

КОЗЛОВА

Анастасия Анатольевна

**ВЛИЯНИЕ КИШЕЧНОЙ И ВЛАГАЛИЩНОЙ МИКРОБИОТЫ
БЕРЕМЕННОЙ НА РАЗВИТИЕ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ
ПОСЛЕРОДОВОГО И НЕОНАТАЛЬНОГО ПЕРИОДОВ**

3.1.4. Акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва

2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

Николаева Анастасия Владимировна – кандидат медицинских наук, главный врач ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России
Припутневич Татьяна Валерьевна - член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, доцент, директор Института микробиологии, антимикробной терапии и эпидемиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России.

Официальные оппоненты:

Новикова Светлана Викторовна – доктор медицинских наук, ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии», руководитель отделения координации НИР и издательской деятельности

Дубровина Светлана Олеговна – доктор медицинских наук, профессор, кафедра акушерства и гинекологии №1 ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, профессор кафедры

Ведущая организация: ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта» Минобрнауки России

Защита состоится «19» сентября 2023 года в 13:00 часов на заседании диссертационного совета 21.1.022.01 на базе ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России по адресу 117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России

<https://science.ncagp.ru/upfiles/pdf/Kozlova%20AA-disser.pdf?2050126835>

Автореферат разослан «__» _____ 2023 г.

Учёный секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор



Калинина Е.А.

Подписано в печать 14.07.2023 г.

Формат А5

Бумага офсетная. Печать цифровая.

Тираж 100 Экз. Заказ №1205042-7-23

(Печатный салон МДМ)

г. Москва, ул. Покрышкина 4

Тел. 8-495-256-10-00

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Организм женщины находится в нормальных симбиотических отношениях с огромным количеством видов бактерий [Анكيرская А.С., 2020, Buchta V., 2018]. Однако, под влиянием различных экзогенных или эндогенных факторов происходит смещение существующего баланса в системе отношений макроорганизм-микробиота в сторону возникновения различных нарушений, являясь в дальнейшем пусковым механизмом для развития широкого перечня инфекционно-воспалительных заболеваний [Amir M., 2020]. В основе снижения колонизационной резистентности лежит нарушение микрофлоры (нормофлоры), которая предотвращает заселение определенного биотопа патогенными микроорганизмами или чрезмерное размножение условно-патогенных микроорганизмов (УПМ), входящих в состав нормального микроценоза, и распространение их за пределы экологической ниши [Карахалис Л.Ю., 2020, Clemente J.C., 2012]. Актуальным представляется одновременное исследование микрoэкологических характеристик микробиоты влагалища и кишечника с целью изучения взаимосвязей нарушения кишечного микроценоза с дисбиотическими процессами в микроценозе влагалища, что несомненно поможет прогнозировать развитие патологического процесса давая нам возможность для своевременного предотвращения развития инфекционно-воспалительных заболеваний у женщин и их новорожденных в будущем.

Несмотря на широкий спектр профилактических мер, направленных на снижение появления и дальнейшего развития послеродовых воспалительных осложнений, по-прежнему остается затруднительным снизить их рост. Острые и хронические очаги инфекции во время беременности и родов являются предрасполагающими факторами к последующему зарождению и развитию внутриутробных инфекций, воспалительных послеродовых осложнений [Новикова С.В., 2015]. Чаще всего именно УПМ выступают в роли ведущих этиологических агентов инфекционных осложнений [Itani T, 2018].

Принимая во внимание вышесказанное, особую значимость приобретают исследования, направленные на установление корреляции между составом кишечной и вагинальной микробиоты матери в период беременности с микробиотой ЖКТ новорождённых детей и последующим выявлением факторов риска инфекционных осложнений новорождённых и родильниц.

Степень разработанности темы исследования

Существует несколько исследований, в которых проводилась оценка влияния микробиоты беременной женщины на развитие различных заболеваний у новорожденных. Так, Е.А. Бойцовой с соавт. (2019 г.) продемонстрировано, что у детей, у матерей которых наблюдалось снижение содержания *Lactobacillus* spp. и повышение содержания *Eubacterium* spp. в цервикальной слизи на 36–38-й неделе, на фоне беременности, протекавшей с угрозой прерывания и преэклампсии, часто развивается ранняя манифестация гастроинтестинальных и кожных симптомов аллергии у ребенка.

В исследовании К.А. Гориной (2021 г.) показано, что риск преждевременных родов повышается на фоне увеличения таких микроорганизмов кишечной микробиоты как *Staphylococcus aureus* и/или *Klebsiella pneumoniae* на фоне «обеднения» облигатно-анаэробными бактериями семейства *Bacteroidaceae*, однако последующего изучения микрофлоры новорожденных в данном исследовании не проводилось.

Цель исследования

Оценка взаимосвязи нарушений микробиоты кишечника беременных женщин с возникновением вагинальных инфекций, воспалительных процессов в послеродовом периоде у родильниц и развитием инфекции в раннем неонатальном периоде у новорождённых.

Задачи исследования:

1. Представить клинико-anamnestическую характеристику обследованных беременных.
2. Провести комплексное изучение состава кишечной и вагинальной микробиоты беременных женщин в конце III триместра беременности.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Микробиом влагалища женщины во время беременности и в послеродовом периоде: динамика, взаимосвязь с кишечной микрофлорой, влияние на становление микробиоты новорожденного/ **Козлова А.А.**, Николаева А.В., Припутневич Т.В., Баранов И.И., Мешалкина И.В.// **Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение.** - 2021.-Т. 9, № 4. - С. 71–78.
2. Современные представления о взаимосвязи кишечной и вагинальной микробиот/ Николаева А.В., **Козлова А.А.**, Припутневич Т.В., Баранов И.И.// **Акушерство и гинекология.** – 2021. - №9. - С. 5-11.
3. Распределение микроорганизмов в кале родильниц и новорождённых с инфекционными осложнениями в послеродовом и раннем неонатальном периодах/ **Козлова А.А.**, Денисов П.А., Николаева А.В., Припутневич Т.В.// В книге: Тезисы IV Общероссийской научно-практической конференции акушеров-гинекологов «Отговские чтения». – 2022. – С.19-20.
4. Становление микробиоты кишечника доношенных и поздних недоношенных детей, рожденных самопроизвольно и путем операции кесарева сечения/ Припутневич Т.В., Исаева Е.Л., Николаева А.В., **Козлова А.А.** и др.//**Неонатология: новости, мнения, обучение.** - 2023.-Т. 11, № 1. – С.42-56.
5. Влияние влагалищной и кишечной микробиоты беременной на течение послеродового периода/ **Козлова А.А.**, Николаева А.В., Припутневич Т.В., Баранов И.И. и др.// **Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение.** - 2023.-Т. 11, № 2(40). - С. 13-19.

3. Изучить состав кишечной микробиоты новорожденных в раннем неонатальном периоде, рождённых у матерей, включённых в исследование.
4. Оценить взаимосвязь дисбиотических нарушений кишечной и вагинальной микробиоты беременных с развитием инфекционных осложнений в послеродовом и раннем неонатальном периодах.
5. Определить факторы риска развития послеродовых осложнений на основе диагностики дисбиотических нарушений микробиоты кишечника и влагалища женщин к концу беременности.
6. Разработать алгоритм обследования женщин во время беременности для выявления факторов риска развития инфекционно-воспалительных осложнений в послеродовом периоде у женщин и раннем неонатальном периоде у новорожденных.

Научная новизна исследования

Полученные в рамках исследования данные составили основу для представления о кишечной и влагалищной микробиоте в норме и патологии накануне родоразрешения и в послеродовом периоде. Продемонстрировано, что у женщин с послеродовыми инфекционными осложнениями нормальная микрофлора влагалища встречается статистически значимо реже по сравнению с женщинами без инфекционных осложнений, а в кишечной микробиоте статистически значимо чаще отсутствуют микроорганизмы родов *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterobacter* и *Bacteroides*.

Впервые показана взаимосвязь между нарушением состава микробиоты кишечника (снижение титра или отсутствие микроорганизмов родов *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterobacter* и *Bacteroides*) с нарушением микробиоты влагалища (наличие представителей кишечной микробиоты: *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, а также снижение титра или отсутствие представителей нормофлоры влагалища - *Lactobacillus* spp.) и последующим возникновением послеродовых инфекционных осложнений у женщин и ранних неонатальных инфекций у их новорожденных детей.

Впервые разработана математическая модель, позволяющая прогнозировать риски развития инфекционно-воспалительных осложнений у женщин и их новорожденных детей с целью их своевременной профилактики.

Впервые определены оптимальные методики комплексного изучения кишечной и вагинальной микробиоты беременных женщин, что позволило более точно подойти к вопросам предотвращения, выявления и лечения оппортунистических послеродовых инфекционных осложнений и инфекционно-воспалительных осложнений у новорожденных в раннем неонатальном периоде.

Теоретическая и практическая значимость работы

Определены факторы развития послеродовых инфекционно-воспалительных осложнений для выявления групп-риска в период беременности. Показано, что беременность с абортным исходом до 22 недели беременности в анамнезе, наличие угрозы прерывания беременности с образованием ретрохориальной гематомы в I триместре беременности, бессимптомная бактериурия во II триместре беременности, угрожающие преждевременные роды в III триместре беременности, позволяют относить беременных к группе женщин с наличием факторов высокого риска по осложненному течению послеродового периода. Продемонстрировано, что беременность после применения вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), наличие угрозы прерывания беременности с образованием ретрохориальной гематомы в I триместре данной беременности, симптомы угрозы прерывания беременности и наличие бактериального вагиноза (БВ), аэробного вагинита (АВ) во II триместре беременности, а также наличие гестационной артериальной гипертензии (ГАГ) и симптомов угрожающих преждевременных родов в III триместре беременности способствуют развитию инфекционных осложнений у новорожденных в раннем неонатальном периоде.

Определено влияние дисбиотических нарушений кишечной микробиоты (отсутствие микроорганизмов рода *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterobacter* и *Bacteroides*) на сроки реконвалесценции у группы родильниц с послеродовыми осложнениями.

артериальной гипертензии и симптомов угрожающих преждевременных родов в III триместре беременности.

3. Для более точного определения риска развития инфекционно-воспалительных осложнений в послеродовом и раннем неонатальном периодах всем пациентам, относящимся к группе риска, в третьем триместре беременности необходимо проводить определение патогенов при помощи микробиологического (культурального) исследования влагалищной и кишечной микробиоты с применением MALDI-TOF-MS анализа для идентификации микроорганизмов.

4. Для своевременного прогнозирования развития осложнений в послеродовом периоде рекомендовано проводить оценку микробиоты кишечного и влагалищного отделяемого для получения количественного соотношения *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides* беременной женщины как фактора риска развития послеродовых инфекционных осложнений.

5. При обследовании беременных с целью выявления факторов риска развития инфекционно-воспалительных осложнений в послеродовом периоде, групп риска матерей по развитию у новорожденных детей осложненного течения раннего неонатального периода (развития у них инфекционно-воспалительных процессов) рекомендовано проводить видовую идентификацию микроорганизмов для решения вопроса о необходимости последующего назначения данной группе женщин этиотропной фармакотерапии.

6. Для оценки риска развития инфекционных осложнений у женщин, а также у новорожденных, рожденных у матерей с послеродовыми инфекционными осложнениями, для обследования и терапии вагинальной инфекции и дисбиотических процессов влагалищной и кишечной микробиоты рекомендовано использовать разработанный алгоритм (Приложение Г) и предложенные математические прогностические модели.

в III триместре – гестационная артериальная гипертензия и угрожающие преждевременные роды.

6. В подгруппе женщин, у новорожденных которых развились инфекционно-воспалительные заболевания, значимо чаще в микробиоте кишечника и влагалища отсутствовали *Lactobacillus* spp. ($p < 0,05$) В 93% случаев (13 из 14) развития инфекционных осложнений у детей отмечено наличие у женщин *Escherichia coli* в микробиоте влагалища, а также отсутствие *Lactobacillus* в 100% случаев ($p < 0,05$).

7. Комплексный микробиологический анализ образцов влагалищной и кишечной микробиот методом культуромики и идентификацией микроорганизмов методом MALDI-TOF-MS является достоверным способом индикации широкого спектра микроорганизмов, позволяющим выявлять и предотвращать развитие инфекционно-воспалительных осложнений.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Выявление таких факторов повышенного риска развития инфекционно-воспалительных осложнений в послеродовом периоде, как беременность с абортным исходом до 22 недели беременности в анамнезе, угроза прерывания беременности с образованием ретрохориальной гематомы в I триместре беременности, бессимптомная бактериурия во II триместре беременности, угрожающие преждевременные роды в III триместре беременности, дают основания относить данную категорию беременных к группе высокого риска по осложнённому течению послеродового периода и целенаправленно проводить им обследования согласно разработанному алгоритму.

2. К группе риска развития инфекционных осложнений у новорожденных в раннем неонатальном периоде следует относить беременных после применения ВРТ, имеющих в анамнезе беременность с абортным исходом до 22 недели беременности, с наличием симптомов угрозы прерывания беременности с образованием ретрохориальной гематомы в I триместре данной беременности, симптомами угрозы прерывания беременности и наличием бактериального вагиноза во II триместре беременности, а также наличием гестационной

Разработан алгоритм микробиологического обследования беременных женщин для выявления факторов риска по развитию послеродовых осложнений и ранних неонатальных инфекций у их новорожденных детей. На основании полученных результатов микробиологического обследования и в случаях выявления дисбиотических нарушений кишечной и вагинальной микробиоты, акушером-гинекологом может быть принято решение о назначении этиотропной фармакотерапии или восстановлении нормальной микробиоты пробиотиками, что даст возможность снизить частоту послеродовых инфекционных осложнений у родильниц и их новорожденных детей.

Результаты исследования могут использоваться в клинической практике с целью разработки дифференцированного подхода в диагностике и лечении пациенток с осложненным течением послеродового периода и новорожденных с инфекционными осложнениями в раннем неонатальном периоде.

Методология и методы исследования

Клиническая часть работы выполнена на базе акушерских и неонатальных отделений, общеклиническое исследование (показатели общего и биохимического анализов крови) проводилось в клинко-диагностической лаборатории, комплексный микробиологический анализ влагалищной и кишечной микробиоты проведен на базе института микробиологии, антимикробной терапии и эпидемиологии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (директор - академик РАН, д.м.н., профессор Г.Т. Сухих).

Выполненное исследование поддержано Государственным заданием «Разработка комплексного подхода к прогнозированию, профилактике и коррекции дисбиотических нарушений кишечной и вагинальной микробиоты и спровоцированных ими патологий у женщин и новорождённых» рег. № НИОКТР АААА-А20-120022790038-4.

Всем пациенткам проведен подробный анализ анамнестических данных и течения беременности, анализ исходов беременности, родов, послеродового периода, раннего неонатального периода их новорожденных. Проведен своевременный отбор биологического материала (влагалищное отделяемое, кал,

меконий) для получения максимально тождественных результатов с целью сопоставления клинико-anamnestических особенностей пациенток, течения их беременности и родового процесса, послеродового периода, течение раннего неонатального периода у новорождённых с микробиомными профилями кишечника и влагалища, которые были проанализированы с использованием комплексного микробиологического анализа образцов влагалищной и кишечной микробиоты методом культуромикрии с применением расширенного спектра питательных сред и последующей идентификацией всех выделенных микроорганизмов методом MALDI-TOF-MS анализа.

Полученные данные проанализированы с применением статистических методов (описательных и аналитических: IBM SPSS Statistics Standard Edition 23.0) и компьютерных программ (Microsoft Excel).

Внедрение результатов исследования в практику

Алгоритм обследования и лечения пациенток с наличием факторов риска развития инфекционно-воспалительных осложнений во время беременности и послеродовом периоде и/или в паре мать-ребёнок внедрен в практику акушерских отделений ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России, а также в учебный процесс – лекции и практические занятия для клинических ординаторов и аспирантов Центра.

Личный вклад автора

Автор принимала непосредственное участие в обследовании пациенток, а также сборе образцов биологического материала для микробиологического исследования. Автор освоила методы, применяемые для получения и оценки результатов, выполнила статистическую обработку и описание клинико-лабораторных и инструментальных данных, интерпретацию результатов исследования, сформулировала выводы, основные положения, выносимые на защиту.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Наличие послеродовых инфекционных осложнений у женщин чаще сопряжено с наличием беременности с абортным исходом до 22 недель в

ВЫВОДЫ

1. У женщин с послеродовыми инфекционными осложнениями беременность с абортным исходом до 22 недели беременности в анамнезе, угроза прерывания беременности с образованием ретрохориальной гематомы в I триместре беременности, бессимптомная бактериурия во II триместре беременности, угрожающие преждевременные роды в III триместре беременности встречаются значимо чаще по сравнению с женщинами без инфекционных осложнений.

2. Нормофлора влагалища выявлена в 18,4% случаев в группе женщин с послеродовыми инфекционно-воспалительными осложнениями, что значимо меньше по сравнению с группой женщин с неосложнённым течением послеродового периода, у которых норма определялась в 46,7% случаев. *Lactobacillus* spp. отсутствовали в 86,8% случаев в группе женщин с осложнённым течением послеродового периода, и это подтверждает парадигму, что микробиота влагалища является первым и основным источником развития инфекций в послеродовом периоде.

3. Основными возбудителями инфекционного процесса в послеродовом периоде, обнаруженными в вагинальной микробиоте, явились представители кишечной микрофлоры: *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* и *Streptococcus agalactiae*, выявляемые в совокупности у 86,8% женщин.

4. У женщин с инфекционно-воспалительными осложнениями в послеродовом периоде значимо чаще отмечалось снижение разнообразия микроорганизмов кишечной микробиоты: значимо реже выявлялись *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides* и *Escherichia*.

5. У женщин чьи новорожденные развили инфекционно-воспалительные заболевания значимо чаще беременность наступала в результате ВРТ, при этом в анамнезе имелась беременность с абортным исходом до 22 недели гестации по сравнению с матерями новорожденных без инфекционных осложнений. Кроме того, в I триместре значимо чаще наблюдались симптомы угрозы прерывания беременности с образованием ретрохориальной гематомы, во II триместре - угрожающие преждевременные роды, бактериальный вагиноз и аэробный вагинит,

Пороговое значение логистической функции P в точке *cut-off* составило 0,297 балл. При P равном или превышающем данное значение прогнозировался высокий риск развития послеродовых инфекционных осложнений у женщин.

При заданном пороговом значении прогностической функции P чувствительность метода составила 65,8%, а специфичность - 77,0%.

На основании полученных результатов предложен алгоритм формирования когорты пациенток высокого риска по развитию инфекционно-воспалительных осложнений в послеродовом и раннем неонатальном периодах (рисунок 6).

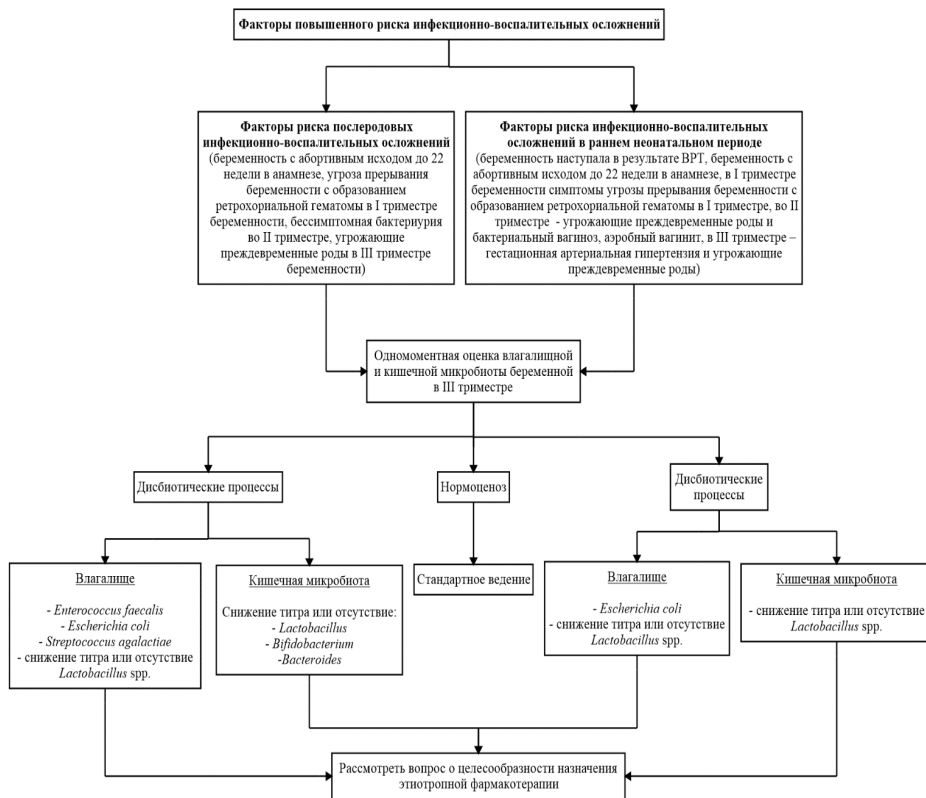


Рис.6. Алгоритм формирования когорты пациенток высокого риска по развитию инфекционно-воспалительных осложнений в послеродовом и раннем неонатальном периодах

анамнезе, угрозой прерывания беременности с образованием ретрохориальной гематомы в I триместре, бессимптомной бактериурией во II триместре, а также угрожающими преждевременными родами в III триместре беременности.

2. Фактором риска развития инфекционно-воспалительных осложнений у женщин в послеродовом периоде является нарушение микробиоты влагалища, а именно снижение титра или отсутствие *Lactobacillus* spp. и появление представителей кишечной микробиоты, таких как *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, что напрямую коррелирует с нарушением кишечной микробиоты (снижение видового разнообразия и отсутствие микроорганизмов рода *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterobacter* и *Bacteroides*) у беременных женщин.

3. Ранние неонатальные инфекции чаще развиваются у новорожденных, при наличии у матерей в анамнезе беременности с abortивным исходом до 22 недели, при наступлении настоящей беременности в результате использования вспомогательных репродуктивных технологий, а также при наличии различных осложнений беременности в I (угроза прерывания беременности с образованием ретрохориальной гематомы), II (угрожающие преждевременные роды, бактериальный вагиноз, аэробный вагинит) и III (гестационная артериальная гипертензия, угрожающие преждевременные роды) триместрах беременности.

4. Разработанные математические модели, основанные на потенциальных предикторах возникновения инфекционных осложнений у родильниц и у новорожденных, рожденных у женщин с послеродовыми осложнениями, позволяют сформировать когорту пациенток с высоким риском осложнения течения послеродового и раннего неонатального периодов.

Степень достоверности результатов исследования

Высокая степень достоверности результатов и обоснованности результатов диссертационной работы обусловлена использованием достаточного по объему клинического материала с применением различных клинико-инструментальных методов обследования беременных и новорожденных.

Апробация диссертации

Достоверность полученных результатов подтверждена количеством пациентов, включенных в исследование (160 женщин и 167 новорожденных), а также использованием современных методов лабораторного исследования и статистического анализа.

Основные материалы и положения диссертации были доложены и обсуждены на XXIII Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и Дитя-2022», IV Национальном конгрессе с международным участием «Лабораторные технологии в Репродуктивной Медицине и Неонатологии «ЛАБРИН 2022», конгрессе с международным участием «Контроль и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП-2022)».

Апробация диссертационной работы проведена на заседании ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России 17 апреля 2023 года.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Представленная диссертация соответствует паспорту научной специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология. Результаты проведенного исследования соответствуют пунктам 2, 3 и 4 направлений исследования.

Публикация результатов исследования

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ, из них 4 статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации (в т.ч. 2 статьи - в журналах, индексируемых в международной базе данных SCOPUS).

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 183 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, двух глав собственных исследований, клинических примеров, обсуждения, выводов, практических рекомендаций.

Список литературы содержит 311 источника, из них 90 отечественных и 221 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 30 рисунками и содержит 28 таблиц.

P – вероятность развития инфекционных осложнений у новорожденных в долях единицы, $XEscherichia coli$ – наличие в вагинальном отделяемом беременной женщины *Escherichia coli*, Хретрохор(I) – наличие угрозы прерывания беременности с образованием ретрохориальной гематомы в I триместре беременности, $XLactobacillus spp.$ – отсутствие в кишечной микробиоте женщин с инфекционными осложнениями микроорганизмов рода *Lactobacillus spp.*

Полученная прогностическая модель оказалась статистически значимой ($p < 0,001$). Пороговое значение логистической функции P составило 0,5 баллов. При заданном пороговом значении прогностической функции P чувствительность метода составила 78,6%, а специфичность – 91,7%.

Прогноз развития инфекционных осложнений у женщин

При анализе зависимости вероятности развития инфекционных осложнений у женщин в зависимости от анамнестических факторов с помощью метода бинарной логистической регрессии получена следующая модель (1):

$$P = 1 / (1 + e^{-z}), \text{ где}$$

$$z = 2,167X_{\text{Бессимптомная бактериурия}} - 2,197X_{\text{Bacteroides}} - 0,945X_{\text{Escherichia coli}} + 1,126X_{\text{Угрожающие роды}} - 0,434$$

P – вероятность развития послеродовых инфекционных осложнений у женщин в долях единицы, $X_{\text{Бессимптомная бактериурия}}$ – бессимптомная бактериурия во II триместре беременности, $X_{\text{Bacteroides}}$ – отсутствие в кишечной микробиоте женщин микроорганизмов рода *Bacteroides*, $X_{\text{Escherichia coli}}$ - отсутствие в кишечной микробиоте женщин *Escherichia spp.*, $X_{\text{Угрожающие роды}}$ – наличие симптомов угрожающих преждевременных родов в III триместре беременности.

Полученная прогностическая модель оказалась статистически значимой ($p < 0,001$). Пороговое значение логистической функции P было определено с помощью ROC-анализа. Площадь под ROC-кривой, соответствующей взаимосвязи прогноза удовлетворительного исхода и баллам по разработанной модели, составила $0,769 \pm 0,041$ с 95% ДИ: 0,688-0,849. Полученная модель была статистически значимой ($p < 0,001$).

Сравнительный анализ течения беременности, родов, послеродового периода и особенностей микробиоты кишечника у новорожденных, родившихся у женщин с инфекционными осложнениями

Следующим этапом исследования стала оценка течения беременности, родов и послеродового периода у новорожденных, родившихся у женщин с инфекционными осложнениями, в зависимости от наличия или отсутствия у них инфекционных осложнений в раннем неонатальном периоде. Из 38 женщин с инфекционными осложнениями, у 14 детей развились ранние инфекционные осложнения (подгруппа 1.1) и у 24 детей нет (подгруппа 1.2).

Особенности течения беременности у женщин с инфекционными осложнениями представлены в таблице 3.

Таблица 3. Особенности течения беременности у женщин с инфекционными осложнениями

Показатели	Подгруппа 1 (n=14)	Подгруппа 2 (n=24)	p Критерий Стьюдента
Угроза прерывания беременности с образованием ретрохориальной гематомы в I триместре беременности	11 (78,6%)	8 (33,3%)	0,037
Истмико-цервикальная недостаточность во II триместре беременности	7 (50%)	-	0,025
Угрожающие преждевременные роды во II триместре беременности	9 (64,3%)	1 (4,2%)	0,017
Угрожающие преждевременные роды в III триместре беременности	9 (64,3%)	2 (8,3%)	0,032

Прогноз развития инфекционных осложнений у новорожденных, родившихся у женщин с послеродовыми инфекционными осложнениями

При анализе зависимости вероятности развития инфекционных осложнений у новорожденных в зависимости от анамнестических факторов с помощью метода бинарной логистической регрессии получена следующая модель (1):

$$P = 1 / (1 + e^{-z}), \text{ где}$$

$$z = 2,268 * X_{K. Escherichia coli+} + 3,856 * X_{\text{стрептококк}(I)} - 2,351 * X_{Lactobacillus spp-} - 3,458$$

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Материалы и методы исследования

В период 2020-2022 гг. проведено сплошное проспективное одноцентровое исследование. В исследование включено 160 беременных женщин, разделенных на две группы: **I группа (основная)** – 38 (23,75%) женщин, у которых развились послеродовые инфекционные осложнения (такие как гипертермия, возникающая после родов (n=9), послеродовый эндометрит (n=9), субинволюция матки (n=17), несостоятельность шва на промежности после эпизиотомии (n=2), хориоамнионит и пневмония (n=1)) и **II группа (сравнения)** – 122 (76,25%) женщин, у которых послеродовых инфекционных осложнений не наблюдалось. Исследование влагалищной и кишечной микробиоты проводилось в I и во II периодах родов.

Включенные в исследование 160 женщин, родили 167 детей, которые также были разделены на **2 группы**: с инфекционными осложнениями (n=29) и без инфекционных осложнений (n=138).

Критерии включения пациентов в исследование: роженицы в I периоде родов с интактными плодными оболочками (влагалищная микробиота) и в потужном периоде (кишечная микробиота); роды через естественные родовые пути; возраст 18-45 лет; подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии невключения пациентов в исследование: врожденные пороки развития плода; онкологические заболевания у беременной; аутоиммунные заболевания, требующие проведения терапии глюкокортикостероидами. Иммуносупрессивная терапия; гемоконтактные инфекции - ВИЧ, вирусные гепатиты.

Критерии исключения пациентов из исследования: антенатальная гибель плода и мертворождение; не явка для сдачи биологического материала женщины в установленные сроки.

Критерии исключения из исследования пары мать-ребенок: неявка для сдачи биологического материала ребенка в установленные сроки; отказ от исследования после рождения ребенка.

В работе применены следующие методы исследования: клинические (детальный сбор анамнеза, общий и акушерско-гинекологический осмотры), клиничко-лабораторные и микробиологические методы: комплексный микробиологический анализ образцов, влажной и кишечной микробиот методом культуромикри с идентификацией всех выделенных микроорганизмов методом MALDI-TOF-MS анализа.

Биологический материал включал в себя образцы трех типов: вагинальное отделяемое беременных женщин; кал беременных женщин; меконий/кал новорожденных детей в раннем неонатальном периоде. Материал собирался в течение первых 72 часов жизни новорожденного. Пациенткам, включенным в исследование, выдавали на руки памятку пациента и контейнер для сбора кала для изучения просветной микробиоты кишечника беременной женщины.

После родов у новорожденного ребенка проводили взятие биологического материала для изучения кишечной просветной микробиоты и при установлении или подозрении на возникновение инфекционных осложнений у ребенка или в паре мать-ребенок.

Статистическая обработка полученных результатов диссертационной работы проводилась с использованием Microsoft Excel и статистического программного обеспечения SPSS 23.0, Statistica 8.0 for Windows (StatSoft Inc., USA). Аналитическая статистика выполнялась с использованием *t*-теста Стьюдента для количественных данных с нормальным распределением. Для сравнения двух независимых непараметрических выборок использовали критерий Манна-Уитни. Значение вероятности $<0,05$ демонстрировало статистическую достоверность. Многофакторный анализ выполнялся с помощью метода бинарной логистической регрессии, с построением моделей логистической регрессии.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный анализ течения беременности, родов, послеродового периода с особенностями микробиоты кишечника у обследованных женщин

Среди состояний, отягощающих акушерский анамнез, беременность с абортным исходом до 22 недели беременности статистически значимо чаще

Анализ состава микробиоты кишечника новорожденных детей с инфекционными осложнениями и без инфекционных осложнений

У новорожденных с инфекционными осложнениями в раннем неонатальном периоде отмечалось снижение видового состава микробиоты кишечника по сравнению с новорожденными без инфекционных осложнений (рисунок 4).

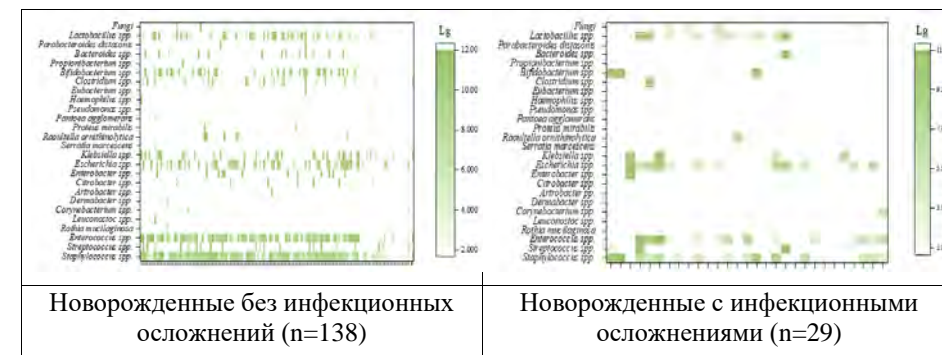


Рис.4. Тепловые карты микроорганизмов микробиоты кишечника новорожденных

Нами показано, что в группе с инфекционными осложнениями статистически значимо ниже индекс Маргалефа (тест Манна-Уитни, $p < 0,001$) (рисунок 5).

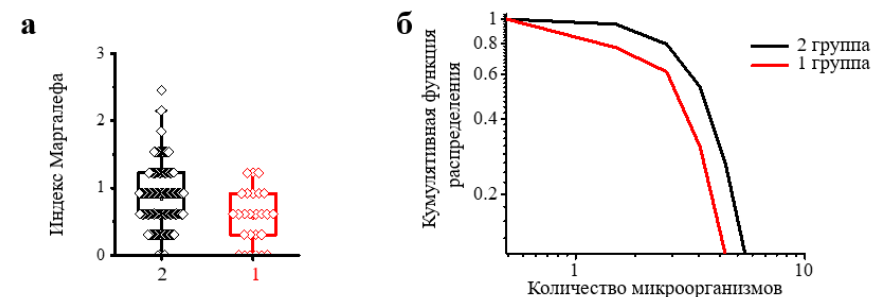


Рис.5. Сравнение индекса видового богатства Маргалефа(а) и обратная кумулятивная функция распределения (б) микроорганизмов интестинального отделяемого у детей в раннем неонатальном периоде

мочевыводящих путей (n=2); иные (конъюнктивит гнойный, ринит, отит, инфекция специфичная для перинатального периода) (n=7)).

2 группа - 138 новорожденных, у которых инфекционные осложнения не развились.

Среди женщин, чьи новорожденные дети составили II группу (дети без инфекционных осложнений) ВРТ проводилось значимо реже, чем в I группе (8,7% и 20,7%; $p<0,05$). Так, беременность с абортным исходом до 22 недель в анамнезе среди женщин, у детей которых развились инфекционные осложнения, отмечалась в 2,1 раза чаще ($p<0,05$) по сравнению с матерью детей II группы.

У женщин, дети которых развили инфекционные осложнения, в I триместре беременности угроза прерывания беременности с образованием ретрохориальной гематомы наблюдалась в 3,2 раза чаще по сравнению с женщинами II группы новорожденных ($p<0,05$). Во II триместре угрожающие преждевременные роды, БВ и аэробный вагинит отмечались у 33 (19,8%) и 5 (3,0%) матерей соответственно и в 3,1 и 7,4 раза чаще наблюдались у матерей группы новорожденных с инфекционными осложнениями ($p<0,05$). В III триместре беременности ГАГ у матерей в I группе новорожденных наблюдалась в 8,3 раза чаще по сравнению с матерью II группы новорожденных ($p<0,05$); симптомы угрожающих преждевременных родов в 3,8 раза чаще ($p<0,05$) [таблица 2].

Таблица 2. Осложнения течения беременности у женщин, в зависимости от наличия или отсутствия инфекционных осложнений у их детей

Осложнения беременности	Новорожденные I группы (n=29)	Новорожденные II группы (n=138)	p Критерий Стьюдента
I триместр			
Угроза прерывания беременности с образованием ретрохориальной гематомы	18 (62,1%)	27 (19,6%)	0,012
II триместр			
Угрожающие преждевременные роды	13 (44,8%)	20 (14,5%)	0,036
Бактериальный вагиноз и аэробный вагинит	3 (10,3%)	2 (1,4%)	0,043
III триместр			
Гестационная артериальная гипертензия	7 (24,1%)	4 (2,9%)	<0,001
Угрожающие преждевременные роды	12 (41,4%)	15 (10,9%)	0,034

наблюдалась в группе женщин с послеродовыми инфекционными осложнениями по сравнению с группой женщин без инфекционных осложнений (13,2% и 2,5%; $p<0,05$).

Угроза прерывания беременности в I триместре с образованием ретрохориальной гематомы статистически значимо чаще наблюдалась среди женщин с инфекционными осложнениями по сравнению с женщинами, у которых после родов их не наблюдалось (50,0% и 21,3%; $p<0,05$) [таблица 1].

Таблица 1. Состояния, отягощающие акушерско-гинекологический анамнез, и осложнения течения беременности у исследуемых беременных женщин

Состояния и осложнения	I группа (n=38)	II группа (n=122)	P
Состояния, отягощающие акушерско-гинекологический анамнез у исследуемых беременных женщин			
Беременность с абортным исходом до 22 недели беременности	5 (13,2%)	3 (2,5%)	0,034
Преждевременные роды в анамнезе	1 (2,6%)	3 (2,5%)	>0,05
Осложнения течения I триместра беременности у обследованных			
Угроза прерывания беременности с образованием ретрохориальной гематомы	19 (50,0%)	26 (21,3%)	0,032
Осложнения течения беременности во II триместре			
Бессимптомная бактериурия	17 (44,7%)	11 (9,0%)	0,026
Осложнения течения беременности в III триместре			
Угрожающие преждевременные роды	11 (28,9%)	13 (10,7%)	0,042

Бессимптомная бактериурия во II триместре беременности была диагностирована у 28 (17,5%) женщин, причем в I группе статистически значимо чаще, чем во II ($p<0,05$).

В III триместре у пациенток с инфекционными осложнениями симптомы угрожающих преждевременных родов отмечались статистически значимо чаще по сравнению с женщинами без инфекционных осложнений (28,9% и 10,7%; $p<0,05$).

Особенности микробиоты влагалища у обследованных беременных

В микробиоте влагалища выявлено снижение видов *Lactobacillus* spp. у пациенток с инфекционными осложнениями по сравнению с женщинами без них: *Lactobacillus crispatus* (2,6% и 17,2%; $p<0,05$), *Lactobacillus gasseri* (2,6% и 20,7%;

$p < 0,05$), *Lactobacillus iners* (2,6% и 12,9%; $p < 0,05$), *Lactobacillus jensenii* (2,6% и 26,1%; $p < 0,05$), *Lactobacillus rhamnosus* (0% и 9,8%; $p < 0,05$) [рисунок 1].

У подавляющего большинства (86,9%) пациенток II группы микрофлора была представлена нормофлорой и богата *Lactobacillus* spp., тогда как у I группы женщин отмечалось снижение данных микроорганизмов (отсутствовали у 86,8% женщин) и отмечалось появлением представителей нормофлоры кишечника и/или повышением титра таких микроорганизмов как *E. coli* (52,6% и 3,3% у женщин с и без инфекционных осложнений; $p < 0,05$), *E. faecalis* (44,7% и 3,3% у женщин с и без инфекционных осложнений; $p < 0,05$) и *S. agalactiae* (26,3% и 0,8% у женщин с и без инфекционных осложнений; $p < 0,05$).

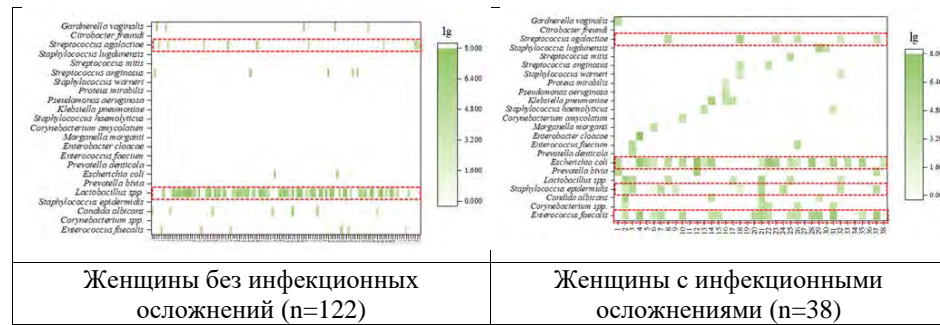


Рис. 1. Тепловые карты микроорганизмов микробиоты влагалища

Особенности микробиоты кишечника у обследованных беременных

Установлено снижение таксономического богатства микробиоты кишечника у пациенток с инфекционными осложнениями по сравнению с женщинами без инфекционных осложнений, в первую очередь за счет снижения или исчезновения *Parabacteroides* spp., *Bacteroides* spp. и *Enterobacter* spp. [рисунок 2].

В составе микробиоты кишечника женщин с инфекционными осложнениями статистически значимо чаще отсутствовали такие микроорганизмы как *Bifidobacterium* spp. (92,1% и 50%), *Lactobacillus* spp. (71,7% и 43,4%), *Bacteroides* spp. (84,2% и 44,3%) и *Escherichia* spp. (55,3% и 32,0%) по сравнению с группой женщин без инфекционных осложнений ($p < 0,05$).

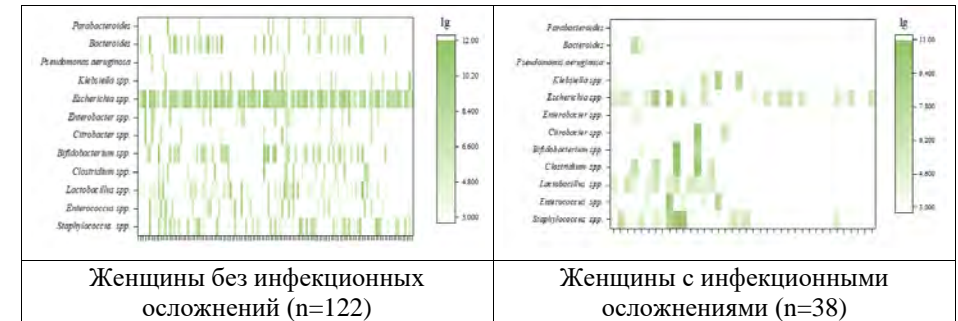


Рис.2. Тепловые карты микроорганизмов микробиоты кишечника

На рисунке 3 показано статистически значимое снижение индекса разнообразия микроорганизмов (Манна Уитни тест, $***p < 0,001$). Сравнение кумулятивных функций распределения видов микроорганизмов статистически значимого различия не показал (тест Колмогорова – Смирнова, ns $p > 0,05$).

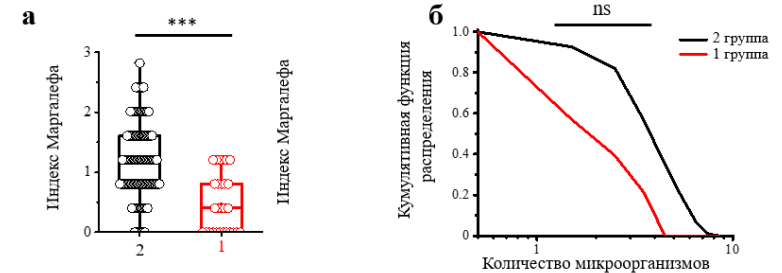


Рис.3. Сравнение индекса видового богатства Маргалефа (а) и кумулятивная функция распределения (б) микроорганизмов интестинального отделяемого у женщин

Сравнительный анализ течения беременности, родов, послеродового периода у обследованных женщин с особенностями состава микробиоты кишечника у новорожденных в раннем неонатальном периоде

Проанализированы особенности планирования и течения беременности женщин, у новорожденных которых развились и не развились инфекционные осложнения в раннем неонатальном периоде: 1 группа – 29 новорожденных, у которых развились инфекционные осложнения (врожденная пневмония ($n=17$); кандидоз желудочно-кишечного тракта ($n=2$); врожденный сепсис ($n=1$); инфекция