

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОТЫ ПЛАЦЕНТЫ ПРИ ДОНОШЕННОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

А.А. Безрукова¹, Н.В. Спиридонова¹, М.А. Каганова¹, Д.А. Галкина²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара;

² Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Самарской области «Самарская городская клиническая больница № 1 им. Н.И. Пирогова», Самара

Для цитирования: Безрукова А.А., Спиридонова Н.В., Каганова М.А., Галкина Д.А. Особенности микробиоты плаценты при доношенной беременности // Аспирантский вестник Поволжья. – 2020. – № 5–6. – С. 7–14. DOI: <https://doi.org/10.17816/2072-2354.2020.20.3.7-14>

Поступила: 10.06.2020

Одобрена: 04.08.2020

Принята: 14.09.2020

■ **Цель исследования** — изучить микробный пейзаж плаценты при доношенной беременности и неповрежденных плодных оболочках.

Материалы и методы. На базе ГБУЗ СГКБ № 1 им. Н.И. Пирогова у 19 беременных в сроке 37–41 неделя с неповрежденными плодными оболочками во время elective кесарева сечения проводился забор тканей плаценты на ПЦР-РВ следующих микроорганизмов: *Lactobacillus spp.*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Gardnerella vaginalis* / *Prevotella bivia* / *Porphyromonas spp.*, *Eubacterium spp.*, *Sneathia spp.* / *Lep-totrihia 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 возможно присутствие общей бактериальной массы $10^{3,9}$ – $10^{3,7}$ ГЭ/образец на плаценте, что является вариантом нормы. Стерильные плаценты встречались в 21,1 % случаев. Неидентифицируемые стандартной панелью «Фемофлор-16» «неизвестные» микроорганизмы выявлены в 52,6 % случаев. В остальных случаях при целом плодном пузыре в тканях плаценты выявлены представители *Enterobacteriaceae spp.* ($10^{2,6}$ ГЭ/образец). Присутствие *Lactobacillus spp.* в тканях плаценты при интактных оболочках не характерно.

Заключение. При физиологически протекающей доношенной беременности возможно выявление методом ПЦР-РВ небольшого количества бактериальной массы, в составе которой наиболее часто встречаются представители *Enterobacteriaceae spp.*

■ **Ключевые слова:** беременность; Фемофлор; плодные оболочки; плацента; полимеразная цепная реакция; ДНК-технологии; микробиота.

FEATURES OF THE MICROBIOTA OF PLACENTA IN FULL-TERM PREGNANCY

А.А. Bezrukova¹, N.V. Spiridonova¹, M.A. Kaganova¹, D.A. Galkina²

¹ Samara State Medical University, Samara, Russia;

² Samara City Clinical Hospital No. 1 named after N.I. Pirogov, Samara, Russia

For citation: Bezrukova AA, Spiridonova NV, Kaganova MA, Galkina DA. Features of the microbiota of placenta in full-term pregnancy. *Aspirantskiy Vestnik Povolzh'ya*. 2020;(5-6):7–14. DOI: <https://doi.org/10.17816/2072-2354.2020.20.3.7-14>

Received: 10.06.2020

Revised: 04.08.2020

Accepted: 14.09.2020

■ **Objective:** to study the microbial landscape of the placenta in full-term pregnancy and intact fetal membranes.

Materials and methods. 19 pregnant women in the gestational age of 37–41 weeks with intact membranes underwent elective cesarean section at Samara City Clinical Hospital No. 1 named after N.I. Pirogov. Their placental tissues were

collected and RT-PCR tests for *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.*, *Atopobiumvaginae*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma (urealyticum + parvum)*, *Candida spp.*, *Mycoplasma henitalium* were performed.

Results. In case of physiological full-term pregnancy the total bacterial mass can be $10^{3.9}$ - $10^{3.7}$ GE/sample on the placenta, it is a normal variant. Sterile placentas were found in 21.1% of cases. "Unknown" microorganisms were revealed in 52.6% of cases, they were unidentified by the standard panel "Femoflor-16". In other cases *Enterobacteriaceae spp.* ($10^{2.6}$ GE/sample) were found in the placental tissues in patients with intact fetal membrane. The presence of *Lactobacillus spp.* in the placental tissues with intact membranes is not typical.

Conclusion. RT-PCR test allow to reveal a small amount of bacterial mass in the placental tissue in case of physiological full-term pregnancy, in which the representatives of *Enterobacteriaceae spp.* are often time detected.

■ **Keywords:** pregnancy; Femoflor; fetal membranes; placenta; polymerase chain reaction; DNA-technology; microbiota.

Введение

В современном акушерстве вопрос существования плацентарной микробиоты и ее регулирующего влияния на беременность по-прежнему спорный. Если в прошлом столетии считалось, что плацента, плодные оболочки и околоплодные воды в норме должны быть стерильными [6, 11, 13, 15, 17, 18, 37], то уже в начале 2000-х годов стали появляться работы, свидетельствующие в пользу существования уникального плацентарного микробиома [35, 38]. Было обнаружено, что плацентарные микробы могут быть имплантированы в плаценту через урогенитально-плацентарный, желудочно-кишечно-плацентарный и орально-плацентарный пути [5, 12, 26, 30, 37]. Анализ полости матки при гистерэктомиях также продемонстрировал ее нестерильность [8]. Микробиота плаценты и околоплодных вод может играть как положительную роль, подготавливая иммунную систему плода к внеутробному существованию, так и отрицательную, так как многие микроорганизмы четко ассоциированы с абортми, хориоамнионитом, преждевременным разрывом плодных оболочек, преждевременными родами и мертворождением [3, 10, 14, 33, 34]. Основными факторами, влияющими на микробиологию плаценты, являются ожирение, гестационный сахарный диабет, пробиотики и антибиотики во время беременности [3, 32]. Научному миру еще предстоит разобраться в особенностях микробиоты фетоплацентарного комплекса и ее влияния на развитие осложнений гестации, материнскую и перинатальную заболеваемость, поэтому исследование микробного пейзажа плаценты при физиологически протекающей доношенной беременности с интактными плодными оболочками представляет интерес, так как может быть взято за исходный ориентир нормы,

исходя из которого впоследствии будут формироваться представления о патологической микробиоте, ассоциированной с акушерскими осложнениями.

Цель исследования — изучить микробный пейзаж ткани плаценты при доношенной беременности с помощью ПЦР в режиме реального времени.

Материалы и методы

Исследование выполнено на базе родильных отделений ГБУЗ СГКБ № 1 им. Н.И. Пирогова г. Самары, в него были включены 19 беременных в сроке гестации 37–41 неделя. Все пациентки были родоразрешены путем кесарева сечения в плановом порядке, показаниями к которой были: неправильное положение и предлежание плода, наличие рубца на матке после предыдущего кесарева сечения либо миомэктомии, бесплодие в сочетании с отягощенным акушерским анамнезом или возрастом.

Критерии исключения:

- 1) беременные, относящиеся к группе высокого риска, согласно порядку оказания помощи по профилю «акушерство и гинекология» № 572 от 01.11.2012 г., по соматической патологии (сахарный диабет, гестационный диабет), особенностям плацентации;
- 2) наличие острых и обострение хронических воспалительных заболеваний, в том числе наличие кольпита;
- 3) антибактериальная терапия во время беременности.

Всем пациенткам было выполнено исследование образца плаценты методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени (набор «Фемофлор-16») и применения детектирующего амплификатора ДТ-96 производства ООО «НПО ДНК-Технология» (РУ ФСР 2009/04663, патент № 2362808

от 13.02.08). ПЦР-исследования были выполнены на базе лаборатории научного отдела компании ООО «НПФ ДНК-Технология». Во время кесарева сечения плаценту извлекали и в пределах операционного поля в стерильных условиях проводили забор образца. Посередине расстояния от места прикрепления пуповины до наиболее отдаленной точки края плаценты с помощью стерильного конхотома с диаметром рабочей поверхности 9,4 мм отсекали стандартный образец ткани плаценты, с захватом всей толщи плаценты (амнион, хорионическая пластинка, ворсинка и базальная пластинка), который затем помещали в пробирку 1,5 мл эппендорф с транспортной средой («Проба-Рapid» производства ООО «НПО ДНК-Технология»). Исходно методика «Фемофлор-16» была разработана для оценки состояния влагалища, нами использовалась с целью оценки микробного состава плаценты. Данная технология предусматривает анализ биоты различных биотопов, также она может быть применена для анализа микрофлоры плодных оболочек [1, 2, 4]. Методика «Фемофлор-16» включает в себя определение следующих микроорганизмов: *Lactobacillus spp.*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Gardnerella vaginalis* / *Prevotellabivia* / *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 henitalium*.

При анализе оценивался контроль взятия материала (КВМ), который во всех случаях был адекватным (более 10^4 ГЭ/образец), определялась общая бактериальная масса (ОБМ) — лабораторная ОБМ, *Lactobacillus spp.* и остальных вышеперечисленных видов, входящих в данную панель. Количественная оценка выявленных микроорганизмов приводилась как в абсолютных, так и в относительных показателях к лабораторной ОБМ. Расчетная ОБМ представляет собой суммарное количество микроорганизмов в процентах. Абсолютный показатель — количество ДНК искомого микроорганизма в образце, выраженное в геном-эквивалентах (ГЭ), представленное в виде десятичного логарифма (lg). Относительная частота представляет количество выявленного микроорганизма по отношению к лабораторной ОБМ в процентах.

Со всех плацент интраоперационно также производился забор мазка на бактериологиче-

ское исследование в пробирки для культивирования на стандартных средах для аэробов и анаэробов.

Статистический анализ. Обработку результатов исследования проводили с помощью программы Statistica 10.0, SPSS 13. Данные результатов ПЦР-РВ представлены как абсолютные количества в виде среднего десятичных логарифмов. Частота выявления микроорганизмов представлена в процентах, а также в относительных процентах лабораторной ОБМ. Количественные показатели представлены средним арифметическим (M) со стандартным отклонением (δ). Сравнение абсолютного количества в группах выполнялось с помощью критерия Манна – Уитни.

Результаты исследования

Средний возраст обследуемых составил $31,0 \pm 5,3$ года, частота первых родов составила 36,8 %, среднее количество беременностей на одну пациентку — $2,47 \pm 1,71$. Срок гестации — $39,3 \pm 0,65$ нед. (39–40,5 нед.).

Все образцы имели хороший контроль взятия мазка (КВМ): $10^{6,0}$ ГЭ/образец (минимум $10^{3,7}$ ГЭ/образец, максимум $10^{6,6}$ ГЭ/образец). Результаты анализа ПЦР-РВ образцов плаценты представлены в таблице.

Выявлены значимые различия между лабораторной и расчетной ОБМ. Лабораторная ОБМ была выше ($10^{4,01} \pm 10^{3,92}$ ГЭ/образец), чем расчетная ($10^{2,58} \pm 10^{2,18}$ ГЭ/образец; $U = 3,09$; $p = 0,002$). Частота выявления лабораторной ОБМ составила 15 случаев (79 %), частота положительной расчетной ОБМ была ниже — в 5 случаях (26 %) при $p \leq 0,001$, то есть результат лабораторной ОБМ соответствовал результату расчетной.

Стерильные плаценты (лабораторная и расчетная ОБМ не определяются) были выявлены в 4 случаях (21,1 %). Наибольшую частоту составляли так называемые неизвестные виды — 10 случаев (52,6 %). Под «неизвестными» видами мы понимали ситуации, когда лабораторная ОБМ определялась, то есть присутствовало наличие ДНК какой-либо микробной массы, а при подсчете расчетной ОБМ, то есть наличие ДНК 16 видов микроорганизмов, определяемых при помощи набора «Фемофлор-16», количество было меньше, соответственно разницу и составляли «неизвестные» виды (см. рисунок).

Из микроорганизмов, входящих в панель Фемофлор-16, в 5 случаях (26,3 %) выявлены представители *Enterobacteriaceae spp.*, что составило 26,3 %, в низком титре ($10^{2,58}$ ГЭ/образец,

Таблица / Table

Распределение микроорганизмов плаценты при доношенной беременности, определенное методом ПЦР-РВ
The distribution of placental microorganisms determined by RT-PCR in case of full-term pregnancy

Признак	Относительная частота, % (M ± m)	Абс. Ig (M)
Контроль взятия материала	–	6,00
Общая бактериальная масса лабораторная	100	4,01
Общая бактериальная масса расчетная	3,71 ± 0,19	2,58
<i>Lactobacillus spp.</i>	–	–
<i>Enterobacteriaceae spp.</i>	3,71 ± 0,19	2,58
<i>Streptococcus spp.</i>	–	–
<i>Staphylococcus spp.</i>	–	–
<i>Gardnerella vaginalis</i> + <i>Prevotellabivia</i> + <i>Porphyromonas spp.</i>	–	–
<i>Eubacterium spp.</i>	–	–
<i>Sneathia spp.</i> + <i>Leptotrichia spp.</i> + <i>Fusobacterium spp.</i>	–	–
<i>Megasphaera spp.</i> + <i>Veillonella spp.</i> + <i>Dialister spp.</i>	–	–
<i>Lachnobacterium spp.</i> + <i>Clostridium spp.</i>	–	–
<i>Mobiluncus spp.</i> + <i>Corynebacterium spp.</i>	–	–
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	–	–
<i>Atopobiumvaginae</i>	–	–
<i>Candida spp.</i>	–	–
<i>Mycoplasma hominis</i>	–	–
<i>Ureaplasma (urealyticum + parvum)</i>	–	–
<i>Mycoplasma genitalium</i>	–	–
Неизвестные виды	96,29 ± 0,19	3,99

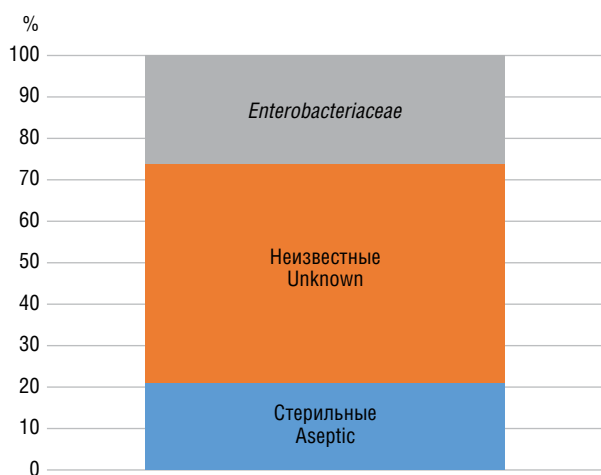


Рисунок. Частота выявления микроорганизмов в тканях плаценты при доношенной беременности

Figure. Detection rate of microorganisms in the placental tissues in full-term pregnancy

минимум $10^{2,1}$ — максимум $10^{3,2}$) относительная частота составила $3,71 \pm 0,19$ %, при этом максимальный процент в соотношении приходился на «неизвестные» виды ($96,3 \pm 0,19$ %).

Во всех случаях также проводилось бактериологическое исследование мазка с плацент. Роста микрофлоры в посевах не было во всех случаях, независимо от полученной ОБМ при анализе ПЦР-РВ.

Обсуждение результатов

Появление современных методов исследования, таких как амплификация генов и секвенирование ДНК, позволило совершить прорыв в исследовании метагеномики, которая может идентифицировать геном хозяина с обитающими микроорганизмами в определенной эконисше. С внедрением новых методов во-

прос о существовании микробиоты плаценты и понятие, что есть его норма и патология при беременности, приобрел особую актуальность.

Более современные исследования с применением культуральных и метагеномных методик демонстрируют наличие микроорганизмов в полости матки и плаценте при физиологически протекающей беременности [5, 14, 23, 29, 30].

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 [16, 21, 22].

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» [32] был начат в 2008 г. 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 [36].

Если в более ранних публикациях речь шла о *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* как обитателях нормальной кишечной микрофлоры в биоптатах плаценты [35], то сейчас при физиологически протекающей беременности во многих исследованиях доказано пребывание в тканях плаценты ДНК *Enterobacteriaceae spp.* [25, 33]. *Enterobacteriaceae spp.* и *Thermus* являются доминирующими в децидуальной ткани [25]. По результатам А.Л. Prince и соавт. [33], как правило, в плаценте выявляются *Proteobacteria*, *Enterobacteriaceae* (*Enterobacter*, *Escherichia*, *Shigella*), *Lactobacillus* и *Propionibacteriaceae*. В ряде работ обнаружено возможное выявление *Staphylococcus spp.* и *Streptococcus spp.* в околоплодных водах и в плацентах [7, 33]. В нашем исследовании мы выявили только представителей семейства *Enterobacteriaceae*, остальная часть ОБМ представлена неидентифицируемой ДНК бактерий.

Наличие *Lactobacillus* и *Propionibacterium* в плаценте, а также в кишечнике плода позволяет плоду проявлять толерантность к бактериям после рождения через феномен прайминга, поскольку он влияет на врожденную экспрессию гена иммунной реакции у плода и создание здорового микробиома у новорожденного [12, 33]. Однако в нашем исследовании бактерии выявлены не были. Доказано, что присутствие микробной колонизации

плаценты у большинства женщин без явных неблагоприятных перинатальных исходов подтверждает, что плацентарный микробиом может быть полезным [24, 30].

Секвенирование всего генома выявило, что плацента содержит уникальный микробиом, несколько похожий на оральный, а не вагинальный [5, 17]. Однако не совсем понятно: это сходство характерно для физиологически протекающей беременности, или связь реализуется при инфекциях пародонта и впоследствии приводит к повышению частоты осложнений [28, 33, 35]. 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 [39]. Предполагается, что бактерии могут передаваться из полости рта в плаценту гематогенным путем, а не восходящим путем из нижних половых путей. Наиболее распространенные изоляты из плаценты — *Protobacteria*, *Bacteroides*, *Fusobacteria* и *Tenericutes* [41], *Firmicutes* [25].

Культурально-зависимые исследования идентифицировали представителей родов *Prevotella*, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, *Gardnerella*, *Mobiluncus* и *Mycoplasma genitalium* в плацентах женщин, родивших недоношенных детей с преэклампсией или без нее, что предполагает участие нескольких штаммов бактерий в патогенезе акушерских осложнений [31]. Как видно, все они являются участниками формирования бактериального вагиноза. Исследования плацентарной микробиоты при преждевременных родах на основе ДНК показали повышенное содержание видов *Burkholderia* и *Protobacteria*, а также *Actinomyces spp.* и других смешанных некультивируемых анаэробов [9, 27, 31]. Однако в случае хориоамнионита было зарегистрировано более высокое содержание *Streptococcus agalactiae*, *Fusobacterium nucleatum* и *Ureaplasma parvum* [31]. У половины пациенток с преждевременными родами и положительной микробной культурой плаценты были выявлены типичные представители полости рта: *Bergeyella sp.*, *Clostridium sp.*, *Actinomyces sp.*, *Peptostreptococcus sp.* и *Candida albicans* [19, 20, 40].

В нашем исследовании были предприняты все меры по исключению загрязнения образцов (стерильное операционное поле, отсутствие контакта с кожными покровами); контрольные технические образцы в отличие от образцов плацентарной ткани не содержали ОБМ.

Таким образом, плацента содержит некую ДНК микроорганизмов. Возможно, это не та микробиота, о которой принято говорить, и компоненты которой могут быть культивированы при микробиологическом исследовании, но тем не менее этот орган находится не в стерильной среде и содержит признаки наличия микробного генетического материала. Несовпадение лабораторной ОБМ и суммарного количества идентифицированных микроорганизмов — рассчитанной ОБМ — говорит о том, что в исследуемом биоматериале присутствуют микроорганизмы, выявление которых не предусмотрено используемым набором реагентов.

Наше исследование подтвердило данные других авторов [25, 33, 41] о наиболее часто идентифицируемой *Enterobacteriaceae spp.* в плаценте при физиологически протекающей беременности; выявление *Lactobacillus* в плаценте является нехарактерной ситуацией при интактных плодных оболочках. Роста микрофлоры при микробиологическом исследовании выявлено не было. Это свидетельствует в пользу того, что либо на плаценте присутствуют трудно культивируемые на стандартных средах микроорганизмы, либо, возможно, плацента не содержит жизнеспособных бактерий, и фактически обнаруженный микробиом — это высвобожденное ДНК микроорганизмов.

Выводы

При физиологически протекающей доношенной беременности в тканях плаценты допустимо присутствие микроорганизмов с общей бактериальной массой $10^{4.0} \pm 10^{3.9}$ ГЭ/образец. В образцах плаценты нами выявлено преобладание лабораторной ОБМ над расчетной, то есть в анализах присутствовало ДНК микроорганизмов, неидентифицируемое стандартной панелью «Фемофлор-16» — «неизвестные» микроорганизмы (52,6 %). Стерильные плаценты при ПЦР-РВ встречались в 21 % случаев, тогда как при микробиологическом исследовании роста не было ни в одном случае. В норме при целом плодном пузыре на тканях плаценты могут определяться представители *Enterobacteriaceae spp.* ($10^{2.6}$ ГЭ/образец).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

- 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. — Т. 58. — № 6. — С. 36–42. [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;58(6):36–42. (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. — С. 57–65. [Voroshilina ES, Tumbinskaya LV, Donnikov AE, et al. Vaginal biocenosis in the context of view of quantitative polymerase chain reaction: what is its norm? *Obstetrics and gynecology*. 2011;(1):57–65. (In Russ.)]
- Попова Е.Н., Гордеев И.Г. Современные представления о микробиоме человека. Микробиота / под ред. Е.Л. Никонова, Е.Н. Попова. — М.: Медиа Сфера, 2019. — С. 5–19. [Popova EN, Gordeev IG. Sovremennye predstavleniya o mikrobiome cheloveka. *Mikrobiota*. Ed. by E.L. Nikonova, E.N. Popova. Moscow: Media Sfera; 2019. P. 5–19. (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 с. [Sukhikh GT, Prilepskaya VN, Trofimov DYU, et al. Primneniye metoda polimeraznoy tsepnoy reaktsii v realnom vremeni dlya otsenki mikrobiotsenoza urogenitalnogo trakta u zhenshchin (test femoflor): meditsinskaya tekhnologiya. Moscow, 2011. 36 p. (In Russ.)]
- Aagaard K, Ma J, Antony KM, et al. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med*. 2014;(6):237ra265. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3008599>.
- Ansbacher R, Boyson WA, Morris JA. Sterility of the uterine cavity. *Am J Obstet Gynecol*. 1967;99:394–396. [https://doi.org/10.1016/S0002-9378\(16\)34549-5](https://doi.org/10.1016/S0002-9378(16)34549-5).
- Bagga R, Arora P. Genital micro-organisms in pregnancy. *Front. Public Health*. 2020;(8):225. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00225>.
- Mitchell CM, Haick A, Nkwopara, et al. Colonization of the upper genital tract by vaginal bacterial species in non-pregnant women. *Am J Obstet Gynecol*. 2015;212(5):611.e1–611.e9. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2014.11.043>.
- Cobb CM, Kelly PJ, Williams KB, et al. The oral microbiome and adverse pregnancy outcomes. *Int J Womens Health*. 2017;(9):551–559. <https://doi.org/10.2147/IJWH.S142730>.
- Chen HJ, Gur TL. Intrauterine microbiota: Missing, or the missing link? *Trends Neurosci*. 2019;42:402–413. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2019.03.008>.
- Cherouny PH, Pankuch GA, Botti JJ. Occult intraamniotic infection at the time of midtrimester genetic amniocentesis: A reassessment. *Infect Dis Obstet*

- Gynecol.* 1994;2:136–139. <https://doi.org/10.1155/S1064744994000530>.
12. 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.* 2016;6:23129. <https://doi.org/10.1038/srep23129>.
 13. Fernandez H, Montuclard B, Guibert M. Does intraamniotic infection in the early phase of the second trimester really exist? *Am J Obstet Gynecol.* 1996;175:1077–1078.
 14. Fox C, Eichelberger K. Maternal microbiome and pregnancy outcomes. *Fertil Steril.* 2015;104(6):1358–1363. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.09.037>.
 15. Gervasi MT, Romero R, Bracalente G, et al. Midtrimester amniotic fluid concentrations of interleukin-6 and interferon-gamma-inducible protein-10: Evidence for heterogeneity of intra-amniotic inflammation and associations with spontaneous early (32 weeks) preterm delivery. *J Perinat Med.* 2012;(4):329–343. <https://doi.org/10.1515/jpm-2012-0034>.
 16. Goffau MC, Lager S, Sovio U, et al. Human placenta has no microbiome but can contain potential pathogens. *Nature.* 2019;(572):1–21. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1451-5>.
 17. Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med.* 2000;(342):1500–1507. <https://doi.org/10.1056/NEJM200005183422007>.
 18. 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. <https://doi.org/10.1128/JCM.01206-08>.
 19. Tuominen H, Rautava S, Syrjänen S, et al. HPV infection and bacterial microbiota in the placenta, uterine cervix and oral mucosa. *Sci Rep.* 2018;8(1):9787. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27980-3>.
 20. Ren H, Du M. Role of maternal periodontitis in preterm birth. *Front Immunol.* 2017;(8):139. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00139>.
 21. Theis KR, Romero R, Greenberg JM, et al. No consistent evidence for microbiota in murine placental and fetal tissues. *mSphere.* 2020;5(1):e00933-19. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00933-19>.
 22. 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. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2018.10.018>.
 23. 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.* 2016;(4):29. <https://doi.org/10.1186/s40168-016-0172-3>.
 24. 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. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0575-4>.
 25. Lihong Zhu, Fei Luo, Wenjing Hu, et al. Bacterial communities in the womb during healthy pregnancy. *Front Microbiol.* 2018;(9):2163. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02163>.
 26. Lim ES, Rodriguez C, Holtz LR. Amniotic fluid from healthy term pregnancies does not harbor a detectable microbial community. *Microbiome.* 2018;(6):87. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0475-7>.
 27. Sanz M, Kornman K. Periodontitis and adverse pregnancy outcomes: Consensus report of the joint EFP/AAP workshop on periodontitis and systemic diseases. *J Periodontol.* 2013;84(4 Suppl.):164–169. <https://doi.org/10.1902/jop.2013.1340016>.
 28. Martinez CA, 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. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197439>.
 29. Neuman H, Koren O. The pregnancy microbiome. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser.* 2017;(88):1–9. <https://doi.org/10.1159/000455207>.
 30. 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. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11514-4>.
 31. Pelzer E, Gomez-Arango LF, Barrett HL, et al. Maternal health and the placental microbiome. *Placenta.* 2017;54:30–37. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2016.12.003>.
 32. Peterson J, Garges S, Giovanni M, et al. The NIH human microbiome project. *Genome Res.* 2009;(12):2317–2323. <https://doi.org/10.1101/gr.096651.109>.
 33. 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. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.01.193>.
 34. Romero R. Prenatal medicine: The child is the father of the man. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2009;(22):636–639. <https://doi.org/10.1080/14767050902784171>.
 35. Satokari R, Gronroos T, Laitinen K, et al. Bifidobacterium and Lactobacillus DNA in the human placenta. *Lett Appl Microbiol.* 2009;48(1):8–12. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02475.x>.
 36. Solt I. The human microbiome and the great obstetrical syndromes: A new frontier in maternal-fetal medicine. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2015;29(2):165–175. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2014.04.024>.
 37. Steel JH, Malatos S, Kennea N, et al. Bacteria and inflammatory cells in fetal membranes do not always cause preterm labor. *Pediatr Res.* 2005;(57):404–411. <https://doi.org/10.1203/01.PDR.0000153869.96337.90>.
 38. 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. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2013.01.018>.
 39. 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. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146157>.
40. Wang YL, Liou JD, Pan WL. Association between maternal periodontal disease and preterm delivery and low birth weight. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2013;52(1):71–76. <https://doi.org/10.1016/j.tjog.2013.01.011>.
41. Younes JA, Lievens E, Hummelen R, et al. Women and their microbes: The unexpected friendship. *Trends Microbiol*. 2017;26(1):16–32. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.07.008>.

■ Информация об авторах

Алина Андреевна Безрукова — ассистент кафедры гигиены питания с курсом гигиены детей и подростков. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара. E-mail: bezzrukovaa@yandex.ru.

Наталья Владимировна Спиридонова — доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии ИПО. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара. E-mail: nvspiridonova@mail.ru.

Мария Александровна Каганова — кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии ИПО. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара. E-mail: mkaganova@yandex.ru.

Дарья Анатольевна Галкина — врач — акушер-гинеколог. ГБУЗ СО «Самарская городская клиническая больница № 1 им. Н.И. Пирогова», Самара. E-mail: darya.golubeva.1992@mail.ru.

■ Information about the authors

Alina A. Bezrukova — assistant of the Department of Food Hygiene with a Course of Hygiene for Children and Adolescents. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: bezzrukovaa@yandex.ru.

Natalya V. Spiridonova — Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, IPE. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: nvspiridonova@mail.ru.

Maria A. Kaganova — Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, IPE. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: mkaganova@yandex.ru.

Darya A. Galkina — MD, Obstetrician-Gynecologist. Samara City Clinical Hospital No. 1 named after N.I. Pirogov, Samara, Russia. E-mail: darya.golubeva.1992@mail.ru.