

# 3.1.4. АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ / OBSTETRICS AND GYNECOLOGY

УДК 618.2

DOI: 10.55531/2072-2354.2023.23.1.4-9

## АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ В ИССЛЕДОВАНИИ МИКРОБНОГО ПЕЙЗАЖА ПЛАЦЕНТЫ

**М.А. Каганова, Н.В. Спиридонова**

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России (Самара, Россия)

**Для цитирования:** Каганова М.А., Спиридонова Н.В. Анализ результатов использования метода ПЦР в режиме реального времени в исследовании микробного пейзажа плаценты. *Аспирантский вестник Поволжья*. 2023;23(1):4-9. doi: 10.55531/2072-2354.2023.23.1.4-9

### ■ Сведения об авторах

Каганова М.А. – канд. мед. наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии ИПО. ORCID: 0000-0001-5879-418x

E-mail: m.a.kaganova@samsmu.ru

Спиридонова Н.В. – д-р мед. наук, профессор, заведующая кафедры акушерства и гинекологии ИПО. ORCID: 0000-0003-3928-3784

E-mail: n.v.spiridonova@samsmu

Рукопись получена: 26.10.2022

Рецензия получена: 06.01.2023

Решение о публикации: 12.01.2023

### ■ Аннотация

**Цель** – изучить микробный пейзаж плаценты при доношенной беременности при преждевременном разрыве плодных оболочек в сравнении с интактным плодным пузырем.

**Материал и методы.** На базе ГКБ №1 им. Н.И. Пирогова у 43 беременных в сроке беременности 37–41 неделя, из которых 24 с преждевременным разрывом плодных оболочек (основная группа) и 19 пациенток (группа контроля) с неповрежденными плодными оболочками, во время elective кесарева сечения проводился забор ткани плаценты на ПЦР-РВ следующих микроорганизмов: *Lactobacillus* spp., *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Gardnerella vaginalis* / *Prevotella bivia* / *Porphyromonas* spp., *Eubacterium* spp., *Sneathia* spp. / *Leptotrichia* spp. / *Fusobacterium* spp., *Megasphaera* spp. / *Veillonella* spp. / *Dialister* spp., *Lachnobacterium* spp. / *Clostridium* spp., *Mobiluncus* spp. / *Corynebacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Atopobium vaginae*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma (urealyticum + parvum)*, *Candida* spp., *Mycoplasma genitalium*.

**Результаты.** При физиологически протекающей доношенной беременности на плаценте выявлено присутствие общей бактериальной массы у 66,7% основной группы (Me  $10^{3.2}$  Q1:Q3 0,0 –  $10^{3.4}$  ГЭ/образце) и у 78,9% контрольной группы (Me  $10^{3.3}$  Q1:Q3  $10^{3.1}$  –  $10^{3.5}$  ГЭ/образце). Основными представителями в плаценте из идентифицированных микроорганизмов были представители семейства *Enterobacteriaceae* spp. (Me  $10^{3.2}$  ГЭ/образце при ПРПО и Me  $10^{3.2}$  ГЭ/образце при интактном плодном пузыре ( $p > 0,05$ )). *Lactobacillus* spp. определялись в плаценте только в группе с ПРПО у 8,3% пациенток. Присутствие *Lactobacillus* spp. в тканях плаценты характерно только для пациенток с ПРПО. Не идентифицированные тестом «Фемофлор-16» микроорганизмы установлены у 50% пациенток с ПРПО с Me  $10^{2.1}$  ГЭ/образце и у 63,2% пациенток с интактным плодным пузырем с Me  $10^{3.2}$  ГЭ/образце ( $p = 0,09$ ). Взаимосвязи между ПРПО и особенностями микробиоты плаценты не установлено.

**Заключение.** При физиологически протекающей доношенной беременности возможно выявление методом ПЦР-РВ небольшого количества бактериальной массы, представленной семейством *Enterobacteriaceae* spp., при ПРПО в образцах плаценты выявляется также *Lactobacillus* spp. и анаэробная вагинальная флора.

■ **Ключевые слова:** преждевременный разрыв плодных оболочек, Фемофлор, плацента, полимеразная цепная реакция, микробиота.

■ **Конфликт интересов:** не заявлен.

### ■ Список сокращений

ПРПО – преждевременный разрыв плодных оболочек; КВМ – качество взятия материала;

ОБМ – общая бактериальная масса.

## THE RESULTS OF USING THE REAL-TIME PCR METHOD FOR EXAMINATION OF THE PLACENTAL MICROBIAL LANDSCAPE

**Mariya A. Kaganova, Natalya V. Spiridonova**

Samara State Medical University (Samara, Russia)

**Citation:** Kaganova MA., Spiridonova NV. The results of using the real-time PCR method for examination of the placental microbial landscape. *Aspirantskiy vestnik Povolzhya*. 2023;23(1):4-9. doi: 10.55531/2072-2354.2023.23.1.4-9

### ■ Information about authors

Mariya A. Kaganova – PhD, Associate professor, Department of Obstetrics and Gynecology of the Institute of Postgraduate Education.

ORCID: 0000-0001-5879-418x E-mail: m.a.kaganova@samsmu.ru

Natalya V. Spiridonova – PhD, Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology of the Institute of Postgraduate Education.

ORCID: 0000-0003-3928-3784 E-mail: n.v.spiridonova@samsmu

Received: 26.10.2022

Revision Received: 06.01.2023

Accepted: 12.01.2023

## Abstract

**Aim** – to study the microbiome of the placenta in full-term pregnancy with premature rupture of the membranes (PROM) in comparison with the intact membranes.

**Material and methods.** The study was conducted on the basis of Samara City Clinical Hospital N 1 named after N.I. Pirogov and involved 43 pregnant women at 37–41 weeks of gestation subject to elective cesarean section. The patients were divided in two groups: the main group included 24 women with PROM, the control group was formed with 19 women with intact fetal membranes. The placental tissues were taken for the real-time PCR-test for the following microorganisms: *Lactobacillus* spp., *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Gardnerella vaginalis* / *Prevotella bivia* / *Porphyromonas* spp., *Eubacterium* spp., *Sneathia* spp. / *Leptotrihia* spp. / *Fusobacterium* spp., *Megasphaera* spp. / *Veillonella* spp. / *Dialister* spp., *Lachnobacterium* spp. / *Clostridium* spp., *Mobiluncus* spp. / *Corynebacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Atopobium vaginae*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma (urealyticum + parvum)*, *Candida* spp., *Mycoplasma genitalium*.

**Results.** At the end of physiological full-term pregnancy, the bacterial population was detected in 66.7% of placentas in the main group, total bacterial count –  $Me 10^{3.2}$  Q1:Q3 0,0 –  $10^{3.4}$  GE/sample; and in 78.9% of the placentas in the control group, total bacterial count –  $Me 10^{3.3}$  Q1:Q3  $10^{3.1}$  –  $10^{3.5}$  GE/sample. The main representatives of the identified microorganisms were *Enterobacteriaceae* spp. ( $Me 10^{3.2}$  GE/sample for PROM and  $Me 10^{3.2}$  GE/sample for intact amniotic sac ( $p > 0.05$ )). *Lactobacillus* spp. were determined in the placenta only in the PROM group in 8.3% of patients. The presence of *Lactobacillus* spp. in the tissues of the placenta is typical only for patients with PROM. Microorganisms not identified by the Femoflor-16 test were found in 50% of patients with PROM,  $Me 10^{2.1}$  GE/sample, and in 63.2% of patients with an intact fetal bladder,  $Me 10^{3.2}$  GE/sample, ( $p = 0.09$ ). No correlation was found between PROM incidents and the characteristics of the placental microbiota.

**Conclusion.** In case of physiologically proceeding full-term pregnancy, it is possible to detect using the real-time PCM test a bacterial population represented by the *Enterobacteriaceae* spp., while in cases of PROM, *Lactobacillus* spp. and anaerobic vaginal flora were also detected in placental samples.

- **Keywords:** premature rupture of membrane, Femoflor, placenta, polymerase chain reaction, microbiota.
- **Conflict of interest:** nothing to disclose.

## ВВЕДЕНИЕ

В современном акушерстве особенности плацентарной микробиоты и ее регулирующего влияния на беременность являются ключевым вопросом. Если в прошлом столетии считалось, что плацента, плодные оболочки и околоплодные воды в норме должны быть стерильными [1, 2], то уже в начале 2000-х годов появились работы, свидетельствующие о существовании уникального плацентарного микробиома [3, 4]. Было обнаружено, что плацентарные микробы могут быть имплантированы в плаценту через уrogenитально-плацентарный, желудочно-кишечно-плацентарный и орально-плацентарный пути [5–8]. Анализ полости матки при гистерэктомиях также продемонстрировал ее нестерильность [9]. Микробиота плаценты и околоплодных вод может играть как положительную роль, подготавливая иммунную систему плода к внеутробному существованию, так и отрицательную, так как многие микроорганизмы ассоциированы с абортми, хориоамнионитом, преждевременным разрывом плодных оболочек, преждевременными родами и мертворождением [10–13]. Основными факторами, влияющими на микробиологию плаценты, являются ожирение, гестационный сахарный диабет, пробиотики и антибиотики во время беременности [12, 14, 15]. Научному миру еще предстоит разобраться в особенностях микробиоты фетоплацентарного комплекса и ее влиянии на развитие осложнений гестации, материнскую и перинатальную заболеваемость.

## ЦЕЛЬ

С помощью метода ПЦР в режиме реального времени изучить микробный пейзаж плаценты при доношенной беременности при преждевременном разрыве

плодных оболочек (ПРПО) в сравнении с интактным плодным пузырем.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на базе родильных отделений ГКБ №1 им. Н.И. Пирогова г. Самары с января 2017 года до января 2020 года. В исследование были включены 43 беременных в сроке беременности 37–41 неделя. В основную группу вошли 24 пациентки с ПРПО, группу контроля составили 19 пациенток с интактными плодными оболочками.

**Критерии включения в основную группу:** срок беременности 37–41,6 недели, ПРПО, наличие показаний к кесареву сечению (неправильное положение или предлежание плода и/или рубец на матке после операции кесарева сечения).

**Критерии включения в группу контроля:** беременность 37–41,6 недели без отхождения околоплодных вод, плановое кесарево сечение (неправильное положение или предлежание плода и/или рубец на матке после операции кесарева сечения).

**Критерии исключения:** беременные, относящиеся к группе высокого риска, согласно порядку оказания помощи по профилю «Акушерство и гинекология» №572 от 01.11.2012, а именно: соматические или акушерские осложнения, такие как сахарный и гестационный диабет, повышенное артериальное давление, задержка внутриутробного развития, вагинальное кровотечение, предлежание плаценты, подозрение на макросомию плода, внутрипеченочный холестаз, многоплодная беременность, меконияльное окрашивание околоплодных вод, признаки острой инфекции и обострения хронической, наличие кольпита.

У пациенток выполнено исследование микробиоты плацент методом ПЦР-РВ, тест Фемофлор-16

(*Lactobacillus* spp., *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Gardnerella vaginalis* / *Prevotella bivia* / *Porphyromonas* spp., *Eubacterium* spp., *Sneathia* spp. / *Leptotrichia* spp. / *Fusobacterium* spp., *Megasphaera* spp. / *Veillonella* spp. / *Dialister* spp., *Lachnobacterium* spp. / *Clostridium* spp., *Mobiluncus* spp. / *Corynebacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Atopobium vaginae*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma (urealyticum + parvum)*, *Candida* spp., *Mycoplasma genitalis*). Тест Фемофлор-16, который первоначально разработан для оценки микробиоты влагалища, был использован нами с целью оценки микробного состава плаценты, поскольку с помощью данной технологии возможен анализ биоты различных биотопов [16–19].

Забор образца плаценты проводился в стерильных условиях во время операции кесарева сечения. Плацента извлекалась, и в пределах операционного поля проводился забор образца. Посередине расстояния от места прикрепления пуповины до наиболее отдаленной точки края плаценты с помощью конхотома с диаметром рабочей поверхности 9,4 мм отсекался стандартный образец ткани плаценты с захватом участка из глубины плаценты (с предварительным отсечением амниона, хорионической пластинки и децидуальной ткани с материнской стороны), который затем помещался в пробирку 1,5 мл «эппендорф» с транспортной средой (физиологический раствор

или «Проба-Рapid» производства ООО «НПО ДНК-Технология»).

При анализе оценивалось качество взятия материала (КВМ), которое во всех случаях было адекватным (более 104 ГЭ/образце). Выполнялось определение общей бактериальной массы (ОБМ), так называемой лабораторной ОБМ (ОБМл), содержания *Lactobacillus* spp. и остальных вышеперечисленных видов, входящих в данную панель. Количественная оценка выявленных микроорганизмов приводилась как в абсолютных числах – количество ДНК искомого микроорганизма в образце, выраженное в ГЭ/мл и представленное в виде десятичного логарифма – lg, расчетная ОБМ (ОБМр) получалась из суммы абсолютного количества выявленных микроорганизмов в образце.

**Статистический анализ.** Обработку результатов исследования проводили с помощью программы Statistica 10.0, SPSS 13. Данные представлены следующим образом: абсолютные количества – в виде среднего десятичных логарифмов, сравнение абсолютного количества в группах выполнялось с помощью критерия Манна – Уитни. Частота выявления микроорганизмов представлена в процентах, а также в относительных процентах относительно лабораторной ОБМ. Количественные показатели с нормальным распределением представлены средним

Таблица 1 / Table 1

**Распределение микроорганизмов в ткани плаценты в зависимости от целостности плодного пузыря при доношенной беременности, определенное методом ПЦР-РВ**

**The distribution of microorganisms in placental tissue depending on the integrity of the fetal bladder during full-term pregnancy, determined by real-time PCR**

Показатели	Основная группа (n=24)		Группа контроля (n=19)		p1	p2
	n, %	Абс. lg (Ме (Q1; Q3))	n, %	Абс. lg (Ме (Q1; Q3))		
КВМ	24 (100)	5,2 (4,9; 5,5)	19 (100)	5,5 (4,9; 6,1)	-	0,20
ОБМ лабораторная	16 (66,7)	3,2 (0; 3,4)	15 (78,9)	3,3 (3,1; 3,5)	0,39	0,31
ОБМ расчетная	7 (29,2)	0 (0; 3,0)	5 (26,3)	0 (0; 3,1)	0,36	0,84
<i>Lactobacillus</i> spp.	2 (8,3)	4,4 (3,3; 4,7)	0	н/о	0,21	0,22
<i>Enterobacteriaceae</i> spp.	4 (16,7)	3,2 (0; 3,2)	5 (26,3)	3,2 (3,1; 3,2)	0,52	0,42
<i>Streptococcus</i> spp.	0	н/о	0	н/о	.	.
<i>Staphylococcus</i> spp.	0	н/о	0	н/о	.	.
<i>Gardnerella vaginalis</i> + <i>Prevotella bivia</i> + <i>Porphyromonas</i> spp.	0	н/о	0	н/о	.	.
<i>Eubacterium</i> spp.	1 (4,2)	3,0	0	н/о	0,40	0,40
<i>Sneathia</i> spp.+ <i>Leptotrichia</i> spp.+ <i>Fusobacterium</i> spp.	0	н/о	0	н/о	.	.
<i>Megasphaera</i> spp.+ <i>Veillonella</i> spp.+ <i>Dialister</i> spp.	0	н/о	0	н/о	.	.
<i>Lachnobacterium</i> spp.+ <i>Clostridium</i> spp.	0	н/о	0	н/о	.	.
<i>Mobiluncus</i> spp.+ <i>Corynebacterium</i> spp.	2 (8,3)	3,1(3,0; 3,1)	0	н/о	0,22	0,22
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	0	н/о	0	н/о		
<i>Atopobium vaginae</i>	1 (4,2)	1,3	0	н/о	1,00	0,40
<i>Candida</i> spp.	0	н/о	0	н/о	.	.
<i>Mycoplasma hominis</i>	0	н/о	0	н/о	.	.
<i>Ureaplasma (urealyticum + parvum)</i>	0	н/о	0	н/о	.	.
<i>Mycoplasma genitalium</i>	0	н/о	0	н/о	.	.
Неизвестные виды	12 (50,0)	2,1 (0; 3,3)	12 (63,2)	3,2 (0; 3,4)	0,36	0,09
Стерильные	8 (33,3)	н/о	4 (21)	н/о	0,13	-
Анаэробы	4 (16,7)	0 (0,0)	0	0 (0;0)	0,06	0,36

Примечание: p1 – точный критерий Фишера; p2 – критерий Манна – Уитни.

арифметическим (M) со стандартным отклонением (SD). Сравнение количественных признаков при нормальном распределении проводилось с помощью критерия Стьюдента. Анализ качественных признаков проводился с помощью таблиц сопряженности, с применением критерия Хи-квадрат либо двустороннего критерия Фишера. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

Проведение исследования было одобрено на заседании комитета по биоэтике (протокол №207 от 20.05.2020 г.), все пациентки дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследуемые группы были сопоставимы между собой по возрасту (32,2 (5,4) года и 31,0 (5,3) года,  $T=0,73$ ;  $p=0,465$ ), паритету родов (число первородящих в основной группе – 12 беременных (50,0%), в контрольной – 7 беременных (36,8%) ( $p=0,291$ ) и беременностей (2,29 (1,21) и 2,47 (1,71);  $T=-0,443$ ;  $p=0,792$ ). Средний срок гестации в основной группе был ниже – 38,2 (0,92) недели, чем в контрольной группе – 39,3 (0,65) недели ( $T=-4,74$ ;  $p=0,000$ ). Результаты анализа ПЦР-РВ образцов плаценты представлены в **таблице 1**.

Все образцы имели хорошее КВМ: основная группа –  $10^{5,2}$  ГЭ/образце ( $10^{4,9}$ ;  $10^{5,5}$ ) и контрольная –  $10^{5,5}$  ГЭ/образце ( $10^{4,9}$ ;  $10^{6,1}$ ).

ОБМл в обеих группах была выше, чем ОБМр. Частота выявления ОБМл в основной группе составила 16 беременных (66,7%), а в контрольной группе – 15 случаев (78,9%) ( $p=0,39$ ), частота положительной ОБМр была ниже в обеих группах: 7 случаев (29,2%) и 5 случаев (26,3%) соответственно ( $p=0,36$ ). Наибольшую частоту составляли так называемые «неидентифицируемые» виды: 12 случаев (50,0%) в основной группе и 12 (63,2%) в контрольной группе ( $p=0,36$ ). Под неидентифицируемыми видами мы понимали ситуации, когда ОБМл определялась, то есть наличие ДНК некой микробной массы присутствовало, а все перечисленные в панели микроорганизмы не определялись.

В основной группе ОБМл и ОБМр были сопоставимы с таковыми показателями в контрольной группе. При целом плодном пузыре из идентифицируемых микроорганизмов были выявлены представители *Enterobacteriaceae* spp. в 5 случаях (26,3%), другие виды микроорганизмов не определялись. В основной группе разнообразие видов микроорганизмов было значительно больше: на первом месте по частоте выявления также наблюдались *Enterobacteriaceae* spp. – 4 случая (16,7%). *Lactobacillus* spp. и анаэробы выявлены только в основной группе в 2 случаях (8,3%) и 4 случаях (16,7), однако различия были не значимы ( $p=0,21$  и  $p=0,06$ ). Из анаэробов в единичных случаях в основной группе были выявлены *Eubacterium* spp. (4,2%), *Atopobium vaginae* (4,2%), *Mobiluncus* spp. + *Corynebacterium* spp. (8,3%).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Появление современных методов исследования, таких как амплификация генов и секвенирование ДНК, позволило совершить прорыв в метагеномике, которая может идентифицировать геном хозяина с обитающими микроорганизмами в определенной эконше. С внедрением новых методов вопрос о существовании микробиоты плаценты и понятие о том, что есть его норма и патологии при беременности, становятся краеугольным камнем больших акушерских синдромов. Более современные исследования с применением культуральных и метагеномных методик демонстрируют наличие микроорганизмов в полости матки и плаценте при физиологически протекающей беременности [5, 8, 13, 20]. Однако в ряде других исследований указывается, что существование плацентарной микробиоты весьма сомнительно, так как бактериальная колонизация имеет низкую биомассу и, следовательно, может являться просто результатом загрязнения [21–23].

Большинство микроорганизмов, населяющих человеческий организм, не растут *in vitro*, и поэтому исследование микробиома стало доступным только при использовании высокотехнологичных методов – секвенировании генома, ПЦР-диагностике. Проект «Микробиом человека» [14] был начат в 2008 году Национальным институтом здоровья (NICE) с целью характеристики колонизации всего бактериального сообщества «Тело человека». Это позволило бы определить, существует ли связь между микробиомными изменениями и появлением специфических заболеваний.

Если в более ранних публикациях речь шла о *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* (обитателей нормальной кишечной микрофлоры) в биоптатах плаценты [24], то сейчас при физиологически протекающей беременности во многих исследованиях доказано пребывание в тканях плаценты ДНК *Enterobacteriaceae* spp. [11, 25], что совпадает с полученными нами данными. По результатам работы A.L. Prince [11] в плаценте выявляются *Proteobacteria*, *Enterobacteriaceae* (*Enterobacter*, *Escherichia*, *Shigella*), *Lactobacillus* и *Propionibacteriaceae*. В другом исследовании в плаценте идентифицированы *Staphylococcus* spp. и *Streptococcus* spp. [26].

Наличие *Lactobacillus* и *Propionibacterium* в плаценте, а также в кишечнике плода позволяет новорожденному проявлять толерантность к бактериям через феномен прайминга, способствует врожденной экспрессии генов иммунитета у плода и созданию здорового микробиома у новорожденного [11, 27]. Присутствие микробной колонизации плаценты у большинства женщин без явных неблагоприятных перинатальных исходов подтверждает, что плацентарный микробиом может быть полезным [28, 29]. В рамках нашего исследования у пациенток с интактным плодным пузырем у 78,9% была выявлена общая бактериальная масса, а идентифицированы микробы с помощью панели «Фемофлор» были только у 26% – *Enterobacteriaceae* spp., однако при условии наличия

столь высокого процента микробного обсеменения, септических либо других осложнений у обследованных пациенток в послеродовом периоде не наблюдалось, соответственно выявление плацентарного микробиома не является предиктором септических осложнений.

Секвенирование всего генома продемонстрировало, что плацента содержит уникальный микробиом, несколько похожий на оральный, а не вагинальный [2, 8]. Однако не совсем понятно, характерно ли это сходство для физиологически протекающей беременности, или связь реализуется при инфекциях пародонта и впоследствии приводит к повышению частоты осложнений [4, 11, 27]. Так, предполагаемая связь между дисбиозом полости рта и осложнениями беременности ставит в центр дискуссии вопрос о микробиоте плаценты: клинические исследования связи между гингивитом и преждевременными родами выявили наличие бактерий в очень старых структурах плаценты – виллезном дереве и базальной пластинке [30].

Культурно-зависимые исследования идентифицировали представителей родов *Prevotella*, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, *Gardnerella*, *Mobiluncus* и *Mycoplasma genitalium* в плацентах женщин, родивших недоношенных с преэклампсией или без нее, что предполагает участие нескольких штаммов бактерий в патогенезе акушерских осложнений [33], как видно, все они являются участниками формирования бактериального вагиноза. Исследования плацентарной микробиоты при преждевременных родах на основе ДНК показали повышенное обогащение видов *Burkholderia* и увеличенное относительное содержание *Protobacteria* и *Actinomyces* spp., а также других смешанных некультивируемых анаэробов [33]. Однако в случае хориоамнионита было зарегистрировано более высокое содержание *Streptococcus agalactiae*, *Fusobacterium nucleatum* и *Ureaplasma parvum* [33]. Учитывая критерии исключения в группах обследуемых и доношенную беременность, вышеперечисленные виды микроорганизмов выявлены не были. Более того, выявление *Enterobacteriaceae* spp., *Lactobacillus* spp. и остальных представителей анаэробной микробиоты не являлось предиктором неблагоприятных материнских и перинатальных исходов. Во всех случаях гнойно-септических осложнений у новорожденных и матерей не наблюдалось.

Таким образом, плацента содержит некую ДНК микробиоту. Нельзя утверждать, что это микробиота в общепринятом понимании, которая может быть культивирована при микробиологическом исследовании, что подтвердили результаты микробиологического исследования в нашей работе. Тем не менее плацента исходно развивается не в стерильной среде (эндометрий в норме содержит собственную микробиоту), и, соответственно, ее обсеменение может происходить как контактно, так и гематогенно. Ряд исследований демонстрирует наличие микробного генетического материала как на плаценте, так

и в эндометрии здоровых женщин вне беременности [1, 5, 13, 26, 31].

Несовпадение лабораторной ОБМ и суммарного количества идентифицированных микроорганизмов – расчетной ОБМ, говорит о том, что в исследуемом биоматериале присутствуют микроорганизмы, выявление которых не предусмотрено используемым набором реагентов. Максимальная частота «неизвестных» видов выявлена у пациенток с интактными оболочками. Наше исследование подтвердило данные других авторов [11, 25] о том, что при физиологически протекающей беременности наиболее часто идентифицируются *Propionibacterium* spp., *Protobacteria*, *Bacteroides*, *Fusobacteria* [31], *Firmicutes* [25].

## Выводы

Таким образом, ОБМ плаценты была выявлена у 66,7% пациенток при ПРПО и у 78,9% при интактном плодном пузыре. Основными представителями в плаценте были микроорганизмы семейства *Enterobacteriaceae* spp.: Me 103,2 ГЭ/образце при ПРПО и Me 103,2 ГЭ/образце – при интактном плодном пузыре ( $p > 0,05$ ). Не идентифицированные тестом «Фемофлор-16» микроорганизмы установлены у 50% пациенток с ПРПО с Me  $10^{2.1}$  ГЭ/образце и у 63,2% пациенток с интактным плодным пузырем с Me  $10^{3.2}$  ГЭ/образце. Взаимосвязи между ПРПО и особенностями микробиоты плаценты не установлено, однако присутствие *Lactobacillus* spp., анаэробов в тканях плаценты характерно только для пациенток с ПРПО.

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Han YW, Shen T, Chung P, et al. Uncultivated bacteria as etiologic agents of intra-amniotic inflammation leading to preterm birth. *J Clin Microbiol.* 2009;47:38-47. doi: 10.1128/JCM.01206-08
- Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med.* 2000;342:1500-7. doi: 10.1056/NEJM200005183422007
- Stout MJ, Conlon B, Landeau M, et al. Identification of intracellular bacteria in the basal plate of the human placenta in term and preterm gestations. *Am J Obstet Gynecol.* 2013;208(3):226.e1-7. doi: 10.1016/j.ajog.2013.01.018
- Satokari R, Gronroos T, Laitinen K, et al. Bifidobacterium and Lactobacillus DNA in the human placenta. *Lett Appl Microbiol.* 2009;48:8-12. doi: 10.1111/j.1472-765X.2008.02475.x
- Parnell LA, Briggs CM, Cao B, et al. Microbial communities in placentas from term normal pregnancy exhibit spatially variable profiles. *Sci Rep.* 2017;7:11200. doi: 10.1038/s41598-017-11514-4
- Lim ES, Rodrigues C, Holtz LR. Amniotic fluid from healthy term pregnancies does not harbor a detectable microbial community. *Microbiome.* 2018;6:87. doi: 10.1186/s40168-018-0475-7
- Collado MC, Rautava S, Aakko J, et al. Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid. *Sci Rep.* [Internet]. Elsevier BV. 2015;212;1:57-58. doi: 10.1016/j.ajog.2014.10.128
- Aggaard K, Ma J, Antony KM, et al. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med.* [Internet]. American Association

- for the Advancement of Science (AAAS).2014;6:237ra265-237ra65. doi: 10.1126/scitranslmed.3008599
9. Mitchell CM, Haick A, Nkwopara E. Colonization of the upper genital tract by vaginal bacterial species in non-pregnant women. *Am J Obstet Gynecol.* 2015;212;5:611.e1-9. doi: 10.1016/j.ajog.2014.11.043
  10. Chen HJ, Gur TL. Intrauterine Microbiota: Missing, or the Missing Link? *Trends Neurosci.* 2019;42:402-413. doi: 10.1016/j.tins.2019.03.008
  11. Prince AL, Ma J, Kannan PS, et al. The placental membrane microbiome is altered among subjects with spontaneous preterm birth with and without chorioamnionitis. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;214(5):627.e1-627.e16. doi: 10.1016/j.ajog.2016.01.193
  12. Popova EN, Gordeev IG. *Modern ideas about the human microbiota.* In: Microbiota. Ed. Nikonova E.N. M., 2019;5-19. (In Russ.). [Попова Е.Н., Гордеев И.Г. *Современные представления о микробиоте человека.* В кн.: Микробиота. Под ред. Никоновой Е.Н. М., 2019;5-19].
  13. Fox C, Eichelberger K. Maternal microbiome and pregnancy outcomes. *Fertil Steril.* 2015;104(6):1358-63. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.09.037
  14. Peterson J, Garges S, Giovanni M, et al. The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res.* 2009;19,2317-2323. doi: 10.1101/gr.096651.109
  15. Lipatov IS, Tezikov YuV, Martynova NV, et al. A universal approach to the prevention of pathological pregnancy syndrome. *Science and innovations in medicine.* 2017;1(5):13-23. (In Russ.). [Липатов И.С., Тезиков Ю.В., Мартынова Н.В., и др. Универсальный подход к профилактике синдрома патологической беременности. *Наука и инновации в медицине.* 2017;1(5):13-23]. doi: 10.35693/2500-1388-2017-0-1-13-23
  16. Boldyreva MN, Lipova EV, Alexeev LP, et al. Features of urogenital tract's biota determined by means of real-time PCR among women of reproductive age. *Journal of obstetrics and women's diseases.* 2009;LVIII(6):36-42. (In Russ.). [Болдырева М.Н., Липова Е.В., Алексеев Л.П., и др. Характеристика биоты урогенитального тракта у женщин репродуктивного возраста методом ПЦР в реальном времени. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2009;LVIII(6):36-42.
  17. Sukhikh GT, Prilepskaya VN, Trofimov DYU, et al. Application of the real-time polymerase chain reaction method to assess the microbiocenosis of the urogenital tract in women (femoflor test): medical technology. M., 2011:36. (In Russ.). [Сухих Г.Т., Прилепская В.Н., Трофимов Д.Ю., и др. *Применение метода полимеразной цепной реакции в реальном времени для оценки микробиоценоза урогенитального тракта у женщин (тест фемофлор): медицинская технология.* М., 2011:36].
  18. Voroshilina ES, Tumbinskaya LV, Donnikov AE, et al. Vaginal biocenosis with a view to quantitative polymerase chain reaction: what is its norm? *Obstetrics and Gynecology.* 2011;1:57-65. (In Russ.). [Ворошилина Е.С., Тумбинская Л.В., Донников А.Е., и др. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной полимеразной цепной реакции: что есть норма? *Акушерство и гинекология.* 2011;1:57-65].
  19. Kaganova MA, Spiridonova NV, Kazakova AV, et al. Features of the cervical canal microbiota in prenatal amniorrhea and full-term pregnancy. *Obstetrics and Gynecology.* 2019;5:77-84. (In Russ.). [Каганова М.А., Спиридонова Н.В., Казакова А.В., и др. Особенности микробиоты цервикального канала при дородовом излитии околоплодных вод и доношенной беременности. *Акушерство и гинекология.* 2019;5:77-84]. doi: 10.18565/aig.2019.5.77-84
  20. Lauder AP, Roche AM, Sherrill-Mix S, et al. Comparison of placenta samples with contamination controls does not provide evidence for a distinct placenta microbiota. *Microbiome.* 2014;4:29. doi: 10.1186/s40168-016-0172-3
  21. Theis KR, Romero R, Winters AD, et al. Does the human placenta delivered at term have a microbiota? Results of cultivation, quantitative real-time PCR, 16S rRNA gene sequencing, and metagenomics. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2019;29:1-16. doi: 10.1016/j.ajog.2018.10.018
  22. de Goffau MC, Lager S, Sovio U, et al. Human placenta has no microbiome but can contain potential pathogens. *Nature.* 2019;572:1-21. doi: 10.1038/s41586-019-1451-5
  23. Theis KR, Romero R, Greenberg JM, et al. Consistent Evidence for Microbiota in Murine Placental and Fetal Tissues. *mSphere.* 2020;5(1):e00933-19. doi: 10.1128/mSphere.00933-19
  24. Satokari, R, Gronroos T, Laitinen K, et al. Bifidobacterium and Lactobacillus DNA in the human placenta. *Lett Appl Microbiol.* 2009;48:8-12. doi: 10.1111/j.1472-765X.2008.02475.x
  25. Zhu L, Luo F, Hu W, et al. Bacterial Communities in the Womb During Healthy Pregnancy. *Front Microbiol.* Bacterial Communities in the Womb During Healthy Pregnancy. *Front Microbiol.* 2018;6(9):2163. doi: 10.3389/fmicb.2018.02163
  26. Bagga R, Arora P. Genital Micro-Organisms in Pregnancy. *Front Public Health.* 2020;8:225. doi: 10.3389/fpubh.2020.00225
  27. Martinez KA, Romano-Keeler J, Zackular JP, et al. Bacterial DNA is present in the fetal intestine and overlaps with that in the placenta in mice. *PLoS ONE.* 2018;13(5):e0197439. doi: 10.1371/journal.pone.0197439
  28. Parnell LA, Briggs CM, Cao B, et al. Microbial communities in placentas from term normal pregnancy exhibit spatially variable profiles. *Sci Rep.* 2017;7:11200. doi: 10.1038/s41598-017-11514-4
  29. Leiby JS, McCormick K, Sherrill-Mix S, et al. Lack of detection of a human placenta microbiome in samples from preterm and term deliveries. *Microbiome.* 2018;6:196. doi: 10.1186/s40168-018-0575-4
  30. Vanterpool SF, Been JV, Houben ML, et al. Porphyromonas gingivalis within Placental Villous Mesenchyme and Umbilical Cord Stroma Is Associated with Adverse Pregnancy Outcome. *PLoS One.* 2016;11(1):e0146157. doi: 10.1371/journal.pone.0146157
  31. Younes JA, Lievens E, Hummelen R, et al. Women and their microbes: the unexpected friendship. *Trends Microbiol.* 2017;26:16-32. doi: 10.1016/j.tim.2017.07.008
  32. Cobb CM, Kelly PJ, Williams KB, et al. The oral microbiome and adverse pregnancy outcomes. *International Journal of Women's Health.* 2017;8(9):551-559. doi: 10.2147/IJWH.S142730
  33. Pelzer E, Gomez-Arango LF, Barrett HL, Nitert MD. Maternal health and the placental microbiome. *Placenta.* 2017;54:30-37. doi: 10.1016/j.placenta.2016.12.003

#### ■ Автор для переписки

Каганова Мария Александровна

Адрес: Самарский государственный медицинский университет, ул. Чапаевская, 89, г. Самара, Россия, 443099.

#### ■ Corresponding Author

Mariya A. Kaganova

Address: Samara State Medical University, 89 Chapayevskaya st., Samara, Russia, 443099.

E-mail: m.a.kaganova@samsmu.ru