

Б.Т. Сейтханова

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ
ВЛИЯНИЯ МИКРОФЛОРЫ БЕРЕМЕННЫХ
ЖЕНЩИН НА ФОРМИРОВАНИЕ
НОРМО - ПАТОФЛОРЫ КОЖНЫХ
ПОКРОВОВ НОВОРОЖДЕННЫХ**

Монография



Б.Т. Сейтханова

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ
ВЛИЯНИЯ МИКРОФЛОРЫ БЕРЕМЕННЫХ
ЖЕНЩИН НА ФОРМИРОВАНИЕ НОРМО -
ПАТОФЛОРЫ КОЖНЫХ ПОКРОВОВ
НОВОРОЖДЕННЫХ**

Монография



ЭВЕРО
издательство
Алматы, 2022

УДК 579.61
ББК 52.64
С 28

Рецензенты:

Рамазанова Б.А. - д.м.н. профессор, заведующая кафедрой
Микробиологии, вирусологии и иммунологии КАЗНМУ (Алматы)
(aiker@mail.ru)

Дусмагамбетов М.У. - д.м. н профессор Заведующая кафедрой
Микробиологии, вирусологии им.Ш.И. Сарбасовой. АО. МУА (Астана)
(step_marat@mail.ru)

Орманов Н.Ж. - д.м.н.профессор. Зав каф Фармакологии
фармакотерапии и клинической фармакологии ЮКМА

Автор: Сейтханова Б.Т. - (d.m.n. bibigul@mail.ru)

С 28 Микробиологическое обоснование влияния микрофлоры беременных женщин на формирование нормо – патофлоры кожных покровов новорожденных: монография / Сейтханова Б.Т. – Алматы: Эверо, 2022 г. – 197 с.

ISBN

В монографии представлены становление микрофлоры новорожденных, связь с микробиоценозом влагалища и кишечника беременных женщин, структура микрофлоры, определяемой при беременности и у новорожденных, биологические свойства микроорганизмов, острова патогенности Энтеробактерий, антибиотикорезистентность микроорганизмов, выделенных от матерей и новорожденных, видовой состав микрофлоры родовых путей матери и микрофлоры новорожденного, подходы к формированию нормо-пато флоры новорожденных детей от матерей группа риска. Объектами и предметами исследования явилась беременные женщины, новорожденные, 600 штаммов микроорганизмов.

Монография рассчитана на широкий круг читателей, занятых в сфере здравоохранения: врачей микробиологов, акушер- гинекологов, педиатров и будет полезно для студентов медицинских ВУЗов, магистрантов и резидентов, научных работников. Большая часть монографии посвящена теоретическим вопросам, что даёт возможность использования их в учебном процессе и на семинарах, лекции.

УДК 579.61
ББК 52.64

ISBN

© Сейтханова Б.Т., 2022
© Эверо, 2022

СОДЕРЖАНИЕ

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА	5
ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ	6
ВВЕДЕНИЕ.....	7
ГЛАВА 1.	9
1.1 Микрофлора различных биотопов тела человека.....	9
1.2 Функции и микрофлора кожных покровов	15
1.3 Микробные популяции кожи	18
1.4 Микрофлора биотопа кожи новорожденных: концепция постоянной и транзитной флоры	20
1.5 Особенности микрофлоры и инфекций родовых путей.....	28
ГЛАВА 2. ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ	35
2.1. Идентификация выделенных культур.....	36
2.2. Определение антибиотикорезистентности у выделенных культур ...	38
2.3. Изучение адгезивности микроорганизмов	40
ГЛАВА 3. СТАНОВЛЕНИЕ МИКРОФЛОРЫ НОВОРОЖДЕННЫХ, СВЯЗЬ С МИКРОБИОЦЕНОЗОМ ВЛАГАЛИЩА И КИШЕЧНИКА БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН	43
3.1. Становление микробиоценозов основных биотопов у новорожденных в динамике.....	43
3.2. Микробиоценоз кишечника новорожденных.....	47
3.3. Микробиоценоз ротоглотки новорожденных	52
3.4. Микробиоценоз кожи новорожденных.....	53
3.6. Микробиоценоз кишечника матерей	69
ГЛАВА 4. СТРУКТУРА МИКРОФЛОРЫ, ОПРЕДЕЛЯЕМОЙ У МАТЕРЕЙ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ И У НОВОРОЖДЕННЫХ.....	73
4.1. Родовая и видовая структура микрофлоры	73
4.2. Физиолого-биохимические свойства стафилококков.....	76
4.3. Кандидоз у родильниц и новорожденных	78
ГЛАВА 5. БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ МАТЕРЕЙ И НОВОРОЖДЕННЫХ	83
5.1 Адгезивность штаммов <i>E.coli</i> , выделенных из кишечника новорожденных	83
5.2. Кристаллограммы штаммов микроорганизмов, выделенных от матерей и новорожденных.....	85

ГЛАВА 6. ОСТРОВА ПАТОГЕННОСТИ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ МАТЕРЕЙ И НОВОРОЖДЕННЫХ	96
ГЛАВА 7. АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ МАТЕРЕЙ И НОВОРОЖДЕННЫХ.....	101
7.1. Антибиотикорезистентность стафилококков.....	101
7.2. Антибиотикорезистентность грамотрицательных возбудителей.....	109
7.3. Изучение установления общности представителей микрофлоры по антибиотикограмме.....	116
ГЛАВА 8. ВИДОВОЙ СОСТАВ МИКРОФЛОРЫ РОДОВЫХ ПУТЕЙ МАТЕРИ И МИКРОФЛОРЫ НОВОРОЖДЕННОГО. ПОДХОДЫ К ФОРМИРОВАНИЮ НОРМОФЛОРЫ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ ОТ МАТЕРЕЙ ГРУПП РИСКА	120
8.1. Видовой состав микрофлоры родовых путей матери и микрофлоры новорожденного	120
8.2 Дисбиотические нарушения биотопов у новорожденных и матерей группы риска.....	124
8.3. Частота контаминации условно-патогенными микроорганизмами новорожденных от матерей группы риска	127
8.4. Дисбактериоз кишечника в неонатальном периоде	129
8.5. Инфекционно-воспалительные осложнения новорождённых при дисбиозах влагалища беременных.....	133
8.6. Динамическая оценка микрофлоры беременных, родильниц и новорожденных с целью прогнозирования развития гнойно- септических инфекций	137
8.7. Показатели местного гуморального иммунитета шейки матки и влагалища беременных женщин	140
8.8. Определение типа инфицирования новорожденного на основе микробиологического исследования родовых путей.....	142
8.9. Лечение бактериального вагиноза и профилактика послеродовых инфекций у беременных женщин. Подходы к формированию нормофлоры новорожденных детей от матерей групп риска	145
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	155
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	171
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ	172

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

В монографии представлены становление микрофлоры новорожденных, связь с микробиоценозом влагалища и кишечника беременных женщин, структура микрофлоры, определяемой при беременности и у новорожденных, биологические свойства микроорганизмов, острота патогенности

Энтеробактерий, антибиотикорезистентность микроорганизмов, выделенных от матерей и новорожденных, видовой состав микрофлоры родовых путей матери и микрофлоры новорожденного, подходы к формированию нормо-пато флоры новорожденных детей от матерей группа риска. Объектами и предметами исследования явилась беременные женщины, новорожденные, 600 штаммов микроорганизмов.

Монография рассчитана на широкий круг читателей, занятых в сфере здравоохранения: врачей микробиологов, акушер-гинекологов, педиатров и будет полезно для студентов медицинских ВУЗов, магистрантов и резидентов, научных работников. Большая часть монографии посвящена теоретическим вопросам, что даёт возможность использования их в учебном процессе и на семинарах, лекции.

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ

БЛРС	–	беталактамазы расширенного спектра
ГВЗ	–	гнойно-воспалительные заболевания
ГСИ	–	гнойно-септические инфекции
ГСЗР	–	гнойно-септические заболевания рожениц
ДДМ	–	диско - диффузионный метод
КОЕ	–	колониеобразующие единицы
КОС	–	коагулазоотрицательные стафилококки
КПС	–	коагулазоположительные стафилококки
МПК	–	минимальная подавляющая концентрация
М.Р.	–	методические рекомендации
МУК	–	методические указания
MRSA	–	мецитиллинрезистентные <i>S.aureus</i>
MRSE	–	мецитиллинрезистентные коагулазоотрицательные
MSSA	–	стафилококки
MSSE	–	мецитиллинчувствительные <i>S.aureus</i>
		мецитиллинчувствительные коагулазоотрицательные
НГОБ	–	стафилококки
ПЦР	–	неферментирующие грамотрицательные бактерии
РВУ	–	полимеразная цепная реакция
УПМ	–	родовспомогательные учреждения
R	–	условно-патогенные микроорганизмы
S	–	резистентный
RS	–	чувствительный
NCCLS	–	умереннорезистентный National Committee for Clinical Laboratory Standarts (Национальный комитет стандартов для клинических лабораторий)

ВВЕДЕНИЕ

Своевременное и правильное формирование микробиоценоза во многом определяет состояние здоровья новорожденного и влияет на его развитие [18,131,132,182].

Известно, что симбиотическая микрофлора является важным фактором физического благополучия ребенка, служит чувствительным индикатором здоровья, меняясь при различных заболеваниях и «доклинических» нарушениях гомеостаза [177,178,216].

Одной из важных медико-социальных задач является обеспечение здоровья новорожденных. Микробиологический аспект проблемы является одним из основных, однако он почти не разработан концептуально. В общем виде этот аспект может быть сформулирован как «правильная закладка и формирование нормальной микрофлоры организма новорожденного», при этом под нормальной микрофлорой понимается совокупность всех сложных, эволюционно закрепленных микробиоценозов органов, тканей или участков тела, контактирующих с внешней средой [33,170]. Патология формирования микрофлоры новорожденного в акушерских и детских стационарах связана с дефицитом источников нормальной флоры, особенно анаэробной и с колонизацией госпитальными штаммами условно-патогенных бактерий [82,85]. Возникновение гнойно-септических инфекций – наиболее известное, хотя и не единственное, последствие нарушения микроэкологии новорожденного [53,119,120,134,152].

В последние годы прослеживается отчетливая тенденция к росту дисбиотических состояний среди детей раннего возраста. Возросла длительность заселения организма новорожденных облигатными представителями нормальной микрофлоры с 3 - 4 дней (40 – 50-е годы) до 8 – 10 дней (70-е годы) и по последним данным составляет 20 – 25 суток. К моменту выписки из роддома только около 30% детей имеют нормально сформированную микрофлору кишечника и зева, и 66,8% - нормальную флору кожи [92,119,120].

В контаминации новорожденного и ребенка первого года жизни большую роль играет микрофлора родовых путей матери [119,182,237,258].

Анализ современной отечественной и зарубежной литературы свидетельствует, что в микроэкологии тела человека происходят существенные изменения, в частности, возрастание удельного веса условно-патогенных бактерий с вовлечением в число микрофлоры всё более широкого круга микроорганизмов [25, 26, 57, 64, 66, 138, 155].

Поэтому, слежение за видовым составом и установление доминирующих видов микроорганизмов, контаминирующих организм и играющих определённую роль в структуре заболеваний человека продолжает оставаться актуальной проблемой здравоохранения [111,126,127]. Немаловажное значение имеет изучение биологических свойств этих микроорганизмов, антибиотикорезистентности, поиск возможностей улучшения и оптимизации методов их лабораторной диагностики [65,68,140,154,155].

ГЛАВА 1.

1.1 Микрофлора различных биотопов тела человека

Микроорганизмы являются частью биоценоза всех экологических процессов, которые наблюдаются в естественных условиях. В процессе эволюционного развития, адаптации к существующим между определенными видами и группами микроорганизмов и другими формами жизни установились сложные взаимоотношения [265]. Нарушение экологического баланса между микро- и макроорганизмами, а также внутримикробных ассоциаций приводит к селекции более патогенных видов и штаммов микроорганизмов, более интенсивному генетическому обмену [109,110,136,166,267]. Именно благодаря этому процессу изменения биологических свойств микробов носят нелокальный характер и касаются не отдельных видов или семейств, а начинают приобретать тотальный характер [32,188,199,208].

Наблюдаемое в последние десятилетия существенное расширение круга микроорганизмов, вызывающих инфекционные заболевания у человека, пополнение этого круга за счет считавшихся ранее безвредными микроорганизмами, выраженная устойчивость современных возбудителей к антибиотикам - все это свидетельствует об актуальности проблемы и необходимости изучения этиологии инфекционных заболеваний [19,89,107,141,148,181,204].

Микрофлора, присутствующая на коже и слизистых оболочках открытых полостей, включает в себя десятки и сотни разнообразных видов микроорганизмов [1,23,29,60,61,210,219,247].

Нормальной аутофлорой принято считать совокупность типичных для определенного биологического вида ассоциаций микроорганизмов, естественная жизнедеятельность которых происходит в тех органах и тканях макроорганизма, которые сообщаются с внешней средой [178,179]. Нормальная аутофлора выполняет важнейшие физиологические и иммунологические функции в макроорганизме и является составной частью микробиоценоза человека [2,18,158,189].

Окружающая человека среда обитания (воздух, почва, вода, продукты питания, различные предметы и др.) обильно обсеменена

различными видами микроорганизмов, с которыми он соприкасается. Многие из этих микробов не способны к сосуществованию с макроорганизмом [128,138]. Однако есть и такие, которые в процессе своего эволюционного развития приобрели свойства сапрофитов, а некоторые даже стали симбионтами, необходимыми для нормальной жизнедеятельности организма-хозяина [207,271,278].

И.Б.Куваева и К.С.Ладодо (1991) предложили выделять микрофлору:

- защитную (бифидобактерии, лактобактерии, полноценные эшерихии)
- сапрофитную (дрожжи, сапрофитный и эпидермальный стафилококк)
- условно- патогенную (протей, кандиды, коагулазоположительный стафилококк, гемолитический стрептококк, спороносные анаэробы)
- патогенную (сальмонеллы, шигеллы, энтеропатогенные эшерихии, иерсинии, клостридии, хеликобактер).

Указанное деление в определенной степени условно, однако, с позиций характеристики функционального состояния колонизационной резистентности кишечника, оно вполне целесообразно и обосновано [268,270].

Становление и функциональное развитие желудочно-кишечной экосистемы новорожденного начинается с момента рождения и динамично меняется с увеличением возраста человека [44,51,67]. В настоящее время выявлены общие закономерности заселения желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) человека микроорганизмами [28,52, 55,81,100,165,170].

В нормальных условиях микрофлора влагалища у беременной в основном представлена *Lactobacillus acidophilus*, которые препятствуют развитию патогенных микроорганизмов, а видовой спектр бифидобактерий и остаточная флора соответствуют микробному пейзажу толстого кишечника [1,4,5,93,118,145].

Поражения слизистых наружных гениталиев беременной женщины герпес-вирусами, хламидиями, микоплазмами, грибами или другими оппортунистическими возбудителями отражает нарушение биоценоза влагалища и способствуют контаминации

новорожденного патогенными микроорганизмами [6, 9, 11, 13, 54, 77, 78, 80].

Первичное заселение микробами стерильного до рождения ребенка осуществляется при прохождении через родовые пути матери за счет микрофлоры влагалища [54,74,75,156]. У детей, рожденных путем «кесарева сечения», этот фактор имеет особое значение, так как у них обнаруживается меньшее количество лактобактерий в желудочно-кишечном тракте в первые дни жизни, по сравнению с теми детьми, которые родились естественным образом [38,42,74,194,222]. Вот почему у этих детей после рождения часто наблюдается высокий титр факультативных анаэробных штаммов, например *E.coli* или стрептококков [27,77,154]. Немаловажное значение имеет микрофлора ухаживающих за ребенком людей («госпитальная» флора) [108,168].

Выделяют три фазы заселения пищеварительного тракта у новорожденного [105]:

- первая – асептическая, продолжительностью 10-20 часов.
- вторая – заселение микроорганизмами, продолжительностью 2-4 суток.
- третья – стабилизация микрофлоры с последующим преобладанием бифидобактерий.

В первые часы и дни кишечник новорожденного заселяется микрококками, стафилококками, энтерококками, клостридиями [18,84,242]. Затем появляются кишечные палочки, лакто - и бифидобактерии [209,233,248]. Позднее бифидобактерии становятся доминирующей флорой, в кишечнике присутствуют бактероиды, стрептококки, спираиллы, эубактерии [84]. Одним из клинических критериев “физиологического заселения” кишечника новорожденного является определенное содержание в фекалиях бифидофлоры [88,89]. Результаты, полученные в результате проведения ряда исследований, показывают, что первичное строение желудочно-кишечной экосистемы у новорожденных зависит от многих факторов [86,177,178,179,182].

Для оценки биоценоза кишечника новорожденного имеет значение [41,78,79]:

- состояние микробиоценоза родовых путей матери;
- особенности микробного загрязнения окружающей среды;

- активность неспецифических факторов защиты (бактерицидность, резистентность кожных покровов, активность макрофагов, лизоцима, пероксидазы, интерферона и т.д.);
- активность пассивного иммунитета, передаваемого через грудное молоко (специфического и неспецифического);
- особенности HLA системы, определяющей строение рецепторов, адгезивно взаимодействующих с бактериями.
- гормональный фон матери (уровень эстрогенов) во время беременности;
- течение беременности (наличие гестоза, заболеваний матери во время беременности, особенно гестационного пиелонефрита).
- состояние плаценты при рождении;
- возможность пре- или интранатального инфицирования;
- длительность безводного промежутка;
- наличие реанимационных мероприятий в родах;
- сроки прикладывания ребенка к груди.

Процесс развития нормальной аутофлоры кишечника может нарушаться у детей, инфицированных внутриутробно, при заболеваниях матери во время беременности или при гестозах, при наличии у женщины хронических очагов инфекции [156,161,185,189,227,230]. Существенное значение в нарушении процессов становления микробного биоценоза имеют раннее и родовое излитие околоплодных вод, проведение реанимационных мероприятий детям, родившимся в асфиксии [41,54,78,79,87].

Следует отметить, что широко распространенный термин “транзиторный дисбактериоз новорожденного” методологически некорректен [78,79]. Поскольку речь идет о естественном процессе бактериального заселения кишечника новорожденного ребенка, то, очевидно, правильнее называть этот период “фазой первичной микробной колонизации ЖКТ” [201,206].

В 1936 Зобелл и Андерсен расширили теорию Мечникова, доказав существование в толстом кишечнике «микробной плёнки». Эти учёные постулировали, что в слизистой кишечника обитают популяции многих видов бактерий — целая экосистема, вовлечённая в процессы метаболизма и пищеварения. Позднее (в 50-х годах) появился термин «пробиотик» (антоним антибиотика) — продукт, стимулирующий развитие здоровой микрофлоры кишечника [266,269]. А в последующие 20 лет

научные исследования помогли установить существование сложного и динамического равновесия между функционированием кишечной микрофлоры и здоровьем организма [190,236].

В последние годы также стали изменяться представления и о кожной микрофлоре [219,247]. Обычно бактерии, обитающие на коже, рассматривались лишь как потенциальный источник инфекций. Это сформировало представления о гигиене кожи, одним из основных постулатов которого стало стремление всячески её обеззаразить (различные антибактериальные мыла) [109,117,139].

Перед хирургическими операциями вообще рекомендовалось принимать чуть ли не душ из хлоргексидина для предотвращения возможных осложнений, что на самом деле неблагоприятно сказывается на состоянии кожи и практически бесполезно для профилактики [115,116,139,255].

Однако на сегодняшний день концепция существенно усложнилась. Например, появились данные о том, что кожные популяции бактерий контролируются средствами врожденного иммунитета — в частности, конститутивной экспрессией антимикробных пептидов [139]. Таким образом, модель взаимодействий между кожей и микрофлорой тела имеет долгие эволюционные корни и, по-видимому, закодирована в геноме.

Начиная с процесса рождения и последующего постнатального периода, кожа колонизируется огромным количеством микробов, многие из которых являются важными симбионтами человека [60,61,117,177,179]. Их роль может заключаться в подавлении роста нежелательных патогенных бактерий, а также участии в переработке кожных белков, свободных жирных кислот и кожного сала. При этом кожа состоит из различных «экологических ниш», для которых характерны широкие диапазоны pH, температуры, влажности и уровня секреции сальных желез, что играет непосредственную роль в развитии сложной микробной экосистемы [215]. Кроме того, определённые кожные структуры, такие как волосяные фолликулы и различные железы, могут обладать своей собственной уникальной флорой. Помимо этого важными факторами являются пол, генотип и иммунный статус хозяина, и даже активность, с которой он пользуется различными косметическими средствами [193,200,205,210]. Все это определяет численность и видовой состав микробных популяций. Существует

много доказательств в пользу влияния состояния микрофлоры на развитие ряда неинфекционных кожных заболеваний, таких как атопический дерматит, розацея, псориаз и акне [43,69,70]. При этом заболевание может являться следствием лишь небольших изменений в «кожной микробиологии» [210].

Собственная микрофлора также может стать патогенной, снижая защитную функцию кожного барьера. Это, в свою очередь, определяет важность накопления знаний о качественном и количественном составе микрофлоры здоровой кожи, что в будущем обеспечит появление новых и эффективных методов терапии. Изучение структуры кожной микрофлоры у человека и животных позволяет сделать важное открытие, что симбиоз между организмом и бактериями развивался в течение длительного периода эволюции, и является прямым следствием адаптации к окружающей среде. Так, было показано, что видовой состав бактерий, полученный из кожных образцов мышей в области уха, во многом напоминает кожную микрофлору локтевой ямки человека [210].

Это говорит в пользу того, что бактерии неслучайным образом расселяются на коже, и только определенные их виды смогли выработать «добрососедские» отношения со своими хозяевами, не подвергаясь агрессивному воздействию их иммунной системы. Кроме того, подобное открытие позволяет создать новые стратегии в изучении различных кожных заболеваний человека с использованием мышинных моделей. Например, существует специальная линия мышей (*St14^{hypo/-}*), у которых отсутствует *филаггрин* — белок, играющий ключевую роль в формировании кератицированного эпителия и образовании эпидермального барьера, защищающего организм от действия различных патогенов. Для них было показано, что симптомы, сходные с атопическим дерматитом, могут быть вызваны определёнными изменениями в структуре кожной микрофлоры. Отсутствие *филаггрина* у человека также часто ведет к развитию умеренной или выраженной формы заболевания [261]. Таким образом, и у мышей, и у человека за развитие кожных патологий могут быть ответственны сходные генетические механизмы в совокупности с влиянием кожной микрофлоры.

1.2 Функции и микрофлора кожных покровов

Основные функции кожи: обеспечение *защитного барьера* между телом и окружающей средой, в том числе защита от механических повреждений, радиации, химических раздражителей, бактерий, а также *иммунная, рецепторная, терморегулирующая, обменная, резорбционная, секреторная, экскреторная, дыхательная* [117].

Защитная функция кожи включает механическую защиту от внешних воздействий.

Кожа человека служит естественной и постоянной средой обитания для многочисленных микроорганизмов: бактерий (*Staphylococcus epidermidis diptheroidus, Propionbacterium acnes, Pityrosporum* и др.), грибов и вирусов, поскольку ее поверхность содержит много жировых и белковых ингредиентов, создающих благоприятные условия для их жизнедеятельности [232]. В то же время она непроницаема для разнообразных бактерий и патогенных микроорганизмов, особенно редко попадающих на ее поверхность [117].

Бактерицидное свойство кожи, придающее ей способность противостоять микробной инвазии, обусловлено кислой реакцией кератина, своеобразным химическим составом кожного сала и пота, наличием на ее поверхности защитной воднолипидной мантии с высокой концентрацией водородных ионов (рН 3,5–6,7). Входящие в ее состав низкомолекулярные жирные кислоты, в первую очередь гликофосфолипиды и свободные жирные кислоты, обладают бактериостатическим эффектом, селективным для патогенных микроорганизмов. Механическое препятствие инвазии патогенных микроорганизмов в кожу, помимо целостности рогового слоя, обеспечивается их удалением с чешуйками, секретом сальных и потовых желез. На 1 см² кожи здорового человека находятся от 115 тыс. до 32 млн различных микроорганизмов, большая часть из которых относится к постоянной бактериальной флоре, играющей важную роль в антимикробной защите кожных покровов и слизистых оболочек от патогенных микроорганизмов [117]. Способность кожи противостоять микробной инвазии снижается при травматизации кожи. При этом одни и те же микроорганизмы при различной природе травмы могут вызывать разные

патологические процессы. Так, стрептококки группы А вызывают рожистое воспаление после механической травматизации эпидермиса или нарушения его целостности за счет интертригинозной формы микоза стоп, тогда как на месте расчесов при атоническом дерматите обычно возникает стрептококковое импетиго [27].

Бактерицидные свойства кожи также снижаются под влиянием загрязнений кожи, при переохлаждении, переутомлении организма, недостаточности половых желез; они также снижены у больных кожными заболеваниями и у детей. В частности, у детей грудного возраста это обусловлено нежностью и рыхлостью рогового слоя эпидермиса, морфологической неполноценностью эластических и коллагеновых волокон, вследствие чего детская кожа легко подвергается механическим, радиационным, термическим и химическим раздражениям. Выживанию патогенной микробной флоры на поверхности кожи при этом также способствует слабощелочная или нейтральная среда водно-липидной мантии с недостаточным количеством низкомолекулярных свободных жирных кислот. Проникновение микробов через верхние слои эпидермиса сопровождается миграцией лейкоцитов из сосудов и проникновением их в дерму и эпидермис с формированием защитной воспалительной реакции.

Иммунная функция. Кожа играет важную роль в процессах иммунитета [217,218,238]. Основными элементами иммунной системы кожи являются кератиноциты, клетки Лангерганса, эпидермальные Т-лимфоциты [169]. Кератиноциты способствуют созреванию Т-лимфоцитов путем воздействия на них ферментом дезоксиноклеотидилтрансферазой. Большинство Т-лимфоцитов кожи человека располагаются в дерме, обычно вокруг посткапиллярных венул и придатков кожи.

На долю внутриэпидермальных Т-лимфоцитов приходится менее 10%. Т-лимфоциты способны распознавать экзогенные и эндогенные антигены только после их представления антигенпредставляющими клетками Лангерганса, или вспомогательными клетками. Т-клетки распознают антиген только в единой структуре с ГКГ. Для распознавания Т-хелперными лимфоцитами (CD4+) антиген должен предъявляться в комплексе с ГКГ II класса (HLA-DR, DP, DQ), тогда как большинство Т-

супрессорных лимфоцитов (CD8+) распознают антиген в ассоциации с молекулами I класса ГКГ (HLA-A, B, C). В процессе иммунного ответа на экзогенные или эндогенные антигены клетки Лангерганса, вовлеченные в антигенную презентацию претерпевают фенотипические и функциональные изменения, покидают эпидермис и попадают в лимфатические сосуды дермы, а отсюда мигрируют в паракортикальный слой лимфатических узлов [58,84,117].

На этой стадии клетки Лангерганса презентуют расположенный на их поверхности антиген – ГКГ– комплекс Т-клеточному антигенному рецептору на поверхности CD4+/CD8– или CD4-/CD8+ Т-клеток. Антигенспецифический Т-клеточный ответ заключается в образовании бластных форм Т-лимфоцитов, которые возвращаются в участки кожи, содержащие антиген [123].

Иммунные нарушения играют патогенетическую роль при различных заболеваниях кожи, в том числе при буллезных дерматозах, аллергодерматозах, псориазе, Т-клеточной злокачественной лимфоме кожи [219,247].

Кожная микрофлора человека. Исследования последних лет дают все основания говорить о том, что кожа человека обладает сложной и многогранной микробной флорой [109,117,131]. В процессе длительного взаимодействия между организмом человека и бактериями из окружающей среды некоторые из них стали заселять различные «экологические» ниши на поверхности и в глубинных слоях кожи. Результатом этого процесса стал тонкий баланс в структуре и численности микробных популяций, определяющий нормальные или патологические состояния кожи [117].

Для микроорганизмов кожа представляет собой сложную экологическую систему с множеством обособленных экологических ниш. Здесь можно встретить сотни видов бактерий, общая численность которых достигает триллионов [117]. Видовой состав популяций на разных участках кожи может существенно варьировать в зависимости от температуры, влажности, рН, а также множества других факторов, которые на данный момент еще детально не изучены [1,117,179].

1.3 Микробные популяции кожи

До недавнего времени знания о кожной микрофлоре могли быть получены только в результате искусственного культивирования микроорганизмов, несмотря на то, что не более 1% таких бактерий вообще поддаются культивированию [23,219].

Однако применение современных молекулярно-биологических методов существенно расширило возможности исследователей. Гены малой субъединицы рибосомы (16S рРНК) имеются у всех прокариотических клеток, и при этом содержат видоспецифичные варибельные участки.

Использование техники ПЦР (полимеразой цепной реакции) позволяет амплифицировать такие гены в пробирке и получать информацию о видовом составе исследуемой микробной популяции. Подобная методика недавно позволила получить важную информацию о высокой гетерогенности микрофлоры, собранной из мазков в области запястья [210].

В данном исследовании также было показано, что видовой состав микрофлоры не является постоянным для каждого из волонтеров и может быстро изменяться в течение короткого промежутка времени.

Однако, используя только образцы с поверхности кожи, невозможно детально изучить распределение микроорганизмов в её более глубоких слоях. Поэтому необходимо применять дополнительные проникающие методики и анализировать соскобы и материалы проникающей (инвазивной) биопсии, которые, впрочем, имеют ограничения, поскольку такой метод может оставлять кожные дефекты, поэтому применим только на малозаметных участках кожи испытуемых добровольцев. В целом, использование подобного комплексного подхода, сочетающего медицинские и молекулярно-биологические подходы, позволяет проводить картирование кожной микрофлоры не только на различных участках поверхности эпидермиса, но и в глубине нижележащих слоев [210].

Согласно современным исследованиям [39,109], микроорганизмы, обитающие в коже и других тканях тела, превосходят по численности клетки человеческого организма в десятки раз. Они образуют динамически развивающиеся

сообщества, которые способны регулировать наше развитие, сопротивление инфекциям и усвоение питательных веществ.

По словам исследовательницы многообразия микробной микрофлоры Джулии Сегрэ (Julie Segre) из Национального института геномных исследований в Мэриленде: *«Люди представляют из себя амальгаму из человеческого и бактериальных геномов»*

Понимая всю важность проблемы, Национальный институт здоровья США запустил Проект Человеческого Микробиома (Human Microbiome Project) с объемом финансирования более 100 млн долларов, выделив его в приоритетное направление научных исследований. В рамках этого проекта планируется провести расшифровку (секвенирование) геномов более 600 видов бактерий — симбионтов человека. Это будет составлять 99% известных бактерий, не поддающихся культивированию, однако в изобилии населяющих кожу, нос, кишечник, ротовую полость и влагалище. Очевидно, наибольший интерес представляет именно нормальная микрофлора [113,114].

Картирование микробных популяций внутри и на поверхности кожи, численность которых в норме достигает триллионов, является одной из наиболее важных задач, поскольку до сих пор люди знали об этом крайне мало. Первые шаги в этом направлении позволили получить весьма интересные результаты. Оказывается, бактерии заселяют кожу крайне неоднородно — есть области, которые выглядят настоящими микробными пустынями (между пальцев ног) по сравнению, например, с носовой полостью или пупком [254]. Было обнаружено, что ряд бактерий, для которых обычной средой обитания считалась почва, с удовольствием обитают и в здоровой коже, сосуществуя в гармонии с людьми [215]. В этой работе исследовали участки кожи пяти здоровых добровольцев в области локтевой ямки правой и левой рук. Этот участок кожи был выбран случайно, как это может показаться сначала: у людей, страдающих экземой, часто именно в этой области развиваются симптомы. Была использована описанная выше комплексная методика, которая позволяет изучать распространение бактерий вдоль всей толщины кожи. Из полученных образцов исследователи выделили более 5300 генов малой субъединицы рибосомы (16S рРНК), относящихся к 113 различным видам бактерий. Ранее

сходное многообразие было найдено и при исследовании участков запястья [210].

Однако по численности популяции среди 113 лидируют всего десять видов бактерий, на которые приходится 90% полученной генетической информации. Например, более 60% всей выделенной ДНК составляют рибосомальные гены рода *Pseudomonas*. Это грамотрицательные бактерии, обитающие в почве, воде и разлагающихся органических остатках.

Следующими по распространённости (20% генов) являются бактерии из рода *Janthinobacterium* — представители почвенных и водных грамотрицательных бактерий. Ранее эти микроорганизмы не относили к кожным симбионтам.

Несмотря на некоторые индивидуальные отличия, обнаруженные у добровольцев, в целом для их локтевых образцов характерен близкий бактериальный отпечаток.

Также интересно, что плотность бактерий во внутренних слоях кожи составила 1 млн. на квадратный сантиметр, по сравнению с 10000 — по данным с соскобов. Ранее предполагалось, что внутри кожи бактерий окажется гораздо меньше [117].

1.4 Микрофлора биотопа кожи новорожденных: концепция постоянной и транзитной флоры.

При исследовании бактерий, полученных в смывах с кожи кистей рук и предплечий Р.В.Price (1938) [256] выдвинул концепцию, которая оказалась одновременно и полезной и непоследовательной. Он писал: «Бактерии кожи представлены двумя основными разновидностями — «транзитными» и «резидентными». Транзитные относительно редко встречаются на чистой, не подвергавшейся загрязнению коже. Поскольку эти бактерии поступают на кожу из внешних источников, то вариации их безграничны, это патогенные и непатогенные микроорганизмы... Они либо свободно лежат на поверхности кожи, либо связаны сальным секретом и другими жирами, имеющимися в составе загрязнений.

Резидентная флора значительно отличается от транзитной. Это относительно стабильная «популяция» как по численности, так и по составу... Её рост происходит в основном благодаря размножению

имеющихся микроорганизмов, и только в небольшой степени за счёт поступления новых из окружающей среды. Снижение же численности происходит в результате трения, смывания, гибели бактерий и т.д. Состав и численность флоры в любое данное время является результатом воздействия этих разнообразных факторов».

Считается, что постоянная бактериальная флора кожи обычно состоит из коагулазонегативных микрококков и коринеформных бактерий, но даже штаммы *S.aureus*, *Pseudomonas* и *Trichophyton*, вероятно могут быть постоянными и размножающимися [117,264,274,276]. Представляется возможным выделить три категории микробов кожи: транзитные – микроорганизмы, попадающие на кожу в результате контаминации и не размножающиеся на ней; временные резиденты – попадающие на кожу в результате загрязнения, размножающиеся и находящиеся на коже в течение короткого периода; постоянные или резидентные – обитающие на коже. Современные данные относительно флоры кожи не позволяют утверждать, что существуют «резидентные» микроорганизмы в полном смысле этого слова. Известно, что популяция кишечных бактерий, обитающая в кишечнике людей, находится в состоянии постоянного изменения, при этом меняется только часть её компонентов, а некоторые остаются стабильными в течение ряда недель. Это справедливо и в отношении микробов кожи.

При одиннадцатимесячном наблюдении за шестью мужчинами и двумя женщинами R.F.Smith (1970) [265] отметил, что соотношение количества кокков и коринеформных бактерий оставалось постоянным в течение этого периода, несмотря на то, что за период наблюдений назначались короткие курсы терапии антибиотиками. Автор высказал предположение, что поскольку внешние факторы оказывают незначительное влияние на относительный состав флоры, то сбалансированность её состава отражает какую-то внутреннюю физиологическую активность кожи, либо самих микроорганизмов. Другие исследователи, например R.R.Marples и соавт. (1969) [241], отмечают, что некоторые антибиотики оказывают значительное влияние на состав микрофлоры кожи.

При обследовании поликлинических больных L.Roodyn (1960) [260] установлено, что больные могут иметь заболевания кожи,

вызываемые одним и тем же фаготипом *Staphylococcus* в течение от 4 до 7 лет, и в то же время оставаться носителями этого штамма в носу. Вследствие этого в семьях развивается носительство, а это в свою очередь усиливает носительство у отдельных лиц [232].

Имеются и другие примеры длительного носительства специфических микроорганизмов, например, различных видов *Trichophyton*. Кожные поражения, вызванные действием кислотоустойчивых бактерий, могут оставаться в течение многих лет. У.К.Нобл и соавт. была изучена в течение 6-месячного периода нормальная микрофлора 5 различных участков кожи [266]. Применяя влажные тампоны, образцы исследуемого материала отбирали с поверхности кожи носа, грудной клетки, промежности, подмышечных ямок и лба у одной взрослой женщины и одного мужчины. Регистрировались все выявленные микроорганизмы. Микрококки и стафилококки идентифицировали в соответствии со схемой Baird-Parker (1963) [186], а коринеформные бактерии по схеме D.A.Somerville (1973) [270]. Другие микроорганизмы были идентифицированы как спорообразующие аэробы, *Mimeae*, «колиформы», *Neisseria* или стрептококки. Основные представители кокков и коринеформных бактерий были постоянными, а других групп – переменными. В период проведения исследований одному из больных был назначен курс лечения антибиотиками (триметоприм+сульфонамид). Это привело к изменению флоры носа, при этом один штамм коринеформных бактерий полностью исчез и был «вытеснен» кокками. Определяемых изменений микрофлоры на других участках тела отмечено не было. Очевидно, что ситуация на коже сходна с тем, что происходит в кишечнике; некоторые штаммы являются постоянными обитателями кожи, другие полупостоянными или транзитными.

Предпринимались попытки различать резидентную и транзитную микрофлору на количественной основе. W.C.Noble (1969) [252] рассматривал 6 или более колоний *S.aureus* на чашках с агаром, куда были посеяны исследуемые мазки в качестве показателя резидентного носительства, а 5 и менее – как транзитного. На этой основе при обследовании 378 здоровых взрослых было установлено, что резидентные *S.aureus* выделяются в основном из носа, паховых складок и щёк, а транзитные *S.aureus* с других участков тела. При отсутствии других методов оценки

постоянства носительства применявшийся метод даёт приемлемые результаты. Термин «транзитный» обозначает контаминантную, непродуцирующуюся микрофлору, а термин «резидентный» отражает понятие, что микроорганизм репродуцируется на коже в обычных условиях, даже временно.. D.A.Somerville-Millar, W.C Noble (1974) [266] рассматривают штаммы, присутствующие на коже в течение 25% времени, затрачиваемого на исследование как транзитные, а находящиеся на коже в течение более 75% как резидентные. Занимающие промежуточное положение обозначаются как временные резиденты. С.А.Evans и K.L.Mattern (1980) [204] при изучении дезинфекции локтевых сгибов предложили заменить термины резидентный и транзитный терминами незащищённые и защищённые. Микроорганизмы, однако, могут быть защищёнными, потому что они находятся в довольно больших микроколониях. R.J.Holt (1971) [224] при изучении микрофлоры кожи методом «соскобов» показал, что флора кожи состоит из микроколоний численностью до 10^5 клеток на колонию, а работа W.C.Noble (1975) [251] по изучению биопсии поверхности кожи и исследования S.A.Malcolm, T.C.Hughes (1980) [238] подтвердили наличие различных микроколоний, видимых в световом микроскопе и при сканирующей электронной микроскопии.

Физиолого-химические особенности кожи новорожденных.

Нормальная кожа имеет кислую рН. Этот фактор в прошлом исследователи обозначали как «кислую мантию», предполагая, что она обладает защитной функцией. При рождении рН кожи имеет практически нейтральное значение из-за присутствия казеозной смазки, а уже на третий день они снижаются на одну единицу [189]. Ко второй – четвёртой неделям жизни значения рН снижаются ещё на 0,5 ед. (до 5,5) и остаются таковыми примерно в течение всей жизни.

Состояние кожи с возрастом изменяется [117]. В течение первых нескольких дней после рождения кожа покрыта жировой смазкой, *vernix caseosa*, которая довольно быстро исчезает. В некоторых отношениях её состав напоминает сальный секрет. Наиболее обильной является на спине, в складках под мышками и в зоне половых органов. Наиболее высокие значения рН кожи

наблюдаются именно при рождении, и обычно оно выше 6 и даже достигают 7. При исчезновении казеозной смазки значения pH снижаются до обычных - от 5 до 6.

При изучении жирных кислот в жировой смазке новорожденных в сравнении с их содержанием в коже взрослых N.Nicolaides и соавт. (1972) [250] обнаружили, что содержание ненасыщенных жирных кислот восковых эфиров одинаково, а стероловых жирных кислот заметно различалось. В жировой смазке новорожденных содержится 65% ненасыщенных стероловых эфиров, а у взрослых только 38%. P.Ramasastry и соавт. (1970) [257] исследовали состав секрета сальных желез на лбу у людей в возрасте от 5 дней до 15 лет и сравнили их с результатами, полученными ранее на взрослых. Значимой разницы в уровне триглицеридов или свободных жирных кислот выявлено не было. Концентрация сквалена варьировала значительно, уровень восковых эфиров также заметно изменялся. При этом он был высоким при рождении, снижался в возрасте 3 и 6 лет, возрастая к 9 годам до значений, характерных для взрослых.

Наиболее важным изменением кожи млекопитающих считается изменение её проницаемости с возрастом. R.L.Nachman и N.D.Esterly (1971) [249] установили возрастание степени проницаемости кожи у детей, сопровождавшееся нарушением барьерной функции эпидермиса.

Колонизация кожи новорожденных.

Жироподобная смазка новорожденных не обладает антибактериальными свойствами. Стафилококки, а также, вероятно, E.coli при наличии этой смазки в условиях *in vitro* способны длительно персистировать. Вместе с тем в условиях *in vivo* отмечается, что у детей, рожденных с необычно малым количеством жировой смазки, численность бактерий больше, чем у детей с большим количеством смазки. В свою очередь у последних наблюдается более медленная колонизация микроорганизмами [117]. Даже в течение первых нескольких дней жизни у некоторых детей наблюдается лишь незначительная бактериальная популяция, а у других многочисленная, и эта тенденция сохраняется в течение определённого периода.

Мнения различных исследователей по вопросам колонизации кожи детей после рождения различаются. Sarkany и Gaylarde (1968) [цит. по 117] установили, что кожа детей при рождении не обязательно является стерильной. Авторы исследовали различные участки тела по мере их появления во время родов. Для отбора материала применяли небольшие контактные пластинки и обследовали пять зон кожи: голову, зону лопаток, подмышечные ямки, зону в районе пупка и паховые складки. Было установлено, что микрофлора состояла из стафилококков, коринебактерий, энтеробактерий и стрептококков. Стафилококки имелись у всех новорожденных, коринебактерии в небольших количествах обнаруживали у 60%.

Различий в составе микрофлоры у представителей различных расовых и половых групп не выявлено. Кожа детей, рождённых с применением кесарева сечения, была стерильной в 4 из 5 случаев. В одном случае выявлено небольшое количество стафилококков – *S.epidermidis*. При рождении коринебактерии имеются лишь в небольшом числе, и требуется несколько часов, чтобы они размножились в значительных количествах, в то время как микрококки обнаруживаются сразу в больших количествах. Колонизация ими происходит при прохождении плода через материнские родовые пути.

В отличие от этого [204] установлено, что микроорганизмы на коже у новорожденных, обследованных в первые 2,5 часа после рождения, обнаруживаются только у половины, и в носу также у 50%. Вызывает удивление, что *Bacillus subtilis* выявляют в относительно больших количествах в различных местах у 13-20% новорожденных. Данные микроорганизмы D.A.Somerville (1973) [270] выявляла в небольших количествах у небольшого числа новорожденных, а Sarkany и Gaylarde (1967, 1968) [цит. по 117] их не обнаруживали вовсе. С.А.Evans и соавт. (1980) [204] полагают, что родовые пути играют крайне незначительную роль в колонизации бактериями кожи новорожденных и дыхательных путей. Hurst (1965) [цит. по 117] придерживался мнения, что микробная колонизация новорожденных происходит немедленно после рождения в результате заноса с тела матери и от окружающих людей, и основные её представители заселяют кожу в течение первых нескольких недель жизни. По данным С.А.Evans и соавт.

(1980) [204], различий в составе микрофлоры у своевременно родившихся и у новорожденных с низкой массой тела при рождении не выявлено.

С.А.Еvans (1980) [204] установлено, что в первые три дня после рождения уровень носительства всех микроорганизмов в носу и культе пупка увеличивается. Так, если при обследовании в 1-ый день после рождения у 85% своевременно родившихся и 80% преждевременно родившихся детей на слизистой оболочке носа не был выявлен рост микроорганизмов, то через 3 дня эти показатели составляли 39 и 41% соответственно. Наиболее часто выделяемым микроорганизмом является *S.epidermidis*. Следующими по численности были негемолитические стрептококки, которые более часто выделяли у новорожденных, родившихся в срок. Пупочная рана колонизировалась микроорганизмами более быстро, чем глубокие части носовых ходов. Разницы в интенсивности колонизации и в составе микроорганизмов у представителей различных полов не выявлено.

Носительство *Pseudomonas aeruginosa* более часто выявляли у преждевременно родившихся новорожденных, у них же более часто выделяли и *S.aureus*, а негемолитических стрептококков реже, чем у родившихся своевременно. Коринебактерий у новорожденных не обнаруживали.

На коже новорожденных, вероятно, могут укореняться не все микроорганизмы. Long и Svenson (1976) [цит. по 117] установлено, что стрептококки могут укореняться у новорожденных, если обладают достаточной способностью прилипать к клеткам слизистых оболочек. Микроорганизмы, которые в последующем не составляют часть микрофлоры, не способны прилипать к клеткам слизистых оболочек у новорожденных одного дня жизни [174,263]. Доминирующими микроорганизмами на всех участках кожи являются коагулазоотрицательные кокки [180,186,197,235,246]. Другие микроорганизмы обнаруживаются в различных местах тела [228,231,240]. Вызывает удивление, что, несмотря на достаточно частые находки энтеробактерий в районе прямой кишки в возрасте от 4 до 7 дней, встречаемость их на поверхности кожи относительно редкая, при этом она выше у преждевременно родившихся детей, вероятно, вследствие более высокой температуры и влажности в среде, окружающей таких детей. Стрептококков и коринебактерий

также выявляют на коже, хотя и менее часто, чем кокков. R.R.Marples (1970) [241] постоянно выделяла *M.luteus* у 5 из 8 детей при повторных обследованиях.

У небольшой части популяции обследованных детей выявляли также потенциально патогенные микроорганизмы.

Колонизация кожи золотистым стафилококком происходит раньше, чем развитие носительства на слизистой оболочке носа, хотя Sarkany и Gaylarde (1967) [цит. по 117] не нашли доказательства колонизации кожи при взятии образцов материала из подмышечных ямок, пупка и паховых складок. У новорожденных, родившихся в срок и преждевременно родившихся заселённость *S. albicans* кожи составила 8 и 18% соответственно [162,176,203].

Эндогенная инфекция развивается при распространении микроорганизмов из пищеварительного тракта, где их выявляют у 20% обследованных. Многие исследователи считают, что в данной возрастной группе наличие *S. albicans* на коже означает наличие патологического процесса. При потнице у детей самого раннего возраста часто выделяют *S.albicans* и это сопровождается её более тяжелым течением [234,272].

Колонизация кожи в этой возрастной группе может быть случайной и определяться в основном тем, какой организм попал на неё первым. Большинство исследований микрофлоры кожи проводилось в больничных условиях, где могут встречаться редкие виды и условно-патогенные. Попадая на кожу новорожденных, они могут становиться резидентными по крайней мере на короткое время. Исследования, проведенные [266], позволяют предположить, что колонизация кожи является более сложной экологической проблемой, чем предполагалось ранее.

Результаты исследований [266] заставляют думать о том, что колонизация кожи некоторыми специфическими микроорганизмами необходима, прежде чем свободное место будет занято другими. Подобная экологическая последовательность наблюдается во многих отраслях биологии, поэтому представляется, что она может быть конструктивной в отношении понимания вопроса колонизации кожи.

1.5 Особенности микрофлоры и инфекций родовых путей

Как и другие микробиоценозы, вагинальный микробиоценоз у женщин репродуктивного возраста в норме состоит из постоянно обитающих и транзиторных микроорганизмов [10,11,12,13,14, 72,73,211,221,280].

Индигенная микрофлора доминирует по численности популяции, хотя количество видов, представляющих ее, невелико, в отличие от видового разнообразия транзиторных микроорганизмов, общая численность которых в норме не превышает 3-5% от всего пула, составляющего микроценоз [256,248].

Нарушение количественного и качественного состава нормальной микрофлоры – дисбиоз трудно поддается лечению и усугубляет течение других заболеваний, в том числе, экстрагенитальных заболеваний женщин [6,88,89,109,110,183,184].

Морфофункциональные, физиологические и биохимические изменения в генитальном тракте во время беременности приводят к тому, что вагинальная микрофлора становится более однородной [279,277].

В связи с постоянно низкими показателями рН создаются условия для увеличения в количественном отношении факультативных микроорганизмов, таких как микоплазмы и дрожжеподобные грибы рода *Candida* [157]. Частота их выделения у беременных различных групп риска возрастает до 25-30% [146,220,223]. Вагинальная микрофлора рожениц играет также важную роль в формировании нормальной микрофлоры кишечника у новорожденных [106,112,121,182].

В настоящее время инфекции влагалища занимают важное место в структуре инфекционно-воспалительных заболеваний женских половых органов [14,20,48,49,135,137,144,159,164]. За последнее десятилетие реальную клиническую значимость приобрела проблема вагинального кандидоза (ВК), частота которого в последние годы возросла и составляет, по данным разных авторов, от 26 до 40-45% в структуре инфекционной патологии нижнего отдела половой системы [141,142,143,144]. Кандидозный вульвовагинит занимает второе место среди всех влагалищных инфекций в США и первое в Европе [12,13,14].

Наблюдается увеличение частоты инфекций влагалища, протекающих с участием микроорганизмов, входящих в состав нормальной микрофлоры влагалища [153,173,229,249].

Учение о нормальной микрофлоре организма человека в настоящее время находится в центре внимания клинических микробиологов [23,39,41,105,109,173]. Это связано с тем, что на фоне урбанизации человеческого общества и нарастающих экологических проблем, в эру антибиотиков и в условиях действия других факторов, влияющих на иммунный статус макроорганизма, происходят значительные изменения в эволюционно сложившихся микробиоценозах человеческого организма [15,16,17].

Это проявляется снижением иммунологической реактивности, как общей, так и местной, нарушением качественного и количественного состава микрофлоры организма, в том числе изменением микробиоценоза половых путей, способствует развитию заболеваний, передаваемых половым путем [37,45,102,260,262]. Как следствие этого процесса можно рассматривать возрастающую роль условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) при инфекционных заболеваниях [23,24,130,151,160,192,241].

Современный уровень клинической микробиологии позволяет в значительной степени расширить наши представления о состоянии микробиоценоза половых путей женщины и показать, что подавление нормальной микрофлоры влагалища ведет к разнообразной патологии, в частности, развитию кандидоза [7,24,31,143,147,149].

Кандидоз у рожениц и новорожденных.

Повышенный научный и практический интерес к данной проблеме обусловлен не только широким распространением кандидозов, но и тем, что в ряде случаев они являются одной из причин развития тяжелой инфекционной патологии женских половых органов, плода и новорожденного. Они увеличивают риск развития таких осложнений, как самопроизвольный выкидыш, преждевременные роды, преждевременное излитие околоплодных вод, хориоамнионит, внутриутробное инфицирование плода [243,257].

В послеродовом периоде нарушения в балансе микрофлоры влагалища могут стать причиной серьезных инфекционных осложнений у родильниц - эндометрита, перитонита, сепсиса. Кроме того, микроорганизмы родовых путей рожениц являются одним из главных факторов колонизационной резистентности новорожденных [21,212,213,214].

Первичное инфицирование человека происходит в родовых путях, о чём свидетельствует почти полное совпадение *Candida*-флоры влагалища матери и ротовой полости и кожных покровов ребёнка. Значение родовых путей в инфицировании подтверждается увеличением частоты носительства *Candida* на слизистой оболочке влагалища в последней трети беременности с 29 до 86%. В последующем инфицирование организма происходит за счёт внешней среды родильных домов (руки персонала, бельё, соски).

Candida широко представлена в пищевых продуктах, почве, реже - в воздухе. Наиболее частый возбудитель кандидоза - *C. albicans* - чрезвычайно редко встречается во внешней среде, лишь в непосредственном окружении человека и животных. Это приводит к формированию у людей высокого процента *Candida*-носительства, который имеет тенденцию к возрастанию частот [71,142,144].

В нормальных условиях организм контролирует размножение грибов и других подобных микробов. Иногда, при приёме антибиотиков, противозачаточных средств, большом количестве сладкой пищи, стрессах, некоторых заболеваниях, - рост грибов усиливается [225]. Причиной возникновения молочницы чаще всего является приём антибактериальных препаратов, иммунодефицит (снижение защитных свойств организма), которое чаще всего встречается при хронических заболеваниях, после перенесённой инфекции, авитаминозе. Ношение тесно облегающего нижнего белья, повышая температуру и влажность у поверхности тела, способствует развитию грибковых заболеваний и т.п.

Спринцевание, использование спреев, пены для ванн и женских прокладок может вызывать аллергические реакции, способствующие колонизации *Candida* [111,191,196].

Работами последних лет раскрыты ранее не известные закономерности взаимодействия грибов *Candida* с макроорганизмом на начальном этапе инфекционного процесса - адгезии грибов к поверхности слизистой оболочки влагалища [150,157,171]. Адгезия

возникает вследствие специфического взаимодействия адгезинов гриба, расположенных на его стенке, и комплементарных им рецепторов эпителиоцитов влагалища (ЭЦВ). В опытах *in vitro* показано, что бластоспоры гриба прочно прикрепляются к ЭЦВ уже в течение 5 минут. Адгезия клеток *Candida* к ЭЦВ максимальна при 37 град. и рН 6,0. Клетки гриба наиболее активно прикрепляются к ЭЦВ беременных и больных диабетом женщин. Грибы, выделенные от больных с активным кандидозным процессом, обладают более значительными адгезивными свойствами, чем полученные от носителей. Высокие концентрации сахаров усиливают эти свойства; ростковые трубки *C. albicans* адгезируют активнее бластоспор. На поверхности слизистых оболочек грибы нередко формируют агрегаты, прикрепляясь не только к ЭЦВ, но и друг к другу (коадгезия). Внутри таких агрегатов могут создаваться высокие концентрации литических ферментов, достаточные для преодоления барьерных свойств эпителия, разрушения его поверхностных структур и инвазии в глубь ткани [40].

Кандида поражает в основном слизистые - рот, слизистую оболочку кишечника, половые пути, то есть "влажные поверхности". Дрожжеподобные грибы рода *Candida* вызывают различные острые и хронические инфекции, имеющие локальный или диссеминированный характер.

Заболевания могут развиваться в виде первичных или вторичных инфекций в результате экзогенного или эндогенного инфицирования [53,152]. Широко распространён кандидоз полости рта, типичный для новорождённых, а также для лиц, страдающих тяжёлыми заболеваниями разной этиологии. Кроме того, нередко встречаются кандидозный вульвовагинит, развивающийся во время беременности, при диабете; бронхолегочный кандидоз как вторичная инфекция на фоне рака лёгких, бронхоэктатической болезни; интертригинозный кандидоз, при котором поражения локализуются в крупных складках кожи или на руках при их частом увлажнении и мацерации; хронический кандидоз кожи и слизистых оболочек [40,62,71].

В связи с развитием микробиологической промышленности и, прежде всего, производства белка, основанного на использовании дрожжеподобных грибов рода *Candida*, заметно возросло число аллергических заболеваний [259]. Аллергеном в этом случае

является гликопротеин, условно названный паприном, проникающий в организм через дыхательные пути. К более редким заболеваниям относится кандидозный эндокардит. При кандидозах накапливаются антитела классов IgG, IgM, IgA [141,142].

Очевидно, что во влагалище существует ряд условий, способствующих активной жизнедеятельности, прикреплению *S.albicans* к ЭЦВ и колонизации слизистой оболочки: оптимальная температура (обеспечивающая быстрый рост гриба, максимальную адгезию и превращение бластоспор в ростковые трубки, обладающие более высокой адгезией к ЭЦВ), необходимые уровни питательных веществ, достаточно высокая концентрация глюкозы (которая может возрастать при сахарном диабете, беременности, введении прогестагенных препаратов, кортикостероидов, усиливая рост и адгезию возбудителя) [143,144].

Вместе с тем ряд факторов препятствует колонизации слизистой оболочки влагалища грибами. Высокая кислотность влагалищного содержимого (в норме pH 4,0-4,5) блокирует адгезию грибов к ЭЦВ; очевидно, что повышение pH (например, вследствие дисбактериоза, воспалительного процесса) будет способствовать прикреплению грибов.

На поверхности слизистой оболочки влагалища грибы *Candida* вступают во взаимодействие с различными представителями микрофлоры. Бактерии в большинстве тормозят рост грибов и их прикрепление к ЭЦВ за счёт секреции антифунгальных веществ, индукции изменений внешней среды (например, снижение pH) и конкуренции за рецепторы на ЭЦВ. Лактобациллы вырабатывают вещества, тормозящие рост грибов, вызывают снижение адгезии грибов к ЭЦВ [40,272]. Антибиотики тетрациклинового ряда вызывают десквамацию эпителия кишечника, что обеспечивает для *Candida* возможность проникновения в ткани [71].

Урогенитальный кандидоз в последние годы получает всё большее распространение. Повышается частота форм генитального кандидоза, отличающихся упорным течением, что, очевидно, связано с реинфекцией и суперинфекцией, а также с глубоким проникновением грибов во влагалищный эпителий. Для генитального кандидоза характерна многоочаговость поражения с вовлечением в воспалительный процесс слизистой влагалищной части шейки матки с развитием эндоцервицитов и эрозий.

Сенсибилизация развивается не только при клинически выраженных формах заболевания, но и при кандидоносительстве. Клиническими проявлениями аллергии при кандидозе гениталий является зуд промежности и наружных половых органов, отёк слизистой, длительно незаживающие эрозии и ссадины [149].

Бессимптомное носительство грибов рода *Candida* характерно для 15-20% молодых небеременных женщин. При бессимптомном носительстве грибы выделяются в небольшом количестве (менее 10^3 КОЕ/мл) и обычно представлены бластоспорами (почкующимися формами). Симптоматическое заболевание ассоциируется с выделением гифов *Candida*. Важно убедиться, что симптомы заболевания вызваны именно грибами рода *Candida* [76,94,103,104,142,175].

Переходу процесса в хроническую форму способствует сочетанное поражение гениталий грибами рода *Candida* и трихомонадами. Хронический кандидозный вульвовагинит нередко сочетается с бактериальной инфекцией [76,94,103,104,142,175].

Во время беременности отмечается физиологическое снижение иммунитета, необходимое для нормального вынашивания ребёнка. Вот почему нередко у беременных развивается "молочница". "Молочница" не является заболеванием, передающимся половым путём. Симптомами грибковой инфекции являются обильные выделения (творожистые, либо жидкие пенистые, либо густые, в зависимости от вызвавшего их возбудителя). Цвет может быть от белого до желтовато-зеленого. Запах может иметь обычный, кисловатый, запах "тухлой рыбы". Может вызвать зуд, жжение половых путей, хотя может протекать и бессимптомно. Воспалительный процесс во влагалище может давать незначительные тянущие боли внизу живота. Помимо дискомфорта, длительный воспалительный процесс во влагалище может приводить к образованию эрозии шейки матки.

Резюмируя этот раздел необходимо отметить, что результаты последних исследований порождают и массу новых вопросов. Какую физиологическую функцию выполняет кожная микрофлора и как она влияет на функционирование кожи, закодирована ли структура микробной популяции в геноме хозяина, каким образом лекарственные препараты, одежда, пол, возраст, окружающая среда, а также бесчисленное множество других факторов влияют

на кожную микрофлору. Пробиотики активно применяются для восстановления микрофлоры кишечника и влагалища [281]. Появляются и косметические препараты, в которых эксплуатируется идея пробиотиков, действующих на кожу.

В заключение следует отметить, что решение задач по анализируемой проблеме предполагает тесное сотрудничество микробиологов, акушер-гинекологов, педиатров, неонатологов, эпидемиологов и клиницистов и дальнейшие научные разработки этой проблемы.

ГЛАВА 2. ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1. Было изучено особенностей качественного и количественного состава биоценоза родовых путей у 112 беременных женщин и 30 контрольная группа – всего 132 исследования

2. Было изучено биологические свойства представителей микрофлоры родовых путей беременных.

3. Изучено качественное и количественное состав микрофлоры кожи 112 новорожденных в послеродовой период.

4. Изучено кристаллограмм штаммов микроорганизмов микрофлоры, выделенных из различных биотопов матерей и новорожденных – 40 штаммов.

5. Изучено встречаемости генов «островов патогенности» энтеробактерий, выделенных от матерей и новорожденных методом ПЦР – 60 штаммов.

6. Бактериоскопическое исследование отделяемого из цервикального канала, заднего свода влагалища и уретры – по 120 исследований (всего 360)

Микробиологическое обследование новорожденного включало в себя:

1. Исследование микрофлоры толстой кишки
2. Исследование микрофлоры слизистой зева, конъюнктивы
3. Исследование микрофлоры кожи различных участков.

Для изучения контаминации конъюнктивы у детей, родившихся путем операции кесарева сечения, обследованы 15 новорожденных.

В возрастной структуре обследованной группы преобладали женщины старше 25 лет (66,6%), оставшуюся часть (33,3%) составили женщины от 21 года до 25 лет. В обследованной группе первобеременных женщин было 36,6%, повторно беременных 63,3%, из них 13,3% составили первородящие, а 50,0% женщин имели повторные роды. По исходам беременности матери распределялись следующим образом: естественные срочные роды – 83 (74,1% от наблюдаемых беременных), естественные досрочные роды – 14 (12,5% от числа наблюдаемых), абдоминальное родоразрешение – 15 (13,4% от общего числа наблюдаемых беременных). Абдоминальное родоразрешение проводили по

клинико-anamнестическим и акушерским показаниям. В частности, в группе беременных с абдоминальным родоразрешением был нижеследующий преморбидный фон. Беременность на фоне экстрагенитальной патологии протекала у 92,9% обследованных, в структуре патологии преобладали: миопия высокой степени (40,0%), заболевания сердечно-сосудистой системы (30,0%), заболевания желудочно-кишечного тракта (30,0%), эндокринная патология (26,6%). Сочетание нескольких хронических заболеваний наблюдалось у 36,6% женщин.

В группе беременных с естественным родоразрешением также отмечались сопутствующие заболевания. В этой группе беременность протекала на фоне экстрагенитальной патологии у 56,3% (45 женщин), в структуре сопутствующих заболеваний преобладали заболевания желудочно-кишечного тракта – 75,0% (60 женщин), эндокринная патология – 46,3% (37 женщин), железодефицитная анемия различной степени – 85,0% (68 беременных). Урогенитальные заболевания во время беременности отмечались у 83,3% обследованных. Ведущее место среди урогенитальной патологии занимали кольпиты различной этиологии (56,6%), обострения хронического пиелонефрита и эрозии шейки матки наблюдались с одинаковой частотой и составили по 23,3%. Сочетание нескольких урогенитальных заболеваний наблюдалось у 43,3% беременных. У 16,6% женщин во время беременности определялись иммуноглобулины класса G к цитомегаловирусу (по данным амбулаторных карт). Острыми респираторными заболеваниями во время беременности переболели 70,0% женщин, из них 16,6% повторно.

Для санации родовых путей беременных с дисбиозом кишечника и бактериальным вагинозом перед родами применялся йодсодержащий антисептик (Бетадин, Повидон-йодан, Молдова), пробиотик – Лактобактерин и Бифидумбактерин.

2.1. Идентификация выделенных культур

Выделенные культуры идентифицировали по морфологическим, тинкториальным, культуральным и биохимическим признакам [97,101,120, 128,129,133,138,167, 187,195,273]. При выделении культур, подозрительных на

стафилококки на первом этапе применяли следующие тесты: определение морфологии в мазках с окраской по Граму, каталазную активность с 3% перекисью водорода, оксидазную активность, тип расщепления глюкозы и маннита в 2-х пробирках со средой Хью-Лейфсона, одна из которых заливается стерильным вазелиновым маслом для создания анаэробных условий. На этапе изучения чистых культур стафилококков использовали: определение окисления глицерина на среде с глицерином, бромтимоловым синим и эритромицином [3]; окисление углеводов: маннита, галактозы, маннозы, ксилозы, мальтозы, трегалозы, сахарозы, лактозы, арабинозы, целлобиозы [66].

Таблица 2.1 Питательные среды и условия культивирования посевов материала при бактериологических исследованиях и исследованиях на изучение микрофлоры биотопов организма

Питательная среда	Условия культивирования	Группы исследуемых микроорганизмов
Среда Блаурокка, Бифидоагар	Анаэробные - анаэробная газовая смесь, магистральный природный газ	Бифидобактерии
КАБ (кровяной агар для бактериоидов)	Анаэробные - анаэробная газовая смесь, магистральный природный газ	Бактероиды
МРС-4, Лактоагар, Среда для лактобактерий	Микроаэрофилы, атмосфера CO ₂ горячей свечи	Лактобактерии
5% кровяной агар	Аэробные	Гемолитические варианты энтеробактерий, стрептококки, стафилококки.
Молочно-солевой агар	Аэробные	Стафилококки
Среда Эндо	Аэробные	Энтеробактерии
Среда Плоскирева, висмутсульфит агар	Аэробные	Патогенные Энтеробактерии
Среда Сабуро	Аэробные, микроаэрофильные	Грибы рода Candida

Плазмакоагулазу и хлопьеобразование определяли по обычной методике с суточной культурой стафилококка и коммерческой кроличьей цитратной плазмой. Тесты сопровождался обязательным контролем положительных культур и учет результатов производили дважды – через 2-6 часов и 18-24 часа. Кроме этих общепринятых тестов у стафилококков изучали также дополнительные признаки и факторы патогенности.

Уреазную активность определяли на коммерческой среде с мочевиной. Фосфатазная активность определялась с помощью паранитрофенилфосфата, который добавлялся в питательный агар в концентрации 0,05%, посев производили уколом в плотную среду. Для идентификации выделяемых стрептококков ключевыми признаками были: особенность морфологии клеток, тип гемолиза на кровяном агаре (β , α или γ).

При выделении культур, подозрительных на принадлежность к семейству Enterobacteriaceae (граммотрицательные палочки, ферментирующие глюкозу и не имеющие оксидазы) использовали традиционный набор тестов для родовой и видовой идентификации [101].

Для отнесения выделенных культур к дрожжеподобным грибам рода Кандида ограничивались морфологией колоний, морфологией клеток (крупные, неравномерно окрашенные, почкующиеся).

Неферментирующие грамотрицательные палочки проверяли на подвижность, продукцию оксидазы, морфологию клеток (утолщенные кокковидные или палочки), способность к пигментообразованию, аргининдекарбоксилазу, «радужный блеск», тест окисления / ферментации глюкозы, по необходимости – на ряд других дифференцирующих признаков.

2.2. Определение антибиотикорезистентности у выделенных культур

Идентификацию выделенных культур проводили по ключам и схемам, указанным в определителе бактерий Берджи [128,129,187]. Чувствительность выделенных штаммов микроорганизмов проводили диско-диффузионным методом (ДДМ) на среде АГВ или Мюллера-Хинтона общепринятым способом на основе

существующих руководств и методических рекомендаций [46,64,66,68,69,83,95,96,97,98,99,126,127,138,163,251].

Тест-культуры микроорганизмов идентифицированы по культуральным, морфологическим, тинкториальным, ферментативно-биохимическим и антигенным свойствам. Все культуры микроорганизмов идентифицированы в соответствии с общепринятыми рекомендациями и определителем бактерий Берджи, 8-9 изданий. – 1984, 1997 гг.

Для лабораторных исследований использовали 18 часовую агаровую культуру микроорганизмов, разведенную в стерильном физиологическом растворе и стандартизованную по стандарту мутности 0,5 по МакФарланду и дополнительно разведённую в 10 раз стерильным физиологическим раствором до концентрации 10^7 микробных тел/мл.

Учёт результатов проводили через 18-24 часа инкубации в термостате при 37°C по наличию или отсутствию видимого роста тест- культур микроорганизмов на поверхности питательной среды вокруг диска с антибиотиком.

Во всех случаях в качестве питательной среды применяли среду Мюллер-Хинтона (HIMEDIA, Индия), для требовательных к культивированию микроорганизмов в среду добавляли 5% крови. В работу брали коммерческие диски с антибиотиками (HIMEDIA, Индия и Россия) следующих групп: Полусинтетические пенициллины - оксациллин, ампициллин; Ингибиторзащищенный пенициллин – амоксициллин

/клавуланат (амоксиклав); Цефалоспорины: I поколения – цефазолин, II поколения - цефуроксим, III поколения – цефтазидим, цефотаксим, цефтриаксон, IV поколения - цефепим; Макролиды и линкосамиды – эритромицин, линкомицин; Тетрациклины – тетрациклина гидрохлорид, доксициклин; Хинолоны/фторхинолоны –ципрофлоксацин; Аминогликозиды – гентамицин, левомицетин; рифампицин; фузидин; ванкомицин; полимиксин.

Для грамположительных и грамотрицательных бактерий использовали разные наборы дисков с антибиотиками.

2.3. Изучение адгезивности микроорганизмов

Известно, что патогенные бактерии характеризуются адгезивной и токсигенной активностью (факторы вирулентности). Адгезия при этом рассматривается как начальный этап развития инфекционного процесса. Лишившиеся адгезивной способностью микробы, как правило, не способны вызывать инфекцию.

Изучение адгезии проводили по методу В.И.Брилиса (1986) [36] на формализированных эритроцитах человека О (I) группы, Rh +. Суспензию суточной культуры исследуемых штаммов в концентрации 10^9 микробных клеток (м.к./мл) и суспензию эритроцитов в концентрации 10^8 мл объединяли в объеме по 0,5 мл каждой.

Смесь инкубировали при 37°C на встряхивателе в течение 30 мин. Готовили мазки из полученной смеси на тщательно обезжиренном предметном стекле, высушивали при комнатной температуре и фиксировали 96° этиловым спиртом.

Фиксированные мазки окрашивали по Романовскому-Гимза. Учет результатов адгезии проводили под световым микроскопом XS – 212-202 с параметрами окуляра 10 и объектива 100.

Адгезивные свойства оцениваются по нескольким показателям:

СПА – средний показатель адгезии. Под СПА понимается среднее количество микробов, прикрепленных к одному эритроциту при подсчете не менее 25 и не более 50 эритроцитов, при этом учитывается не более 5-ти эритроцитов в одном поле зрения.

К – коэффициент участия эритроцитов в адгезивном процессе, т.е. процент эритроцитов, имеющих на своей поверхности адгезивные микробы.

ИАМ – индекс адгезивности микроорганизмов. ИАМ – это среднее количество микробных клеток на одном, участвующем в адгезивном процессе, эритроците и исчисляется по формуле:

$$\text{ИАМ} = \text{СПА} \cdot 100 / \text{К}$$

КАБ – количество адгезированных бактерий на одном эритроците.

В таблице 2.2 приведена сравнительная оценка степени адгезии по Брилису с помощью 2-х показателей: СПА и ИАМ.

Таблица 2.2 Степень адгезии по показателям СПА и ИАМ по В. И. Брилису (1986)

Степень адгезивности	Показатель адгезивности	
	СПА	ИАМ
Отрицательная	0-1,0	≤1,75
Низкая	1,01-2,0	1,76-2,5
Средняя	2,01-4,0	2,51-4,0
Высокая	≥4,0	≥4,0

Таблица 2.3 Праймеры, использованные в работе

Мишень	Последовательность оснований в геноме (3-5)	Позиция нуклеотидов в геноме, поряд. № согласно GenBank	Размер ампликона, П.н.
Hly-A [Blum G. Et al., 1995]	CACGCGTGCCGACAAGTT GCCACATCCCGGAAATCAAT	3492-3508 3945-3964	474
Hly-B [Blum G. Et al., 1995]	CGACGTCGCCTTGATGATA TCCCCCTGCTTATACTGAFGFT	3279-3291	542
Cnf-1 [Blum G. Et al., 1995]	GGTCAGGGCCCCACAGTGAA TAGCGGCTTCAAAATACGGATAG	2735-2752 3117-3139	406
PapC [Johanson L.M. et al., 1993]	GTTTCGCCGGGTATCGTTTCTCAG CCCGTTCCCCAGCGATTTGTCAC	4946074- 4946097	724
fimA [Yamamoto S. et al., 1995]	CGACGCATCTTCCTCATTCCTTCT ATTGGTTCCGTTATTCAGGGTTGTT	332-354 1052-1028	721
Irp- 2 [Yamamoto S. et al., 1995]	GTTGCTGTCCATCAAGCACG GCCGGAAAGCCTGGCCTTTA	3456-3475 4677-4696	1243

Микроорганизмы считаются не адгезивными (не вирулентными), если СПА от 0,0 до 1,0, а ИАМ равен или меньше 1,75. В качестве контроля использовали культуру *E. coli* штамм 477.

Постановка ПЦР. Бактерии тестировали методом ПЦР на наличие генов, ассоциированных с патогенностью, контролирующих синтез различного типа фимбрий (*fimA*, *papC*), железосекретируемого белка (*irp-2*), гемолизина (*hlyA*, *hlyB*) и ЦНФ-1 (*cnf-1*). Подготовку проб для ПЦР осуществляли путём кипячения в течение 5-10 мин, в результате чего происходил лизис бактериальных клеток и высвобождение ДНК. Праймеры были получены из НПФ «ДНК-технология» (Москва, РФ). Характеристика праймеров представлена в таблице 2.3.

Аmplification проводили при использовании 25 мкл реакционной смеси следующего состава: 1) 2,5 мкл буфера для Taq-полимеразы (x10), состоящего из 670 мМ трис-НСl pH 8,4, 25 мМ MgCl₂, 166 мМ сульфата аммония, 0,01% тритона X-100; 2) 2,5 мкл смеси dNTP (0,2 мМ каждого из dATФ, dГТФ, dТТФ, dЦТФ); 3) по 1 мкл каждого праймера (14 пмоль\ мкл); 4) 8 мкл деионизированной воды; 5) 0,25 мкл Taq-полимеразы (5 ед\мкл); 6) 10 мкл исследуемого образца ДНК. На смесь наслаивали 30 мкл вазелинового масла и помещали в амплификатор «Терцик» («ДНК-технология», РФ). Для получения достаточного количества копий искомого характеристического фрагмента ДНК амплификация включает 20-40 циклов. Регистрацию результатов ПЦР осуществляли путём электрофоретического разделения продуктов амплификации на окрашенном бромистым этидием агарозном геле. Результаты визуализировали при освещении УФ – лучами на трансиллюминаторе. В качестве маркёров использовали «лестницу» в 123 п.н. («Promega», США).

ГЛАВА 3. СТАНОВЛЕНИЕ МИКРОФЛОРЫ НОВОРОЖДЕННЫХ, СВЯЗЬ С МИКРОБИОЦЕНОЗОМ ВЛАГАЛИЩА И КИШЕЧНИКА БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН.

3.1. Становление микробиоценозов основных биотопов у новорожденных в динамике.

С позиций современных взглядов, нормальную микрофлору организма мы рассматриваем как единую систему: основной резервуар – кишечник, далее мочеполовая система, кожа и слизистые оболочки. Поэтому рассмотрение микрофлоры кожи новорожденных нельзя изучать вне связи с микрофлорой кишечника и прочих биотопов.

Большое влияние на функции ЖКТ новорожденного оказывает течение беременности, родов и раннего неонатального периода, характер вскармливания, различные заболевания и многие лекарственные препараты.

Изучена микрофлора кишечника новорожденных детей в возрасте от 3 до 8 дней. По возрасту, течению неонатального периода и в зависимости от вскармливания все обследуемые дети были разделены на 2 группы. К 1 группе отнесены новорожденные в возрасте от 3 до 8 дней, которые были сразу приложены к груди (естественное вскармливание). Ко 2 группе отнесены дети в возрасте от 3 до 5 дней, которых, по различным причинам, прикармливали сцеженным грудным молоком. У всех матерей обследуемых детей отмечалось патологическое течение беременности (токсикоз, гестоз, угроза прерывания на ранних и на поздних сроках, анемия, инфекции - ОРВИ, гарднереллез, уреаплазмоз, маловодие). Преждевременно родилось 14 (12,5%) детей (на сроках беременности 32-36 недель), 83 (74,1%) детей – самостоятельно в срок, 15 (13,4%) детей - путем оперативного родоразрешения (Кесарева сечения).

Исследование микрофлоры кишечника детей включало посев на селективные питательные среды и выделение чистых культур 32 видов микроорганизмов с дальнейшим определением их микробиологических свойств.

У всех обследованных детей наблюдались признаки декомпенсированного дисбактериоза, проявлявшегося срыги-

ваниями после каждого кормления, вздутием живота, метеоризмом, кишечными коликами, неустойчивым учащенным стулом с включениями непереваренных комочков, слизи. В динамике грудного вскармливания в 1 группе срыгивания стали реже, уменьшилась примесь слизи в стуле, уплотнилась консистенция его, кишечные колики наблюдались редко. У всех обследованных детей отмечалась положительная динамика массы тела. При сравнительном анализе в качественном и количественном составе микрофлоры кишечника у обеих групп детей были обнаружены некоторые отличия. У детей, второй группы, частота встречаемости бифидобактерий составила только 50%, что было достоверно ниже ($p < 0,05$) чем у детей 1 группы (80 %). В количественном отношении достоверных отличий не наблюдалось.

Частота встречаемости и количество лактобактерий у детей 1 и 2 групп существенно не различались (56,9% и 48,5% соответственно) и были значительно ниже нормы. В динамике (к 8 дню) установлено достоверное ($p < 0,05$) повышение встречаемости бифидобактерий у детей 2 группы с 80% до 100%. Кроме того, у детей обеих опытных групп происходило достоверное увеличение количественного уровня бифидобактерий. Частота выявления лактобактерий у детей в динамике достоверно увеличивалась и составила в обеих группах 94,6% и 87,3% соответственно. Количественный и качественный уровень других групп облигатно-анаэробных бактерий в динамике не претерпевал статистически значимых изменений.

В динамике не было обнаружено статистически значимых изменений в частоте встречаемости и количественном уровне дрожжеподобных грибов рода *Candida*. Наблюдалась тенденция к уменьшению количественного уровня этих микроорганизмов, как в опытной, так и в контрольной группах, что может свидетельствовать об отсутствии транслокации (смена экологической ниши). В результате проведенных исследований показано, что грудное молоко эффективно восстанавливает оптимальные качественные и количественные показатели бактериальной флоры, в первую очередь бифидо- и лактобактерий у новорожденных.

Как происходит контаминация ребенка рожденного в стерильных условиях в настоящее время детально не изучено.

Ребенок, родившийся путем операции кесарева сечения, имеет ряд особенностей влияющих на становление микробиоценоза (интраоперационное введение антибактериальных препаратов роженице, новорожденный не выкладывается на материнский живот, позднее прикладывается к груди, первые 2-3 суток находится отдельно от матери).

С использованием критериев включения, не включения и исключения отобрано 44 пары мать-ребёнок. 15 новорожденных - с абдоминальным родоразрешением, 15 – родившихся в срок и 14 - родившихся преждевременно.

С учетом влияния перинатального анамнеза на течение родов, ранней адаптации новорожденного и дальнейшего развития ребенка нами оценены возрастная структура обследуемой группы женщин, количество беременностей и родов в анамнезе, наличие экстрагенитальной патологии, хронических урогенитальных инфекций, кольпиты, эндоцервициты, бактериальные вагиниты, особенности течения настоящей беременности, а также назначение беременной – роженице – родильнице лекарственной и антибактериальной терапии. Выявлено влияние госпитализации на контаминацию матери и ребёнка (рис. 3.1). Во время беременности были госпитализированы для обследования и лечения 46,6% женщин. Нами выявлено влияние госпитализации во время беременности на контаминацию матери и ребёнка условно-патогенной микрофлорой, в частности золотистым стафилококком (рис. 3.1).



Рис.3.1. Влияние госпитализации во время беременности на контаминацию матери и ребёнка золотистым стафилококком

Для всех групп установлена прямая корреляция средней степени ($r = 0,4-0,5$). Коэффициент корреляции для биотипов носа и кишечника матери имеют прямую среднюю величину ($r=0,5-0,7$) во всех группах родоразрешения. Для *S.aureus* в носу новорожденных этот показатель меньше ($r=0,4$ для всех трех групп), но имеет прямую среднюю величину. Таким образом, нами косвенно подтвержден факт повышенной частоты носительства *S.aureus* среди персонала ЛПУ, приведенный в работах Х.И.Исхаковой и соавт. (2009), Ф.Р.Эшчанова (2008), где изучались метициллинрезистентные *S.aureus*, что приводит в нашем случае к контаминации стафилококкам беременных при госпитализации.

Антибактериальные препараты во время беременности не назначались, в родах антибактериальную терапию получили все роженицы (цефазолин 2,0 г интраоперационно), после родов антибактериальная терапия была продолжена 70,0% родильниц. Состояние 91,0% детей первой группы и 95,4% детей второй группы при рождении оценено как удовлетворительное. В состоянии средней степени тяжести родилось 5,5% детей первой группы и 4,6% - второй. Тяжелое состояние при рождении выставлено 3,4% новорожденных первой группы. Первичные реанимационные мероприятия были проведены 16,3% новорожденных первой группы и 6,0% - второй.

При проведении корреляционного анализа установлены взаимосвязи между антибактериальной терапией матери после родов и контаминацией новорожденного условно – патогенной микрофлорой (рис.3.2).

Для всех групп установлена прямая корреляция средней и высокой степени.

Антибактериальная терапия после родов прямо коррелирует с контаминацией кожи и носоглотки новорожденного *S.haemolyticus* (корреляция слабой и средней степени - $r=0,4-0,6$). Корреляция выше средней также отмечена при изучении связи антибактериальной терапии с контаминацией кишечника новорожденных *S. aureus*.

Докорм в родильном доме получали 80,0% детей первой группы и 20,0% - второй ($p<0,01$).

Тем не менее максимальная убыль массы тела (МУМТ) была достоверно больше в первой группе $7,6 \pm 0,3\%$ чем во второй $6,7 \pm 0,3\%$ ($p < 0,05$).

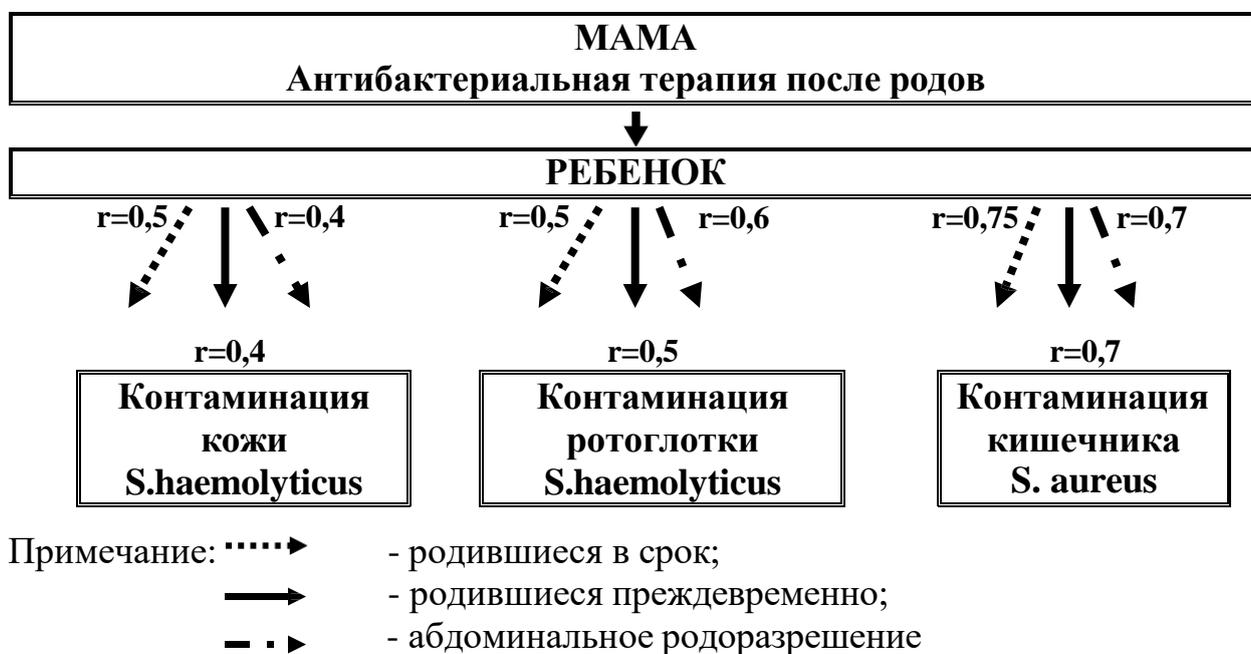


Рис.3.2. Влияние антибактериальной терапии матери после родов на контаминацию новорожденного условно – патогенной микрофлорой

3.2. Микробиоценоз кишечника новорожденных

Нормальная микрофлора представляет собой совокупность микроорганизмов. Это система, где кроме облигатной для данного биотопа микрофлоры происходит периодический переход микроорганизмов из одного биотопа в другой, а также вследствие контаминации извне.

Поэтому рассмотрение микрофлоры кожи новорожденных невозможно без оценки основного резервуара микроорганизмов, в том числе – УПМ- кишечника. Характер микрофлоры толстой кишки новорожденных в неонатальном периоде представлен в таблице 3.1.

Характер спектра микрофлоры кишечника и паховой области (биотоп кожи) в зависимости от количества беременностей и родов матерей представлены на рисунках 3.3, 3.4, 3.5.

Характер микрофлоры кишечника новорожденных в зависимости от количества родов у матерей имел различия. Более

разнообразный спектр был отмечен у новорожденных 1 и 2 группы (повторнорожавших).

В высоких титрах были условно-патогенные микроорганизмы. Наименьший спектр и количество условно-патогенных микроорганизмов были в группе детей от многорожавших матерей.

В количественном отношении (рис. 3.3) доминировали *E.coli*, *E.coli* гемолитические, *Enterobacter aerogenes*, *S.aureus*. различия в соотношении микрофлоры по видам бактерий в I, II и III группах указывает на выраженность процессов контаминации нормальной микрофлорой от женщин повторнорожавших.

К окончанию неонатального периода формирование микробиоценоза кишечника не завершено, несмотря на то, что и на 5–7, и на 30 сутки жизни количество бифидобактерий соответствует возрастной норме, количество лактобактерий не достигает возрастной нормы к 30 суткам.

Количество типичных эшерихий в раннем неонатальном периоде незначительно снижено, однако к окончанию неонатального периода число кишечной палочки у детей достигает возрастной нормы.

В спектре микрофлоры паховой складки новорожденных преобладали бактерии кишечной группы (рис. 3.5).

На рисунках 3.3, 3.4, 3.5 представлены соотношения и количественные показатели микрофлоры кишечника новорожденных в возрасте 3- 7 суток. Анализ показал, что спектр микроорганизмов зависит от количества беременностей матерей: перворожавшие, повторнорожавшие (до 3) и многорожавшие (больше 3).

Наибольшее количество УПМ отмечается в группе повторнорожавших. Спектр микроорганизмов также был значительно шире в группе II (повторнорожавшие – БП). Частота контаминации кишечника представителями условно-патогенной микрофлоры в раннем неонатальном периоде невелика и представлена в основном коагулазоотрицательными и коагулазоположительными стафилококками.

К окончанию же неонатального периода частота обнаружения представителей условно-патогенной микрофлоры в кишечнике значительно увеличивается.

Рис. 3.3. Микрофлора кишечника новорожденных в зависимости от количества беременностей матерей

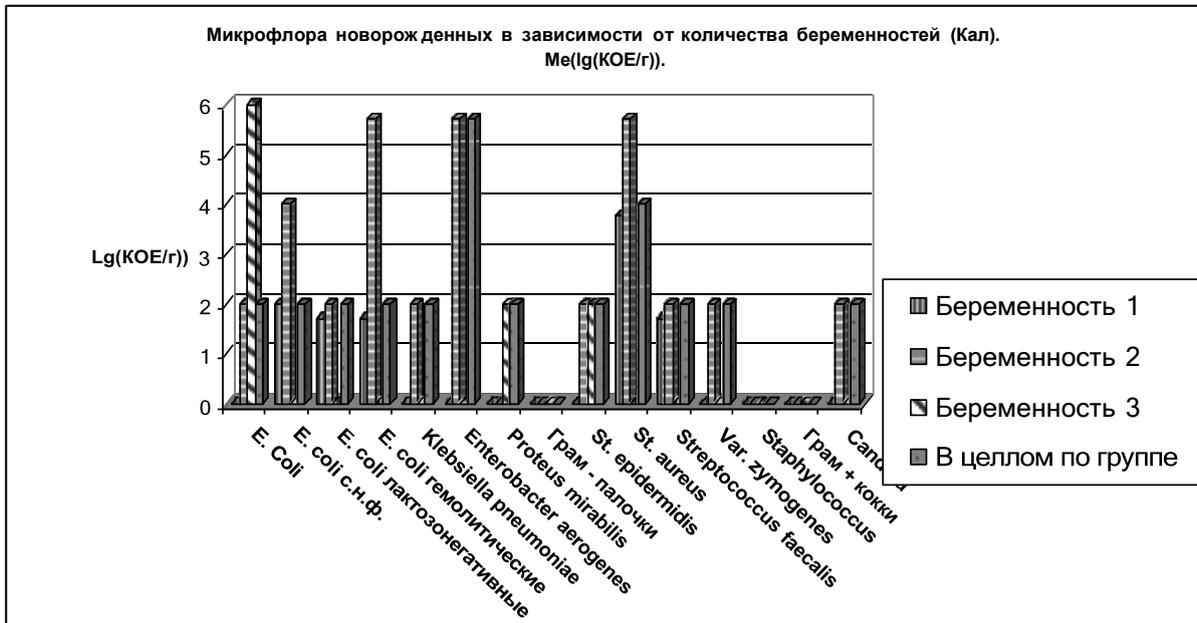


Рис. 3.4. Спектр микрофлоры кишечника новорожденных в зависимости от количества родов матерей

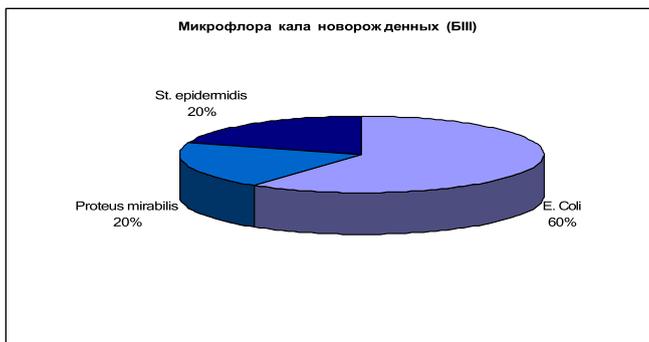
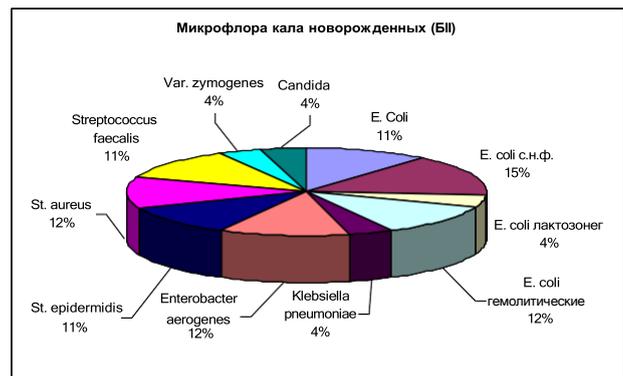
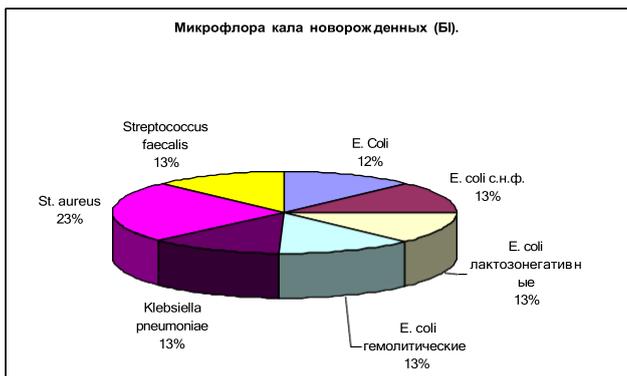
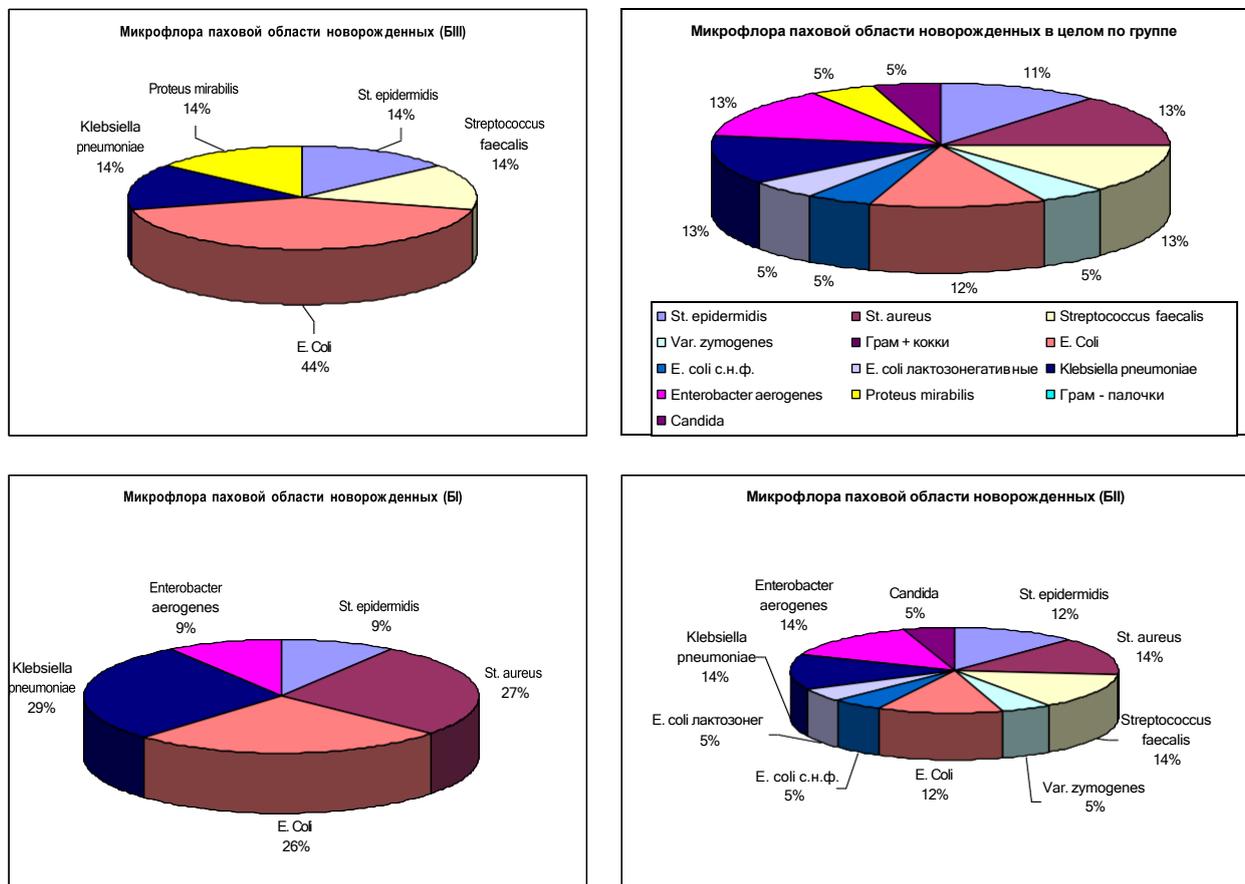


Рис. 3.5. Спектр паховой области новорожденных в зависимости от количества родов матерей



Появляются гемолитические формы кишечной палочки, в два раза увеличивается частота обнаружения золотистого стафилококка, значительно возрастает контаминация кишечника представителями условно-патогенных энтеробактерий. Увеличивается частота обнаружения грибов рода *Candida*.

Микрофлора паховой области новорожденных из группы первородящих матерей представлена на 58,0% грамотрицательной кишечной микрофлорой (*E.coli*, *Enterobacter aerogenes*) и на 42,0% грамположительными кокками (*S.epidermidis*, *Streptococcus faecalis*).

В группе от повторнородящих матерей спектр грамотрицательных бактерий шире – 5 видов (появляются *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *E.coli* лактозонегативные), а среди грамположительных – 3 вида (в т.ч. *S.aureus*). соотношение грамотрицательные бактерии к грамположительным коккам – 63,0% к 37,0%. В группе от многородящих это соотношение составляет 33,0% к 58,0% и 9,0% - грибы *Candida*.

Проведение корреляционного анализа позволило нам выявить взаимосвязи между количественным содержанием бифидо- и лактобактерий в кишечнике матери и количественным содержанием бифидо- и лактобактерий в кишечнике ребёнка (рис.3.6).

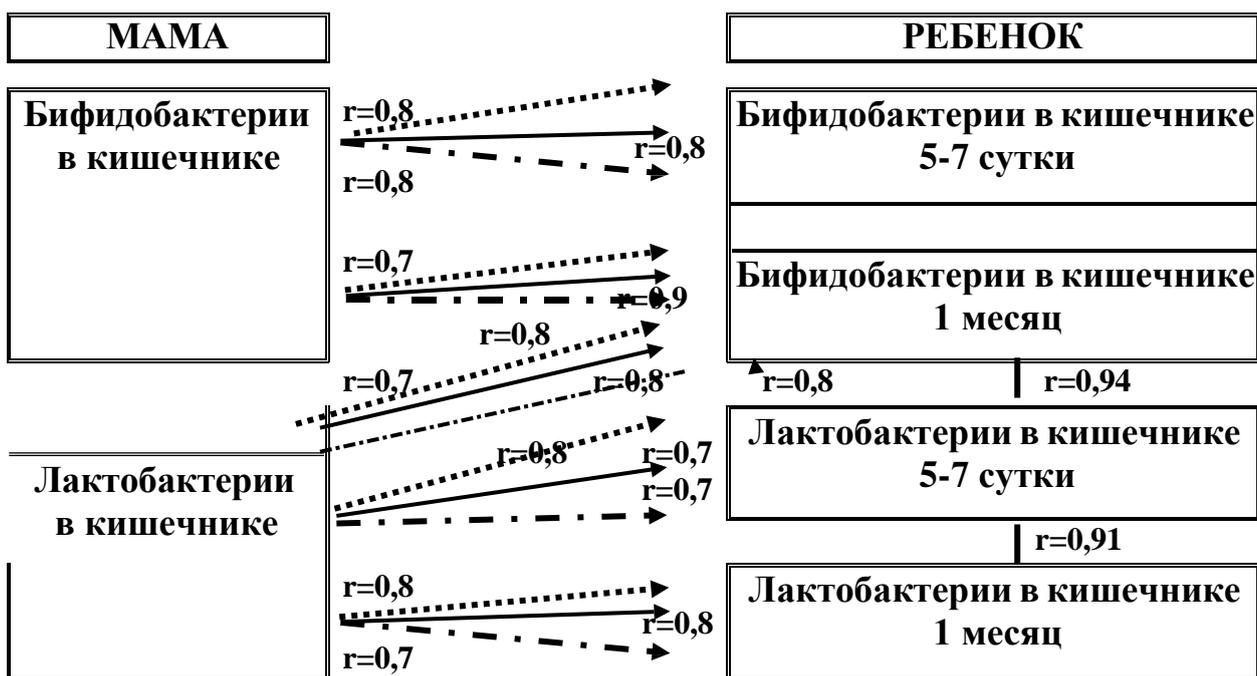
Таблица 3.1 Характер микробной флоры кишечника доношенных новорожденных, (% , Lg КОЕ/г, М ± m)

Микроорганизмы	Количество у детей в возрасте 5–7 суток	Частота, %	Количество у детей в возрасте 30 суток	Частота, %
Бифидобактерии	11,3±0,1	100,0	11,2±0,1	100,0
Лактобактерии	3,7±0,5	100,0	4,7±0,5	100,0
Бактероиды	7,4±0,2	86,6	7,1±0,3	83,0
<i>E. faecium</i>	8,1±0,7	43,3	7,9±0,6	46,6
<i>E. faecalis</i>	9,0±0,5	70,0	7,4±0,6	73,3
Клостридии	2,0±0	3,3	3,0±1,0	6,6
<i>E. coli</i>	5,7±0,5	100,0	8,4±0,5	90,0
<i>E. coli</i> лактоза негативная	8,7±0,7	20,0	9,6±0,2	20,0
<i>E. coli</i> гемолитическая	–	–	8,7±0,8	16,6*
<i>S. aureus</i>	5,6±0,3	30,0	4,9±0,3	63,3**
Условно-патогенные энтеробактерии	9,9±0	3,3	7,9±0,4	56,6***
Стафилококки	7,4±0,5	50,0	5,4±0,4	53,3
НГОБ	9,4±0	3,3	–	–
<i>C. albicans</i>	3,7±0	3,3	3,7±0,3	26,6*

Примечание. Различия достоверны: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$.

Количественное содержание бифидо- и лактобактерий в кишечнике матери оказывает непосредственное положительное влияние на количество этих облигатных микроорганизмов в кишечниках новорожденных ($r=0,7-0,9$).

Исходно высокий уровень лактобактерий (но не бифидобактерий) на 5-7 сутки после рождения коррелирует с высокой степенью с уровнем лактобактерий и бифидобактерий в сроки 1 месяц ($r=0,91$, $r=0,94$, соответственно).



Примечание: → - родившиеся в срок;
 ———→ - родившиеся преждевременно;
 - . - → - абдоминальное родоразрешение

Рис.3.6. Корреляционная связь между представителями индигенной микрофлоры матери и ребёнка

3.3. Микробиоценоз ротоглотки новорожденных

Характер микрофлоры ротоглотки в динамике неонатального периода представлен в таблице 3.2. Как видно из приведенных в ней данных, становление микробиоценоза слизистой ротоглотки к окончанию неонатального периода не завершено.

Оно характеризуется, с одной стороны, увеличением облигатной микрофлоры и одновременным уменьшением коагулазоотрицательных стафилококков, с другой – нарастанием частоты колонизации слизистой зева условно-патогенными микроорганизмами, в частности *S. aureus*, *Candida spp*, *E. coli* и *Serratia*.

Таблица 3.2 Характер микробиоценоза ротоглотки новорожденных в неонатальном периоде (% , Lg КОЕ/г, M±m)

Микроорганизмы	в возрасте 5–7 суток, Lg КОЕ/г	Частота, %	в возрасте 30 суток, Lg КОЕ/г	Частота, %
Lactobacillus	3,9±0,5	33,3	4,5±0,3	76,6
Lactococcus	4,5±0,3	70,0	5,5±0,2	73,3
Альфа-гемолитические стрептококки				
S. mitis	5,8±0,6	13,3	5,7±0,6	13,3
S. mutans	5,1±0,3	16,6	5,7±0,3	36,6
S. salivarius	6,0±0,2	16,6	5,8±0,1	46,6
Коагулазоотрицательные стафилококки				
S. epidermidis	5,0±0,3	30,0	5,0±0,4	23,3
S. epidermidis гемолитическая	4,6±0,5	40,0	4,3±0,4	26,6
S. haemolyticus	4,7±0,6	10,0	3,9±0,3	10,0
Коагулазоположительные стафилококки				
S. aureus	3,7±0,4	16,6	3,6±0,3	43,3
Энтерококки				
E. faecium	5,2±0,3	40,0	6,0±0,2	60,0
E. faecalis	4,4±0,3	16,6	5,9±0,7	13,3
Микроорганизмы других групп				
Corinebacterium	4,5±0,0	3,3	4,5±0,0	3,3
E. coli	6,8±0,0	3,3	2,7±0,1*	6,6
Candida albicans	–	–	4,3±0,4	20,0
Candida nonalbicans	–	–	3,7±0,6	16,6

Примечание. Различия достоверны: * – $p < 0,05$.

3.4. Микробиоценоз кожи новорожденных

Особенности контаминации кожи в неонатальном периоде представлены в таблице 3.3.

Данные между группами наблюдаемых детей не имеют статистически значимых различий, что указывает на общность формирования микрофлоры в неонатальный период.

Однако, анализ процентных величин (M) позволяет провести следующие сопоставления. По плотности контаминации нами не установлено статистически значимых отличий как по группам, так и по срокам ($P > 0,05$). По частоте контаминации микрофлорой установлено, что S.epidermidis чаще выделялся от новорожденных, родившихся в срок, в 1,8 раза по сравнению с группой

абдоминального родоразрешения на 5-7 сутки и на 30 суток – в 3 раза чаще.

Таблица 3.3 Характер микробиоценоза кожи у детей в неонатальном периоде, %

Микроорганизмы	У детей в возрасте 5–7 суток			У детей в возрасте 30 суток		
	Срочные роды, n=83	Досроч. роды, n=14	Абдом. родораз, n=15	Срочные роды, n=26	Досроч. роды, n=14	Абдом. родораз, n=15
Плотн. контаминац, КОЕ/см ²	30,4±3,7	31,2±3,0	28,5±3,8	36,7±4,0	35,8±3,8	34,9±3,9
Коагулазоотрицательные стафилококки						
<i>S. epidermidis</i>	60,2±5,4	42,9±13,2	33,3±12,2	65,1±9,3	50,0±9,8	20,0±10,8
<i>S. epidermidis</i> с гем.	30,1±5,0	14,3±9,3	40,0±16,0	0	0	46,6±12,2
<i>S. haemolyticus</i>	14,5±3,9	0	26,6±11,4	0	7,1±6,9	39,3±12,2
<i>S. hominis</i>	0	0	13,3±8,8	0	0	13,3±8,8
<i>S. saprophyticus</i>	24,1±4,7	35,7±10,6	0	48,2±9,8	21,4±10,9	13,3±8,8
Коагулазоположительные стафилококки						
<i>S. aureus</i>	7,2±2,8	21,4±12,4	26,6±11,4	0	7,1±6,9	13,3±8,8
Энтерококки						
<i>E. faecalis</i>	14,5±3,9	21,4±12,4	33,3±12,2	12,0±6,4	7,1±6,9	40,0±11,6
<i>E. faecium</i>	12,0±3,6	14,3±9,3	13,3±8,8	0	7,1±6,9	19,9±8,2
Микроорганизмы других групп						
<i>Serratia</i> sp.	0	0	6,6±6,4	0	0	6,6±6,4
<i>B. cereus</i>	0	14,3±9,3	6,6±6,4	0	21,4±10,9	6,6±6,4
<i>Micrococcus</i>	67,5±5,1	42,9±13,2	6,6±6,4	89,1±6,1	85,8±7,2	52,9±6,5
<i>Sarcina</i>	55,4±5,5	42,9±13,2	6,6±6,4	80,7±7,7	42,9±13,2	40,6±11,6
<i>Streptobacillus</i> гем.	0	0	0	0	0	6,6±6,4

S. haemolyticus выделялся чаще в группе с абдоминальным родоразрешением. *S. hominis* выделялся только у 2 новорожденных с абдоминальным родоразрешением (13,3%). *S. saprophyticus* отсутствовал в группе с абдоминальным родоразрешением на 5-7 сутки, но обнаруживался на 30 суток. Коагулазоположительные стафилококки присутствовали во всех группах, но доминировали у преждевременно родившихся и при абдоминальном родоразрешении.

К 30 суткам они не выделялись от детей, родившихся в срок, но отмечались в группах досрочного и абдоминального родоразрешения (снижение в 3 и 2 раза, соответственно). Энтерококков на коже было больше всего при абдоминальном родоразрешении. Среди микроорганизмов других групп доминировали *Micrococcus* и *Sarcina* в группе, родившихся в срок и досрочно на 3-5 сутки, но к 30 суткам возрастают и в группе абдоминального родоразрешения.

Общие тенденции динамики микроорганизмов между группами наблюдаемых детей указывают на однонаправленность формирования микрофлоры в неонатальный период. К окончанию неонатального периода сформированным кожный микробиоценоз можно считать только у половины обследованных детей.

К окончанию неонатального периода сформированным кожный микробиоценоз можно считать только у 39,6 % обследованных детей с абдоминальным родоразрешением.

У остальных наблюдается колонизация кожных покровов условно-патогенной микрофлорой, ведущее место в которой занимает *S. epidermidis* с гемолизом, а также факультативные анаэробы, характерные для микробиоценоза желудочно-кишечного тракта (представлены в основном энтерококками).

Одновременно с этим происходит элиминация с кожных покровов *S. aureus*, что, возможно, объясняется конкурентными взаимодействиями микроорганизмов в данном биотопе.

В связи с тем, что у наблюдаемых новорожденных отмечались нарушения одного биотопа (локальный дисбактериоз), сочетания дисбактериоза двух и трех изученных биотопов (сочетанный дисбактериоз) - нами не установлено ни одного ребенка, у которого был нормоценоз всех трех изученных биотопов одновременно. Например, у новорожденных с нормоценозом кишечника отличались нарушения в других биотопах.

И наоборот. Исходя из вышесказанного (табл. 3.4), можно констатировать, что к окончанию неонатального периода ни у одного ребенка независимо от родоразрешения не сформировался микробиоценоз основных биотопов (кишечник, кожа). Необходимо подчеркнуть, что исследования не проводились непосредственно в родильном зале.

Таблица 3.4 Количество детей достигших эубиоза основных биотопов в %

Биотоп	Срочные роды, n=83	Досрочные роды, n=14	Абдоминальные роды, n=15
Кишечник	3,3±5,7	7,1±6,9	6,6±6,4
Зев	48,1±5,34	42,6±13,2	33,0±12,1
Кожа	49,4±5,9	42,6±13,2	39,6±12,6
Все исследованные биотопы	0,0		

Несмотря на существенные различия в микрофлоре кожи новорожденных группы Д и НД, на наш взгляд, наибольшего внимания заслуживают изменения в кишечном микробиоценозе, характеризующиеся наличием большого количества условно-патогенных микроорганизмов, что на фоне дисбиоза других биотопов может приводить к нарушению колонизационной резистентности.

Полученные результаты указывают на отсутствие достоверных различий между группами обследованных новорожденных, что указывает на общность механизмов формирования микрофлоры.

В таблицах 3.5 и 3.6 представлены относительные показатели состояния микробной контаминации кожи различных участков у новорожденных в динамике неонатального периода. Сопоставляется микрофлора разных участков кожи у новорожденных, родившихся в срок (Д-доношенные) и новорожденных, родившихся преждевременно (НД-недоношенные).

Как видно из таблиц 3.5 и 3.6, микрофлора отдельных участков кожи у новорожденных, родившихся в срок и преждевременно, имела отличия как по частоте, так и по спектру.

По динамике нарастания числа положительных высевов (формирование микрофлоры кожи и слизистых) от 1-3 дня к 4-7 дню (период нахождения в роддоме) отмечена следующая тенденция. По микрококкам: нарастание заселения на всех участках кожи. По *S.aureus*: отмечена более частая встречаемость в группе недоношенных во рту (18% против 0% в группе доношенных), в паховой складке (14% и 1%), в подмышечных ямках (6% и 0%), заушная складка (18% и 1%).

Таблица 3.5 Микрофлора отдельных участков кожи у новорожденных, родившихся в срок, %%

Обследованный участок кожи, возраст	Микрококки	Золотистый стафилококк	Стрептококки	β - Гемолитические стрептококки	Пневмококки	Коринебактерии	Другие грамположительные бациллы	Лактозоположительные бактерии	Лактозоотрицательные бактерии	Кандиды
Нос:										
1-3 дня	48	7	21	2	0	12	4	3	1	4
4-7 дней	82	22	55	10	0	22	2	6	2	4
Рот:										
1-3 дня	15	0	0	14	4	3	3	4	1	6
4-7 дней	92	12	96	14	18	12	6	10	0	4
Зона около пупка:										
1-3 дня	46	10	5	0	0	12	18	18	1	1
4-7 дней	65	27	4	2	0	20	2	33	4	2
Паховые складки:										
1-3 дня	45	1	4	0	0	20	24	36	5	7
4-7 дней	44	28	4	0	0	24	8	68	12	12
Подмышечные ямки:										
1-3 дня	56	0	0	0	0	2	26	16	4	0
4-7 дней	88	2	0	0	0	8	2	45	6	2
Уши:										
1-3 дня	64	1	18	2	0	14	0	0	0	0
4-7 дней	78	6	31	2	0	20	0	0	0	0
Межпальцевые промежутки:										
1-3 дня	78	18	2	2	0	1	4	12	1	0
4-7 дней	94	20	6	2	0	2	8	18	2	0
Лоб: 1-3 дня	77	22	54	3	0	18	5	2	0	4
4-7 дней	94	26	68	2	2	29	6	2	0	4

Таблица 3.6 Микрофлора отдельных участков кожи у недоношенных новорожденных, %%

Обследованный участок кожи, возраст	Микрококки	Золотистый стафилококк	Стрептококки	β - Гемолитические стрептококки	Пневмококки	Коринебактерии	Другие грамположительные бациллы	Лактозоположительные бактерии	Лактозоотрицательные бактерии	Кандиды
Нос:										
1-3 дня	37	5	10	2	2	16	3	5	5	6
4-7 дней	88	34	18	2	2	20	0	22	0	8
Рот:										
1-3 дня	42	18	56	10	5	3	3	23	3	16
4-7 дней	96	22	78	18	14	8	2	36	3	24
Зона около пупка:										
1-3 дня	50	7	7	6	0	18	14	14	1	10
4-7 дней	72	28	16	6	0	24	4	42	0	12
Паховые складки:										
1-3 дня	32	14	12	2	0	24	32	46	15	8
4-7 дней	65	56	14	4	0	28	28	74	20	14
Подмышечные ямки:										
1-3 дня	65	6	0	0	0	12	2	16	5	3
4-7 дней	96	18	2	0	0	20	4	22	8	6
Уши:										
1-3 дня	68	18	18	2	2	16	0	8	0	4
4-7 дней	92	19	34	4	4	18	0	10	0	6
Межпальцевые промежутки:										
1-3 дня	64	12	8	2	0	11	4	10	1	0
4-7 дней	96	22	16	2	0	14	6	14	0	2
Лоб:										
1-3 дня	70	24	51	6	2	1	0	4	0	6
4-7 дней	98	26	64	12	2	8	0	10	0	10

По стрептококкам: во рту – 56% и 0%, паховые складки – 12% и 4%, межпальцевые промежутки – 8% и 2%. По β -гемолитическим стрептококкам: зона около пупка – 6% и 0%, паховые складки – 2% и 0%, лоб – 6% и 3%. По пневмококкам: нос – 2% и 0%, уши – 2% и 0%. По коринебактериям (согласно данным литературы – наиболее частый представитель кожных покровов) наибольшие отличия отмечены в межпальцевых промежутках и на лбу.

В группе детей, родившихся преждевременно, преобладали лактозоположительные и лактозо-отрицательные бактерии.

В обеих группах лактозоположительные и лактозо-отрицательные бактерии доминировали в паховой складке, что объясняется анатомической и физиологической особенностью (область промежности – кишечная флора, влажность и температура). Дрожжеподобные грибы рода *Candida* преобладали практически на всех участках у детей, родившихся преждевременно.

К 4-7 дню после рождения у подавляющего числа новорожденных в обеих группах (доношенные/недоношенные) на всех участках кожи находились микрококки (от 44% до 94% - в группе родившихся в срок и от 65% до 98% - у преждевременно родившихся).

Мы полагаем, что родовые пути играют крайне незначительную роль в колонизации бактериями кожи новорожденных и дыхательных путей. Микробная колонизация новорожденных происходит немедленно после рождения в результате заноса с тела матери и от окружающих людей, и основные её представители заселяют кожу в течение первых нескольких недель жизни. Установлено, что в первые три дня после рождения уровень носительства микрококковых увеличивается во всех участках кожи (за исключением паховых складок в группе доношенных).

Так, если при обследовании в 1 день после рождения у 48% своевременно родившихся и 37% преждевременно родившихся детей на слизистой оболочке носа был выявлен рост микроорганизмов, то через 3 дня эти показатели составляли 82% и 88% соответственно.

Следующими по численности были негемолитические стрептококки, которые более часто выделяли у новорожденных, родившихся в срок.

Таблица 3.7 Частота контаминации кожи у новорожденных, родившихся в срок и преждевременно (в %% на 100 исследований)

Обследованный участок кожи, возраст	<i>Micrococcus</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Streptococcus</i>		β – Гемолит. стрептококки		<i>Pneumococcus</i>		<i>Corinebacterium</i>		Другие грамположительные бактерии		Лактозаполжительные бактерии		Отрицате. бактерии		<i>Candida</i>	
	Д	Н	Д	Н	Д	Н	Д	Н	Д	Н	Д	Н	Д	Н	Д	Н	Д	Н	Д	Н
Нос:	4	3	7	5	2	1	2	2	0	2	1	1	4	3	3	5	1	5	4	6
1-3 дня	8	7	2	3	1	0	1	2	0	2	2	6	2	0	6	2	2	0	4	8
4-7 дней	8	8	2	4	5	1	0			2	2				2					
	2	8			5	8					2	0								
Рот:	1	4	0	1	0	5	1	1	4	5	3	3	3	3	4	2	1	3	6	1
1-3 дня	5	2	1	8	9	6	4	0	1	1	1	8	6	2	1	3	0	3	4	6
4-7 дней	9	9	2	2	6	7	1	1	8	4	2				0	3			2	2
	2	6		2		8	4	8							6				4	4
Зона около пупка:	4	5	1	7	5	7	0	6	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1-3	6	0	0	2	4	1	2	6	0	0	2	8	8	4	8	4	4	0	2	0
4-7 дней	6	7	2	8		6					2	2	2	4	3	4			1	1
	5	2	7								0	4			3	2			2	2
Паховые складки:	4	3	1	1	4	1	0	2	0	0	2	2	2	3	3	4	5	1	7	8
1-3	5	2	2	4	4	2	0	4	0	0	0	4	4	2	6	6	1	5	1	1
4-7	4	6	8	5		1					2	2	8	2	6	7	2	2	2	4
	4	5		6		4					4	8		8	4		0			
Подмышечные ямки:	5	6	0	6	0	0	0	0	0	0	2	1	2	2	1	1	4	5	0	3
4-7 дней	6	5	2	1	0	2	0	0	0	0	8	2	6	4	6	6	6	8	2	6
	8	9		8							2	2	2		4	2				
	8	6									0				5	2				
Уши:	6	6	1	1	1	1	2	2	0	2	1	1	0	0	0	8		0	0	4
1-3 дня	4	8	6	8	8	8	2	4	0	4	4	6	0	0	0	1		0	0	6
4-7 дней	7	9		1	3	3					2	1			0	0				
	8	2		9	1	4					0	8								
Межпальцевые промежутки:	7	6	1	1	2	8	2	2	0	0	1	1	4	4	1	1	1	1	0	0
	8	4	8	2	6	1	2	2	0	0	2	1	8	6	2	0	2	0	0	2
	9	9	2	2		6					1	1			1	1				
	4	6	0	2							4				8	4				
Лоб:	7	7	2	2	5	5	3	6	0	2	1	1	5	0	2	4	0	0	4	6
1-3 дня	7	0	2	4	4	1	2	1	2	2	8	8	6	0	2	1	0	0	4	1
4-7 дней	9	9	2	2	6	6		2			2				0					0
	4	8	6	6	8	4					9									

Разницы в интенсивности колонизации и в составе микроорганизмов у представителей различных полов не выявлено. Носительство *Candida* более часто выявляли у преждевременно родившихся новорожденных, у них же более часто выделяли и *S.aureus*, а негемолитических стрептококков реже, чем у родившихся своевременно. Коринебактерии у доношенных новорожденных обнаруживали на лбу, в носу, на ушах и паховых складках.

Стрептококки могут укореняться у новорожденных, если обладают достаточной способностью прилипать к клеткам слизистых оболочек. Микроорганизмы, которые в последующем не составляют часть микрофлоры, не способны прилипать к клеткам слизистых оболочек. Доминирующими микроорганизмами на всех участках кожи являются коагулазоотрицательные кокки. Другие микроорганизмы обнаруживаются в различных местах тела. Вызывает удивление, что, несмотря на достаточно частые находки энтеробактерий в районе прямой кишки в возрасте от 4 до 7 дней, встречаемость их на поверхности кожи относительно редкая, при этом она выше у преждевременно родившихся детей, вероятно, вследствие более высокой температуры и влажности в среде, окружающей таких детей. Стрептококков и коринебактерий также выявляют на коже, хотя и менее часто, чем кокков.

У небольшой части популяции обследованных детей выявляли также потенциально патогенные микроорганизмы. Колонизация кожи золотистым стафилококком происходит раньше, чем развитие носительства на слизистой оболочке носа.

У новорожденных, родившихся в срок, и преждевременно родившихся заселённость *S. albicans* кожи составила: во рту 6% и 16%, соответственно в 1 и 2 дни, 4% и 24% - на 4-7 дни. Эндогенная инфекция может развиваться при распространении микроорганизмов из пищеварительного тракта (область паховой складки и рот – 12%/4% и 4%/24%). В данной возрастной группе наличие *S. albicans* на коже означает наличие патологического процесса.

В таблице 3.7 представлены сопоставления микрофлоры различных участков кожи у новорожденных, родившихся в срок (Д) и преждевременно (НД). Из таблицы видно, что нормофлора новорожденных, родившихся в срок, представлена

преимущественным заселением кожных покровов кокковой флорой. Микрофлора новорожденных, родившихся преждевременно (НД), представлена меньшей частотой контаминации кокками, но превалированием прочих микроорганизмов, в том числе – условно-патогенных.

Дрожжеподобные грибы рода *Candida* превалировали практически на всех участках у детей, родившихся преждевременно. К 4-7 дню после рождения у подавляющего числа новорожденных в обеих группах (доношенные/недоношенные) на всех участках кожи находились микрококки (от 44% до 94% - в группе родившихся в срок и от 65% до 98% - у преждевременно родившихся).

Гнойно – воспалительные заболевания в неонатальном периоде перенесли 26,6%. Этиологическая структура представлена на рисунке 3.7.

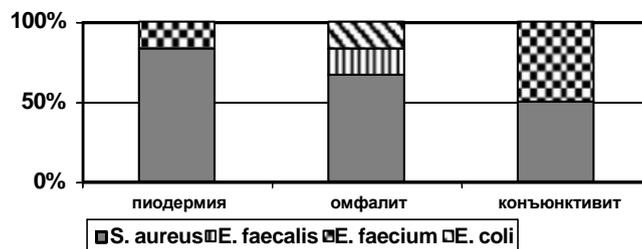


Рис. 3.7. Этиологическая структура малых форм гнойно-септических инфекций в неонатальном периоде у детей, родившихся оперативным путём.

У одного ребенка клинические проявления малой гнойной инфекции наблюдались в период нахождения в родильном доме, у всех остальных проявления малой гнойной инфекции появились после выписки из стационара.

Ведущим этиологическим агентом в большинстве случаев явился золотистый стафилококк. Пять новорожденных были контаминированы золотистым стафилококком к моменту выписки из родильного отделения, что при низком проценте носительства золотистого стафилококка среди обследованных женщин позволяет говорить о контаминации ребёнка госпитальной микрофлорой.

Для оценки эффективности противоинфекционной профилактики заболеваний глаз у новорожденных, все дети были разбиты на две группы. Первую из которых составили новорожденные, у которых не проводилась обработка глаз. Вторую - дети, у которых проводилось закладывание за нижнее веко 1% тетрациклиновой мази. Нами оценен характер становления биоценоза конъюнктивы в неонатальном периоде в зависимости от обработки глаз в родильном доме. При микробиологическом исследовании выявлены следующие особенности (рис.3.8). К 5-7 суткам заселение конъюнктивы представителями индигенной микрофлоры произошло в 30% у детей первой группы и 20% второй. Условно-патогенные микроорганизмы изолировались с конъюнктивы в 70 и 80% у детей первой и второй групп соответственно.

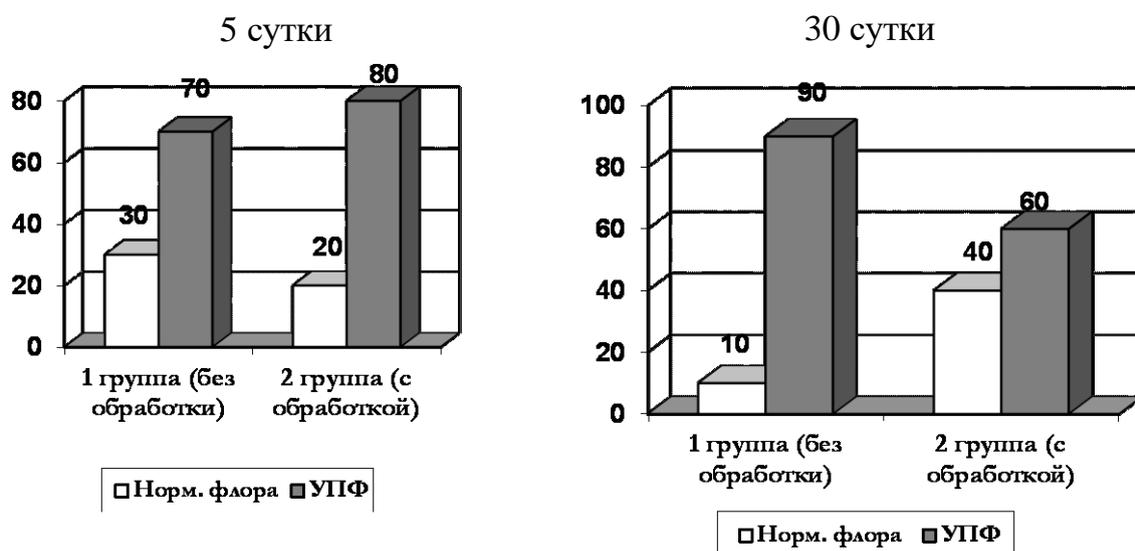


Рис. 3.8. Особенности контаминации конъюнктивы в неонатальном периоде в зависимости от обработки глаз в родильном доме

К окончанию неонатального периода у детей первой группы в 90% случаев заселение конъюнктивы произошло за счет УПФ, в то время как у детей второй - УПФ высевалась в 60% случаев.

Но при этом, если у детей первой группы происходило дальнейшее увеличение разнообразия микробной флоры и в данном биотопе, присутствовали ассоциации микроорганизмов, то у детей, у которых проводилась обработка глаз тетрациклином микробиоценоз был представлен в основном монофлорой резистентной к данному антибиотику.



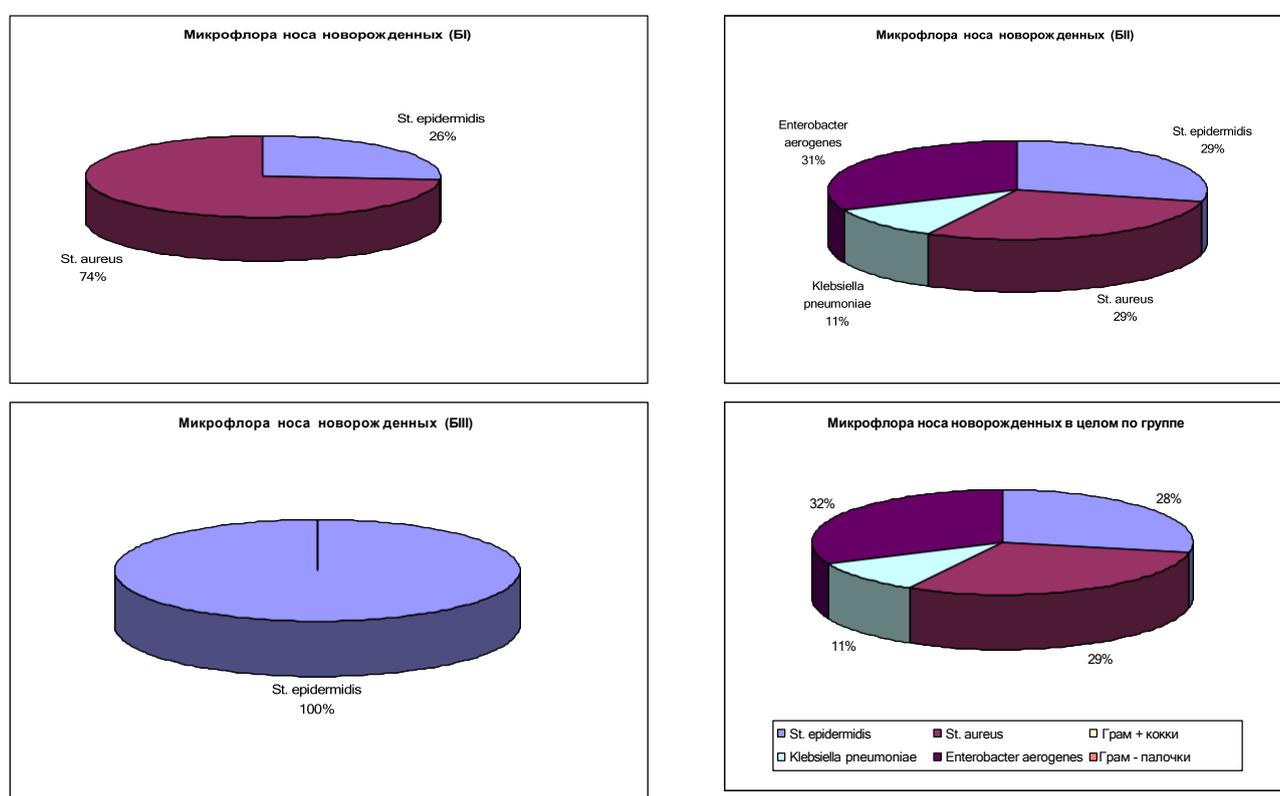
Рис. 3.9. Микрофлора отдельных участков кожи у новорожденных *Staphylococcus aureus* (в %)



Рис. 3.10. Микрофлора отдельных участков кожи у новорожденных *Streptococcus* (в %)

Частота конъюнктивитов в обеих группах была одинаковой и составила по два случая в каждой группе. На рисунках 3.9, 3.10, 3.11 наглядно представлен спектр микрофлоры различных участков кожи детей, родившихся в срок и преждевременно, а также микрофлора носа новорожденных - в зависимости от количества родов у матерей.

На рис. 3.9. показано, что контаминация *S.aureus* закономерно возрастает от 1-3 дня к 4-7 дню и продолжает экзогенное заселение наиболее частая локализация этой группы микроорганизмов – нос, рот, зона около пупка, паховые складки.



(I -перворожавшие, II- повторнорожавшие, III- многорожавшие – 3 и более)

Рис. 3.11. Спектр микрофлоры слизистой носа новорожденных в зависимости от количества родов матерей

Стрептококки чаще заселяют нос, рот, уши, лоб (рис. 3.10).

При сопоставлении микрофлоры носа (рис. 3.11) у новорожденных в зависимости от количества родов у матерей, отмечено, что наиболее разнообразный спектр у новорожденных во второй группе (БII).

Здесь отмечены кокки в 58% и грамотрицательные микроорганизмы – 42%. В I группе в спектре были *S.aureus* и *S.epidermidis*. В группе многорожавших доминировали *S.epidermidis*.

Микробиоценоз влагалища матерей

Было проведено комплексное бактериологическое обследование методом скрининга женщин в третьем триместре беременности, находившихся на диспансерном учете в базовой женской консультации.

Качественное и количественное исследование микрофлоры репродуктивного тракта беременных и родильниц включало микроскопию мазков из влагалища для ориентированного определения микробного пейзажа, определения рН содержимого влагалища и аминный тест, бактериологический анализ, который включал в себя посеvy аэробной и микрофлоры с дальнейшими тестами для уточнения видового состава количественного определения аэробной микрофлоры. Идентификация выделенных культур осуществлялась согласно определителю Берджи.

После проведения комплексного клинико-микробиологического обследования все беременные были разделены на 2 группы в зависимости от результатов бактериологического скрининга: основную (1) группу составили 27 женщин с нарушением микробиоценоза влагалища и (или) кишечника, в группу сравнения (2) были включены 17 женщины с эубиотическим состоянием вагинального и кишечного микроценоза.

В группе беременных, обследованных в дородовом периоде факультативно-аэробная микрофлора репродуктивного тракта была представлена следующими семьями и родами бактерий: *Staphylococcus* sp. (53%), *Corynebacterium* sp. (26%) и представители *Enterobacteriaceae* spp.(37%). Редко выявлялись *Bacillus* sp. (15%), *Acinetobacter* sp.(8%), *Moraxella* sp. (13%). Среди стафилококков большинство изолятов были идентифицированы как *Staphylococcus epidermidis* (51%), 22% - как *Staphylococcus aureus*, 27% - как *Staphylococcus saprophyticus*. Представители *Enterobacteriaceae* в большинстве случаев были представлены *E. coli* (62%), значительно реже выделялись *Klebsiella* (17%), *Proteus* (15%), *Morganella* (6%).

При оценке состояния микробиоценоза влагалища в целом в группе обследованных беременных женщин нормобиоз встречался в 25%, дисбиоз - 75%. Следует отметить, что только в ряде случаев выделились монокультуры аэробных, факультативно анаэробных бактерий, в большинстве случаев выделялись ассоциации с 4 и больше видов. Это необходимо учитывать при составлении программы дородовой санации женщин группы риска инфекционных осложнений в процессе родов и в послеродовом периоде.

При более глубоком изучении вагинального микробиоценоза установлен неоднородный характер и различная степень выявленных нарушений.

Истинный нормоценоз определялся только у 6,6% беременных. Ещё 13,2% женщин имели незначительные сдвиги в составе микрофлоры влагалища, не затрагивающие основных ее представителей (лактобацилл) и не сопровождающиеся клиническими симптомами патологического процесса, что позволило определить данное состояние как промежуточный тип вагинального биоценоза и отнести его к варианту нормы.

У 42,6% обследованных обнаружен бактериальный вагиноз, характерным признаком которого было исчезновение или резкое снижение количественного содержания лактобацилл в содержимом влагалища и отсутствие симптомов воспалительного процесса.

У 49,9% пациенток наблюдались клинические проявления вагинита, которые в 40,6% случаев были обусловлены грибами рода *Candida*, в 33,3% аэробными грамотрицательными условно-патогенными микроорганизмами (УПМ) и стафилококками, а у 16,5% из них имела место сочетавшаяся форма бактериального вагиноза (БВ) и вагинального кандидоза.

При этом минимальные микрoэкологические сдвиги отмечены при воспалительных процессах, вызванных грибами рода *Candida* в монокультуре, а любые ассоциации дрожжеподобных грибов с другими представителями условно-патогенной флоры приводили к более существенным отклонениям от эубиотического состояния влагалища. Максимальная степень дисбактериоза определялась у беременных с бактериальным вагинозом.

В группе беременных, обследованных в дородовом периоде факультативно-аэробная микрофлора репродуктивного тракта была

представлена следующими семьями и родами бактерий: *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Bacillus*, *Enterobacteriaceae*, *Gardnerella vaginalis*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Pseudomonas*.

При изучении частоты встречаемости микроорганизмов из группы условно патогенных, в том числе грибов рода *Candida* и генитального тракта беременных женщин с железодефицитной анемией (ЖДА), беременных с физиологически протекающей беременностью (ФТБ) – контроль 1 и небеременных женщин (контроль 2) установлено нижеследующее.

У беременных женщин с ЖДА всего было выявлено 39 штаммов УПМ. Чаще всего этиологическими агентами среди УПМ, вызвавших генитальные инфекции, были грамположительные кокки, которые выявлялись в 46,1±3,9% случаях (табл. 3.8). Грамотрицательные палочки определялись в 2 раза реже, чем грамположительные кокки – 22,4±5,1% ($p < 0,001$).

Таблица 3.8 Частота высеваемости микроорганизмов группы УПМ из генитального тракта беременных с ЖДА и контрольных групп (M ±m, %)

Условно-патогенные микроорганизмы	Беременные с ЖДА	Беременные с ФТБ	Небеременные женщины
Лактозопозитивные <i>E.coli</i>	15,9±4,9	11,5±5,3	12,7±5,2
Лактозонегативные <i>E.coli</i>	2,8±1,5	3,7±2,8	0
<i>Proteus sp.</i>	2,9±1,3	5,4±4,5	6,7±3,2
<i>Enterobacter sp.</i>	3,2±2,3	0	0
<i>Citrobacter sp.</i>	2,3±1,3	0	0
НФГОБ	5,3±3,2	3,7±2,8	0
Всего грамотрицательные палочки	22,4±5,1	24,3±5,7	19,4±5,3
<i>S.aureus</i>	9,9±3,1	3,7±2,8	2,6±1,2
<i>S.epidermidis</i>	20,5±4,4	38,2±3,8	40,0±9,1
Другие КОС	11,1±4,4	11,1±5,9	0
<i>Enterococcus sp.</i>	4,6±2,2	3,7±2,8	6,5±3,1
Всего грампозитивные кокки	46,1±3,9	56,7±3,1	68,5±4,5
Дрожжеподобные грибы рода <i>Candida</i>	31,5±4,4	19,9 ±3,2	12,1±5,9
Всего штаммов	39/100	27/100	16/100

Чаще всего среди грамположительных кокков высевался *S.epidermidis* 20,5±4,4%. В 11,1±4,4% случаях выявлялись другие

коагулазоотрицательные стафилококки (КОС). Доля *S.aureus* и представителей *Enterococcus* sp. было достоверно меньше, чем других грамположительных кокков, соответственно $9,9\pm 3,1$ и $4,6\pm 2,2\%$ ($p < 0,05$). Среди грамотрицательных палочковидных бактерий чаще выявлялись лактозопозитивные *E.coli* ($15,9\pm 5,9\%$). Особо следует подчеркнуть факт того, что среди грамотрицательных палочек велика доля неферментирующих грамотрицательных бактерий (НфГОб) – $5,3\pm 3,2\%$. Они выявлялись чаще, чем *Enterobacter* sp. ($3,2\pm 2,3\%$), *Citrobacter* sp. ($2,3\pm 1,3\%$), *Proteus* sp. ($2,9\pm 1,3\%$) и лактозонегативные *E.coli* ($2,8\pm 1,5\%$).

3.6. Микробиоценоз кишечника матерей

Микробиологическое обследование родильниц.

Результаты исследования микробиоценоза толстой кишки у родильниц представлены в таблице 3.9. У 86,6 % женщин количество бифидобактерий находилось в пределах возрастной нормы, в то время как количество лактобактерий было ниже нормы у 96,6 %.

Таблица 3.9

Характеристика биоценоза толстой кишки у обследованных женщин

Микроорганизмы	Количество, Lg КОЕ/г ($M\pm m$)	Частота, %
Бифидобактерии	$8,9\pm 0,18$	100,0
Лактобактерии	$3,7\pm 0,3$	100,0
Бактероиды	$8,1\pm 0,2$	100,0
<i>E. faecium</i>	$6,3\pm 0,4$	76,6
<i>E. faecalis</i>	$6,4\pm 0,3$	66,6
Клостридии	$2,5\pm 0,2$	40,0
<i>E. coli</i>	$7,4\pm 0,3$	100,0
<i>E. coli</i> лактоза негативная	$7,1\pm 0,5$	43,3
<i>E. coli</i> гемолитическая	–	–
<i>S. aureus</i>	$2,9\pm 0,2$	13,3
Условно-патогенные энтеробактерии	$7,8\pm 1,9$	6,6
НГОб	$4,5\pm 0$	3,3
Стафилококки	$5,3\pm 0,1$	16,6
<i>C. albicans</i>	$3,8\pm 0,2$	60,0
<i>C. nonalbicans</i>	$5,2\pm 0$	3,3

У 66,6 % женщин отмечалось снижение количества бактероидов. Количество кишечных палочек с типичными свойствами в пределах возрастной нормы было у 43,3 % обследованных, ниже нормы у 36,6 % и выше нормы у 20,0 %. Лактозонегативная кишечная палочка высевалась у 43,3 % обследованных, при этом у 6,6 % ее количество было в пределах возрастной нормы, а у 36,6 % превышало допустимые значения.

Анализ частоты высева условно-патогенной микрофлоры показал, что золотистый стафилококк был выделен у 13,3% женщин, грибы рода Кандида у 70,0%, из них 60,0% составила *Candida albicans*, 6,6% *Candida krusei* и 3,3% *Candida tropicalis*. При этом у 13,0% их количество превышало возрастную норму.

В результате проведенного микробиологического скрининга установлено, что у большей части беременных группы риска имели место различные дисбиотические нарушения: у 75,6% пациенток наблюдались отклонения от нормального состава микрофлоры влагалища, а у 67,6% диагностированы изменения кишечного биоценоза. При этом, дисбактериоз (ДБ) кишечника выявлялся у 60,7% женщин с нарушением вагинальной микрофлоры, а 58,4% беременных имели сочетавшиеся патологические изменения микрофлоры влагалища и кишечника. Эубиотическое состояние соответствующих микроценозов обнаружено только у 18,4% из общего числа обследованных женщин. Нарушения микробиоценоза влагалища не всегда сопровождалась кишечным дисбиозом, тогда как у пациенток с дисбактериозом кишечника в 100% случаев обнаруживались изменения в составе микрофлоры влагалища (табл. 3.10). При изучении микрофлоры кишечника установлено, что почти каждая вторая (48,6%) обследованная имела изменения кишечного биоценоза, выражающиеся в снижении количественного уровня основных компонентов защитной флоры (лакто- и бифидобактерий) и более высокой концентрации УПМ.

У 23,5% беременных диагностирован ДБ I степени, у 60,8% - II степени, у 15,7% - III степени. Беременные женщины с различными типами вагинального биоценоза имели неодинаковую частоту и степень выраженности ДБ кишечника.

Кишечный дисбиоз у пациенток с БВ (73,1%) регистрировался в 1,5 раза чаще, чем в группе беременных с вагинитом (48,6%) и

полностью отсутствовал при нормоценозе и промежуточном типе биоценоза влагалища.

Кроме того, у женщин с БВ отмечалась не только большая частота, но и большая глубина дисбиотических изменений микрофлоры кишечника. Так, если при вагините преобладала I-II степень кишечного дисбактериоза, то при БВ - II-III.

Таблица 3.10 Видовой и количественный состав микрофлоры кишечника беременных с различными типами биоценоза влагалища (lg M±m КОЕ/г фекалий)

Микроорганизмы	Количество микроорганизмов в 1 г фекалий			
	Основная группа; n= 112		Контрольная группа; n = 30	
	БВ	Вагинит	Нормоценоз	Промежуточный
Bifidobacterium sp.	6,7 ± 0,3*	6,7 ± 0,2*	8,8 ± 0,2	8,2 ± 0,2
Lactobacillus sp.	5,1 ± 0,2*	5,6 ± 0,1*	7,8 ± 0,2	6,3 ± 0,1
E.coli	6,5 ± 0,4	7,4 ± 0,3	6,7 ± 0,2	7,7 ± 0,2
Klebsiellae sp.	5,2 ± 0,3*	6,7 ± 0,4*	4,2 ± 0,3	5,2 ± 0,2
Proteus sp.	5,2 ± 0,3*	6,4 ± 0,2*	2,5 ± 0,5	2,0 ± 0,3
Enterobacter sp.	5,4 ± 0,2*	5,7 ± 0,2*	3,6 ± 0,4	2,0 ± 0,3
Citrobacter sp.	6,5 ± 0,2*	5,4 ± 0,2*	2,5 ± 0,6	2,3 ± 0,4
Enterococcus sp.	4,9 ± 0,5*	5,3 ± 0,4*	4,0 ± 0,3	4,0 ± 0,4
Staphylococcus:				
- epidermidis	6,4 ± 0,2*	4,5 ± 0,5*	3,3 ± 0,5	2,0 ± 0,6
- aureus	3,3 ± 0,4*	5,3 ± 0,2*	3,2 ± 0,5	3,5 ± 0,5
Pseudomonas sp.	4,4 ± 0,6*	5,4 ± 0,4*	-	-
Грибы рода Candida	3,5 ± 0,3*	5,2 ± 0,2*	2,2 ± 0,3	3,5 ± 0,4

Примечание: * - различия показателей между 1 и 2 группой достоверны (p< 0,05).

У всех обследованных женщин (100%) беременность протекала на фоне дисбиоза кишечника, что может повлиять на формирование биоценоза у новорожденного ребенка.

Таким образом, результаты, полученные в данном разделе показали, что кишечный микробиоценоз матери определяет формирование облигатной микрофлоры основных биотопов новорожденного ребенка при абдоминальном родоразрешении. Дети, рожденные от матерей с дисбиозом кишечника находятся в группе риска по нарушению формирования микробиоценозов основных биотопов. К окончанию неонатального периода у детей, родившихся оперативным путём не сформирован микробиоценоз основных биотопов, что проявляется наличием дисбиотических взаимоотношений в микробной популяции ротоглотки у 70%, кожи – 63,4% и толстой кишки у 96,7% обследованных детей. Кишечный микробиоценоз характеризуется наличием большого количества условно-патогенных микроорганизмов, что на фоне дисбиоза других биотопов приводит к нарушению колонизационной резистентности и срыву адаптационных возможностей ребенка, способствуя развитию гнойно-септических заболеваний. Постнатальная профилактика гнойно – воспалительных заболеваний глаз тетрациклиновой мазью у детей, родившихся путем кесарева сечения, не влияет на частоту развития конъюнктивита в неонатальном периоде, и способствует заселению конъюнктивы условно – патогенной микрофлорой, резистентной к тетрациклину. Сочетание хронической урогенитальной инфекции и острых респираторных инфекций в пренатальном периоде увеличивает риск инфицирования околоплодных вод на 50% (RR=0,5). Проведение антибактериальной терапии лактирующей матери в 100% случаев вызывает развитие дисбиоза кишечника, в 81% - дисбиоза зева и в 66,6% - дисбиоза кожи у ребенка к возрасту 1 месяца.

ГЛАВА 4. СТРУКТУРА МИКРОФЛОРЫ, ОПРЕДЕЛЯЕМОЙ У МАТЕРЕЙ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ И У НОВОРОЖДЕННЫХ

4.1. Родовая и видовая структура микрофлоры

Забор материала, транспортировка и ход исследования различных образцов материала были описаны ранее (методы). В 11,4% случаев (табл. 4.1) посев биоматериала не дал роста, из 735 образцов (88,6%) в подавляющем большинстве (702-95,5%) были обнаружены ассоциации, в остальных случаях выделялись монокультура микроорганизмов.

Таблица 4.1 Результаты микробиологического исследования биоматериала различной локализации

Локализация	Количество	Роста нет	Рост			Всего штаммов
			Всего	В ассоциации	В монокульт	
Родовые пути	336	<u>40</u> 11,9	296	<u>287</u> 96,9	<u>9</u> 3,1	240
Кишечник беременных	112	-	112	<u>107</u> 95,5	<u>5</u> 4,5	90
Кишечник новорожденных	90	<u>11</u> 12,6	79	<u>76</u> 96,4	<u>3</u> 3,6	60
Нижние отделы родового тракта	112	-	112	<u>96</u> 85,7	<u>16</u> 14,3	90
Кожа новорожденных	90	<u>33</u> 36,7	57	<u>57</u> 100	-	60
Паховая складка новорожденных	90	<u>11</u> 12,2	79	<u>79</u> 100	-	60
Всего	830	<u>95</u> 11,4	735	<u>702</u> 95,5	<u>33</u> 4,5	600

Примечание: в числителе – абсолютные, в знаменателе – относительные показатели

Как видно, среди 305 грамположительных бактерий лидировали стафилококки (235-77,0%), среди последних общее количество КОС было даже несколько большим (53,2%), чем *S.aureus* (46,0%). Это подтверждает отмечаемое многими авторами (Frazee B. et al., 2005; Kerttula A. et al., 2005) возрастание этиологической значимости КОС в инфекционной патологии человека.

Родовой и видовой спектр грамотрицательных бактерий достаточно ограничен – 134 штамма *E.coli* от всех выделенных энтеробактерий (72,8%), *K.pneumoniae* (соответственно 16,3%) и другие энтеробактерии (10,9%), куда вошли протеи, цитробактеры, энтеробактеры. Мы не обнаружили новых видов семейства энтеробактерий, выявляемых отечественными учеными при некоторых внебольничных инфекциях (Нурузова З.А., 2006).

В таблице 4.2 представлена видовая структура микроорганизмов, выделенных из родовых путей матерей с гнойно-воспалительными заболеваниями (кольпиты, эндоцервициты, БВ) и биотопов новорожденных с малыми формами ГСИ.

Таблица 4.2 Видовая принадлежность микроорганизмов, выделенных от матерей с ГВЗ родовых путей и новорожденных с малыми формами ГСИ, абс. (%)

Микроорганизм	Матери	Новорожденные	Всего выделено культур
Выделено культур	50	47	97
Стафилококки	12(24,0)	26(55,3)	38
Из них: <i>S.aureus</i>	7/58,4	8/30,8	15
<i>S.epidermidis</i>	3/25,0	10/38,5	13
<i>S.haemolyticus</i>	1/8,3	6/23,0	7
Другие КОС	1/8,3	2/7,7	3
Стрептококки	19(38,0)	11(23,4)	30
Из них:			
<i>Streptococcus sp.</i>	16/84,2	4/36,4	20
<i>S.pyogenes</i>	1/5,3	1/9,0	2
<i>S.viridans</i>	2/10,5	4/36,4	6
<i>S.faecalis</i>	-	2/18,2	2
Энтеробактерии	1(2,0)	3(6,4)	4
НГОб	1(2,0)	2(4,3)	3
<i>Candida</i>	3(6,0)	1(2,1)	4

Стафилококки выявились более чем в два раза реже у матерей (24,0% и 55,3%, $p<0,01$), и если в первом случае преобладали золотистые стафилококки (58,3% и 30,8%), то ведущими представителями рода были *S.epidermidis* (38,5%) и *S.haemolyticus* (23,0%). Но основные различия касались выявляемости стрептококков. *Streptococcus sp.* (84,2% от всех стрептококков) ($p<0,01$; $p<0,05$). Среди НГОб обнаружили *Acinetobacter* и

P.aeruginosa. Ведущими микроорганизмами здесь также выступали стафилококки, среди которых основными были *S.aureus* (56,2%) и *S.haemolyticus* (27,4%). Группа «других» стафилококков была немногочисленна и включала в себя *S.saprophyticus* и *S.hominis*. Грамотрицательные бактерии изолировались редко, у 11,6% обследованных – энтеробактерии, преимущественно *K.pneumoniae* и *Proteus mirabilis*, у 3,8% - синегнойная палочка.

При исследовании ассоциации микробов 2 видов в высоких титрах (более 10^4) наблюдались в несколько раз чаще, чем при исследовании других видов материала. Микст-инфекции здесь составили 14,7%, в сравнении с 3,1% при кольпитах, 4,3% при эндоцервицитах. Лидирующей микрофлорой была грамположительная (74,4%), но кроме стафилококков (44,9%) в этих видах материала в 29,5% высевались стрептококки: из 23 штаммов 11 (47,8%) относились к *Streptococcus* sp. и 7 (30,5%) к *S.faecalis*. Аналогично коккам, выделенным от обследованных, здесь также обнаруживались стрептококки с α -гемолизом, которые были обозначены как «*S.viridans*». В полости рта обитает много видов зеленеющих и не зеленеющих непатогенных стрептококков, и контаминация ими мокроты происходит довольно часто, однако к этиологически значимым (рост в монокультуре, (КОЕ $>10^5$)) мы отнесли только 4 штамма (17,4% от количества стрептококков). Также было достаточно частое обнаружение в кожных смывах энтерококков (30,5%), однако они чаще всего росли в ассоциации со стафилококками. Энтеробактерии были выявлены лишь у 8 (10,3%) и представлены, в основном, клебсиеллами (87,5%), невысокой была также частота обнаружения НГОБ (3,8%). В какой-то мере, эти результаты подтверждают данные литературы о существенном отличии этиологии – доминирует *Streptococcus* sp., а также гемофилы и моракселлы, и *P.aeruginosa*. И, наконец, было изолировано наибольшее количество кандид (9,0%), что соответствует данным других авторов.

Резюмируя полученные в этом разделе данные, надо отметить следующее: в большинстве микрофлоры разной локализации превалирует грамположительная микрофлора, среди которой наиболее частыми изолятами является *S.aureus* (46,0%) и два вида КОС - *S.epidermidis* и *S.haemolyticus* (по 19,6%).

4.2. Физиолого-биохимические свойства стафилококков

При изоляции из биоматериалов грамположительных кокков, опорными признаками для дальнейшей идентификации были: каталазный тест, аэробное и анаэробное расщепление глюкозы. Выделенные культуры относили к роду стафилококков и вели дальнейшее изучение с использованием общепринятых тестов. 99,1% таких культур имели четкую коагулазную активность в пробирочном тесте и продуцировали хлопьеобразующий фактор, практически все эти штаммы были далее идентифицированы как *S.aureus*, поскольку укладывались в типовую характеристику этого вида, (табл. 4.3).

Таблица 4.3 Культуральные и биохимические свойства штаммов *S.aureus*

Тест	Результат реакции, типичный для вида	Изучено штаммов	Число штаммов с типичным для вида результатом	% атипичных штаммов
Диаметр колоний более 5 мм	+	108	100	7,4
Каротиноидный пигмент	+	108	88	18,5
Анаэробный рост	+	50	48	4,0
Рост при 10% NaCl	+	50	39	22,0
Рост при 15% NaCl	W	50	27	46,0
Оксидаза	-	70	70	0
Окисление: сахарозы	+	70	69	1,4
Мальтозы	+	108	108	0
Маннозы	+	50	45	10,0
Маннита	+	108	100	7,4
Новобиоцин	S	108	108	0
Уреаза	+w	108	99	8,3
Щелочная фосфатаза	+	25	24	4,0
Лецитиназа	D	108	74	0
Гиалуронидаза	+	50	49	2,0
Фибринолизин	D	70	65	7,1
Гемолиз	+	108	97	10,2
Пазмокоагулаза	+	108	108	0
Хлопьеобразование	+	108	107	0,9

Примечание: d=11-89,0% штаммов положительны; w- реакция слабая; S- чувствительные штаммы к новобиоцину

По ряду дифференцирующих тестов были получены атипичные реакции; наиболее часто они касались культуральных свойств – так, 22,0% штаммов не росли при 10% NaCl, 18,5% не продуцировали золотистый пигмент. Были отклонения и по другим свойствам: по гемолитической активности (10,2%), расщеплению мочевины (8,3%), окислению маннозы (10,0%) и маннита (7,4%). Радужный венчик вокруг колоний стафилококка на желточном агаре образовали лишь 68,5% изученных штаммов.

Как видно из таблицы, у этих культур были изучены также дополни-тельные факторы патогенности: фибринолизин, гиалуронидаза. Фибриноли-зин отсутствовали 7,1% у исследованных штаммов, а гиалуронидазу прдуцировали почти все штаммы (98,0%).

Таблица 4.4 Культуральные и биохимические свойства штаммов КОС

Тест	S.epidermidis			S.haemolyticus			S.saprophyticus			S.lugdunensis		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Диаметр колоний более 5 мм	-	46	17,4	+	45	11,2	+	14	14,3	-	16	12,5
Каротиноидный пигмент	-	46	0	D	45	0	d	14	0	d	16	0
Анаэробный рост	+	46	6,5	(+)	45	13,4	(+)	14	0	-w	16	0
Рост при 10% NaCl	-w	20	20,0	+	20	25,0	+	14	1,5	+	16	6,3
Рост при 15% NaCl	-	20	0	D	20	0	d	14	0	+	16	85,0
Оксидаза	-	46	0	-	45	0	-	14	0	-	16	0
Окисление: сахарозы	+	46	10,9	+	45	2,3	+	14	0	+	16	0
Мальтозы	+	46	0	+	45	10,0	+	14	0	+	16	6,3
Маннозы	(+)	46	4,4	-	45	0	-	14	0	+	16	0
Маннита	-	46	4,3	D	45	0	d	14	0	-	16	0
Новобиоцин	S	46	0	S	45	0	R	14	0	S	16	0
Уреаза	+	46	2,2	-	45	8,8	+	14	0	d	16	0
Гемолиз	-w	46	8,6	(+)	45	2,3	-	14	0	w	16	0
Пазмакоагулаза	-	46	0	-	45	0	-	14	0	-	16	0
Хлопьеобразование	-	46	0	-	45	0	-	14	0	+	16	0

1- результат реакции, типичный для вида; 2- изучено штаммов; 3- процент атипичных культур; (+) реакция с задержкой; R устойчивые к новобиоцину.

Каждая из изученных культур имела не более 1-2 отклонений от типичной характеристики *S.aureus*. Положительная реакция Фогес-Проскауэра, способность окислять мальтозу, маннит, галактозу

четко отграничивали *S.aureus* от других плазмакоагулирующих стафилококков. Из таблицы 4.4 видно, что 46 штаммов идентифицировано как *S.epidermidis* и частота отклонения свойств этих микроорганизмов от видовой характеристики была незначительна. Гемолитические штаммы КОС с указанными выше характеристиками были идентифицированы как *S.haemolyticus*. 14 штаммов было идентифицировано как *S.saprophyticus*. Из таблицы 4.4 видно, что частота атипичных тестов у вида *S.saprophyticus* была минимальной. 4 штамма новобиоциночувствительных, уреазоположительных КОС.

4.3. Кандидоз у родильниц и новорожденных

Важным фактором, значительно влияющим на успех бактериологической диагностики, является корректный способ взятия и транспортировки исследуемого материала. Так, взятие материала должно всегда осуществляться до начала лечения антибактериальными препаратами или не ранее чем через 10 дней после окончания их приема, а также до начала проведения других местных терапевтических вмешательств.

После транспортировки материала производилась предварительная микроскопия мазка, окрашенного по Граму.

Затем вагинальное отделяемое с тампона высевали на питательную среду Сабуро, содержащую пенициллин и стрептомицин.

Посевы инкубировали в течение 48 часов при температуре +37 °С, после чего из подозрительных колоний готовили мазки с окраской по Граму; Затем кандиды отсеивали на среду накопления Сабуро и выращивали в термостате при 37 °С. Через 24 часа изучали чистоту культуры.

Идентифицировали кандиды по морфологии клеток и культуральным свойствам.

Далее производили полуколичественную оценку роста кандид, для чего использовали четыре уровня (градации) микробного обсеменения:

0 - на плотной питательной среде рост отсутствует

1 - единичные колонии - на плотной питательной среде рост до 10 типичных для кандид колоний;

2 - умеренный рост - на плотной питательной среде рост от 10 до 100 колоний;

3 - массивный рост - на плотной питательной среде рост более 100 колоний.

Анализ полученных результатов показал, что в среднем частота выделения кандид составила 59,5%, грибы выделялись у женщин всех обследованных групп: у здоровых людей с частотой 66,7%, у беременных 56%, у гинекологических больных 56,8%, причём у здоровых людей даже чаще, чем у других категорий обследованных.

Анализ количества кандид, выделенных у этих же категорий людей показал, что контрольная группа людей характеризуется разными параметрами численности кандид, в том числе и достаточно высоким уровнем обсеменённости (у 3% женщин из 10 обнаружено массивное выделение - 3 уровень).

Среди беременных также встречаются различные количества кандид в материале, высокие показатели (3 уровень) отмечен для 6 из 15 женщин

В группе больных женщин наиболее высокие уровни кандид (3 уровень) отмечены у больных кольпитом (у 2 из 6 женщин), дисплазией шейки матки или влагалища, эрозией шейки матки (у 1 из 2) и в группе с неустановленным диагнозом (у 1 из 10 женщин) и вагинальным кандидозом (у 2 из 3 женщин). У лечившихся антибиотиками людей кандиды встречались в 7 из 9 случаев: 1- (1), 4- (2), 2- (3).

Например, у 1 лечущегося больного кольпитом обнаружен 2 уровень численности, у 2-х больных уреоплазмозом - 2 уровень; в группе с неустановленным диагнозом (лечились за месяц до взятия мазка) 1, 2 и 3 уровень.

Таким образом, обнаружено, что кандиды в вагине встречаются в значительном проценте случаев среди различных контингентов женщин, в том числе среди здоровых (до 66%) и беременных (до 58%) женщин, причём в значительных количествах.

Количественных закономерностей в связи с обследованной группой людей не установлено.

Как известно, грибы рода *Candida* могут выделяться у многих здоровых людей: из полости рта до 50%, из желудочно-кишечного тракта (до 100%), из вагины (более 60%).

Поэтому обнаружение кандид обычно не представляет ценности для диагноза. Клинические симптомы воспаления в сочетании с выделением кандид в значительном количестве является существенным [American International Health Alliance, 1997].

Учитывая высокую частоту обнаружения кандид и такие значительные различия в количественных параметрах кандид у здоровых и больных с различной патологией генитального тракта, при установлении диагноза кандидоза, видимо, недостаточно ориентироваться только на факт выделения кандид в количестве 10^1 - 10^3 КОЕ/мл.

По-видимому, при подозрении на кандидоз необходим количественно-динамический подход, т.е. повторные количественные исследования, что увеличит достоверность диагноза.

Таким образом установлено, что частота выделения кандид из вагины у различных контингентов женщин (здоровые, беременные, больные) составляет 56-66,7%. Полуколичественные параметры выделенных кандид находились в пределах 10^1 - 10^3 КОЕ/тампон.

Определённых количественных закономерностей для материалов, полученных от разных контингентов женщин, не обнаружено. Определение чувствительности кандид к химиотерапевтическим препаратам (нистатину, леворину, клотримазолу) выявило более низкие величины МИК к леворину и клотримазолу для большей части штаммов по сравнению с нистатином.

Нами проведен анализ состояния, течения беременности и родов и послеродового периода по амбулаторным картам беременных и историям родов у 92 женщин — матерей и бактериологическое обследование кишечной микрофлоры в последнем триместре беременности и наблюдаемых нами здоровых доношенных новорожденных. В зависимости от микробной экологии кишечника женщины в последнем триместре беременности, течения беременности и родов наблюдаемые пары «мать - дитя» были разделены на две клинически сопоставимые группы.

В первую группу были включены дети от матерей с физиологически протекавшей беременностью и родами – 24 ребёнка.

Оптимальные показатели биоценоза кишечника отмечены у 100% женщин данной группы. Новорожденные дети были приложены к груди через 20 — 40 минут после рождения, находились в родильном доме в отделении совместного пребывания с матерью на естественном вскармливании.

Вторую группу составили дети, родившиеся у женщин, беременность которых протекала на фоне микробиологического дисбаланса кишечника – 72 ребёнка. Дисбактериоз кишечника второй степени отмечен у матерей второй группы в 25% случаев, что проявлялось снижением уровня *Lactobacillus* до 10^5 - 10^6 КОЕ/г,

Bifidobacterium до 10^5 - 10^7 КОЕ/г фекалий и обнаружением ассоциации условно-патогенных микроорганизмов (УПМО), в том числе дрожжеподобных грибов рода *Candida* в небольших титрах 10^3 - 10^4 КОЕ/г фекалий.

В 75% случаев отмечались еще более глубокие изменения в микрофлоре кишечника беременных, что проявлялось значительным снижением уровня *Lactobacillus* менее 10^5 КОЕ/г, *Bifidobacterium* менее 10^5 КОЕ/г фекалий, сочетающееся с выраженными изменениями в аэробной микрофлоре — появлением измененных в ферментативном отношении (лактозонегативные, слабоферментативные) и гемолитических форм *E.coli*, обнаружением представителей УПМО, в том числе грибов рода *Candida* в высоких титрах до 10^6 - 10^7 КОЕ/г фекалий.

Новорожденные дети были приложены к груди в течение 20-60 минут жизни, находились в родильном доме в отделении совместного пребывания с матерью на естественном вскармливании.

Проведенное микробиологическое обследование новорожденных показало, что состояние микробиоценоза кишечника беременной женщины влияет на характер формирующегося кишечного микробиоценоза у новорожденных.

Анализ динамики и частоты обнаружения в фекалиях новорожденных детей дрожжеподобных грибов рода *Candida* выявил их достоверно большее количество у детей, рожденных женщинами с дисбиозом толстой кишки по сравнению с детьми первой группы.

У новорожденных первой группы дрожжеподобные рода *Candida* были обнаружены в фекалиях в единичных случаях в

количестве, не превышающем $2,3 \pm 0,5$ Lg КОЕ/г, полностью элиминируясь к пятым - шестым суткам жизни.

У детей второй группы количество дрожжеподобных грибов рода *Candida* не превышало $4,7 \pm 0,52$ Lg КОЕ/г, но частота встречаемости была значительно выше без тенденции к снижению к концу первой недели жизни (5-6 сутки после рождения).

Таким образом, анализ динамики выявления дрожжеподобных грибов рода *Candida* показал, что у здоровых доношенных новорожденных, рожденных практически здоровыми женщинами, не имеющих дисбиотических нарушений в микрофлоре толстой кишки носит транзиторный характер.

У новорожденных второй группы в первую неделю жизни микробиоценоз кишечника носит дисбиотический характер, что обусловлено высоким удельным весом (54 новорожденных - 75 % от общего числа в группе) дрожжеподобных грибов рода *Candida*.

Следовательно, у детей данной группы фаза нарастающей микробной обсеменённости в пищеварительном тракте пролонгирована по времени и ее трансформации к концу первой недели жизни не происходит. У новорожденных формируется дисбактериоз.

Устанавливая идентичность этих грибов, выделенных из мекония новорожденных, а также идентичность культур грибов рода *Candida*, полученных из кишечника женщин в третьем триместре беременности можно сказать, что мать является первичным источником колонизации новорожденного ребенка грибами рода *Candida*.

ГЛАВА 5. БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ МАТЕРЕЙ И НОВОРОЖДЕННЫХ

5.1 Адгезивность штаммов *E.coli*, выделенных из кишечника новорожденных

Адгезивную активность изучали у 46 штаммов *E.coli*, выделенных из кишечника новорожденных на 3-5 сутки после рождения, из них: 28 антибиотикочувствительных штаммов и 18 антибиотикоустойчивых штаммов (резистентных к 4 и более антибиотикам) – соответственно: *E.coli* (S) и *E.coli*(R).

Микроорганизмы считаются неадгезивными (не вирулентными), если СПА от 0,0 до 1,0, а ИАМ равен или меньше 1,75.

Изучение адгезии в целом у вида *E.coli* показало наличие адгезивной активности различной степени не у всех штаммов.

Достоверность полученных результатов подтверждена использованием двух показателей адгезивной активности: СПА и ИАМ (табл. 5.1).

Не все штаммы вида *E.coli* (общая группа, n = 46 штаммов) обладали адгезивной активностью.

Наиболее часто регистрировалась отрицательная (37,0%), низкая и средняя (26,1%) степень адгезии по СПА, а по показателю ИАМ установлена низкая и средняя адгезивная активность в 32,6% и 30,4% случаев соответственно, а также отрицательная и высокая – в 19,6% и 17,4% случаев. Показатель СПА и ИАМ у 9 штаммов *E.coli* был равен 0,72 и 1,4 соответственно, что позволило отнести их к неадгезивным вариантам. Низкая и средняя адгезивная активность у вида *E.coli* регистрировалась по СПА и ИАМ почти с одинаковой частотой.

Изучение адгезивной активности отдельно у *E.coli*(S) и *E.coli*(R) выявило более четкие различия между ними (табл. 5.2).

Таблица 5.1 Степень адгезии штаммов вида *E.coli* по показателям СПА и ИАМ

Степень адгезии	<i>E.coli</i>			
	СПА		ИАМ	
	Всего шт.	%	Всего шт.	%
Отрицательная	17	37,0±5,3	9	19,6±3,6
Низкая	12	26,1±4,3	15	32,6±5,5
Средняя	12	26,1±4,3	14	30,4±4,7
Высокая	5	10,8±3,2	8	17,4±3,8
ИТОГО:	46		46	
Р 1-2 (сравнение отрицательная - низкая степень адгезии)		<0,05		<0,01
Р 1-3 (сравнение между отрицательной и средней степени адгезии)		<0,05		<0,05
Р 1-4 (сравнение между отрицательной и высокой степенью адгезии)		<0,001		>0,05
Р 2-3 (сравнение между низкой и средней степенью адгезии)		>0,05		>0,05
Р 2-4 (сравнение между низкой и высокой степенью адгезии)		<0,001		<0,01
Р 3-4 (сравнение между средней и высокой степенью адгезии)		<0,001		<0,05

Анализ адгезии у *E.coli(S)* показал, что отрицательная и низкая степень адгезии по СПА составляла - 72,4% и 17,9%, средняя степень – 10,7%.

По ИАМ отрицательная и низкая степень регистрировалась в 57,1% и 28,6%, средняя степень – в 14,3% случаев. По результатам показателей СПА и ИАМ высокая степень адгезии в антибиотиковара *E.coli(S)* отсутствовала

Совершенно иная картина отмечалась у *E.coli(R)*. У данного варианта были зарегистрированы все степени адгезии. Наибольшее число штаммов *E.coli(R)* характеризовались средней степенью адгезии по СПА – 66,7% и по ИАМ - 77,8%.

Таблица 5.2 Степень выраженности адгезивных свойств у *E.coli*

Степень адгезии	<i>E.coli(S)</i>				<i>E.coli(R)</i>				Достоверность различия при уровне значимости P	
	Показатели адгезии									
	СПА		ИАМ		СПА		ИАМ		СПА	ИАМ
	n	%	n	%	n	%	N	%		
Отрицательная	20	72,4±4,7	16	57,1±4,5	0	-	0	-	<0,001	<0,001
Низкая	5	17,9±2,7	8	28,6±3,9	3	16,7±2,5	2	11,1±2,9	>0,05	<0,001
Средняя	3	10,7±2,2	4	14,3±2,9	12	66,7±6,3	12	66,7±7,9	<0,001	<0,001
Высокая	0	-	0	-	3	16,7±2,6	4	22,2±3,9	<0,001	<0,001
ИТОГО:	28		28		18		18			

Высокая степень адгезии по СПА и ИАМ выявлена соответственно в 16,7% и 22,2% случаев. Низкая степень адгезивной активности зарегистрирована только у трёх штаммов *E.coli(R)* по СПА (16,7%) и двух штаммов по ИАМ (11,1%). Средняя степень адгезии у *E.coli(S)* зарегистрирована в 6,3 раз реже по СПА и в 4,7 раз реже по ИАМ, чем у *E.coli(R)*.

Статистическая обработка различий в адгезии у *E.coli(S)* и *E.coli(R)* выявила достоверность различий между ними ($P < 0,05$).

5.2. Кристаллограммы штаммов микроорганизмов, выделенных от матерей и новорожденных

Метод изучения кристаллогенных свойств и наличие специфических элементов кристаллограмм штаммов: из суточной культуры, выращенной на скошенном агаре, готовили густую микробную взвесь в стерильном физиологическом растворе (10-25 млрд. микробных тел/мл). Затем на дно пластиковой чашки Петри помещали каплю микробной взвеси и равномерно распределяли ее кончиком пипетки в виде овала размером примерно 1,5x1,0 см. Чашку помещали в эксикатор с силикагелем, закрывали эксикатор и инкубировали его в термостате при 37 °С в течение 18-24 часов до полного высыхания капель и образования на их месте кристаллического налета (кристаллограмма). Полученные кристаллограммы изучали визуально и с помощью

стереоскопического микроскопа, затем фотографировали и переносили в банк кристаллограмм в компьютере. Все исследования повторяли с разными концентрациями микробной взвеси в трех сериях. Для контроля использовали кристаллограммы условно патогенных микроорганизмов (*E. coli* R, *Ps. aeruginosa* 68, *B. subtilis* 01, *C. albicans* 723), хранящихся в коллекции и физиологического раствора.

Известно, что мир микроорганизмов чрезвычайно широк. Они оказывают прямое и разнообразное влияние на окружающую человека среду и на него самого. Поэтому, чтобы успешно защищаться от патогенных микробов и эффективно использовать полезные для человека свойства микроорганизмов, необходимо быстро и точно их дифференцировать и идентифицировать. В настоящее время досконально изучены и широко используются в таксономии микроорганизмов их физиологические, биохимические и иммуногенные свойства [128,187].

Однако, часто этого бывает недостаточно, в таких случаях могут потребоваться дополнительные весьма сложные аналитические процедуры, такие как электрофорез клеточных белков в полиакриламидном геле, анализ состава липидов, гибридизация нуклеиновых кислот, метод генетических зондов и другие. Вместе с тем достоверная идентификация многих родов и видов микроорганизмов, в том числе и патогенных (учитывая наличие у них многочисленных мутаций), не может быть основана на постановке только одного теста, а основывается, как правило, на целом их комплексе. Все это свидетельствует о том, что, несмотря на многолетнее изучение различных способов идентификации микроорганизмов, перечисленные выше методы, не могут, полностью удовлетворить микробиологов. Отсюда возникает потребность в выявлении существенно новых свойств микроорганизмов, определение которых характеризовалось бы простотой, стабильностью и специфичностью, достаточной для достоверной их идентификации [122,124,125].

Проведя поисковые исследования в этом направлении, проф. Л.Г. Баженов (1994) установил, что культуры микроорганизмов при определённых условиях их высушивания образуют комплексы кристаллов - кристаллограммы (их фото- и компьютерные изображения называют кристаллическими образами), имеющие

особенности, характерные для определённых родов и видов микроорганизмов (Баженов Л.Г., Патент № 1231 Республики Узбекистан).

Кристаллографический метод является принципиально новым методом идентификации микроорганизмов, отличающимся доступностью и высокой воспроизводимостью. Ранее работами автора метода профессора Л.Г. Баженова установлено наличие специфических особенностей у кристаллограмм *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Candida spp.*, *Bacillus subtilis*, *Helicobacter pylori* и других микроорганизмов. Использование данного метода позволяет практически с помощью одного только теста достоверно идентифицировать перечисленные микроорганизмы, тогда как при традиционной идентификации необходима постановка от 5 до 20 и более тестов.

Нами предпринята попытка использования данного метода для идентификации микроорганизмов, выделенных из разных биотопов женщин и их детей.

Материалом для исследований послужили культуры, изолированные из влагалища, кишечника женщин-матерей, а также из кишечника, кожи и носа новорожденных детей. При их выделении и предварительной идентификации использовали традиционные методы, а также описанный выше кристаллографический метод идентификации микроорганизмов.

Изучение кристаллогенных свойств исследуемых культур выполняли следующим образом: из суточной культуры, выращенной на скошенном мясо-пептонном агаре, готовили густую микробную взвесь в стерильном физиологическом растворе (10-25 млрд. микробных тел/мл). Затем на дно пластиковой чашки Петри помещали каплю микробной взвеси и равномерно распределяли ее кончиком пипетки в виде овала размером примерно 1,5x1,0 см. Чашку помещали в эксикатор с силикагелем, закрывали эксикатор и инкубировали его в термостате при 37 °С в течение 18-24 часов до полного высыхания капель и образования на их месте кристаллического налета (кристаллограмма). Полученные кристаллограммы изучали визуально и с помощью стереоскопического микроскопа, затем фотографировали и переносили в банк кристаллограмм в компьютере. Все исследования повторяли с разными концентрациями микробной взвеси в трех

сериях. Для контроля использовали кристаллограммы условно патогенных микроорганизмов (*E. coli* R, *Ps. aeruginosa* 68, *C. albicans* 723).

На рисунке 5.1 представлены кристаллограммы некоторых культур микроорганизмов, выделенных из влагалища женщин-матерей.

Как видно из данного рисунка, кристаллограммы двух штаммов *Acinetobacter calcoaceticus* 74 и 75 практически идентичны и имели следующие особенности. Центры кристаллограмм представляли собой мелкие кристаллы, от углов которых отходили лучи, а от них в свою очередь параллельно располагались тонкие дендриты (отростки). Кристаллограмма *E. coli* 77 существенно отличалась от кристаллограмм *A. calcoaceticus*, в частности, ее кристаллы были значительно крупнее, обладали неровными краями, часто были сдвоенными.

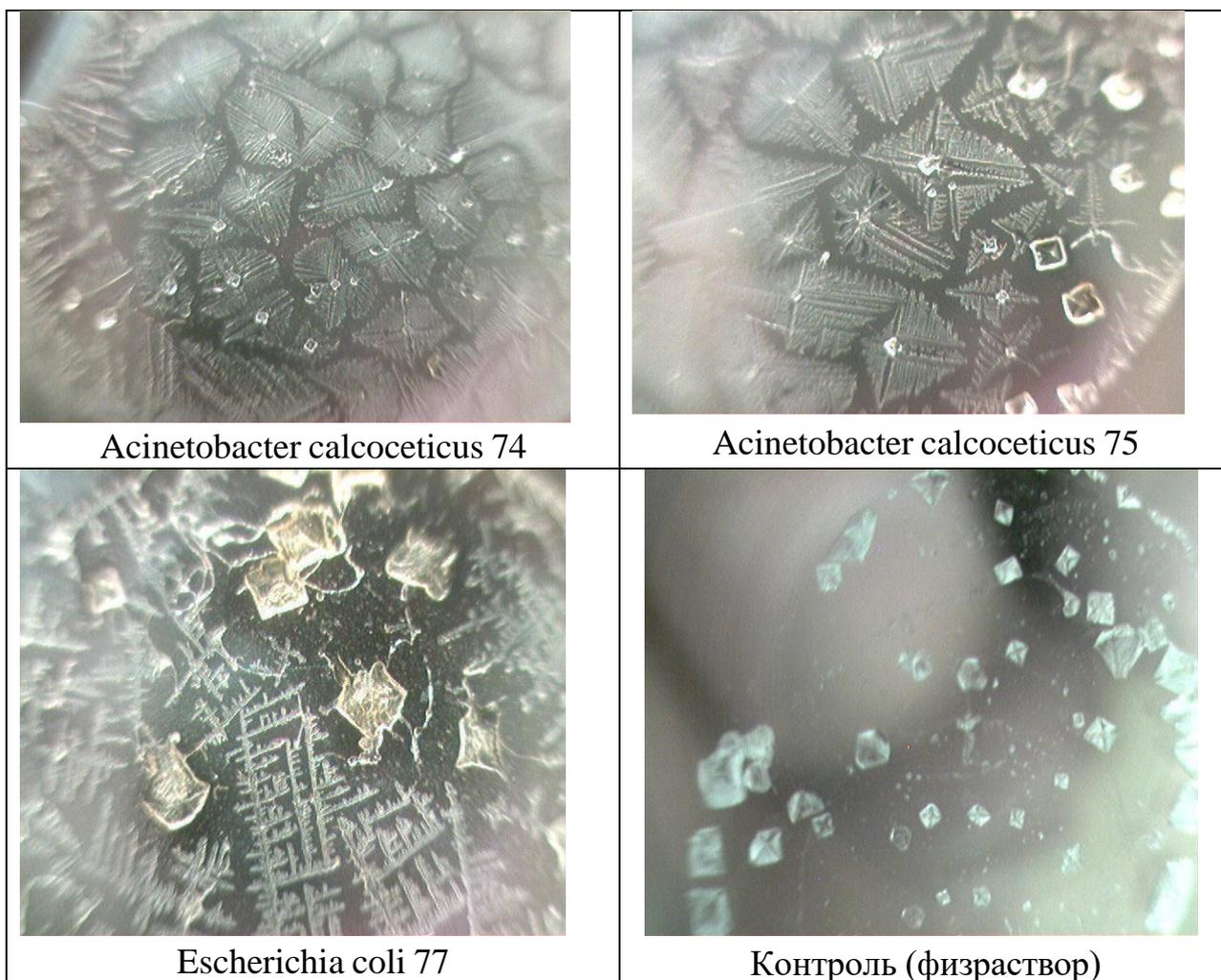


Рис. 5.1. Кристаллограммы культур, выделенных из влагалища матерей

Дендриты чаще всего не были связанными с кристаллами и имели решетчатый рисунок. Кристаллограмма физраствора (контроль) представляла собой россыпь кристаллов среднего размера, при этом дендриты отсутствовали.

Таким образом, кристаллограммы разных микроорганизмов значительно отличались друг от друга и от контроля (кристаллограмма физраствора), тогда как кристаллограммы микроорганизмов, относящиеся к одному виду, были практически идентичны.

На рисунке 5.2 даны кристаллограммы культур, выделенных из кишечника матерей. Изучены кристаллограммы штаммов *Klebsiella*, *Enterobacter aerogenes* и *E. coli*.

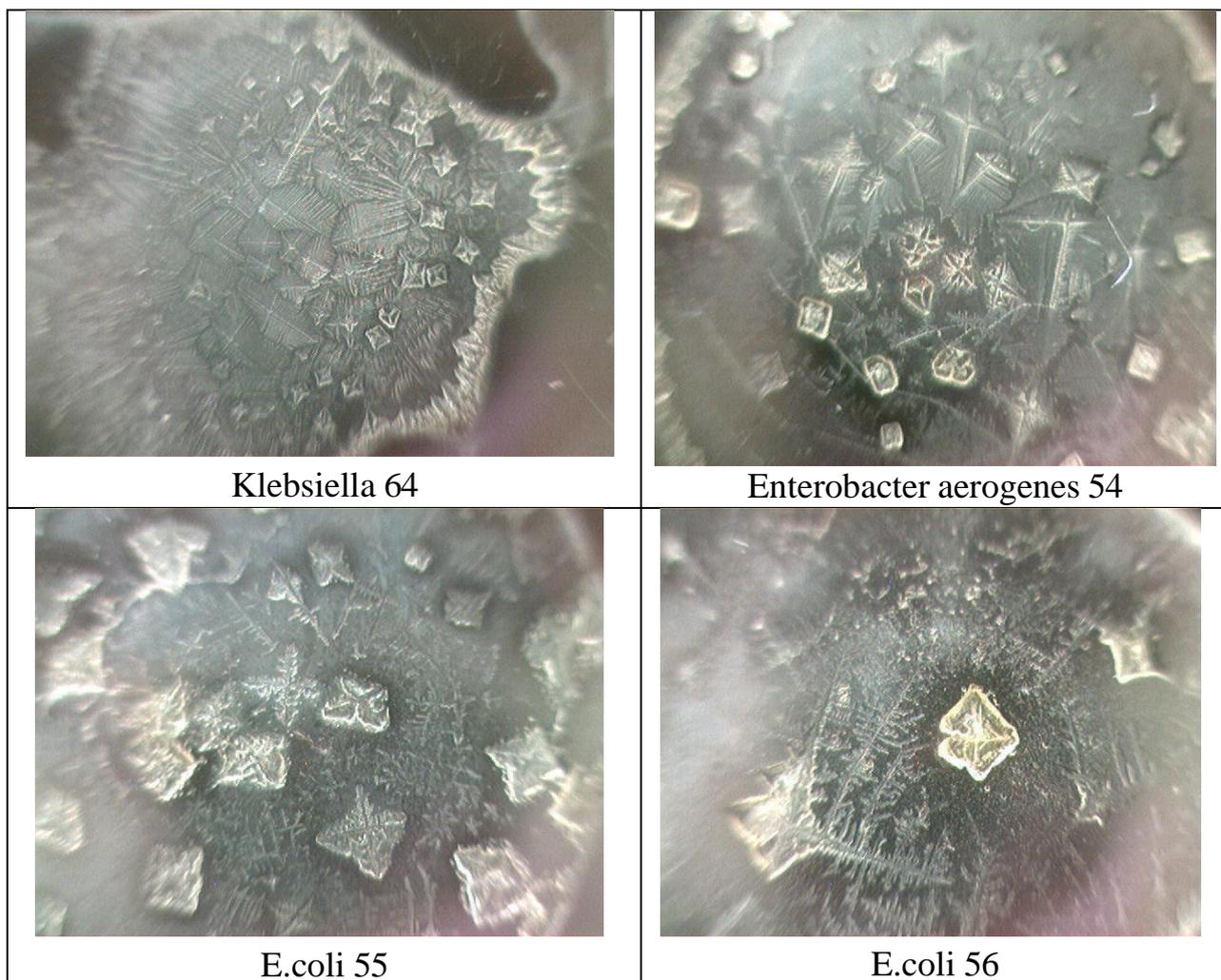


Рис.5.2. Кристаллограммы культур, выделенных из кишечника матерей

Кристаллограмма культуры *Klebsiella* 64 имела следующие особенности: достаточно правильные четырехгранные кристаллы

среднего размера и кристаллические поля, состоящие из тонких параллельных дендритов.

Кристаллограмма *Enterobacter aerogenes* 54: кристаллы более крупные с крестовидными гребнями. Кристаллограммы 2-х штаммов *E. coli* 55 и 56 были похожи на кристаллограмму *E. coli* 77, выделенного из влагалища. Они также содержали достаточно крупные кристаллы с неровными краями, многие из которых были сдвоенными.

На рисунке 5.3 представлены кристаллограммы культур, выделенных из кишечника новорожденных детей.



Рис. 5.3. Кристаллограммы культур, выделенных из кишечника новорожденных детей

При этом изучены кристаллограммы штаммов *Enterobacter agglomerans*, *Candida tropicalis*, *Staphylococcus aureus* и *S. epidermidis*.

Кристаллограмма *E. agglomerans* 18 представляла собой центры кристаллизации в виде очень мелких кристаллов, от углов которых отходили длинные лучи, а от них в свою очередь отделялись тонкие параллельные дендриты.

Кристаллограмма *Candida tropicalis* 15 имела вид крупных крестовидных кристаллов, углы которых напоминали древесные листья с изрезанными краями. Кристаллограмма *Staphylococcus aureus* 16 состояла из однотипных крупных четырехлистных кристаллов. Кристаллограмма *Staphylococcus epidermidis* 19 включала кристаллы правильной в основном прямоугольной формы с испещренной поверхностью.

На рисунке 5.4 представлены кристаллограммы культур, изолированных с кожи новорожденных детей. При этом изучены кристаллограммы штаммов *Klebsiella*, *E. coli* и *S. epidermidis*.

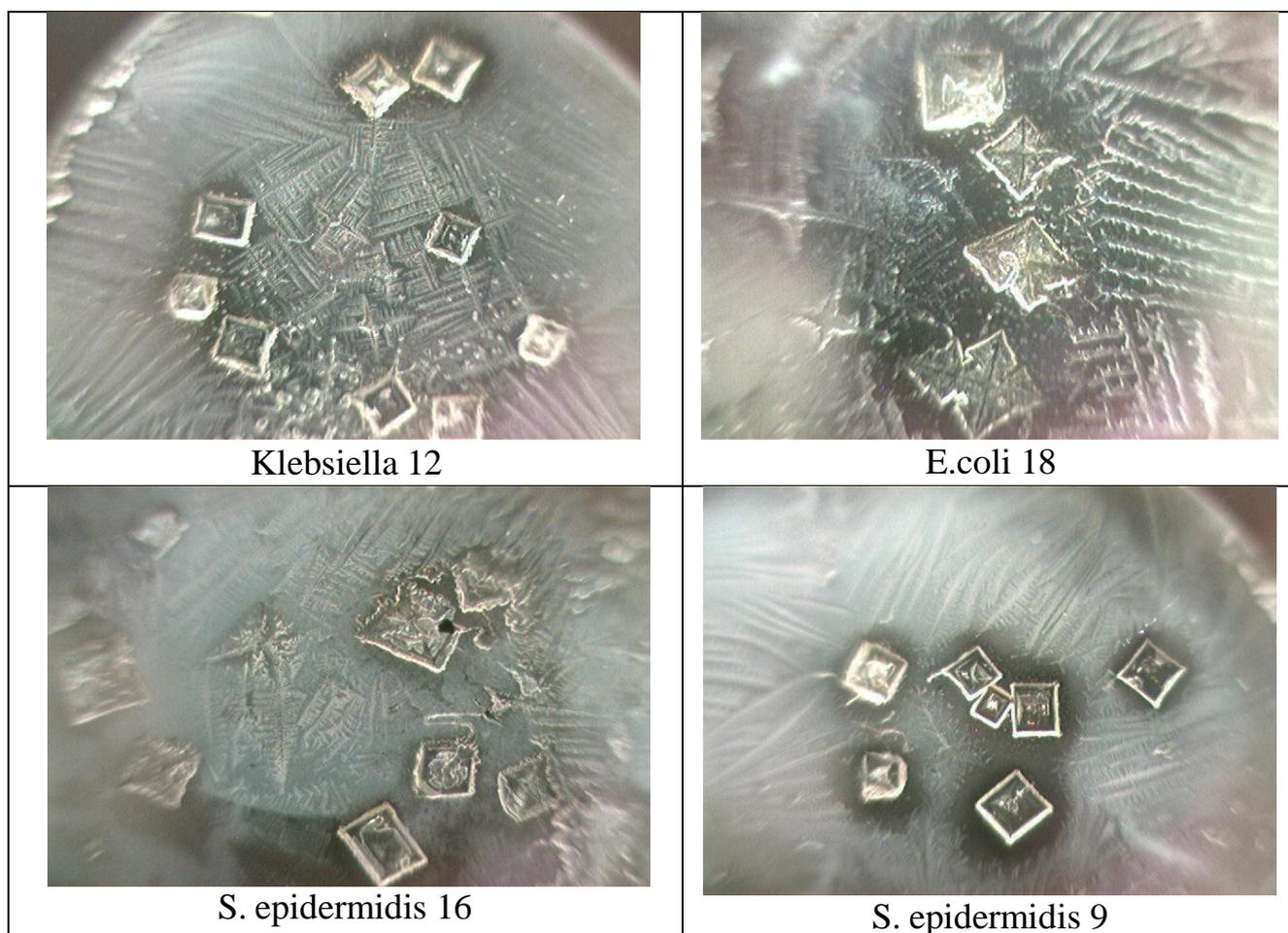


Рис. 5.4. Кристаллограммы культур, изолированных с кожи новорожденных детей

Кристаллограмма *Klebsiella* 12 имела вид правильных четырехугольных кристаллов среднего размера, на их поверхности имелись ряды параллельных линий, идущих по периметру кристаллов. Кристаллограмма *E.coli* 18 состояла из крупных кристаллов с неровными краями, некоторые из них были сдвоенными. Кристаллограммы штаммов *S. epidermidis* 16 и 9 содержали кристаллы правильной в основном прямоугольной формы с испещренной поверхностью.

На рисунке 5.5 представлены кристаллограммы культур, выделенных из носа новорожденных детей. Исследованию подвергнуты кристаллограммы штаммов *Klebsiella pneumoniae*, *S. aureus* и *S. epidermidis*.

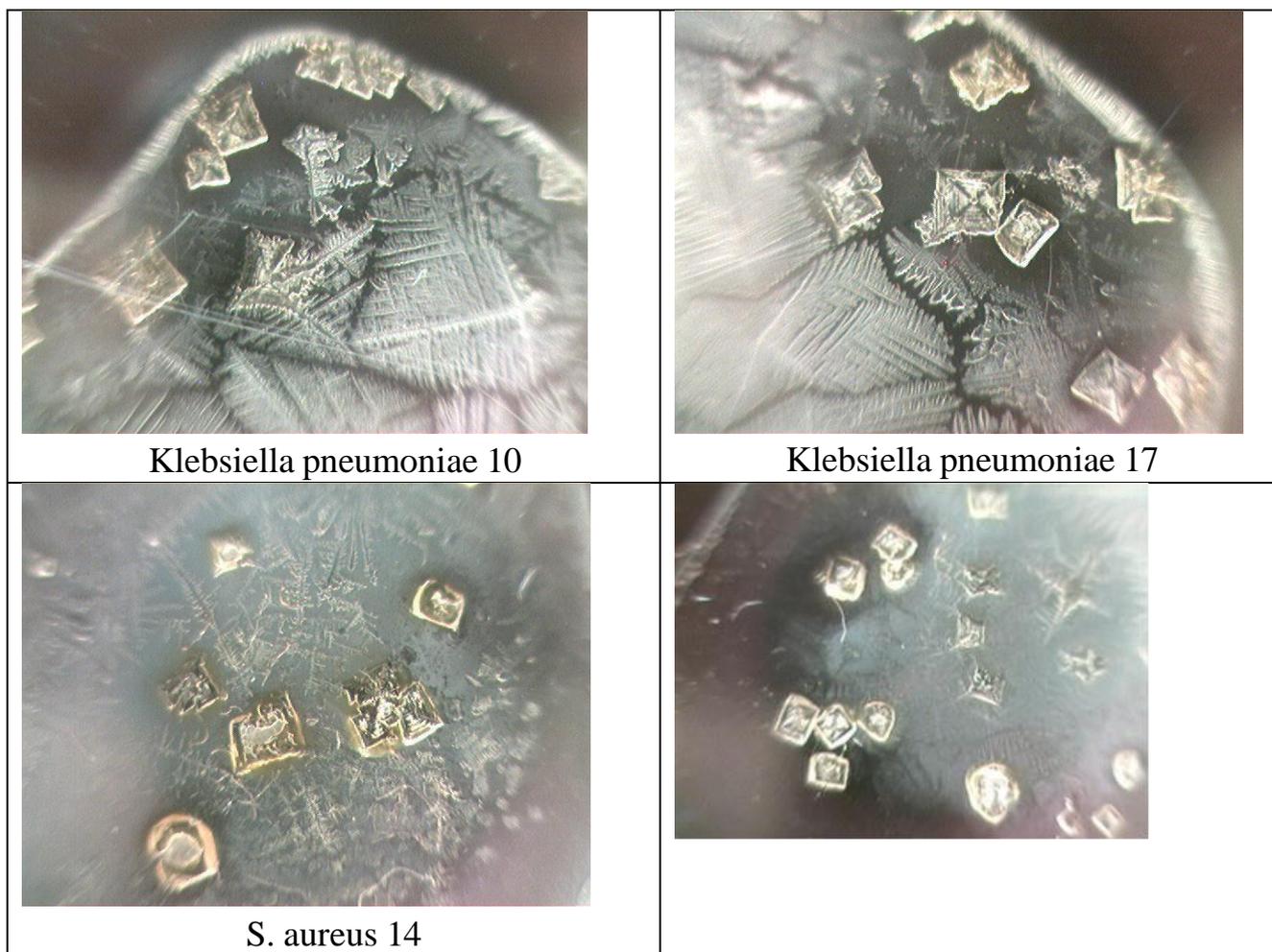


Рис. 5.5. Кристаллограммы культур, выделенных из носа новорожденных детей

Кристаллограммы 10 и 17 имели вид крупных четырехугольных кристаллов с крестовидным рисунком на их поверхности. Характерной особенностью этих кристаллограмм было наличие дочерних кристалловидных отростков от основных кристаллов. Кристаллограмма *S. aureus* 14 состояла из однотипных крупных листовидных кристаллов с желтоватым оттенком. Кристаллограмма *S. epidermidis* 17 состояла в основном из кристаллов правильной прямоугольной формы с испещренной поверхностью.

Анализ представленных результатов, показывает, что кристаллограммы штаммов разных видов микроорганизмов существенно отличались друг от друга.

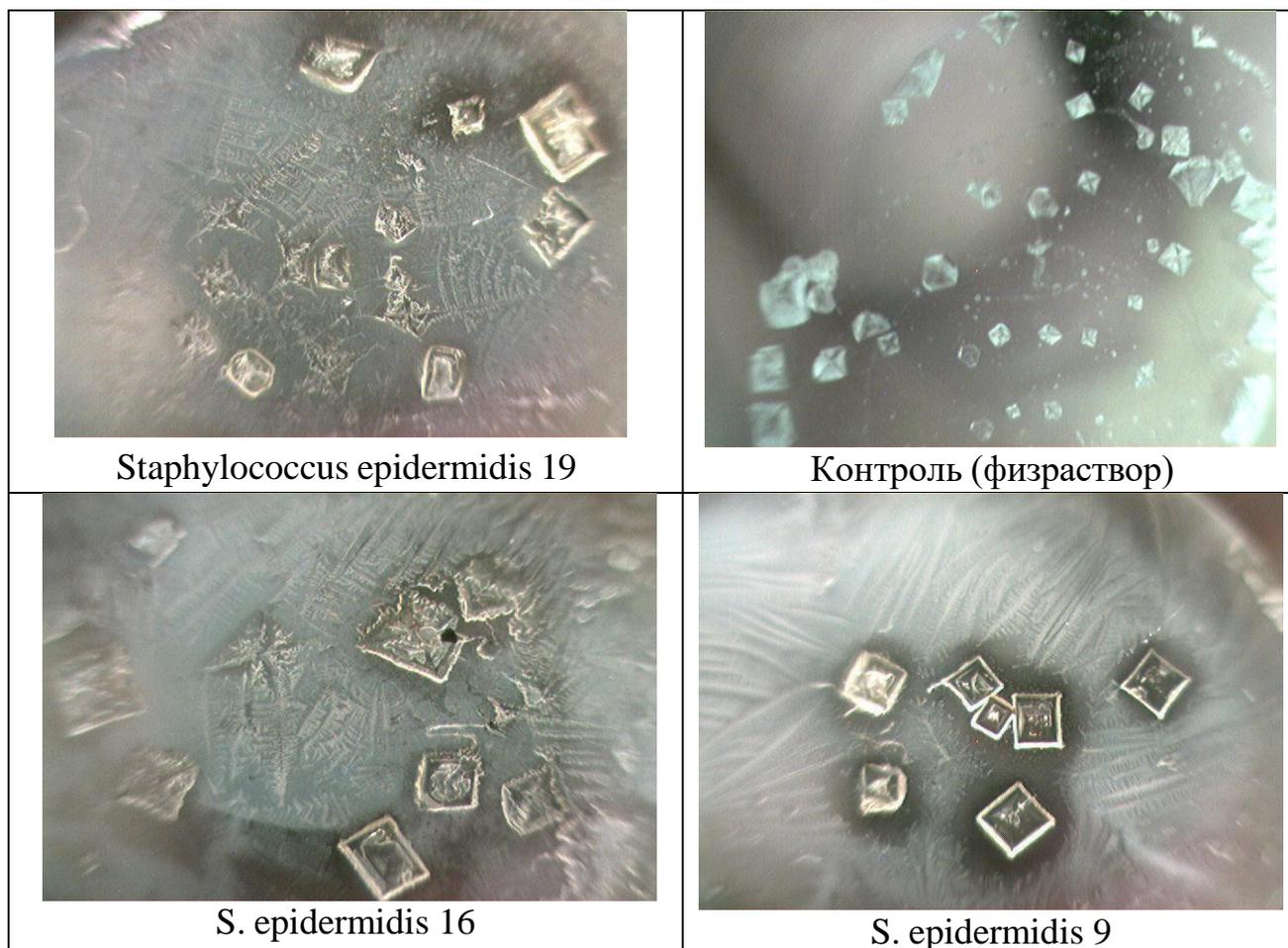


Рис. 5.6 Кристаллограммы культур *S. epidermidis*, изолированных от матери и новорожденного

Эти отличия касаются как дендритов, так и центров кристаллизации. Вместе с тем кристаллограммы культур одного и того вида, выделенные из разных биотопов практически были идентичны.

На рисунке 5.6 представлены кристаллограммы культур, изолированных с кожи новорожденного (*Staphylococcus epidermidis* 19), кишечника новорожденного (*S. epidermidis* 16) и из вагинальных секретов матери (*S. epidermidis* 9). Кристаллограммы штаммов *S. epidermidis* 19, 16 и 9 содержали кристаллы правильной в основном прямоугольной формы с испещренной поверхностью. Установлен однотипный характер кристаллограмм штаммов *Staphylococcus epidermidis*, изолированных из состава микрофлоры матери и её новорожденного ребёнка.

Эти данные свидетельствуют о наличии специфических видовых особенностей кристаллограмм микроорганизмов, которые можно использовать при решении вопросов дифференциации и идентификации микроорганизмов.

При отработке методики кристаллографического метода в рамках нашего исследования важным было изучение влияния концентрации микробной взвеси на характер образующихся кристаллограмм. Концентрация взвеси играет существенную роль.

В частности, можно отметить, что при высоких концентрациях (20-25 млрд. микробных тел/мл) наблюдается преимущественно образование дендритов, а при меньших концентрациях (10-15 млрд. микробных тел/мл), наряду с дендритами, формируются и характерные центры кристаллизации, что существенно повышает информативность кристаллограмм. Кристаллограммы изученных культур, при точном соблюдении методики, отличались высокой воспроизводимостью.

Так, нами получены и изучены кристаллограммы в 3 повторностях, при этом все кристаллограммы каждого штамма были практически идентичны.

Сказанное свидетельствует о том, что кристаллограммы микроорганизмов характеризуются высокой информативностью и достоверностью. На получение кристаллограмм затрачивается не более 18-24 часов. Реактивы, применяемые при рутинных методах идентификации дорогостоящи и дефицитны, тогда как

используемый при кристаллографическом методе физиологический раствор доступен и дешев.

Таким образом, установлена принципиальная возможность использования кристаллографического метода для идентификации микроорганизмов нормальных биотопов. Выявлено, что эти микроорганизмы характеризуются специфическими кристаллогенными свойствами, что позволяет использовать кристаллографический метод для их идентификации и дифференциации.

Применение кристаллографического метода дает возможность существенно ускорить и упростить идентификацию и дифференциацию микроорганизмов.

Важным является также и экономический аспект, постановка кристаллографического теста несравнимо дешевле общепринятых методов.

Ускоренная идентификация микроорганизмов кристаллографическим методом, с учётом времени на постановку теста и при отсутствии фактических затрат на реактивы нужен 0,85 % раствор хлорида натрия и чашки Петри .

ГЛАВА 6. ОСТРОВА ПАТОГЕННОСТИ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ МАТЕРЕЙ И НОВОРОЖДЕННЫХ

Установлено, что геномные острова патогенности (ОП) играют существенную роль в формировании патогенного потенциала условно-патогенных микроорганизмов – УПМ [8,33,34,35,47, 50,56,63,90,91,198,202], причём их наследование сопровождается приобретением непатогенными бактериями вирулентности [136,166]. Гены ОП контролируют синтез адгезинов различных типов [224,226,244], инвазинов, гемолизинов, токсинов (гемолизина, цитотоксического некротизирующего фактора-1 – ЦНФ-1, шигаподобного энтеротоксина и др.), систему поглощения ионов железа (важного для размножения возбудителя в ткани) и обнаруживаются в составе как хромосом, так и мобильных генетических элементов (бактериофагов, плазмид, транспозонов).

С помощью ПЦР возможно выявление у изолированных культур, принадлежащих к семейству кишечных, нуклеотидных последовательностей генов, ассоциируемых с вирулентностью энтеробактерий, которые входят в состав известных у патогенных *Escherichia coli* ОП [245]. Показана перспективность использования праймеров, выявляющих нуклеотидные последовательности генов, контролирующих синтез фимбриальных адгезинов, α -гемолизина и ЦНФ-1 и поглощение ионов железа, для суждения о возможной этиологической значимости клинического изолята [250,252, 253,275].

Определяли с помощью ПЦР частоты встречаемости генетических детерминант, ассоциированных с нуклеотидными последовательностями ОП, известных для энтеробактерий, и определение различий между штаммами, выделенными из биоматериала от матерей и их новорожденных. Для исследований использовали коллекцию 60 свежевыделенных штаммов энтеробактерий, обладающих типичными морфологическими, культуральными и биохимическими свойствами.

Постановка ПЦР. Бактерии тестировали методом ПЦР на наличие генов, ассоциированных с патогенностью, контролирующих синтез различного типа фимбрий (*fimA*, *parC*), железосекретируемого белка (*irp-2*), гемолизинов (*hlyA*, *hlyB*) и ЦНФ-1 (*cnf-1*). Подготовку проб для ПЦР осуществляли путём

кипячения в течение 5-10 мин, в результате чего происходил лизис бактериальных клеток и высвобождение ДНК. Синтез праймеров проводили в НПФ «ДНК-технология» (Москва, РФ). Характеристика праймеров представлена в таблице.

Аmplификацию проводили при использовании 25 мкл реакционной смеси следующего состава: 1) 2,5 мкл буфера для Taq-полимеразы (x10), состоящего из 670 мМ трис-НСl рН 8,4, 25 мМ MgCl₂, 166 мМ сульфата аммония, 0,01% тритона X-100; 2) 2,5 мкл смеси dNTP (0,2 мМ каждого из dATФ, dГТФ, dТТФ, dЦТФ); 3) по 1 мкл каждого праймера (14 пмоль\ мкл); 4) 8 мкл деионизированной воды; 5) 0,25 мкл Taq-полимеразы (5 ед\мкл); 6) 10 мкл исследуемого образца ДНК. Характеристика праймеров и режим амплификации представлены в таблице 6.1.

Таблица 6.1 Режим амплификации

hlyA		hlyB		irp		cnf-1		papC	
°С	мин	°С	мин	°С	мин	°С	мин	°С	мин
94	2	94	2	94	2	94	2	94	2
58	2	58	2	55	2	53	2	53	2
72	5	72	5	72	3	72	5	72	5
Количество циклов									
30		30		25		30		30	

На смесь наслаивали 30 мкл вазелинового масла и помещали в амплификатор «Терцик» («ДНК-технология», РФ). Для получения достаточного количества копий искомого характеристического фрагмента ДНК амплификация включает 20-40 циклов. Регистрацию результатов ПЦР осуществляли путём электрофоретического разделения продуктов амплификации на окрашенном бромистым этидием агарозном геле. Результаты визуализировали при освещении УФ – лучами на трансиллюминаторе. В качестве маркёров использовали «лестницу» в 123 п.н. («Promega», США). Установлено наличие у изолятов энтеробактерий микрофлоры биотопов матери и новорожденного (фекалии, родовые пути, кожа) нуклеотидных последовательностей ДНК, специфичных известным генам ОП энтеробактерий.

Согласно исследованию, проведенному А.Е. Вершининым и соавт. (2006) по обнаружению геномных маркёров патогенности у

Escherichia coli в урологической практике, в контрольной группе (20 штаммов *E.coli*, выделенных из фекалий практически здоровых людей) частота обнаружения *hlyA* составила 10,0%, *hlyB* - 5,0%, *cnf-1* – 0,0%, *fimA* – 5,0%, *irp-2* – 0,0%, *papC* – 10,0%.

В работе Н.Ю.Жеребцовой и соавт. (2006) при исследовании коллекции клинических штаммов условно-патогенных энтеробактерий, выделенных при кишечных инфекциях у детей в 32,6% случаев у тестируемых бактерий (*Klebsiella spp.*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Hafnia alvei*, *Morganella morganii*, *Proteus spp.*) выявлены фрагменты ДНК, специфичные для известных генов кластеров патогенности. Искомые ампликоны при использовании праймеров к *hlyA* обнаружены в 10,1% случаев, *hlyB* – в 11,2%, *cnf-1* – в 10,1%.

При анализе частоты встречаемости сочетаний 2 и более ОП получены данные, свидетельствующие о том, что увеличение случаев наличия у исследованных штаммов нескольких ОП ассоциируется с дисбактериозом толстой кишки у матерей. Результаты представлены в таблице 6.2.

Штаммы энтеробактерий, изолированные из кожи новорожденных (группа 1), обладали маркерами *hly A* в 1 случае (11,1%), *hlyB* – в 2 (22,2%), *cnf-1* – в 2 (22,2%), *papC* – в 0 случаях (0,0%), *fimA* – в 1 (11,1%), *irp-2* в 1 случаях (11,1%).

Таблица 6.2 Частота обнаружения нуклеотидных последовательностей ДНК, типичных для известных ОП представителей энтеробактерий у штаммов, изолированных от матерей и новорожденных - абс. (%)

Ампли- кон	Группа\ n = 60					
	1 (n=9)	2 (n=9)	3 (n=11)	4 (n=10)	5 (n=11)	6 (n=10)
<i>hlyA</i>	1 (11,1)	2 (22,2)	3 (27,3)	2 (20,0)	5 (45,5)	2 (20,0)
<i>hlyB</i>	2 (22,2)	2 (22,2)	2 (18,2)	1 (10,0)	3 (27,3)	3 (30,0)
<i>cnf-1</i>	2 (22,2)	2 (22,2)	2 (18,2)	1 (10,0)	2 (18,2)	2 (20,0)
<i>papC</i>	0 (0,0)	1 (11,1)	2 (18,2)	0 (0,0)	3 (27,3)	2 (20,0)
<i>fimA</i>	1 (11,1)	2 (22,2)	3 (27,3)	0 (0,0)	3 (27,3)	2 (20,0)
<i>irp-2</i>	1 (11,1)	2 (22,2)	2 (18,2)	2 (20,0)	3 (27,3)	3 (30,0)
Сумма	7	11	14	6	19	14

Штаммы энтеробактерий, изолированные из родовых путей матерей (группа 2), обладали маркерами *hly A* в 2 случаях (22,2%), *hlyB* – в 2 (22,2%), *cnf-1* – в 2 (22,2%), *papC* – в 1 случае (11,1%), *fimA* – в 2 (22,2%), *irp-2* в 2 случаях (22,2%).

Штаммы энтеробактерий, изолированные из фекалий новорожденных родившихся от матерей с дисбактериозом толстой кишки (группа 3), обладали маркерами *hly A* в 3 случаях (27,3%), *hlyB* – в 2 (18,2%), *cnf-1* – в 2 (18,2%), *papC* – в 2 случаях (18,2%), *fimA* – в 3 (27,3%), *irp-2* в 2 случаях (18,2%).

Штаммы энтеробактерий, изолированные из фекалий новорожденных родившихся от матерей без дисбактериоза толстой кишки (группа 4), обладали маркерами *hly A* в 2 случаях (20,0%), *hlyB* – в 1 (10,0%), *cnf-1* – в 1 (10,0%), *papC* – в 0 случаев (0,0%), *fimA* – в 0 (0,0%), *irp-2* в 2 случаях (20,0%).

Штаммы энтеробактерий, изолированные из фекалий матерей с дисбактериозом толстой кишки (группа 5), обладали маркерами *hly A* в 5 случаях (45,5%), *hlyB* – в 3 (27,3%), *cnf-1* – в 2 (18,2%), *papC* – в 3 случаях (27,3%), *fimA* – в 3 (27,3%), *irp-2* в 3 случаях (27,3%).

Штаммы энтеробактерий, изолированные из фекалий матерей с нормофлорой толстой кишки (группа 6), обладали маркерами *hly A* в 2 случаях (20,0%), *hlyB* – в 3 (27,3%), *cnf-1* – в 2 (20,0%), *papC* – в 2 случаях (20,0%), *fimA* – в 2 (20,0%), *irp-2* в 3 случаях (27,3%).

При исследовании культур энтеробактерий, выделенных от матерей и новорожденных были протестированы методом ПЦР 60 культур: *Klebsiella sp.* 6 (10,0%), *Citrobacter sp.* 8 (13,3%), *Enterobacter sp.* 14 (23,3%), *Proteus sp.* 12 (20,0%), *E.coli* 20 (33,3%).

Установлено наличие у изолятов энтеробактерий микрофлоры биотопов матери и новорожденного (фекалии, родовые пути, кожа) нуклеотидных последовательностей ДНК, специфичных известным генам ОП энтеробактерий (табл. 6.3). В частности, в общем пуле исследованных 60 штаммов искомые ампликоны обнаружены при использовании праймеров к гену *hly A* у 15 штаммов, *hlyB* – у 13, *cnf-1* – у 11, *papC* – у 8, *fimA* – у 11, *irp-2* у 13.

Выявлены фрагменты ДНК, специфичные известным генам кластеров патогенности, описанные для *E.coli* у тестируемых бактерий.

Частота встречаемости фрагментов островов патогенности и соответствующих генов у различных родов бактерий отличалась несущественно.

Чаще гены обнаруживались у культур, выделенных от матерей с дисбактериозом толстой кишки и дисбиозом влагалища.

При анализе частоты встречаемости сочетаний 2 и более ОП получены данные, свидетельствующие о том, что увеличение случаев наличия у исследованных штаммов нескольких ОП ассоциируется с дисбактериозом толстой кишки у матерей.

Таблица 6.3 Частота обнаружения фрагментов островов патогенности условно-патогенных энтеробактерий

УПЭ, n (%)	hlyA, n (%)	hlyB, n(%)	cnf1, n(%)	papC, n(%)	fimA, n(%)	irp, n(%)
Klebsiella sp. 6 (10,0)	1 (16,7)	2 (33,3)	3 (50,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (33,3)
Citrobacter sp. 8 (13,3)	2 (25,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (18,5)	2 (25,0)
Enterobacter sp. 14 (23,3)	3 (21,4)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (14,3)	2 (14,3)
Proteus sp. 12 (20,0)	2 (16,7)	3 (25,0)	2 (16,7)	2 (16,7)	3 (25,0)	0 (0,0)
E.coli 20 (33,3)	7 (35,0)	8 (40,0)	6 (30,0)	6 (30,0)	5 (25,0)	7 (35,0)
ИТОГО 60 (100)	15 (25,0)	13 (21,7)	11 (18,3)	8 (13,3)	11 (18,3)	13 (21,7)

Таким образом, установлено наличие у изолятов энтеробактерий микрофлоры биотопов матери и новорожденного (фекалии, родовые пути, кожа) нуклеотидных последовательностей ДНК, специфичных известным генам ОП энтеробактерий

ГЛАВА 7. АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ МАТЕРЕЙ И НОВОРΟЖДЕННЫХ

7.1. Антибиотикорезистентность стафилококков

Чувствительность микроорганизмов, выделенных при проведении исследований была проанализирована с учетом их видовой принадлежности и характера исследованного материала.

В первую очередь, анализу подвергли стафилококки, представляющие наиболее многочисленную группу.

В таблице 7.1. приведены данные по антибиотикорезистентности *S.aureus*, в таблице 7.2. – по КОС. Как видно, *S.aureus* обладает выраженной устойчивостью к оксациллину (85,0%), ампициллину (85,0%), эритромицину (65,0%).

Устойчивость к другим антибиотикам колебалась в среднем от 30% до 55%, исключение составили фузидин (90% чувствительных).

В группе КОС существенных отличий от *S.aureus* не было, за исключением гентамицина, резистентность к которому у КОС была почти в 3 раза ниже, чем *S.aureus* (12,1% и 30,0%), хотя разница статистически недостоверна ($p>0,05$).

Обращает на себя внимание достаточно частое обнаружение промежуточной устойчивости к цефтриаксону, линкомицину (по 18,2%) и эритромицину (15,2%).

В следующих таблицах 7.3. и 7.4. представлены аналогичные данные по стафилококкам. Устойчивость к оксациллину у этих штаммов значительно ниже, также как и резистентность к большинству других антибиотиков.

Здесь наименьшую устойчивость *S.aureus* проявили к группе фторхинолонов (9,7%, 12,2% и 7,3%), фузидину (14,6%), а также к гентамицину (17,1%).

Таблица 7.1 Антибиотикочувствительность *S.aureus*, n=40

Антибиотик	S		RS		R	
	абс	%	абс	%	абс	%
Оксациллин	6	15,0	-	-	34	85,0
Ампициллин	6	15,0	-	-	34	85,0
Амоксиклав	18	44,0	-	-	22	55,0
Цефазолин	22	55,0	2	10,0	14	35,0
Цефутоксим	16	40,0	-	-	24	60,0
Цефтриаксон	20	50,0	2	5,0	18	45,0
Эритромицин	8	20,0	3	15,0	26	65,0
Линкомицин	22	55,0	2	10,0	14	35,0
Ципрофлоксацин	16	40,0	6	15,0	18	45,0
Фузидин	36	90,0	2	5,0	2	5,0
Тетрациклин	18	45,0	-	-	22	55,0
Доксициклин	24	60,0	-	-	16	40,0
Рифампицин	26	65,0	-	-	14	35,0
Гентамицин	18	70,0	-	-	12	30,0
Левомецетин	18	45,0	1	5,0	20	50,0

Таблица 7.2 Антибиотикочувствительность КОС, n=66

Антибиотик	S		RS		R	
	абс	%	абс	%	абс	%
Оксациллин	12	18,2	1	3,0	52	78,8
Ампициллин	4	6,1	-	-	62	93,9
Амоксиклав	36	54,5	2	6,1	26	39,4
Цефазолин	34	51,5	-	-	32	48,5
Цефутоксим	32	48,5	-	-	34	51,5
Цефтриаксон	24	36,4	12	18,2	30	45,4
Эритромицин	16	24,2	10	15,2	40	60,6
Линкомицин	26	39,4	12	18,2	28	42,4
Ципрофлоксацин	24	36,4	2	3,0	40	60,6
Фузидин	62	93,9	-	-	4	6,1
Тетрациклин	26	39,4	-	-	40	60,6
Доксициклин	38	57,6	-	-	14	42,4
Рифампицин	36	54,5	2	6,1	26	39,4
Гентамицин	59	87,9	-	-	8	12,1
Левомецетин	28	42,4	2	3,0	36	54,5

Таблица 7.3 Антибиотикочувствительность *S.aureus*, n=41

Антибиотик	S		RS		R	
	абс	%	абс	%	абс	%
Оксациллин	19	46,3	2	4,9	20	48,8
Ампициллин	8	19,5	-	-	33	80,5
Амоксиклав	16	39,5	-	-	25	60,5
Цефазолин	28	68,3	3	7,3	10	24,4
Цефутоксим	16	39,0	4	9,8	21	51,2
Цефтриаксон	22	53,7	3	7,3	16	39,0
Эритромицин	18	43,9	13	31,7	10	24,4
Линкомицин	19	46,3	9	22,0	13	31,7
Ципрофлоксацин	30	73,2	7	17,1	4	9,7
Фузидин	31	75,6	4	9,7	6	14,6
Тетрациклин	21	51,2	2	4,9	18	43,9
Доксициклин	19	46,3	1	2,4	21	51,2
Рифампицин	29	70,7	3	7,3	9	22,0
Гентамицин	34	82,9	-	-	7	17,1
Левомецетин	29	70,7	2	4,9	10	24,4

Таблица 7.4 Антибиотикочувствительность КОСп=32

Антибиотик	S		RS		R	
	абс	%	абс	%	абс	%
Оксациллин	11	34,4	2	6,2	19	59,4
Ампициллин	-	-	2	6,2	30	93,8
Амоксиклав	17	53,2	1	3,1	14	43,7
Цефазолин	18	56,3	2	6,2	12	37,5
Цефутоксим	11	34,4	-	-	21	65,6
Цефтриаксон	17	53,1	3	9,4	12	37,5
Эритромицин	10	31,3	9	28,1	13	40,6
Линкомицин	14	43,7	7	21,9	11	34,3
Ципрофлоксацин	20	62,5	8	25,0	4	12,5
Фузидин	21	65,6	3	9,4	8	25,0
Тетрациклин	8	25,0	1	3,1	23	71,9
Доксициклин	12	37,5	-	-	20	62,5
Рифампицин	21	65,6	3	9,4	8	25,0
Гентамицин	27	84,4	-	-	5	15,6
Левомецетин	16	50	-	-	16	50,0

КОС в сопоставлении со *S.aureus* были более резистентны к цефазолину (37,5% и 24,4%), к цефуроксиму (65,6% и 51,2%), к ципрофлоксацину (12,5% и 9,7%).

К эритромицину устойчивость КОС была в 1,5 раза выше, чем у *S.aureus* (40,6% и 24,4%), к левомицетину – в 2 раза (50,0% и 24,4%).

Однако, статистически достоверное различие было выявлено лишь в отношении фузидина – $p < 0,01$; тетрациклина - $p < 0,05$.

Группа КОС, состоящая, в основном, из *S.epidermidis* и *S.haemolyticus*, более резистентна к антибиотикам, чем золотистые стафилококки из того же вида клинического материала.

В таблице 7.5. дано сопоставление антибиотикочувствительности всех стафилококков.

Таблица 7.5 демонстрирует, что изоляты от беременных в отличие от изолятов от новорожденных имеют высокую резистентность к большинству изученных антибиотиков. Это касается и некоторых бета-лактамных антибиотиков и макролидов и фторхинолонов и других групп антибиотиков. Так, при исследовании цефтриаксона, устойчивость штаммов была установлена в 45,3%; штаммы от беременных были устойчивы соответственно в 38,3% и 28,8%; резистентность к рифампицину и левомицетину материнских штаммов была 37,7% и 52,8%; штаммы из биотопов новорожденных были резистентны в 23,3% и 35,6% соответственно.

В отношении оксациллина, эритромицина, фторхинолонов эта разница статистически достоверна ($\chi^2 p < 0,01$).

В среднем устойчивость к различным группам антибиотиков представителей рода *Staphylococcus* колеблется в широких пределах. Но здесь необходимо отметить наиболее высокий уровень резистентности в ампициллину (88,0%), который намного превышает аналогичный показатель к другим антибиотикам. Половина изученных штаммов стафилококков была также устойчива к ингибиторзащищенному пенициллину – амоксиклаву.

Таблица 7.5 Антибиотикорезистентность представителей рода *Staphylococcus*

Антибиотик	R- НОВ n=73		R- БЕР n=53		R всего n=126		Достоверность различий
	абс	%	абс	%	абс	%	
Оксациллин	39	53,4	43	81,1	82	65,1	p<0,01
Ампициллин	63	86,3	48	90,6	111	88,0	p>0,05
Амоксиклав	39	53,4	24	45,3	63	50,0	p>0,05
Цефазолин	22	30,1	23	43,4	45	35,7	p>0,05
Цефуроксим	42	57,5	29	54,7	71	56,3	p>0,05
Цефтриаксон	28	38,3	24	45,3	52	41,3	p>0,05
Эритромицин	23	31,5	33	62,3	56	44,4	p<0,01
Линкомицин	24	32,8	21	39,6	45	35,7	p>0,05
Ципрофлоксацин	8	10,0	19	35,8	27	21,4	p<0,01
Фузидин	14	19,2	3	5,6	17	13,5	p<0,05
Тетрациклин	41	54,5	31	58,5	72	57,1	p>0,05
Доксициклин	41	54,5	22	41,5	63	50,0	p>0,05
Рифампицин	17	23,3	20	37,7	37	29,4	p>0,05
Гентамицин	12	16,4	10	18,9	22	17,5	p>0,05
Левомецетин	26	35,6	28	52,8	54	42,9	p>0,05

Примечание: НОВ – изоляты от новорожденных, БЕР – изоляты от беременных.

Среди цефалоспоринов наиболее эффективным был цефазолин, устойчивых – 35,7%. Цефуроксим был устойчив уже в 56,3%, цефтриаксон – в 41,3%.

Около половины изученных штаммов стафилококков были резистентны к макролидам (44,4% к эритромицину), к тетрациклинам (57,1% к тетрациклину и 50,0% к доксициклину), к левомецетину (42,9%). Наибольшее количество штаммов было чувствительно к гентамицину (82,5%) а также к ципрофлоксацину 78,8%. Два антибиотика, рекомендуемых для лечения «проблемных» стафилококковых инфекций – это фузидин и рифампицин. К первому было устойчиво 23,8% штаммов, ко второму – 29,4% штаммов. Резюмируя полученные данные по антибиотикорезистентности стафилококков можно отметить следующее: штаммы *S.aureus* и КОС почти не отличались по антибиотикограммам, но устойчивость КОС (где доминировали *S.epidermidis* и *S.haemolyticus*) была намного выше, чем у *S.aureus* к большинству антиотиков. В целом, для представителей рода *Staphylococcus* характерен очень высокий уровень устойчивости к ампициллину (88,0%), а также к оксациллину (65,1%) и другим

беталактамам – цефуроксиму (56,3%), цефтриаксону (41,3%), амоксиклаву (50,0%), в меньшей степени – к цефазолину (35,7%). Около 1/2 штаммов было резистентно также к тетрациклинам, эритромицину, левомицетину. Наиболее эффективными были фузидин (13,5%) гентамицин (17,5%) и фторхинолоны (20,6% - 27,0%). Штаммы *S.aureus*, выделенные от беременных, родильниц и рожениц (табл. 7.6) в большинстве своём были высокорезистентными к незащищённым пенициллинам (бензилпенициллин, оксациллин, доксициклин). Таких штаммов было около 80% (R – 85,1%; 78,7%; 82,9% соответственно).

Таблица 7.6 Чувствительность к антибиотикам *S.aureus*, выделенных от беременных, родильниц и рожениц

№	Антибиотики	Штаммы <i>S.aureus</i>					
		R (0)		I (1)		S (2)	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%
1.	Бензилпенициллин	40	85,1	1	2,12	6	12,7
2.	Оксациллин	37	78,7	2	4,2	8	17
3.	Ампициллин	39	82,9	1	2,12	7	14,8
4.	Амоксициллин клавулант	23	48,9	4	8,5	20	42,5
5.	Цефазолин	18	38,2	3	6,38	26	55,3
6.	Цефотаксим	20	42,5	2	4,2	25	53,1
7.	Цефтриаксон	20	42,5	3	6,38	24	51
8.	Офлоксацин	21	44,6	6	12,7	20	42,5
9.	Ципрофлоксацин	21	44,6	4	8,5	22	46,8
10.	Тетрациклин	27	57,4	1	2,12	20	42,5
11.	Доксициклин	19	40,4	1	2,12	27	57,4
12.	Эритромицин	38	80,8	1	2,12	8	17
13.	Клоритромицин	8	38,2	22	46,8	7	14,8
14.	Рокситромицин	3	27,6	24	51	10	21,2
15.	Азитромицин	17	36,1	21	44,6	9	19,1
16.	Линкомицин	17	36,1	4	8,6	26	55,3
17.	Хлорамфеникол	29	51,7	13	27,6	5	10,6
18.	Рифампицин	24	51	17	36,2	6	6
19.	Полимиксин	32	68	11	23,4	4	80
20.	Канамицин	23	48,9	4	8,6	20	42,5
21.	Гентамицин	16	34,0	-	-	31	65,9
22.	Фузидин	24	51	-	-	23	48,9

Примечание: R-резистентные, I-умеренно-устойчивые. S-чувствительные

К амоксициллину клавуланату чувствительными были 42,5% штаммов *S.aureus*. К цефалоспорином были чувствительны 51-55% штаммов. К фторхинолонам было чувствительно также, приблизительно, половина штаммов – от 42,5 до 57,6%. К тетрациклину и доксициклину чувствительность показали 42,5% и 57,4% штаммов соответственно. Также, около половины штаммов были чувствительны к линкомицину, канамицину, гентамицину и фузидину.

Приблизительно 20 % штаммов *S.aureus*, выделенных от беременных, родильниц и рожениц была чувствительны к эритромицину, клоритромицину, рокситромицину, азитромицину. Менее 10% штаммов были чувствительны к хлорамфениколу, рифампицину, полимиксину.

Таким образом, штаммы *S.aureus*, выделенных от беременных, родильниц и рожениц по своей чувствительности к антибиотикам не превышали в 60 %.

При сравнении спектра чувствительности *S.aureus*, выделенных от матерей и новорожденных было установлено следующее.

Результаты анализа показали на возрастание количества резистентных штаммов у новорожденных.

К пенициллинам процент резистентных штаммов значительно не изменился (табл. 7.7). Было отмечено увеличение умеренно-устойчивых штаммов, что является признаком формирования резистентности.

На 30 % снизилась доля чувствительных штаммов *S.aureus*, к гентамицину (с 65,9% до 36%).

Установлено различие в чувствительности – резистентности штаммов от матерей и новорожденных, что указывает на заселение биотопов организма новорожденного посторонними штаммами.

При формировании микрофлоры новорожденных происходит накопление резистентных, возможно – госпитальных штаммов.

Установленные различия в спектре чувствительности к антибиотикам, широко применяемые в клинической практике, показывает на развитие и формирование в микрофлоре новорожденных штаммов, которые приобретают чувствительность к этим антибиотикам. Это могут быть штаммы, контиминирующие окружающую среду.

Даже по дискодиффузному методу можно отметить различия штаммов. Нами, в дальнейших исследованиях проведен эксперимент по количественному сравнению некоторых штаммов, выделенных от матерей и новорожденных методом серийных разведений (см. ниже, раздел 7.3)

Таблица 7.7 Чувствительность к антибиотикам *S.aureus*, выделенных от новорожденных

№	Антибиотики	Штаммы <i>S.aureus</i>					
		R		I		S	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%
1.	Бензилпенициллин	20	90,9	-	-	2	9,1
2.	Оксациллин	16	72,7	1	9,1	4	18,2
3.	Ампициллин	18	82	1	9,0	2	9,1
4.	Амоксициллин клавулант	12	55	1	9,0	4	36,3
5.	Цефазолин	10	46	1	9,0	10	45
6.	Цефотаксим	10	46	1	9,0	10	45
7.	Цефтриаксон	10	46	1	9,0	10	45
8.	Офлоксацин	-	-	1	9,0	8	36,3
9.	Ципрофлоксацин	10	46	1	9,0	10	45
10.	Тетрациклин	14	64	-	-	8	36,3
11.	Доксициклин	10	45,4	2	9,1	10	45,4
12.	Эритромицин	18	81,8	-	-	4	18,2
13.	Клоритромицин	14	64	2	9,0	6	27,2
14.	Рокситромицин	12	55	2	9,0	8	36
15.	Азитромицин	14	64	-	-	6	27,2
16.	Линкомицин	8	36	2	9,0	12	55
17.	Хлорамфеникол	16	73	2	9,0	4	18,2
18.	Рифампицин	18	82	2	9,0	2	9,1
19.	Полимиксин	14	64	2	9,0	6	27,2
20.	Канамицин	12	54,5	2	9,0	8	36,3
21.	Гентамицин	14	64	-	-	8	36,3
22.	Фузидин	6	55	1	9,0	8	36,3

Примечание: R-резистентные, I-умеренно-устойчивые. S-чувствительные

7.2. Антибиотикорезистентность грамотрицательных возбудителей

В соответствии с различиями в аспекте антибиотикочувствительности грамотрицательных и грамположительных бактерий, набор антимикробных препаратов для их изучения отличался от набора для грамположительных бактерий. В таблице 7.8. представлена антибиотикочувствительность штаммов *E.coli*. Наибольшую активность проявили цефепим (100% чувствительных), а также амоксиклав и цефтазидим (86,6% и 82,1% чувствительных штаммов). Чувствительность к другим цефалоспорином III поколения колебалась от 69,4% до 74,6%, близкие к этим данные получены в отношении фторхинолонов (66,4% - 70,9%) и гентамицина (67,2%).

Таблица 7.8 Антибиотикочувствительность штаммов *E.coli*, n=134

Антибиотик	S		SR		R	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Ампициллин	49	36,6	25	18,6	60	44,8
Амоксиклав	116	86,6	5	3,7	13	9,7
Цефуросим	94	70,1	13	9,7	27	20,1
Цефтазидим	110	82,1	17	12,7	7	5,2
Цефотаксим	87	64,9	25	18,6	22	16,4
Цефтриаксон	100	74,6	5	3,7	29	21,6
Цефоперазон	93	69,4	15	11,2	26	19,4
Тетрациклин	35	26,1	10	7,5	89	66,4
Доксициклин	23	17,1	10	7,5	101	75,4
Полимиксин	52	38,8	25	18,7	57	42,5
Ципрофлоксацин	95	70,9	23	17,1	16	11,9
Левомецетин	82	61,2	10	7,5	42	31,3
Гентамицин	90	67,2	6	4,5	38	28,3
5-НОК	34	25,4	-	-	100	74,6
Нитрофурантоин	101	75,4	-	-	33	24,6

К другим антибиотикам чувствительность *E.coli* варьировала в широких пределах, наибольшую устойчивость они проявили в отношении тетрациклинов (R 66,4% - 75,4%), 5-НОК (R – 74,6%). Высокий процент умеренно-устойчивых штаммов наблюдался при тестировании ампициллина (18,6%), полимиксина (18,6%),

ципрофлоксацина (17,1%) и, в меньшей степени, - цефтазидима (12,7%).

Антибиотикограмма клебсиелл (табл. 7.9.) резко отличалась от данных по *E.coli*. В первую очередь это касается всех беталактамов – так, к ампициллину было чувствительно всего 16,6% штаммов, к ингибиторзащищенному пенициллину и к цефалоспорином II-III поколения – от 1/3 до половины штаммов (33,3; 46,6% - 56,6%).

Таблица 7.9 Антибиотикочувствительность штаммов *K.pneumoniae* n=30

Антибиотик	S		SR		R	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Ампициллин	5	16,6	-	-	25	83,4
Амоксиклав	14	46,6	-	-	16	53,4
Цефуроксим	17	56,6	2	6,6	11	36,7
Цефтазидим	16	53,4	1	3,3	13	43,3
Цефотаксим	10	33,3	2	6,6	18	60,0
Цефтриаксон	15	50,0	2	6,6	13	43,3
Цефоперазон	17	56,6	1	3,3	12	40,0
Тетрациклин	8	26,6	1	3,3	21	70,0
Доксициклин	5	16,7	-	-	25	83,3
Полимиксин	18	60,0	-	-	12	40,0
Ципрофлоксацин	26	86,7	1	3,3	3	10,0
Левомецетин	19	63,3	-	-	11	36,7
Гентамицин	18	60,0	2	6,6	10	33,3
5-НОК	15	50,0	-	-	15	50,0
Нитрофурантоин	9	30,0	-	-	21	70,0

Высокой была резистентность клебсиелл и к тетрациклинам (70,0% и 83,3%), нитрофурантоину (70,0%), налидиксовой кислоте (56,6%).

Только фторхинолоновые антибиотики и аминогликозиды ингибировали большую часть штаммов *K.pneumoniae*. В то же время, цефалоспорин IV поколения (цефепим) обладали 100% эффективностью против *K.pneumoniae*.

Более высокая резистентность *K.pneumoniae* в сравнении с *E.coli* имеет статистически достоверное отличие для ампициллина ($p<0,05$), амоксиклава ($p<0,01$) и всех изученных цефалоспоринов ($p<0,05$ и $p<0,01$).

В группе энтеробактерий наиболее часто высеивался протей 12 из 20 штаммов (60,0%) и все относились к *P.mirabilis*, мультирезистентность которого хорошо известна. Более чем 50,0% протеев проявили устойчивость ко многим изученным антибиотикам – ампициллину, цефалоспорины II поколения, налидиксовой кислоте, тетрациклином. Эффективностью *in vitro* обладали бета-лактамы III – поколения, фторхинолоны и, в меньшей степени, – 5-НОК и левомицетин. У *Citrobacter* (15 штаммов) и *Enterobacter* (3 штамма), отмечалась вариабельность антибиотикочувствительности к разным группам антибиотиков.

Klebsiellae sp. – один из этиологических агентов ГВЗ выделялся как от беременных, родильниц и рожениц, так и от новорожденных.

Спектр чувствительности к антибиотикам у этого грамотрицательного микроорганизма из семейства *Enterobacteriaceae* был характерным для этой группы бактерий (таблица 7.10). Низкий процент устойчивых штаммов к пенициллинам – 14,2-28,%. Достаточно хорошая чувствительность к защищённым пенициллинам – типа амоксициллина клавуланата – 57,1%. Высокая эффективность цефалоспоринов, особенно III поколения (100%). Свыше 50% штаммов – чувствительных к фторхинолонам (57,1-71,4%). Свыше 50% резистентных штаммов к традиционным антибиотикам – тетрациклину, доксициклину, эритромицину.

От новорожденных было выделено всего лишь 3 штамма *Klebsiellae sp.*, что затрудняет проведение качественной статистической обработки и сравнительного анализа (табл. 7.10). Однако можно отметить: тенденцию к снижению чувствительности *Klebsiellae sp.* к антибиотикам, выделенных от новорожденных по сравнению с *Klebsiellae sp.*, выделенных от матерей для цефалоспоринов и фторхинолонов (33,3-66,6% и 57,1-100% соответственно от новорожденных и от матерей).

Таблица 7.10 Сравнение чувствительности к антибиотикам штаммов *Klebsiellae* sp., выделенных от беременных, родильниц и рожениц и новорожденных

№	Антибиотики	Штаммы					
		R, %		I, %		S, %	
		М	Н	М	Н	М	Н
1.	Бензилпенициллин	33,3	57,1	33,3	28,5	33,3	14,2
2.	Оксациллин	66,6	71,4	33,3	14,2	-	14,2
3.	Ампициллин	33,3	57,1	66,6	14,2	-	28,5
4.	Амоксициллин клавулант	33,3	42,8	33,3	-	33,3	57,1
5.	Цефазолин	-	-	66,6	14,2	33,3	85,7
6.	Цефотаксим	33,3	14,28	-	14,2	66,6	71,4
7.	Цефтриаксон	-	-	33,3	-	66,6	100
8.	Офлоксацин	66,6	28,57	33,3	14,2	-	57,1
9.	Ципрофлоксацин	33,3	14,2	-	14,2	66,6	71,4
10.	Ципринол	-	28,5	66,6	14,2	33,3	57,1
11.	Мегацеф	-	28,5	66,6	28,5	33,3	42,8
12.	Таривид	33,3	-	33,3	-	33,3	-
13.	Тетрациклин	66,6	57,1	-	14,2	-	28,5
14.	Доксициклин	66,6	71,4	33,3	14,2	-	14,2
15.	Эритромицин	66,6	57,1	33,3	42,8	-	-

Примечание: R-резистентные, I-умеренно-устойчивые. S-чувствительные;
М – матери, Н - новорожденные

При суммировании резистентных и умеренно-устойчивых штаммов (а этот подход рекомендуется при анализе данных по антибиотикорезистентности) получаем результаты показывающие, что 2/3 штаммов *Klebsiellae* sp., выделенных от новорожденных нечувствительны к большинству использованных антибиотиков, за исключением цефотаксима, цефтриаксона, ципрофлоксацина и полимиксина - для которых 2/3 штаммов являются чувствительными.

В связи с тем, что другие представители энтеробактерий высевались от матерей и новорожденных в единичных случаях, с целью статистического анализа, они представлены в виде единой группы – семейство *Enterobacteriaceae* (табл. 7.11).

Таблица 7.11 Чувствительность к антибиотикам штаммов семейства *Enterobacteriaceae*, выделенных от беременных, родильниц и рожениц

№	Антибиотики	Штаммы					
		R (0)		I (1)		S (2)	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%
1.	Бензилпенициллин	14	100	-	-	-	-
2.	Оксациллин	12	85,7	1	14,35	-	-
3.	Ампициллин	12	85,7	1	14,35	-	-
4.	Амоксициллин клавулант	10	71,5	2	28,5	-	-
5.	Цефазолин	-	-	2	28,5	10	71,5
6.	Цефотаксим	2	14,3	2	28,5	8	57,2
7.	Цефтриаксон	2	14,3	-	-	12	85,7
8.	Офлоксацин	4	28,5	1	14,35	8	57,2
9.	Ципрофлоксацин	2	14,35	1	14,35	10	71,5
10.	Ципринол	6	43,0	-	-	8	57,2
11.	Мегацеф	-	-	2	28,5	10	71,5
12.	Таривид	2	14,3	2	28,5	8	57,2
13.	Тетрациклин	4	28,5	2	28,5	6	43,0
14.	Доксициклин	6	43,0	-	-	8	57,2
15.	Эритромицин	6	43,0	1	14,35	8	43,0
16.	Полимиксин	4	28,5	1	14,35	4	5,0

Примечание: R-резистентные, I-умеренно-устойчивые. S-чувствительные

Из 14 штаммов *Enterobacteriaceae*, выделенных от матерей чувствительных к пенициллинам штаммов не обнаружено. Умеренно-устойчивых штаммов было 14,3-28,5%. Чувствительных *Enterobacteriaceae* к цефалоспорином и фторхинолоном была в пределах 51,2-85,7%.

К доксициклину и полимиксину 67,0% штаммов *Enterobacteriaceae*, выделенных от матерей были чувствительными. Умеренно-устойчивых штаммов было по 1-2 случая (14,3-28,5%). Полученные данные характеризуют природную чувствительность – резистентность к антибиотикам представителей семейства *Enterobacteriaceae* с колебаниями величины процента штаммов. Среди штаммов *Enterobacteriaceae*, выделенных от новорожденных (табл. 7.12) отмечается тенденция к уменьшению числа чувствительных штаммов и, соответственно к возрастанию доли резистентных и умеренно-устойчивых. Если от матерей

чувствительных штаммов было к 12 антибиотикам из 16 тестированных, то от новорожденных чувствительных штаммов установлено к 7 из 17.

Таблица 7.12 Чувствительность к антибиотикам Enterobacteriaceae, выделенных от новорожденных

№	Антибиотики	Штаммы					
		R (0)		I (1)		S (2)	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%
1.	Бензилпенициллин	6	100	-	-	-	-
2.	Оксациллин	2	66,7	2	33,3	-	-
3.	Ампициллин	6	100	-	-	-	-
4.	Амоксициллин клавулант	4	66,7	2	33,3	-	-
5.	Цефазолин	2	33,3	4	66,7	-	-
6.	Цефотаксим	2	33,3	2	33,3	2	33,3
7.	Цефтриаксон	2	33,3	2	33,3	2	33,3
8.	Офлоксацин	-	-	-	-	-	-
9.	Ципрофлоксацин	2	33,3	4	66,7	-	-
10.	Ципринол	2	33,3	2	33,3	2	33,3
11.	Мегацеф	4	66,7	2	33,3	-	-
12.	Таривид	2	33,3	-	-	4	66,7
13.	Тетрациклин	4	66,7	-	-	2	33,3
14.	Доксициклин	4	66,7	2	33,3	-	-
15.	Эритромицин	4	66,7	2	33,3	-	-
16.	Хлорамфеникол	2	33,3	4	66,7	-	-
17.	Полимиксин	2	33,3	2	33,3	2	33,3

P.aeruginosa выделялись только от новорожденных (табл. 7.13).

Таблица 7.13 Чувствительность к антибиотикам штаммов *P.aeruginosae*, выделенных от новорожденных

№	Антибиотики	Штаммы					
		R (0)		I (1)		S (2)	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%
1.	Бензилпенициллин	18	100	-	-	-	-
2.	Оксациллин	16	88,9	-	-	2	11,1
3.	Ампициллин	14	77,8	1	11,1	2	11,1
4.	Амоксициллин клавулант	12	66,7	-	-	6	33,3
5.	Цефазолин	2	11,1	1	11,1	14	77,8
6.	Цефотаксим	2	11,1	2	22,2	12	66,7
7.	Цефтриаксон	-	-	3	33,3	12	66,7
8.	Офлоксацин	4	22,2	3	33,3	8	44,5
9.	Ципрофлоксацин	2	11,1	3	33,3	10	55,6
10.	Тетрациклин	12	66,7	1	11,1	4	22,2
11.	Доксициклин	14	77,8	-	-	4	22,2
12.	Эритромицин	16	88,9	-	-	4	11,1
13.	Кларитромицин	12	66,7	1	11,1	4	22,2
14.	Рокситромицин	14	77,8	1	11,1	2	11,1
15.	Азитромицин	10	55,6	2	22,2	4	22,2
16.	Линкомицин	12	66,7	2	22,2	2	11,1
17.	Хлорамфеникол	10	55,6	2	22,2	4	22,2
18.	Рифампицин	14	77,8	1	11,1	2	11,1
19.	Полимиксин	12	66,7	2	22,2	4	11,1
20.	Канамицин	14	77,8	-	-	4	22,2
21.	Гентамицин	12	66,7	2	22,2	2	11,1
22.	5-Нок	10	55,6	2	22,2	4 x	22,2

Примечание: R-резистентные, I-умеренно-устойчивые. S-чувствительные

Штаммы *P.aeruginosae* характеризовались резистентностью практически по всем тестированным антибиотикам, за исключением цефалоспоринов (S=66,7-77,8% штаммов) и фторхинолонов (S=44,5-55,6% штаммов).

К пенициллину были резистентны все штаммы *P.aeruginosae*. Для остальных антибиотиков процент чувствительных штаммов лежал в пределах от 11,1 до 33,3 (до 1/3 штаммов).

Диапазон количества умеренно-устойчивых штаммов лежал в пределах от 11,1% до 33,3%.

Таким образом, полученные данные по антибиотикочувствительности штаммов *P.aeruginosae*, выделенных от новорожденных показывают их высокую резистентность к антибиотикам, за исключением цефалоспоринов и фторхинолонов.

7.3. Изучение установления общности представителей микрофлоры по антибиотикограмме

В качестве отработки подходов к дифференции и/или установления общности представителей микрофлоры проведено сравнительное изучение МПК микроорганизмов, выделенных от новорожденных и их матерей.

МПК определяли по чувствительности культур микроорганизмов к антимикробным препаратам (АМП) методом серийных разведений антибиотиков в плотной питательной среде.

Сравнительную чувствительность культур микроорганизмов оценивали количественно по величине МПК/МИК (минимальная подавляющая/ингибирующая концентрация), выраженную в мкг/мл.

В работе использовали 149 штаммов микроорганизмов, выделенных из различных биотопов новорожденных (1, 3, 5 сутки послеродового периода) и матерей (кишечник, кожа и слизистые оболочки).

Все культуры микроорганизмов идентифицированы по культуральным, морфологическим, тинкториальным, ферментативно-биохимическим и антигенным свойствам. В соответствии с общепринятыми рекомендациями и определителем бактерий Берджи, 8-9 изданий – 1984, 1997гг. Видовой спектр микроорганизмов был представлен: *Escherichia coli* - 29 штаммов (14 от новорожденных и 15 от матерей), *Enterobacter sp.* - 12 (7/5), *Citrobacter sp.* - 10 (4/6), *Proteus spp.* - 16 (7/9), *Serratia marcescens* - 4 (2/2), *Klebsiella pneumoniae* - 12 (7/5), *Pseudomonas aeruginosa* - 10 (4/6), *Staphylococcus sp.* - 23 (11/12), *Enterococcus faecalis* - 21 (9/12), *Bacillus sp.* - 12 (7/5), ВСЕГО - 149 (72/77).

Так как исследования проводились одномоментно, то штаммы сохранялись в полужидком агаре под слоем минерального масла в бытовом холодильнике в виде авторской коллекции. Перед

исследованием штаммы микроорганизмов, взятые из сохраняющей питательной среды, дважды субкультивировали на соответствующих для каждой таксономической группы бактерий питательных средах.

Для лабораторных исследований использовали 18 часовую агаровую культуру микроорганизмов, разведённую в стерильном физиологическом растворе, стандартизованную по стандарту 0,5 по МакФарланду и дополнительно разведенную в 10 раз стерильным физиологическим раствором до концентрации 10^7 микробных тел /мл.

Для исследований было использовано 3 АМП цефалоспоринового ряда I и III поколения: цефазолин, цефотаксим, цефтриаксон.

Антибиотики растворяли в стерильной дистиллированной воде рН 7,2-7,4 и готовили серию последовательных разведений, состоящую из 12 рядов в диапазоне конечных концентраций в агаре от 32 мкг/мл до 0,015 мкг/мл.

Концентрации антибиотиков подобраны в соответствии с общепринятыми рекомендациями и терапевтической дозы АМП (на основании «Инструкции – аннотации» по препарату). Взвеси испытуемых штаммов микроорганизмов наносили на поверхность пластинчатого питательного агара с антибиотиком по 0,002-0,003 мл калиброванной бактериологической петлей.

Таблица 7.14 Сравнительная чувствительность к тест-антибиотикам культур микроорганизмов, выделенных от новорожденных и матерей по количественному показателю - минимальная подавляющая концентрация - МПК, ($M \pm m$, в мкг/ мл)

№	Группы микроорганизмов	Кол - во штаммов ^о	цефазолин		цефотаксим		цефтриаксон	
			Ново-рожденные	матери	Ново-рожденные	матери	Ново-рожденные	матери
1	<i>Escherichia coli</i>	29 (14/15)	7,03 ± 1,88	11,23 ± 1,88*	0,09 ± 0,01	0,09± 0,01	0,19 ± 0,12	0,39 ± 0,09*
2	<i>Enterobacter sp.</i>	12 (7/5)	3,12± 1,0	6,25± 1,0*	0,39 ± 0,12	0,89± 0,11*	0,19± 0,06	0,49± 0,06*
3	<i>Citrobacter sp.</i>	10 (4/6)	>200,0	>200,0	0,39± 0,10	0,89± 0,11*	0,19± 0,06	0,39± 0,09*
4	<i>Proteus spp.</i>	16 (7/9)	112,7 ± 4,25	>200,0*	1,04 ± 0,27	2,3 ± 0,27	1,56 ± 0,00	6,56 ± 0,16*
5	<i>Serratia marcescens</i>	4 (2/2)	>200,0	>200,0	100,0± 0,0	25,0± 0,0*	12,5± 2,4	25,0± 4,6*
6	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12 (7/5)	>200,0	>200,0	100,0± 0,0	100,0± 0,0	>200,0	>200,0
7	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 (4/6)	>200,0	>200,0	100,0± 0,0	>200,0	>200,0	>200,0
8	<i>Staphylococcus sp.</i>	23 (11/12)	0,42 ± 0,2	0,45 ± 0,20	4,73 ± 1,02	1,09± 0,93*	9,4 ± 3,21	9,4 ± 3,21
9	<i>Enterococcus faecalis</i>	21 (9/12)	12,5± 2,6	25,0± 4,6*	>200,0	>200,0	50,0 ± 0,78	>200,0*
10	<i>Bacillus sp.</i>	12 (7/5)	12,5± 4,6	25,0± 4,6*	12,5± 2,4	22,5± 2,4*	12,5± 3,4	12,5± 3,4
ВСЕГО		149 (72/77)						

Примечание: ^о - количество штаммов – Всего (от новорожденных / от матерей);

* - достоверностей различий новорожденные / матери – $p < 0,05$

Всего было сделано: 36 разведений антибиотиков, разлито 180 чашек Петри с питательной средой, на которые было осуществлено 5364 посевов культур микроорганизмов.

Полученные результаты по сравнительному лабораторному исследованию МПК культур микроорганизмов, выделенных от матерей и новорожденных представлены в таблице 7.14.

Для цефазолина установлена общность значений минимальной подавляющей концентрации - МПК в 50%, для цефотаксима в 50%, для цефтриаксона в 40%. Полученные данные по антибиотикорезистентности количественным методом позволяют предположить, что около половины штаммов микроорганизмов микрофлоры новорожденного являются контаминантами от матери.

Таким образом, проведенные исследования позволили установить, что цефалоспорины I поколения оказывают выраженное действие в опытах *in vitro* предпочтительно на грамположительные кокки.

В свою очередь цефалоспорины III поколения оказывают выраженное действие в опытах *in vitro* предпочтительно на грамотрицательные энтеробактерии. К Цефалоспориам резистентны *Ps. aeruginosae*, *Klebsiella pneumoniae*. (МПК > 200 мкг/мл).

Внутривидовые штаммовые различия в МПК чувствительных к цефалоспориам микроорганизмов могут различаться в 2-8 раз, но оставаться в пределах антимикробной эффективности.

ГЛАВА 8. ВИДОВОЙ СОСТАВ МИКРОФЛОРЫ РОДОВЫХ ПУТЕЙ МАТЕРИ И МИКРОФЛОРЫ НОВОРОЖДЕННОГО. ПОДХОДЫ К ФОРМИРОВАНИЮ НОРМОФЛОРЫ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ ОТ МАТЕРЕЙ ГРУПП РИСКА

8.1. Видовой состав микрофлоры родовых путей матери и микрофлоры новорожденного

Проводилось изучение видового состава и биологических свойств микрофлоры влагалища и цервикального канала беременных, рожениц и родильниц с параллельным бактериологическим исследованием новорожденных.

Обследованы 52 женщины в возрасте от 18 до 39 лет. Основную группу составили 32 беременные женщины с гестационным периодом 34-37 недель. Группа сравнения представлена 20 женщинами, на момент обследования не предъявлявшими жалоб и не имевшими в течение года воспалительных заболеваний мочеполовой системы. Для определения видового состава и биологических свойств микрофлоры производили взятие материала из заднего свода влагалища и аспирацию слизи цервикального канала. В группе здоровых женщин чистота влагалищных мазков соответствовала I-II степени, в основной группе преобладала III степень чистоты. В 14,7% случаев выявлен урогенитальный кандидоз. При изучении микрофлоры лактобактерии были выделены из вагинального секрета у 88,9% здоровых женщин и у 71,4% беременных, а из цервикального канала соответственно у 44,4 и 21,4% ($p < 0,05$) женщин.

Определение видового состава вагинальной микрофлоры у женщин группы сравнения (здоровые) показало, что стафилококки составляли 34,5%, меньший процент занимали лактобациллы - 27,6%, коринебактерии, энтерококки и энтеробактерии составили по 10,4%, стрептококки - 7,0% (таблица 8.1).

В микрофлоре цервикального канала здоровых женщин также преобладали стафилококки (38,9%), лактобациллы (22,2%), стрептококки и энтерококки (по 11,1%), коринебактерии (16,7%). Энтеробактерии в цервикальном канале не были обнаружены.

Таблица 8.1 Микрофлора влагалища и цервикального канала у женщин группы сравнения и беременных

Микрофлора	Влагалище		Цервикальный канал	
	Группа сравнения	Беременные	Группа сравнения	Беременные
<i>Lactobacillus spp.</i>	22,2%	16,7%	22,2%	14,3%
<i>Corynebacterium</i>	10,3%	10%	16,7%	14,3%
<i>Streptococcus</i>	6,9%	15%	11,1%	15,9%
<i>Enterococcus spp.</i>	10,3%	11,6%	11,1%	26,9%
<i>St. Epidermidis</i> + <i>St. aureus</i>	34,5%	40%	38,9%	28,6%
<i>Enterobacterium</i>	10,3%	6,7%	0%	0%

В вагинальной микрофлоре женщин основной группы было отмечено увеличение удельного содержания стафилококков (40%) и стрептококков (15%), уменьшение лактобацилл (16,7%) и энтеробактерий (6,7%), а содержание коринебактерий (10%) и энтерококков (11,6%) существенно не изменилось.

Видовой состав микробиоценоза цервикального канала беременных женщин по сравнению со здоровыми характеризовался увеличением доли стрептококков (15%) и энтерококков (26,9%), и снижением удельного веса лактобацилл (14,3%), коринебактерии (14,3%) и стафилококков (28,6%).

Анализ данных показателя обсемененности микроорганизмами эпителиев влагалища и цервикального канала женщины выявил существенное ($p < 0,05$) снижение обсемененности лактобациллами влагалища и цервикального канала у беременных женщин по сравнению со здоровыми. При этом значимых изменений обсемененности другими видами микроорганизмов указанных эпитопов отмечено не было (таблица 8.2).

При оценке выраженности дисбиотических явлений во влагалище с учетом показателя обсемененности лактобациллами было установлено, что дисбиоз I степени наблюдался у 50% женщин основной группы, II степени - у 27% и III степени - у 23% пациенток.

Таблица 8.2 **Обсемененность микроорганизмами влагалища и цервикального канала в группе сравнения и беременных женщин**

Микроорганизмы, lg КОЕ/мл	Группа сравнения		Беременные	
	влагалище	цервикальный канал	влагалище	цервикальный канал
<i>Lactobacillus spp.</i>	5,34±0,08	4,75±0,12	3,33±0,23*	3,1±0,12*
<i>St. Epidermidis</i> + <i>St. aureus</i>	3,94±0,2	3,57±0,86	3,18±0,17	4,4±0,15
<i>Streptococcus</i>	5,0±0,4	5,2±0,62	4,42±0,44	5,8±0,31
<i>Enterococcus spp.</i>	3,67±0,3	4,0±0,27	5,4±0,28	4,33±0,18
<i>Enterobacterium</i>	3,57±0,49	-	3,1±0,39	-
<i>Corynebacterium</i>	3,0±0,13	3,3±0,15	2,5±0,13	3,2±0,12

Из представленных результатов видно, что у обследованных женщин наблюдались микроэкологические нарушения, которые характеризовались снижением обсемененности лактобациллами влагалища, однако каких-либо значимых изменений показателя микробной обсемененности биотопов влагалища и цервикального канала зарегистрировано не было, а ассоциации различных видов бактерий встречались и в группе здоровых женщин.

Выявленные нами изменения в микробиоценозе влагалища и цервикального канала не укладываются в рамки существующей классификации, критерием которой являются дефицит лактофлоры, наличие ассоциаций и/или возрастание количественного уровня различных видов условно-патогенных микроорганизмов.

Среди возбудителей, выделенных от новорожденных, преобладали грамположительные микроорганизмы, доля которых составила 76,9±1,9%. Удельный вес грамотрицательной микрофлоры оказался равным 20,9±1,8%, грибов *Candida* – 2,2±0,6%. Из числа грамположительных микроорганизмов доминировали коагулазоотрицательные стафилококки (КОС), доля которых составила 44,4±2,5%.

Считается, что быстрое заселение кожных и слизистых покровов новорожденных материнской микрофлорой препятствует колонизации детей микроорганизмами, циркулирующими в стационаре. Однако конкретные доказательства этого приводятся лишь в единичных сообщениях.

В связи с этим мы провели бактериологическое обследование 15 пар «родильница–новорожденный» непосредственно после

родов и на 3-й день. При этом оказалось, что непосредственно после родов потенциально-патогенные микроорганизмы были обнаружены у 20,0% родильниц и у 10,0% новорожденных. На 3-й день после родов число родильниц с выделением возбудителя возросло до 36,7%, новорожденных – до 56,7%. В родах количество пар с выделением возбудителя составило 26,6%, через 3 дня – 70,0%, т.е. увеличилось в 2,6 раза.

Непосредственно после родов от родильниц было изолировано 6 штаммов трех видов микроорганизмов, от новорожденных – 3 штамма двух видов. Через 3 дня от родильниц было выделено 12 штаммов возбудителей, относящихся к 9 видам, от новорожденных - 15 штаммов шести видов.

Существенно возросло количество микроорганизмов в каждой пробе. В родах почти во всех пробах у родильниц и новорожденных количество микроорганизмов было минимальным – 10^3 и менее. На 3-й день у родильниц в 52,6% случаев стало выделяться 10^4 - 10^6 возбудителей, у новорожденных в 85,7% количество бактерий в пробах составило 10^4 - 10^7 .

Непосредственно после родов в одном случае, т.е. в 3,3%, имело место совпадение видового пейзажа микроорганизмов у родильницы и новорожденного, однако профиль изолированных штаммов по антибиотикорезистентности различался. На 3-й день количество совпадений по виду возбудителей увеличилось до 13,3%, но лишь у 3,3% общего числа пар зоны задержки роста микроорганизмов вокруг дисков с антибиотиками были практически идентичными.

Аналогичные данные были получены и при оценке результатов обследования пар «беременная-новорожденный». Количество совпадений микробного пейзажа по виду составило лишь 6,7%, по антибиотикофенотипу – 4,4%.

Таким образом, в условиях конкретного акушерского стационара роль материнской микрофлоры в колонизации кожных покровов новорожденных потенциально-патогенными микроорганизмами не является определяющей, что не обеспечивает защиту новорожденного от экзогенного инфицирования возбудителями ГСИ.

Преимущественное несовпадение по виду и антибиотикофенотипу микроорганизмов, изолированных, с одной

стороны, от беременных и родильниц, а с другой - от новорожденных как непосредственно после родов, так и на 3-й день, позволяет утверждать, что в условиях акушерского стационара имеет место преимущественно экзогенное инфицирование новорожденных, причем роль родильниц как источников возбудителей ГСИ незначительна.

8.2 Дисбиотические нарушения биотопов у новорожденных и матерей группы риска

Исследование микрофлоры основных биологических локусов проведено у 75 новорожденных, матери которых были отнесены к группе риска (опытная группа) и у 25 младенцев, чьи матери не имели какой-либо патологии (контрольная группа).

В развитии дисбиотических сдвигов в составе вагинальной микрофлоры матерей группы риска наибольшее значение имели хронический пиелонефрит (20,0%), хронические воспалительные заболевания придатков матки (33,3%), патология желудочно-кишечного тракта (60,0%), и дыхательной (20,7%) системы. Применение различных противомикробных препаратов до и во время настоящей беременности было отмечено у 64,0% женщин.

Вагинальный дисбактериоз характеризовался наличием неспецифического воспаления. После проведения деконтаминации отмечено, что практически у всех женщин улучшилась клиническая симптоматика: исчезла гиперемия слизистой влагалища, уменьшились выделения, исчезли зуд, жжение.

Положительная динамика клинической симптоматики сопровождалась увеличением частоты высева лакто- и бифидобактерий, уменьшением числа условно-патогенной микрофлоры в вагинальном содержимом.

На большую предрасположенность детей, родившихся от женщин из группы повышенного риска, к развитию дисбактериозов указывает доминантный высев *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiellae* и лактозоотрицательных *Escherichia coli* из испражнений у подавляющего большинства новорожденных при выписке из родильного дома.

К моменту выписки у 21,3% новорожденных из основной группы высеивался *Staphylococcus aureus*, тогда как у

новорожденных контрольной группы указанные микроорганизмы не обнаружены ни в одном случае.

Частота высева *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli* и *Staphylococcus epidermidis* из конъюнктивы новорожденных к 5-му дню жизни имела тенденцию к снижению в обеих группах. Но в то же время у 8 (10,6%) новорожденных из основной группы этиологическим агентом гнойного конъюнктивита явились штаммы *Staphylococcus aureus*, хотя в динамике отмечалось некоторое уменьшение частоты высева указанных микроорганизмов.

В динамике у новорожденных основной группы отмечено также достоверное снижение частоты высева условно-патогенных микроорганизмов (суммарно) (таблица 8.3) из носоглотки ($P < 0,001$). Однако у 10% новорожденных из группы риска сохраняется возможность реализации инфекций, вызванных условно-патогенной микрофлорой.

Таблица 8.3 Частота высева условно-патогенных микроорганизмов (суммарно) из различных локусов новорожденных, родившихся от матерей группы риска

Локусы	Частота высева (в %; $M \pm m$)			
	1 сутки	5 сутки	1 сутки	5 сутки
	Контрольная группа - 25		Основная группа - 75	
Глаза	8,0	-	26,0 \pm 1,8	-***
Нос	16,0 \pm 2,9	-	13,3 \pm 1,7	13,3 \pm 1,7
Носоглотка	8,0	-	33,3 \pm 4,2	13,3 \pm 4,4***
Паховые складки	-	16,0 \pm 2,9	20,0 \pm 2,1	2,7 \pm 6,5***

Изучение микробного биоценоза влагалища у женщин третьего триместра беременности из группы риска показало высокую частоту дисбиотических нарушений (табл. 8.4). 92,4% женщин группы риска имели дисбиоз влагалища различной степени выраженности. У 29,3-30,7% беременных женщин имела место микробная ассоциация условно-патогенной микрофлоры, что свидетельствовало о выраженном дисбактериозе в родовых путях у будущих матерей. У 66,7-70,4% женщин микрофлора влагалища состояла из условно-патогенных микроорганизмов, типа *Proteus*

vulg/mirab., Staphylococcus aureus, дрожжеподобных грибов рода Candida, Streptococcus faecalis и E.coli. Представители облигатной флоры - Lactobacillus, Bifidobacterium spp. обнаружены только у 21,3% беременных, у которых отмечено значительное угнетение их концентрации до 10^{3-4} КОЕ/мл.

Таблица 8.4 Микробный биоценоз влагалища у женщин третьего триместра беременности из группы риска

Микрофлора	Частота выделения (%) и КОЕ/мл, n = 75			
	до деконтаминации		после деконтаминации	
Lactobacillus	10,6 ±2,4	10^4	41,3 ±4,0***	10^6
G.vaginalis	5,3 ±1,8	10^6	4,0 ±1,6	10^4
Bifidobacterium spp.	6,6 ±1,9	10^3	94,4 ±1,9***	10^7
Peptostreptococcus spp.	18,6 ±3,4	10^{3-4}	30,7 ±3,7*	10^5
Proteus vulg/mirab.	5,3 ±1,8	10^4	0	-
Staphylococcus aureus	18,6 ±3,0	10^4	0	-
Дрожжеподобные грибы рода Candida	17,3 ±3,0	10^4	6,6 ±2,0**	10^{3-4}
Streptococcus faecalis	14,7 ±2,0	10^5	6,6 ±2,0*	10^5
E.coli	18,6 ±3,4	10^5	9,3 ±2,4*	10^5
Микробная ассоциация	30,7 ±3,8	-	10,6 ±2,5***	-

В завершении данного раздела исследований можно сделать нижеследующее заключение. У женщин третьего триместра беременности из группы риска отмечается высокая частота дисбиотических нарушений. В динамике у новорожденных основной группы отмечено достоверное снижение частоты высева условно-патогенных микроорганизмов (суммарно). На большую предрасположенность детей, родившихся от женщин из группы повышенного риска, к развитию дисбактериозов указывает доминантный высев условно-патогенных микроорганизмов.

8.3. Частота контаминации условно-патогенными микроорганизмами новорожденных от матерей группы риска

Значительное место в системе эпидемиологического надзора за ГСИ занимает микробиологический мониторинг. Вместе с тем существующие его организационные формы направлены только на оценку качества дезинфекционных и стерилизационных мероприятий и не нацелены на своевременное выявление внутрибольничных штаммов (эковаров), которые и определяют эпидемическую ситуацию в стационарах.

Проводилось определение частоты контаминации условно-патогенными микроорганизмами новорожденных от матерей группы риска. Исследование микрофлоры основных биологических локусов проведено у 55 новорожденных, из них 29 - матери которых были отнесены к группе риска (опытная группа) и 26 младенцев, чьи матери не имели какой-либо патологии (контрольная группа).

Микробиологические исследования проводили на 1-3 и 5 сутки в соответствии с общепринятыми рекомендациями, количественными посевами исследуемого материала.

На фоне дефицита бифидобактерий у детей основной группы имело место заметное нарастание частоты высева *Escherichia coli* лактозонегативные ($P < 0,05$), *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis* ($P < 0,001$), что свидетельствует об их предрасположенности к дисбиотическим нарушениям, поскольку у новорожденных преобладающими представителями кишечного биоценоза являются лакто- и бифидобактерии (табл. 8.5).

Параллельно с исследованием содержимого толстой кишки новорожденных проводили посевы из паховых складок. Установлена достаточно высокая частота контаминации данного биотопа условно-патогенными микроорганизмами. Так, средняя концентрация и частота высева *Streptococcus faecalis* (в основной группе у 31,0%, в контрольной - у 30,7%) и *Staphylococcus epidermidis* (соответственно 34,5 и 38,5%) из смыва паховых складок у новорожденных в обеих группах не имели достоверного различия, что, очевидно, объясняется широкой распространенностью указанных микроорганизмов в окружающей среде.

Таблица 8.5 Частота высева условно-патогенной микрофлоры из кишечника новорожденных

Микрофлора	Возраст детей	Частота (%), М ± m	
		Основная, n = 29	Контрольная, n = 26
Escherichia coli	1 сутки	7,0 ±3,7	7,7 ±2,0
	5 сутки	48,3 ±6,9***	15,4 ±3,8*
Escherichia coli лактозонегативные	1 сутки	17,2±3,8	11,5 ±2,9
	5 сутки	27,6 ±6,1*	7,7±2,0
Klebsiellae	1 сутки	3,4 ±1,9	15,4±3,8
	5 сутки	6,8 ±2,9	7,7 ±2,0
Streptococcus faecalis	1 сутки	13,6±4,4	15,4 ±3,8
	5 сутки	68,2 ±6,2***	11,5 ±2,9
Staphylococcus epidermidis	1сутки	13,6 ±4,4	7,7 ±2,0
	5 сутки	40,8 ±6,8***	30,8 ±4,5*
Staphylococcus aureus	1сутки	6,8 ±2,0	7,7±2,0
	5 сутки	10,2±5,2	11,5 ±2,9

Однако у детей контрольной группы *Streptococcus faecalis* высевались только у 19,2% детей, то есть реже ($P < 0,05$), чем у новорожденных основной группы, что указывает на большую подверженность последних к дисбиотическим изменениям. Об этом же свидетельствует высокая частота ($P < 0,001$) высева *Escherichia coli* (86,2%) у детей основной группы, по сравнению с данными, полученными при исследовании новорожденных в контрольной (61,5%) группе.

Staphylococcus aureus выделены у 15,4% детей основной группы. У новорожденных, родившихся от матерей без патологии *Staphylococcus aureus* не высевались. Сапрофитные штаммы стафилококков в 1-е сутки жизни чаще ($65,5 \pm 4,2\%$) высевались из смывов паховых складок у новорожденных из основной группы ($P < 0,001$). Необходимость деконтаминации биопрепаратами наиболее ярко подтверждается высокой частотой заселения кожи и видимых слизистых оболочек такими условно-патогенными микробами, как *Proteus vulgaris* & *Proteus mirabilis* и грибами рода *Candida*.

Очевидно, что в контаминации основных биологических локусов у новорожденных определяющее значение имела вагинальная флора их матерей. О ведущем значении вагинальной флоры матерей в контаминации новорожденных свидетельствовало также то, что среди детей, матери которых были без патологии, только у 7,7% новорожденных выделены грибы рода *Candida* в минимальной концентрации.

Результаты наших наблюдений указывают на тот факт, что особое эпидемиологическое значение для новорожденных имеет состояние вагинальной флоры беременных. Кроме того, в течение последних двух десятилетий отмечено существенное увеличение частоты заболеваний, вызванных условно-патогенными грибами рода *Candida* и золотистым штаммом стафилококков.

Следовательно, отсутствие высева таких условно-патогенных микроорганизмов, как *Proteus vulgaris* & *Proteus mirabilis*, грибы рода *Candida* и золотистый штамм стафилококков, у детей контрольной группы обусловлено нормальной колонизационной резистентностью родовых путей матери и естественной реактивности ребенка.

На 3-5-е сутки у 48,3% детей из основной и у 19,2% новорожденных из контрольной группы отмечены локализованные гнойно-воспалительные заболевания. При бактериологическом исследовании из очагов локализованных гнойно-воспалительных заболеваний были выделены *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris* & *Proteus mirabilis*, что подтверждало клиническую значимость микробного биоценоза основных локусов организма новорожденного ребенка.

Дети из основной группы были также больше подвержены развитию токсической эритемы, которая среди новорожденных данной группы диагностирована у 41,3% детей ($P < 0,05$).

8.4. Дисбактериоз кишечника в неонатальном периоде

Данный раздел исследования посвящен становлению микробного биоценоза основных биологических локусов у новорожденного и возможности профилактики патологического формирования биоценоза у детей, рожденных от женщин из группы повышенного риска по развитию гнойно-воспалительных и

инфекционных заболеваний. Отбор исследуемого материала для составления генеральной совокупности проводился методом сплошной выборки. В разработку поступили все женщины, имеющие очаги бактериальной инфекции в родовых путях в III триместре беременности и экстрагенитальную патологию.

Методом сплошной выборки составлена контрольная группа. Основным критерием отбора контрольной группы было отсутствие у будущих матерей признаков какой-либо соматической и гинекологической патологии.

С помощью контрольной группы проводили сравнительную оценку становления микробного биоценоза у новорожденных, родившихся от женщин из группы повышенного риска, в неонатальном периоде.

После рождения ребенка ретроспективно анализировали течение родов, периода новорожденности, характер вскармливания и микрофлору основных локусов у ребенка в первые сутки его жизни.

Катамнестическое наблюдение проведено за 58 детьми в течение первых 3 недель жизни. Дети осмотрены через 14 и 21 день после рождения.

Возрастной состав женщин в исследуемых группах был сопоставим, кроме того, женщины обслуживались одним и тем же медицинским учреждением, что также свидетельствует об обоснованности выбора основной и контрольной групп и соответствии выборки принципам доказательной медицины.

Бактериологические исследования. Материал для исследования брали в первые 12-24 ч. после рождения, на 5-ые, 14-ые и 21-ые сутки жизни новорожденных. Материалом для исследования микрофлоры служили фекалии новорожденных, собранные со стерильных пеленок. При наличии локальной инфекции (омфалит, конъюнктивит, опрелости и мацерации кожи) бактериологическому исследованию подвергалось гнойное отделяемое местных очагов.

Посев проводили на стандартных питательных средах, позволяющих выявить максимально возможный спектр микроорганизмов. Видовая идентификация выделенных чистых культур бактерий проводилось общепринятыми методами. Количественный подсчет микробных клеток (А) с одного тампона производился по следующей формуле:

$$A = a \cdot 2 \cdot 10^{(n+1)}$$

микробных тел (м.т.) на тампон, где:

a - количество выросших колоний на питательном агаре;

n - степень разведения;

2 - коэффициент пересчета.

У детей из основной группы концентрация бифидобактерий, соответствующая норме – 10^7 - 10^{10} КОЕ/г, обнаружена лишь у каждого пятого ребенка, что достоверно реже, чем среди детей контрольной группы (таблица 8.6).

У детей контрольной группы бифидофлора в разведении 10^7 - 10^{10} КОЕ/г на 14-сутки жизни выделена у подавляющего большинства (83,2%) детей. Аналогичные данные получены при исследовании частоты и степени высева бифидофлоры на 21-е сутки.

Таблица 8.6 Частота выделения бифидобактерий из кишечника у новорожденных на 14-е и 21-е сутки жизни

Группы детей	Частота, % (P±m)			
	14- е сутки жизни		21- е сутки жизни	
	10^{5-6}	10^{7-10}	10^{5-6}	10^{7-10}
Основная	78,6 ±4,7***	21,4 ±4,7 ^{ooo} ***	42,1 ±5,7***	57,9 ±5,7 ^{**o}
Контрольная	16,8 ±3,3	83,2 ±3,3 ^{ooo}	11,2 ±2,8	88,8 ±2,8 ^{ooo}

Примечание. Оценка достоверности различия показателей проводилась между основной и контрольной группами - * - *** и внутри каждой группы в динамике - ° - ^{ooo} (p < 0,05 - p < 0,001)

Результаты катamnестического исследования микрофлоры кишечника у детей из основной группы показали, что к 14-му дню жизни у 21,4% обследованных бифидобактерии определялись в серийных разведениях 10^7 - 10^{10} КОЕ/г.

Частота высева микроорганизмов из испражнений новорожденных представлена в таблице 8.7.

Staphylococcus epidermidis в возрасте 14 дней чаще высевались из испражнений детей основной группы, а к 21-му дню частота

высева не имела достоверного различия по сравнению с исходными данными и с данными детей из контрольной группы. Тогда как в контрольной группе детей на 14-е сутки жизни указанные микроорганизмы выделены только у 15,2% детей и к 21-му дню отмечалось достоверное увеличение частоты их высева. На 21-е сутки жизни частота высева *Staphylococcus epidermidis* в сравниваемых группах не имела достоверного различия

Таблица 8.7 Частота высева патогенных и условно-патогенных микроорганизмов из испражнений новорожденных

Микрофлора	Возраст детей	Частота (P ± m) /концентрация (КОЕ/г)	
		основная группа , n = 41	контрольная группа, n = 17
Esherichia coli лактозопозитивная	14 дней (1)	28,0 ±5,0 / 10 ⁵	33,3 ±8,2 / 10 ⁵
	21 день (2)	69,5 ±5,1*** / 10 ⁵	48,5 ±8,6* ° / 10 ⁵
Esherichia coli лактозонегативная	14 дней (1)	27,3 ±7,8 / 10 ⁴	11,0 ±3,5° / 10 ³
	21 день (2)	39,4 ±8,5/ 10 ⁴	17,0 ±4,1° / 10 ³⁻⁴
Staphylococcus epidermidis	14 дней (1)	39,0 ±5,4/ 10 ⁴	15,2 ±6,2 °° / 10 ⁵
	21 день (2)	46,3 ±5,5 / 10 ⁵	39,4 ±8,5** (2) / 10 ⁵
Staphylococcus aureus	14 дней (1)	3,0 / 10 ³⁻⁵	-
	21 день (2)	27,2 ±7,7** / 10 ⁵	9,8 ±3,2* * °° / 10 ³
Streptococcus faecalis	14 дней (1)	39,4 ±8,5** / 10 ⁴	12,2 ±3,6 °° / 10 ⁴
	21 день (2)	14,6 ±3,8 / 10 ³	19,2 ±7,2 / 10 ⁴

Примечание.

Достоверность различия показателей между группами (1) и (2) - * - ***;
Основной и контрольной группы - ° - °°° (p < 0,05 - p < 0,001)

Результаты проведенного исследования по данному разделу позволили установить следующее: бактериальный вагиноз в III триместре беременности приводит к дисбактериозу кишечника I степени у 86,6±3,9% новорожденных, при отсутствии патологии у матери лишь у 5,6±2,0% новорожденных выявляются клинико-микробиологические симптомы дисбаланса микробного заселения

кишечника. Новорожденные, родившиеся от матерей группы риска нуждаются в коррекции микрофлоры кишечника уже в раннем неонатальном периоде.

8.5. Инфекционно-воспалительные осложнения новорождённых при дисбиозах влагалища беременных

Проводилось определение связи между дисбиозами влагалища беременных и инфекционно-воспалительными осложнениями у новорожденных.

Было обследовано 70 беременных женщин. У всех обследованных проведен анализ течения беременности, родов и послеродового периода. Особое внимание уделялось изучению особенностей течения раннего неонатального периода у новорожденных. Все беременные были разделены на две группы, сопоставимые по основным характеристикам. Первую (основную) составили беременные (30 женщин), имеющие нарушения микробиоценоза влагалища (бактериальный вагиноз или вагинит). Во вторую (сравнительную) группу были включены беременные с нормоценозом и промежуточным типом микробиоценоза влагалища (40 женщины).

При оценке состояния микроэкологии влагалища у беременных были получены следующие результаты: нормоценоз выявлен у 22 (30,6%) беременных, промежуточный тип - у 18 (25,4%), в 27 (40,3%) случаях диагностирован бактериальный вагиноз и вагинит - у 3 (3,5%) обследованных.

При изучении видового состава микрофлоры влагалища было идентифицировано 32 строго анаэробных и 42 аэробных, аэротолерантных и факультативно-анаэробных микроорганизмов. Структура микробиоценоза влагалища всех обследованных беременных представлена в таблице 8.8. Существенных различий в спектре этих микроорганизмов у обследованных женщин не выявлено.

Однако их соотношение было различным в зависимости от типа микробиоценоза влагалища. В группе беременных с нормоценозом и промежуточным типом биоценоза влагалища этот показатель составил 1,3:1, тогда как у пациенток с вагинальным дисбиозом и

бактериальным вагинозом в микрофлоре влагалища преобладал анаэробный компонент - 2,7:1 ($p < 0,01$).

При анализе полученных данных установлено, что в группе беременных с нормоценозом и промежуточным типом микробиоценоза влагалища общее количество микроорганизмов составило 10^4 - 10^7 КОЕ/мл вагинального содержимого. При бактериальном вагинозе и вагините оно увеличивалось на несколько порядков и достигало 10^7 - 10^9 КОЕ/мл ($p < 0,01$).

Высокая частота дисбиотических нарушений во влагалище во время беременности обусловила высокую перинатальную заболеваемость. Исходы беременности для плода и новорожденного у обследованных женщин представлены в таблице 8.9.

Таблица 8.8 Структура микробиоценоза влагалища у обследованных

Микроорганизмы	Тип биоценоза влагалища (по Кира Е.Ф., 1995)			
	Нормоценоз, (n=22)	Промежуточный тип, (n=18)	Вагинит, (n=3)	Бактериальный вагиноз, (n=27)
	Количество штаммов в абсолютных числах			
Бифидобактерии	7	4	2	1
Лактобактерии	11	6	1	2
Пептострептококки	7	1	2	4
Бактероиды	3	1	3	3
Гарднереллы	1	1	3	3
Энтеробактерии	-	-	2	5
Стафилококки	1	1	2	6
Стрептококки	-	-	2	-
Коринебактерии	-	-	1	9
Кандиды	1	2	2	2
Кол-во микроорга- низмов (КОЕ/мл)	10^4 - 10^6	10^6 - 10^8	10^6 - 10^8	10^9 - 10^{10}

Как видно из приведенных данных, среди новорожденных основной группы 24,7% детей родились недоношенными. У 41,2% новорожденных, родившихся от матерей основной группы, отмечалась гипотрофия.

Таблица 8.9 Исходы беременности у обследованных женщин

Исходы беременности	Основная группа		Сравнительная группа	
	абс	%	абс	%
Общее число родившихся детей	30	100	40	100
Преждевременные роды	8	24,2±2,9*	2	5,2±1,9
Родились с оценкой по шкале Апгар 8-10 баллов	5	13,9±1,2*	21	47,7±3,6
Внутриутробная гипоксия	7	20,6±1,3*	1	2,9±0,6
Бактериальный амнионит	3	7,4±0,9*	-	-
Гипотрофия	15	41,2±1,6**	5	13,2±1,0
Перинатальная смертность(в ‰)	3	2,2±1,5**	1	0,05±0,02

Примечание: * $p < 0,01$; ** $p < 0,05$

При этом средняя масса детей колебалась от 1900 г до 2100 г (в среднем 2050,8±42,1 г), в то время как в сравнительной группе этот показатель при рождении находился в пределах от 3200 до 3950 г и в среднем составил 3450±67,8 г. Все дети первой группы имели первоначальную убыль веса 23,5%; в дальнейшем для них также была характерна задержка прибавки массы тела.

Следует также отметить, что оценка состояния по шкале Апгар 8-10 баллов у доношенных новорожденных основной группы встречалась у 13,9% и была достоверно реже, чем в сравнительной ($p < 0,01$).

Кроме этого, в основной группе отмечалась высокая частота (20,58% случаев) развития в родах внутриутробной гипоксии. У 10 (7,35 %) рожениц в родах диагностирован бактериальный амнионит.

Перинатальная смертность в группе женщин с дисбиотическими нарушениями влагалища составила 2,2% случаев ($p < 0,05$). Основными причинами смерти в раннем неонатальном периоде были множественные пороки развития (в двух случаях), болезнь гиалиновых мембран и ателектазы легких (в одном случае).

При этом заслуживает внимание и тот факт, что у 3-х из 4-х погибших плодов и новорожденных при патоморфологическом

исследовании были обнаружены воспалительные изменения во внутренних органах.

У 8-ми детей, родившихся у матерей основной группы, отмечалось осложненное течение периода новорожденности. Так, у 2-х из них выявлены признаки поражения ЦНС. Ведущими синдромами этой патологии были: судорожный, возбуждения, гидроцефально-гипертензионный. У 2-х новорожденных отмечена гипербилирубинемия. У 4-х детей в процессе послеродовой адаптации сохранялись клинические проявления перенесенной внутриутробной гипоксии, при этом у 2-х из них они сочетались с проявлениями внутриутробной инфекции (везикулез, аспирационная пневмония, позднее отпадение пуповинного остатка, симптомы интоксикации).

Одним из тяжелых исходов беременности у женщин первой группы было внутриутробное инфицирование плода и рождение ребенка с признаками бактериальной инфекции. Инфекционно-воспалительные заболевания отмечены у 7 новорожденных, которые, по данным клинического наблюдения и лабораторного исследования, были выявлены в первые трое суток жизни, что позволило предположить их внутриутробное происхождение. Они были представлены у 1-го новорожденного пневмонией, у одного - омфалитом, у 2-х - энтеритом, у 2-х - заболеваниями кожи и подкожной клетчатки и у 1-го - внутриутробным инфицированием без локальных проявлений.

В среднем оценка состояния новорожденных при рождении по шкале Апгар составила $5,3 \pm 1,7$ баллов.

Помимо указанных заболеваний, у большинства детей выявлялись неблагоприятные факторы акушерского анамнеза: 6 детей родились недоношенными, 2 имели признаки задержки внутриутробного развития. У 17 матерей течение беременности было осложнено токсикозом, у 37 отмечалась анемия беременных, у 5 беременность протекала с многоводием. Указание на перенесенные бактериальные инфекции в период беременности имелись у 14 женщин: пиелонефрит (6), ангина (4), гнойный бронхит (2), респираторные вирусные инфекции отмечались у 2 человек.

Для гемограммы была типичной анемия (у 18 человек), нормальное количество лейкоцитов (у 19 человек), у 5 детей

отмечалась лейкопения в пределах $4,1-6,0 \cdot 10^9/\text{л}$ и только у троих детей имелся лейкоцитоз до $11-18-22 \cdot 10^9/\text{л}$. У всех больных выявлен нейтрофилез, как правило, с увеличением числа незрелых (промиелоцитов, миелоцитов, юных) и палочкоядерных форм, нередко имелись дегенеративные изменения цитоплазмы нейтрофилов (токсическая зернистость, вакуолизация). СОЭ в подавляющем числе наблюдений не изменялась.

Обобщая полученные результаты, следует подчеркнуть, что развитие дисбиотических процессов во влагалище осложняет течение беременности, родов и послеродового периода и является одной из причин невынашивания беременности, мертворождения, постнатальной гибели новорожденного, повышенного уровня заболеваемости детей в раннем возрасте.

Высокая частота гнойно-воспалительных заболеваний новорожденных в раннем неонатальном периоде у беременных с дисбиотическими нарушениями во влагалище позволяет аргументированно высказаться о необходимости проведения комплексного бактериологического обследования женщин из группы риска. Дальнейшая разработка и внедрение в практику клинико-лабораторных методов исследования имеет решающее значение в точной диагностике внутриутробных инфекций, следовательно, в снижении перинатальной заболеваемости и смертности.

8.6. Динамическая оценка микрофлоры беременных, родильниц и новорожденных с целью прогнозирования развития гнойно-септических инфекций

Изучение микрофлоры проведено в исследовании двух групп: 1.опыт – 2.контроль. В группу 1.опыт вошли 28 родильниц с выявленными при беременности ГСИ, в группу 2.контроль – женщины, у которых ГСИ отсутствовали.

Изучение значимости микробиологического исследования для прогнозирования ГСИ среди родильниц и новорожденных проведено в ходе проспективного эпидемиологического наблюдения с момента постановки беременной на диспансерный учет и до ее выписки с ребенком из родильного дома, включая микробиологическое обследование в в конце третьего триместра

беременности (отделяемое влагалища и моча), в родах (отделяемое влагалища, моча, содержимое кишечника) и на 3-й день после родов (отделяемое влагалища, моча, содержимое кишечника), а также по клиническим показаниям. У новорожденных исследовались отделяемое пупочной ранки, конъюнктивы, мазки с заушной и кожной складки (в родах), отделяемое пупочной ранки, конъюнктивы, мазки с заушной складки, содержимое кишечника, моча (на 3-й день жизни).

С целью выбора биологического материала, наиболее полно отражающего микробный состав биотопов родильниц и новорожденных в послеродовой период (на 3-и сутки после родов), у 30 женщин из пар, сформированных по принципу «мать-дитя», изучена микрофлора отделяемого влагалища в динамике беременности и родов, содержимого кишечника и мочи, у 30 новорожденных – мазков с заушной складки в родах и на 3-и сутки после родов. Всего исследовано 360 образцов биологических материалов.

Динамическая оценка микрофлоры вагинальных секретов, исследование которых регламентировано нормативными документами, проведенная нами в условиях проспективного эпидемиологического наблюдения с обследованием женщин при беременности (в третьем триместре 28 - 30 недель), в родах и после родов (на 3-и сутки) выявила ее существенные отличия, как в видовом, так и в количественном составе.

В целом микробная колонизация вагинальных секретов при беременности составила $72,5 \pm 5,0\%$. Микрофлора преимущественно была представлена монокультурами ($55,1 \pm 6,0\%$) и ассоциациями, состоявшими из двух микроорганизмов ($28,2 \pm 3,6\%$). Чаще всего это были *Candida* spp., *Gardnerella* spp. и представители нормофлоры (*Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *S. epidermidis*)

В родах микробная обсемененность вагинального отделяемого существенно снизилась ($44,2 \pm 4,2\%$ против $72,5 \pm 5,0\%$ при беременности), появились штаммы с измененными фенотипическими свойствами (вирулентные, атипичные по биохимическим свойствам, активные продуценты β -лактамаз).

Уровень обсеменения составил $83,6 \pm 2,6\%$ и достоверно не отличался от уровня колонизации вагинальных секретов женщин при беременности. Однако наблюдались существенные отличия в

видовом составе микрофлоры, в основном за счет увеличения доли штаммов микроорганизмов с измененными биологическими свойствами (по тинкториальным, культуральным, биохимическим свойствам, антибиотикограмме).

Максимальное количество вагинальной микрофлоры было отмечено у женщин на третьи сутки после родов. Уровень колонизации родильниц достиг $97,8 \pm 3,5\%$. Выделенные штаммы были представлены однотипными ассоциациями из 2-4 микроорганизмов ($87,3 \pm 2,8\%$).

В целом видовой состав вагинальной флоры родильниц на третьи сутки после родов в $90,9 \pm 5,0\%$ случаев был сопоставим ($p > 0,05$) с микрофлорой. Сопоставимость видового состава вагинальной флоры родильниц и рожениц составила $81,8 \pm 6,7\%$ ($p < 0,05$), родильниц и беременных – $60,6 \pm 8,5\%$ ($p < 0,001$).

Таким образом, микробный состав вагинальных секретов беременной, роженицы и родильницы имел значительные отличия, а микрофлора более достоверно отражала видовой состав вагинальной микрофлоры родильниц в послеродовом периоде (на 3-и сутки после родов).

Сравнительная оценка микробной обсемененности, проведенная нами в исследовании групп 1.опыт – 2.контроль в группе родильниц с выявленными ГСИ (28 женщин) и в группе родильниц без ГСИ (34 женщины), показала достоверные ($p < 0,05$) отличия в его видовом составе.

Эти отличия были выявлены по гемолитической, неподвижной и продуцирующей β -лактамазу *E. coli* ($10,4 \pm 3,1\%$ в группе 1.опыт против $1,9 \pm 1,9\%$ – в группе 2.контроль), *S. epidermidis* (MRSE) и *S. agalactiae* – $5,2 \pm 2,3\%$ и $9,4 \pm 3,0\%$, при отсутствии этих микроорганизмов в группе 2.контроль), а также по анаэробным *Peptostreptococcus spp.* ($17,7 \pm 3,9\%$ против $5,6 \pm 3,1\%$).

Изучение микробной обсемененности матери в группах 1.опыт – 2.контроль среди новорожденных выявило достоверные ($p < 0,05$) отличия по тем же видам бактериальной флоры: гемолитической, неподвижной и продуцирующей β -лактамазу *E. coli* ($11,5 \pm 3,4\%$ – в группе 1.опыт против $1,6 \pm 1,2\%$ – в группе 2.контроль), *S. agalactiae* ($9,2 \pm 3,1\%$ против $1,6 \pm 1,2\%$ соответственно) и MRSE ($5,7 \pm 2,5\%$ при отсутствии данных возбудителей в родовых путях матери у новорожденных без клинических проявлений ГСИ).

У детей без выявленных форм ГСИ из родовых путей матери достоверно больше высевали *S. epidermidis* с типичными биологическими свойствами и высокой чувствительностью к антимикробным препаратам ($31,7 \pm 5,2\%$ против $14,9 \pm 3,8\%$ в группе новорожденных с признаками ГСИ, $p < 0,05$). В целом, в родовых путях матери новорожденных с развившимися формами ГСИ, вирулентные штаммы встречались в 2,0 раза чаще, чем у новорожденных без ГСИ.

Выявленные нами достоверные отличия микрофлоры родовых путей в группах родильниц и новорожденных с ГСИ и без ГСИ по представителям бактериальной флоры, относящимся к одним и тем же видам микроорганизмов (гемолитической, неподвижной и продуцирующей β -лактамазу *E. coli*, *S. agalactiae* и *MRSE*), свидетельствовали об эндогенном инфицировании этими штаммами новорожденных от матери (через родовые пути), поскольку группы были сформированы по принципу «мать-дитя».

Таким образом, установлено, что количественный и качественный состав микрофлоры родовых путей, по сравнению с микрофлорой вагинального секрета при беременности и в родах, наиболее достоверно отражает видовой состав вагинальной микрофлоры родильницы в течение трех суток после родов и материнской флоры (урогенитального тракта и кишечника) в родах.

8.7. Показатели местного гуморального иммунитета шейки матки и влагалища беременных женщин

Проводились исследования по изучению показателей местного гуморального иммунитета шейки матки беременных.

Для изучения показателей местного гуморального иммунитета нами обследовано 32 беременные пациентки. Из них 22 страдали неспецифическими воспалительными заболеваниями шейки матки (экзо- и эндоцервициты) и влагалища - основная группа, а 10 женщины были практически здоровы (I - II степень чистоты влагалищной флоры, отсутствие «эрозий» шейки матки) — 1-ая контрольная группа. Все пациентки были обследованы трижды.

Результаты исследования концентраций Ig в цервикальном секрете у здоровых беременных и небеременных женщин и пациенток, страдающих неспецифическими заболеваниями шейки

матки и влагалища представлены в таблице 8.10. Приведенные в таблице данные свидетельствуют о том, что изменения концентраций иммуноглобулинов коррелируют с изменениями в женской половой сфере, в зависимости от беременности и состояния «беременность+ неспецифические воспалительные заболевания шейки матки и влагалища».

Таблица 8.10 Концентрация иммуноглобулинов в цервикальном секрете у обследованных (M±m, в г/л).

Ig	Периоды обследования и группы					
	1 триместр		2 триместр		3 триместр	
	Основная	Контр.	Основная	Контр.	Основная	Контр.
	n=22	n=10	n =22	n=10	n=22	n=10
IgA	0,07±0,005	0,08±0,005	0,05±0,005	0,09±0,01*	0,07±0,01	0,10±0,01
IgM	0,19±0,01	0,12±0,01*	0,15±0,01	0,10±0,01*	0,15±0,01	0 *
IgG	0,85±0,05	0,6±0,1	0,90±0,01	0,53±0,09*	0,96±0,03	0,48±0,02*
SIgA	0,47±0,05	0,57±0,08	0,30±0,04	0,65±0,08*	0,42±0,06	0,75±0,07*

Примечание: * - различия показателей между контрольной и основной группами достоверны (p<0,05)

Анализируя показатели концентраций иммуноглобулинов в цервикальном секрете здоровых беременных женщин, мы отметили высокие концентрации иммуноглобулинов классов А и sIgA во всех триместрах беременности, что, по-видимому, можно объяснить усилением бактерицидных свойств цервикальной слизи в периоды, наиболее благоприятные для инфицирования внутренних половых органов. Иммуноглобулины класса М не определялись в контрольной группе в третьем триместре, что указывает на отсутствие у этих пациенток инфицирования половых путей.

Наименьшие концентрации иммуноглобулинов классов А отмечены в группе беременных с воспалительными процессами шейки матки и влагалища, что согласуется с анамнестическими

данными женщин о наличии у них нарушений генеративной функции иммунологической этиологии.

Сравнительный анализ уровней иммуноглобулинов в контрольной и основной группе указывает на утрату пациентками основной группы тех закономерностей, которые были отмечены в контрольной группе в динамике беременности. Концентрации иммуноглобулинов сывороточного происхождения (IgA и IgG) были одинаково высокими во всех триместрах в контрольной и основной группах соответственно (табл. 8.10).

При этом следует отметить обнаруженный нами достоверный рост уровня SIgA от первого к третьему триместру в группе контроля. Во всех трех триместрах были обнаружены значительные уровни IgM в основной группе.

Выявленные изменения можно трактовать как ответную реакцию лимфоидной ткани шейки матки на антигенную стимуляцию микрофлоры и значительное повышение проницаемости стенок кровеносных сосудов шейки матки при неспецифических воспалительных процессах.

Значительное снижение концентраций местносинтезируемого SIgA свидетельствует о том, что при воспалительном процессе нарушаются процессы синтеза эпителиальными клетками секреторного компонента.

8.8. Определение типа инфицирования новорожденного на основе микробиологического исследования родовых путей

Нами была предпринята попытка рассмотреть возможность использования результатов микробиологического исследования родовых путей для определения типа инфицирования новорожденного (эндогенное или экзогенное).

Как известно, при эпидемиологической диагностике заболеваемости внутрибольничными ГСИ в акушерском стационаре это чрезвычайно важно. В настоящее время в учреждениях родовспоможения в качестве одного из диагностических тестов по дифференциации типа инфицирования используется метод бактериологического исследования мазков с заушной складки новорожденного, микрофлора которой, как принято считать, в течение 3-5 дней соответствует материнской [59].

Изучение микрофлоры проведено с целью выбора биологического материала, наиболее полно отражающего микробный состав биотопов родильниц и новорожденных в послеродовой период (на 3-и сутки после родов), у 30 женщин из пар, сформированных по принципу «мать-дитя», изучена микрофлора отделяемого влагалища в динамике беременности и родов, содержимого кишечника и мочи, у 30 новорожденных – мазков с заушной складки в родах и на 3-и сутки после родов.

Проведенные нами исследования по изучению микрофлоры рожениц (отделяемое влагалища, моча, содержимое кишечника), родильниц (родовые пути) и новорожденных (мазок с заушной складки в родах и на 3-и сутки после родов) в ходе динамического наблюдения показали, что из 26 микроорганизмов, выделенных с заушной складки 30 новорожденных в родах, только $21,4 \pm 4,3\%$ совпали по виду и фенотипическим свойствам со штаммами, выделенными от его матери из влагалища, мочи или кишечника. Из 74 микроорганизмов с заушной складки этих же детей на третьи сутки после родов - только $23,8 \pm 4,5\%$ штаммов. Вместе с тем $94,6 \pm 2,0\%$ микроорганизмов (61 из 65), встречающихся в родовых путях родильниц, были сопоставимы с микроорганизмами, выделенными у рожениц (из вагины, мочи или кишечника) по видовому признаку, антибиотикограмме и фенотипическим свойствам. В целом сопоставимость микрофлоры перечисленных биологических материалов матери с микрофлорой родовых путей составила $82,4 \pm 4,4\%$, с микрофлорой заушной складки новорожденного в родах – $17,6 \pm 3,9\%$, на 3-й день жизни ребенка – $25,3 \pm 4,6\%$.

Достоверные отличия в составе микрофлоры родовых путей (согласно родовой принадлежности выделенных штаммов) относительно микрофлоры вагинальных мазков, мочи или кишечника родильницы были выявлены только у *Candida spp.* ($1,1 \pm 1,1\%$ против $15,4 \pm 3,8\%$, $p < 0,01$)

Вместе с тем состав материнской флоры и заушной складки новорожденного в родах отличался уже по 4 представителям различных родов и семейств (*Escherichia spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Candida spp.*), а на 3-и сутки после родов – по 6 (*Escherichia spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Gardnereia spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Candida spp.*).

Таким образом, в ходе исследований было установлено, что микрофлора заушной складки новорожденного в родах и после родов лишь частично (на 17,6–25,3%) отражает микрофлору матери, что ставит под сомнение и саму методику прогнозирования эндогенных ГСИ у новорожденных с помощью изучения микрофлоры их заушной складки. Учитывая, что наибольшую сопоставимость с материнской флорой имеет микрофлора родовых путей, мы изучили возможность прогнозирования ГСИ среди новорожденных на группе детей, родовые пути матери которых были колонизированы стрептококком группы В (*S. agalactiae*), так как по данным [27] этот микроорганизм, вызывая тяжелые гнойно-септические осложнения у детей в раннем послеродовом периоде, характеризуется только эндогенным типом инфицирования.

Как показали исследования, все выделенные из родовых путей матери штаммы *S. agalactiae* обусловили у новорожденных ГСИ в форме «омфалита» и сочетаний двух клинических форм «омфалит-конъюнктивит». При этом сопоставимость микрофлоры родовых путей матери (представленной *S. agalactiae*) с микрофлорой новорожденных составила 100,0%.

Таким образом, микробиологическое исследование родовых путей позволяет прогнозировать не только эндогенный тип инфицирования у матери и новорожденного, но и этиологию в случае их развития.

Известно, что гнойно-септическую заболеваемость в акушерском стационаре определяют не только микроорганизмы, колонизирующие биотопы родильниц (эндогенная микрофлора). На показатели заболеваемости существенное влияние оказывают внутрибольничные штаммы (эковары), характеризующиеся высоким эпидемическим потенциалом (экзогенная микрофлора).

Относительный риск развития ГСИ среди родильниц составил 1,01, у новорожденных — 0,77. Относительный риск возникновения ГСИ у родильниц, послед которых был колонизирован вирулентными штаммами, составил 1,4 (атрибутивный — 0,28), у их новорожденных — 1,0.

Таким образом, бактериологическое исследование родовых путей в рамках микробиологического мониторинга позволяет своевременно прогнозировать развитие эндогенных форм гнойно-

септических инфекций среди рожениц и новорожденных с учетом их этиологии.

8.9. Лечение бактериального вагиноза и профилактика послеродовых инфекций у беременных женщин. Подходы к формированию нормофлоры новорожденных детей от матерей групп риска

Нами проведена оценка клинического и микрoэкологического состояния беременных с БВ и проведено лечение с целью профилактики послеродовых инфекций.

В данном разделе исследований под наблюдением находились 35 беременных, из них 20 – с БВ (основная группа) и 15 – условно здоровых беременных (группа сравнения).

Клиническое обследование беременных осуществляли до и после завершения курса лечения. Все лабораторные исследования проводились перед началом лечения, через 2 недели от момента начала лечения и через 4 недели после его завершения. Таким образом, первое исследование служило базовым значением, результат второго исследования характеризовал клиническую эффективность применявшегося препарата, а третье – восстановление микробиоценоза гениталий.

Все пациентки с БВ использовали для лечения БВ пробиотик Лактобактерин интравагинально по 10 доз (содержимое 2 флакончиков по 5 доз) 1 раз в день в течение 14 дней, после проведенного лечения – короткий курс терапии эубиотиком (Лактобактерин) per os в течение 14 дней.

Критериям включения в основную группу служили: репродуктивный возраст, диагностированный БВ во время беременности, вагиниты, вызванные "неспецифической" микрофлорой: кишечной палочкой, стрептококком, стафилококком золотистым и эпидермальным, определяемые в титрах 10^6 КОЕ и более.

Критерии исключения: кольпиты установленной специфической этиологии: гонорейной, хламидийной, микоплазменной, грибковой, трихомонадной.

Критериями эффективности в соответствии с протоколом были: показатели состояния здоровья (удовлетворительное общее

состояние, отсутствие острых заболеваний); результаты бактериоскопического и бактериологического анализа микроэкологии гениталий.

Оценка безопасности – отрицательные явления, их связь с использованием пробиотиков. Средний возраст женщин с БВ в момент обследования составил $23,5 \pm 0,7$ года, в контрольной группе – $24,4 \pm 0,6$ года. Возраст менархе оказался примерно одинаковым в двух группах и составил: $12,7 \pm 2,0$ года и $12,6 \pm 2,0$ года соответственно. Возраст начала половой жизни также не имел отличий в контрольной и основной группе ($p > 0,05$) и составил в среднем $21,6 \pm 3,4$ и $22,7 \pm 4,1$ года соответственно.

Наиболее частым осложнением у беременных с БВ являлись угроза прерывания беременности (у $38,26 \pm 5,25\%$ беременных с БВ и у $20,10 \pm 3,15\%$ в контрольной группе, $p < 0,05$). Следующее место по частоте среди осложнений беременности занимал гестоз, который встречался у каждой третьей пациентки с БВ. Среди беременных с БВ у 20 % с БВ беременность протекала на фоне обострения инфекционно-воспалительных заболеваний мочевыделительной системы.

Частота плацентарной недостаточности (ПН) у пациенток с БВ в 2 раза превышала аналогичный показатель в контрольной группе ($12,45 \pm 2,50$ и $6,15 \pm 1,50\%$ соответственно, $p < 0,05$). В основе ПН у обследованных основной группы преобладало предлежание и низкое прикрепление плаценты. Преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты и плотное ее прикрепление встречалось у пациенток с БВ в 1,5 раза чаще, чем в контрольной группе.

При изучении особенностей течения родов установлено, что по сравнению с контрольной группой роды у женщин при БВ более чем в 1,5 раза чаще осложнялись аномалиями родовой деятельности ($50,7$ и $25,4\%$ соответственно). Из них слабость родовой деятельности имела место у $12,5\%$ женщин с БВ, быстрые и стремительные роды – у $8,6\%$, дискоординированная родовая деятельность – также у $8,6\%$. Наиболее частым осложнением родов являлось несвоевременное излитие околоплодных вод, которое было обнаружено у трети рожениц с БВ. Высоким оказался и акушерский травматизм. Так, у беременных с БВ разрыв шейки матки произошел у 3 пациенток, что значительно больше, чем в

контрольной группе – у 1 пациентки. Весьма характерными оказались при БВ показатели гнойно-септической послеродовой заболеваемости: послеродовые гнойно-воспалительные заболевания отмечены у 6,7% родильниц, лихорадка в родах (повышение температуры тела до 38⁰С и выше) имела место у 13,3% родильниц с БВ.

Таким образом, данные свидетельствуют о возможной связи БВ с недонашиванием беременности, ПН, а также послеродовыми заболеваниями (метроэндометрит, субинволюция матки, инфицирование швов).

Микроскопическое исследование влагалищного содержимого в группах сравнения было представлено следующим образом. В цитограммах здоровых беременных элементы влагалищного эпителия характеризовались наличием значительного количества элементов стромы в виде мелких клеток с округло овальным ядром и небольшой зоной протоплазмы, расположенных в группах или изолированно, нередко с базофильной протоплазмой. Контурность клеток влагалищного эпителия нередко обладала расплывчатостью. Количество лейкоцитов – единичные в поле зрения ($p < 0,01$). Степень чистоты влагалищной флоры I–II.

Обследование беременных с бактериальным вагинозом показало, что в мазке имелись в небольшом количестве эпителиальные клетки полигональной формы с точечными пикнотическими гиперхромными ядрами, среди которых присутствовало значительное количество клеток малого размера. В мазках – незначительное количество лейкоцитов и обильное количество патогенной и условно-патогенной микрофлоры. Степень чистоты влагалищной флоры чаще II (58%) и III (42%).

Таким образом, у 73,3% женщин с БВ отмечены гипо- или атрофические изменения слизистой оболочки влагалища с выраженной десквамацией эпителиальных клеток и образованием ключевых клеток. У 26,7% беременных цитологическая картина соответствовала нормальному типу строения слизистой оболочки. Эти результаты свидетельствуют о том, что для БВ не характерна реакция воспаления.

Оценка результатов показала высокую обсемененность патогенной и условно-патогенной микрофлорой беременных с БВ. Бактериологическое исследование выявило рост микроорганизмов

(аэробы и анаэробы) у 80% беременных с БВ. В 20% при БВ культуральные исследования были отрицательными. Количественные исследования микрофлоры влагалища показали, что при БВ общее число бактерий во влагалище возрастает до 10^9 – 10^{11} КОЕ/мл выделений, тогда как в нормальной вагинальной экосистеме их количество не превышало 10^5 – 10^6 КОЕ/мл выделений ($p < 0,05$).

Общее число видов микроорганизмов у здоровых женщин составило 9, что в 2,2 раза меньше, чем при БВ. При БВ, несмотря на менее выраженные видовые диапазоны микроорганизмов, их ассоциации отмечены у 87% пациенток. В контрольной группе значительно чаще и в большем количестве определялись молочнокислые бактерии: лактобактерии – у 100% обследованных, *Lactobacillus acidophilus* – у 80%, бифидобактерии – у 65%, *Bifidobacterium adolescentis* – у 20%. Из грамотрицательных облигатных анаэробных бактерий так же, как и при БВ, доминировали бактероиды (20%), в 1 (10%) случае выделялась кишечная палочка. Микробиоценоз влагалища у женщин с БВ представлен: условно-патогенными стафилококками (26,7%), кишечной палочкой (13,3%). Наряду с данными микроорганизмами выявлены патогенные стафилококки, стрептококки, цитробактер – в 6,7%.

На рисунках 8.1, 8.2, 8.3, 8.4 представлены данные, характеризующие микрофлору вагинальных посевов и микрофлору кишечника беременных в зависимости от количества беременностей и периода гестации. Микрофлора вагинальных посевов от матерей в зависимости от количества беременностей и родов характеризовалась более высоким содержанием УПМ в группе первородящих – 3,7 lg КОЕ/г, в группе повторнородящих – 2,2 lg КОЕ/г. Меньше всего УПМ было в группе многоородящих – 2,0 lg КОЕ/г. *S. epidermidis* в количественном отношении преобладал в группе первородящих. Количество грамотрицательных бактерий было больше в группе повторно- и многоородящих матерей.

При исследовании беременных женщин по периоду гестации установлено, что в микрофлоре вагинальных посевов количественно преобладали УПМ в группе гестация 3. однако, дрожжеподобные грибы *Candida* количественно доминировали в группах гестация 1 и 2. Таким образом, установлена

разнонаправленность количественных отношений УПМ – грибы *Candida* в динамике гестации.

Микрофлора кишечника матерей в зависимости от количества беременностей по индигенным бактериям не отличалась как в спектре, так и в количестве. Различия установлены по количественному показателю для *E.coli* гемолитических и лактозонегативных.

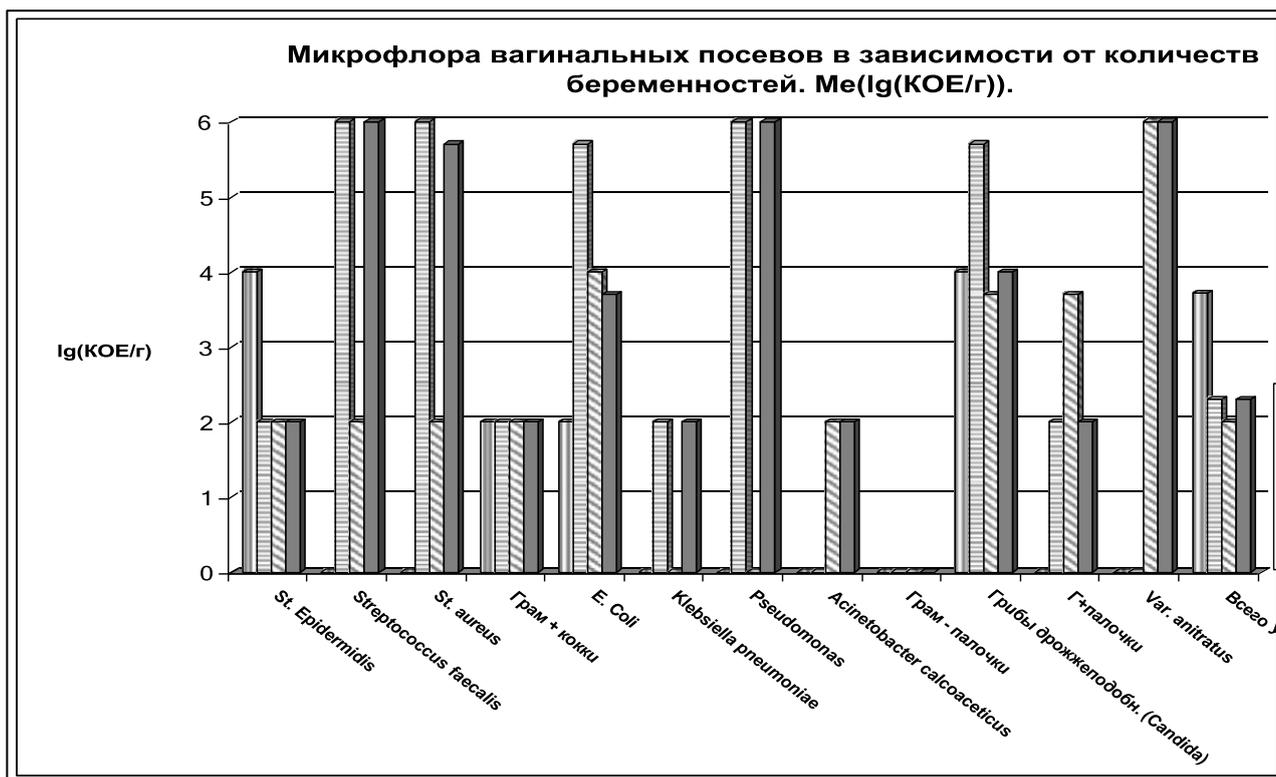


Рис. 8.1. Микрофлора вагинальных посевов в зависимости от количества беременностей Ме (Ig(KOE/г))

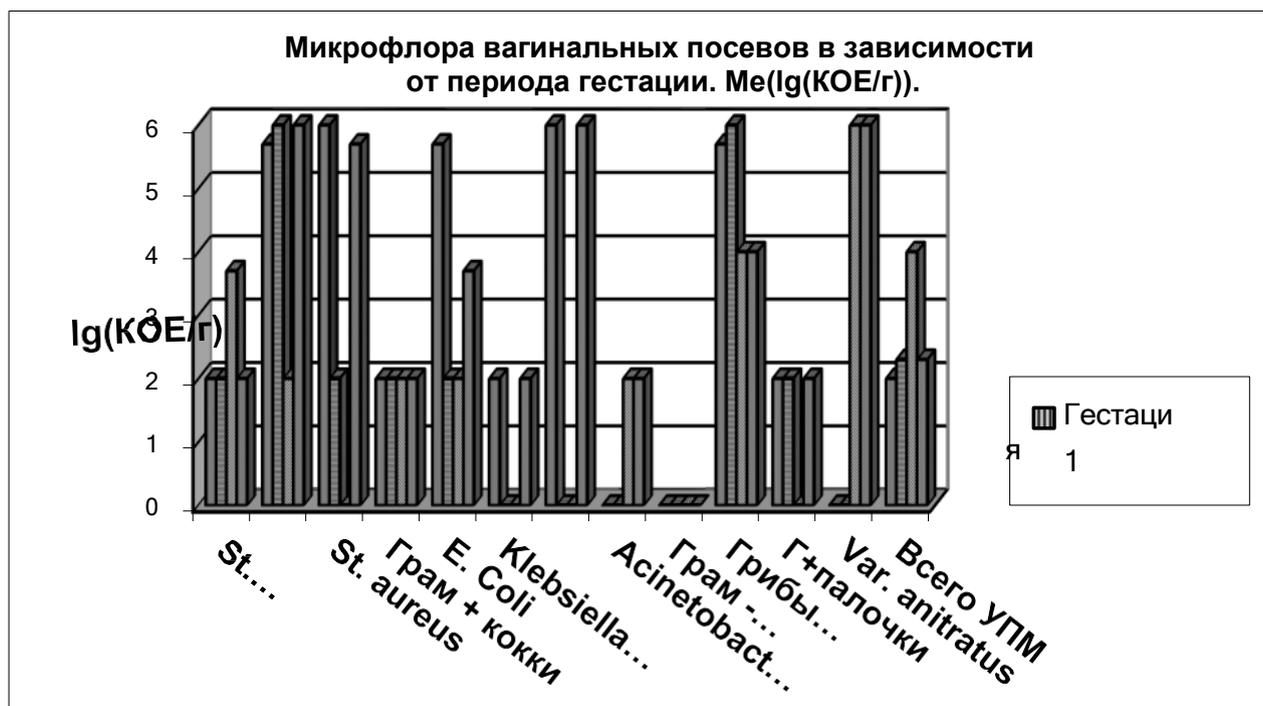


Рис. 8.2. Микрофлора вагинальных посевов в зависимости от периода гестации Me(Ig(КОЕ/г)).

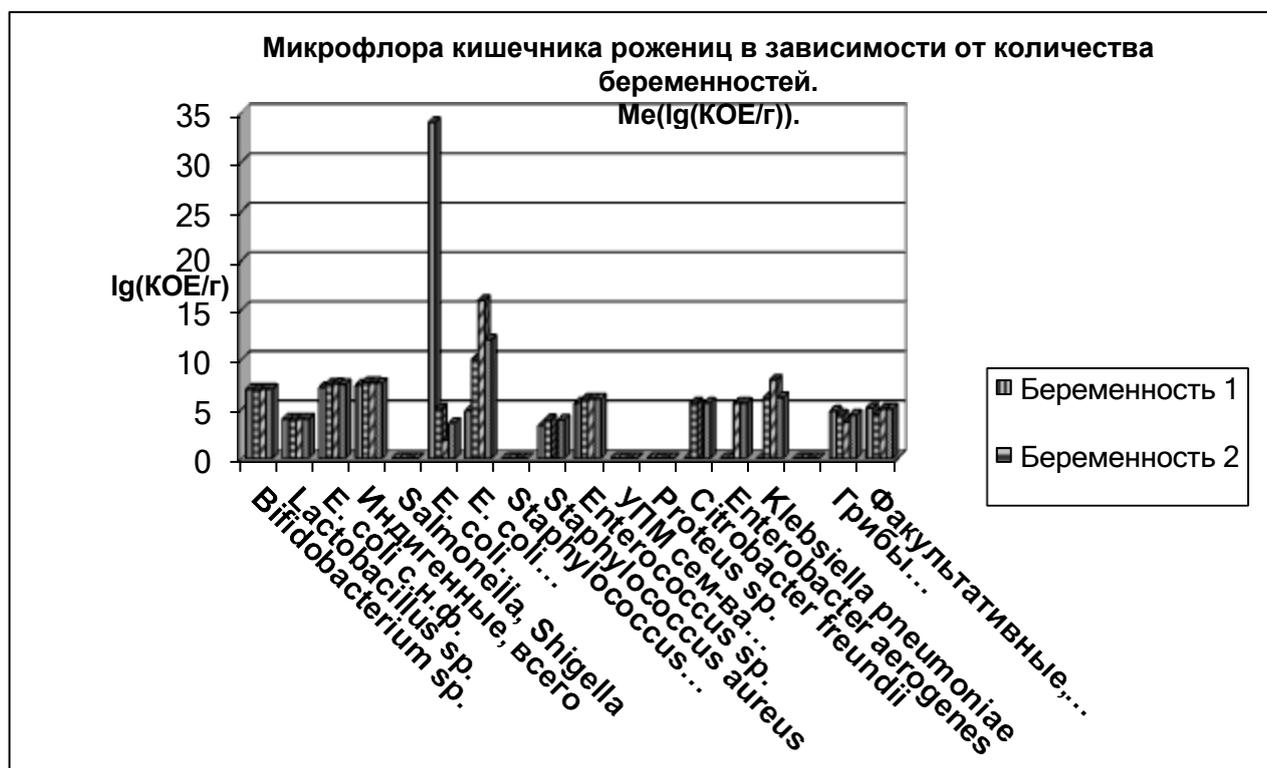


Рис. 8.3. Микрофлора кишечника рожениц в зависимости от количества беременностей Me (Ig(КОЕ/г))

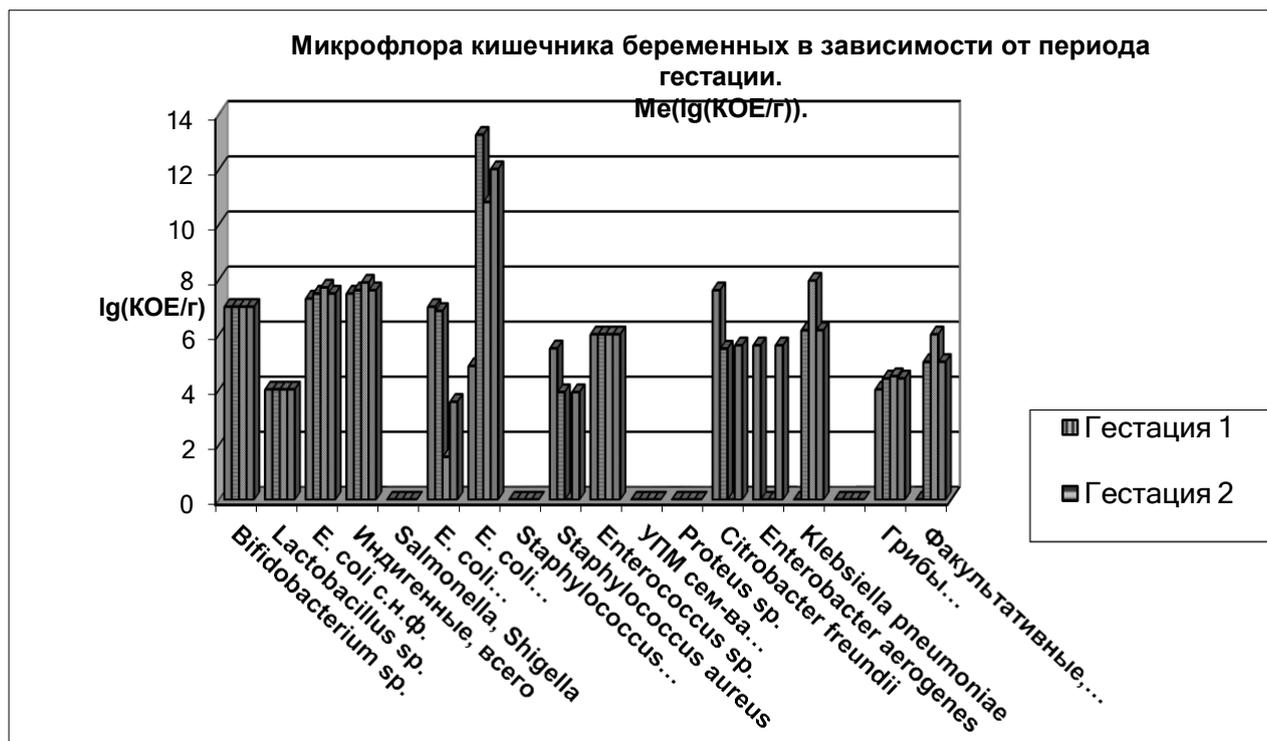


Рис. 8.4. Микрофлора кишечника беременных в зависимости от периода гестации Me (lg(KOE/g))

Количество гемолитических *E.coli* было больше в группе первородящих, и наоборот, *E.coli* лактозонегативных количественно было больше в группе беременность 3.

Микрофлора кишечника беременных в зависимости от периода гестации по спектру и количеству индигенных микроорганизмов не имела существенных различий. Для *E.coli* гемолитических количественные параметры были самые низкие в группе гестация 3, а для *E.coli* лактозонегативных – в группе гестация 1. По количеству грибов рода *Candida* в динамике гестации в кишечном содержимом значительных различий выявлено не было. Таким образом, в зависимости от периода гестации и количества беременности более значительные изменения по количеству и спектру микрофлоры установлены для биотопа родовых путей.

Таким образом, у беременных с БВ влагалищная микрофлора состоит из комбинации аэробных и строгих анаэробных микроорганизмов, существующих в симбиозе друг с другом.

Высокая обсемененность слизистых оболочек влагалища обуславливает выделение беременных с БВ в группу риска по

реализации восходящей инфекции у матери и развитию гнойно-воспалительных заболеваний плода и новорожденного.

Основываясь на том, что БВ – это дисбактериоз влагалища с нарушением микроэкосистемы, нами были сформулированы и обоснованы принципы лечения этого заболевания.

Назначенное лечение состояло из мероприятий, направленных на снижение повышенного количества строгих анаэробных бактерий и нарушение ассоциативных связей между ними; восстановление нормального или максимально приближенного к норме микробиоценоза влагалища.

Восстановление микробиоценоза родовых путей (биологическая санация) основано на применении Лактобактерина на основе местных штаммов.

Микроскопическое исследование содержимого влагалища обследованных женщин до и после лечения показало, что у женщин с БВ после лечения, в сравнении с аналогичными показателями до лечения, выявлено преобладание эпителиальных клеток полигональной формы.

Количество палочек Додерлейна увеличилось с 20 до 82%, количество лейкоцитов уменьшилось до 10^4 в поле зрения, преобладала I–II степень чистоты у 87% женщин.

Таким образом, коррекция микробиоценоза родовых путей беременных способствовала нормализации микроскопической картины при БВ.

При бактериологическом исследовании родовых путей у женщин с БВ установлено, что обсемененность влагалища после лечения снизилась до 25%.

При анализе видового состава микроорганизмов, выделенных из цервикального канала после проведенного лечения, отмечено снижение удельного веса грамотрицательной флоры в 2 раза, ассоциаций различных микроорганизмов – в 3 раза. Клиническое выздоровление и нормализацию лабораторных показателей наблюдали у 76,5% пациенток.

Таким образом, разработанный комплексный метод лечения беременных с БВ, включающий антисептик, с последующим назначением пробиотиков позволяет добиться излечения у 76,5% и стойкой ремиссии у 80,5% пролеченных беременных с БВ.

Критериями выздоровления пациенток с БВ, пролеченных по предложенной методике, являются исходы беременности и родов.

Ретроспективный анализ историй родов беременных, пролеченных по данной методике, позволил установить следующее. Частота досрочного прерывания беременности снижается в 2 раза, преждевременное излитие околоплодных вод – в 2,5 раза; родовой травматизм – в 1,5 раза; послеродовые эндометриты – в 2,7 раза; инфекционно-воспалительная заболеваемость новорожденных – в 4 раза.

Известно, что ребенок рождается стерильным, и с первых минут жизни он обсеменяется микробами из окружающей среды и прежде всего теми, которые присутствуют в генитальном, кишечном тракте, слизистых и коже матери.

В случае, если микробный гомеостаз у матери оптимален для системы человек и микрофлора, то микроорганизмы, попадающие в организм новорожденного ребенка от матери, быстро сформируют его микробный статус и будут устойчивы к внедрению патогенных и условно-патогенных бактерий, в их кишечнике будут образовываться необходимые для макроорганизма микробные метаболиты, микрофлора ребенка будет активно детоксицировать вредные химические соединения, оптимально поддерживать иммунобиологическую реактивность.

И, напротив, если в микробном гомеостазе у матери имеются нарушения, колонизационная резистентность новорожденного ребенка будет недостаточной, в организме такого ребенка будут длительно сохраняться микроорганизмы, не свойственные здоровым детям со всеми вытекающими последствиями для здоровья и жизни.

Таким образом, необходимость раннего формирования у новорожденных нормальной микрофлоры кишечника является важнейшим условием поддержания его здоровья как в первые дни после рождения, так и для его последующей жизни.

Известны способы, позволяющие формировать у новорожденных детей благоприятную для них микрофлору. Они включают в себя: - раннее прикладывание к груди матери, чтобы вводимые с молозивом антитела препятствовали колонизации организма микробами, способными вызывать заболевания; - назначение с первых часов жизни бифидумбактерина

новорожденным детям группы риска, совместное пребывание матери и ребенка в одной палате с момента рождения.

В нашем исследовании было проведено ограниченное клиническое исследование по формированию нормальной микрофлоры оптимального состава для здоровых новорожденных детей.

В соответствии с этим проводилась предродовая подготовка беременных женщин группы риска, начиная со срока беременности 32-34 недели комплексом биологических препаратов с одновременным назначением их интравагинально и перорально.

При этом для коррекции вагинальной микрофлоры использовали бифидумбактерин или лактобактерин.

Перорально для коррекции микрофлоры желудочно-кишечного тракта назначали бифидосодержащий препарат - бифидумбактерин по 10 доз в сутки в течение 5-8 дней под контролем микрофлоры кишечника.

Под наблюдением находилось 20 беременных женщин группы риска. В период предродовой подготовки (в сроки беременности 32-34 недели) все они получили комплекс биологических препаратов.

Оценку эффективности способа проводили по срокам формирования оптимального уровня бифидофлоры новорожденных и инфекционной заболеваемости новорожденных в первый месяц жизни.

Полученные данные свидетельствуют о том, у новорожденных формирование бифидофлоры оптимального состава формируется на 5-6 сутки жизни у 55,0% новорожденных детей.

По катamnестическим данным инфекционная заболеваемость детей этой группы была в 2,6 раза ниже заболеваемости детей контрольной группы.

Таким образом, предлагаемая технология предродовой подготовки отличается простотой, физиологичностью, безвредностью, доступностью, эффективностью и может быть использована в практике здравоохранения как в поликлинических условиях, так и в условиях дневного стационара.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Первичное заселение микробами стерильного до рождения ребенка осуществляется при прохождении через родовые пути матери за счет микрофлоры влагалища [54].

У детей, рожденных путем «кесарева сечения», этот фактор имеет особое значение, так как у них обнаруживается меньшее количество лактобактерий в желудочно-кишечном тракте в первые дни жизни, по сравнению с теми детьми, которые родились естественным образом.

Вот почему у этих детей после рождения часто наблюдается высокий титр факультативных анаэробных штаммов, например *E.coli* или стрептококков [77]. Немаловажное значение имеет микрофлора ухаживающих за ребенком людей («госпитальная» флора).

В исследование были включены беременные, роженицы, родильницы и новорожденные. Выделение и идентификация микроорганизмов проводились общепринятыми методами, в соответствии с действующими официальными документами; в ряде специальных исследований использовали рекомендации основных общепризнанных в мире микробиологических «Руководств» [128,187].

В возрастной структуре обследованной группы преобладали женщины старше 25 лет (66,6 %), оставшуюся часть (33,3 %) составили женщины от 21 года до 25 лет.

В обследованной группе первобеременных женщин было 36,6 %, повторно беременных 63,3 %, из них 13,3 % составили первородящие, а 50,0 % женщин имели повторные роды.

По исходам беременности матери распределялись следующим образом: естественные срочные роды - 83 (4,1% от наблюдаемых беременных), естественные досрочные роды – 14 (2,5% от числа наблюдаемых), абдоминальное родоразрешение – 15 (13,4% от общего числа наблюдаемых беременных). Абдоминальное родоразрешение проводили по клиничко-анамнестическим и акушерским показаниям. В частности, в группе беременных с абдоминальным родоразрешением был нижеследующий преморбидный фон. Беременность на фоне экстрагенитальной патологии протекала у 92,9% обследованных, в структуре

патологии преобладали: миопия высокой степени (40,0%), заболевания сердечно-сосудистой системы (30,0 %), заболевания желудочно-кишечного тракта (30,0%), эндокринная патология (26,6%). Сочетание нескольких хронических заболеваний наблюдалось у 36,6% женщин.

В группе беременных с естественным родоразрешением также отмечались сопутствующие заболевания. В этой группе беременность протекала на фоне экстрагенитальной патологии у 56,3% (45 женщин), в структуре сопутствующих заболеваний преобладали заболевания желудочно-кишечного тракта – 75,0% (60 женщин), эндокринная патология – 46,3% (37 женщин), железодефицитная анемия различной степени – 85,0% (68 беременных).

Урогенитальные заболевания во время беременности отмечались у 83,3% обследованных. Ведущее место среди урогенитальной патологии занимали кольпиты различной этиологии (56,6%), обострения хронического пиелонефрита и эрозии шейки матки наблюдались с одинаковой частотой и составили по 23,3%. Сочетание нескольких урогенитальных заболеваний наблюдалось у 43,3% беременных. У 16,6% женщин во время беременности определялись иммуноглобулины класса G к цитомегаловирусу (данные получены при анализе амбулаторных карт). Острыми респираторными заболеваниями во время беременности переболели 70,0 % женщин, из них 16,6 % повторно.

Во время беременности были госпитализированы для обследования и лечения 46,6 % женщин. Нами выявлено влияние госпитализации во время беременности на контаминацию матери и ребёнка условно-патогенной микрофлорой, в частности золотистым стафилококком.

Антибактериальные препараты во время беременности не назначались, в родах антибактериальную терапию получили все роженицы (цефазолин 2,0 г интраоперационно), после родов антибактериальная терапия была продолжена 70,0 % родильниц.

По плотности контаминации кожи новорожденных нами не установлено статистически значимых отличий как по группам, так и по срокам ($P > 0,05$). По частоте контаминации микрофлорой установлено, что *S. epidermidis* чаще выделялся от новорожденных, родившихся в срок, в 1,8 раза по сравнению с группой

абдоминального родоразрешения на 5-7 сутки и на 30 сутки – в 3 раза чаще. *S. haemolyticus* выделялся чаще в группе с абдоминальным родоразрешением. *S. hominis* выделялся только у 2 новорожденных с абдоминальным родоразрешением (13,3%). *S. saprophyticus* отсутствовал в группе с абдоминальным родоразрешением на 5-7 сутки, но обнаруживался на 30 сутки. Коагулазоположительные стафилококки присутствовали во всех группах, но доминировали у преждевременно родившихся и при абдоминальном родоразрешении. К 30 суткам они не выделялись от детей, родившихся в срок, но отмечались в группах досрочного и абдоминального родоразрешения (снижение в 3 и 2 раза, соответственно). Энтерококков на коже было больше всего при абдоминальном родоразрешении. Среди микроорганизмов других групп доминировали *Micrococcus* и *Sarcina* в группе, родившихся в срок и досрочно на 3-5 сутки, но к 30 суткам возрастают и в группе абдоминального родоразрешения.

Общие тенденции динамики микроорганизмов между группами наблюдаемых детей указывает на однонаправленность формирования микрофлоры в неонатальный период. К окончанию неонатального периода сформированным кожный микробиоценоз можно считать только у половины обследованных детей.

При проведении корреляционного анализа установлены взаимосвязи между антибактериальной терапией матери после родов и контаминацией новорожденного условно – патогенной микрофлорой.

Анализ частоты высева условно-патогенной микрофлоры показал, что золотистый стафилококк был выделен у 13,3 % женщин, грибы рода Кандида у 70,0 %, из них 60,0 % составила *Candida albicans*, 6,6 % *Candida krusei* и 3,3 % *Candida tropicalis*. При этом у 13,0 % их количество превышало возрастную норму.

В результате проведенного микробиологического скрининга установлено, что у большей части беременных группы риска имели место различные дисбиотические нарушения: у 75,6% пациенток наблюдались отклонения от нормального состава микрофлоры влагалища, а у 67,6% диагностированы изменения кишечного биоценоза.

При этом, дисбактериоз (ДБ) кишечника выявлялся у 60,7% женщин с нарушением вагинальной микрофлоры, а 58,4%

беременных имели сочетанные патологические изменения микрофлоры влагалища и кишечника. Эубиотическое состояние соответствующих микроценозов обнаружено только у 18,4% из общего числа обследованных женщин.

Нарушения микробиоценоза влагалища не всегда сопровождалась кишечным дисбиозом, тогда как у пациенток с дисбактериозом кишечника в 100% случаев обнаруживались изменения в составе микрофлоры влагалища

У 86,6 % женщин количество бифидобактерий находилось в пределах возрастной нормы, в то время как количество лактобактерий было ниже нормы у 96,6 %. У 66,6 % женщин отмечалось снижение количества бактероидов.

Количество кишечной палочки с типичными свойствами в пределах возрастной нормы было у 43,3 % обследованных, ниже нормы у 36,6 % и выше нормы у 20,0 %. Лактозонегативная кишечная палочка высевалась у 43,3 % обследованных, при этом у 6,6 % ее количество было в пределах возрастной нормы, а у 36,6 % превышало допустимые значения.

По результатам проведенной идентификации была установлена этиология инфекций новорожденных разной локализации. Было выявлено, что в большинстве случаев доминирует грамположительная флора, основными представителями которой являлись золотистые стафилококки (46,0%), *S.epidermidis* и *S.haemolyticus* по 19,6%. Исключение составили дисфункции кишечника, где ведущими возбудителями выступили грамотрицательные бактерии (68,6%). Среди них 82,1% относились к *E.coli* и *K.pneumoniae*. Стрептококки, энтерококки и кандиды выявлялись намного реже указанных выше микроорганизмов и процент их выделения не превышал 2,9-12,7%.

По результатам оценки факторов вирулентности КОС, выделенных от здоровых новорожденных, оказалось, что 48,3% из них обладали гемолитической активностью. Максимальным набором факторов вирулентности обладали штаммы видов *S. Haemolyticus* и *S. epidermidis*. Если иметь в виду что штаммы с признаками вирулентности были выделены от здоровых детей, можно предположить, что у новорожденных с симптомами ГСИ частота выделения штаммов с такими свойствами может быть более

высокой, что может быть дополнительным подтверждением этиологической значимости КОС.

Результаты определения антибиотикограмм были детально проанализированы по штаммам. Было установлено, что *S.aureus* проявляли более высокую чувствительность ко многим антибиотикам, чем *S.epidermidis* и *S.saprophyticus*. Стафилококки были достоверно более резистентными, чем выделенные от матерей к оксациллину, эритромицину, фторхинолонам и рифампицину. В целом, стафилококки в высоком проценте случаев проявляли устойчивость к ампициллину (88,0%), оксациллину (65,1%), в меньшей степени – к другим беталактамам, тетрациклинам, эритромицину и левомицетину. Небольшое количество изолятов было устойчиво к фузидину (13,5%), гентамицину (17,5%) и фторхинолонам (20,6% - 27,0%).

Грамотрицательные энтеробактерии были также протестированы на антибиотикоустойчивость. Спектр антибиотиков, по которым тестировались грамотрицательные бактерии, был иным, чем при изучении стафилококков.

Полученные результаты показали, что 100% чувствительность энтеробактерий выявлена в отношении новейших беталактамных антибиотиков – цефепим. Эшерихии были высокочувствительными (75,4%-86,6%) к амоксиклаву, цефазидиму и в меньшей мере (69,4%-74,6%) к другим цефалоспорином 3-го поколения и фторхинолонам. *K.pneumoniae* были намного более резистентны к антибиотикам, существенная разница ($p<0,05$ и $p<0,01$) обнаружена для ампициллина, амоксиклава, цефалоспоринов.

Анализ адгезии у *E.coli(S)* показал, что отрицательная и низкая степень адгезии по СПА составляла - 72,4% и 17,9%, средняя степень – 10,7%. По ИАМ отрицательная и низкая степень регистрировалась в 57,1% и 28,6%, средняя степень – в 14,3% случаев.

По результатам показателей СПА и ИАМ высокая степень адгезии в антибиотиковара *E.coli(S)* отсутствовала. Совершенно иная картина отмечалась у *E.coli(R)*. У данного варианта были зарегистрированы все степени адгезии. Наибольшее число штаммов *E.coli(R)* характеризовались средней степенью адгезии по СПА – 66,7% и по ИАМ - 77,8%. Высокая степень адгезии по СПА и ИАМ выявлена соответственно в 16,7% и 22,2% случаев.

Низкая степень адгезивной активности зарегистрирована только у трёх штаммов *E.coli(R)* по СПА (16,7%) и двух штаммов по ИАМ (11,1%).

Средняя степень адгезии у *E.coli(S)* зарегистрирована в 6,3 раз реже по СПА и в 4,7 раз реже по ИАМ, чем у *E.coli(R)*. Статистическая обработка различий в адгезии у *E.coli(S)* и *E.coli(R)* выявила достоверность различий между ними ($P < 0,05$).

Штаммы энтеробактерий, изолированные из кожи новорожденных (группа 1), обладали маркерами hly A в 1 случае (11,1%), hlyB – в 2 (22,2%), cnf-1 – в 2 (22,2%), papC – в 0 случаях (0,0%), fimA – в 1 (11,1%), irp-2 в 1 случаях (11,1%).

Штаммы энтеробактерий, изолированные из родовых путей матерей (группа 2), обладали маркерами hly A в 2 случаях (22,2%), hlyB – в 2 (22,2%), cnf-1 – в 2 (22,2%), papC – в 1 случае (11,1%), fimA – в 2 (22,2%), irp-2 в 2 случаях (22,2%).

Штаммы энтеробактерий, изолированные из фекалий новорожденных родившихся от матерей с дисбактериозом толстой кишки (группа 3), обладали маркерами hly A в 3 случаях (27,3%), hlyB – в 2 (18,2%), cnf-1 – в 2 (18,2%), papC – в 2 случаях (18,2%), fimA – в 3 (27,3%), irp-2 в 2 случаях (18,2%).

Штаммы энтеробактерий, изолированные из фекалий новорожденных родившихся от матерей без дисбактериоза толстой кишки (группа 4), обладали маркерами hly A в 2 случаях (20,0%), hlyB – в 1 (10,0%), cnf-1 – в 1 (10,0%), papC – в 0 случаев (0,0%), fimA – в 0 (0,0%), irp-2 в 2 случаях (20,0%).

Штаммы энтеробактерий, изолированные из фекалий матерей с дисбактериозом толстой кишки (группа 5), обладали маркерами hly A в 5 случаях (45,5%), hlyB – в 3 (27,3%), cnf-1 – в 2 (18,2%), papC – в 3 случаях (27,3%), fimA – в 3 (27,3%), irp-2 в 3 случаях (27,3%).

Штаммы энтеробактерий, изолированные из фекалий матерей с нормофлорой толстой кишки (группа 6), обладали маркерами hly A в 2 случаях (20,0%), hlyB – в 3 (27,3%), cnf-1 – в 2 (20,0%), papC – в 2 случаях (20,0%), fimA – в 2 (20,0%), irp-2 в 3 случаях (27,3%).

При исследовании культур энтеробактерий, выделенных от матерей и новорожденных были протестированы методом ПЦР 60 культур: *Klebsiella* sp. 6 (10,0%), *Citrobacter* sp. 8 (13,3%), *Enterobacter* sp. 14 (23,3%), *Proteus* sp. 12 (20,0%), *E.coli* 20 (33,3%).

Установлено наличие у изолятов энтеробактерий микрофлоры биотопов матери и новорожденного (фекалии, родовые пути, кожа) нуклеотидных последовательностей ДНК, специфичных известным генам ОП энтеробактерий.

Анализируя показатели концентраций иммуноглобулинов в цервикальном секрете здоровых беременных женщин, мы отметили высокие концентрации иммуноглобулинов классов А и sIgA во всех триместрах беременности, что, по-видимому, можно объяснить усилением бактерицидных свойств цервикальной слизи в периоды, наиболее благоприятные для инфицирования внутренних половых органов.

Иммуноглобулины класса М не определялись в контрольной группе в третьем триместре, что указывает на отсутствие у этих пациенток инфицирования половых путей.

Наименьшие концентрации иммуноглобулинов классов А отмечены в группе беременных с воспалительными процессами шейки матки и влагалища, что согласуется с анамнестическими данными женщин о наличии у них нарушений генеративной функции иммунологической этиологии.

Сравнительный анализ уровней иммуноглобулинов в контрольной и основной группе указывает на утрату пациентками основной группы тех закономерностей, которые были отмечены в контрольной группе в динамике беременности.

Концентрации иммуноглобулинов сывороточного происхождения (IgA и IgG) были одинаково высокими во всех триместрах в контрольной и основной группах соответственно.

При этом следует отметить обнаруженный нами достоверный рост уровня SIgA от первого к третьему триместру в группе контроля. Во всех трех триместрах были обнаружены значительные уровни IgM в основной группе.

Выявленные изменения можно трактовать как ответную реакцию лимфоидной ткани шейки матки на антигенную стимуляцию микрофлоры и значительное повышение проницаемости стенок кровеносных сосудов шейки матки при неспецифических воспалительных процессах.

Значительное снижение концентраций местносинтезируемого SIgA свидетельствует о том, что при воспалительном процессе

нарушаются процессы синтеза эпителиальными клетками секреторного компонента.

Очевидно, что в контаминации основных биологических локусов у новорожденных определяющее значение имела вагинальная флора их матерей.

О ведущем значении вагинальной флоры матерей в контаминации новорожденных свидетельствовало также то, что среди детей, матери которых были без патологии, только у 7,7% новорожденных выделены грибы рода *Candida* в минимальной концентрации.

Результаты наших наблюдений указывают на тот факт, что особое эпидемиологическое значение для новорожденных имеет состояние вагинальной флоры беременных.

Кроме того, в течение последних двух десятилетий отмечено существенное увеличение частоты заболеваний, вызванных условно-патогенными грибами рода *Candida* и золотистым штаммом стафилококков.

Следовательно, отсутствие высева таких условно-патогенных микроорганизмов, как *Proteus vulgaris* & *Proteus mirabilis*, грибы рода *Candida* и золотистый штамм стафилококков, у детей контрольной группы обусловлено нормальной колонизационной резистентностью родовых путей матери и естественной реактивности ребенка.

На 3-5-е сутки у 48,3% детей из основной и у 19,2% новорожденных из контрольной группы отмечены локализованные гнойно-воспалительные заболевания.

При бактериологическом исследовании из очагов локализованных гнойно-воспалительных заболеваний были выделены *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris* & *Proteus mirabilis*, что подтверждало клиническую значимость микробного биоценоза основных локусов организма новорожденного ребенка.

Дети из основной группы были также больше подвержены развитию токсической эритемы, которая среди новорожденных данной группы диагностирована у 41,3% детей ($P < 0,05$).

Как видно из приведенных данных, среди новорожденных основной группы 24,7% детей родились недоношенными. У 41,2% новорожденных, родившихся от матерей основной группы, отмечалась гипотрофия.

При этом средняя масса детей колебалась от 1900 г до 2100 г (в среднем $2050,8 \pm 42,1$ г), в то время как в сравнительной группе этот показатель при рождении находился в пределах от 3200 до 3950 г и в среднем составил $3450 \pm 67,8$ г. Все дети первой группы имели первоначальную убыль веса 23,5%; в дальнейшем для них также была характерна задержка прибавки массы тела.

Следует также отметить, что оценка состояния по шкале Апгар 8-10 баллов у доношенных новорожденных основной группы встречалась у 13,9% и была достоверно реже, чем в сравнительной ($p < 0,01$).

Кроме этого, в основной группе отмечалась высокая частота (20,58% случаев) развития в родах внутриутробной гипоксии. У 10 (7,35 %) рожениц в родах диагностирован бактериальный амнионит.

Считается, что быстрое заселение кожных и слизистых покровов новорожденных материнской микрофлорой препятствует колонизации детей микроорганизмами, циркулирующими в стационаре.

Однако конкретные доказательства этого приводятся лишь в единичных сообщениях. В связи с этим мы провели бактериологическое обследование 15 пар «родильница–новорожденный» непосредственно после родов и на 3-й день.

При этом оказалось, что непосредственно после родов потенциально-патогенные микроорганизмы были обнаружены у 20,0% родильниц и у 10,0% новорожденных.

На 3-й день после родов число родильниц с выделением возбудителя возросло до 36,7%, новорожденных – до 56,7%. В родах количество пар с выделением возбудителя составило 26,6%, через 3 дня – 70,0%, т.е. увеличилось в 2,6 раза.

Непосредственно после родов от родильниц было изолировано 6 штаммов трех видов микроорганизмов, от новорожденных – 3 штамма двух видов. Через 3 дня от родильниц было выделено 12 штаммов возбудителей, относящихся к 9 видам, от новорожденных - 15 штаммов шести видов.

Существенно возросло количество микроорганизмов в каждой пробе. В родах почти во всех пробах у родильниц и новорожденных количество микроорганизмов было минимальным – 10^3 и менее. На 3-й день у родильниц в 52,6% случаев стало

выделяться 10^4 - 10^6 возбудителей, у новорожденных в 85,7% количество бактерий в пробах составило 10^4 - 10^7 .

Непосредственно после родов в одном случае, т.е. в 3,3%, имело место совпадение видового пейзажа микроорганизмов у родильницы и новорожденного, однако профиль изолированных штаммов по антибиотикорезистентности различался. На 3-й день количество совпадений по виду возбудителей увеличилось до 13,3%, но лишь у 3,3% общего числа пар зоны задержки роста микроорганизмов вокруг дисков с антибиотиками были практически идентичными.

Аналогичные данные были получены и при оценке результатов обследования пар «беременная-новорожденный». Количество совпадений микробного пейзажа по виду составило лишь 6,7%, по антибиотикофенотипу – 4,4%.

Высокая обсемененность слизистых оболочек влагалища обуславливает выделение беременных с БВ в группу риска по реализации восходящей инфекции у матери и развитию гнойно-воспалительных заболеваний плода и новорожденного.

Основываясь на том, что БВ – это дисбактериоз влагалища с нарушением микроэкосистемы, нами были сформулированы и обоснованы принципы лечения этого заболевания.

Назначенное лечение состояло из мероприятий, направленных на снижение повышенного количества строгих анаэробных бактерий и нарушение ассоциативных связей между ними; восстановление нормального или максимально приближенного к норме микробиоценоза влагалища.

Восстановление микробиоценоза родовых путей (биологическая санация) основано на применении Лактобактерина на основе местных штаммов.

Микроскопическое исследование содержимого влагалища обследованных женщин до и после лечения показало, что у женщин с БВ после лечения, в сравнении с аналогичными показателями до лечения, выявлено преобладание эпителиальных клеток полигональной формы.

Количество палочек Додерлейна увеличилось с 20 до 82%, количество лейкоцитов уменьшилось до 10^4 в поле зрения, преобладала I–II степень чистоты у 87% женщин. Таким образом,

коррекция микробиоценоза родовых путей беременных способствовала нормализации микроскопической картины при БВ.

При бактериологическом исследовании родовых путей у женщин с БВ установлено, что обсемененность влагалища после лечения снизилась до 25%. При анализе видового состава микроорганизмов, выделенных из цервикального канала после проведенного лечения, отмечено снижение удельного веса грамотрицательной флоры в 2 раза, ассоциаций различных микроорганизмов – в 3 раза.

Клиническое выздоровление и нормализацию лабораторных показателей наблюдали у 76,5% пациенток.

Таким образом, разработанный комплексный метод лечения беременных с БВ, включающий антисептик, с последующим назначением пробиотиков позволяет добиться излечения у 76,5% и стойкой ремиссии у 80,5% пролеченных беременных с БВ.

Критериями выздоровления пациенток с БВ, пролеченных по предложенной методике, являются исходы беременности и родов. Частота досрочного прерывания беременности снижается в 2 раза, преждевременное излитие околоплодных вод – в 2,5 раза; родовой травматизм – в 1,5 раза; послеродовые эндометриты – в 2,7 раза; инфекционно-воспалительная заболеваемость новорожденных – в 4 раза.

Таким образом, в условиях конкретного акушерского стационара роль материнской микрофлоры в колонизации кожных покровов новорожденных потенциально-патогенными микроорганизмами не является определяющей, что не обеспечивает защиту новорожденного от экзогенного инфицирования возбудителями ГСИ.

На основании проведенного комплекса исследований нами обобщены факторы, оказывающие влияние на формирование нормо-, патофлоры кожи новорожденных (схема).

Факторы, оказывающие влияние на формирование нормо-, патофлоры кожи новорожденных



Преимущественное несовпадение по виду и антибиотикофенотипу микроорганизмов, изолированных, с одной стороны, от беременных и родильниц, а с другой - от новорожденных как непосредственно после родов, так и на 3-й день, позволяет утверждать, что в условиях акушерского стационара имеет место преимущественно экзогенное инфицирование новорожденных, причем роль родильниц как источников возбудителей ГСИ незначительна.

Заключение

1. Кишечный микробиоценоз матери определяет состояние микрофлоры родовых путей и формирование облигатной микрофлоры основных биотопов новорожденного ребенка. Дети, рожденные от матерей с дисбиозом кишечника находятся в группе риска по нарушению формирования микробиоценозов основных биотопов:
 - к окончанию неонатального периода у детей, родившихся от матерей с дисбиозом кишечника не сформирован микробиоценоз основных биотопов, что проявляется наличием дисбиотических взаимоотношений в микробной популяции кожи;
 - кожный микробиоценоз новорожденных группы риска характеризуется наличием большого количества условно-патогенных микроорганизмов, что на фоне дисбиоза других биотопов приводит к нарушению колонизационной резистентности и срыву адаптационных возможностей ребенка, способствуя развитию гнойно-септических заболеваний.
2. Нормофлора кожи новорожденных в неонатальный период характеризуется грамположительной кокковой флорой (*Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Sarcina*), грамположительными бактериями (непатогенные недифференцированные палочковидные бактерии, *Corynebacterium* sp.- аэробные виды *Propionobacterium*), которые вытесняются грамотрицательными микроорганизмами, дрожжеподобными и плесневыми грибами при контаминации материнской патологической микрофлорой - при наличии дисбиоза кишечника и репродуктивного тракта беременной. Частота, динамика выделения и спектр микрофлоры кожи новорожденных зависит от конкретного участка кожи, а также от сроков беременности (родившиеся в срок, преждевременно родившиеся).
3. Патофлора кожи новорожденных в неональный период характеризуется более разнообразным спектром микрофлоры, в которой частота встречаемости кокковой микрофлоры уменьшается, а частота высеваемости грамотрицательных, часто – условно-патогенных микроорганизмов – возрастает. Патофлора кожи новорожденных представлена меньшей

частотой контаминации сапрофитными кокками, но превалированием патогенных (*Staphylococcus aureus*, гемолитический стрептококк) и условно-патогенных (лактозоотрицательные бактерии, дрожжеподобные грибы рода *Candida*) микроорганизмов. Частота, динамика выделения и спектр патофлоры кожи новорожденных зависит от конкретного участка кожи, а также от сроков беременности (родившиеся в срок, преждевременно родившиеся). У преждевременно родившихся детей спектр кожного микробиоценоза характеризуется большим видовым разнообразием, чем у детей, родившихся в срок.

4. Бактериальный вагиноз в III триместре беременности приводит к дисбактериозу кишечника I степени у $86,6 \pm 3,9\%$ новорожденных, при отсутствии патологии у матери лишь у $5,6 \pm 2,0\%$ новорожденных выявляются клинико-микробиологические симптомы дисбаланса микробного заселения кишечника.
5. Установлено, что микрофлора заушной складки новорожденного в родах и после родов лишь частично (на $17,6-25,3\%$) отражает микрофлору матери, что ставит под сомнение и саму методику прогнозирования эндогенных ГСИ у новорожденных с помощью изучения микрофлоры их заушной складки.
6. Проведение антибактериальной терапии лактирующей матери вызывает развитие дисбиоза кишечника, дисбиоза зева и дисбиоза кожи у большей части новорожденных (более чем у 50%), родившихся естественным и абдоминальным родоразрешением.
7. У женщин третьего триместра беременности из группы риска отмечается высокая частота дисбиотических нарушений. В динамике коррекции микрофлоры родовых путей и кишечника матери у новорожденных отмечено достоверное снижение частоты высева условно-патогенных микроорганизмов.
8. На большую предрасположенность детей, родившихся от женщин из группы повышенного риска, к развитию дисбактериозов указывает доминантный высев от новорожденных условно-патогенных микроорганизмов. В динамике коррекции микрофлоры родовых путей и кишечника

матери у новорожденных отмечено достоверное снижение частоты высева условно-патогенных микроорганизмов (суммарно - $p < 0,01$).

9. Установлено наличие у изолятов энтеробактерий микрофлоры биотопов матери и новорожденного (фекалии, родовые пути, кожа) нуклеотидных последовательностей ДНК, специфичных известным генам островов патогенности (ОП) энтеробактерий:
 - у изолятов энтеробактерий микрофлоры биотопов матери и новорожденного (фекалии, родовые пути, кожа) установлено наличие нуклеотидных последовательностей ДНК, специфичных известным генам «островов патогенности» (ОП) энтеробактерий. В частности, в общем пуле исследованных 60 штаммов искомые ампликоны обнаружены при использовании праймеров к гену *hly A* у 15 (25,0%) штаммов, *hlyB* – у 13 (21,7%), *cnf-1* – у 11 (18,3%), *papC* – у 8 (13,3%), *fimA* – у 11 (18,3%), *irp-2* у 13 (21,7%);
 - штаммы энтеробактерий, изолированные из фекалий новорожденных родившихся от матерей с дисбактериозом толстой кишки, обладали маркёрами *hly A* в 3 случаях (27,3%), *hlyB* – в 2 (18,2%), *cnf-1* – в 2 (18,2%), *papC* – в 2 случаях (18,2%), *fimA* – в 3 (27,3%), *irp-2* в 2 случаях (18,2%). Штаммы энтеробактерий, изолированные из фекалий новорожденных, родившихся от матерей без дисбактериоза толстой кишки, обладали маркёрами *hly A* в 2 случаях (20,0%), *hlyB* – в 1 (10,0%), *cnf-1* – в 1 (10,0%), *papC* – в 0 случаях (0,0%), *fimA* – в 0 (0,0%), *irp-2* в 2 случаях (20,0%).
10. Метод кристаллографии микроорганизмов может использоваться для экспресс-идентификации и сравнения видового совпадения микроорганизмов, выделяемых от матерей и новорожденных. Установлена принципиальная возможность использования кристаллографического метода для идентификации микроорганизмов нормальных биотопов, в том числе кожи. Выявлено, что эти микроорганизмы характеризуются специфическими кристаллогенными свойствами, что позволяет использовать кристаллографический метод для их идентификации и дифференциации.
11. Установлено различие в чувствительности – резистентности штаммов от матерей и новорожденных, что указывает на

заселение биотопов организма новорожденного посторонними штаммами. При формировании микрофлоры новорожденных происходит накопление резистентных, возможно – госпитальных штаммов. Преимущественное несовпадение по виду и антибиотикофенотипу микроорганизмов, изолированных, с одной стороны, от беременных и родильниц, а с другой - от новорожденных, как непосредственно после родов, так и на 3-й день, позволяет утверждать, что в условиях акушерского стационара имеет место преимущественно экзогенное (а не внутриутробное) инфицирование новорожденных, причем роль родильниц как источников возбудителей внутрибольничных ГСИ незначительна.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Бактериологическое исследование родовых путей в рамках микробиологического мониторинга позволяет своевременно прогнозировать развитие эндогенных форм гнойно-септических инфекций кожи и слизистых оболочек новорожденных с учетом их этиологии.
2. Микробиологическое исследование родовых путей позволяет прогнозировать не только эндогенный тип инфицирования новорожденного, но и этиологию в случае их развития у матери.
3. Для санации беременных с бактериальным вагинозом рекомендуется применение комплексного метода, включающего антисептик, с последующим назначением пробиотиков, что позволяет добиться излечения у 21,3% и стойкой ремиссии у 80,5% пролеченных беременных с БВ.
4. Критериями выздоровления пациенток с БВ, пролеченных по предложенной методике, являются исходы беременности и родов. Частота досрочного прерывания беременности снижается в 2 раза, преждевременное излитие околоплодных вод – в 2,5; родовой травматизм – в 1,5; послеродовые эндометриты – в 2,7; инфекционно-воспалительная заболеваемость новорожденных – в 4 раза.
5. В условиях конкретного акушерского стационара с совместным пребыванием матери и ребенка роль материнской микрофлоры в колонизации кожных покровов новорожденных потенциально-патогенными микроорганизмами не является определяющей, что не обеспечивает защиту новорожденного от экзогенного инфицирования возбудителями ГСИ.
6. Новорожденные, родившиеся от матерей группы риска, нуждаются в коррекции микрофлоры кишечника уже в раннем неонатальном периоде.
7. Применение кристаллографического метода дает возможность существенно ускорить и упростить идентификацию и дифференциацию микроорганизмов. Важным является также и экономический аспект, постановка кристаллографического теста несравнимо дешевле общепринятых методов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

1. Авдеева Н.С., Шарипова И.С., Сергевнин В.И., Редько С.В. Роль материнской микрофлоры в формировании кожного микробиоценоза новорожденных в конкретном акушерском стационаре. // Стратегия и тактика борьбы с внутрибольничными инфекциями на современном этапе развития медицины. Матер. междунар. конгресса. - Москва, 2006. - С. 19-21.
2. Адгезивные свойства бактерий кишечного происхождения/ Е.М.Горская, Х.П.Ленцнер, А.А.Ленцнер и др. - Журн.микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 1991. - № 10. – С. 5-7.
3. Акатов А.К. Стафилококки. – Москва: Медицина, 1983. – 241 с.
4. Акоюн Т.Э. Бактериальный вагиноз и беременность // Акушерство и гинекология. - 1996. - № 6. - С. 3-5.
5. Актуальные проблемы неонатологии / под ред. Н.Н. Володина. М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. 448 с.
6. Алекшеева Л.Ж., Мухамедов И.М., Сабирзянова Л.Г. Микроэкология влагалища и кишечника при воспалительных заболеваниях гениталий // Инфекция, иммунитет и фармакология. -2000. - №3. - С. 6-7.
7. Амирова В.Р., Ахмадеева Э.Н., Малиевская Т.А., Корюкова Т.С. Характер колонизации грибами *Candida* и их лекарственная устойчивость у новорожденных в акушерском стационаре // Рос. педиатр. ж. — 2001. — № 6. — С. 8 - 10.
8. Анализ клинических штаммов стрептококков группы В на наличие генов потенциальных адгезинов, локализованных на «островах патогенности». Вершинин С.В. и соавт. / Журн.микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2007. - № 10. – С. 5-12.
9. Анализ микроэкологии влагалища в результате антибиотикотерапии урогенитальных инфекций. Н.Ю.Сакварелидзе, Л.К.Караяниди, А.А.Кахкцян, И.Ю.Майскова // Вестник РГМУ, Секция «Акушерство и гинекология».- 2006, - №2/49/.- с.231-232

10. Анкирская А.Е. Бактериальный вагиноз //Акушерство и гинекология. – 1996. - №6. - С. 13-16. .
11. Анкирская А.С. Микроэкология влагалища и профилактика акушерской патологии. www.consilium-medicum.com/media/gynecology/n3/80.shtml
12. Анкирская А.С. Достижения и задачи клинической микробиологии в акушерстве и неонатологии // Клинич. лаб. диагностика. - 1996. - № 1. - С. 23-26.
13. Анкирская А.С.,Муравьёва В.В /Опыт микробиологической диагностики оппортунистических инфекций влагалища/. 1999
14. Анкирская А.С.. Неспецифические вагиниты. Новые подходы к диагностике// «Клиническая микробиология и антимикробная терапия», 2000, № 2 (17)
15. Антибактериальная терапия инфекций мочевыводящих путей у беременных (Пособие для врачей) /В.И. Кулаков, Л.С. Страчунский, В.В. Рафаэльский А.Н. и др. – МЗ РФ. – 2004. – 17 с.
16. Антибактериальная терапия: Практическое руководство. Под ред. Страчунского Л.С., Белоусова Ю.Б., Козлова С.Н. // М.: Полимаг. - 2000. - С.191.
17. Антибиотикочувствительность амбулаторных штаммов уринокультур/ Л.И.Ахметова, С.М.Розанова, В.П.Шилова, С.З.Яранцева. - Клин.микробиол. и антибактер. химиотерапия. – 2001. – Т. 3. - Приложение 1. – С.6-8.
18. Ахмадеева Э.Н., Панова Л.Д. Дисбиоз кишечника у новорожденных детей раннего возраста. Уфа. 2003.
19. Баженов Л.Г. Проблемы преодоления антибиотикорезистентности микроорганизмов //Инфекция, иммунитет и фармакология. – 2000. - №3. – С.11-12.
20. Байрамова Г.Р. Клинические особенности и эффективность различных методов терапии бактериального вагиноза: Автореф.дис.канд. мед. наук. – М., 1996
21. Бактериальный вагиноз; (Пособие для врачей); Л.В. Кудрявцева, Е.Н.Ильина, В.М. Говорун и соавт., Москва 2001
22. Башмакова М.А., Кошелева Н. Г., Калашникова Е.П. Инфекция и бактериальная колонизация урогениталий у

- беременных, влияние на течение беременности, плод и новорожденного ребенка //Акушерство и гинекология. – 1995. - №1. - С. 15-18.
23. Бектимиров А.М.-Т., Худайбердиев Я.К., Касымов И.А., Мардаева Г.Т. Дисбиозы. Учебное пособие. Ташкент. 2007. 52 с.
 24. Беликова З.Ф. /Комплексная терапия урогенитального кандидоза у женщин репродуктивного возраста с учётом состояния вагинального и кишечного микробиоценоза/: Автореф. дис..Москва 2000
 25. Белобородов В.Б. Резистентные грамположительные микроорганизмы: современные возможности и перспективы терапии //Consilium medium. – 2004. – Т.6. - №1. – С.4-11.
 26. Белобородов В.Б., Митрохин С.Д. Стафилококковые инфекции //Инфекции и антимикробная терапия. – 2003. – Т.5. – №1. – С.17-23.
 27. Белов Б.С. Современные аспекты А-стрептококковых инфекций //Инфекции и антимикробная терапия. – 2001. – Т. 3. - №4. – С.49-54.
 28. Бельмер, С.В. Применение пребиотиков для профилактики и лечения нарушений микрофлоры у детей / С.В. Бельмер // Учеб. пособие. М., 2005. 24 с.
 29. Блохина И.Н., Дорофейчук В.Г Дисбактериозы -М - Медицина, 1979.
 30. Бовбель, И.Э. Современные подходы к диагностике и лечению заболеваний органов пищеварения у детей / И. Э. Бовбель, В.Ю. Малюгин, А.В. Сукало // Учеб. пособие. Минск: БГМУ, 2006. 64 с.
 31. Богомолова Т.С, Горшкова Г.И, Караев З.О. /О факторах патогенности дрожжеподобных грибов рода Candida/ Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1987.- №7, С. 92-95.
 32. Бондареико В.М., Баркус С.С. Брилис В.И., Ленцнер А.А. Гемагглютинирующая и адгезивная способность штаммов клебсиелл и эитеробактер. Журн. микробиол, 1987,7:3-6.
 33. Бондаренко В.М. «Острова» патогенности бактерий. Журн. микробиол. 2001,4; 67 -74.

34. Бондаренко В.М. Факторы патогенности бактерий и их роль в развитии инфекционного процесса. Журн. микробиол 1999, 5: 34 -39.
35. Бондаренко В.М., Голубев А.В. Гемолизины энтеробактерий и их связь с вирулентностью возбудителя. Журн. микробиол. 1988, 11: 102 -109.
36. Брилис В. И., Брилене Т. А., Ленцнер Х. П. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов// Лабораторное дело. - 1986. - № 4. - С 210-212.
37. Буданов П.В., Баев О.Р., Пашков В.М. Нарушения микроценоза влагалища. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии 2005; 4(2): 78-88.
38. Буланов Р. Л. Особенности клиничко – микробиологической адаптации новорожденных при оперативном родоразрешении// Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук Архангельск – 2008 22 с
39. Булатова Е.М. Становление кишечной микрофлоры в постнатальном периоде и её значение в формировании адаптивного иммунного ответа и иммунологической толерантности\\ Вопросы современной педиатрии - 2007. - т.6. - №3. - с.53-61
40. Быков В.Л. /Этиология, эпидемиология и патогенез кандидозного вульвовагинита/ Акушерство и гинекология, 1986.- №9, С. 5-7.
41. Вихирева, З.Н. Клинические проявления дисбактериоза у новорожденных и грудных детей. - М., 1983.
42. Влияние нарушений микроэкологии кишечника матери на становление микробиоценоза кишечника в неонатальном периоде у ребенка родившегося путем операции кесарево сечение / Р. Л. Буланов, Г. Н. Чумакова, Т. А. Бажукова, О. В. Лебедева // Развитие сестринского дела в свете реализации национальных проектов : материалы межрегион. науч.-практ. конф. – Архангельск, 2008. – С. 15–16.
43. Волков И.И. Совершенствование микробиологической диагностики стафилококковых инерекций и экологические аспекты их возбудителей: Автор. дис.... канд. мед. наук. – С-Петербург, 1999. – 29 с.

44. Воробьев, А.А. Дисбактериозы у детей / А.А. Воробьев, С.Г. Паг // Учеб. пособие. М.: КМК Лтд., 1998. 64 с.
45. Врожденные, перинатальные и неонатальные инфекции / под ред. А. Гриноу, Дж. Осборна, Ш. Сазерленд. М.: Медицина, 2000. 288 с.
46. Выделение, идентификация и определение чувствительности к антибиотикам *H.mfeluenzae* //Методические рекомендации. – Смоленск, 2002. – 6 с.
47. Генетические маркеры патогенности условно патогенных энтеробактерий, выделенных у детей и подростков при острых кишечных инфекциях. Жеребцова н.ю., Баймиев А.Х., Валишин Д.А., Мавзютов А.Р.// Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2007. № 2. С. 3-8.
48. Генитальные инфекции и патология шейки матки. Клинические лекции. Под ред. В.Н. Прилепской, Е.Б. Рудаковой. Омск 2004; 212.
49. Генитальные инфекции. Стрижаков А.Н., Давыдов А.И., Баев О.Р., Буданов П.В. М.: Издательский дом "Династия", Москва, 2003,140 с.
50. Гизатуллина С.С, Биргер М.О., Колышкина Н.А. Некоторые биологические свойства энтеробактерий, выделенных от больных с диареей. Журн. микробиол. 1988, 2: 13 -17
51. Грачева Н.М., Партин О.С., Щербаков И.Т.. Дисбактериоз кишечника у взрослых: клинико-лабораторные аспекты, диагностика, лечебные мероприятия\\ Медицинский научный и учебно - методический журнал, N 37, апрель 2007 г.,С. 100 - 116
52. Грачева Н.М., Петрова М.С., Москалева Т.Н., Амерханова А.М. и др., Новые препараты «Бифидумбактерин-Мульти» в практике лечения дисбактериозов кишечника у детей//Вопросы детской диетологии. -2003. -Т. 1, № 5. -С. 68-69.
53. Гудкова Е.И., Адарченко А.А., Слабко И.Н., ЛасточкинаТ.М., Симоненко Л.И. Формирование устойчивости к антисептикам и дезинфектантам возбудителей внутрибольничных инфекций и её

- микробиологический мониторинг // Белорусский медицинский журнал. – 2003.- №3. – С. 57-60.
54. Дещекина М.Ф., Коршунов В.М., Демин В.Ф. и др. Новые возможности защиты новорожденных детей от контаминации условно-патогенными микроорганизмами.- Педиатрия. 1993. - №4.
55. Дисбактериозы у детей. (Методические пособия для курсантов). Сост. Лымарева Т.А.- Оренбург, 1993.
56. Жеребцова Н.Ю., Валишин Д.А., Мавзютов А.Р. Перспектива генетической оценки потенциальной патогенности условно-патогенных энтеробактерий, выделенных при острых кишечных инфекциях// Клиническая лабораторная диагностика. 2006. № 9. С. 50-51.
57. Журавлев В.Н., Ахметова Л.И., Сехин С.В. Правила сбора мочи для бактериологического исследования и интерпретация его результатов // Клин.микробиол. и антибактер.химиотерапия.–1999. – Т.1. – С.109-112.
58. Захарова Ю.А., А.М. Николаева, И.В. Фельдблюм ведущие факторы риска развития внутрибольничных гнойно-септических инфекций в акушерских стационарах// Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2007, 6, 72-75
59. Захарова Ю.А. Оценка иммунного статуса родильниц и новорожденных при микробной колонизации условно-патогенной флорой// Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. 2008. № 4. С. 47-53.
60. Захарова, Ю.А. Характеристика микрофлоры заушной складки новорожденного в родах и ранний неонатальный период / Ю.А. Захарова, И.В. Фельдблюм // Здоровье населения и среда обитания (ежемесячный информационный бюллетень). – 2007. – №6 (171). – С. 18–23.
61. Захарова, Ю.А. Характеристика микрофлоры плацентарной ткани и вагинальных секретов беременных, рожениц и родильниц / Ю.А. Захарова, И.В. Фельдблюм, М.М. Падруль и др. // Пермский медицинский журнал. – 2006. – №3 (23). – С. 61–67.

62. Знаменська Т.К., Фленко Л.Л. Грибкова шфекція новонародженого при хронічній урогенітальній патологш матері // Педіатрія, акуш. і гшекол. — 1997. — № 4.— С. 31 - 32.
63. Значение обнаружения геномных маркеров островов патогенности у *Escherichia coli* в урологической практике. Вершинин А.Е., Бондаренко В.М., Ходырева Л.А., Перепанова Т.С.// Клиническая лабораторная диагностика. 2006. № 10. С. 50-51.
64. Зубков М.Н. Сбор, транспортировка биологического материала и трактовка результатов микробиологических исследований // Клин.микробиол. и антибактер. химиотерапия. — 2004. — Т.6. - №2. — С.143-154.
65. Зубов Л.А., Богданов Ю.М. Современные проблемы антибиотикорезистентнос-ти в педиатрической клинике // Антибиотики и химиотерапия. — 1998. — Т. 43, № 4. — С. 43 – 49
66. Инструкция к приказу №155 от 18.04.95 - Бактериологический контроль качества проведения санитарно-противоэпидемических мероприятий в акушерских стационарах. – Ташкент, 1995.
67. Инфекционные болезни у детей: под ред. В.Н.Тимченко. - СПб, "СпецЛит", 2006. - С. 368-377.
68. Исхакова Х.И. и соавт. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам диско-диффузионным методом. - Методические указания №012-3/0093.–Ташкент,2007. – 40 с.
69. Исхакова Х.И., Нурузова З.А., Шарипов Г.Т. Стафилококки как возбудители инфекций у людей и их антибиотикочувствительность // Мед. Журнал Узбекистана. – 2002. - №5-6. – С.103-104.
70. Исхакова Х.И., Эшчанова Ф.Р., Шадманова Н.А., Вахидова Х.М. Оксациллинрезистентность коагулазоотрицательных стафилококков (КОС), выделенных из носоглотки медперсонала// Акт. пробл. диагностики, лечения и профилактики инфекционных и паразитарных заболеваний: Мат. V-Междунар. научно-практ.конф. - Ташкент, 2009. – С.132.

71. Кашкин К.П, Кубась В.Г. / Молекулярные механизмы патогенеза и имму-нитет при кандидозе/ Вестник дерматологии и венерологии, 1992.- №6, С. 22-26.
72. Кира Е.Ф. Бактериальный вагиноз (клиника, диагностика, лечение) //Автореф. дисс. д.м.н. – СПб. – 1995. - 40 с.
73. Кира Е.Ф. Бактериальный вагиноз: клиника, диагностика, лечение: дисс. ... д-ра мед. наук. - СПб., 1995. - 297 с.
74. Клинико-микробиологическая характеристика диады «мать – дитя» при оперативном родоразрешении / Р. Л. Буланов, Г. Н. Чумакова, Т. А. Бажукова, О. В. Лебедева // Экология человека – 2008. – № 7. – С. 18–23.
75. Клинические рекомендации. Акушерство и гинекология / под ред. В. И. Кулакова. М.: ГЭОТАР - Медиа, 2006. Вып. 2. 560 с.
76. Коломойцева Т.Н. Особенности микробного пейзажа влагалища женщин репродуктивного возраста в условиях колонизации грибами рода *Candida*/ Т.Н. Коломойцева// Новые технологии в охране репродуктивного здоровья: Материалы региональной научно-практической конференции.- Пермь, 2003.-С. 61-64.
77. Копанев Ю.А., Соколов А.Л. Дисбактериоз кишечника: микробиологические, иммунологические и клинические аспекты микрoэкологических нарушений у детей. Москва. 2002.
78. Коровина Н. А. и соавт. Пребиотики и пробиотики при нарушениях кишечного микробиоценоза у детей. Пособие. Москва. 2004. 51 с.
79. Коровина, Н.А. Роль пребиотиков и пробиотиков в функциональном питании детей / Н.А. Коровина, И.Н. Захарова, Н.Е. Малова и др. // Лечащий врач. 2005. № 2. С.46-52.
80. Коршунов В. М., Володин Н. Н., Ефимов Б. А., Саркисов С. Э. и др. Микрoэкология влагалища. Коррекция микрофлоры при вагинальных дисбактериозах, Москва. – 1999. – 80с.
81. Коршунов, В.В. Нормальная микрофлора кишечника. Диагностика, профилактика и лечение дисбактериозов кишечника / В.В. Коршунов, Н. Н.Володин, Б. А. Ефимов и др.//Учеб.пособие. М: МЗ РФ, 1999. 80 с.

82. Косикова С.Е.. Влияние внутриутробной инфекции на фетоплацентарный комплекс, течение беременности и родов // Вестник РГМУ, Секция «Акушерство и гинекология», - 2006, №2/49/ - с.222
83. Красильников А.П. Справочник по антисептике.- Минск: Вышэйшая школа.- 1995.- С.187-196.
84. Куваева, И. Б. Микроэкологические и иммунные нарушения у детей / И. Б. Куваева, К.С. Ладодо. М.: Медицина, 1991. 240 с.
85. Кулаков В.И., Орджоникидзе Н.В., Тютюнник В.Л. Плацентарная недостаточность и инфекция. М., 2004. 494 с.
86. Курилова А. А., Проскурина В. А., Майская В. Д. Неоднородность штаммов *Bacillus anthracis* по способности к адгезии// Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. - 2004. - №3. - С.81-83.
87. Кушнарера М.В., Кишищян Е.С., Соболева С.В. Эффективность применения препарата иммунного лактоглобулина для коррекции дисбактериоза кишечника у новорожденных детей. Журн.микробиол. 1995-№3.
88. Литяева Л.А. Бактериологические исследования микрофлоры кишечника беременных женщин группы риска //Клин. лаб. диагн. – 1993. - №4. - С. 68-70.
89. Литяева Л.А. Микроэкологические подходы профилактики инфекционных заболеваний у новорожденных. Педиатрия. 1993. №3.
90. Мавзютов А.Р., Фиалкина С.В., Бондаренко В.М. «Острова» патогенности условно-патогенных энтеробактерий// Журн. микробиол. - 2002. - № 6. – С. 5-9.
91. Мавзютов А.Р., Фиалкина СВ., Бондаренко В.М. «Острова» патогенности условно патогенных энтеробактерий. Журн. микробиол. 2002, 6: 5 -9.
92. Маматкулов И.Х., Джалалов У.Д. Микробная экология кишечника беременных женщин в летний и осенний периоды года //ЖМЭИ. – 1997. - №2. - С. 86-87.
93. Мамонова ЛХ., Лизько Н Н, Кривова С.Г., Копылова В.И. Формирование микрофлоры кишечника новорожденных при различных видах вскармливания. Теор и клин. аспекты науки о питании. М., 1985. Т 6

94. Махрова Т. В., Заславская М. И., Маянский А. Н. Влияние метаболитов стафилококков на адгезивные реакции в системе “Candida albicans – буккальные эпителиоциты” // Журн.микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2004. - №5. - С.4-7.
95. Медицинская микробиология /Под. ред. В.И. Покровского, О.К. Поздеева – М.:ГОЭТАР Медицина. – 1998. – 183-92.
96. Меньшиков Д.Д., Меньшикова Е.Д. Тест-методы как одно из направлений в диагностике антибиотикорезистентности микроорганизмов // Клинич. лабор. диагностика. – 2002. - №6. – С.35-37.
97. Методические рекомендации “Определение родовой и видовой принадлежности условно-патогенных энтеробактерий, выявленных при гнойно-воспалительных заболеваний и острых кишечных инфекциях”/Х.И.Исхакова, З.А.Нурузова, Х.В.Вахидова, Н.А.Шадманова. – Ташкент, 2002. – 14 с.
98. Методические указания по определению чувствительности микроорганизмов к антибиотикам методом диффузии в агар с использованием дисков. - Москва, 1983. - №26 75-83.
99. Методические указания по определению чувствительности микроорганизмов к антибиотикам диско-диффузионным методом. – Ташкент, 2003. – 15 с.
100. Мехтиев, С.Н. Дисбактериоз кишечника. Вопросы и ответы / С.Н. Мехтиев, В.Б. Гриневич, С. М. Захарченко // Учеб. пособие. М., 2006. 63с.
101. Микробиологическая диагностика острых кишечных инфекций. Руководство для врачей /Под ред. Меджидова М.М., Исхаковой Х.И. – Ташкент: Абу Али ибн Сино, 1998. – 201 с.
102. Микрoэкологические аспекты репродуктивного здоровья женщины и современные подходы к его поддержанию // Венцковский Б.М., Товстановская В.А., Янковский Д.С., Дымент Г.С. // Здоровье женщины. — 2002. — №3 (11). — С. 86 - 91.
103. Мирзабалаева А.К, Игнатъева С.М. Соколова Г.А. /Новые аспекты иммунодиагностики генитального кандидоза/

- Журнал акушерства и женских болезней. Спец выпуск.- 1998: С. 100-101.
104. Молочко В.А., Ласточкина Т.М. /Динамика высеваемости кандид из дыхательных путей больных хроническими воспалительными бронхолегочными заболеваниями/ Ж. Здоровоохранение Белоруссии, 1988.- №4, С. 6-8.
 105. Мощин С.П, Чернышева Л.И., Знаменский и др. Особенности становления микрофлоры у новорожденного в раннем неонатальном периоде. Вопр. охр. мат.1988 №1
 106. Муравьева В.В. Микробиологическая диагностика бактериального вагиноза у женщин репродуктивного возраста. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1997; 23.
 107. Мусина Л.Т., Семина Н.А., Гладкова К.К. Микробиологический мониторинг за внутрибольничными гнойно-септическими инфекциями у новорожденных и родительниц //Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 1996. - №2. – С.91-94.
 108. Мухамеджанова Д.К. Структура возбудителей гнойно-септических заболеваний у недоношенных детей и их чувствительность к широко применяемым антибиотикам // Инфекция, иммунитет и фармакология. – 2004. - №2. – С.176-179.
 109. Мухамедов И., Неъматов А., Рахмонов Х. Микроэкология важнейших биотопов тела человека.\\ Ташкент. «Янги аср авлоди», 2007 год.–464 с.
 110. Мухамедов И.М., Махкамова Д.Э., Мухамедов Б.И. Микроэкология влагалища её нарушения и пути их коррекции //Учебное пособие. - Ташкент. - 2004. – 119 с.
 111. Навашин С.М. Фомина И.П. /Основы рациональной антибиотикотерапии/
 112. Назарова Е.К., Гиммельфарб Е.И., Созаева Л.Г. Дисбактериозы влагалища: этиология, патогенез, клиника, лабораторная диагностика. М. –2000. – 7с.
 113. Нетребенко О.К. Развитие и укрепление иммунитета в первый, решающий год жизни, раздел -«Эволюция кишечной микрофлоры». Информация только для медицинских работников, 2005.

114. Никитенко В.И., Сапрыкин В.Б., Матвеева О.И. и др. Новые данные о механизме формирования и регулирующей роли нормальной микрофлоры кишечника у детей//Гастроэнтерология. -2004. -Т. 2-3. Материалы 6-го Международного Славяно-Балтийского научного форума «Санкт-Петербург -Гастро-2004». -101 с.
115. Никонов А.П., Асцатурова О.Р. Вульвовагиниты (в помощь практическому врачу). Гинекология 2002; 4(3): 122-5.
116. Никонов А.П., Асцатурова О.Р., Жуманова Е.Н. Вульвовагинальная инфекция // Трудный пациент. – 2004. – № 5. – С. 15-19.
117. Нобл У.К. Микробиология кожи человека: Пер. с англ. - М., Медицина, 1986. – 496 с.
118. Новый взгляд на дисбиозы у новорожденных детей / Акоев Ю.С., Сенцова Т.Б., Яцын Г.В. и др. // Рос. педиатр. ж. — 2000. — № 5. — С. 13 - 14.
119. Нурузова З.А. Роль микрофлоры матери в формировании микробиоценоза новорожденного //Медицинский журнал Узбекистана. – 2001. - №4. - С. 47-50.
120. Нурузова З.А. Современные возбудители гнойно-септических и гнойно-воспалительных заболеваний и их биологические свойства //Инфекция, иммунитет и фармакология. – 2004. - №1. – С.28-30.
121. Олина А. А. Неспецифические инфекционные заболевания влагалища (медико-социальные, этиологические, клинικο-диагностические особенности) //автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук.- Пермь, 2009
122. Олина А.А. Кристаллография влагалищной жидкости в дифференциальной диагностике бактериального вагиноза и вагинита / А.А. Олина, Т.И. Карпунина, Н.В. Чемурзиева // Пермский медицинский журнал. – 2008. – №5. – С. 91–94.
123. Олина А.А. Показатели местного иммунитета при бактериальном вагинозе / А.А. Олина, Т.И. Карпунина // Вестник уральский медицинской академической науки. – 2006. – № 3–1 (14). – С. 168–169.
124. Олина, А.А. Применение метода кристаллографии для изучения влагалищной жидкости при неспецифических

- инфекционных заболеваниях влагалища / А.А. Олина, Т.И. Карпунина, Н.В. Чемурзиева // Актуальные проблемы клинической и экспериментальной медицины: материалы Всерос. науч.-практ. конф. – Чита, 2008. – С. 87–88.
125. Олина А.А. Применение метода кристаллографии для изучения влагалищной жидкости / А.А. Олина, Т.И. Карпунина // Вестник новых медицинских технологий. – 2008. – Т. XV. – №4. – С. 116–117.
126. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания. МУК 4.2 1890-04. //Клин. микробиол. и антимикроб. химиотерапия. – 2004. Т.6. - №4. – С. 306-359.
127. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным средствам. – Методические рекомендации. – МУК 4.2. – РФ. - 1890-04.
128. Определитель бактерий Берджи (пер. с англ.) Под ред. Дж.Хоулта, Н.Крига, П. Снита, Дж. Стейли и С.Уильямса. – Москва:Мир, 1997. – Т.1-2.
129. Определитель бактерий Берджи. В 2т. / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уилльямса. – М.: Мир, 1997. – т.1. – 432с; т.2 – 368с.
130. Основы инфекционного контроля: Практическое руководство. Под ред. Бурганской Е.А., 1997, American International Health Alliance, С. 175.
131. Особенности становления микробиоценоза зева у детей, родившихся путём операции кесарева сечения / Р. Л. Буланов, Г. Н. Чумакова, Т. А. Бажукова, О. В. Лебедева // Бюл. СГМУ. – 2008. – № 1. – С. 99–100.
132. Особенности формирования микроэкологии новорожденного при абдоминальном родоразрешении / Р. Л. Буланов, Г. Н. Чумакова, Т. А. Бажукова, О. В. Лебедева //Экология человека– 2008. – № 9. – С. 37–41.
133. От унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений //Приказ МЗСССР №535 от 22.04.1985.
134. Перинатальные инфекции: практич. пособие / под ред. А.Я. Сенчука, З.М. Дубоссарской. М.: МИА, 2005. 318 с.

135. Пестрикова Т.Ю., Молодцова Л.Ю. Принципы терапии бактериального вагиноза и вагинального кандидоза у беременных. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии 2006; 5(6): 81¹.
136. Петровская В.Г., Бондаренко В.М. Адгезины энтеротоксигенных кишечных палочек: роль в патогенезе диарей и генетический контроль. Журн. микробиол. 1990, 5: ПО -117.
137. Побединский Н.М., Аксенова О.А., Аксенова М.Г., Молочков В.А. Клинико-бактериологическое обоснование комплексного лечения бактериального вагиноза у женщин репродуктивного возраста // Акушерство и гинекология. – 2006. – № 6. – С. 24-26.
138. Покровский В.И. Медицинская микробиология. Москва: Гэотар-Медицина. 1998, 1183.
139. Полянский А. Антимикробные пептиды: альтернатива консервантам и антибиотикам? Косметика и медицина, 2008. - 1, с. 16—21;
140. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии /Под ред. Л.С. Страчунского, Ю.Б. Белоусова, С.Н. Козлова. – М.: Боргес, 2002. – 384 с.
141. Прилепская В.Н. Особенности инфекционных процессов нижнего отдела половых путей. Возможности терапии препаратами для локального применения. Гинекология 2000; 2(2): 57-9.
142. Прилепская В.Н., Байрамова Г.Р. /Современные представления о вагинальном кандидозе/ Русский медицинский журнал т.6; №5, 1998, С. 1-10.
143. Прилепская В.Н., /Генитальный кандидоз. Современные подходы к лечению/ Акушерство и гинекология.- 1996.- №6 С.28-29.
144. Прилепская В.Н., Байрамова Г.Р. Этиопатогенез, диагностика и современные направления в лечении бактериального вагиноза // Русский медицинский журнал. – 2002. – Т. 10, № 18.– С. 705-797
145. Применение комплекса иммунных и бактериальных препаратов беременным женщинам группы риска для направленного формирования микрофлоры кишечника

- новорожденных детей (Методические рекомендации). Сост. Литяева В.А. и др. Оренбург, 1992.
146. Применение пробиотиков в комплексной терапии и профилактике воспалительных заболеваний в акушерстве и гинекологии: Метод. рекомендации / Венцовский Б.М., Товстановская В.А., Гуцуляк Р.В., Янковский Д.С., Дымент Г.С. — К., 2001. — 28 с.
 147. Пронина Е.В, Караев З.О, Алферов В.П. /Повышенная чувствительность к грибам рода Candida у больных бронхиальной астмой/ Педиатрия, 1990.- №5, С. 14-16.
 148. Редько С.В. Современные особенности этиологической структуры гнойно-септических инфекций новорожденных. // Актуал. вопр. инфекц. патол. и вакцинопроф. у детей. Матер. IV Российского конгресса детских инфекц. - Москва, 2005. - С. 153-154.
 149. Репина М.А, Садовый О.Т, Сафронова М.М. /К вопросу о диагностике и лечении генитального кандидоза/ Акушерство и гинекология, 1985.- №7, С. 14-17.
 150. Роговская С.И., Прилепская В.Н., Байрамова Г.Р. /Опыт применения дифлюкана при лечении генитального кандидоза/ Вестник Российской ассоциации акушеров-гинекологов, 1997.- №1 С.100-101.
 151. Роль условно-патогенной флоры в развитии гнойно-септических процессов у новорожденных / Е. Н. Анисимова, Р. Л. Буланов // Бюл. СГМУ. – 2003. –№ 2. – С. 124–125.
 152. Руководство по акушерству / И. С. Сидорова, В. И. Кулаков, И. О. Макаров. М.: Медицина, 2006. 1036 с.
 153. Серов В.Н. Профилактика осложнений беременности и родов // Русский медицинский журнал. – 2003. – № 16. – С. 889-892.
 154. Сидоренко С.В. Исследования распространения антибиотикорезистентности: практическое значение для медицины // Инфекции и антимикробная терапия. – 2002. – Т4. - №2. – С.5-11.
 155. Сидоренко С.В. Клиническое значение антибиотикорезистентности грамположительных микроорганизмов //Инфекции и антимикробная терапия. – 2003. – Т.5. - №2. – С.48-63.

156. Сидорова И.С., Воробьев А.А., Боровкова Е.И. Микробиоценоз половых путей женщин репродуктивного возраста//Акушерство и гинекология. -2005. -№ 2. -С. 7-9.
157. Симчера И.А. Бактериальный кандидоз у беременных //ЗППП. – 1999. - №3. - С. 37 - 40.
158. Соколова К.Я., Соловьева И.В., Попова Е.В. и др.// Аутофлора человека в норме и патологии и ее коррекция: Сб. науч. трудов/ Под ред. И.Н. Блохиной. Горький, 1988. С. 144-148.
159. Старостина Т.А., Анкирская А.С., Демидов Е.М. Терапия бактериального вагиноза в 1 триместре беременности // Акушерство и гинекология. – 2002. – № 4. – С. 41-45.
160. Стрижаков А. Н., Баев О. Р., Буданов П. В. Система обследования и лечения беременных с нарушениями микроценоза родовых путей, инфекциями, передаваемыми половым путем, и восходящим инфицированием плода // Акушерство и гинекология, № 1. – 2003. – С. 47-52.
161. Стрижаков А.Н., Буданов П.В. Состояние микроценоза влагалища и способы коррекции его нарушений во время беременности//Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии, 2007, т. 6, №5
162. Суворов А.Н., Савичева А.М., Глушанова А.В., Оганян К.А., Грабовская К.Б., Алайцева О.В., Зациорская С.Л., Ферретти Д., Аржанова О.Н.// Журнал акушерства и женских болезней. 2005. Т. LIV. № 2. С. 50-55.
163. Титов Л.П., Адарченко А.А., Гудкова Е.И., Микробиологический мониторинг устойчивости возбудителей внутрибольничных инфекций к антимикробным препаратам.//Мед. новости. – 1999. - №8. – С. 8-10.
164. Уварова Е.В., Латыпова Н.Х. Применение препарата Гексикон в лечении воспалительных заболеваний влагалища неспецифической этиологии. Репродуктивное здоровье детей и подростков. 2007; 4: 32-6.
165. Урсова Н.И. Дисбактериозы кишечника у детей: рук-во для практикующих врачей. - М., "Компания БОРГЕС", 2006. - 239 с.

166. Факторы патогенности оппортунистических энтеробактерий и их роль в развитии диареи. Мавзютов А.Р., Бондаренко В.М., Жеребцова Н.Ю., Валишин Д.А.// Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2007. № 1. С. 89-96.
167. Фельдман Ю.М., Моханева Л.Г., Шапиро А.В. Количественное определение бактерий в клинических материалах //Лаб. дело. – 1984. - №10. – С.616-618.
168. Фризе К., Кахель В. Инфекционные заболевания беременных и новорожденных. М.: Медицина, 2003. 423 с.
169. Фримель Х., Брок И. Основы иммунологии: Пер. с нем. - М: Мир, 1986.-254с.
170. Хавкин А.И., Бельмер С.В. Микроэкология кишечника: методы неспецифической коррекции. РМЖ 2003. № 13 (185)
171. Хмельницкий О.К. О кандидозе слизистых оболочек. Архив патологии, 2000, Т 62, №6, С 3-10.
172. Цвелев Ю.В., Кочеровец В.И., Кира Е.Ф. и др. Анаэробная инфекция в акушерско–гинекологической практике. Санкт–Петербург: Питер 1995; 313.
173. Цинзерлинг В.А., Мельникова В.Ф. Перинатальные инфекции (Вопросы патогенеза, морфологической диагностики и клинико-морфологических сопоставлений): практич. руководство. СПб.: Элби СПб., 2002. 352 с.
174. Шабалов Н.П. Неонатология. -М.: «Медпресс-информ», 2004.-С. 128-129.
175. Шабашова Н.В. Новый взгляд на иммуногенез хронического кандидоза. Проблемы медицинской микологии.- 1999.- Т. 1, №1.- С. 18-23.
176. Шевяков М.А. Диагностика и лечение кандидоза кишечника.\ Терапевтический архив, 2003.- №11.- С. 77-79
177. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Том 1: Микрофлора человека и животных и ее функции. М., Грантъ, 1998; 288.
178. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Москва. 2001.
179. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Т. II: Социально-экологические и

- клинические последствия дисбаланса микробной экологии человека и животных. - М.: ГРАНТЬ, 1998. - 416 с.
180. Энтерококковое носительство и антибиотикорезистентность в отделении выхаживания недоношенных новорожденных / Дехнич А.В., Кречикова О.И., Туркова Л.И., Страчунский Л.С. // Клинич. микробиол. и антимикроб. химиотерапия. — 2001. — № 1.— С. 28 - 38.
 181. Эшчанова Ф.Р. Частота носоглоточного носительства *S.aureus* среди персонала лечебно-профилактических учреждений хирургического профиля// Материалы конференции молодых ученых: Сб. тез. – Ташкент, 2008. – С.106-107.
 182. Юсупов У.Ю. Основы развития акушерских и перинатальных осложнений при дисбактериозе кишечника и влагалища //Автореф. дисс. д.м.н. – Ташкент. – 2000. – 31 с.
 183. Abbot J. Clinical and microscopic of vaginal yeast infection: a prospective analysis /Ann. Emerg. Med. - 1995. - №25 (5). - P. 587-591
 184. Abbot S. Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter and Serratia //Manual of Clinic Microbiology, 7 ed, - 1999. – P.475-483.
 185. Adlerberth I, Lindberg E, Aberg N, Hesselmar B, Saalman R, Strannegard IL, Wold AE. Reduced enterobacterial and increased staphylococcal colonization of the infantile bowel: an effect of hygienic lifestyle? *Pediatr Res.* 2006;59:96–101.
 186. Baird-Parker A.C. A classification of micrococci and staphylococci based on physiological and biochemical tests. – *Journal of General Microbiology*, 1963, 30, 409
 187. Bergey,s. Manual of systematic bacteriology /9th – vol.1 and vol.2 – Baltimore Honkong-London-Sudney. Williams a Wilkins Co., - 1984, 1986.
 188. Bezirdzoglu E. The intestinal microflora during the first weeks of life//*Anaerobe.* -1997. -V. 3. -P. 173-177.
 189. Behrendt H., Green M. Patterns of Skin pH from Birth Through Adolescence. Springfield, Illinois: Thomas, 1971
 190. Caramia G., Atzei A., Fanos V. Probiotics and the skin. *Clin. Dermatol.* 2008. - 26, P. 4—11;

191. Cater R.E. Chronic infestinal candidiasis as a possible etiological factor in the chronic fatigue syndrome. *Med. Hypotheses*. - 1995.- V.44. - P.507-515.
192. Chaim W., Bashiri A., Bar-David J. et al. Prevalence and Clinical Significance of Postpartum Endometritis and Wound Infection. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2000; 8:77-82.
193. Clamp J.R. The relationship between the immune system and mucus in the protection of mucous membranes // *Biochem. Soc. Trans.* - 1984. - V. 12. -N5.-P. 754-756.
194. Clinical presentation of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pregnancy /Laibl V., Sheffied J., Roberts S. et al. - *Obstet Gynecol*. 2005. – V.106. – P. 461-465.
195. Coagulase-negative staphylococci: clinical, microbiological and molecular features to predict true bacteraemia /Garcia P., Benitez R., Lam M. et al. - *J. Med Microbiol.* – 2004. №53. – P.67-72.
196. Dismukes W.E, Wade J.S, Lee J.Y., Dockery B.C, Hain J.D. A randomised, double-blind trial of nystatin therapy for the candidiasis hypersensitivity syndrome. *The New England Journal of Medicine*, Vol. 323:1717-1723, 1990, N25.
197. Domenguez E., Zarazaga, Torres C. Antibiotic resistance in *Staphylococcus* isolates obtained from fecal samples of healthy children// *J of clinical of microbiology*. – 2002. – V.40. - N7. – P. 2638-2641.
198. Dozois C.M., Clement S., Desautels C. et al. Expression of P, S, and F1C adhesins by cytotoxic necrotizing factor 1-producing *Escherichia coli* from septicemic and diarrheic pigs. *FEMS Microbiol. Lett.* 1997, 152: 307 -312.
199. Dubreuil J.D. *Escherichia coli* STb enterotoxin. *Microbiology*. 1997, 143: 1783-1795.
200. Dura W.T., Bernatowska E. Secretory component, 1-antitrypsin and lysozyme in Ig A deficient children. An immunohistochemical evaluation of intestinal mucosa // *Histopathology*. - 1984. - V.8. - N 5. - P. 747 - 754.
201. Edwards C.A., Parret A.M. Intestinal flora during the first months of life: new perspectives//*Br. J. Nutr.* -2002. -V. 88, № 11. -R 11-18.
202. Elliott S.J., Srinivas S., Albert M.J, et al. Characterization of the roles of hemolysin and other toxins in enteropathy caused by

- alpha-hemolytic *Escherichia coli* linked to human diarrhea. *Infect. Immun.* 1998,66:2040. -2051
203. Engberts M.K., Boon M.E., van Haaften M., Heintz A.P. Symptomatic candidiasis: Using self sampled vaginal smears to establish the presence of *Candida*, lactobacilli, and *Gardnerella vaginalis*. *Diagn Cytopathol.* 2007 Oct; 35(10): 635-9.
 204. Evans C.A., Mattern K.L. The bacterial flora of the antecubital fossa: the efficacy of alcohol disinfection at this site, the palm and the forehead. – *Journal of Investigative Dermatology*, 1980, 75, 45
 205. Fagarasan S. Regulation of IgA synthesis at mucosal surfaces//*Curr. Opin. Immunol.* -2004. -V. 16, № 3. -P. 277-283.
 206. Fanaro S., Chierici R., Guerrini P. et al. Intestinal microflora in early infancy: composition and development//*Acta. Paediat.* - 2003. -V. 91, № 441. -P. 48-55.
 207. Farmer J.J. Enterobacteriaceae: introduction and identification //*Manual of Microbiology*, 7 ed, - 1999. – P.442-459.
 208. Favier CF, de Vos WM, Akkermans AD. Development of bacterial and bifidobacterial communities in feces of newborn babies. *Anaerobe.* 2003;9:219–29.
 209. Field CJ. The immunological components of human milk and their effect on immune development in infants//*J. Nutr.* -2005. - V. 135, № 1. -P. 1-4.
 210. Gao Z., Tseng C.H., Pei Z., Blaser M.J. Molecular analysis of human forearm superficial skin bacterial biota. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2007. - 104, P. 2927—2932;
 211. Gardner H.L., Dukes C.D. Bacterial vaginosis: drugs Versus alternativ treatment /*Am J. Obstet. Gynecol*-1995.-Vol. 69. №6.- P. 962-976.
 212. Georgijevic A., Cjukic-Ivancevic S., Bujko M. Bacterial vaginosis. Epidemiology and risk factors. *Srp Arh Celok Lek* 2000; 128:1-2: 29-33.
 213. Gibbs R.S. Chorioamnionitis and bacterial vaginosis // *Am. J. Obstet. Gynecol.* - 1993. - Vol.169, № 2. - Pt. 2. - P. 460-462.
 214. Gibbs R.S., Sweet R.S. Infection diseases of the female genital tract. - 3rd ed. - 1995. - 792 p.
 215. Grice E.A., Kong H.H., Renaud G., Young A.C. NISC Comparative Sequencing Program; Bouffard G.G.,

- Blakesley R.W., Wolfsberg T.G., Turner M.L., Segre J.A. A diversity profile of the human skin microbiota. *Genome Res.* 2008. - 18, P. 1043—1050;
216. Gronlund MM, Lehtonen OP, Eerola E, Kero P. Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1999;28:19–25.
 217. Hanson L.A. The transfer of immunity from mother to child//*Ann. N.Y. Acad. Sci.* -2003. -V. 987. -P. 199-206.
 218. Hanson L.A., Korotkova M. The role of breastfeeding in prevention of neonatal infection//*Semin Neonatol.* -2002. -V. 7, № 4. -P. 275-281.
 219. Hartmann AA. The influence of various factors on the human resident skin flora. *Semin Dermatol.* 1990 Dec;9(4):305-8
 220. Hernandez G.E., Zamora P.F., Martinez A.M., et al. Epidemiologic, clinical and microbiological characteristics of nosocomial urinary infection in the spinal cord lesioned patient. *Adas Urol Esp.* 2007 Jul-Aug; 31(7): 764-70.
 221. Hill G.B. Microbiology of bacterial vaginosis/ *Am. J. Obstet. Gynecol.* -1993- 169 - P. 450 - 454.
 222. Hillier SL, Nugent RP, Eschendach DA, et al. Association between bacterial vaginosis and preterm delivery of a low-birth-weight infant. *N Engl J Med* 1995;333:1737-42.
 223. Hogan V.K., Culhane J.F., Hitti J., et al. Relative performance of three methods for diagnosing bacterial vaginosis during pregnancy. *Matern Child Health J.* 2007 Sep 15.
 224. Holt R.J. Aerobic bacterial counts on human skin after bathing. – *Journal of Medical Microbiology*, 1971, 4, 319
 225. In vitro susceptibilities of aerobic and facultative Gram-negative bacilli isolated from patients with intra-abdominal infections worldwide: the 2003 Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) /Paterson D.L., Rossi F., Baquero F. et al.//*J. Antimicrob Chemother.* – 2005. – V. 55. - P.965-973.
 226. Jacob-Dubuisson F., Locht C., Antoine R. Two-partner secretion in gram-negative bacterial: a thrifty, specific pathway for large virulence proteins. *Mol. Microbiol.* 2001. - V. 40 (2). – P. 306-313.

227. Jiang T., Suarez F.L, Levitt M.D. et al. Gas production by feces of infants//J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. -2001. -V. 32, № 5. -P. 534-541.
228. John Harper , Arnold P. Oranje, Neil S. Prose. Textbook of Pediatric Dermatology, Wiley-Blackwell, 2006: 2251p.
229. Johnson J., Owens K., Qajewski A. Bacterial characteristics in relation of clinical source of Escherichia coli isolates from women with acute cystitis or pyelonephritis and uninfected women //J. of Clinical Microbiology. – 2005. – N 12. – V. 43. – P.6064-6072.
230. Juntunen M., Kirjavainen P.V., Ouwehand A.C., Salminen S.J., Isolauri E. Adherence of probiotic bacteria to human intestinal mucus in healthy infants and during rotavirus infection. 2001. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology 8: 293-296.
231. Keyworth N, M R Millar, and K T Holland Development of cutaneous microflora in premature neonates. Arch Dis Child. 1992 July; 67(7 Spec No): 797–801.
232. Kloss W.E., Bannerman T.Z. Staphylococcus and Micrococcus //Manual of Microbiology, 7 ed, - 1999. – P.264-283.
233. Knol J. Poelwijk ES, van der Linde EGM, Wells JSK, Bronstrup A et al. Stimulation of endogenous Bifidobacteria in term infants by an infant formula containing prebiotic. J Pediatr Gastroent Nutr. 2001. 34 (2)
234. Larsen B. Vaginal flora in health and disease /Clin. Obstet. Gynecol. 1993, 36: 1, 107-121.
235. Lindberg E, Adlerberth I, Hesselmar B, Saalman R, Strannegard IL, Aberg N, Wold AE. High rate of transfer of Staphylococcus aureus from parental skin to infant gut flora. J Clin Microbiol. 2004;42:530–4.
236. Mackie RI, Sghir A, Gaskins HR. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. Am J Clin Nutr. 1999;69:1035S–45S.
237. Magliano EM, Clerici P, Besfetti MZ/ Ricerche sull' isolamento, la quantizzazione e la biotipizzazione della flora lactobacillare di provenienza vaginale // Boll Ost Sieroter Milan 1984; 63(4): 331-7.

238. Malcolm S.A., Hughes T.C/ The demonstration of bacteria and on within the stratum corneum using scanning electron microscopy. – British Journal of Dermatology, 1980, 102, 267
239. Mancini G., Carbonara A., Heremans I. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion // Immunochemistry. — 1965. — V. 2. — p. 235-254.
240. Mardh P.A. The vaginal ecosystem // Am. Obstet. Gynecol. – 1991. – V. 165. – P. 1163-1168.
241. Marples R.R., Fulton J.E., Leyden J., McGinley K.J. Effect of antibiotics on the nasal flora in acne patients. – Archives of Dermatology, 1969, 99, 647
242. Martin R. The commensal microflora of human milk new perspectives for food bacteriotherapy and probiotics//Trends. Food Sci. Tech. -2004. -V. 15. -121 p.
243. Mead P.B., Hess S.M., Page S.D. Prevention and control of nosocomial infections in obstetrics and gynecology. In: Wenzel R.P., editor. Prevention and control of nosocomial infections. 3rd ed. Philadelphia: Williams and Wilkins; 1997. p. 995-1016.
244. Meccas J., Strauss E.J. Molecular mechanisms of bacterial virulence: type III secretion and pathogenicity islands. Emerg. Infect. Dis. 1996,2:271-288.
245. Molecular analysis of colonized bacteria in a human newborn infant gut. Park HK, Shim SS, Kim SY, Park JH, Park SE, Kim HJ, Kang BC, Kim CM. J Microbiol. 2005 Aug;43(4):345-53
246. Monsen T., Abd H., Leonardsson K. Prediction of mecS-positive coagulase-negative staphylococci: assessment of different phenotypic methods, breakpoints, culture media and culture conditions //J. of Antimicrobial Chemotherapy. – 2002. - №49. – P.197-200.
247. Moore ER, Anderson GC, Bergman N. Early skin-to-skin contact for mothers and their healthy newborn infants. Cochrane Database of Systematic Reviews 2007, Issue 2. Art. No.: CD003519. DOI: 10.1002/14651858.CD003519.pub2
248. Moro, G. Dosage-related bifidogenic effects of galacto- and fructo-oligosaccharides in formula fed infants / G. Moro [et al.] // J. Pediatr Gastroenterol Nutr. 2002. Vol.34, № 3. P. 10-17.
249. Nachman R.L., Esterly N.B. Increased skin permeability in preterm infants. – Journal of Pediatrics, 1971, 79, 628

250. Nicolaides N., Fu H.C., Ansari M.N., Rice G.R. The fatty acids of wax esters and sterol esters from vernix caseosa and from human skin surface lipid. *Lipids*, 1972, 7, 506
251. Noble W.C. Skin as a microhabitat. – *Postgraduate Medical Journal*, 1975, 51, 151
252. Noble W.C. Skin carriage of the Micrococcaceae. *Journal of Clinical Pathology*, 1969, 22, 249
253. Park HK, Shim SS, Kim SY, Park JH, Park SE, Kim HJ, Kang BC, Kim CM. Molecular analysis of colonized bacteria in a human newborn infant gut. *J Microbiol.* 2005;43:345–53.
254. Pennisi E. Bacteria are picky about their homes on human skin. *Science*, 2008.- 320, P. 1001;
255. Persistent colonization and the spread of antibiotic resistance in nosocomial pathogens: Resistance is a regional problem /Smith D.L., J. Dushoff, Perencevich E.N. et al. - *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America* - 2004. - N10. – V. 101 – P. 3709-3714.
256. Price P.B. The bacteriology of normal skin: A new quantitative test applied to a study of bacterial flora and the disinfectant action of mechanical cleansing. – *Journal of Infectious Diseases*, 1938, 63, 301
257. Ramasastry P. et al., Chemical composition of human skin surface lipid from birth to puberty. – *Journal of Investigative Dermatology*, 1970, 54, 139
258. Redondo-Lopez V., Cook R.L., Sobel J.D. Emerging role of lactobacilli in the control and maintenance of the vaginal bacterial microflora. *Rev.Infect.Dis.*, 1990, 12: 856-872.
259. Rex J.H., Walsh T.J., Sobel J.D. Practice guidelines for the treatment of candidiasis // *Clin. Infect. Dis.* - 2000.- Vol.30.- P.662-678.
260. Roodyn L. Recurrent staphylococcal infections and the duration of the carrier state. – *Journal of Hygiene (Cambridge)*, 1960, 58, 11
261. Sandilands A., Terron-Kwiatkowski A., Hull P.R., O'Regan G.M., Clayton T.H., Watson R.M., et al. Comprehensive analysis of the gene encoding filaggrin uncovers prevalent and rare mutations in ichthyosis vulgaris and atopic eczema. *Nat. Genet.* 2007.- 39, P. 650—654;

262. Sexually Transmitted and Other Reproductive Tract Infections. A guide to essential practice // WHO, 2005, 186 p.
263. Shittu A., Lin J., Morrison D., Kolawole D. Isolation and molecular characterization of multiresistant *Staphylococcus sciuri* and *Staphylococcus haemolyticus* associated with skin and soft-tissue infections // *J Med. Microbiology*. – 2004. – N53. – P. 51-55.
264. Skin and post-surgical wound infections due to *Staphylococcus lugdunensis* / Vandenesch F., Eykyn S.J., Etienne J. and Lemozy J. - *Clin. microbiol, infect.* – 1995. – V. 1. - P.73-74.
265. Smith R.F. Comparative enumeration of lipophilic and non-lipophilic cutaneous diphtheroids and cocci. – *Applied Microbiology*, 1970, 19, 254
266. Somerville-Millar D.A., Noble W.C. Resident and transient bacteria of the skin. – *Journal of Cutaneous Pathology*, 1974, 1, 260
267. Stool microflora in extremely low birthweight infants Gewolb Ira H, Richard S Schwalbe, Vicki L, Taciak, Tracy S Harrison, c Pinaki Panigraha *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1999;80:F167-F173 (May)
268. Stray-Pedersen B. Is screening for genital infections in pregnancy necessary // *Acta Obstet. Gynecol. Scand. Suppl.* – 1997. – №. 164. – P. 116-120.
269. Szajewska, H. Probiotics in the treatment and prevention of acute infections diarrhea in infants and children: a systematic review of published randomized, double-blind, placebo-controlled trials / H. Szajewska [et al.] // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2001. № 2. P. 17-25.
270. Somerville Dorothy A. A taxonomic scheme for aerobic diphtheroids from human skin. *Journal of Medical Microbiology*, 1973, 6, 323
271. Tiffany S. Glasgow et al. Association of Intrapartum Antibiotic Exposure and Late-Onset Serious Bacterial Infections in Infants. *Pediatrics*. September 2005; 116: 696-702
272. Tomoda T., Nakano Y., Kageyama T. Intestinal *Candida* overgrowth and *Candida* infection in patients with leukemia: effect of *Bifidobacterium* administration. *Bifidobacteria Microflora* 1988; 7:71-74.

273. Vandepitte J., Engbaek K., Piot P., Henck C. Основные методы лабораторных исследований в клинической бактериологии /Пер. с англ. Женева, ВОЗ. – 1994. – V. 43-51. - P. 117-118.
274. Viral infections in Obstetrics and Gynecology / Edited by D.J. Jeffries and C.N. Hudson. 1999. 335 p.
275. Virulence genotype and phylogenetic origin in relation to antibiotic resistance profile among Escherichia coli urine sample isolates from Israeli women with acute uncomplicated cystitis /Johnson J., Kushowski M., O’Brayan T. et al. - Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2005. - N1. – V. 49. – P.26-31.
276. Webster J., Osborne S. Preoperative bathing or showering with skin antiseptics to prevent surgical site infection. Cochrane Database Syst. Rev. (2006). 2, CD004985 ;
277. Westerbeek EA, van den Berg A, Lafeber HN, Knol J, Fetter WP, van Elburg R. The intestinal bacterial colonisation in preterm infants: a review of the literature. Clin Nutr. 2006;25:361–8. Favier CF, Vaughan EE, De Vos WM, Akkermans AD. Molecular monitoring of succession of bacterial communities in human neonates. Appl Environ Microbiol. 2002;68:219–26
278. Whole-genome sequencing of S.haemolyticus uncovers the extreme plasticity of its genome and the evolution of human-colonizing Staphylococcal species /Takeuchi F., Watanabe S., Baba T. et al. - J bacteriology. – 2005. – V. 187 (21). – P. 7292-7308.
279. Zaibe V.R., Sheffield J.S., Roberts S. Clinical presentation of community-acquired methicillin-resistant S.aureus in pregnancy //Obstet. Gynecol. – 2005. – V. 106. - P.461-465.
280. Zangen BM, Zinng - Wadstrom A. Microbial findings in genital secretions from seven healthy fertile couples. Med Microb Immunol 1984; 173 (4): 179-85.
281. Zuccotti G.V., Meneghin F., Raimondi C., Dilillo D., Agostoni C., Riva E., Giovannini M. Probiotics in clinical practice: an overview. J. Int. Med. Res. 2008. - 36 Suppl 1, 1A-53A.

Б.Т. Сейтханова

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ
ВЛИЯНИЯ МИКРОФЛОРЫ БЕРЕМЕННЫХ
ЖЕНЩИН НА ФОРМИРОВАНИЕ НОРМО -
ПАТОФЛОРЫ КОЖНЫХ ПОКРОВОВ
НОВОРОЖДЕННЫХ**

Монография

Бумага офсетная. Формат 60x100 1/32
Плотность 80гр/м². Белизна 95%. Печать РИЗО.
Усл.печ.стр. 4,2. Объем 197 стр.



Подготовлено к изданию и отпечатано
в издательстве «Эверо»
РК, Алматы, Толе би, 292
тел.: 8 727 364 84 03
e-mail: evero08@mail.ru

Для заметок

Для заметок