

УДК:618.6/.7-095:612.664

DOI: 10.15587/2519-4798.2019.179468

ВИЗНАЧЕННЯ СТАНУ “НОРМОЦЕНОЗУ” ЗА РЕЗУЛЬТАТАМИ ПРОСПЕКТИВНОГО БАКТЕРІОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ МОЛОЧНИХ ЗАЛОЗ У ПОРОДІЛЬ В ДИНАМИЦІ 7 ДІБ ПІСЛЯПОЛОГОВОГО ПЕРІОДУ

В. І. Чуйко, Д. А. Хасхачих

Мета. Дослідити динамічні зміни якісного та кількісного стану мікробної флори у різних ділянках шкіри молочних залоз у породіль на протязі 7 діб післяпологового періоду, для визначення представників мікрофлори, які формують поняття “нормоценозу” молочної залози, як чинника запобігання гнійно-септичних ускладнень в післяпологовому періоді.

Матеріали та методи. Обстежені 54 породіль на першу, третю та 5–7 добу післяпологового періоду, що мали фізіологічні пологи, з відсутністю екстрагенітальної патології, гострих та хронічних інфекційних захворювань, які виключно годували грудьми. Для взяття матеріалу використовували метод змивів-зішкребів по Вільямсону та Клігману з двох ділянок молочної залози: *areola mammae* та *papilla mammae*. Ідентифікація бактеріальної флори проводилась колориметричною системою для дослідження “Liofilchem” (Італія). Культури аерококів ідентифікувались також за додатковими критеріями: ростом на селективно-індикаторному середовищі, ростом та біохімічною активністю на середовищах з солями селена та телура, лактатоксидазною, супероксиддисмутазною активністю.

Результати. Усього було виділено 13 штампів мікроорганізмів (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprofiticus*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus sp.* та *Aerococcus viridans*, ентеробактеріальна - *Enterobacter sp.*, *E. coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Bacillus sp.*, дрожеподібні гриби – *Candida sp.*).

На 1–2 добу післяпологового періоду у породіль мало місто висівання з більшою частотою ентеробактеріальної флори та *Staphylococcus aureus*. З різних ділянок молочної залози висівались *Staphylococcus aureus* до 23,8 % випадків, *Enterobacter sp.* – 9,5 %, *E. coli* – 19 %, *Klebsiella pneumonia* – 14,3 %. В перші дні післяпологового періоду достовірно вище відмічалось висівання тільки *Staphylococcus epidermidis* з різних ділянок молочної залози породіль.

У динаміці післяпологового періоду на 3–4 добу відмічалось підвищення висівання кокової флори з молочної залози: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprofiticus*, *Micrococcus sp.*. На 5–7 добу післяпологового періоду вірогідно вище було висівання з різних ділянок молочних залоз *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprofiticus* та *Aerococcus viridans*.

Висновки. Мікробіологічний стан молочних залоз породіль без осередків інфекції складає кокова флора, до якої відноситься і *Aerococcus viridans*. Кокова флора, крім *Staphylococcus aureus*, є флорою нормобіозу, яка забезпечує здоровий стан шкіри молочних залоз у жінок після пологів. З плином часу у післяпологовому періоді має місце збільшення колонізації молочних залоз сапрофітною та антагоністично активною коковою мікрофлорою, здебільш в ділянках *papilla mammae*. Вицезгадана тенденція відбувається паралельно із зменшенням колонізації різних ділянок молочної залози *Staphylococcus aureus* та Грам-негативними ентеробактеріями. В динаміці післяпологового періоду у породіль має місце висівання аеробних спороутворюючих бацил, особливо з *papilla mammae*, що можливо трактувати як компенсаторний механізм нормалізації мікробіоценозу данної ділянки молочної залози

Ключові слова: молочна залоза, бактеріологічне дослідження, мікробіоциноз, нормоценоз, динаміка, післяпологовий період, лактація

Copyright © 2019, V. Chuyko, D. Khaskhachykh.

This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>).

1. Вступ

Особливості анатомічної структури, різке посилення функції молочної залози у післяпологовому періоді та зниження імунологічної реактивності організму зумовлюють зміни мікробіологічного складу молочної залози у цей період. Відомо, що при нормальному перебігу вагітності відбуваються істотні зміни в імунній системі жінок, що полягають у її пригніченні та зростанні активності факторів, що блокують реакції клітинного імунітету. Ці зміни є закономірними, тому що сприяють тривалому співіснуванню двох

генетично різних організмів (матері і плоду) і забезпечують нормальний перебіг вагітності та пологів. Усі показники імунологічної реактивності організму породіллі відновлюються близько 7 діб після пологів [1]. На цьому імунологічному фоні у породіллі починається процес лактації, який може супроводжуватися патологічними станами – лактостазом та призводити до розвитку маститу. Післяпологовий мастит діагностується у 2–11 % випадків жінок з лактацією [2–4]. В багатьох дослідженнях було встановлено, що у мікробіоценозі молочних залоз вагітних перед пологами з

частотою 26.5–64.7 % присутні представники сапрофітної та антагоністичної мікрофлори – *Aerococcus viridans* у кількості 10^2 – 10^4 КУО/мл. Отримані штами *Aerococcus viridans* мали високу здатність до продукції пероксида водню [5, 6].

Мета дослідження – дослідити динамічні зміни якісного та кількісного стану мікробної флори у різних ділянках шкіри молочних залоз у породіль на протязі 7 діб післяпологового періоду, для визначення представників мікрофлори, які формують поняття “нормоцинозу” молочної залози, як чинника запобігання гнійно-септичних ускладнень в післяпологовому періоді.

2. Матеріали та методи

Дослідження проводилося в пологовому відділенні на базі перинатального центру міської клінічної лікарні м. Дніпро в 2018–2019 роках. Дослідження погоджено на засіданні комісії з біоетики ДЗ “Дніпропетровської Державної медичної академії МОЗ України” № 1 від 16.01.17 р. Всі жінки, що брали участь в дослідженні отримали необхідну інформацію про цілі та можливі наслідки дослідження, та дали інформовану згоду.

Обстежені 54 породіллі на першу, третю та 5–7 добу післяпологового періоду, що мали фізіологічні пологи, з відсутністю екстрагенітальної патології, гострих та хронічних інфекційних захворювань, які виключно годували грудьми. Для взяття матеріалу використовували метод змивів-зішкребів по Вільямсону та Клігману в модифікації С. І. Клинюка і С. І. Ситника [7] з двох ділянок молочної залози: *areola mammae* та *papilla mammae*, а також виконувався висів молозива та молока. Ідентифікація бактеріальної флори проводилась колориметричною системою для дослідження фірмою “Liofilchem” (Італія). Культури аерококів ідентифікувались за додатковими критеріями: ростом на селективно-індикаторному середовищі та біохімічною активністю на середовищах з солями селена та телура, лактатоксидазною, супероксиддисмутазною активністю [8].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою програмного забезпечення Office 365 A1 for faculty №1003BFFD8C8E8B0D. Використаний параметричний аналіз. Обчислювали значення середнього арифметичного (M) і середню помилку середнього арифметичного (m). Вірогідність розходжень оцінювали за допомогою t коефіцієнта Стьюдента. Для порівняння якісних ознак застосовувався критерій χ^2 (ксі-квадрат). Розходження вважали статистично достовірними при $p < 0,05$ (95 % рівень значущості).

3. Результати дослідження

Мікробіологічний аналіз показав, що мікробіоценоз шкіри молочної залози у породіль був представлений різноманітною коковою та паличковою флорою (табл. 1).

Усього було виділено 13 штамів мікроорганізмів (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprofiti-*

cus, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus sp* та *Aerococcus viridans*, ентеробактеріальна – *Enterobacter sp.*, *E. coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Bacillus sp.*, дрожеподібні гриби – *Candida sp.*). Високий відсоток висівання визначався серед представників кокової мікрофлори. Найбільший відсоток складала *Staphylococcus epidermidis* до 93,3 %, *Staphylococcus saprofiticus* – 80 %, *Micrococcus sp.* – 40 % та *Aerococcus viridans* – 86,7 %. В переважній більшості випадків (60–80 %), збудником післяпологового маститу є *Staphylococcus aureus*, який висівався у жінок в післяпологовому періоді у 24 % випадків.

Значно рідше виявлялись інші мікроорганізми: стрептококи групи А та В, ентеробактеріальна мікрофлора, яка при проведенні даних досліджень була представлена *Enterobacter sp.*, *E. coli* у *Klebsiella pneumonia* [9]. Серед паличкової флори великий процент висівання набували у породіль *Bacillus sp.* (до 40 %). *Bacillus sp.* є аеробними спороутворюючими бактеріями з високою антагоністичною активністю, поява яких трактується, як компенсований стан мікробіоценозу молочної залози завдяки видовим спектром аеробних спороутворюючих бацил [4, 10]. На 1–2 добу післяпологового періоду у породіль мало місто висівання з більшою частотою ентеробактеріальної флори та *Staphylococcus aureus*. З різних ділянок молочної залози висівались *Staphylococcus aureus* до 23,8 % випадків, *Enterobacter sp.* – 9,5 %, *E. coli* – 19 %, *Klebsiella pneumonia* – 14,3 %. В перші дні післяпологового періоду достовірно вище відмічалось висівання тільки *Staphylococcus epidermidis* з різних ділянок молочної залози породіль.

У динаміці післяпологового періоду на 3–4 добу відмічалось підвищення висівання кокової флори з молочної залози: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprofiticus*, *Micrococcus sp.* Вірогідно частіше відмічалось зростання висівання *Aerococcus viridans* з ділянки *papilla mammae* у порівнянні з 1–2 доби післяпологового періоду. Частота висівання *Bacillus sp.* на 3–4 добу післяпологового періоду суттєво не змінювалась. Висівання ентеробактеріальної флори та *Staphylococcus aureus* на 3–4 добу зменшувалась, що було обумовлено елімінацією цих мікроорганізмів з мікробіоценозу молочної залози на фоні розвитку лактації у породіль.

На 5–7 добу післяпологового періоду вірогідно вище було висівання з різних ділянок молочних залоз *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprofiticus* та *Aerococcus viridans*. В динаміці післяпологового періоду у породіль на 5–7 добу, у порівнянні з першими днями післяпологового періоду, вірогідно зростало висівання *Staphylococcus epidermidis* (з 33,3 % до 93,3 %, $p < 0,05$), *Staphylococcus saprofiticus* (з 28,8 % до 80 % $p < 0,05$), *Aerococcus viridans* (з 23,8 до 86,7 % $p < 0,05$) та *Bacillus subtilis* (з 14,3 % до 40 % $p < 0,05$). На фоні зростання цих мікроорганізмів відмічалась елімінація, здебільш з *papilla mammae*, таких мікроорганізмів, як *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter hafnia*, *Klebsiella pneumonia*, та зменшувалось висівання *E. coli*, *Staphylococcus aureus*.

Таблиця 1

Вміст мікрофлори молочних залоз породіль у різні терміни післяпологового періоду (n=54)

Мікроорганізми досліджені з молочних залоз	1 доба				3 доба				5–7 доба			
	Areola mammae		Papilla mammae		Areola mammae		Papilla mammae		Areola mamme		Papilla mammae	
	n	M±m	n	M±m	n	M±m	n	M±m	n	M±m	n	M±m
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6	33,3±10,3	14	66,7±10,3*	7	38,9±11,5	14	72,2±10,5	6	40,0±12,6	14	93,3±6,5*+
<i>Staphylococcus saprofiticus</i>	6	28,6±9,7	5	23,8±9,3	6	33,3±11,1	8	44,4±11,7	7	46,7±12,9	12	80,0±10,3*+
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	23,8±9,3	4	19,0±8,6	2	11,1±7,4	–	–	–	–	1	6,7
<i>Micrococcus sp.</i>	3	14,3±7,6	7	33,3±10,3	5	27,8±10,6	6	33,3±11,1	4	26,7±11,4	6	40,0±12,6
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	9,5±6,4	2	9,5±6,4	1	5,5±5,4	–	–	1	6,7	–	–
<i>Enterobacter hafnia</i>	2	9,5±6,4	1	4,8	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	4,8	1	4,8	–	–	–	–	1	6,7	1	6,7
<i>E. coli</i>	4	19,0±8,6	3	14,3±7,6	3	16,7±8,8	1	5,5±5,4	1	–	2	13,3±8,8
<i>Candida sp.</i>	1	4,8	–	–	1	5,5±5,4	–	–	1	6,7	–	–
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	14,3±7,6	3	14,3±7,6	2	11,1±7,4	1	11,1±7,4	–	–	–	–
<i>Bacillus subtilis</i>	3	14,3±7,6	2	9,5±6,4	3	16,7±8,8	2	11,1±7,4	5	33,3±12,2	6	40,0±12,6*
<i>Bacillus licheniformis</i>	1	4,8	–	–	1	5,5±5,4	1	5,5±5,4	3	20,0±10,3	2	13,3±8,8
<i>Aerococcus viridans</i>	5	23,8±9,3	7	33,3±10,3	5	27,8±10,6	16	88,9±7,4*+	6	40,0±12,6	13	86,7±8,8*+

Примітка: * – $p < 0,05$ у порівнянні із висіванням мікроорганізмів з різних ділянок молочних залоз у кожену добу післяпологового періоду; + – $p < 0,05$ у порівнянні із висіванням мікроорганізмів з різних ділянок молочних залоз на 1–2 добу післяпологового періоду

5. Обговорення результатів дослідження

У попередніх дослідженнях нормобіозу вагітних було встановлено, що перед пологами основними представниками біоценозу молочних залоз складала кокова флора, здебільш групи стафілококів, а також аутосімбіотний мікроорганізм *Aerococcus viridans*, який висівався з частотою 26,5–64,7 % у кількості 10^2 – 10^4 КУО/мл [5, 6].

Аналіз літератури показав, що мікрофлора молочної залози здебільш ідентична мікрофлорі шкіри і складається в основному з кокової флори [3, 11]. Але відсутність повідомлень, що стосується численності та ролі *Aerococcus viridans* у підтримці колонізаційної резистентності молочних залоз під час лактації, поставила нам за мету вивчення частоти виявлення вмісту мікрофлори з різних ділянок молочної залози під час лактації, а також вмісту аутосімбіотних аерококів, у динаміці післяпологового періоду.

Було виявлено, що з початку післяпологового періоду у породіль серед кокової флори, висівалася значна кількість *Staphylococcus aureus* (23,8±9,3 %) та ентеробактеріальної мікрофлори.

I. Matheson, I. Aursnes, M. Horgen et. al. [3] у своїх дослідженнях також відмічали велику частоту висівання у здорових породіль на першу добу *Staphylococcus*

aureus (75 %), але на відміну від наших досліджень, достовірне зниження висівання *Staphylococcus aureus* відбувалось на 8–10 добу пуерперія.

В динаміці післяпологового періоду мало місце збільшення колонізації молочних залоз сапрофітною та антагоністично активною коковою мікрофлорою, здебільш в ділянках papilla mammae: *Staphylococcus epidermidis* (з 33,3 % до 93,3 %, $p < 0,05$), *Staphylococcus saprofiticus* (з 28,8 % до 80 % $p < 0,05$), *Aerococcus viridans* (з 23,8 до 86,7 % $p < 0,05$). Спостерігається зростання аеробних спороутворюючих бацил, особливо з papilla mammae, що багатьма авторами трактується як компенсаторний механізм нормалізації мікробіоценозу даної ділянки молочної залози [3, 12].

Обмеження дослідження. Обмеження дослідження полягає в тому, що наразі не застосовується бактеріологічний скринінг виділень молочної залози у вагітних з нормальним та патологічним плином вагітності та пологів з ціллю профілактики гнійно-септичних ускладнень в ранньому післяпологовому періоді, особливо у жінок, які отримують антибактеріальну профілактику та терапію. Таким чином, на обмеженому обсязі досліджень важко дослідити весь спектр змін мікрофлори молочної залози в ранньому післяпологовому періоді.

Перспективи подальших досліджень. Грудне вигодовування, є дуже важливим медичним та соціальним чинником, що впливає на здоров'я матері та дитини. Проведені дослідження показали зміни, які відбуваються у мікробіоценозі на поверхні та в секреті молочних залоз у жінок в перший тиждень післяпологового періоду, які мали фізіологічний плин вагітності і пологів, та в післяпологовому періоді годували своїх немовлят виключно грудним молоком. Великий інтерес визивають дослідження змін мікробіоценозу молочних залоз у вагітних з різноманітними ускладненнями пологів та екстрагенітальною паталогією, та у жінок, які тимчасово, або зовсім не годують немовлят, для розуміння патогенетичних процесів формування місцевого імунітету, що є запорукою профілактики гнійно-септичних ускладнень у породіль і немовлят.

6. Висновки

1. Нормобіотичний стан молочних залоз породіль, без осередків інфекції, складала кокова флора, крім *Staphylococcus aureus*, яка забезпечує здоровий стан шкіри молочних залоз у жінок після пологів.

2. Аутосимбіонтний мікроорганізм *Aerococcus viridians* з високою частотою колонізує молочну залозу породіль, що відіграє значну роль в колонізаційній резистентності макроорганізму.

3. На початок післяпологового періоду та формуванні лактації, у породіль на шкірі молочних залоз висівалися здебільш умовно-патогенні мікроорганізми, які найбільш часто є причиною розвитку лактаційних маститів (*Staphylococcus aureus*, *Enterobacter sp.*, *E. coli*, *Klebsiella pneumonia*).

4. З плином часу у післяпологовому періоді має місце збільшення колонізації молочних залоз антагоністично активною коковою мікрофлорою, здебільш в ділянках з *papilla mammae*.

5. В динаміці післяпологового періоду у породіль має місце висівання аеробних споруруючих бацил, особливо з *papilla mammae*, що можливо трактувати як компенсаторний механізм нормалізації мікробіоценозу данної ділянки молочної залози.

Конфлікт інтересів

Конфлікт інтересів відсутній.

Література

1. Айламазян, Э. К., Кулаков, В. И., Радзинский, В. Е., Савельева, Г. М. (Ред.) (2007). Акушерство: национальное руководство. Москва: Гэтар-Медиа, 1200.
2. Макаров, И. О., Боровкова, Е. И. (2013). Бактериальные и вирусные инфекции в акушерстве и гинекологии. Москва: МЕДпресс-информ, 253.
3. Matheson, I., Aurnes, I., Horgen, M., Aabo, O., Melby, K. (1988). Bacteriological Findings and Clinical Symptoms. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 67 (8), 723–726. doi: <http://doi.org/10.3109/00016349809004296>
4. Riordan, J. M., Nichols, F. H. (1990). A Descriptive Study of Lactation Mastitis in Long-Term Breastfeeding Women. *Journal of Human Lactation*, 6 (2), 53–58. doi: <http://doi.org/10.1177/089033449000600213>
5. Чуйко, В. І., Юргель, Л. Г., Гарагуля, І. С. та ін. (2007). Вміст *Aerococcus viridans* у мікробіоценозі молочних залоз вагітних перед пологами. *Дерматологія, косметологія, сексопатологія. Днепропетровск*, 124–127.
6. Stepanski, D. O., Kremenchutsky, G. M., Chuyko, V. I., Koshova, I. P., Khomiak, O. V., Krushynska, T. Y. (2017). Hydrogen production activity and adhesive properties of aerococci, isolated in women. *Annals of Mechnikov Institute*, 2, 53–56.
7. Климнюк, С. И., Сытник, С. И. (1989). Устройство для забора проб микрофлоры кожи. *Бюлл.*, 48, 98.
8. Кременчуцкий, Г. Н., Юргель, Л. Г., Шарун, О. В. и др. (2009). Методы выделения и идентификации грамположительных каталазонегативных кокков. *Киев*, 19.
9. Муравьева, Л. А., Александров, Ю. К. (2002). Оперативное лечение лактационного гнойного мастита в сочетании с ГБО-терапией. *Хирургия*, 5, 21–26.
10. Costerton, J. W., Cheng, K. J., Geesey, G. G., Ladd, T. I., Nickel, J. C., Dasgupta, M., Marrie, T. J. (1987). Bacterial Biofilms in Nature and Disease. *Annual Review of Microbiology*, 41 (1), 435–464. doi: <http://doi.org/10.1146/annurev.mi.41.100187.002251>
11. Domig, K. J., Kiss, H., Petricevic, L., Viernstein, H., Unger, F., Kneifel, W. (2014). Strategies for the evaluation and selection of potential vaginal probiotics from human sources: an exemplary study. *Beneficial Microbes*, 5 (3), 263–272. doi: <http://doi.org/10.3920/bm2013.0069>
12. Stojanović, N., Plečaš, D., Plešinc, S. (2012). Normal vaginal flora, disorders and application of probiotics in pregnancy. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 286 (2), 325–332. doi: <http://doi.org/10.1007/s00404-012-2293-7>

Рекомендовано до публікації д-р мед. наук Потанов В.О.

Received date 05.07.2019

Accepted date 20.08.2019

Published date 30.09.2019

Чуйко Василь Іванович, кандидат медичних наук, асистент, кафедра акушерства та гінекології, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», вул. В. Вернадського, 9, м. Дніпро, Україна, 49044
E-mail: ksuchuiko@gmail.com

Хасхачих Дмитро Анатолійович, кандидат медичних наук, доцент, кафедра акушерства та гінекології, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», вул. В. Вернадського, 9, м. Дніпро, Україна, 49044
E-mail: docdhas@gmail.com