанные с организмом хозяина. Таким образом, подтверждается возможность использования материнских штаммов лактобацилл в качестве донорских для восстановления микроэкологии новорожденного.

Выводы

1. В формировании микроэкологии новорожденного ведущая роль принадлежит микроэкологическому статусу матери. Выявлена высокая прямая коррелятивная связь между микрофлорой матери и ребенка.
2. Структура микроэкологии женского организма имеет свои особенности в разные физиологические периоды жизни, связанные с деторождением, и зависит от условий среды обитания.
3. Неблагополучная экологическая приводит к структурной перестройке и иерархическому изменению микробиоценозов открытых экосистем женского организма, заключающемуся в снижении доминирования и экологического

гической значимости основных симбионтов и возрастании роли условно-патогенных микроорганизмов, изменению их основных биологических и персистентных характеристик.

4. Штаммы лактобацилл, изолированные у женщин с нормоценозом основных биотопов, проживающих в условно «экологически чистом» модельном районе, обладают высокими значениями признаков, определяющих их колонизирующую и антагонистическую способность. Значительный уровень антибиотикорезистентности и низкие показатели биологической активности обнаружены у культур лактобацилл, выделенных от лиц с дисбиотическими нарушениями микробиоценозов в «техногенно-агрессивных» топодемах.
5. У детей, рожденных женщинами с нарушением микроэкологии кишечника и влагалища, в сравнении с младенцами, появившимися на свет от матерей с эубиозом этих биотопов, наблюдается задержка формирования основных микробиоценозов. Особенности формирования кишечной микрофлоры у них является пролонгированная фаза нарастающей инфекции, которая характеризуется избыточным ростом энтеробактерий, стафилококков, клебсиел, дрожжеподобных грибов рода Кандида, длительно занимающих доминирующее положение в биоценозе пищеварительного тракта детей, фаза стабилизации микрофлоры к концу первой недели жизни у таких детей отмечается лишь в единичных случаях.
6. Данные мониторингового клинико-микробиологического наблюдения состава кишечного и вагинального микробиоценозов женщин могут быть использованы в качестве интегрального показателя неспецифической резистентности организма и прогностического критерия микробного дисбаланса и изменения состояния здоровья матери и ребенка.
7. Применение лактосодержащих биопрепаратов с учетом их биосовместимости с аутоштаммами эффективно для восстановления баланса

кишечного и вагинального микробиоценозов у беременных и профилактики микробных нарушений у новорожденных.

Практические рекомендации

1. При планировании беременности осуществлять программу подготовки женщины к вынашиванию плода, включающую санацию хронических очагов инфекции, микробиологическое исследование кишечной и вагинальной микрофлоры и своевременную коррекцию выявленных дисбиотических нарушений.
2. Проводить клинико-микробиологический мониторинг беременных женщин в первой и второй половинах беременности. Определить группы риска развития дисбаланса микробиосистемы и гнойно-воспалительных послеродовых осложнений, назначать адекватное лечение.
3. Детей, родившихся у матерей с осложненным течением беременности и родов, нарушениями микробиоценоза кишечника и влагалища, с наличием хронических заболеваний, получавших антимикробную терапию, а также появившихся на свет в техногенно-агрессивных районах, целесообразно подвергать динамическому микробиологическому обследованию в родильной комнате на четвертые - пятые сутки жизни и затем ежемесячно (в течение первого года жизни) с целью своевременного выявления и ликвидации микробного дисбаланса.
4. При оценке результатов микробиологического обследования учитывать возрастные особенности микроэкологии основных биотопов ребенка, использовать региональные показатели нормоценоза для детей первого года жизни.
5. Формированию нормального микробиоценоза у детей первого месяца жизни способствуют: прикладывание ребенка к груди в родильном зале сразу после рождения, совместное пребывание матери и ребенка в родильном отделении, грудное вскармливание.
6. Соблюдать строгие показания для назначения антимикробной

терапии беременным, лактирующим матерям, новорожденным. По окончании курса терапии проводить биокоррекцию с учетом биосовместимости пробиотических и аутоштаммов основных симбионтов.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Колонизационная резистентность кожи при псориазе / Крамарь В.С., Родин А.Ю., Савченко Т.Н., Резников Е.В. // Вест. ВолГМУ. - № 10. – Волгоград, 2004. - С.52-55.
2. Внутрибольничные инфекции / Крамарь О.Г., Савченко Т.Н. // Вестник ВолГМУ.- №2. - Волгоград,2010. - С.3-9.
3. Микроэкология человека / Крамарь В.С., Крамарь В.О., Савченко Т.Н., Михайлова Л.В. // Вестник ВолГМУ. - №4. - Волгоград, 2010. – С.46-50.
4. Факторы, способствующие персистенции условно-патогенных микроорганизмов / Михайлова Л.В., Савченко Т.Н., Крамарь В.О. // Вестник ВолГМУ. - №4. - Волгоград, 2010. - С.51-54.
5. Генотипирование штаммов лактобактерий методом амплификации с произвольными праймерами / Савченко Т.Н., Крамарь В.О., Савченко С.С., Шпак И.М., Антонов В.А. //Сб. трудов VII Всероссийс.науч.-практ.конф. с международным участ. «Молекулярная диагностика» - 2010.-Т.4.-С.347-349.
6. Микробиоценоз репродуктивного тракта женщин, проживающих в крупном промышленном городе/ Савченко Т.Н., Крамарь В.О., Крамарь О.Г. // Журнал «Вестник новых медицинских технологий» - №2. - Тула, 2011. - С.38-41.
7. Характеристика лактобактерий, колонизирующих репродуктивный тракт женщин детородного возраста / Савченко Т.Н., Крамарь В.О., Крамарь О.Г., Друмова А.В. // Журнал «Вестник новых медицинских технологий» - №2. - Тула, 2011. – С.41-43.
8. Лактофлора и колонизационная резистентность / Савченко Т.Н.//Матер. международн. конф. «Новые технологии, инновации, изобретения» 16-23 марта 2011, Мальдивские острова. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований - 2011 - №5. - С.54-55.
9. Биологические свойства условно-патогенных микроорганизмов, выделенных из кишечника новорожденных / Савченко Т.Н., Крамарь В.С. //Матер. международн. конф. «Новые технологии, инновации, изобретения» 16-23 марта 2011, Мальдивские острова. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований - 2011- №5.- С.55-57.
10. Характеристика коагулазоотрицательных стафилококков, выделенных у беременных женщин/ Савченко Т.Н. // Матер. международн.конф. «Инновационные медицинские технологии, 18-25 марта 2011, Россия-Франция

- (Москва-Париж). Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований-2011- №5.- С.108-109.
11. Микроэкология влагалища при дисбактериозе / Савченко Т.Н., Крамарь В.С. // Матер. международн. конф. «Инновационные медицинские технологии, 18 - 25 марта 2011, Россия-Франция (Москва-Париж). Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований - 2011- №5.- С.109-110.
 12. Факторы, способствующие персистенции стафилококков в кожном микробиоценозе новорожденных / Крамарь Л.В., Савченко Т.Н., Крамарь В. О. // Детские инфекции - 2011.- №2.-С.34-37.
 13. Пространственная структура экологических групп в кожном биоценозе здоровых людей г. Волгограда / Крамарь В.С., Крамарь О.Г. // Тезисы докл. 49 науч. сессии. Волгоград, 1994. – С.34-35.
 14. Особенности микробной колонизации кожи и влагалища в экологически неблагоприятных условиях / Савченко Т.Н. // Экология и охрана окружающей среды. - Волгоград, 1994. – С.23-26.
 15. Микроэкология кишечника и кожи в норме и патологии / Савченко Т.Н., Крамарь В.С., Покатилов А.Б. // Факторы клеточного и гуморального иммунитета при различ. физиол. и пат. состояниях. Тез. докл. XII Рос. науч. конф. Челябинск, 1995.- С.63-64.
 16. Колонизация микроорганизмами кожи детей в экологически неблагоприятных условиях / Крамарь В.С., Савченко Т.Н. // Вестник ВМА. - Т. 51.- Волгоград, 1995. - С. 42-46.
 17. Критерии оценки микробиоценоза влагалища / Савченко Т.Н. // Сб. науч. ст.- Т. 51.- Вып. 2. - Волгоград, 1995. – С.36-37.
 18. Способ биологической коррекции микробиоценоза кожи молочной среды препаратом «Наринэ» / Савченко Т.Н. // Сб. науч. ст.- Т. 51. - Вып. 2. - Волгоград, 1995. – С.22-24.
 19. Условно - патогенные микроорганизмы в кожном микробиоценозе хирургических больных / Крамарь В.С., Покатилов А.Б., Савченко Т.Н. // Вестник ВМА. - Вып. 2.- Т. 52. - Волгоград, 1996. – С.42-45.
 20. Биологические свойства слюны здоровых людей / Кравцова Е.О., Лаптева О.Г., Савченко Т.Н. // Патолог. органов пищеварения. Экспер. и клин. аспекты. – Волгоград, 1997. С.29-31.
 21. Дисбактериоз кишечника недоношенных детей / Савченко Т.Н., Кравцова Е.О. // Патолог. органов пищеварения. Экспер. и клин. аспекты. - Волгоград, 1997. – С.27-29.
 22. Условно-патогенные микроорганизмы в микрофлоре недоношенных детей / Савченко Т.Н. // 50-я науч. сесс. ВМА, 1997. – С.45-46.
 23. Микробная экология кишечника беременных женщин / Крамарь В.С., Савченко Т.Н., Кравцова Е.О., Крамарь Л.В. // Вестн. ВМА. - Вып. 4.- Т.54. - Волгоград, 1998. – С.52-54.

24. Условно-патогенные бактерии в микрофлоре полости рта здоровых лиц // Крамарь В.С., Савченко Т.Н., Кравцова Е.О. // Вестн. ВМА. - Вып. 4.- Т. 54.- Волгоград, 1998. – С.52-54.
25. Характеристика микробной колонизации новорожденных детей с перинатальной патологией // Крамарь В.С., Савченко Т.Н. // Вестн. ВМА. - Вып. 5.- Т. 55. - Волгоград, 1999.- С.34-36.
26. Динамика становления микрофлоры кишечника в раннем периоде адаптации новорожденных детей / Савченко Т.Н., Кравцова Е.О., Покатилов А.Б. // Матер. обл. науч. конф. 16-18 ноября 1999 г.- Волгоград. – С.38-40.
27. Распространенность дрожжеподобных грибов в полости рта среди жителей города Волгограда / Савченко Т.Н., Кравцова Е.О., Рябинин А. К. // Матер. науч. конф., посвящ. 125-летию со дня рождения А.А. Ухтомского. - Волгоград, 2001. - С.41-43.
28. Формирование лекарственной устойчивости условно-патогенных энтеробактерий / Крамарь О.Г., Крамарь Л.В., Покатилов А.Б., Савченко Т.Н.// IV нац-й конгр. «Человек и лекарство». Тез. докл. – Москва, 1998. – С.51-52.
29. Микроэкологическая характеристика биоценоза кожи / Резников Е.В., Крамарь Л.В., Савченко Т.Н., Покатилов А.Б. // Учебное пособие для студентов, аспирантов и врачей под ред. Крамарь В.С. - Волгоград, 1998. - 43 с.
30. Биологические свойства коагулазопозитивных стафилококков, выделенных с кожи больных/ Покатилов А.Б., Савченко Т.Н., Кравцова Е.О. // Матер. обл.науч. конф. 16-18 ноября 1999. –Волгоград, 1999. - Т.2. - С. 28-30.
31. Динамика становления микрофлоры кишечника в раннем периоде адаптации новорожденных детей / Савченко Т.Н., Покатилов А.Б., Кравцова Е.О. // Матер. обл.науч. конф. 16-18 ноября 1999. – Волгоград, 1999. - Т.2. – С.51-52.
32. Микрофлора кожи молочных желез и грудного молока родильниц/ Савченко Т.Н., Кравцова Е.О., Рябинин А.К. // Матер. науч. конф., посвящ. 125-летию со дня рождения А.А. Ухтомского. - Волгоград, 2001. С.38-39.
33. Микрофлора кишечника новорожденных детей при естественном и искусственном вскармливании / Савченко Т.Н., Кравцова Е.О., Рябинин А.К. //Матер. науч. конф., посвящ. 125-летию со дня рождения А.А. Ухтомского. - Волгоград, 2001. – С.37-38.
34. Характеристика микробной колонизации новорожденных детей с перинатальной патологией / Крамарь В.С., Савченко Т.Н. // Вестн. ВМА. - Волгоград, 1999. - Вып. 5. - Т. 55. – С.41 -42.
35. Динамика становления микрофлоры кишечника в раннем периоде адаптации новорожденных детей / Савченко Т.Н., Покатилов А.Б., Кравцова Е.О. // Матер. обл.науч. конф. - Волгоград, 2000. - Т. 2. – С.44-45.

36. Стафилококки в кожном микробиоценозе беременных женщин / Савченко Т.Н. // Матер. науч.-практич. конф., посвящ. 150-летию Н.Е.Введенского. - Волгоград, 2002. – С.37-38.
37. Распространение стафилококкового носительства на слизистой носа среди родильниц и новорожденных / Савченко Т.Н. // Матер. науч.-практич. конф., посвящ. 150-летию Н.Е.Введенского. - Волгоград, 2002. – С.38-39.
38. Микроэкология кожи и слизистых оболочек в системе «мать-дитя» в зависимости от эколого-географических факторов / Савченко Т.Н., Кравцова Е.О., Рябинин А.К. // Вестник ВолГУ, 2003. - № 9. – С.51-52.
39. Микрофлора новорожденных, ее становление / Савченко Т.Н. // Учебное пособие под ред. Крамарь В.С. (УМО – 195 от 08.04.03). - Волгоград, 2003. - 82с.
40. Практикум по микробиологии / Крамарь О.Г., Савченко Т.Н., Кравцова Е.О.// Учебное пособие под ред. Крамарь В.С. (УМО – 198 от 08.04.03). - Волгоград, 2003. – 260 с.
41. Становление кишечного микробиоценоза новорожденных, находящихся на грудном и смешанном вскармливании / Савченко Т.Н., Крамарь О.Г. // Сб.: Естествознание и гуманизм. Современный мир, природа и человек. – Т.4. - № 3.- Томск,2007. – С.28-29.
42. Роль микроэкологического статуса беременных женщин в формировании кишечного микробиоценоза новорожденных / Крамарь О.Г., Савченко Т.Н., Прокопенко К.М. //55-я юбилейная региональная науч.конф. проф.-препод.кол-ва ВолГМУ«Современ.инновац.медицина – населению Волг.области» - Волгоград,2008. – С.46-49.
43. Влияние микроэкологии матери на процесс становления кожного микробиоценоза новорожденных / Савченко Т.Н. // Сб.: Проблемы и перспективы современной науки. - Вып.1.- Томск, 2008. –С.48-49.
44. Колонизационная резистентность полости рта детей, вскармливаемых контаминированным грудным молоком / Крамарь В.С., Четвертнова Г.А., Савченко Т.Н., Климова Т.Н.//Актуальные вопросы экспериментальной, клинической и профилактической стоматологии.- Т. 66-Волгоград, 2009.- С.42-51.
45. Особенности колонизации слизистых оболочек полости рта и кишечника новорожденных детей, вскармливаемых контаминированным грудным молоком / Крамарь О.Г., Савченко Т.Н., Четвертнова Г.А. //Бюллетень Волг.научн.центра РАМН.-№ 3.- Волгоград,2009. – С.54-57.
46. Микробиоценоз кишечника женщин детородного возраста, живущих в топодемах крупного промышленного города с различным техногенным прессингом / Крамарь О.Г., Крамарь В.С., Савченко Т.Н. // Сб.: Фундаментальные науки и практика.- Т.1. - №2.- Томск,2010. - С. 57-58.
47. Характеристика влагалищного микробиоценоза женщин в разные физиологические периоды, связанные с деторождением / Савченко Т.Н., Крамарь В.О., Друмова А.В. // Сб.: Фундаментальные науки и практика.-

Т.1. - №2.- Томск,2010. – С.59-60.