



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΕΘΝΙΚΗΣ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ, ΤΜΗΜΑ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ:

**Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΚΥΗΣΗ ΤΟΝ
ΤΟΚΕΤΟ ΚΑΙ ΤΗ ΛΟΧΕΙΑ**

ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ: ΚΑΔΟΓΛΟΥ ΣΟΦΙΑ

ΕΠΟΠΤΕΥΩΝ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟΣ: κα ΜΠΟΥΡΟΥΤΖΟΓΛΟΥ ΜΑΡΙΑ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ, 2019

ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΕΘΝΙΚΗΣ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ, ΤΜΗΜΑ
ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ:

Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΚΥΗΣΗ ΤΟΝ
ΤΟΚΕΤΟ ΚΑΙ ΤΗ ΛΟΧΕΙΑ

ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ: ΚΑΔΟΓΛΟΥ ΣΟΦΙΑ

ΕΠΟΠΤΕΥΩΝ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟΣ: κα ΜΠΟΥΡΟΥΤΖΟΓΛΟΥ ΜΑΡΙΑ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ, 2019

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω πολύ την καθηγήτρια κ. Μπουρουτζόγλου Μαρία, η οποία υπήρξε πηγή έμπνευσης του θέματος της πτυχιακής μου και στήριγμά μου κατά την εκπόνησή της. Η συμβολή της στην εργασία μου ήταν σημαντική και χωρίς αυτή δεν θα είχα καταφέρει να συντάξω την εργασία αυτή.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	3
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	4
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	5
ABSTRACT	6
ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	7
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	8
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΤΟ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΗΣ	12
1.1. Η ΜΙΚΡΟΧΛΩΡΙΔΑ ΤΟΥ ΓΥΝΑΙΚΕΙΟΥ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ.....	12
1.2. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ ΚΑΙ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ ΣΤΗΝ ΚΥΗΣΗ.....	14
1.3. ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΩΝ	19
1.4. ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΜΙΚΡΟΒΙΩΝ ΣΤΗΝ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΑ ΚΟΙΛΟΤΗΤΑ	22
1.4.α. Σύσταση του αμνιακού υγρού	22
1.4.β. Μικροβιακές κοινότητες σε πλακούντα, αμνιακό υγρό, μηκόνιο και πρωτόγαλα	23
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ ΚΑΙ ΤΟΚΕΤΟΣ.....	26
2.1. Η ΕΠΙΡΡΟΗ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ ΤΟΥ ΤΟΚΕΤΟΥ ΣΤΟ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ	26
2.2. ΚΑΙΣΑΡΙΚΗ ΤΟΜΗ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ.....	30
2.3. ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑ ΤΟΝ ΤΟΚΕΤΟ.....	32
2.4. Η ΤΟΠΟΘΕΣΙΑ ΤΗΣ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΟΥ ΤΟΚΕΤΟΥ ΩΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗΣ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑΤΟΣ	34
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΤΟ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΕΡΙΟΔΟ ΤΗΣ ΛΟΧΕΙΑΣ	36
3.1. ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΤΟΥ ΝΕΟΓΝΟΥ.....	38
3.1.α. Σύσταση του μητρικού γάλατος	39
3.1.β. Ο ρόλος των ολιγοσακχαριτών στο μητρικό γάλα	42
3.1.γ. Διατροφή των πρόωρων νεογνών	45
3.2. ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΑΚΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ.....	48
3.3. ΤΟ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ ΤΩΝ ΤΕΛΕΙΟΜΗΝΩΝ ΝΕΟΓΝΩΝ	51
3.4. ΕΠΙΡΡΟΗ ΤΗΣ ΕΙΣΑΓΩΓΗΣ ΣΤΕΡΕΩΝ ΤΡΟΦΩΝ ΣΤΟ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ.....	57
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	59
ΕΠΙΛΟΓΟΣ	61
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	62

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα τελευταία χρόνια έχουν αυξηθεί οι κλινικές έρευνες και τα επιστημονικά δεδομένα που μελετούν το ανθρώπινο μικροβίωμα και τις μικροβιακές κοινότητες των περιοχών του σώματος, αλλά και τους τρόπους που αυτό αποκτάται. Το ανθρώπινο μικροβίωμα αποτελεί αναπόσπαστο τμήμα του ανθρώπινου οργανισμού από την αρχή της ζωής του και κληροδοτείται από τον οργανισμό της μητέρας στον απόγονο κατά την κύηση, τον τοκετό και τη λοχεία. Από την αποδεδειγμένη και φυσιολογική παρουσία των μικροβίων στην ενδομήτρια κοιλότητα κατά την κύηση ως την μη φυσιολογική κολπική μικροχλωρίδα και τις σχετιζόμενες παθολογικές καταστάσεις, όπως τη χοριοαμνιονίτιδα, όλα ξεκινούν από τον μητρικό οργανισμό. Με το πέρας της κύησης και κατά τον τοκετό, το έμβρυο διέρχεται από το γεννητικό κανάλι όπου και επικαλύπτεται με τα κολπικά μικρόβια και στη συνέχεια έρχεται σε επαφή με τον έξω κόσμο, τα χέρια και το σώμα της μητέρας και των επαγγελματιών υγείας, αποκτώντας ένα σημαντικό αριθμό και είδη μικροβίων. Το είδος του τοκετού καθορίζει σε σημαντικό βαθμό τη βιοποικιλότητα του μικροβιώματος, καθώς παρουσιάζονται διαφορές του μεταξύ νεογνών που γεννήθηκαν με καισαρική τομή και με κολπικό τοκετό. Τέλος, θα έλεγε κανείς ότι η κρίσιμότερη περίοδος για την εγκατάσταση του μικροβιώματος στον απόγονο είναι αυτή των πρώτων ημερών της ζωής, όπου μέσω του θηλασμού, αλλά και της συνεχούς σωματικής επαφής του νεογνού/βρέφους με το περιβάλλον, το μικροβίωμα συνεχώς εμπλουτίζεται και διαφοροποιείται. Θετική επίδραση σε αυτό διαδραματίζουν και οι ολιγοσακχαρίτες του μητρικού γάλακτος. Μια σειρά λοιπών παραγόντων, όπως η αντιβιοτική αγωγή στη μητέρα και το νεογνό περιγεννητικά, η σίτιση με υποκατάστατο μητρικού γάλακτος και ο παρατεταμένος χρόνος νοσηλείας του νεογνού σε μονάδα, φαίνεται να έχουν αρνητική επίδραση στη μεταφορά και εγκατάσταση του μικροβιώματος. Η εργασία αυτή μελετά τους τρόπους μετάδοσης του μικροβιώματος και τους παράγοντες που εμπλέκονται στην εγκατάσταση του.

ABSTRACT

During the last years, the number of clinical trials and scientific data around the human microbiome and microbial communities across the human body has increased, along with the amount of knowledge regarding the different pathways that it is passed down. The human microbiome is an inseparable part of the human system since the very first stages of its life and it is passed from the mother's organism to the offspring during the stages of gestation, labor and postpartum. From the proved, normal presence of microbes in the uterus during gestation, to the abnormal vaginal flora and the related pathological conditions, such as chorioamnionitis, it all starts from the mother's body. With labor at the end of pregnancy, the baby passes through the birth canal where it gets covered with vaginal microbes and then comes in touch with the external world, its mother's and health professional's hands and bodies, acquiring a huge number and brand new species of microbes. The kind of labor greatly determines the biodiversity of the microbiome since it seems to be different among infants born with cesarean section versus vaginally born infants. Finally, one may say that the first days of life is a very critical period for the microbial establishment in the offspring's organism, when the contribution of breastfeeding and frequent skin-to-skin human touch comes to play a major role at enriching and diversifying the infant's Microbiome. Human milk oligosaccharides have a beneficial effect on this. A series of other factors, such as prenatal use of antimicrobial drugs to the mother and postnatal to the infant, formula milk feeding and prolonged period of infant hospitalization, all seem to negatively impact the microbe's transmission and establishment. This paper studies the different pathways of passing the microbial community from mother to her offspring, as well as the factors precluding this procedure.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Τα τελευταία χρόνια, καθώς έχουν αυξηθεί οι επιστημονικές γνώσεις που αφορούν το μικροβίωμα και τον ρόλο του στον ανθρώπινο οργανισμό, έγινε ξεκάθαρο το γεγονός ότι η μικροβιακή ταυτότητα του ατόμου επηρεάζει σε πολύ μεγάλο βαθμό τη γενικότερη κατάσταση υγείας και ευεξίας του. Οι πληροφορίες που πηγάζουν από τις εκτενείς έρευνες που έχουν γίνει προσφάτως και οι προοπτικές αξιοποίησης των αποτελεσμάτων αυτών για την αντιμετώπιση αρκετών ασθενειών και χρόνιων παθήσεων που μειώνουν την ποιότητα ζωής των ανθρώπων, δείχνουν ότι πλέον μπορούν ή θα μπορούν σύντομα να αντιμετωπισθούν με την εφαρμογή εξατομικευμένης θεραπείας που θα λαμβάνει υπ' όψην της το μικροβίωμα και την εντερική μικροχλωρίδα του εκάστοτε ατόμου, προσφέροντας έτσι καλύτερη ανταπόκριση του οργανισμού στη θεραπεία με μεγαλύτερες δυνατότητες διαχείρισής της. Η ιδέα ότι οι μικροοργανισμοί που κατοικούν στο εσωτερικό του σώματός μας δεν βρίσκονται εκεί από την αρχή της δημιουργίας του, αλλά αποκτώνται σε κάποιο στάδιο της ανάπτυξης του και της ζωής, σε συνδυασμό με την επίδραση που μπορεί να έχει το κάθε άτομο στην βιοποικιλότητα του μικροβιώματος αυτού, ανάλογα με τον τρόπο ζωής του και αντίστροφα, μου γέννησε μεγάλη περιέργεια και επιθυμία για περεταίρω μελέτη. Η ανάγκη κατανόησης του μηχανισμού απόκτησης και εγκατάστασης του μικροβιώματος αποτελεί θεμέλιο για μελέτη του τρόπου μεταβολής και επίδρασης των περιβαλλοντικών παραγόντων του κάθε ατόμου σε αυτό με στόχο τη μεγιστοποίηση της ευεξίας και της ποιότητας ζωής του. Σκοπός της εργασίας αυτής είναι να μελετήσει και να αποσαφηνίσει το ρόλο που διαδραματίζει το ανθρώπινο μικροβίωμα και η μικροβιακή χλωρίδα στον ανθρώπινο οργανισμό κατά τις κρίσιμες περιόδους της κύησης, του τοκετού και της λοχείας, αλλά και το μηχανισμό κληροδότησης και εγκατάστασης στο νεογέννητο. Μετά την αναφορά της καθηγήτριάς μου σε ένα μάθημά της για το ρόλο του μικροβιώματος, θέλησα να μελετήσω μέσω της παρούσας πτυχιακής εργασίας τους μηχανισμούς αυτούς και τις μεταβολές που προκύπτουν στη διάρκεια της εγκυμοσύνης, του τοκετού και της λοχείας, εμβαθύνοντας σε νέα μονοπάτια γνώσης και έρευνας.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο ανθρώπινος οργανισμός εκτιμάται ότι αποικείται από 10^{14} μικροβιακά κύτταρα, τα οποία συμβιώνουν σε διάφορα μέρη του ανθρώπινου σώματος, με το μεγαλύτερο αριθμό αυτών να ανευρίσκεται στο έντερο.⁽¹⁾ Οι μικροβιακοί πληθυσμοί που αποικίζουν τον άνθρωπο έχουν ονομαστεί συλλογικά «ανθρώπινο μικροβίωμα» (AM) ή «ανθρώπινη μικροχλωρίδα» και συγκροτούν ένα πολύπλοκο οικοσύστημα από οργανισμούς που μπορεί να είναι φιλικοί (mutualists), ουδέτεροι (commensals) ή παθόγονοι (pathogens). Τα γονίδια που φέρουν τα μικρόβια αυτά που αποικούν στις διάφορες κοιλότητες συνολικά αποτελούν το ανθρώπινο μικροβίωμα (Human Microbiota), το οποίο είναι μοναδικό για κάθε άνθρωπο τόσο όσο και το δακτυλικό του αποτύπωμα, και ξεπερνάει σε αριθμό γονιδίων τα ανθρώπινα σωματικά και φυλετικά χρωμοσώματα. Τα είδη από τα οποία απαρτίζεται το ανθρώπινο μικροβίωμα είναι ιοί, βακτήρια και αρχαία, μύκητες και πρωτόζωα, με το κυριότερο μέρος αυτής της μικροβιακής κοινότητας να αποτελείται από βακτήρια. Τα μικρόβια των μικροχλωρίδων καταλαμβάνουν σχεδόν κάθε βλεννογόνο και κοιλότητα του ανθρώπινου σώματος, όπως η στοματική κοιλότητα, η ουρογεννητική οδός, οι αναπνευστικοί ιστοί και η γαστρεντερική οδός, και ολόκληρη την επιφάνεια του δέρματος. Ο μεγαλύτερος αριθμός βακτηρίων παρατηρείται στο παχύ έντερο και στο κόλον.

Το AM είναι ένα πολύπλοκο οικοσύστημα, το οποίο σε αριθμό κυττάρων είναι 10 φορές περισσότερα από το συνολικό αριθμό των ανθρώπινων κυττάρων του σώματος. Οι προηγούμενες γνώσεις που θεωρούσαν τα μικρόβια αποκλειστικά ως παθογόνους μικροοργανισμούς, έχουν πλέον ξεπεραστεί. Οι πολλαπλές λειτουργίες που έχουν αποδοθεί στις μικροχλωρίδες, σημαντικότερες από τις οποίες είναι η σύνθεση βιταμινών (π.χ. βιταμίνης K, βιοτίνης, φυλλικού οξέος, παραγωγή λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου), ο μεταβολισμός χολικών αλάτων, ο καταβολισμός φυτικών ινών, βλέννης και λιπαρών οξέων, η ρύθμιση φλεγμονωδών αντιδράσεων και η ενίσχυση του επιθηλιακού ανοσοποιητικού συστήματος, αποδεικνύουν ότι το μικροβίωμα συνεισφέρει μοναδικά στην ευημερία του ανθρώπινου οργανισμού, επιτελώντας λειτουργίες που απουσιάζουν από τα κύτταρα-ξενιστές.⁽²⁾ Όσο αφορά την άμυνα του οργανισμού, η μικροχλωρίδα του ανθρώπινου οργανισμού παρέχει προστασία απέναντι σε ξένους παθογόνους μικροοργανισμούς, με μηχανισμούς όπως ο ανταγωνισμός για τα θρεπτικά συστατικά, η παραγωγή αντιμικροβιακών ενώσεων, ή καθιστώντας το περιβάλλον εχθρικό για την

1 Ursell LK, Metcalf JL, Parfrey LW, Knight R. (2012), Defining the Human Microbiome, Nutr Rev. 2012 Aug; 70(Suppl 1): S38–S44. doi: 10.1111/j.1753-4887.2012.00493.x

2 Α-Φ.Α. Μεντής, Φ. Γύπας (2013), Ανθρώπινο μικροβίωμα του εντέρου ο ρόλος του στην υγεία και στη νόσο. Αρχεία ελληνικής ιατρικής 2013, 30(3): 272-288

εγκατάσταση παθογόνων. Συνεπώς, το ΑΜ αναφέρεται και ως «υπερ-οργανισμός» ή «ξεχασμένο όργανο» ή «το εκτεταμένο γονιδίωμα» το οποίο συνυπάρχει με το ανθρώπινο σύστημα, σε μία ομοιοστατική σχέση που είναι αμοιβαία ωφέλιμη ή σε κάποιες περιπτώσεις μπορεί να οδηγήσει σε ασθένεια, καθώς υπάρχουν και μικροοργανισμοί του μικροβιώματος που είναι δυνητικά παθογόνοι. Η διάκριση των παθογόνων από τα ωφέλιμα είδη, συμβαίνει μέσω πρωτεϊνικών μορίων-υποδοχέων όπως οι TLRs (Toll-like Receptors) και αισθητήρες που ανιχνεύουν τα νουκλεοτίδια των κυριότερων ολιγομερών των ισόμορφων πρωτεϊνών των βακτηρίων (CARD), αποτρέποντας την ανάπτυξη φλεγμονής από τον ανθρώπινο οργανισμό. Διάφορα νοσήματα όπως η νόσος του Crohn, το σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου και η ελκωτική εντεροκολίτιδα, με συνέπεια την καταστροφή του εντερικού ιστού και επιθηλίου, προκαλούνται από εσφαλμένη ανοσολογική απάντηση από τον ανθρώπινο οργανισμό ή αποτυχία ανοχής της φυσιολογικής τοπικής μικροχλωρίδας.⁽³⁾

Ο Ιπποκράτης, ήδη από την αρχαιότητα, πίστευε ότι «η κακή πέψη είναι η ρίζα όλων των δεινών». Όμως οι ανθρώπινες μελέτες για το ανθρώπινο μικροβίωμα ξεκίνησαν το 1680 με τον Antonie van Leewenhoek, ο οποίος συνέκρινε τη μικροχλωρίδα της στοματικής του κοιλότητας με αυτή των κοπράνων του, εντοπίζοντας εντυπωσιακές διαφορές. Η συσχέτιση μεταξύ των μικροβιακών αποικιών του εντέρου και της υγείας έγινε το 1907 από τον Metchnikoff, ο οποίος υπέθεσε ότι η αντικατάσταση των «σηπτικών» βακτηρίων του εντέρου από γαλακτοβάκιλλους θα μπορούσε να ενισχύσει την εύρυθμη λειτουργία του εντέρου. Το μεγαλύτερο μέρος των επιστημονικών γνώσεων πάνω στο κομμάτι του ανθρώπινου μικροβιώματος, προήλθε από δύο μεγάλα ερευνητικά προγράμματα που άρχισαν το 2007: Το πρόγραμμα διερεύνησης του ανθρώπινου μικροβιώματος (Human Microbiome Project) στις ΗΠΑ και ανάλογο πρόγραμμα που χρηματοδοτήθηκε από την Ευρωπαϊκή Ένωση (MetaHIT project), με κύριο αντικείμενο μελέτης την εντερική μικροχλωρίδα.⁽¹⁾ Τα αποτελέσματα και τα στατιστικά στοιχεία που προέκυψαν από το μεγάλο αυτό ερευνητικό πρόγραμμα, αποκάλυψαν πολλές μεταβολικές, ανοσολογικές και δομικές λειτουργίες του μικροβιώματος που σχετίζονται άμεσα με την γενικότερη κατάσταση υγείας του ατόμου.

Σήμερα, με τη βοήθεια των σύγχρονων τεχνολογικών εξελίξεων και μοριακών ανακαλύψεων, όπως είναι η μέθοδος PCR (ανάλυση αλληλουχιών γονιδίων 16S rRNA), ενισχύθηκαν οι μελέτες όσον αφορά στην εγκατάσταση και ταυτοποίηση των ειδών του ανθρώπινου μικροβιώματος και έγινε σύνδεση μεταξύ αυτού και της επίδρασής του στη μακροχρόνια υγεία του ατόμου. Οποιαδήποτε διαταραχή προκύπτει στην ομοιοστατική αλληλεπίδραση ανθρώπινου οργανισμού-μικροχλωρίδας (δυσβίωση), μπορεί να επιφέρει κλινικές διαταραχές, όπως φλεγμονώδεις νόσους, άσθμα, περιοδοντίτιδα, κολίτιδα,

3 Ann M O'Hara, Fergus Shanahan (2006), The gut flora as a forgotten organ, European Molecular Biology Organization reports 2006 Jul; 7(7): 688–693. doi:10.1038/sj.embor.7400731

καθώς και παχυσαρκία, υποσιτισμό, νευρολογικές παθολογίες, ψυχιατρικές διαταραχές, κ.ά.⁽⁴⁾ Είναι δε χαρακτηριστικό, ότι η σύνδεση μεταξύ ενός εγκεφάλου που βρίσκεται υπό τη δράση των ορμονών του άγχους και της παρουσίας κοιλιακών συμπτωμάτων έχει αποδειχθεί με έναν μεγάλο αριθμό κλινικών μελετών τα τελευταία 70 χρόνια, μέσω της βιοχημικής επικοινωνίας μεταξύ του γαστρεντερικού και του κεντρικού νευρικού συστήματος.

Η σύσταση του μικροβιώματος μεταβάλεται κατά τη διάρκεια ζωής του ατόμου, ανάλογα με τα επίπεδα άγχους του, τον τρόπο ζωής του, την ηλικία, τη διατροφή, αν λαμβάνει κάποια φαρμακευτική αγωγή, τυχόν ιατρικές παρεμβάσεις και με την εγκυμοσύνη. Αποκτάται κατά τα πρώιμα στάδια της ανάπτυξης του ανθρώπου και η σύνθεση του αρχικού μικροβιώματος, δηλαδή αυτού της νεογνικής περιόδου, εξαρτάται από παράγοντες όπως το είδος του τοκετού, η ηλικία κύησης, ο τρόπος σίτισης του νεογνού, οι ιατρικές παρεμβάσεις, και η έκθεση του στο περιβάλλον (νοσοκομειακό ή οικιακό). Κατά τη διάρκεια του τοκετού και αμέσως μετά, βακτηρίδια προερχόμενα από την κολπική και εντερική μικροχλωρίδα της μητέρας και από το περιβάλλον αρχίζουν να αποικίζουν τον οργανισμό του νεογέννητου. Ο μικροβιακός αποικισμός του εντέρου του νεογνού - βρέφους είναι μία διαδικασία πολύπλοκη, μακροχρόνια και καθοριστική για τη μελλοντική υγεία του, παρότι υφίσταται μεταβολές και διαφοροποιήσεις στη μικροβιολογική του σύνθεση μέχρι την ηλικία των 3 ετών, όπου και σταθεροποιείται σε ένα ενήλικο πρότυπο. Αν και η πολύπλοκη μικροχλωρίδα του ενήλικα είναι δύσκολο να αλλάξει μακροπρόθεσμα, το μικροβίωμα των νεογνών παρουσιάζει ευκολότερα μεταβολές καθώς δεν είναι τόσο σταθερό όσο των ενηλίκων. Στα νεογνά, τόσο στα τελειόμηνα όσο και στα πρόωρα, είναι σημαντικός ο ρόλος του εντερικού μικροβιώματος, αναφορικά με μεταβολικές και ανοσολογικές λειτουργίες, δηλαδή στη διατροφή και στην ωρίμανση της άμυνας του νεογνού⁽¹⁾⁽³⁾. Τυχόν μεταβολές στο εντερικό μικροβίωμα του νεογνού μπορούν να έχουν ως αποτέλεσμα νοσηρότητα κατά τη νεογνική περίοδο, καθώς και πιθανές επιπτώσεις ως και μετέπειτα κατά την παιδική ηλικία. Οι διαταραχές αυτές συσχετίζονται με την εμφάνιση αυτοάνοσων νοσημάτων, όπως η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου, ο σακχαρώδης διαβήτης και οι αλλεργικές αντιδράσεις, όπως τροφικές αλλεργίες, άσθμα, έκζεμα κλπ, λόγω της παρεμβολής στην ωρίμανση του ανοσοποιητικού συστήματος⁽⁵⁾. Συνεπώς, τα αρχικά στάδια της ζωής είναι κρίσιμα για τον αποικισμό του νεογέννητου με τη δική του μοναδική βιοποικιλότητα που

4 Distrutti E, Monaldi L, Ricci P, Fiorucci S. (2016), Gut microbiota role in irritable bowel syndrome: New therapeutic strategies, *World Journal of Gastroenterology* 2016 Feb 21; 22(7): 2219–2241. doi: 10.3748/wjg.v22.i7.2219

5 Pannaraj PS, Li F, Cerini C et al. (2017), Association Between Breast Milk Bacterial Communities and Establishment and Development of the Infant Gut Microbiome, *JAMA Pediatrics* 2017 Jul; 171(7): 647–654. doi: 10.1001/jamapediatrics.2017.0378.

θα καθορίσει σε ένα μεγάλο βαθμό την μικροβιακή του ταυτότητα: τον κυρίαρχο μικροβιακό συνδυασμό που θα το διακρίνει από άλλα άτομα⁽⁶⁾. Σκοπός αυτής της εργασίας, όπως προκύπτει από τα παραπάνω είναι να μελετήσει και να αποσαφηνίσει τους σύνθετους και μοναδικούς μηχανισμούς με τους οποίους κληροδοτείται το μικροβίωμα από τη μητέρα στον απόγονο, εγκαθίσταται και μεταβάλλεται στο νέο οργανισμό και η συσχέτιση των μαιευτικών πρακτικών σε αυτή τη διαδικασία.

6 R Wall, R.P Ross, C.A Ryan, S Hussey, B Murphy, G.F Fitzgerald, and C Stanton (2009), Role of Gut Microbiota in Early Infant Development, Clinical Medicine Pediatrics 2009; 3: 45–54

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΤΟ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΗΣ

1.1. Η ΜΙΚΡΟΧΛΩΡΙΔΑ ΤΟΥ ΓΥΝΑΙΚΕΙΟΥ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Είναι πλέον γνωστό, ότι ο ανθρώπινος οργανισμός αποικίζεται από κοινότητες μικροβίων, μοναδικές για κάθε σημείο του σώματος. Το κολπικό μικροβίωμα διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην άμυνα του γεννητικού συστήματος της γυναίκας, στη διατήρηση της καλής αναπαραγωγικής της υγείας και, κατά την περιγεννητική περίοδο, στη μητρική και στη νεογνική έκβαση. Η βακτηριακή κοινότητα του κόλπου απαρτίζεται κυρίως από είδη γαλακτοβάκιλλων (*Lactobacilli*). Το γένος του λακτοβάκιλλου αποτελείται από ένα μεγάλο εύρος βακτηριακών ειδών, και στον κόλπο τυπικά κυριαρχούν οι εξής *Lactobacillus*: *L. crispatus*, *L. inners* *L. crispatus* και *L. gasseri*. Άλλα είδη όπως τα *L. jensinii*, *L. gallinarum* και *L. vaginalis* ανευρέθηκαν επίσης σε μερικές γυναίκες. Η κυρίαρχη παρουσία των λακτοβάκιλλων έγινε γνωστή για πρώτη φορά το 1892 από τον Doderlein, ο οποίος κατάφερε να το απομονώσει από τον κόλπο φυσιολογικών εγκυμονούσων γυναικών. Οι λακτοβάκιλλοι είναι μικροαερόφιλοι Gram-θετικοί ράβδοι που διατηρούν το περιβάλλον του κόλπου όξινο παράγοντας το γαλακτικό οξύ το οποίο και διατηρεί το pH του κόλπου γύρω στο 4,5 εμποδίζοντας την ανάπτυξη ουδετερόφυλων και την εισβολή παθογόνων. Εκτός από την παραγωγή του γαλακτικού οξέος, εμποδίζουν την εγκατάσταση παθογόνων βακτηρίων μέσω της έκκρισης αντιμικροβιακών ουσιών όπως είναι το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) και οι βακτηριοκίνες. Με τη χρήση των κλασσικών μεθόδων της μικροβιολογίας, δηλαδή την καλλιέργεια και την μικροσκοπική ανάλυση, η κολπική μικροχλωρίδα μπορεί να χαρακτηριστεί υγιής όταν η πλειονότητά της αποτελείται από τους *Lactobacillus spp.* και ιδιαίτερα τον *Lactobacillus crispatus*. Το κολπικό μικροβίωμα αλλάζει σε σύσταση παράλληλα με την πρόοδο της κύησης όπως φάνηκε από μια μελέτη που ανέλυσε γενετικά το κολπικό μικροβίωμα από 22 μη-έγκυες και 32 έγκυες γυναίκες. Η μελέτη αυτή ανέδειξε την αύξηση συγκεκριμένων ειδών λακτοβάκιλλων (*L. vaginalis*, *L. crispatus*, *L. jensenii*, *L. Gasseri*) καθώς αυξανόταν η ηλικία κύησης και σημειώθηκε μείωση στη βιοποικιλότητα του κολπικού μικροβιώματος.⁽⁷⁾

Η ανάλυση του κολπικού μικροβιώματος, συνίσταται στη λήψη νουκλεϊκού οξέος, την ανάλυση αυτού και την αλληλούχηση διαφόρων περιοχών του βακτηριακού γονιδίου 16S

7 Mueller NT, Bakacs E, Combellick J, Grigoryan Z, Dominguez-Bello MG (2014), The infant microbiome development: mom matters, Trends in molecular medicine 2015 Feb; 21(2): 109–117. doi: 10.1016/j.molmed.2014.12.002

rRNA με ολιγονουκλεοτίδια συμπληρωματικά με τις περιοχές αυτές του γονιδίου. Ο μεγάλος πλέον αριθμός των διαθέσιμων ανακαλύψεων, όπως η μέθοδος PCR, επιτρέπει τον χαρακτηρισμό του κολπικού μικροβιώματος της κάθε γυναίκας ξεχωριστά, ακόμα και για είδη μη καλλιεργήσιμα με τις κλασικές μεθόδους. Με τη μέθοδο PCR ήρθαν στο φως καινούργιες πτυχές και περισσότερες λεπτομέρειες για τα χαρακτηριστικά του κολπικού μικροβιώματος και βρέθηκε να υπάρχει συσχέτιση μεταξύ αυτού και της αναπαραγωγικής υγείας. Παρ' όλα αυτά, παρατηρήθηκε σε μερικές γυναίκες υγιής μικροχλωρίδα εν απουσία των λακτοβάκιλλων με κυρίαρχα είδη άλλα βακτήρια που επίσης παράγουν γαλακτικό οξύ: *Atopobium*, *Megasphaera* και *Leptotrichia*. Επομένως το όξινο περιβάλλον του κόλπου μπορεί να διατηρηθεί και από άλλα βακτήρια εκτός των *Lactobacillus*⁽⁸⁾. Εξωγενείς πηγές λακτοβάκιλλων αποτελούν τα προϊόντα που έχουν υποστεί ζύμωση (γιαούρτι, τυρί) και τα συμπληρώματα διατροφής που περιέχουν προβιοτικά.

Το βακτηριακό προφίλ των γαλακτοβάκιλλων αλλάζει καθώς τα άτομα μεγαλώνουν ηλικιακά και εμφανίζονται αλλαγές στην αναλογία τους, οι οποίες είναι δυνατό να οδηγήσουν στην εκδήλωση ασθένειας⁽⁹⁾. Το 1980, έρευνα ανέδειξε ότι σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις, όπως οι κολπίτιδες, η μικροχλωρίδα του κόλπου άλλαζε σύσταση και παρατηρούνταν αυξημένος αριθμός της *Gardnerella Vaginallis*, αλλά και δραματικές αυξήσεις του αριθμού των αναερόβιων μικροβίων και γεννητικών μυκοπλασμάτων (*Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, και *viridans streptococci*). Η κατάσταση που χαρακτηρίζεται από αυτές τις αλλαγές στη σύσταση του κολπικού μικροβιώματος με την αύξηση των αναερόβιων βακτηρίων, ονομάστηκε βακτηριακή κολπίτιδα (Bacterial Vaginosis-BV) και δεν ανήκει στα σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα. Μάλιστα προτάθηκε ότι η BV αποτελεί σύνδρομο και όχι μεμονωμένη κατάσταση, οφείλεται σε αλλαγές στο βακτηριακό προφίλ, από είδη που παράγουν γαλακτικό οξύ σε μια πληθώρα από διαφορετικά βακτηριακά είδη που μεταβάλλουν το κολπικό pH, αυξάνοντας τις πιθανότητες για ανάπτυξη της φλεγμονώδους νόσου της πυέλου, την εμφάνιση σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων (STI's) ακόμα και του AIDS⁽¹⁰⁾. Σε γυναίκες με BV παρατηρούνται συνήθως τα εξής είδη αναερόβιων μικροοργανισμών: *Gardnerella*

8 Iara Moreno Linhares, Paulo Cesar Giraldo, Edmund Chada Baracat (2010), New findings about vaginal bacterial flora, Review Article, Rev Assoc Med Bras 2010; 56(3): 370-4.

9 Raquel M. Martinez et al. (2014), Molecular Analysis and Clinical Significance of Lactobacillus spp. Recovered from Clinical Specimens Presumptively Associated with Disease, Journal of Clinical Microbiology, 2014 Jan; 52(1): 30-36. doi: 10.1128/JCM.02072-13

10 David H. Martin (2012), The Microbiota of the Vagina and Its Influence on Women's Health and Disease, the American Journal of the Medical Sciences, January 2012, Volume 343, Issue 1, Pages 2-9. doi: 10.1097/MAJ.0b013e31823ea228

vaginalis, *Prevotella bivia*, *Atopobium vaginae*, *Fusobacterium nucleatum*, *Mobiluncus mulieris*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*. Οι πάσχουσες είναι πιθανόν να εμφανίζουν συμπτώματα όπως χαρακτηριστικό κολπικό έκκριμα, κνησμό, έντονη δυσσομία και δυσπαρεύνια, ενώ σε άλλες περιπτώσεις μπορεί να είναι εντελώς ασυμπτωματικές. Κλινικές μελέτες ανέδειξαν τη σχέση των κολπικών λοιμώξεων αυτού του είδους (συμπτωματικών και ασυμπτωματικών), με την εμφάνιση επιπτώσεων για τη μητέρα και το νεογνό αλλά και με αυξημένο κίνδυνο για πρόωρο τοκετό⁽¹¹⁾. Παρόλα αυτά η αντιβιοτική αγωγή σε μη συμπτωματικές γυναίκες δεν φάνηκε να ελαττώνει την πιθανότητα για πρόωρο τοκετό. Επίσης γυναίκες που ήταν θετικές για HPV παρουσίαζαν μεγαλύτερη βιοποικιλότητα στα είδη μικροβιακής κολπικής μικροχλωρίδας αλλά όχι σημαντικά αυξημένες πιθανότητες για πρόωρο τοκετό συγκριτικά με τις γυναίκες που δεν ήταν φορείς.⁽¹²⁾ Οι αλλοιώσεις της μικροχλωρίδας πιθανώς οφείλονται σε παράγοντες όπως η συνουσία, οι ορμονικές μεταβολές (αύξηση των οιστρογόνων), η κύηση, η λήψη αντιβιοτικών και η χρήση σπερματοκτόνων με νονοξυνόλη-9 ουσία που έχει βακτηριοκτόνο δράση απέναντι στους γαλακτοβάκιλλους.⁽¹¹⁾

Χρειάζεται περισσότερη έρευνα πάνω στους παράγοντες που επιδρούν και μεταβάλουν την κολπική μικροχλωρίδα. Η μελέτη του μικροβιώματος του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος και κατ' επέκταση η ανίχνευση της BV, δεν είναι πάντα εφικτή με τις κοινές μεθόδους *in vitro* καλλιέργειας και μικροσκοπικής εξέτασης μικροοργανισμών. Οι μέθοδοι που προτιμώνται από τους ερευνητές για την ταυτοποίηση ειδών που είναι αδύνατον να καλλιεργηθούν, είναι οι τεχνολογίες αλληλούχησης επόμενης γενιάς (Next Generation Sequencing – NGS) όπου με τη χρήση γενετικών σηματοδοτών, όπως η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) που χρησιμοποιείται για την ανάλυση της αλληλουχίας του 16S γονιδίου στο rRNA, επιτυγχάνεται η ανίχνευση και αναγνώριση ενός πολύ μεγαλύτερου αριθμού βακτηριακών ειδών⁽¹³⁾.

1.2. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ ΚΑΙ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ ΣΤΗΝ ΚΥΗΣΗ

Το κολπικό pH και η σύσταση του κολπικού μικροβιώματος υπόκεινται σε αλλαγές κατά τη διάρκεια του εμμηνορροϊκού κύκλου λόγω των μεταβολών των αναπαραγωγικών

11 Elizabeth Stepp Gilbert (2016), “Κύηση και τοκετός υψηλού κινδύνου”, Αθήνα: ΛΑΓΟΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ

12 Subramaniam A, Lees BF, Becker DA, Tang Y, Khan MJ, Edwards RK. (2016), Evaluation of Human Papillomavirus as a Risk Factor for Preterm Birth or Pregnancy-Related Hypertension, Abstract, Obstet Gynecol. 2016 Feb;127(2):233-40. doi: 10.1097/AOG.0000000000001247

13 Coralia Bleotu, Socolov Demetra, Ruxandra Stănculescu et al. (2017), Methods of investigation of human microbiome in obstetrics and gynecology, Romanian Biotechnological Letters, Volume 24, Number 2, March-April 2019, pages 344-353. doi: 10.25083/rbl/24.2/344.353

ορμονών του γυναικείου συστήματος. Αυτές οι ορμονικές μεταβολές σε συνδυασμό με τις αλλαγές στο κολπικό pH ευνοούν την αύξηση ορισμένων μικροοργανισμών στο γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα, όπως η *Candida albicans*, ιδιαίτερα στην προεμμηνορρυσιακή περίοδο⁽⁸⁾.

Παρόμοιες μεταβολές με αυτές που εμφανίζονται στο κολπικό επιθήλιο του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος κατά τη διάρκεια του εμμηνορρυσιακού κύκλου, παρουσιάζονται και κατά την κύηση λόγω των ορμονικών αλλαγών που συμβαίνουν στο γυναικείο σώμα εκείνη την περίοδο. Οι ορμονικές αυτές αλλαγές έχουν ως αποτέλεσμα την κυριαρχία διαφορετικών ειδών *Lactobacillus*. Η υγιής κολπική χλωρίδα παίζει σημαντικό ρόλο στην προστασία από γεννητικές λοιμώξεις οι οποίες θεωρούνται συχνό αίτιο του πρόωρου τοκετού⁽¹⁴⁾. Οι πρόωροι τοκετοί είναι η κύρια αιτία νεογνικών θανάτων παγκοσμίως. Υπάρχουν πολλοί αιτιολογικοί παράγοντες που οδηγούν στην πρόωρη έναρξη ενός τοκετού, με τις λοιμώξεις της ενδομήτριας κοιλότητας να έχουν αποδειχτεί ότι είναι ένας από αυτούς. Η έγκαιρη διάγνωση και αντιμετώπιση των ενδοαμνιακών λοιμώξεων είναι σημαντικοί παράγοντες για την έκβαση της υγείας της μητέρας και του νεογνού. Η ενδοαμνιακή λοίμωξη ή χοριοαμνιονίτιδα είναι μια επιπλοκή της κύησης που σχετίζεται με αυξημένη νεογνική και μητρική νοσηρότητα και θνητότητα. Ουσιαστικά, ο όρος περιγράφει κάθε λοίμωξη που συμπεριλαμβάνει τη φλεγμονή πλακούντα, φθαρτού, αμνιακού υγρού, εμβρύου, εμβρυικών μεμβρανών και οποιοδήποτε συνδυασμό των παραπάνω. Υπάρχει ένας αριθμός στοιχείων που υποθέτει ότι το πλακουντιακό μικροβίωμα έχει έναν ρόλο απέναντι στην ανάπτυξη μολύνσεων, αν και ο σκοπός της ύπαρξής του δεν έχει αποσαφηνιστεί ακόμη.⁽¹⁵⁾

Η χοριοαμνιονίτιδα μπορεί να προκύψει ακόμα και με άρρηκτους υμένες. Οι εν λόγω λοιμώξεις, σχετίζονται τόσο με τη νεογνική νοσηρότητα: εστιακές βλάβες/εντοπίσεις, νεογνική πνευμονία, μηνιγγίτιδα, σηψαιμία και θνησιμότητα, όσο και με επιπλοκές στη μητέρα: μεταγεννητική αιμορραγία, ενδομητρίτιδα, περιτονίτιδα, σηψαιμία, σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας ενηλίκων και σπανιότερα θάνατο⁽¹⁶⁾. Σε πολλές περιπτώσεις, οι λοιμώξεις αυτές δεν εμφανίζουν την κλασσική συμπτωματολογία των λοιμώξεων (υποκλινικές) και διαφεύγουν από τον προγεννητικό έλεγχο και την προσοχή των

14 Vicky Jaspers, Janneke van de Wijgert, Piet Cools et al. (2015), The significance of *Lactobacillus crispatus* and *L. vaginalis* for vaginal health and the negative effect of recent sex: a cross-sectional descriptive study across groups of African women, *BMC Infectious Diseases*, March 2015 15:115. doi: 10.1186/s12879-015-0825-z

15 Higgins RD, Saade G, Polin RA, Grobman WA et al. (2016), Evaluation and Management of Women and Newborns With a Maternal Diagnosis of Chorioamnionitis: Summary of a Workshop, *Obstetrics & Gynecology*: March 2016 Volume 127 Issue 3, p 426–436. doi: 10.1097/AOG.0000000000001246

16 The American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG), ACOG (2017) Intrapartum Management of Intraamniotic Infection

επαγγελματιών υγείας λόγω του ότι δύναται να προκαλούνται από μικρόβια που δεν είναι αποκλειστικά παθογόνα αλλά υπάρχουν μόνιμα στο γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα.⁽¹⁷⁾ Τα μικροβιακά είδη που σχετίζονται με τους πρόωρους τοκετούς, όπως το μυκόπλασμα (*Mycoplasma hominis*) το οποίο ανευρίσκεται στον γεννητικό σωλήνα του 70% των γυναικών και το ουρεόπλασμα (*Ureaplasma urealyticum*), βρίσκουν πέρασμα μέσω του τράχηλου της μήτρας και προκαλούν ανιούσες λοιμώξεις από τον κατώτερο γεννητικό σωλήνα. Στο 65% των γυναικών με επιβεβαιωμένη χοριοαμνιονίτιδα ανευρίσκονται περισσότερα από ένα είδη μικροοργανισμών, γεγονός που καθιστά τη λοίμωξη πολυμικροβιακή. Άλλα συχνά ανευρισκόμενα είδη σε καλλιέργειες αμνιακού υγρού είναι τα αναερόβια *Gardnerella vaginalis* (25%) και τα βακτηριοειδή (30%), όπως και επίσης ο στρεπτόκοκκος ομάδας B (GBS, 15%) και gram-αρνητικά βακτήρια όπως η *Escherichia coli* (8%). Τα προαναφερόμενα είδη αποτελούν μέλη της φυσιολογικής κολπικής και εντερικής χλωρίδας των γυναικών.

Η παρουσία αερόβιας κολπίτιδας (Aerobic vaginitis-AV) έχει κατηγορηθεί για την ανάπτυξη χοριοαμνιονίτιδας, πρόωρη ρήξη εμβρυικών υμένων και πρόωρου τοκετού. Τέλος, σημαντική είναι η επίπτωση των συγγενών λοιμώξεων (ερυθρά, κυτταρομεγαλοϊός, τοξόπλασμα, HSV-2, VZV, παρβοϊός B19, λοίμωξη από *Neisseria*, *Listeria*) κυρίως στο αναπτυσσόμενο έμβρυο και στο νεογνό οι οποίες ανιχνεύονται με ορολογική εξέταση της μητέρας και έλεγχο των αντισωμάτων IgG και IgM, λήψη χοριακών λαχνών και αμνιοπαρακέντηση. Η λήψη εμβρυικού αίματος και η ομφαλιδοπαρακέντηση είναι πρακτικές που εφαρμόζονται μετά τις 22 εβδομάδες για να εξετάσουν την κατάσταση του εμβρύου.⁽¹⁷⁾

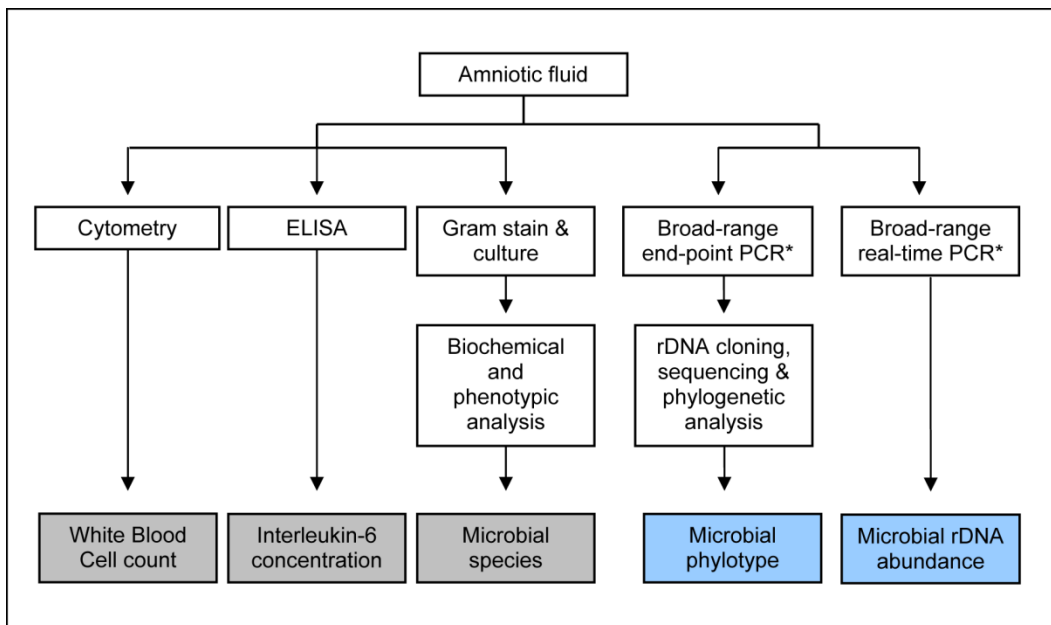
Η διάγνωση της χοριοαμνιονίτιδας αποτελεί πρόκληση. Τα συμπτώματα που θέτουν την υποψία ενδομήτριας λοίμωξης είναι η μητρική και εμβρυική ταχυκαρδία (>110 χτύποι/λεπτό, και >160 χτύποι/λεπτό αντίστοιχα), θερμοκρασία >39°C και εμπύρετος τοκετός, αυξημένος αριθμός λευκών κυττάρων (WBC>15.000/mm³) και αυξημένη τιμή της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP). Η επιβεβαιωτική και οριστική διάγνωση γίνεται ιστολογικά (ανίχνευση των μικροοργανισμών στις επιφάνειες του πλακούντα και στους υμένες), μικροβιολογικά (καλλιέργεια των μικροβίων από συλλογή αμνιακού υγρού ή δειγματοληψία χοριακών λαχνών) και τέλος με την εμφάνιση των τυπικών συμπτωμάτων (ιδιαίτερα σε πρωτογενείς συγγενείς λοιμώξεις). Παράγοντες κινδύνου για χοριοαμνιονίτιδα αποτελούν η παρατεταμένη ρήξη υμένων (περισσότερο από 12 ώρες), παρατεταμένο πρώτο στάδιο του τοκετού, κεχωρισμένο αμνιακό υγρό, αποικισμός με στρεπτόκοκκο ομάδας B, χρήση αλκοόλ και κάπνισμα, και η βακτηριακή κολπίτιδα (Bacterial Vaginosis).^(16,22)

17 Meekai To, Michael Kidd, Darryl Maxwell (2011), Prenatal diagnosis and management of fetal infections, The Obstetrician & Gynaecologist, First published: 26 January 2011

Κατά τη διάρκεια της κύησης, ο τράχηλος της μήτρας υφίσταται ορισμένες αλλαγές ώστε να αποτελέσει φραγμό για την είσοδο των παθογόνων και να υποστηρίξει το αναπτυσσόμενο έμβρυο. Τα τραχηλικά επιθηλιακά κύτταρα παράγουν μια πυκνή βλέννη που προστατεύει το περιεχόμενο της ενδομήτριας κοιλότητας από την άνοδο παθογόνων. Παραδόξως όμως, η είσοδος των μικροβίων στην αμνιακή κοιλότητα γίνεται συχνότερα με διασπορά τους από τον κόλπο διαμέσου του τραχηλικού στομίου με τη μορφή ανιούσας λοίμωξης. Άλλοι τρόποι μετάδοσης ενδομήτριων λοιμώξεων είναι η μετάδοση τους από την περιτοναϊκή κοιλότητα μέσω των φαλλοπιανών σαλπίνγων, με ακατάλληλα αποστειρωμένη βελόνη κατά την αμνιοπαρακέντηση ή τη λήψη χοριακών λαχνών (ιατρογενής μετάδοση) και με αιματογενή εξάπλωση μέσω του πλακούντα, κυρίως στις περιπτώσεις ιογενών λοιμώξεων⁽¹⁸⁾. Το έμβρυο προσβάλλεται μέσω της επαφής του με το μολυσμένο αμνιακό υγρό κατά την κύηση ή διαπλακουντιακά μέσω του ομφάλιου λώρου.

Η αμνιοπαρακέντηση αποτελεί μια πρακτική για την αξιολόγηση της κατάστασης του εμβρύου, για την ανίχνευση χρωμοσωμικών ανωμαλιών, αιματολογικών, γενετικών και μεταβολικών ασθενειών.

Σχήμα 1: Μέθοδοι ανάλυσης του αμνιακού υγρού και τα αποτελέσματά τους. (19)



18 Robert L. Goldenberg, M.D., John C. Hauth, M.D., William W. Andrews, Ph.D., M.D (2000), Intrauterine Infection and Preterm Delivery, N Engl J Med 2000; 342:1500-1507. doi: 10.1056/NEJM200005183422007

Η χρησιμότητα της αμνιοπαρακέντησης για τη διάγνωση ενδοαμνιακής λοίμωξης σε πρόωρους τοκετούς με ή χωρίς ριγμένους υμένες είναι ακόμη αμφίβολη. Δείκτες τέτοιων λοιμώξεων που ανιχνεύονται στο αμνιακό υγρό είναι οι μεταλλοπρωτεϊνάσες όπως η MMP-9, οι ιντερλευκίνες IL-6 και IL-1β, ο παράγοντας νέκρωσης όγκου TNF-α, ο αυξημένος αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων, χαμηλή ποσότητα γλυκόζης και η παρουσία βακτηρίων που ταυτοποιούνται με χρώση Gram ή καλλιέργεια για αερόβια και αναερόβια βακτήρια. Οι εξετάσεις για την ανίχνευση των μικροβιακών ειδών στο αμνιακό υγρό των γυναικών με αυθόρμητο πρόωρο τοκετό και ανέπαφες εμβρυικές μεμβράνες, συμπληρώνονται με ανάλυση PCR για ταξινόμηση του είδους.⁽¹⁹⁾

Η ενδομήτρια κοιλότητα σε πρόωρο τοκετό με θετικά αποτελέσματα PCR ή καλλιέργειας, εμφανίζει μεγαλύτερη βιοποικιλότητα μικροβίων και αποτελεί αίτιο έναρξης πρόωρου τοκετού, μέσω της φλεγμονώδους απάντησης του οργανισμού της μητέρας⁽²⁰⁾. Η παρουσία μολυσματικών παραγόντων στην ενδομήτρια κοιλότητα προκαλεί μια φλεγμονώδη αντίδραση από το έμβρυο και τη γυναίκα και την παραγωγή προσταγλαδινών, κυτταροκινών και χημειοκινών (IL-1, IL-6, IL-8, TNF-α, MMP) που προκαλούν ωρίμανση του τραχήλου και την πρόωρη έναρξη του τοκετού. Οι ίδιοι αυτοί χημικοί παράγοντες είναι υπαίτιοι για την εμφάνιση οργανικών αιτίων στο έμβρυο/νεογνό όπως ταχυκαρδία, πολυοργανικά και εγκεφαλικά προβλήματα, μητρικό πυρετό και ταχυκαρδία.⁽²¹⁾ Ένα στα τρία πρόωρα νεογνά που γεννιούνται με πρόωρο τοκετό προέρχονται από γυναίκες με ασυμπτωματική χοριοαμνιονίτιδα, και μάλιστα μετά από καλλιέργεια του αμνιακού υγρού φάνηκε ότι οι μικροοργανισμοί που απομονώθηκαν αποτελούν μέλη της φυσιολογικής κολπικής μικροχλωρίδας, οι οποίοι μεταφέρθηκαν από τον κόλπο δια μέσω του τραχήλου προκαλώντας χοριοαμνιονίτιδα.

Σε κάποιες περιπτώσεις υπάρχουν στο αμνιακό υγρό μολυσματικοί παράγοντες όπως το μηκόνιο, που ενισχύουν τις πιθανότητες για χοριοαμνιονίτιδα και ενδομητρίτιδα. Η παρουσία μηκωνίου (αφόδευση του εμβρύου στην ενδομήτρια κοιλότητα), είναι ένα φαινόμενο που εμφανίζεται συχνότερα στο τρίτο τρίμηνο της κύησης και σπανιότερα στο δεύτερο. Το μηκόνιο στο αμνιακό υγρό αποτελεί παράγοντα κινδύνου για το σύνδρομο εισρόφησης μηκωνίου, μια δυνητικά απειλητική για τη ζωή πνευμονική ασθένεια που συνδυάζει μηχανική απόφραξη των αναπνευστικών οδών, φλεγμονώδη απάντηση, διακοπή της λειτουργίας του επιφανειοδραστικού παράγοντα και συχνά πνευμονική

19 Mark A Underwood, William M Gilbert, Michael P Sherman (2005), Amniotic Fluid: Not Just Fetal Urine Anymore, *Journal of Perinatology*, March 2005 volume 25, pages 341–348. doi: 10.1038/sj.jp.7211290

20 Daniel B. DiGiulio, Roberto Romero, Harold P. Amogan et al. (2008), Microbial Prevalence, Diversity and Abundance in Amniotic Fluid During Preterm Labor: A Molecular and Culture-Based Investigation, *Research Article*, *PLoS One*, Published: August 26, 2008.

21 Alan T. N. Tita and William W. Andrews (2010), Diagnosis and Management of Clinical Chorioamnionitis, *Clin Perinatology* 2010 Jun; 37(2): 339–354. doi: 10.1016/j.clp.2010.02.003

υπέρταση. Επίσης έχει διεγερτικό ρόλο στην ανάπτυξη βακτηρίων στην ενδομήτρια κοιλότητα, πιθανόν δρώντας ως εξωγενής πηγή σιδήρου, ενώ προδιαθέτει σε νεογνική πνευμονία (χημική και μικροβιακή).⁽¹⁵⁾⁽¹⁹⁾ Πρόσφατη έρευνα ανέδειξε μεγάλη συσχέτιση ανάμεσα στο σύνδρομο εισρόφησης μηκωνίου και στα ποσοστά χοριοαμνιονίτιδας και ενδομητρίτιδας.⁽¹⁹⁾

1.3. ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΩΝ

Αν και οι προσπάθειες αποφυγής αυτών των επιπλοκών μέσω θεραπείας δεν ήταν πάντοτε επιτυχής, υπάρχουν στοιχεία που υποστηρίζουν ότι η θεραπεία της βακτηριακής κολπίτιδας σε γυναίκες με ιστορικό πρόωρου τοκετού, μειώνει τις πιθανότητες για επακόλουθο πρόωρο τοκετό (ΠΤ). Σε μετα-ανάλυση που διεξήχθη με 18 κλινικές έρευνες που εξέταζαν τη βακτηριακή κολπίτιδα προκαλούμενη από αύξηση της *Gardnerella Vaginalis*, ως παράγοντα κινδύνου για πρόωρο τοκετό, απεφάνθη ότι ο σχετικός κίνδυνος ήταν διπλασιασμένος, ενώ αυξημένος ήταν και ο κίνδυνος για αυτόματη αποβολή. Οι συμμετέχουσες στις έρευνες αυτές ήταν σε ηλικία κύησης <37 εβδομάδων, με άρρηκτους υμένες και διεγνωσμένη κολπίτιδα. Οι κίνδυνοι αυτοί ήταν ιδιαίτερα αυξημένοι σε κυήσεις μικρότερες των 16 ή 20 εβδομάδων, ενώ τα ποσοστά περιγεννητικής θνησιμότητας και νεογνικής λοίμωξης δεν φάνηκαν να επηρεάζονται από την αυξημένη ύπαρξη της *G. Vaginalis*⁽²²⁾. Από την άλλη, σε ασυμπτωματικές γυναίκες χαμηλού κινδύνου για ΠΤ που είχαν ΒV και έλαβαν αντιβιοτική αγωγή (μετρονιδαζόλη), παρότι μειώθηκε ο αριθμός των παθογόνων δεν φάνηκε να ελαττώθηκαν οι πιθανότητες για πρόωρο τοκετό⁽²³⁾. Γυναίκες που έλαβαν αγωγή σε ηλικία κύησης <30 εβδομάδων είχαν μικρότερο κίνδυνο για ΠΤ όμως υπαρκτό ήταν το ενδεχόμενο για εμφάνιση μυκητιασικής λοίμωξης λόγω μειωμένου πληθυσμού γαλακτοβάκιλλων. Για την πρόληψη των μυκητιάσεων που σχετίζονται με τη λήψη αντιβιοτικής αγωγής, ωφέλιμη φάνηκε η κατανάλωση γιαουρτιού ή η τοποθέτηση ενός ταμπόν εμποτισμένου με σκέτο γιαούρτι, καθώς βοηθάει στην αποκατάσταση του *Lactobacillus acidophilus*⁽¹⁰⁾.

Σε ανασκόπηση που πραγματοποιήθηκε για να εξετάσει αν η χορήγηση της αντιβιοτικής ουσίας κλινδαμυκίνης σε κυοφορούσες <22 εβδομάδων, με μη φυσιολογική κολπική μικροχλωρίδα, μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο για πρόωρο τοκετό ή καθυστερημένη αυτόματη αποβολή, η οδός χορήγησης της κλινδαμυκίνης φαίνεται να είναι σημαντική. Με την κολπική χορήγηση παρέχεται η υψηλότερη συγκέντρωση του αντιβιοτικού στο

22 Leitich H, Bodner-Adler B, Brunbauer M, Kaider A, Egarter C, Husslein P. (2003), Bacterial vaginosis as a risk factor for preterm delivery: a meta-analysis, Abstract, Am J Obstet Gynecol. 2003 Jul;189(1):139-47.

23 David H. Martin, MD, Marcela Zozaya, PhD, Rebecca Lillis, MD, Julia Miller, MSN, and Michael J. Ferris, PhD (2012), The Microbiota of the Human Genitourinary Tract: Trying to See the Forest Through the Trees, Trans Am Clin Climatol Assoc. 2012; 123: 242–256.

σημείο που έχει αλλάξει το κολπικό μικροβίωμα. Αν και η κλινδαμυκίνη φάνηκε η καταλληλότερη θεραπεία για γυναίκες με μη φυσιολογική μικροχλωρίδα, αναφέρεται ως πιθανό μειονέκτημά της η πρόκληση λοίμωξης από *Clostridium difficile*. Η χορήγηση της κλινδαμυκίνης μέσω κολπικού παρασκευάσματος έχει απορρόφηση μόλις 4% γεγονός που καθιστά την κολπική οδό ασφαλέστερη από αυτή του στόματος. Πρέπει να σημειωθεί ότι οι περισσότερες αποβολές φαίνεται να προκαλούνται από ενδοαμνιακές λοιμώξεις προερχόμενες από κάποια ανιούσα βακτηριακή λοίμωξη, δηλαδή υπάρχει πιθανή σχέση με τη μικροβιακή ισορροπία στο χαμηλότερο τμήμα του κόλπου.

Η διαπίστωση της ενδοαμνιακής λοίμωξης είναι σίγουρη με την ανάλυση του αμνιακού υγρού, ώστε η έναρξη της θεραπείας να γίνει όσο το δυνατόν νωρίτερα κατά την εγκυμοσύνη και να αποφευχθούν τυχόν επιπλοκές (βλάβη των χοριοαμνιακών μεμβρανών, μικροβιακή εισβολή στην αμνιακή κοιλότητα, εμβρυϊκή μικροβιακή εισβολή και φλεγμονή του εμβρύου). Άλλος υποκείμενος κίνδυνος υφίσταται από τα βακτηριακά προϊόντα, όπως οι λιποπολυσακχαρίτες και οι ενδοτοξίνες τα οποία ακόμα και αν δεν είναι ικανά τα ίδια να επιπλέξουν την κύηση μπορούν να προδιαθέσουν σε μεταγενέστερη ιογενή λοίμωξη. Η χορήγηση κλινδαμυκίνης σε έγκυες γυναίκες με ηλικία κύησης <22 εβδομάδες και ενδείξεις BV, φάνηκε να αυξάνει την διάρκεια της κύησης και να μειώνει τον κίνδυνο πρόωρου τοκετού πριν τις 37 εβδομάδες μόνο στις γυναίκες που έλαβαν την αγωγή από του στόματος. Η μετρονιδαζόλη και άλλες νιτροϊμιδαζόλες φάνηκαν σε έρευνες σε μεγάλο βαθμό αδρανείς ενάντια στις *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, και *Atopobium vaginae*, όμως ήταν αποτελεσματικές στην αντιμετώπιση της συμπτωματικής BV με ποσοστά επιτυχούς ίασης αντίστοιχα με αυτά της κλινδαμυκίνης. Η πιθανή εξήγηση είναι ότι η μετρονιδαζόλη αλλάζει την μικροχλωρίδα εξαλείφοντας τα αναερόβια βακτήρια και άλλους οργανισμούς ευαίσθητους σε αυτήν οδηγώντας έτσι στη θεραπεία της κολπίτιδας⁽²⁴⁾. Συγκεκριμένα η παρουσία του *Ureaplasma urealyticum* στη μικροχλωρίδα του κόλπου και αντιβιοτική αγωγή για την αντιμετώπιση, φάνηκε να αυξάνουν τον κίνδυνο για εμφάνιση αναπνευστικών προβλημάτων και συριγμών κατά τα 3 πρώτα έτη ζωής.⁽²⁵⁾

Η αερόβια κολπίτιδα (Aerobic vaginitis-AV) χαρακτηρίζεται από αλλαγές στο κολπικό μικροβίωμα διαφορετικές από αυτές που συναντώνται στις BV. Η AV ορίζεται ως η

24 Ronald F. Lamont, Chia-Ling Nhan-Chang, Jack D. Sobel et al. (2011), Treatment of abnormal vaginal flora in early pregnancy with clindamycin for the prevention of spontaneous preterm birth: a systematic review and metaanalysis, Am J Obstet Gynecol. 2011 Sep; 205(3): 177–190. doi: 10.1016/j.ajog.2011.03.047.

25 Benn CS, Thorsen P, Jensen JS, Kjaer BB, Bisgaard H, Andersen M, Rostgaard K, Björkstén B, Melbye M. (2002), Maternal vaginal microflora during pregnancy and the risk of asthma hospitalization and use of antiasthma medication in early childhood, Abstract, J Allergy Clin Immunol. 2002 Jul;110(1):72-7.

διάσπαση της γαλακτοβακιλικής χλωρίδας με παρουσία αερόβιας χλωρίδας (κυρίως εντερικών μικροβίων *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, στρεπτόκοκκων και εντερόκοκκων), σε αντίθεση με τη BV όπου συναντάται αναερόβια υπερανάπτυξη (*Gardnerella vaginalis*, *Mobilunucus sp.*, *Bacteroides sp.*, *Prevotella sp.*, *Peptostreptococcus sp.*, κλπ). Η AV επίσης συνδέεται με τον πρόωρο τοκετό, την χοριοαμνιονίτιδα και τη λοίμωξη της ομφαλίδας. Επιπλέον συνοδεύεται από τοπική φλεγμονή και ανοσολογική απάντηση, χαρακτηριστικό που απουσιάζει από τη BV: τα λευκοκύτταρα και ειδικότερα τα τοξικά λευκοκύτταρα, και οι ιντερλευκίνες 6 και 8 δεν συναντώνται στις ανεπίπλεκτες BV. Παρά το γεγονός ότι ανευρέθηκαν αναερόβια βακτηρίδια που σχετίζονται με BV στην κοιλότητα της μήτρας σε γυναίκες με πρόωρο τοκετό, τα περισσότερα περιστατικά νεογνικής σήψης δεν φάνηκε να προκαλούνται από αυτού του είδους τα βακτήρια αλλά από αερόβια βακτήρια, κυρίως στρεπτόκοκκους, *E. coli* και *S. aureus*, τυπικά της AV. Η ανίχνευση της AV επιβεβαιωμένης με καλλιέργεια κατά την πρώτη προγεννητική επίσκεψη πριν από τις 12 εβδομάδες κύησης σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο χοριοαμνιονίτιδας και εμβρυϊκής λοίμωξης. Από την αξιολόγηση της σύστασης της μικροχλωρίδας από την αρχή της εγκυμοσύνης φαίνεται ότι η μη φυσιολογική αερόβια μικροχλωρίδα όντως αποτελεί παράγοντα κινδύνου για πρόωρο τοκετό, χοριοαμνιονίτιδα και ύπαρξη παθολογίας στο νεογνό.

Ο κίνδυνος ύπαρξης υποκείμενης χοριοαμνιονίτιδας στους πρόωρους τοκετούς είναι αυξημένος κατά 45% συγκριτικά με τις τελειόμηνες κυήσεις (1%) καθώς η συσχέτιση μεταξύ κολπικής λοίμωξης, χοριοαμνιονίτιδας, αυξημένες συγκεντρώσεις ιντερλευκίνης 6 και 8, πρόωρης ρήξης υμένων και πρόωρου τοκετού, έχει αποδειχθεί σε πολλές κλινικές μελέτες. Όσο νωρίτερα γίνει η έναρξη του πρόωρου τοκετού, τόσο πιθανότερη είναι η ύπαρξη μιας υποκείμενης χοριοαμνιονίτιδας. Τα νεότερα δεδομένα καθιστούν δυνατή τη διάκριση της πιθανής από την επιβεβαιωμένη χοριοαμνιονίτιδα. Τα κλινικά σημεία που δηλώνουν την πιθανή ύπαρξη ενδομήτριας λοίμωξης είναι: 1) θερμοκρασία στους 39°C σε μια μέτρηση ή στους 38-39°C σε δύο διαδοχικές μετρήσεις ανά μισάωρο, 2) πυώδης έκκριση από το τραχηλικό στόμιο, 3) εμβρυϊκή ταχυκαρδία >160 χτύπους ανά λεπτό, και 4) μητρική ταχυκαρδία >100 χτύπους ανά λεπτό. Η επιβεβαιωμένη χοριοαμνιονίτιδα βασίζεται σε ευρήματα της καλλιέργειας και ανάλυσης του αμνιακού υγρού και της ιστολογικής εξέτασης του πλακούντα. Και στις δύο περιπτώσεις, πιθανής ή επιβεβαιωμένης χοριοαμνιονίτιδας, η μεταγεννητική διαχείριση είναι η ίδια.

Η καταλληλότερη θεραπεία της AV σε έγκυες και μη γυναίκες, παραμένει άγνωστη. Ο ACOG συστήνει τη χορήγηση αντιβιοτικών κατά τη διάρκεια του τοκετού καθώς αυτό φάνηκε να μειώνει τον επιλόχειο πυρετό και την παραμονή των λεχωίδων στο νοσοκομείο. Επιπλέον, συστήνει παράλληλη χορήγηση αντιπυρετικών και επαρκή ενυδάτωση για τον έλεγχο της θερμοκρασίας. Δεν υπάρχει ανάγκη για επίσπευση του τοκετού, και σε καμία περίπτωση η χοριοαμνιονίτιδα δεν αποτελεί ένδειξη για καισαρική τομή⁽¹⁶⁾. Η αντιμετώπιση τέτοιων περιστατικών οφείλει να συμπεριλαμβάνει και τη

διαχείριση του εμβρύου/νεογνού ανάλογα με την ηλικία κύησης και την κλινική εικόνα του νεογνού.

Η αμνιακή κοιλότητα των γυναικών σε πρόωρο τοκετό εμφανίζει μεγαλύτερη μικροβιακή βιοποικιλότητα από ότι υποπτευόταν, καθώς η χοριοαμνιονίτιδα είναι μια κατάσταση χαρακτηριζόμενη από μεγάλη ετερογένεια και χρήζει εξατομικευμένης διαχείρισης⁽¹⁵⁾. Η έγκαιρη διάγνωση και διαχείριση των παθολογικών αυτών καταστάσεων είναι καθοριστική για τα μεταγεννητικά αποτελέσματα τόσο της μητέρας όσο και του νεογνού, επομένως κρίνεται αναγκαία η επικοινωνία και η συνεργασία μεταξύ των επαγγελματιών υγείας.

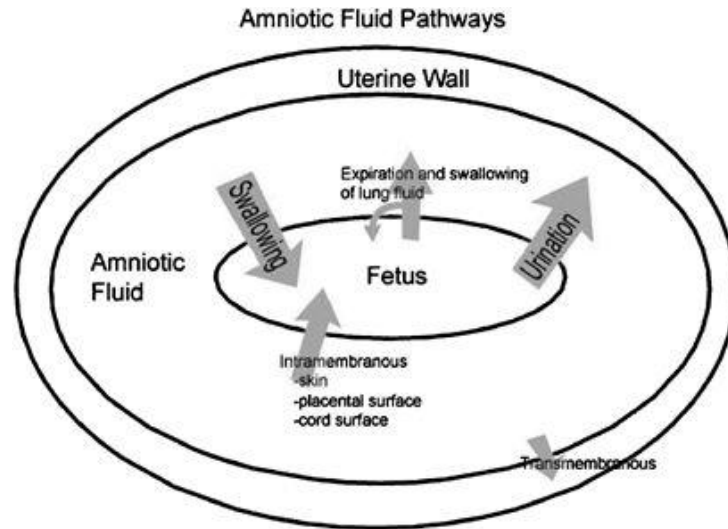
1.4. ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΜΙΚΡΟΒΙΩΝ ΣΤΗΝ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΑ ΚΟΙΛΟΤΗΤΑ

Δεδομένης της σχέσης του μικροβιώματος του εντέρου και της δια βίου υγείας του νεογέννητου, κρίνεται αναγκαία η ανάγκη μελέτης της απόκτησης του πολύτιμου αυτού μικροβιώματος. Επιδημιολογικά στοιχεία που συνδέουν τη διαταραγμένη μικροβιακή σύνθεση του εντέρου του νεογνού με την εμφάνιση ανοσολογικών και μεταβολικών νοσημάτων στη μετέπειτα ζωή του, υποστηρίζουν επίσης ότι η έκθεση σε αντιβιοτικά κατά τη διάρκεια της κύησης και ο τοκετός με καισαρική τομή αναταράσσουν και διακόπτουν το φυσιολογικό αποικισμό του εντέρου του νεογνού. Η φυσιολογική ύπαρξη μικροβίων στον πλακούντα, το αμνιακό υγρό, την ομφαλίδα και το μηκόνιο, συνηγορούν υπέρ της υπόθεσης ότι η πρώτη επαφή του ανθρώπου με τα μικρόβια γίνεται κατά την εμβρυική περίοδο. Ωστόσο, παραμένει απροσδιόριστη η σημασία της επαφής αυτής με τα μικρόβια στην εγκατάσταση του μικροβιώματος στον αναπτυσσόμενο οργανισμό.

1.4.α. Σύσταση του αμνιακού υγρού

Το αμνιακό υγρό περιέχει υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, ελεύθερα αμινοξέα, λιπίδια, ηλεκτρολύτες, ένζυμα και ορμόνες (οιστρογόνα, προγεστερόνη, προλακτίνη), και φέρει το δικό του μικροβίωμα. Με την ανάπτυξη των πλακουντιακών και των εμβρυικών αγγείων, νερό και άλλα υδατοδιαλυτά συστατικά από το μητρικό πλάσμα, εισέρχονται στην αμνιακή κοιλότητα και σχηματίζουν το αμνιακό υγρό. Ο όγκος του υγρού μεταβάλλεται από τα 25ml στις 10 εβδομάδες στα 400ml στις 20 εβδομάδες και εμφανίζει το μέγιστο όγκο του στις 28 εβδομάδες (800-1000ml) ενώ η σύνθεσή του ομοιάζει στο εμβρυικό πλάσμα εφόσον διαπερνά τις εμβρυικές μεμβράνες μέσω της ωσμωτικής πίεσης. Κατά την 8^η εβδομάδα κύησης, οι νεφροί του εμβρύου αρχίζουν να λειτουργούν και τα ούρα αποβάλλονται στην ενδομήτρια κοιλότητα και με την ταυτόχρονη κατάποση του αμνιακού υγρού από το έμβρυο αποτελούν έναν τρόπο αλληλεπίδρασης του εμβρύου με το περιεχόμενο της ενδομήτριας κοιλότητας. Οι τρόποι αλληλεπίδρασης μεταξύ εμβρύου και αμνιακού υγρού, περιλαμβάνουν: την αποβολή των ούρων από το έμβρυο (300 ml/kg εμβρυικού βάρους/ημέρα και 600-1200 ml/ημέρα προς το τέλος της κύησης) και την έκκριση στοματικών, ρινικών, τραχειακών και πνευμονικών υγρών κατά τις εμβρυικές αναπνευστικές κινήσεις (~60-100ml/kg εμβρυικού

βάρους/ημέρα, λιγότερο από 5ml ανά αναπνοή). Μέχρι την 25^η εβδομάδα κύησης που ολοκληρώνεται η κερατινοποίηση του εμβρύου, η αμφίδρομη διάχυση μεταξύ του αμνιακού υγρού, πλακούντα και ομφαλίδας και του μη-κερατινοποιημένου εμβρύου επιτρέπει την ανταλλαγή των υγρών και των διαλυτών συστατικών που υπάρχουν στην ενδομήτρια κοιλότητα.



Σχήμα 2: Τρόποι αλληλεπίδρασης εμβρύου-αμνιακού υγρού.

Η σημασία της αξιολόγησης του αμνιακού υγρού για ενδείξεις ενδομήτριας λοίμωξης, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, είναι αμφιλεγόμενη σε περιπτώσεις πρόωρου τοκετού, όμως έχει μεγάλη χρησιμότητα για την προγεννητική ανίχνευση του κυτταρομεγαλοϊού, του τοξοπλάσματος και της λοίμωξης από τον παρβοϊό B-19 σε συνδυασμό με την τεχνική ανάλυσης PCR.⁽¹⁹⁾

1.4.β. Μικροβιακές κοινότητες σε πλακούντα, αμνιακό υγρό, μηκόνιο και πρωτόγαλα

Η υπόθεση ότι το ενδομήτριο περιβάλλον είναι στείρο μικροβίων, καταρρίφθηκε με την ανακάλυψη της παρουσίας μη παθογόνων μικροβίων στον πλακούντα. Σε φυσιολογικές συνθήκες (δηλαδή σε κυήσεις με απουσία διεγνωσμένης χοριοαμνιονίτιδας) ο πλακούντας φιλοξενεί μη παθογόνα είδη όπως τα *Firmicutes*, *Tenericutes*, *Proteobacteria*, *Prevotella*, *Neisseria*, *Bacteroidetes*, και *Fusobacteria*, αλλά και δυνητικά παθογόνα είδη όπως το *E.coli*.⁽²⁶⁾

26 Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. (2014), The placenta harbors a unique Microbiome, Abstract, Sci Transl Med. 2014 May 21;6(237):237ra65. doi: 10.1126/scitranslmed.3008599.

Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε με 15 ζευγάρια μητέρων-νεογνών που υποβλήθηκαν σε εκλεκτική καισαρική τομή, με τελειόμηνες κυήσεις και χωρίς ενδείξεις ενδομήτριας λοίμωξης, έγινε μικροβιολογική εξέταση δείγματος των μητρικών και νεογνικών περιττωμάτων, αμνιακού υγρού, πρωτόγαλατος, μηκωνίου και πλακούντα, ανευρέθηκε μια μοναδική μικροβιακή κοινότητα στο αμνιακό υγρό και τον πλακούντα. Μεγάλη ήταν η διαφορά μεταξύ των ειδών που αποικούσαν στις ενδομήτριες δομές και των ειδών που αποικούσαν στο εντερικό περιβάλλον. Η μικροβιακή σύνθεση που παρατηρήθηκε στο αμνιακό υγρό διέφερε ταξινομικά από εκείνη που ανευρέθηκε στο πρωτόγαλα και το μηκόνιο, τα οποία παρουσίαζαν εξίσου μεγάλη ποικιλία και διαφορές στα μικροβιακά είδη. Οι μικροβιακοί πληθυσμοί του πλακούντα και του αμνιακού υγρού παρουσίαζαν μεγάλες ομοιότητες τόσο μεταξύ τους, όσο και μεταξύ των ατόμων. Το κυρίαρχο φύλο φάνηκε να είναι τα *Proteobacteria* με μεγάλη συγκέντρωση των ειδών *Enterobacter* και *Escherichia/Shigella*. Τα ίδια είδη υπήρχαν επίσης στο πρωτόγαλα, στο μηκόνιο και στα νεογνικά κόπρανα αλλά σε μικρότερο αριθμό. Το δεύτερο σε πληθυσμό φύλο ήταν το *Propionibacterium*, το οποίο ανευρέθηκε και στο μηκόνιο. Το γένος *Streptococcus* υπήρχε λιγότερο στον πλακούντα, το αμνιακό υγρό και το μηκόνιο (<1%), και περισσότερο στο πρωτόγαλα (12%) και στα νεογνικά κόπρανα (24%). Επιπλέον, εντοπίστηκαν μικρόβια όπως *staphylococci* και *propionibacteria* τα οποία έχουν εντοπισθεί και στο πλακουντιακό παρέγχυμα κατά το δεύτερο τρίμηνο της κύησης.⁽²⁷⁾

Ο πλακούντας διαθέτει το δικό του μικροβίωμα. Αποικείται από μη παθογόνα είδη οργανισμών, όπως *Firmicutes*, *Tenericutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, και φύλα των *Fusobacteria*. Η έκθεση του εμβρύου στα μικρόβια αυτά προετοιμάζει το ανοσοποιητικό του σύστημα για την επακόλουθη έκθεσή του σε μικρόβια μετά τον τοκετό. Οι Aagraad et al. (2014) διαπίστωσαν ότι τα πλακουντιακά μικροβιακά είδη ήταν παρόμοια με τα μικροβιακά είδη της στοματικής κοιλότητας και έδωσαν την εξήγηση της αιματογενούς διασποράς από του στόματος στον πλακούντα, πέρα από αυτή της ανοδικής πορείας από το κατώτερο γεννητικό σύστημα. Η μικροβιακή σύνθεση του πλακουντιακού μικροβιώματος συνδέθηκε περισσότερο με τον πρόωρο τοκετό, καθώς ήταν ήδη γνωστή η σχέση μεταξύ περιοδοντίτιδας και πρόωρου τοκετού. Επιπλέον παρατήρησαν ότι οι προγεννητικές λοιμώξεις επηρέαζαν τη δομή του πλακουντιακού μικροβιώματος, χωρίς όμως να καταφέρουν να εξετάσουν την επιρροή των αντιβιοτικών σε αυτό. Οι Doyle et al. (2014) συνέκριναν το πλακουντιακό μικροβίωμα από κολπικούς τοκετούς και

27 Maria Carmen Collado, Samuli Rautava, Juhani Aakko, Erika Isolauri & Seppo Salminen (2016), Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid, Scientific Reports volume 6, Article number: 23129

καισαρικές τομές και διαπίστωσαν ότι το είδος του τοκετού δεν επηρέαζε το μικροβίωμα του πλακούντα.⁽²⁸⁾

Από τα 75 βακτηριακά είδη που ανευρέθηκαν στα δείγματα μηκωνίου, τα 41 υπήρχαν και στον πλακούντα και το αμνιακό υγρό. Μάλιστα διαπιστώθηκε μια κύρια δομή μικροβιώματος των παραπάνω, που εμφανιζόταν στο 50% των δειγμάτων που λήφθηκαν. Η δομή αυτή αποτελούνταν από *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae* (κυρίως *Enterobacter* και *Escherichia*), *Propionibacterium*, *Lactobacillus* και είδη *Bacillales*. Τα μικρόβια *Escherichia/Shigella*, *Lactobacillus* και *Propionibacterium* ήταν παρόντα σε όλα τα δείγματα πλακούντα, αμνιακού υγρού και μηκωνίου.

Από τα παραπάνω νεότερα δεδομένα προκύπτει το συμπέρασμα ότι το ενδομήτριο περιβάλλον αποτελεί κι αυτό ένα μοναδικό οικοσύστημα και δεν είναι στείρο μικροβίων όπως θεωρούνταν μέχρι προσφάτως, αποτελώντας την αρχή του αποικισμού του νέου οργανισμού. Ο μηχανισμός με τον οποίο μεταφέρονται τα μικρόβια στο εσωτερικό της μήτρας δεν είναι γνωστός, παρότι είναι πιθανό να προέρχονται από το εντερικό περιβάλλον.⁽¹⁹⁾ Το πλακουντιακό μικροβίωμα δεν φάνηκε να διαφέρει ανάμεσα στις γυναίκες με τελειόμηνες κύσεις, σε αντίθεση με το μικροβίωμα του μηκωνίου το οποίο παρουσίαζε μεγαλύτερη ποικιλομορφία στα νεογνά γυναικών που είχαν διαβήτη κύησης ή προ της κύησης. Το μικροβίωμα των νεογνών χρησιμοποιείται ως δείκτης υγείας της μητέρας (για σακχαρώδη διαβήτη) αλλά και ως στοιχείο για την υγεία στη μετέπειτα ζωή του νεογέννητου. Οι γυναίκες με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, φάνηκε να διαθέτουν πιο πλούσιο μικροβίωμα από τις μη διαβητικές γυναίκες και από τις γυναίκες με διαβήτη κύησης, ενώ το ίδιο παρατηρήθηκε και στο μηκόνιο των νεογέννητων τους.⁽²⁹⁾

28 Sharon B. Meropol, Amy Edwards (2015), Development of the Infant Intestinal Microbiome: A Bird's Eye View of a Complex Process, Birth Defects Res C Embryo Today. 2015 Dec; 105(4): 228–239. doi: 10.1002/bdrc.21114.

29 Jianzhong Hu , Yoko Nomura, Ali Bashir, Heriberto Fernandez-Hernandez, Steven Itzkowitz, Zhiheng Pei, Joanne Stone, Holly Loudon, Inga Peter (2013), Diversified Microbiota of Meconium Is Affected by Maternal Diabetes Status, PLoS One

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ ΚΑΙ ΤΟΚΕΤΟΣ

Ο τοκετός αποτελεί την έξοδο του εμβρύου από το σώμα της γυναίκας και την επαφή του με τον έξω κόσμο. Τα είδη του τοκετού είναι ο κολπικός τοκετός και η καισαρική τομή (ΚΤ). Το έμβρυο αναπτύσσεται στο ενδομήτριο περιβάλλον που δεν είναι στειρό μικροβίων, όπως θεωρούνταν μέχρι σήμερα. Παρότι η πρώτη του επαφή με τα μικρόβια πιθανόν να γίνεται πριν από τον τοκετό, το είδος του τοκετού παραμένει αδιαμφισβήτητος καθοριστικός παράγοντας για το «βακτηριακό βάπτισμα» του νεογνού, δηλαδή τον αποικισμό του οργανισμού του από μικρόβια. Ο ρόλος του είδους του τοκετού στον αποικισμό άλλων κοιλοτήτων του σώματος εκτός από το έντερο του νεογνού δεν είναι γνωστή. Αρκετά διαδεδομένη είναι η πεποίθηση ότι η πρώτη επαφή του νεογνού γίνεται με τη ρήξη των μεμβρανών, όσο αυτό βρίσκεται ακόμα στην ενδομήτρια κοιλότητα.⁽³⁰⁾ Ωστόσο ένας μικρός μόνο αριθμός από τα αρχικά μικρόβια που θα αποικίσουν τις κοιλότητες του σώματος του νεογνού θα παραμείνουν οριστικά μέχρι την ενήλικη ζωή του συμμετέχοντας στο τελικό ενήλικο μικροβίωμά του. Μόλις πέντε λεπτά μετά τον τοκετό, είναι ανιχνεύσιμη η παρουσία μικροβίων στο ρινοφάρυγγα και στο ανώτερο αναπνευστικό σύστημα του νεογνού, δεδομένο που υποδηλώνει την αρχή του αποικισμού του. Βακτηριακό DNA ανιχνεύεται στο πνευμονικό και γαστρικό υγρό το πρώτο 24ωρο ζωής σε περιπτώσεις αυθόρμητης έναρξης τοκετού ή σε πρόωρο τοκετό με παρατεταμένη ρήξη υμένων.⁽³¹⁾

2.1. Η ΕΠΙΡΡΟΗ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ ΤΟΥ ΤΟΚΕΤΟΥ ΣΤΟ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ

Οι συμβιωτικές σχέσεις μεταξύ οργανισμού του νεογνού και μικροβιώματος είναι αποδεδειγμένο ότι επηρεάζουν την ενεργειακή ισορροπία, τον μεταβολισμό ξενοβιοτικών, την αντίσταση σε εγκατάσταση παθογόνων, την ωρίμανση του πεπτικού και του αμυντικού συστήματος. Το είδος τοκετού που θα πραγματοποιηθεί μπορεί να οδηγήσει σε διαφορές στην ανάπτυξη του μικροβιώματος και επομένως στη φυσιολογία και την προδιάθεση για ασθένεια στη μετέπειτα ζωή του ατόμου.

Το γεννητικό σύστημα κάθε γυναίκας κυριαρχείται από διαφορετικό βακτηριακό είδος: σε ορισμένες γυναίκες παρουσιάζονται σε αφθονία τα είδη του λακτοβάκιλλου, ενώ σε άλλες περιπτώσεις επικρατούσαν είδη όπως τα *Prevotella spp.*, *Coriobacterineae*,

30 Kjersti Aagaard, Kevin Riehle, Jun Ma, Nicola Segata et al.(2012), A Metagenomic Approach to Characterization of the Vaginal Microbiome Signature in Pregnancy, PLoS One. 2012; 7(6): e36466. doi: 10.1371/journal.pone.0036466

31 David J. Gallacher, Sailesh Kotecha (2016), Respiratory Microbiome of New-Born Infants, Frontiers in Pediatrics 2016; 4: 10. doi: 10.3389/fped.2016.00010

Sneathia spp. Κατά τον κολπικό τοκετό το έμβρυο αρχικά με τη ρήξη των εμβρυικών μεμβρανών έρχεται σε επαφή με το μικροβίωμα του κατώτερου γεννητικού συστήματος της γυναίκας. Μετέπειτα, όπως αυτό διέρχεται από το γεννητικό σωλήνα έρχεται σε επαφή και επικαλύπτεται με την κολπική μικροχλωρίδα της μητέρας και, προς την έξοδό του, με τα εντερικά μικρόβια της γυναίκας. Στην ΚΤ αντιθέτως, απουσιάζει η έκθεση του νεογνού στα βακτήρια αυτά, γεγονός που οδηγεί σε ένα διαφορετικό αποικισμό από είδη που αποικίζουν την επιφάνεια του δέρματος, όπως *Staphylococcus spp.*, *Corynebacterium* και *Propionibacterium spp.* Έτσι κατά τον κολπικό τοκετό είναι σημαντική πηγή μικροβίων ο κόλπος και το έντερο της γυναίκας, τα οποία βρίθουν από μικρόβια (ειδικότερα από τα σημαντικά για το εντερικό μικροβίωμα *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* και *Bacteroides*), ενώ κατά την ΚΤ, απουσιάζει η επαφή του στόματος του νεογνού με τα μικρόβια του κόλπου και του εντέρου, οδηγώντας έτσι στο σχηματισμό μιας λιγότερο ποικίλης μικροχλωρίδας με είδη που προέρχονται κυρίως από το περιβάλλον και την επιφάνεια του δέρματος της μητέρας.⁽³²⁾

Όλα τα νεογέννητα, ανεξάρτητα από το είδος του τοκετού που πραγματοποιήθηκε, κατά τις πρώτες ώρες μετά τον τοκετό φέρουν ένα ομοιόμορφο και αδιαφοροποίητο μικροβίωμα κατά μήκος της επιφάνειας του δέρματος, της στοματικής κοιλότητας, του ρινοφάρυγγα και το εσωτερικό του εντέρου. Αυτό συμβαίνει λόγω της πρώτης επαφής κατά την ενδομήτρια ζωή με τα μικρόβια που υπάρχουν στον πλακούντα και το αμνιακό υγρό, και στο ολόσωμο σκούπισμα του νεογνού αμέσως μετά τη γέννηση. Συνεπώς τα νεογνά που γεννήθηκαν με φυσιολογικό τοκετό αποκτούν ένα μικροβίωμα που προσομοιάζει με αυτό του κόλπου των μητέρων τους, σε αντίθεση με τα νεογνά που γεννήθηκαν με ΚΤ και δεν φέρουν καθόλου είδη από την κολπική μικροχλωρίδα και το μικροβίωμά τους αποτελείται από είδη που συναντώνται στην επιφάνεια του δέρματος. Πολυάριθμες έρευνες κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το είδος του τοκετού που εκτελείται προκαλεί αλλαγές στο μικροβίωμα του νεογνού. Συγκεκριμένα, τα νεογνά που γεννιούνται με ΚΤ έχουν μεγαλύτερες πιθανότητες εμφάνισης τροφικών αλλεργιών, άσθματος και εκζέματος.⁽²²⁾ Έχει φανεί μετά από έρευνες όπως αυτή των Gronlund et al. (1999) ότι η μικροβιακή χλωρίδα των νεογέννητων που γεννήθηκαν με καισαρική τομή μπορεί να παραμείνει διαταραγμένο ως και 6 μήνες μετά τη γέννηση, ενώ μια άλλη των Salminen et al. (2004) ανέδειξε την επιμονή των διαφορών ανάμεσα σε παιδιά που γεννήθηκαν με φυσιολογικό τοκετό και παιδιά που γεννήθηκαν με ΚΤ μέχρι και μετά από 7 χρόνια ζωής.⁽³²⁾

Το μικροβίωμα των υπόλοιπων κοιλοτήτων του σώματος της μητέρας δεν επηρεάζει τον πρωταρχικό αποικισμό του νεογνού, καθώς η μεταφορά των μικροβίων από τη μητέρα

32 R Murgas Torrazza & J Neu (2011), The developing intestinal microbiome and its relationship to health and disease in the neonate, Journal of Perinatology volume 31, pages S29–S34

στο νεογνό είναι κάθετη. Οι ομοιότητες που εμφανίζει η μικροχλωρίδα του νεογνού με την κολπική και εντερική μικροχλωρίδα της μητέρας του, είναι μεγαλύτερες από τις ομοιότητες μεταξύ νεογνών που προέρχονται από διαφορετικές μητέρες ακόμα και αν γεννήθηκαν με το ίδιο είδος τοκετού. Αντιθέτως, τα νεογνά που γεννήθηκαν με καισαρική τομή παρουσίαζαν μικροβίωμα που προσομοίαζε τόσο στη μικροβιακή κοινότητα του δέρματος της μητέρας τους, όσο και στο μικροβίωμα άλλων νεογνών που γεννήθηκαν με ΚΤ παρά το γεγονός ότι η μικροχλωρίδα του δέρματος είναι επίσης ξεχωριστή σε κάθε γυναίκα. Το γεγονός αυτό στηρίζεται στην υπόθεση ότι η έκθεση σε βακτήρια μη-μητρικής προέλευσης από το νοσοκομειακό περιβάλλον, συνεισφέρει στη διαμόρφωση του μικροβιώματος του νεογνού, εφόσον αυτό έρχεται περισσότερο σε επαφή με επιφάνειες, με το ιατρικό προσωπικό και τον πατέρα.⁽³³⁾

Μεγάλος αριθμός ερευνών υποστηρίζει την άποψη ότι το μικροβίωμα των νεογνών από φυσιολογικό τοκετό και ΚΤ δεν παρουσιάζει διαφορές μέχρι την 5^η ημέρα μετά τη γέννηση. Σε έρευνα που διεξήχθη από τους Hu et al. και συνέκρινε το μικροβίωμα από το μηκόνιο 23 τελειόμηνων νεογνών, 10 εκ των οποίων είχαν γεννηθεί με ΚΤ, διαπιστώθηκε πως το μηκόνιο που απέβαλαν μέσα στις πρώτες 24 ώρες της ζωής τους δεν διέφερε ανάμεσα στις δύο αυτές κατηγορίες νεογνών. Παρόμοια έρευνα από τους Mshvildadze et al. που εξέτασε το μικροβίωμα από το μηκόνιο 23 πρόωρων νεογνών (διάρκειας κύησης 23-32 εβδομάδων), επίσης δεν διαπίστωσε κάποια διαφορά μεταξύ ΚΤ και κολπικού τοκετού. Μολονότι τα αποτελέσματα των παραπάνω ερευνών δεν αναφέρουν διαφορές στο μικροβίωμα κατά τις πρώτες ημέρες ζωής, υπάρχουν ενδείξεις ότι οι διαφορές αρχίζουν να αναπτύσσονται σύντομα στη συνέχεια και επιμένουν για εβδομάδες ή μήνες.

Συγκεκριμένα, έρευνα που περιλάμβανε 64 νεογνά εκ των οποίων τα 34 ήταν γεννημένα με κολπικό τοκετό και τα υπόλοιπα 30 με Καισαρική Τομή (οι μητέρες των οποίων λάμβαναν αντιβιοτική προφύλαξη πριν τη διενέργεια της ΚΤ), εξέτασε τη διάρκεια και την επιμονή των αλλαγών στη σύσταση του εντερικού μικροβιώματος των νεογνών συγκριτικά στις δύο αυτές ομάδες. Τα δείγματα κοπράνων που λήφθηκαν στις 3, 5, 10, 30, 60 και 180 ημέρες ζωής, καλλιεργήθηκαν και μελετήθηκαν ως προς τα είδη που έφεραν. Τα αποτελέσματα ανάλυσης των δειγμάτων των κοπράνων έδειξαν ότι η παρουσία μικροβίων στα κόπρανα των νεογνών από ΚΤ καθυστέρησε συγκριτικά με τα νεογνά που γεννήθηκαν κολπικά, ενώ τα ποσοστά των ειδών των γενών *Bifidobacteria* και *Lactobacillus* στα νεογνά των ΚΤ έφτασαν στον ίδιο με αυτό των κολπικά γεννημένων νεογνών 1 μήνα και 10 ημέρες μετά τον τοκετό. Επιπλέον τα νεογνά της

33 Maria G. Dominguez-Bello, Elizabeth K. Costello, Monica Contreras et al. (2010), Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns, *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Jun 29; 107(26): 11971–11975. doi: 10.1073/pnas.1002601107.

πρώτης ομάδας, τον 6^ο μήνα παρουσίαζαν σε μεγαλύτερο ποσοστό (76%) βακτήρια της ομάδας *Bacteroides fragilis*, ενώ τα νεογνά της δεύτερης ομάδας σε ποσοστό μόλις 36%. Τα δεδομένα που προέκυψαν από αυτή την έρευνα αναδεικνύουν τις διαφορές ανάμεσα σε νεογνά που γεννιούνται με διαφορετικά είδη τοκετού και ενισχύουν την αντίληψη ότι οι αλλαγές που υπάρχουν στο πρωταρχικό αυτό μικροβίωμα εξακολουθούν να είναι εμφανείς για τους πρώτους μήνες ζωής των απόγονων.⁽³⁴⁾

Οι φυσιολογικές και βιοχημικές αλλαγές που συμβαίνουν στο μητρικό οργανισμό κατά τον τοκετό είναι πιθανό να επηρεάζουν το μητρικό μικροβίωμα και συνεπώς την εγκατάσταση αυτού στο νεογέννητο. Ο αληθής τοκετός συνοδεύεται από τη ρήξη των εμβρυικών μεμβρανών εκθέτοντας το έμβρυο στα κολπικά βακτήρια γεγονός που συνηγορεί υπέρ της υπόθεσης ότι η αυθόρμητη έναρξη του τοκετού συμβάλλει όντως στον μικροβιακό αποικισμό. Οι γυναίκες που επέλεξαν την καισαρική τομή, ενώ δεν είχαν σημεία έναρξης τοκετού, παρουσιάζουν ένα διαφορετικό βιοχημικό και ορμονικό υπόβαθρο, καθώς ο τοκετός μεταβάλλει τα επίπεδα των ενδοκρινικών, φλεγμονωδών και συστατικών παραγόντων (ιντερλευκινών και προσταγλαδινών, επίπεδα προλακτίνης, ωκυτοκίνης, κτλ). Οι συγκεντρώσεις κυτταροκινών στο μητρικό, εμβρυικό και νεογνικό αίμα παραμένουν αυξημένες ως και 4 ημέρες μετά τον φυσιολογικό τοκετό, καθώς είναι αποτέλεσμα της φλεγμονώδους αντίδρασης που προκαλείται κατά τον τοκετό, και επηρεάζουν το αναπτυσσόμενο εμβρυικό αμυντικό σύστημα. Το γεγονός αυτό ίσως προσφέρει μια εξήγηση στην ύπαρξη διαφορών μεταξύ των νεογνών που γεννήθηκαν με εκλεκτική καισαρική τομή και των νεογνών που γεννήθηκαν με φυσιολογικό τοκετό, αξίζει όμως να σημειωθεί ότι δεν ισχύει το ίδιο για νεογνά που γεννήθηκαν με επείγουσα καισαρική αφού το μικροβίωμά τους προσομοιάζει περισσότερο με αυτό των τελευταίων.⁽³⁵⁾

Τέλος, τα νεογνά που γεννήθηκαν πρόωρα εμφανίζουν μεγαλύτερο πληθυσμό των ειδών *Clostridium difficile* και *Staphylococcus*, καθώς το είδος του τοκετού δεν φαίνεται να επηρεάζει το μικροβίωμα των νεογνών αυτών. Σημαντικό είναι το γεγονός ότι στις περιπτώσεις πρόωρων τοκετών, η αντιβιοτική αγωγή και οι θεραπείες που δέχεται το νεογνό στη μονάδα εντατικής νοσηλείας νεογνών (MENN), παρεμβαίνουν στην εγκατάσταση του μικροβιώματος και οδηγούν στη δημιουργία δυσβιωτικών σχέσεων στα μικρόβια του εντέρου, μειώνοντας τον πληθυσμό των φιλικών μικροβίων και οδηγώντας

34 Grönlund MM, Lehtonen OP, Eerola E, Kero P. (1999), Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery, Abstract, J Pediatr Gastroenterol Nutr. 1999 Jan;28(1):19-25

35 Lisa F. Stinson, Matthew S. Payne, and Jeffrey A. Keelan (2018), A Critical Review of the Bacterial Baptism Hypothesis and the Impact of Cesarean Delivery on the Infant Microbiome, Front Med (Lausanne). 2018; 5: 135. doi: 10.3389/fmed.2018.00135

στην ανάπτυξη ειδών και στελεχών με ανθεκτικότητα στη συγκεκριμένη αντιβιοτική ουσία.⁽³⁶⁾

2.2. ΚΑΙΣΑΡΙΚΗ ΤΟΜΗ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ

Η καισαρική τομή είναι μια χειρουργική πρακτική που διενεργείται προκειμένου να προστατευθεί η υγεία της μητέρας και του νεογνού καθώς και η επιτυχής γέννηση αυτού, σε περιπτώσεις όπου διακινδυνεύεται η υγεία κάποιου εκ των δύο ή υπάρχει παθολογία στην κύηση ή στον τοκετό⁽³⁷⁾. Επιδημιολογικές μελέτες έχουν αναδείξει την καισαρική τομή ως αίτιο ανάπτυξης νεογνικών λοιμώξεων, ιδίως από το είδος *Staphylococcus Aureus* στην επιφάνεια του δέρματος του 64-82% των νεογνών. Επιπλέον έχει κατηγορηθεί ότι συμβάλλει στην ανάπτυξη Νερκωτικής Εντεροκολίτιδας (NEK), ειδικά όταν συνδυάζεται με άλλους παράγοντες όπως η απουσία σίτισης με μητρικό γάλα, η λήψη αντιβιοτικής αγωγής και η προωρότητα.⁽³⁵⁾ Υπάρχουν αδιάσειστα στοιχεία που υποστηρίζουν το γεγονός ότι η βακτηριακή δομή του μικροβιώματος των νεογνών που γεννήθηκαν με εκλεκτική καισαρική τομή διαφέρει αρκετά από αυτή των νεογνών που γεννήθηκαν με φυσιολογικό τοκετό, καθώς τα πρώτα μικρόβια με τα οποία έρχεται σε επαφή το νεογνό μετά την ΚΤ είναι από το δέρμα της μητέρας και τη νοσοκομειακή αίθουσα. Επίσης, το μικροβίωμα των νεογνών αυτών παρουσιάζει μικρότερη βιοποικιλότητα συγκριτικά με αυτό των κολπικών τοκετών.⁽³⁸⁾ Στο γεγονός αυτό συμβάλλει το γεγονός ότι οι γυναίκες που υποβάλλονται σε καισαρική τομή λαμβάνουν αντιβιοτική αγωγή η οποία φαίνεται ότι επιδρά αρνητικά στο γαστρεντερικό μικροβίωμα του νεογνού. Οι μεταβολές αυτές σχετίζονται με την εμφάνιση αυτοάνοσων νοσημάτων για τα νεογνά των ΚΤ, όπως είναι το άσθμα, οι αλλεργίες, ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 και μεταβολικά νοσήματα όπως η παχυσαρκία και η κοιλιοκάκη, παθήσεις που παρουσιάζονται σε μεγαλύτερη συχνότητα αναλογικά με την αύξηση του ποσοστού των καισαρικών τομών.⁽³⁹⁾

36 Marie-Claire Arrieta, Leah T. Stiemsma, Nelly Amenogbe, Eric M. Brown and Brett Finlay (2014), The intestinal microbiome in early life: health and disease, Front. Immunol., 05 September 2014

37 Noel T. Mueller, Hakdong Shin, Aline Pizoni et al. (2017), Delivery Mode and the Transition of Pioneering Gut-Microbiota Structure, Composition and Predicted Metabolic Function, Genes (Basel). 2017 Dec; 8(12): 364. doi: 10.3390/genes8120364

38 Jakobsson HE, Abrahamsson TR, Jenmalm MC, Harris K, Quince C, Jernberg C, Björkstén B, Engstrand L, Andersson AF. (2013), Decreased gut microbiota diversity, delayed Bacteroidetes colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by caesarean section, Abstract, Gut. British Society of Gastroenterology 2014 Apr;63(4):559-66. doi: 10.1136/gutjnl-2012-303249

39 Neu J. (2017), Dysbiosis in the Neonatal Period: Role of Cesarean Section, Abstract, Nestle Nutr Inst Workshop Ser. 2017;88:57-66. doi: 10.1159/000455215

Η αυξημένη συχνότητα χρήσης της ΚΤ σε περιπτώσεις ανυπαρξίας ιατρικού αίτιου, έχει συμβάλλει σε περισσότερες εμφανίσεις αυτών των ανοσολογικών και μεταβολικών δυσλειτουργιών, όπως και σε αλλαγές στη δομή του μικροβιώματος που εικάζεται ότι παραμένουν εμφανείς μέχρι τα δύο πρώτα έτη ζωής.

Οι Biasucci et al. (2010) παρατήρησαν ότι κατά τη 3^η ημέρα ζωής των νεογνών που είχαν γεννηθεί με κολπικό τοκετό υπήρχαν *Bacteriodes* τα οποία απουσίαζαν πλήρως από τα νεογνά που γεννήθηκαν με ΚΤ, ενώ είχαν σημαντικό μικρότερο αριθμό *Bifidobacterium* συγκριτικά με τα μωρά από φυσιολογικό τοκετό. Τα νεογνά και των δύο κατηγοριών της μελέτης θήλαζαν αποκλειστικά. Οι ίδιοι ερευνητές παρατήρησαν ότι μέχρι 5 λεπτά μετά την καισαρική τομή το κάθε νεογνό είχε το μικροβιακό προφίλ του δέρματος της μητέρας του (*Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium*). Συμπερασματικά, τα νεογνά από τα πρώτα λεπτά της ζωής τους εμφάνιζαν ήδη ένα βακτηριακό προφίλ ανάλογο με αυτό της διόδου τους κατά τον τοκετό. Ειδικότερα: βακτηριακά είδη που φάνηκαν να απουσιάζουν από νεογνά που γεννήθηκαν με καισαρική τομή, όπως το *Bifidobacterium longum*, το οποίο είναι κρίσιμο για την ωρίμανση του αμυντικού συστήματος στο νεογέννητο. Επιπροσθέτως, τα είδη που ανευρέθηκαν στα νεογνά αυτά προέρχονταν από την στοματική κοιλότητα, το νοσοκομειακό περιβάλλον ενώ καθυστέρησε η εγκατάσταση μικροβίων από το εντερικό περιβάλλον της μητέρας. Παρά το είδος του τοκετού, το μικροβίωμα των νεογνών αρχίζει να γίνεται όμοιο, αν και οι αρχικές διαφορές μπορεί να υπάρχουν μακροπρόθεσμα.⁽²⁰⁾ Αν και το μικροβίωμα των νεογνών που γεννήθηκαν με κολπικό τοκετό εμφανίζει μεγαλύτερη ποικιλομορφία, υπάρχουν περιπτώσεις όπου η καισαρική τομή είναι αναγκαία και αναπόφευκτα η μόνη λύση για την εξασφάλιση της υγείας της μητέρας και του νεογνού. Σε τέτοιου είδους περιπτώσεις ενθαρρύνεται η φυσική επαφή μητέρας-νεογνού μετά τον τοκετό, όποτε αυτό είναι δυνατό, και η επιλογή σίτισης με μητρικό γάλα αντί για τη χορήγηση υποκατάστατου μητρικού γάλατος σε σκόνη (formula).

Αντίθετα με την υπόθεση ότι το είδος τοκετού κρίνει τη δομή της μικροβιακής κοινότητας δημιουργώντας διαφορές που επιμένουν σε βάθος χρόνου, υπάρχει ένας αριθμός μελετών που υποστηρίζει ότι οι διαφορές που υπάρχουν ανάμεσα στα νεογνά που γεννήθηκαν με τον ένα ή τον άλλο τρόπο τοκετού δεν είναι και τόσο μεγάλες τις πρώτες ημέρες ζωής. Οι μελέτες αυτές είναι βασισμένες στις πρόσφατες ενδείξεις ότι η πρώτη επαφή με τα μικρόβια γίνεται κατά την εμβρυϊκή περίοδο και το «μικροβιακό βάπτισμα» δεν είναι τόσο καθοριστικό όσο πιστευόταν. Οι Martin et al. (2007) σε μικρή μελέτη με 5 νεογνά που γεννήθηκαν με ΚΤ και 5 νεογνά αντίστοιχα με κολπικό τοκετό, έδειξε ότι η μετάδοση των λακτοβάκιλλων από τη μητέρα στο νεογνό δεν είναι κάθετη, και ότι οι πληθυσμοί του είδους δεν διαφέρουν ανάλογα με το είδος το τοκετού. Οι Nagpal et al. (2016) χρησιμοποιώντας τη μέθοδο PCR σε 34 νεογνά μετά από κολπικό τοκετό και 8 νεογνά από ΚΤ βρήκαν μικρότερο αριθμό λακτοβάκιλλων στη δεύτερη ομάδα. Ωστόσο, τα στοιχεία που υποστηρίζουν αυτή την άποψη προέρχονται από μελέτες

με μικρό αριθμό δείγματος, συνεπώς χρειάζονται μεγαλύτερες μελέτες για να τεκμηριωθεί αυτή η θέση.⁽³⁵⁾

Όσο αφορά την αύξηση σε επίπτωση αυτοάνοσων και μεταβολικών νοσημάτων, υπάρχει μεγαλύτερος αριθμός μελετών που να αποδεικνύει αυτή την υπόθεση. Σε μετα-ανάλυση που συμπεριλάμβανε 20 μελέτες, οι Cardwell et al. (2008) παρατήρησαν αυξημένη πιθανότητα κατά 25% για την ανάπτυξη σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 σε νεογνά που γεννήθηκαν με ΚΤ. Ακόμη, σύμφωνα με τους Bager et al. φάνηκε ότι η καισαρική τομή συνδέεται με την εκδήλωση της νόσου ευερέθιστου εντέρου σε ηλικίες 0-14 ετών, ανεξάρτητα από το γονεϊκό ιστορικό. Σε παρόμοια μελέτη από τους Blustein et al. η οποία περιλάμβανε δείγμα 10.219 παιδιών, εκ των οποίων τα 926 είχαν γεννηθεί με ΚΤ, ανακάλυψε ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ αυξημένου σωματικού βάρους στις 6 εβδομάδες ζωής με ακόμα πιο αυξημένο κίνδυνο στις περιπτώσεις που οι μητέρες ήταν παχύσαρκες, ενώ είχαν 1,83 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης παχυσαρκίας στην ηλικία των 11 ετών. Επιπλέον οι Decker et al. παρατήρησαν ότι τα νεογνά που είχαν γεννηθεί με Καισαρική τομή έχουν αυξημένες πιθανότητες να νοσήσουν από κοιλιοκάκη. Από τις παραπάνω έρευνες προκύπτει ότι το είδος τοκετού έχει άμεση σχέση με την εμφάνιση νοσηρότητας. Οι αυξημένες επιπτώσεις σημειώνονται σε βάρος των νεογνών που γεννήθηκαν με ΚΤ, τα οποία συσχετίστηκαν με την εμφάνιση δυσβίωσης, μιας πάσχουσας αλλοίωσης ή ανισορροπίας στη μικροβιακή σύνθεση ενός μέρους του σώματος.

2.3. ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑ ΤΟΝ ΤΟΚΕΤΟ

Δεδομένου ότι το μικροβίωμα των νεογνών που γεννήθηκαν με καισαρική μπορεί να ποικίλει ανάλογα με το αν η καισαρική τομή έγινε κατ'επιλογή της γυναίκας (εκλεκτική) ή αν πραγματοποιήθηκε μετά από ρήξη των εμβρυικών μεμβρανών, γεγονός που σημαίνει ότι το νεογνό ήρθε σε επαφή με τα κολπικά μικρόβια της μητέρας, μπορεί να υποτεθεί το μικροβιακό προφίλ που θα χαρακτηρίζει το κάθε νεογνό. Στις περιπτώσεις των καισαρικών τομών όπου η έκθεση στο μητρικό μικροβίωμα είναι περιορισμένη, και η συχνότητα χορήγησης αντιβιοτικών αυξημένη, μια πρόσφατα δοκιμασμένη μέθοδος αποπειράται να αποκαταστήσει το διαταραγμένο μικροβίωμα των νεογνών αυτών χρησιμοποιώντας τη μεταφορά κολπικών μικροβίων. Η μέθοδος αυτή ονομάζεται κολπική διασπορά (vaginal seeding), και εκτελείται με τον εμποτισμό μιας γάζας ή τολύπιου στα κολπικά υγρά από το σώμα της μητέρας και την εντριβή αυτού στο σώμα του νεογνού. Η χρήση της δεν εφαρμόζεται σε κλινικό επίπεδο, καθώς υπάρχουν ανεπαρκή δεδομένα και αμφιβολίες για τα αποτελέσματα της εφαρμογής της, και ο ACOG δε συστήνει τη χρήση της για μη-ερευνητικούς σκοπούς εφόσον μεγάλος αριθμός ερευνών έχουν αναδείξει ότι διάφορες ενέργειες πριν και μετά τον τοκετό έχουν μεγαλύτερες επιδράσεις στο μικροβίωμα του νεογνού. Για το λόγο αυτό η τεχνική αυτή

δεν θα πρέπει να ενθαρρύνεται να εκτελείται καθώς ακόμη θεωρείται επισφαλής και αμφιβόλου αποτελεσματικότητας.

Έρευνα που συμμετείχαν 18 νεογνά (εκ των οποίων τα 11 ήταν από ΚΤ) και οι μητέρες τους, διεξήχθη με σκοπό να εξετάσει την αποτελεσματικότητα της μεθόδου της κολπικής διασποράς. Τα 4 από τα 11 νεογνά εκτέθηκαν σε κολπικά υγρά από τις αντίστοιχες μητέρες τους με τη βοήθεια μιας εμποτισμένης γάζας, με την προϋπόθεση ότι οι γυναίκες δεν εμφάνιζαν μέχρι και μια ώρα πριν την καισαρική τομή σημάδια βακτηριακής κολπίτιδας (BV), ήταν αρνητικές για στρεπτόκοκκο της ομάδας B και είχαν κολπικό pH μικρότερο από 4,5. Στα πρώτα δύο λεπτά της ζωής τους, τα νεογνά σκουπίστηκαν με τη γάζα κατά μήκος του στόματος, του προσώπου και του δέρματός τους. Στη συνέχεια, ένα μήνα μετά τον τοκετό, λήφθηκαν δείγματα από τον πρωκτό, το δέρμα και τη στοματική κοιλότητα των 18 νεογνών που συμμετείχαν στην έρευνα και των μητέρων τους. Μετά από μικροβιακή καλλιέργεια των δειγμάτων βρέθηκε ότι το μικροβίωμα των τεσσάρων νεογνών που σκουπίστηκαν με την εμποτισμένη με κολπικά υγρά γάζα, προσομοιάζε περισσότερο στο μικροβίωμα των νεογνών που είχαν γεννηθεί με κολπικό τοκετό. Οι μακροχρόνιες επιδράσεις της μεθόδου αυτής παραμένουν ακόμα άγνωστες. Τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής, παρότι λίγα και ανεπαρκή, άνοιξαν το δρόμο για περισσότερες μελέτες στην πρακτική αυτή.

Παρά τα θετικά αποτελέσματα της παραπάνω έρευνας, λόγω των ανεπαρκών στοιχείων επί του θέματος, ο ACOG συνιστά να αποφεύγεται η χρήση της πρακτικής αυτής, καθώς οι πιθανοί κίνδυνοι υπερβαίνουν τα οφέλη. Το 20% των γυναικών με τελειόμηνες κυήσεις φέρουν στο περιβάλλον του κόλπου τον στρεπτόκοκκο ομάδας B, που πιθανόν να κρύβει κινδύνους για την έκβαση της υγείας του νεογνού, ενώ οι περιπτώσεις αδιάγνωστων λοιμώξεων *C trachomatis*, *N gonorrhoea*, *human papilloma virus (HPV)*, στρεπτόκοκκου ομάδας A και απλού έρπητα των γεννητικών οργάνων, αποτελούν κίνδυνο για νεογνική λοίμωξη.⁽⁴⁰⁾ Η χορήγηση προβιοτικών στο νεογνό με σκοπό την πρόληψη εμφάνισης δυσβίωσης, φάνηκε να προκαλεί μείωση της επίπτωσης του συνδρόμου ευερέθιστου εντέρου και της θυλακίτιδας, ενώ αποτελεί ελπιδοφόρα προοπτική για την αντιμετώπιση της NEK. Ο τρόπος δράσης των προβιοτικών είναι πολύπλοκος και διαφορετικός σε κάθε περίπτωση, οπότε είναι δύσκολη η πρόβλεψη της πορείας της θεραπείας με προβιοτικά.

Ο καταλληλότερος τρόπος αποκατάστασης του διαταραγμένου αυτού μικροβιώματος δεν έχει ανευρεθεί ακόμα. Οι θεραπείες αποκατάστασης της δυσβίωσης έχουν τραβήξει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας καθώς η έκθεση στα μικρόβια θέτει τις βάσεις

40 The American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG), ACOG (2017), ACOG Committee Opinion, Vaginal Seeding

για την ανάπτυξη του αμυντικού και του γαστρεντερικού συστήματος και του μεταβολισμού, με συνέπειες στην παιδική αλλά και στην ενήλικη ζωή του ατόμου.⁽⁴¹⁾

2.4. Η ΤΟΠΟΘΕΣΙΑ ΤΗΣ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΟΥ ΤΟΚΕΤΟΥ ΩΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗΣ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑΤΟΣ

Η τοποθεσία που διενεργείται ο τοκετός και εκμειύεται το νεογνό φαίνεται να αποτελεί παράγοντα που επιδρά στη διαμόρφωση του μικροβιώματος του νεογνού. Τα περισσότερα δεδομένα για το νεογνικό μικροβίωμα προέρχονται από κλινικές μελέτες οι οποίες πραγματοποιήθηκαν κυρίως σε νεογνά που γεννήθηκαν σε νοσοκομειακά περιβάλλοντα.

Το νοσοκομειακό περιβάλλον παρέχει έναν άσηπτο χώρο κατά τη διάρκεια του τοκετού, ενώ φιλοξενεί μεγάλο αριθμό μικροοργανισμών, ανθεκτικών σε αντιβιοτικά. Επιπλέον, τα πρωτόκολλα που εφαρμόζονται και οι μαιευτικές πράξεις που χρησιμοποιούνται κατά τον τοκετό, όπως τα μειωμένα γεύματα και η μειωμένη κινητοποίηση της γυναίκας, η μόνιμη ενδοφλέβια ενυδάτωση, η χορήγηση αναισθησίας και αναλγησίας, η χορήγηση οξυτοκίνης, η συχνή διενέργεια κολπικής εξέτασης για την αξιολόγηση της εξέλιξης του τοκετού, αλλά και η περινεοτομή, ο τοπικός καθαρισμός του κόλπου της γυναίκας με ιώδιο και η περιγεννητική χορήγηση αντιβιοτικών, πιθανώς παρεμβάλλονται στη μετάδοση των μικροβίων από τη μητέρα στο νεογνό.

Έρευνα που περιλάμβανε 35 νεογνά γεννημένα με κολπικό τοκετό και τις μητέρες τους, εκ των οποίων 21 γεννήθηκαν με τοκετό σε νοσοκομειακό περιβάλλον και 14 στο σπίτι, διεξήχθη ώστε να μελετήσει τις διαφορές στο μικροβίωμα μεταξύ των νεογνών που γεννήθηκαν στο σπίτι συγκριτικά με όσα γεννήθηκαν σε νοσοκομειακό περιβάλλον. Όλα τα νεογνά που συμμετείχαν στην έρευνα γεννήθηκαν με τη βοήθεια μαιών, είχαν πρόωμη επαφή δέρμα-με δέρμα και θήλαζαν αποκλειστικά για τον πρώτο μήνα ζωής τους. Από τα 14 νεογνά που γεννήθηκαν στο σπίτι, τα 4 ήταν από τοκετό στο νερό, ενώ κανένα από τα νεογνά που συμπεριλήφθηκαν δεν έλαβε απευθείας αντιβιοτική αγωγή κατά τον πρώτο μήνα ζωής. Από τις μητέρες των νεογνών που γέννησαν στο νοσοκομείο, οι 11 έλαβαν περιγεννητικά αντιβιοτική αγωγή: οι 4 γυναίκες ενδοφλέβια χορήγηση για στρεπτόκοκκο ομάδας Β, και από του στόματος οι 7 λόγω πιθανής γεννητικής λοίμωξης ή λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού.

Φάνηκε ότι τα νεογνά που γεννήθηκαν σε νοσοκομειακό περιβάλλον είχαν διαφορετικό μικροβίωμα από τα νεογνά που γεννήθηκαν στο σπίτι, με τις διαφορές να είναι περισσότερο εμφανείς τη δεύτερη ημέρα ζωής. Το μικροβίωμα των πρώτων, είχε

41 Pearl D. Houghteling, W. Allan Walker (2015), Why is initial bacterial colonization of the intestine important to the infant's and child's health?, J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2015 Mar; 60(3): 294–307. doi: 10.1097/MPG.0000000000000597

μειωμένη ποικιλία και αριθμό σε ορισμένα είδη μικροβίων με τις διαφορές να γίνονται εμφανέστερες κατά την πάροδο των ημερών: *Bacteroides* (ημέρα 2), *Bifidobacterium* (ημέρες 7, 21, 28), *Streptococcus* (ημέρες 14, 21, 28), *Lactobacillus* (ημέρα 21). Κατά την τρίτη εβδομάδα ζωής τους, παρουσιάστηκε αύξηση στον αριθμό των ειδών *Clostridium* (ημέρα 21), *Enterobacteriaceae* (ημέρα 28) και *Citrobacter* (ημέρες 21, 28). Με το πέρας του πρώτου μήνα ζωής των νεογνών, φάνηκε ότι στα νεογνά που γεννήθηκαν στο νοσοκομειακό περιβάλλον υπήρχε μεγαλύτερη έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με φλεγμονές στο εντερικό επιθήλιο, πιθανώς λόγω του αυξημένου αριθμού του γένους των *Bacteroides*. Επιπλέον, ο μειωμένος αριθμός *Clostridium* στα νεογνά που γεννήθηκαν στο σπίτι, σε πολλές έρευνες φαίνεται να μειώνει τις πιθανότητες για παιδικό άσθμα στην ηλικία των 6-7 ετών.⁽⁴²⁾

42 Joan L. Combellick, Hakdong Shin, Dongjae Shin et al. (2018), Differences in the fecal microbiota of neonates born at home or in the hospital, *Scientific Reports* 2018; 8: 15660. doi: 10.1038/s41598-018-33995-7

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΤΟ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΕΡΙΟΔΟ ΤΗΣ ΛΟΧΕΙΑΣ

Οι πρώτες μέρες και εβδομάδες μετά τον τοκετό είναι μια περίοδος που συνοδεύεται από πολλές αλλαγές στο σώμα και τη ζωή της μητέρας. Λοχεία ονομάζεται η περίοδος από τη γέννηση του νεογνού μέχρι την επάνοδο της μήτρας στο φυσιολογικό της μέγεθος μετά τον τοκετό. Συνήθως περιγράφεται ότι έχει διάρκεια 6 εβδομάδων και χαρακτηρίζεται από ανατομικές και φυσιολογικές αλλαγές στο σώμα της γυναίκας, αλλά και στη καθημερινότητά της καθώς γίνεται η μετάβαση στη γονεϊκότητα. Σε πολλούς πολιτισμούς παραχωρείται ένα διάστημα 30-40 ημερών μετά τον τοκετό για την ξεκούραση της νέας μητέρας και τη διευκόλυνση της μετάβασης της από την εγκυμοσύνη στη μητρότητα, με τη βοήθεια και την υποστήριξη των επαγγελματιών υγείας.⁽⁴³⁾

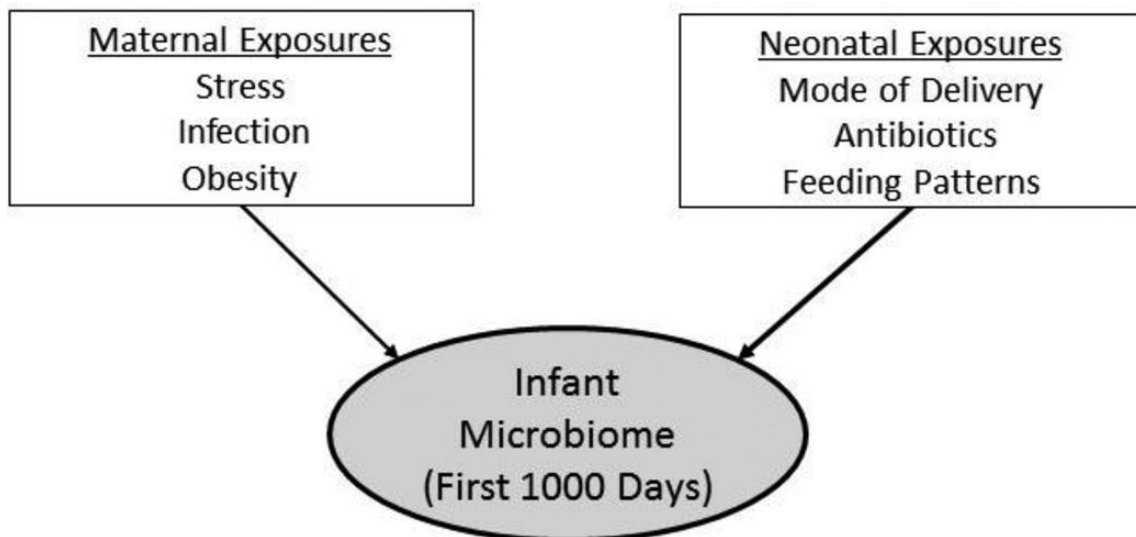
Η περίοδος της λοχείας αποτελεί μια κρίσιμη περίοδο, όπου θέτονται οι βάσεις για τη μακροπρόθεσμη υγεία του νεογέννητου. Ο αρχικός αποικισμός του οργανισμού του νεογνού κατά την εξέλιξη του τοκετού, θέτει τη βάση για το σταθερό ενήλικο μικροβίωμά του. Το μικροβίωμα στον οργανισμό του νεογνού, σε συνεργασία με τα ανθρώπινα κύτταρα, πραγματοποιεί τρεις ουσιαστικούς ρόλους: προστατευτικό, μεταβολικό και θρεπτικό. Παρότι τα μικρόβια αποικίζουν σε πολλές περιοχές του ανθρώπινου οργανισμού, το μικροβίωμα του εντέρου είναι αυτό με το μεγαλύτερο πληθυσμό και βιοποικιλότητα. Δείγματα από ενήλικα άτομα υποδηλώνουν ότι το μικροβίωμα είναι περισσότερο όμοιο μεταξύ αδερφών και γονιών, γεγονός που αποδεικνύει ότι το πρωταρχικό μικροβίωμα κληρονομείται και παραμένει μέχρι την ενήλικη ζωή.⁽³⁰⁾ Αναλύοντας δείγματα κοπράνων από το ίδιο βρέφος τα πρώτα δύομισή χρόνια ζωής του, είναι προφανές ότι το εντερικό μικροβίωμα, αναδεικνύεται ότι αυτό είναι πολύ ασταθές κατά τα πρώτα 3 έτη της ζωής.

Καθώς το νεογνό διέρχεται από το γεννητικό σωλήνα στους κολπικούς τοκετούς, αποκτάει έναν μεγάλο μικροβιακό πληθυσμό αποτελούμενο από αερόβια και αναερόβια μικρόβια. Το εσωτερικό του γαστρεντερικού συστήματος του νεογνού αποτελεί ένα αερόβιο περιβάλλον αμέσως μετά τη γέννηση, το οποίο μετατρέπεται βαθμιαία σε αναερόβιο εντός λίγων ημερών. Τα αρχικά βακτήρια που αποικίζουν τον οργανισμό του νεογνού είναι τα αερόβια είδη *Escherichia* και *Enterococcus* τα οποία τελικά εγκαθιστούν το αναερόβιο περιβάλλον του εντέρου καταναλώνοντας όλο το διαθέσιμο οξυγόνο. Συνεπώς, το περιβάλλον αυτό επιτρέπει μόνο την ανάπτυξη υποχρεωτικά αναερόβιων βακτηριών όπως *Clostridia*, *Bacteroidetes*, και ειδικότερα *Bifidobacteria* τα

43 LOWDERMILK, PERRY, CASHION (2013), Νοσηλευτική μητρότητας, 8η έκδοση, Ιατρικές εκδόσεις ΛΑΓΟΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ

οποία και αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος του πληθυσμού. Τα πρώτα αυτά είδη που αποικούν το έντερο του νεογνού, συμβάλλουν στην εκπαίδευση του αναπτυσσόμενου αμυντικού συστήματος ως προς τα ποια είδη θεωρούνται φιλικά και ποια παθογόνα για τον οργανισμό-οικοδεσπότη, παρέχοντας ένα ιδανικό περιβάλλον για την ανάπτυξη αναερόβιων οργανισμών. Μόλις τα πρώτα είδη εγκατασταθούν, οι χημικές ενώσεις που ήταν ήδη παρούσες στον εντερικό σωλήνα και στο μητρικό γάλα δρουν ως πρεβιοτικά και βοηθούν την ανάπτυξη των φιλικών μικροβίων, στοχεύοντας στην εγκατάσταση ενός ομοιοστατικού μηχανισμού.

Τις πρώτες 1000 ημέρες της ζωής το μικροβίωμα υπόκειται σε τεράστιες αλλαγές μέχρι να αποκτήσει την οριστική μορφή του. Όπως είναι ήδη γνωστό, οι παράγοντες που διαμορφώνουν το μικροβίωμα είναι μητρικής προέλευσης (παχυσαρκία, περιγεννητικές λοιμώξεις, επίπεδα στρες) και νεογνικής προέλευσης (τρόπος σίτισης, αντιβιοτική αγωγή, είδος τοκετού).



Σχήμα 3: Παράγοντες που διαμορφώνουν το νεογνικό μικροβίωμα.

Κατά την πρώιμη νεογνική περίοδο το μικροβίωμα υπόκειται σε τεράστιες αλλαγές και κατέχει κυρίαρχο ρόλο για το μεταβολισμό και το αναπτυσσόμενο ανοσοποιητικό σύστημα. Στα νεογνά και ιδιαίτερα στα πρόωρα νεογνά, το μικροβίωμα επιτελεί ρόλους μεταβολικούς συνθέτοντας βιταμίνη K, βιοτίνη και λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας, βοηθάει στη διάσπαση διάφορων θρεπτικών συστατικών και συμβάλλει στην άμυνα του οργανισμού.

Τα εντερικά βακτήρια ενεργοποιούν την απάντηση του ανοσοποιητικού συστήματος του βλεννογόνου του εντέρου, διεγείροντας τον λεμφικό ιστό να παράγει αντισώματα, ενώ εργαστηριακά ευρήματα δείχνουν ότι δρουν στους υποδοχείς TLRs (toll-like receptors) του επιθηλίου του εντέρου, οι οποίοι είναι το ένα από τα δύο είδη υποδοχέων που ξεχωρίζουν τα φιλικά για τον οργανισμό είδη από τα παθογόνα, εκπαιδεύοντας έτσι το

αναπτυσσόμενο ανοσοποιητικό σύστημα. Συμπερασματικά, η σύνθεση της εντερικής μικροχλωρίδας στις πρώτες ημέρες της ζωής φαίνεται να είναι ένας πολύ σημαντικός παράγοντας για την επίτευξη και διατήρηση της καλής υγείας για τα επόμενα χρόνια.⁽³²⁾ Παράγοντες όπως η διατροφή του νεογνού, η επαφή του με τον περιβάλλοντα χώρο και με άλλους ανθρώπους και η χορήγηση αντιμικροβιακής αγωγής επηρεάζουν τη σύσταση και τη βιοποικιλότητα του εντερικού μικροβιώματος και αξίζει να μελετηθούν παραπάνω.

3.1. ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΤΟΥ ΝΕΟΓΝΟΥ

Η διατροφή του νεογνού αποτελείται αποκλειστικά από μητρικό γάλα για το αρχικό διάστημα της ζωής του. Το μητρικό γάλα αποτελεί αδιαμφισβήτητη την ιδανικότερη τροφή για την σωματική και νευρολογική ανάπτυξη του νεογνού και υπερέχει έναντι των συμπληρωμάτων και του αγελαδινού γάλατος. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας συνιστά αποκλειστικό θηλασμό τουλάχιστον για τους πρώτους 6 μήνες ζωής του βρέφους και την έναρξη του μέσα στην πρώτη ώρα ζωής. Το ανθρώπινο μητρικό γάλα αποτελεί την ιδανική τροφή για το νεογνό, καθώς είναι ειδικά διαμορφωμένο για τις εκάστοτε ανάγκες του, αποτελώντας μια πολυδύναμη ουσία με σύσταση που αλλάζει και διαφοροποιείται προκειμένου να καλύψει πλήρως τις διατροφικές και ανοσολογικές απαιτήσεις του βρέφους, χωρίς την ανάγκη συμπληρωματικής χορήγησης νερού ή τροφής.

Ο παραγόμενος όγκος του είναι ανάλογος με το βάρος του σιτιζόμενου νεογνού και εξαρτάται ως ένα βαθμό από τη διατροφή της μητέρας. Η σύνθεση του γάλακτος διαφέρει μεταξύ μητέρων πρόωρων νεογνών και μητέρων που έχουν γεννήσει τελειόμηνα νεογνά, και είναι ανάλογη με το στάδιο της γαλουχίας. Η περιεκτικότητα σε μικροθρεπτικά και μακροθρεπτικά συστατικά, είναι ειδικά διαμορφωμένη για το κάθε νεογνό, προκειμένου να καλύψει τις εκάστοτε ανάγκες του νεογνού ή του βρέφους. Το μητρικό γάλα αποτελείται κυρίως από λακτόζη, λιπίδια και ολιγοσακχαρίτες.⁽⁴⁴⁾ Περιέχει λιπίδια, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, βιταμίνες και βιοενεργά συστατικά όπως: ανοσοσφαιρίνες (IgA, IgG, IgM, IgD, IgE), T και B λεμφοκύτταρα, λυσοζύμη, ιντερλευκίνες, τα οποία ενισχύουν την άμυνα του οργανισμού ενάντια σε λοιμώξεις, αλλά και αυξητικούς παράγοντες. Από τα σημαντικότερα συστατικά του είναι τα σάκχαρα που συντηρούν τα ζώντα βακτήρια στο εσωτερικό του εντέρου του νεογνού/βρέφους, διατηρώντας και εμπλουτίζοντας το μικροβίωμα, του οποίου η σημασία είναι καθοριστική για την ευημερία και την ανάπτυξη του ανθρώπινου οργανισμού. Επίσης, αξίζει να σημειωθεί ότι ίχνη από την τροφή που καταναλώνει η θηλάζουσα μητέρα, μεταφέρονται μέσω του γάλακτος στο νεογνό/βρέφος καθιστώντας

44 Sadaki Asakuma, Emi Hatakeyama, Tadasu Urashima et al. (2011), Physiology of Consumption of Human Milk Oligosaccharides by Infant Gut-associated Bifidobacteria, J Biol Chem. 2011 Oct 7; 286(40): 34583–34592. doi: 10.1074/jbc.M111.248138

ευκολότερη τη μετάβαση από το θηλασμό στη σίτιση με στερεή τροφή, καθώς το έντερο αποκτά σταδιακά ανοχή σε αυτές.

3.1.α. Σύσταση του μητρικού γάλατος

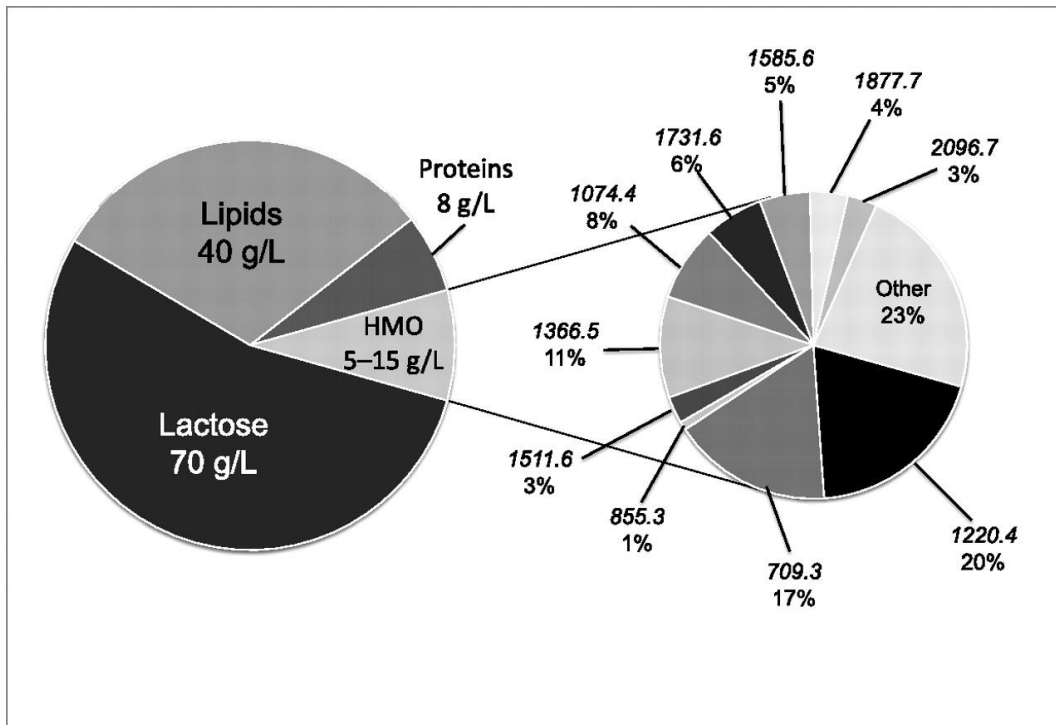
Το πύαρ ή πρωτόγαλα είναι το πρώτο γάλα που εκκρίνεται από τις θηλές της μητέρας μετά τον τοκετό. Είναι ένα διαυγές, υποκίτρινο και παχύρρευστο υγρό, διαφέρει κατά πολύ σε σύσταση και μορφή από το ώριμο γάλα αφού έχει μεγαλύτερη συγκέντρωση πρωτεϊνών και μετάλλων και μικρότερη συγκέντρωση λίπους. Αποτελείται από λακτοφερρίνη, ανοσοσφαιρίνη IgA, λευκοκύτταρα, και περισσότερους αυξητικούς παράγοντες όπως ο επιδερμικός αυξητικός παράγοντας.⁽⁴⁵⁾ Από την πρώτη μέχρι την τρίτη μέρα ζωής, το πρωτόγαλα παράγεται σε μικρές ποσότητες και η υψηλή συγκέντρωσή του σε πρωτεΐνες βοηθά στη δέσμευση της ελεύθερης χολερυθρίνης και στην αποβολή του μηκωνίου λόγω της υπακτικής του δράσης.⁽³⁴⁾ Το πρωτόγαλα έχει αυξημένες συγκεντρώσεις νατρίου, χλωρίου και μαγνήσιου και μειωμένες συγκεντρώσεις καλίου, ασβεστίου και λακτόζης σε σύγκριση με το ώριμο γάλα. Η χαμηλή του περιεκτικότητα σε λακτόζη, οδηγεί στην υπόθεση ότι ο ρόλος του πρωτογάλατος είναι κυρίως ανοσολογικός καθώς το νεογνό μεταφέρεται από το μικρό μικροβιακό φορτίο ενδομήτριο περιβάλλον, σε ένα καινούργιο περιβάλλον που βρίθει από παθογόνα μικρόβια.⁽³⁶⁾

Λίγες μέρες μετά τον τοκετό το μητρικό γάλα αποκτά μια πιο ώριμη σύνθεση. Η μεταβατική αυτή φάση προς την πιο ώριμη μορφή, ονομάζεται στάδιο II της γαλακτογένεσης, συμβαίνει το αργότερο ως την 5^η μέρα μετά τον τοκετό και ολοκληρώνεται 10 μέρες μετά, στο στάδιο III της γαλακτογένεσης, όπου παράγεται πλέον το ώριμο γάλα. Οι αλλαγές στις οποίες υπόκειται η σύνθεση και η σύσταση του γάλατος είναι βαθμιαίες καθώς ωριμάζει ο μαστικός αδένας. Η σύνθεση του ώριμου γάλατος παραμένει σε γενικές γραμμές σταθερή, όμως υπόκειται σε μικρές αλλαγές για να ανταποκρίνεται στις ανάγκες του βρέφους.⁽³⁴⁾

Τα μακροθρεπτικά και μικροθρεπτικά συστατικά του γάλακτος είναι διαφορετικά σε κάθε θηλαστικό είδος. Η περιεκτικότητα του ανθρώπινου μητρικού γάλατος σε πρωτεΐνες είναι μικρότερη 4-6 εβδομάδες μετά τον τοκετό, και επηρεάζεται από το βάρος και το ύψος της μητέρας. Η συγκέντρωση πρωτεϊνών είναι μεγαλύτερη σε μητέρες που γέννησαν πρόωρα νεογνά και σε γυναίκες ηλικίας 20-30 ετών. Οι κυριότερες πρωτεΐνες είναι η α-, β-, κ-καζεΐνη, α-λακταλβουμίνη, λακτοφερρίνη, ανοσοσφαιρίνη IgA, η λυσοζύμη και η αλβουμίνη ορού. Άλλα είδη πρωτεϊνών όπως η ουρία, κρεατινίνη,

45 Olivia Ballard, Ardythe L. Morrow (2013), Human Milk Composition: Nutrients and Bioactive Factors, Pediatric Clinics of North America, Volume 60, Issue 1, February 2013, Pages 49-74

ελεύθερα αμινοξέα και πεπτίδια, αποτελούν περίπου το 25% του πρωτεϊνικού περιεχομένου του γάλατος. Οι ανοσοσφαιρίνες που περιέχονται στο γάλα, κυρίως οι IgA και IgG, παρέχουν προστασία στον οργανισμό του βρέφους. Όσο αφορά την περιεκτικότητα σε λίπος, είναι το πιο μεταβλητό στοιχείο του μητρικού γάλατος. Τα λιπίδια έχουν διπλό ρόλο: θρεπτική αξία και συμβολή στην άμυνα του οργανισμού. Σε έρευνες in vitro έχει φανεί ότι τα λιπίδια του μητρικού γάλατος απενεργοποιούν κάποιο αριθμό παθογόνων όπως ο στρεπτόκοκκος ομάδας B (GBS) παρέχοντας επιπλέον προστασία έναντι στις λοιμώξεις του επιθηλίου.⁽⁴⁶⁾ Έχει παρατηρηθεί ότι η ποσότητα λίπους μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια της σίτισης. Το γάλα στην έναρξη της σίτισης περιέχει 2-3 φορές λιγότερο λίπος από το ίδιο γάλα προς το τέλος της ίδιας σίτισης, ενώ το αντίθετο συμβαίνει με τη συγκέντρωση της λακτόζης. Ο δυσακχαρίτης λακτόζη αποτελεί την κύρια πηγή ενέργειας για την κάλυψη των ενεργειακών αναγκών του νεογνού. Η περιεκτικότητα του ανθρώπινου γάλατος σε υδατάνθρακες είναι μεγαλύτερη από των υπόλοιπων θηλαστικών ειδών. Εξίσου σημαντικοί υδατάνθρακες που υπάρχουν στο μητρικό γάλα είναι οι ολιγοσακχαρίτες, των οποίων ο ρόλος διαφέρει.⁽³⁶⁾ Οι ολιγοσακχαρίτες ανευρίσκονται σε διάφορες μορφές και ως συστατικά σε βιοχημικές ενώσεις όπως τα γλυκολιπίδια και οι γλυκοπρωτεΐνες.



Σχήμα 4: Σύνθεση του μητρικού γάλατος.

46 Nicholas J. Andreas, Beate Kampmann, Kirsty Le Doare (2015), Human breast milk: A review on its composition and bioactivity, Early human development 91(11) September 2015. DOI: 10.1016/j.earlhumdev.2015.08.013

Η περιεκτικότητα του μητρικού γάλατος σε ολιγοσακχαρίτες είναι 5-15g/L που το καθιστά το τρίτο κυριότερο συστατικό μετά τη λακτόζη και τα λιπίδια.

Τέλος, ένα ακόμα χαρακτηριστικό του μητρικού γάλατος είναι το περιεχόμενό του σε προβιοτικά βακτήρια τα οποία εμπλουτίζουν το μικροβίωμα του νεογνού, τόσο στο αναπνευστικό σύστημα, όσο και στο γαστρεντερικό, μέσω του θηλασμού. Μεγαλύτερο ρόλο στην υγεία του νεογνού/βρέφους φαίνεται να κατέχει το εντερικό μικροβίωμα από τις μικροβιακές χλωρίδες των υπολοίπων σημείων του σώματος. Τα αναερόβια είδη που ανιχνεύονται περισσότερο στο μητρικό γάλα (και στα κόπρανα των νεογνών) είναι τα *Bacteroides*, *Parabacteroides* και μέλη των *Clostridia* (*Blautia*, *Clostridium*, *Collinsella* and *Veillonella*) με το κυρίαρχο φύλο των βακτηρίων που περιέχονται στο μητρικό γάλα να είναι τα *Proteobacteria* (*Moraxellaceae*, *Enterobacteriaceae* και *Pseudomonadaceae*). Τα μέλη της οικογένειας *Enterobacteriaceae* ανευρίσκονται σε μεγάλο αριθμό στα κόπρανα των νεογνών, ενώ τα είδη *Lactobacillus* και *Bifidobacterium* να αποτελούν μόλις το 2-3% του συνολικού πληθυσμού.⁽⁴⁷⁾ Το 1924 ανιχνεύθηκαν για πρώτη φορά Gram αρνητικά βακτήρια *streptococci* στο μητρικό γάλα, με τα *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis* καθώς και άλλα είδη μη-αιμολυτικών στρεπτόκοκκων, μέλη της δερματικής και της στοματικής μικροχλωρίδας να υπάρχουν στη στοματική κοιλότητα του νεογνού, γεγονός που υποδεικνύει την ανταλλαγή μικροβίων από το μαστό προς τη στοματική κοιλότητα του νεογνού αλλά και αντίστροφα.

Είναι σημαντικό ότι το 2000 η πρώτη ανάλυση μικροβιακών κοινοτήτων με μη-καλλιιεργήσιμες μεθόδους όπως η ηλεκτροφόρηση και η αλληλούχηση του 16S rRNA επιβεβαίωσε τα ευρήματα περί μικροβιακού περιεχομένου των προηγούμενων ερευνών, οι οποίες διεξήχθησαν με τη μέθοδο καλλιέργειας μικροβίων, συμπληρώνοντας τη λίστα των μικροβιακών ειδών με τα *Serratia*, *Ralstonia*, *Prevotella* και *Corynebacterium*. Μελέτη του 2011 έδειξε ότι τα ίδια είδη μικροβίων ανευρίσκονται ταυτόχρονα στο μητρικό γάλα, στα κόπρανα των νεογέννητων και στα κόπρανα της θηλάζουσας μητέρας, στοιχείο που υποδηλώνει την κάθετη μετάδοση μικροβίων από το έντερο της θηλάζουσας μητέρας στο παραγώμενο γάλα. Τρεις είναι οι πιθανοί μηχανισμοί μεταφοράς των μικροβίων: α) μετακίνηση μέσω των βλεννογόνων μεμβρανών του στόματος, του εντέρου, του ουρογεννητικού σωλήνα και του δέρματος, β) είσοδος μέσω της αιματικής ροής κατά τη φροντίδα της στοματικής υγιεινής και γ) μέσω πρόσληψης των δενδριτικών κυττάρων (DC) του εντέρου και μεταφορά με την κυκλοφορία του αίματος και των μεσεντερικών λεμφαδένων.

47 Pia S. Pannaraj, MD, MPH, Fan Li, PhD, Chiara Cerini, MD et al. (2017), Association Between Breast Milk Bacterial Communities and Establishment and Development of the Infant Gut Microbiome, *JAMA Pediatr.* 2017 Jul; 171(7): 647–654. doi: 10.1001/jamapediatrics.2017.0378

Ο μεγαλύτερος αριθμός μικροβίων ανευρίσκεται στους λοβούς και αγωγούς του μαστικού αδένου, αλλά και στον αδενικό και το λιπώδη ιστό του μαστού. Οι μικροβιακές σχέσεις του μικροβιώματος του μαστού, έχει μελετηθεί ως προς τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των διαφόρων ειδών που εντοπίζονται σε αυτή την περιοχή. Οι Heikkila et al. ανακάλυψαν ότι το 20% του πληθυσμού *Staphylococcus epidermidis* και το 50% του *S. salivarius* που απομονώθηκαν από το μητρικό γάλα, παράγουν βακτηριοκίνες που καταπιέζουν την ανάπτυξη του *S. Aureus*, ενώ ο *Enterococcus faecalis* που ήταν παρών στο 7,5% των δειγμάτων, όπως και οι γαλακτοβάκιλλοι *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactococcus lactis* και *Leuconoctoc mesenteroides* που ήταν παρόντες στο 12,5% των δειγμάτων, παρουσίαζαν επίσης αντιμικροβιακή δραστηριότητα ενάντια στον *S. Aureus*. Συνεπώς, στην επιφάνεια και στο εσωτερικό του μαστού, ζουν πολλά είδη βακτηρίων που παράγουν βακτηριοκίνες, οι οποίες εκτός από την αντιμικροβιακή τους δράση, είναι πιθανό να επιτελούν το ρόλο του επικοινωνιακού συστήματος για τα μικρόβια όπου και στο έντερο με παρόμοιο τρόπο, αποφασίζεται ποια είδη είναι ωφέλιμα για τον οργανισμό του νεογνού και επιβιώνουν έναντι των παθογόνων και μη χρήσιμων ειδών.⁽⁴⁸⁾

3.1.β. Ο ρόλος των ολιγοσακχαριτών στο μητρικό γάλα

Το τρίτο σε σειρά περιεκτικότητας συστατικό του μητρικού γάλακτος, οι ολιγοσακχαρίτες, είναι μια κατηγορία σακχάρων που δρουν ως πρεβιοτικά, με πολύπλοκη δομή και μεγάλη ετερογένεια. Έχουν παρατηρηθεί παραπάνω από 200 διαφορετικοί τύποι ολιγοσακχαριτών, χαρακτηριστικό που εξαρτάται και από τον οργανισμό και τον γονότυπο της μητέρας. Η παραγωγή των ολιγοσακχαριτών είναι γενετικά καθορισμένη και ελέγχεται από την έκφραση των γονιδίων στις κυψελίδες του στήθους της μητέρας, συνεπώς το περιεχόμενο των ολιγοσακχαριτών στο μητρικό γάλα διαφέρει μεταξύ των γυναικών που θηλάζουν. Η συγκέντρωσή τους στο πρωτόγαλα (20-25g/L) είναι μεγαλύτερη από ότι στο ώριμο γάλα (5-20g/L). Έχουν κατηγοριοποιηθεί σε 13 κύριες δομές, με συστατικό αυτών τη λακτόζη και δομή που αποτελείται από 5 διαφορετικά σάκχαρα: L-φουκόζη, d-γλυκόζη, d-γαλακτόζη, N-ακετυλγλυκοζαμίνη, N-ακετυλνευραμινικό οξύ.⁽³⁸⁾ Οι δεσμοί μεταξύ των μονοσακχαριτών είναι συγκεκριμένοι, ώστε να μη διασπώνται από τις γλυκοσιδάσες του νεογνικού πεπτικού συστήματος, αλλά να φτάνουν σχεδόν ακέραιοι στο κόλον, όπου δρουν ως πρεβιοτικά για το σχηματισμό ενός υγιούς εντερικού οικοσυστήματος αποτελώντας θρεπτικό υλικό για την ανάπτυξη των συμβιωτικών και ωφέλιμων μικροοργανισμών του εντέρου. Ως πρεβιοτικά χαρακτηρίζονται οι υδατάνθρακες που δεν υδρολύονται και δεν απορροφώνται κατά τη

48 Camilla Urbaniak, Jeremy Paul Burton, Gregor Reid (2012), Breast, milk and microbes: A complex relationship that does not end with lactation, *Women's Health*, SAGE Journals, 2012 Jul;8(4):385-98. doi: 10.2217/whe.12.23

διέλευσή τους από το γαστρεντερικό σύστημα, αλλά μεταβολίζονται μόνο από τα ωφέλιμα βακτήρια που αποικίζουν το κόλον. Σε έρευνες in-vitro φάνηκε ότι οι ολιγοσακχαρίτες αντιστέκονται στο όξινο γαστρικό pH και στη διάσπαση από τα παγκρεατικά υγρά και ανευρίσκονται ακέραιοι στο κόλον μέχρι και το δεύτερο μήνα ζωής. Μια μικρή ποσότητα που διασπάται, απορροφάται και εισέρχεται στην κυκλοφορία του αίματος από όπου και αποβάλλεται εν τέλει στα ούρα.⁽⁴⁰⁾ Οι ολιγοσακχαρίτες που καταφτάνουν αδιάσπαστοι στο κόλον αποτελούν θρεπτικό υλικό για τα διάφορα είδη *Bifidobacterium* και άλλων ωφέλιμων βακτηρίων που αποικίζουν το έντερο του νεογνού, προάγοντας με τον τρόπο αυτό την ανάπτυξή τους.⁽²²⁾ Η σημασία τους στη διατήρηση και την εγκατάσταση του υγιούς μικροβιώματος στο σώμα του νεογνού, έχει αναδειχθεί μέσω ερευνών μεταξύ θηλάζοντων και μη-θηλάζοντων νεογνών όπου και φαίνεται η διαφορετική εξέλιξη της μικροβιακής κοινότητας, ανάλογα με το είδος σίτισης του νεογνού.⁽⁴⁹⁾

Τα *Bifidobacterium longum subsp. infantis* (*B. Infantis*) ευδοκιμούν στην αποκλειστική παρουσία των υδατανθράκων αυτών ως θρεπτικό υλικό. Το *Bifidobacterium Infantis* που αποικίζει το εσωτερικό του γαστρεντερικού συστήματος δεν επιτρέπει την εγκατάσταση παθογόνων μικροοργανισμών, προστατεύοντας τον οργανισμό του νεογέννητου από λοιμώξεις με διάρροια και λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος. Ο προστατευτικός ρόλος των ολιγοσακχαριτών είναι πολλαπλός, διότι εκτός από τη δράση τους ως πρεβιοτικά, έχουν την ικανότητα να προσδένονται στο βλεννογόνο του εντέρου και ανταγωνίζονται την εγκατάσταση παθογόνων μικροβίων, ιών και τοξινών στο επιθήλιο.⁽⁵⁰⁾ Δρώντας σαν υποδοχείς για τα παθογόνα, οι υδατάνθρακες αυτοί αναστέλλουν τη διαδικασία πρόσδεσης των παθογόνων στο επιθήλιο, έχοντας οι ίδιοι ανάλογο σχήμα με τους υδατάνθρακες του επιθηλίου, προσδένονται με τα μικρόβια αυτά και τα αποβάλλουν από το γαστρεντερικό σωλήνα.

Δεδομένου ότι διαφορετικά παθογόνα έχουν την ικανότητα πρόσδεσης σε διαφορετικούς υδατάνθρακες και ότι το προφίλ των παραγόμενων ολιγοσακχαριτών είναι γενετικά καθορισμένο, γίνεται εύκολα κατανοητό ότι κάθε νεογνό έχει ανοσία απέναντι σε διαφορετικό είδος παθογόνου, ανάλογα με το γονότυπο της μητέρας του και τους παραγόμενους από αυτήν ολιγοσακχαρίτες. Συνεπώς, το είδος των φιλικών μικροβίων που ευνοείται και ευδοκιμεί διαφέρει για κάθε νεογνό μιας και το μικροβιακό προφίλ του κάθε νεογνού εξαρτάται από το μητρικό γονότυπο. Τέλος, όσο αφορά την αμυντική δράση των ολιγοσακχαριτών, έχει παρατηρηθεί ότι οι ολιγοσακχαρίτες έχουν την ικανότητα να ρυθμίζουν τις αντιδράσεις των εντερικών επιθηλιακών κυττάρων και να αλλάζουν το περιβάλλον του εντέρου μειώνοντας την κυτταρική ανάπτυξη, την

49 Lars Bode (2012), Human milk oligosaccharides: Every baby needs a sugar mama, *Glycobiology*, Volume 22, Issue 9, September 2012 Pages 1147–1162, <https://doi.org/10.1093/glycob/cws074>

50 Vassilis Triantis, Lars Bode and R. J. Joost van Neerven (2018), Immunological Effects of Human Milk Oligosaccharides, *Frontiers in Pediatrics*, 02 July 2018

απόπτωση και τη διαφοροποίηση των επιθηλιακών κυττάρων, καθώς και της ανοσολογικής αντίδρασης μεταβάλλοντας την απάντηση των T-κυττάρων σε μια πιο ισορροπημένη παραγωγή Th1 και Th2 κυτταροκινών.⁽³⁷⁾

Στα υποκατάστατα μητρικού γάλακτος σε σκόνη ή στις φόρμουλες με τη μορφή «ready to feed», απουσιάζουν οι ολιγοσακχαρίτες, καθώς είναι ένα συστατικό το οποίο δεν υπάρχει σε μεγάλη συγκέντρωση στο αγελαδινό γάλα. Δεν είναι δυνατή η τεχνητή τους παραγωγή, λόγω της μεγάλης πολυπλοκότητας που εμφανίζουν σε δομή και διαφοράς ανάμεσα στα διάφορα είδη θηλαστικών. Αυτός είναι και ο λόγος που παρουσιάζονται διαφορές στο μικροβίωμα νεογνών που θηλάζουν και νεογνών που σιτίζονται με φόρμουλα. Με σκοπό να αντικατασταθεί η παρουσία των ολιγοσακχαριτών και να ενισχυθεί η δράση της φόρμουλας, πλέον εισάγονται στα υποκατάστατα μητρικού γάλακτος τεχνητά πρεβιοτικά, όπως οι φρουκτο-ολιγοσακχαρίτες (FOS), οι γαλακτο-ολιγοσακχαρίτες (GOS) και οι πολυδεξτρόζη (PDX), οι οποίοι δεν υπάρχουν φυσικά στο ανθρώπινο μητρικό γάλα, και διαφέρει η δομή τους καθώς είναι αδύνατο να αντιγραφεί τεχνητά η πολυπλοκότητα των φυσικών ολιγοσακχαριτών. Η παρουσία τους ως υποκατάστατα φαίνεται να έχει κάποια θετική επίδραση στο μικροβίωμα του νεογνού, μειώνοντας την εμφάνιση αλλεργιών και ατοπικής δερματίτιδας τους πρώτους 6 μήνες ζωής. Οι FOS, παράγονται με την αντίστροφη αντίδραση της φρουκτανάσης ή της σουκράσης, είτε με την υδρόλυση της ινουλίνης (ενός πολυμερούς της φρουκτόζης). Οι GOS από την άλλη, παράγονται με την κατάλυση της αντίστροφης αντίδρασης υδρόλυσης, χρησιμοποιώντας γαλακτοσιδάσες. Οι FOS και GOS έχουν μερικώς παρόμοια βιοχημική συμπεριφορά με τους φυσικούς ολιγοσακχαρίτες καθώς δεν υδρολύονται και ανευρίσκονται ακέραιοι στα κόπρανα των νεογνών.⁽⁵¹⁾

Παρότι η προσθήκη των υποκατάστατων αυτών έφερε τη βρεφική φόρμουλα ένα βήμα πιο κοντά στο μητρικό γάλα, η μακροχρόνια θετική επίδρασή τους στην υγεία του βρέφους χρειάζεται περισσότερη έρευνα.⁽³⁷⁾ Επιπρόσθετα, ένα ακόμα σημαντικό μειονέκτημα των υποκατάστατων είναι το γεγονός ότι η σύσταση και η περιεκτικότητα των συνθετικών αυτών ολιγοσακχαριτών στη φόρμουλα παραμένει σταθερή και δεν αλλάζει, σε αντίθεση με τους φυσικούς ολιγοσακχαρίτες του μητρικού γάλατος που διαφοροποιούνται κατά την περίοδο του θηλασμού.

Συγκρίνοντας το μικροβίωμα νεογνών με υποκατάστατα εμπλουτισμένα με GOS/FOS και νεογνών με κοινή απλή φόρμουλα, φαίνεται ότι το μικροβίωμα των νεογνών της πρώτης κατηγορίας πλησιάζει περισσότερο σε αυτό των νεογνών που θηλάζουν. Η προσθήκη μιας μείξης FOS και GOS στο γάλα φόρμουλα φάνηκε να ωφελεί την ανάπτυξη των *Bifidobacterium*, ενώ προκάλεσε μείωση στον πληθυσμό των *clostridia*. Η προσθήκη μόνο GOS φάνηκε να προκαλεί αύξηση στον πληθυσμό των

51 Rosa Maria Espinosa, Martha Tamez and Pedro Prieto (2007), Efforts to emulate human milk oligosaccharides, *British Journal of Nutrition* (2007), 98, Suppl. 1, S74–S79

γαλακτοβάκιλλων και μείωση στον αριθμό των *Clostridium difficile* επίσης. Σε κάθε περίπτωση τα οφέλη για το μικροβίωμα είναι μεγαλύτερα με την πρόιμη έναρξη χορήγησης κατά την νεογνική περίοδο και ειδικά σε περιπτώσεις όπου χορηγείται αντιμικροβιακή αγωγή στο νεογνό.

Στα οφέλη της συμπληρωματικής χορήγησης FOS/GOS στο γάλα φόρμουλα πέρα από τη συμβολή στην εγκατάσταση της εντερικής χλωρίδας και στη μεταβολική δραστηριότητα, συμπεριλαμβάνεται η εξισσορόπηση του pH του εντερικού περιβάλλοντος. Παρατηρείται ότι τα νεογνά που θηλάζουν ή λαμβάνουν γάλα εμπλουτισμένο με FOS/GOS εμφανίζουν χαμηλότερο pH κοπράνων (συνεπώς και εντερικό pH) συγκριτικά με νεογνά που λαμβάνουν την απλή φόρμουλα. Το pH του εντερικού περιβάλλοντος καθορίζει τα είδη που ευδοκίμουν στο εσωτερικό του εντέρου, με μειωμένες τιμές pH να σχετίζονται με μειωμένο αριθμό παθογόνων μικροοργανισμών.⁽⁵²⁾

3.1.γ. Διατροφή των πρόωρων νεογνών

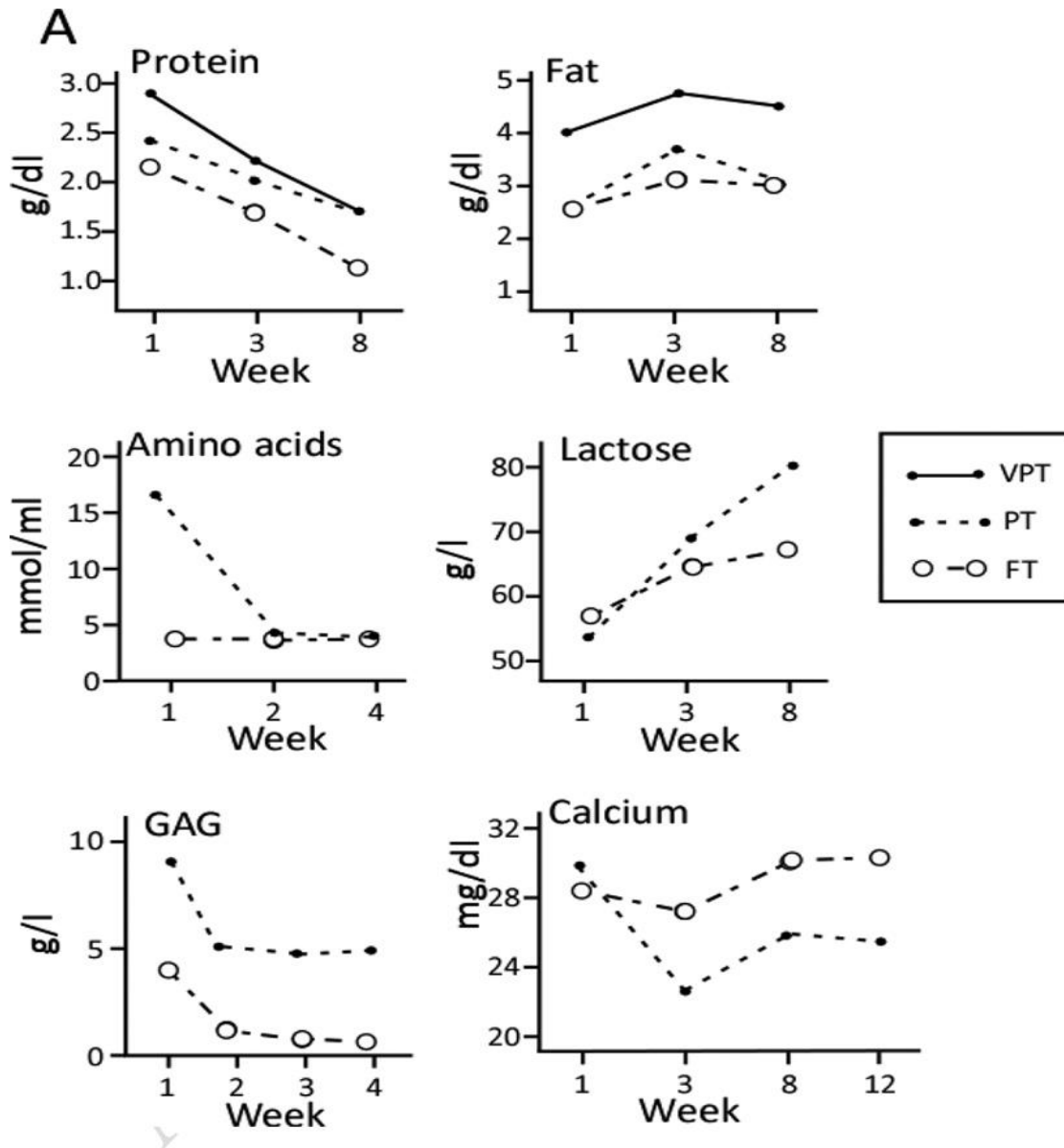
Είναι ευρέως αποδεκτό ότι το μητρικό γάλα είναι ειδικά διαμορφωμένο για να καλύπτει τις ανάγκες του τελειόμηνου νεογνού σε μικροθρεπτικά συστατικά, ενέργεια και ανοσολογικούς παράγοντες. Αποτελεί την ιδανική τροφή για το νεογνό, είναι άμεσα διαθέσιμο, ασφαλές, θρεπτικό και είναι ο σίγουρος τρόπος για την επίτευξη βέλτιστης υγείας και τη θέσπιση των θεμέλιων για την εισαγωγή στη στερεά τροφή μετέπειτα στη ζωή του νεογνού. Τα πρόωρα νεογνά ωστόσο (ειδικότερα τα γεννημένα πριν από τις 32 εβδομάδες κύησης) παρουσιάζουν ένα πολύ διαφορετικό σύνολο διατροφικών προκλήσεων καθώς η ικανότητα των νεογνών αυτών να συλλάβουν το μαστό δεν είναι πλήρως ανεπτυγμένη και σε συνδυασμό με την έλλειψη συντονισμού του αντανακλαστικού κατάποσης με την αναπνοή, καθίσταται υποχρεωτική η σίτιση των πρόωρων νεογνών με καθετήρα σίτισης. Μάλιστα συστήνεται στις μητέρες που είχαν πρόωρο τοκετό να αντλούν το γάλα τους ώστε το νεογνό τους να σιτίζεται με αυτό και ενθαρρύνεται η επαφή δέρμα με δέρμα μητέρας-νεογνού, η οποία ευνοεί την παραγωγή γάλατος.

Οι ενεργειακές απαιτήσεις και νευρο-αναπτυξιακές προκλήσεις είναι μεγαλύτερες σε μικρότερης ηλικίας κνήσεις πρόωρα, επομένως ο κίνδυνος που έχουν τα νεογνά αυτά να εμφανίσουν ανεπάρκεια μετάλλων και πρωτεϊνών είναι αυξημένος. Οι ελλείψεις αυτές συνδέονται με αρνητικά αποτελέσματα στην ανάπτυξη και την υγεία τους. Επειδή οι ανάγκες των πρόωρων νεογνών για ενέργεια είναι μεγάλες λόγω των περιορισμένων αποθεμάτων γλυκογόνου των πρόωρων νεογνών είναι περιορισμένες και εξαντλούνται πολύ γρήγορα, κρίνεται απαραίτητος ο άμεσος εφοδιασμός του νεογνού με γλυκόζη.

52 Yvan Vandenplas, Irina Zakharova, Yulia Dmitrieva (2015), Oligosaccharides in infant formula: more evidence to validate the role of prebiotics, British Journal of Nutrition, Volume 113, Issue 9, May 2015. <https://doi.org/10.1017/S0007114515000823>

Ειδικά για τα πρόωρα νεογνά με πολύ χαμηλό βάρος γέννησης (<1000g) ο κίνδυνος θνησιμότητας είναι ακόμα μεγαλύτερος, καθώς πέρα από τις αυξημένες ενεργειακές τους ανάγκες, έχουν υπανάπτυκτους πνεύμονες, αδυναμία θερμορρύθμισης και ανώριμο πεπτικό σύστημα.

Σχήμα 5: Συγκεντρώσεις διαφόρων συστατικών στο γάλα πολύ πρόωρων, πρόωρων και τελειόμηνων νεογνών. VPT: Very Preterm, PT: Preterm, FT: Fullterm



Το μητρικό γάλα των γυναικών που γέννησαν πρόωρα διαφέρει από των μητέρων με τελειόμηνη κύηση, περιέχει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις πρωτεϊνών, λίπους, νατρίου, χλωρίου, ψευδαργύρου, χαλκού και φολικού οξέος από το ώριμο γάλα, αλλά μικρότερες ποσότητες λακτόζης και ασβεστίου. Τα βιοενεργά συστατικά του γάλατος, όπως η λεπτίνη, οι κυτταροκίνες, η λακτοφερρίνη και οι αυξητικοί παράγοντες, είναι πιο

αυξημένα στο γάλα των γυναικών αυτών και στο πρωτόγαλα γενικότερα. Η λεπτίνη και η ινσουλίνη παράγονται από τους μαστικούς αδένες της μητέρας και μεταφέρονται στο νεογνό, όπου και συμμετέχουν στη μακροχρόνια ανάπτυξή του. Οι γλυκοζαμινογλυκάνες (GAG) συμμετέχουν στην άμυνα του νεογνού εμποδίζοντας την εγκατάσταση των παθογόνων βακτηρίων στο πεπτικό σύστημα, και η συγκέντρωσή τους είναι παρόμοια σε γυναίκες με πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά.⁽⁵³⁾

Η σίτιση των πρόωρων νεογνών με μητρικό γάλα έχει θετικές συνέπειες στο πεπτικό τους σύστημα και ασκεί προστατευτική δράση έναντι ασθενειών όπως η αμφιβληστροειδοπάθεια της προωρότητας, η νεκρωτική εντεροκολίτιδα (NEK) και το σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου που εμφανίζονται περισσότερο στα πρόωρα νεογνά.⁽³⁹⁾ Ο προστατευτικός τρόπος δράσης του μητρικού γάλατος έναντι της NEK οφείλεται στην περιεκτικότητα αυτού σε λιπάσες, ανοσοσφαιρίνη IgA, λακτοφερρίνη, λυσοζύμη, αυξητικούς παράγοντες, στους ολιγοσακχαρίτες και τα ζώντα βακτήρια του που βοηθούν στην εγκατάσταση του μικροβιώματος και προστατεύουν το πεπτικό σύστημα.⁽⁴¹⁾

Παρά τη διαφορετική σύνθεση που έχει το γάλα των γυναικών που γέννησαν πρόωρα, τα πρόωρα νεογνά χάνουν το κομμάτι της ενδομήτριας ανάπτυξης που συμβαίνει κατά το τρίτο τρίμηνο της εγκυμοσύνης, συνεπώς στερούνται μεγάλο αριθμό από θρεπτικά συστατικά που τα τελειόμηνα νεογνά συνεχίζουν να λαμβάνουν από το σώμα της μητέρας τους και το αμνιακό υγρό μέχρι το τέλος της κύησης, χωρίς να χρειάζεται να δαπανούν τα ίδια ενέργεια για την παραγωγή θερμότητας και την ανταλλαγή αερίων.⁽⁴²⁾ Με σκοπό την κάλυψη των παραπάνω αναγκών και την αποφυγή νοσηρότητας, δημιουργήθηκαν οι ενισχυτές μητρικού γάλατος (Human Milk Fortifiers-HMFs). Η ενίσχυση του μητρικού γάλατος είναι μια διαδεδομένη κλινική πρακτική, κατά την οποία το μητρικό γάλα της γυναίκας που γέννησε πρόωρα προσαρμόζεται στις ανάγκες αυξημένες ανάγκες του πρόωρου νεογέννητου. Η τεχνική της ενίσχυσης του μητρικού γάλατος επιτυγχάνεται με τους HMFs οι οποίοι υπάρχουν στο εμπόριο σε στερεή μορφή (σκόνης) ή σε υγρή μορφή, με αναλογία γάλατος-HMFs 1:1. Με τη διαθεσιμότητα των HMF φάνηκε να υπάρχουν θετικά αποτελέσματα αναφορικά με την αύξηση βάρους, την ανάπτυξη και την οστική πυκνότητα. Τα νεογνά που τρέφονται με το ενισχυμένο αυτό μητρικό γάλα εμφανίζουν καλύτερη έκβαση υγείας, αύξηση βάρους, μήκους και περιμέτρου της κεφαλής. Επίσης, εμφανίζεται βελτίωση στην κατάσταση των οστών και καλύτερα νευροαναπτυξιακά αποτελέσματα.

Οι HMFs όμως, διαφέρουν από τη μορφή των πρωτεϊνών, υδατανθράκων, οργανικών αλάτων, ασβεστίου, φωσφόρου και ηλεκτρολυτών που ανευρίσκονται φυσικά στο μητρικό γάλα εφόσον προέρχονται κυρίως από βοοειδή, αν και υπάρχουν διαθέσιμοι στο

53 Mark A. Underwood (2013), Human milk for the premature infant, *Pediatr Clin North Am.* 2013 Feb; 60(1): 189–207. Published online 2012 Oct 18. doi: 10.1016/j.pcl.2012.09.008

εμπόριο κάποιου από ανθρώπινο μητρικό γάλα. Οι προκλήσεις που συναντώνται στη σίτιση του πρόωρου νεογνού με ΗΜΦ, λόγω της ανωριμότητας του πεπτικού συστήματος, οδηγούν στην πιθανότητα παραμονής των αμεταβόλιστων στοιχείων στο έντερο όπου και αποτελούν παράγοντα κινδύνου για εμφάνιση ΝΕΚ. Σημαντική είναι επίσης η απουσία πρεβιοτικών και προβιοτικών από το ενισχυτικό αυτό σχήμα.

Άλλος τρόπος σίτισης των χαμηλού βάρους πρόωρων νεογνών, είναι με μητρικό γάλα από δότη. Η σίτιση των πρόωρων νεογνών με γάλα από τράπεζες γάλατος πιθανόν να είναι ικανή να καλύψει τυχόν ελλείψεις από το γάλα της μητέρας, αν και δεν παρουσιάζονται τόσο μεγάλες διαφορές μεταξύ του μητρικού γάλατος και του γάλατος από τράπεζα. Η κύρια διαφορά τους είναι ότι τα μητρικά γάλατα στις τράπεζες παστεριώνονται προκειμένου να μειωθούν οι πιθανότητες μετάδοσης των ιών HIV, CMV, ηπατίτιδας Β και C. Η παστερίωση, αν και μειώνει τους παθογόνους μικροοργανισμούς, μειώνει τα βιοενεργά συστατικά που υπάρχουν στο μητρικό γάλα: IgA, λακτοφερρίνη, λυσοζύμη, αυξητικούς παράγοντες, υδατοδιαλυτές βιταμίνες, αλλά δεν επηρεάζει τους ολιγοσακχαρίτες, τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα μακριάς αλύσου (PUFAs), τη λακτόζη, τις λιποδιαλυτές βιταμίνες και τον επιδερμικό αυξητικό παράγοντα. Μεγάλη προσοχή χρειάζεται στην επιλογή του δότη, επειδή το μητρικό γάλα παρουσιάζει διαφοροποιήσεις ανάλογα με τη ηλικία κύησης.⁽⁴¹⁾ Έρευνα του Montjoux-Régis (2011) ανέδειξε ότι τα νεογνά που σιτίζονται με ωμό γάλα από τις ίδιες τις μητέρες τους, αναπτύσσονται ταχύτερα από νεογνά που σιτίζονται με παστεριωμένο γάλα. Συμπερασματικά, οι συστάσεις για την επιλογή σίτισης, είναι αρχικά το μητρικό γάλα ενισχυμένο με ΗΜΦ, μετέπειτα το γάλα από τράπεζες γάλατος ως η δεύτερη επιλογή, και τέλος η βρεφική φόρμουλα, αφού οι δύο πρώτες επιλογές μειώνουν τις επιπτώσεις της προωρότητας στην υγεία των νεογνών και ιδίως της ΝΕΚ και του μεταβολικού συνδρόμου, ενώ μειώνουν την αρτηριακή πίεση και την αντίσταση στην ινσουλίνη και τη λεπτίνη κατά την εφηβική ηλικία συγκριτικά με τα νεογνά που σιτίζονται με φόρμουλα.⁽⁴¹⁾⁽⁵⁴⁾

3.2. ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΑΚΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

Καθώς η διαχείριση των νεογνών από μητέρες με πιθανή ή επιβεβαιωμένη χοριοαμνίτιδα και πυρετό κατά τη διάρκεια του τοκετού συνίσταται σε αντιμικροβιακή θεραπεία μετά τη γέννηση τους, λήψη καλλιέργειας αίματος και μέτρηση των WBC (σύμφωνα με τα guidelines του CDC – Centers for Disease Control and Prevention και του AAP – American Academy of Pediatrics), οδηγούν στην έκθεση των νεογνών σε αντιμικροβιακή αγωγή ποικίλου χρονικού διαστήματος. Η χρήση της αγωγής αυτής έχει ως σκοπό την πρόληψη της εμφάνισης πρώιμων λοιμώξεων που μπορεί να εμφανιστούν μετά από

54 Z. Hossain, W. Diehl-Jones, D. MacKay, A. Chiu, and J.K. Friel, Human milk fortifiers and the premature infant, Handbook of dietary and nutritional aspects of bottle feeding, Chapter: 18, Pages: 285 – 304

εμπύρετο τοκετό ή πιθανή/επιβεβαιωμένη χοριοαμνιονίτιδα, όμως οι επιπτώσεις αφορούν τόσο την έκθεση του νεογνού σε αντιμικροβιακούς παράγοντες όσο και στην παράταση της παραμονής τους στο νοσοκομειακό περιβάλλον. Αναλυτικότερα, τα περισσότερα νεογνά που λαμβάνουν αντιβιοτική αγωγή εισάγονται σε μονάδες εντατικής νοσηλείας νεογνών όπου και εκτίθονται σε ακόμα περισσότερα μικρόβια, ιδιαίτερα σε στελέχη ανθεκτικά στα αντιβιοτικά.⁽¹⁵⁾

Παρά την καλύτερη διαχείριση των γυναικών με πυρετό κατά τον τοκετό, οι πρώιμες νεογνικές λοιμώξεις παραμένουν ένα συχνό φαινόμενο, ειδικότερα στον πληθυσμό των πρόωρων νεογνών. Τα πρόωρα νεογνά διαθέτουν ένα ανώριμο και αδύναμο ανοσοποιητικό σύστημα, ενώ χαρακτηρίζονται από χαμηλής βιοποικιλότητας μικροβίωμα με μεγάλο αριθμό δυνητικά παθογόνων μικροοργανισμών. Ο κίνδυνος εμφάνισης δυσβίωσης στα πρόωρα νεογνά είναι αυξημένος, καθώς τα περισσότερα γεννιούνται με καισαρική τομή ή με αιφνίδιο κοιλικό τοκετό, συνεπώς σε κάθε περίπτωση η έκθεση στο εντερικό και κοιλικό μικροβίωμα της μητέρας είναι περιορισμένη. Το μεγαλύτερο κοινό των νεογνών που νοσηλεύονται στη μονάδα εντατικής νοσηλείας νεογνών, είναι ότι λαμβάνουν αντιβιοτική αγωγή ευρέους φάσματος, ενώ στερούνται σωματικής επαφής και έρχονται περισσότερο σε επαφή με επιφάνειες του χώρου της μονάδας. Οι δύο παραπάνω παράγοντες καθιστούν το ανώριμο νεογνικό μικροβίωμα επιρρεπές σε περιβαλλοντικούς παράγοντες.

Οι χώροι νοσηλείας στις MENN είναι αποικισμένοι από πολλά είδη ανθεκτικών παθογόνων μικροβίων. Ο χρόνος παραμονής των νεογνών στη μονάδα σε συνδυασμό με το ανώριμο νεογνικό αμυντικό σύστημα συμβάλλουν στην εγκατάσταση των μικροβίων του περιβάλλοντος (παθογόνων και μη) στον οργανισμό των νεογνών. Οι ασθένειες σε αυτή την ηλικία μπορούν να είναι θανατηφόρες και είναι εύκολη η μετάδοσή τους στα υπόλοιπα νεογνά της MENN μέσω του προσωπικού και του ιατρικού εξοπλισμού.⁽²⁹⁾ Ο τοκετός σε νοσοκομειακό περιβάλλον που ακολουθείται από παραμονή στο ενδονοσοκομειακό περιβάλλον, αυξάνει τις πιθανότητες εμφάνισης αλλεργιών, εκζέματος και άσθματος.⁽²¹⁾ Το 38% των ασθενειών προέρχεται από μικρόβια του εσωτερικού περιβάλλοντος της μονάδας.⁽²⁹⁾ Τα μικρόβια αυτά εμφανίζονται σε πολύ μικρότερο αριθμό στο περιβάλλον και ευδοκιμούν όταν βρεθούν στο εσωτερικό του οργανισμού των νεογνών αφού βρίσκουν πιο φιλικό περιβάλλον για να αναπτυχθούν και να πολλαπλασιαστούν. Στοιχεία δείχνουν ότι η ανταλλαγή των μικροβίων είναι αμοιβαία, καθώς στελέχη του εντερικών μικροβίων παρουσιάζονται και στο νοσοκομειακό περιβάλλον.⁽⁵⁵⁾

55 Brandon Brooks, Matthew R. Olm, Brian A. Firek et al. (2018), The developing premature infant gut microbiome is a major factor shaping the microbiome of neonatal intensive care unit rooms, Microbiome e-journal, 2018 6:112

Έρευνα που πραγματοποιήθηκε με 2 πρόωρα νεογνά ηλικίας κύησης < 31 εβδομάδων με βάρος γέννησης <1.250 γραμμάρια, προερχόμενα από κύσεις με διεγνωσμένη χοριοαμνιονίτιδα, γεννημένα με κοιλικό τοκετό, νοσηλευόμενα στην ίδια υλική τοποθεσία στην ίδια μονάδα για τον πρώτο μήνα της ζωής τους, λαμβανόταν δείγμα κοπράνων τους κάθε τρεις ημέρες από την 3^η ημέρα ζωής τους τα οποία και συγκρίθηκαν με δείγματα από μικροβιακά κύτταρα που συλλέχθηκαν από τις επιφάνειες της ίδιας μονάδας. Και τα δύο νεογνά έλαβαν αντιβιοτική αγωγή με αμπικιλίνη και γενταμυκίνη, όμως το νεογνό 1 σιτιζόταν με μητρικό γάλα και το νεογνό 2 σιτιζόταν με φόρμουλα και έλαβε επιπλέον τα αντιβιοτικά κεφοταξίμη και βανκομυκίνη. Οι επιφάνειες της μονάδας που εξετάστηκαν ήταν οι νιπτήρες, οι καθετήρες σίτισης και διασωλήνωσης, τα χέρια των επαγγελματιών υγείας και των γονέων, και τα ηλεκτρονικά μηχανήματα (κινητά, ποντίκια υπολογιστών, πληκτρολόγια). Τα κυρίαρχα είδη που ανιχνεύθηκαν στη μονάδα ήταν *Actinobacteria*, *Firmicutes*, και *Proteobacteria*, ενώ οι επιφάνειες που χρησιμοποιούνταν συχνά διέφεραν από τις αυτές που χρησιμοποιούνταν σπάνια. Χαρακτηριστικά διακρίθηκαν 4 τύποι οικοσυστημάτων: δερματικές κοινότητες, κοινότητες νιπτήρων, κοπράνων, διασωληνώσεων/καθετήρων.

Το μικροβίωμα των δύο νεογνών επίσης παρουσίαζε διαφορές. Το νεογνό 1 εμφάνιζε κανονικό μικροβιακό αποικισμό πρώιμης φάσης στο γαστρεντερικό του σύστημα, με αλλαγή στο εντερικό περιβάλλον την 12^η ημέρα ζωής από προαιρετικά αναερόβιο σε υποχρεωτικά αναερόβιο. Η αλλαγή αυτή δεν παρατηρήθηκε να συμβαίνει στο νεογνό 2, του οποίου τα προαιρετικά αναερόβια είδη συνέχιζαν να υπάρχουν σε όλη τη διάρκεια της μελέτης. Οι ομοιότητες μεταξύ των μικροβίων των καθετήρων και των διασωληνώσεων και των μικροβιωμάτων των νεογνών παρουσίαζαν τις μεγαλύτερες ομοιότητες, ενώ με επιφάνειες ηλεκτρικών μηχανημάτων όπως οι υπολογιστές εμφανίζονταν οι μεγαλύτερες διαφορές. Στο νεογνό 1 εμφανίστηκε στο δεύτερο μισό της έρευνας το *Bacteroides fragilis* ενώ δεν ανευρέθηκε στο νοσοκομειακό περιβάλλον, αντιθέτως, το νεογνό 2 στο δεύτερο μισό της έρευνας παρουσίαζε μικροβιακά είδη παρόμοια με αυτά που κατοικούσαν στο περιβάλλον της μονάδας.

Τα πρόωρα νεογνά, τα οποία ως επί το πλείστον λαμβάνουν προληπτική αντιβιοτική αγωγή, εμφανίζουν περιορισμένη βιοποικιλότητα στο μικροβίωμα τους και αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης NEK λόγω της διακοπής του φυσιολογικού αποικισμού. Συγκεκριμένα έχει παρατηρηθεί ότι η NEK εμφανίζεται συχνότερα σε περιόδους με μειωμένη μικροβιακή βιοποικιλότητα. Επομένως δεν είναι αμελητέα η επιρροή που έχουν τα αντιβιοτικά στη μικροχλωρίδα του εντέρου καθώς μπορούν να προκαλέσουν μόνιμη διαταραχή της ποικιλομορφίας οδηγώντας σε μια ασθενική κατάσταση, γεγονός που πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν πριν την έναρξη της αντιβιοτικής αγωγής σε γυναίκες και σε νεογνά. Ιδιαίτερα στα πρόωρα νεογνά τα οποία συνήθως γεννιούνται με ΚΤ, εκτίθενται σε αντιβιοτικά από την ενδομήτρια ακόμη περίοδο και σιτιζονται με

φόρμουλα ή μητρικό γάλα εμπλουτισμένο με HMFs, το μικροβίωμά τους επηρεάζεται από το συνδυασμό των παραπάνω ενεργειών.

Οι περισσότεροι πρόωροι τοκετοί οφείλονται σε κάποιο φλεγμονώδη παράγοντα, όπως η μητρική νοσηρότητα, το κάπνισμα, οι περιγεννητικές λοιμώξεις και το στρες, που επιβαρύνει την γενική κατάσταση της υγείας του. Συνεπώς οι επακόλουθες επιπρόσθετες επεμβατικές διαδικασίες, η χορήγηση αντιβιοτικών, η επαφή του με τα μικρόβια της μονάδας και οι φαρμακευτικές αγωγές που μεταβάλλουν το pH του γαστρεντερικού συστήματος, σε συνδυασμό με την έλλειψη έκθεσης στα μικρόβια μητρικής προέλευσης, οδηγούν στην ανάπτυξη δυσβιωτικών σχέσεων και στη διακοπή της φυσιολογικής ανάπτυξης του ανοσοποιητικού συστήματος.⁽⁴⁵⁾ Μάλιστα, έχει παρατηρηθεί μια αντίστροφη σχέση μεταξύ του πληθυσμού των μπιφιδοβακτηρίων και των επιπέδων της ιντερφερόνης-γ και των ιντερλευκινών 4 και 10, ενώ η παρουσία *Staphylococcus aureus*, *Enterobacteriaceae* και *Pseudomonadaceae* συνδέεται με αυξημένα επίπεδα κυτταροκινών και την ύπαρξη μιας προ-φλεγμονώδους κατάστασης, ενισχύοντας τη θεωρία ότι η ύπαρξη δυσβίωσης στο μικροβίωμα στα αρχικά στάδια της ζωής οδηγεί σε μια τάση του οργανισμού για την εμφάνιση φλεγμονωδών παθήσεων.⁽⁴⁴⁾

Λαμβάνοντας υπόψη όλους τους παραπάνω παράγοντες και κινδύνους που ελλοχεύει για το νεογνό η αλόγιστη και υπέρμετρη χορήγηση αντιβιοτικών, γίνεται ξεκάθαρο ότι είναι απαραίτητη η αναγνώριση και η διαφορετική διαχείριση των νεογνών που ενέχουν όντως κίνδυνο εμφάνισης πρώιμης λοίμωξης, πριν την έναρξη της αντιμικροβιακής θεραπείας, η αναγνώριση των νεογνών χαμηλού κινδύνου που δεν χρήζουν αντιβιοτικής αγωγής, όπως και η έγκαιρη διακοπή της θεραπείας μετά την υποχώρηση της λοίμωξης.⁽⁵⁶⁾

3.3. ΤΟ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ ΤΩΝ ΤΕΛΕΙΟΜΗΝΩΝ ΝΕΟΓΝΩΝ

Το μικροβίωμα των νεογνών παρουσιάζει μικρή βιοποικιλότητα και αριθμό και μεγαλύτερη μεταβλητότητα στη μικροβιακή σύνθεση σε σχέση με αυτό των ενηλίκων. Οι σημαντικότεροι καθοριστικοί παράγοντες της μικροβιακής σύνθεσης του εντέρου στα νεογνά/βρέφη είναι ο τρόπος σίτισής τους, η ηλικία κύησης, η νοσηλεία σε νοσοκομειακό περιβάλλον και η χορήγηση αντιβιοτικών στο βρέφος. Οι αλλαγές στις οποίες υπόκειται η πρώτη και πιο ευμετάβλητη σύνθεση του νεογνικού μικροβιώματος στον πρώτο χρόνο της ζωής του κατά τον τοκετό, το θηλασμό και τον απογαλακτισμό, είναι δραματικές. Ο λειτουργικός του ρόλος του είναι καθοριστικός για το μεταβολισμό και το ανοσοποιητικό σύστημα του νεογέννητου, καθώς επιτελεί διαδικασίες όπως η παραγωγή βιοενεργών ενώσεων (λιπαρά οξέα), μεταβολιτών (CLA, GABA) και αντιμικροβιακών ουσιών (φουκόζη, σιαλικό οξύ) συμβάλλοντας στη θωράκιση του

56 Richard A. Polin (2012), the COMMITTEE ON FETUS AND NEWBORN, Management of Neonates With Suspected or Proven Early-Onset Bacterial Sepsis, Pediatrics, May 2012, 129 (5) 1006-1015; DOI: 10.1542/peds.2012-0541

οργανισμού ενάντια στις λοιμώξεις και σε χρόνιες παθήσεις όπως ο σακχαρώδης διαβήτης, η παχυσαρκία, το άσθμα, οι αλλεργίες, τα αυτοάνοσα νοσήματα και πιθανόν ο καρκίνος. Η ύπαρξη συμβιωτικών σχέσεων μεταξύ του ξενιστή-οργανισμού και του μικροβιώματος εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, ενώ η ύπαρξη δυσβίωσης οδηγεί σε ασθένειες κατά τη νεογνική και παιδική ζωή.

Το εντερικό μικροβίωμα εμφανίζει σχέσεις αλληλεπίδρασης με τον ανθρώπινο εγκέφαλο, μέσω νευρικών, ενδοκρινών και ανοσολογικών απαντήσεων σχηματίζοντας έναν κύκλο, γνωστό και ως gut-brain-axis. Η σημασία του άξονα αυτού για την μακροχρόνια υγεία του ατόμου έχει γίνει γνωστή την τελευταία δεκαετία, μέσω των αποτελεσμάτων του Human Microbiome Project, αποδεικνύοντας το ρόλο του μικροβιώματος σε μεταβολικά νοσήματα αλλά και σε νευρολογικές και ανοσολογικές λειτουργίες, καθώς πιστεύεται ότι υπάρχουν νευρολογικές ασθένειες (Parkinson's, κατάθλιψη) που επηρεάζουν και τα δύο αυτά συστήματα μέσω της επικοινωνίας τους από το αυτόνομο νευρικό σύστημα. Το ανοσοποιητικό σύστημα του νεογνού είναι άμεσα συνδεδεμένο με το εντερικό του μικροβίωμα, ωριμάζει και αναπτύσσεται παράλληλα με αυτό, γεγονός που επηρεάζει την εμφάνιση ανοσοσχετιζόμενων ασθενειών. Τα μικρόβια στο εσωτερικό του εντέρου αντιδρούν με τα επιθηλιακά κύτταρα των τοιχωμάτων του εντέρου διεγείροντας την παραγωγή πεπτιδίων που επηρεάζουν τις νευρικές απολήξεις των νευρών του αυτόνομου νευρικού συστήματος. Τα παραγόμενα αυτά μηνύματα, μεταφέρονται στο ΚΝΣ όπου και επηρεάζουν τη συμπεριφορά και την εξερχόμενη νευρική δραστηριότητα. Οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες δρουν αντίστροφα στο νευρικό σύστημα, μεταφέροντας σήματα που προκαλούν συναισθηματικά συμπτώματα και αμυντική συμπεριφορά.⁽⁵⁷⁾

Το μικροβίωμα αναπτύσσεται κυρίως και ωριμάζει μετά την έξοδο του νεογνού από τη μήτρα της γυναίκας, που θεωρούνταν κενή από μικρόβια, με τη μετάβαση στο εξωτερικό περιβάλλον και την έναρξη του θηλασμού και των στερεών τροφών μεταγενέστερα. Το φυσιολογικό νεογνικό μικροβίωμα μετά από κοιλιακό τοκετό, ανεξαρτήτως από τον τρόπο σίτισης του νεογνού, κυριαρχείται από την παρουσία των ειδών Actinobacteria και Bacteroidia (59% του συνολικού πληθυσμού), μικρότερο αριθμό από Clostridia (8%),⁽⁵⁸⁾ Lactobacilli, Bifidobacteria και Enterobacteriaceae, συγκεκριμένα από τα είδη που εμφανίζονται ως επί το πλείστον στον μητρικό οργανισμό. Τα βακτήρια *Bifidobacterium*, αποτελούν το επικρατέστερο είδος κατά την περίοδο του θηλασμού, με τον πληθυσμό

57 Irene Yang, Elizabeth J. Corwin, Patricia A. Brennan et al. (2016), The Infant Microbiome: Implications for Infant Health and Neurocognitive Development, Nurs Res. 2016 Jan-Feb; 65(1): 76–88. doi: 10.1097/NNR.000000000000133

58 Katri Korpela, Paul Costea, Luis Pedro Coelho et al. (2018), Selective maternal seeding and environment shape the human gut Microbiome, Genome Research, Genome Res. 2018. 28: 561-568. doi: 10.1101/gr.233940.117

τους να παρουσιάζει το μέγιστο στους 6 μήνες ζωής. Τα βακτήρια αυτά, χρησιμοποιούν τους ολιγοσακχαρίτες του μητρικού γάλακτος ως θρεπτικό υλικό, παράγουν γαλακτικό οξύ και λιπαρά οξέα καθιστώντας ένα όξινο περιβάλλον που δυσχεραίνει την εγκατάσταση των παθογόνων.⁽²³⁾ Ειδικότερα, τα πιο ωφέλιμα για τον νεογνικό οργανισμό είδη: *Bifidobacterium infantis* και *Bacteroides fragilis*, πολλαπλασιάζονται και επιβιώνουν με την παρουσία των σύνθετων ολιγοσακχαριτών του μητρικού γάλακτος. Ο πληθυσμός των *Bifidobacterium* αποτελεί το 40-60% μέχρι και 90% του συνολικού πληθυσμού της εντερικής μικροχλωρίδας στα νεογνά που θηλάζουν αποκλειστικά, με το *Bifidobacterium longum subsp. longum* να είναι το επικρατέστερο είδος. Ακολουθούν άλλα είδη μπιφιδοβακτηρίων όπως *B. longum subsp. infantis*, *B. breve*, *B. catenulatum*, *B. adolescentis* και *B. Bifidum*, τα οποία είναι παρόντα ανεξάρτητα από το είδος σίτισης του νεογνού. Αντιθέτως, το εντερικό μικροβίωμα των νεογνών που σιτίζονται με φόρμουλα παρουσιάζει μεγαλύτερη βιοποικιλότητα μικροβίων πέρα από τα bifidobacteria, όπως *Bacteroides*, *clostridia* και streptococci, και ένα μεγάλο αριθμό αναερόβιων βακτηρίων όπως σταφυλόκοκκος, στρεπτόκοκκος και άλλα εντεροβακτήρια. Τα είδη που μεταδόθηκαν κάθετα από τη μητέρα στο νεογνό όπως τα *Bifidobacteria* και τα *Bacteroides*, παρουσιάζονται συχνότερα και έχουν πιο μακροχρόνιες επιδράσεις στον αποικισμό του νεογνού. Διαφορετικός αριθμός για κάθε είδος συναντάται στο ίδιο οικοσύστημα κάτω από τις ίδιες συνθήκες, καθώς παράγοντες όπως το pH, η θερμοκρασία, και τα διαθέσιμα θρεπτικά συστατικά, επηρεάζουν διαφορετικά την ανάπτυξη του κάθε είδους. Σε αντίθεση με τα είδη *Bifidobacteria* και *Bacteroides*, που μεταδίδονται κάθετα και παραμένουν στο έντερο του νεογνού/βρέφους με την πάροδο του χρόνου, η παρουσία τυπικών ειδών του μητρικού μικροβιώματος του κόλπου, του στόματος και του δέρματος μειώνεται, υποδεικνύοντας ότι η παρουσία τους στο κατώτερο τμήμα του νεογνικού εντέρου είναι παροδική. Για παράδειγμα, οι γαλακτοβάκιλλοι που ανευρίσκονται σε αφθονία στο περιβάλλον του κόλπου δεν καταφέρνουν να επιβιώσουν στο έντερο του νεογνού που έχει σχεδόν ουδέτερο pH καθώς ευδοκιμούν σε περιβάλλοντα περισσότερο όξινα. Αντιθέτως τα βακτηριακά είδη της μητρικής κολπικής χλωρίδας *Gardnerella vaginalis* και *Atopobium vaginae*, εξακολουθούν να υπάρχουν για τις πρώτες ημέρες ζωής του νεογνού, καθώς ευδοκιμούν σε περιβάλλον με pH γύρω στο 5,5.

Συνοψίζοντας, τα περισσότερα κολπικά είδη που ανευρίσκονται σε ποσοστό ως και 16,3% του συνολικού μικροβιακού πληθυσμού στα δείγματα κοπράνων την πρώτη μέρα ζωής των νεογνών, εξαφανίστηκαν ή ανευρίσκονταν σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα μέχρι το πέρας της πρώτης εβδομάδας. Τέλος, εξετάζοντας τις ομοιότητες μεταξύ των μικροβιακών κοινοτήτων του στόματος και του εντέρου στα νεογνά, φαίνεται ότι την πρώτη μέρα ζωής τα είδη *Gardnerella vaginalis*, *Propionibacterium acnes*, *Prevotella bivia*, *Atopobium vaginae* και *Prevotella melaninogenica* υπήρχαν και στα δύο αυτά σημεία του σώματος, ενώ την τρίτη ημέρα ζωής ήταν κοινά τα είδη *Rothia mucilaginosa*, *Streptococcus parasanguinis* και *Streptococcus salivarius*. Αυτό το γεγονός υπογραμμίζει

ότι εφόσον αυτές οι δύο απομακρυσμένες περιοχές του οργανισμού παρουσιάζουν κοινά είδη μεταξύ τους, τότε υπάρχουν μικροβιακά είδη που έχουν την ικανότητα επιβίωσης έστω για περιορισμένο χρονικό διάστημα και στα δύο αυτά περιβάλλοντα, πιθανώς λόγω της έλλειψης γαστρικών/παγκρεατικών υγρών και μεγάλες διακυμάνσεις στο pH του οργανισμού του νεογνού.

Αν και το περιβάλλον του νεογνικού εντέρου πριν τον τοκετό είναι υποχρεωτικά αναερόβιο, κατά τον τοκετό καθίσταται προαιρετικά αερόβιο. Τις πρώτες ημέρες ζωής τα αποκλειστικά αναερόβια είδη κυριαρχούν σε αριθμό και μειώνονται δραστικά από την 3^η κιόλας ημέρα ζωής, τόσο στο έντερο όσο και στη στοματική κοιλότητα. Ήδη την τρίτη ημέρα, ο αριθμός τους έχει μειωθεί κατά 26% στα κόπρανα και κατά 75% στη στοματική κοιλότητα των νεογνών, ενώ παράλληλα παρουσιάζεται αύξηση στον αριθμό των προαιρετικά αναερόβιων ειδών στα κόπρανα με συνεχιζόμενη αλλά μικρότερη μείωση στη στοματική κοιλότητα. Τα προαιρετικά αναερόβια είδη πυροδοτούν την πλήρη εναλλαγή του εντερικού περιβάλλοντος από αερόβιες σε αναερόβιες συνθήκες μέχρι την πρώτη εβδομάδα ζωής.⁽⁵⁹⁾

Η λήψη αντιβιοτικών κατά την περιγεννητική περίοδο σχετίζεται με μειωμένο αριθμό μικροβίων και με ελαττωμένη ποικιλία ειδών. Οι αλλαγές που προκαλούνται στη σύνθεση του εντερικού μικροβιώματος (δυσβίωση) είναι επίμονες και αποτελούν αιτία εμφάνισης πολλών χρόνιων παθήσεων. Τα υγιή νεογνά των οποίων οι μητέρες έλαβαν αντιβιοτική αγωγή (αμπικιλίνη) πριν τον τοκετό για τη θεραπεία του στρεπτόκοκκου ομάδας B, παρουσιάζουν μειωμένο αριθμό *Bifidobacterium* την 7^η ημέρα ζωής τους, γεγονός που αποδεικνύει την επιρροή των αντιβιοτικών στο νεογνικό μικροβίωμα. Επίσης φάνηκε να υπάρχει δυσβίωση στο εντερικό οικοσύστημα καθώς τα ωφέλιμα εντερικά βακτήρια αντικαταστάθηκαν από βακτήρια με αντίσταση στην αμπικιλίνη. Πολλές έρευνες έχουν αναδείξει τη συσχέτιση μεταξύ των αντιβιοτικών και τις πιθανότητες για μελλοντική εμφάνιση παχυσαρκίας και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Η δυσβίωση που προκαλείται από τα αντιβιοτικά και από άλλες περιβαλλοντικές επιρροές επιφέρει διαταραχή στη ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος, αφού το μικροβίωμα διαμορφώνει τη λειτουργία του αμυντικού συστήματος στο νεογνό. Οι τρόποι με τους οποίους δρα το μικροβίωμα για να προστατεύσει τον ανώριμο οργανισμό του νεογνού, συνίσταται στην παραγωγή αντιμικροβιακών ουσιών, δρώντας ως φυσικά εμπόδια, ή/και διεγείροντας την έκκριση IgA αντισωμάτων. Τέλος, η παρουσία τους από την αρχή της ζωής στον οργανισμό “εκπαιδεύει” και ωριμάζει το αμυντικό σύστημα του οργανισμού ώστε να ξεχωρίζει τα φιλικά είδη από τα παθογόνα.⁽²⁴⁾

59 Ferretti P, Pasolli E, Tett A et al. (2018), Mother-to-Infant Microbial Transmission from Different Body Sites Shapes the Developing Infant Gut Microbiome, Abstract, Cell Host & Microbe 2018 Jul 11;24(1):133-145.doi: 10.1016/j.chom.2018.06.005

Εξίσου σημαντικός παράγοντας που καθορίζει την εγκατάσταση των μικροβίων του εντέρου του νεογέννητου, είναι ο τρόπος σίτισης του νεογνού. Τα νεογνά που θηλάζουν αποκλειστικά, είναι γενικά λιγότερο επιρρεπή σε ασθένειες του πεπτικού συστήματος σε συγκριτικά με αυτά που σιτίζονται με φόρμουλα.⁽⁴⁴⁾ Το βακτηριακό προφίλ των θηλάζοντων νεογνών κυριαρχείται από *Bifidobacterium* και *Lactobacillus*, τα οποία ευνοούνται από την ύπαρξη των ολιγοσακχαριτών, γλυκοπρωτεϊνών, γλυκολιπιδίων και άλλων μοριακών ενώσεων στο μητρικό γάλα, ενώ εμφανίζουν μικρότερο αριθμό παθογόνων ειδών όπως τα *E. coli*, *C. difficile* και είδη της ομάδας *B. Fragilis*. Το εντερικό οικοσύστημα των θηλάζοντων νεογνών φιλοξενεί μεγαλύτερο αριθμό μπιφιδοβακτηρίων συγκριτικά με τα νεογνά που σιτίζονται με φόρμουλα, καθώς το μητρικό γάλα περιέχει παράγοντες όπως οι ολιγοσακχαρίτες που ευνοούν την αύξηση τους.⁽⁶⁾ Παρότι τα μπιφιδοβακτήρια υπάρχουν σε θηλάζοντα και σε μη-θηλάζοντα νεογνά, παρατηρήθηκε ότι ο αριθμός τους μειώνεται με την αύξηση της ηλικίας του βρέφους, λόγω της εισαγωγής και άλλων τροφών στο διαιτολόγιό του, της μειωμένης σίτισης με φόρμουλα ή μητρικό γάλα, και της ωρίμανσης του γαστρεντερικού συστήματος.⁽⁶⁰⁾

Είναι ευρέως γνωστό ότι το μικροβίωμα των νεογνών που θηλάζουν και το μικροβίωμα νεογνών που τρέφονται με βρεφική φόρμουλα εξελίσσονται διαφορετικά. Σε έρευνα που συμμετείχαν 8 νεογνά γεννημένα με φυσιολογικό τοκετό, εκ των οποίων τα 4 θηλάζαν αποκλειστικά και τα άλλα 4 σιτίζονταν με βρεφική φόρμουλα εμπλουτισμένη με FOS και GOS, φάνηκε ότι ανεξαρτήτως από το είδος σίτισης το μικροβίωμα του εντέρου κατά τις 3 πρώτες εβδομάδες ζωής τους είναι ίδιο στις δύο κατηγορίες των νεογνών. Τα είδη που εντοπίζονται στα νεογνά που γεννήθηκαν με κολπικό τοκετό ανεξαρτήτως του τρόπου σίτισής τους, είναι ουρογεννητικής προέλευσης: *Lactobacillus crispatus*, *Corynebacterium pseudogenitalium*, *Sphingomonadales* spp., *Enterococcaceae* spp., *Pelomonas* spp. και *Ochrobactrum* spp. Μετά το πέρας των 3 πρώτων εβδομάδων, άρχισε να παρατηρείται μείωση στον αριθμό των αναερόβιων ειδών *Staphylococcus*, *Streptococcus* και φύλα των *Proteobacteria*.⁽⁶¹⁾ Γενικότερα τα νεογνά που θηλάζουν, φέρουν μεγαλύτερο πληθυσμό από *Bifidobacteria* και *Lactobacillus* και μικρότερο αριθμό *Clostridiales* και *Proteobacteria*.

60 Laure C. Roger, Adele Costabile, Diane T. Holland, Lesley Hoyles, Anne L. McCartney (2010), Examination of faecal *Bifidobacterium* populations in breast- and formula-fed infants during the first 18 months of life, *Microbiology* 156: 3329-3341, doi: 10.1099/mic.0.043224-0

61 Timmerman HM, Rutten NBMM, Boekhorst J et al. (2017), Intestinal colonisation patterns in breastfed and formula-fed infants during the first 12 weeks of life reveal sequential microbiota signatures, Abstract, *Scientific Reports* 2017 Aug 21;7(1):8327. doi: 10.1038/s41598-017-08268-4

Ο συνεχής «ανεφοδιασμός» του οργανισμού του νεογνού με μικρόβια, εξασφαλίζει μια συνέχεια στο νέο μικροβίωμα. Εκτός από την κάθετη μετάδοση των μικροβίων με τη σωματική επαφή μητέρας-βρέφους, το μητρικό γάλα περιέχει το ίδιο έναν αριθμό μικροβίων γνωστό και ως μικροβίωμα του ανθρώπινου μητρικού γάλατος. Το μητρικό γάλα περιέχει περισσότερα από 200 διαφορετικά βακτηριακά είδη που έχουν κεντρικό ρόλο στο σχηματισμό του μικροβιώματος του νεογνού και τα είδη που το απαρτίζουν καθορίζονται γενετικά από τον γονότυπο της μητέρας. Εκτός από τα θρεπτικά συστατικά και τους βιοενεργούς παράγοντες που είναι απαραίτητα για την ωρίμανση του οργανισμού του νεογέννητου, τα μικρόβια που περιέχονται στο μητρικό γάλα, συμπληρώνουν το μικροβίωμα που αποκτήθηκε πριν και κατά τον τοκετό. Τα μικρόβια αυτά έχουν καθοριστική θέση κυρίως στον αποικισμό της στοματικής κοιλότητας του νεογνού/βρέφους. Τα είδη *B. longum* και *Bifidobacterium bifidum* που περιέχονται στο μητρικό γάλα ανευρίσκονται συχνότερα σε δείγματα κοπράνων από θηλάζοντα νεογνά. Ο μηχανισμός διαμόρφωσης του μικροβιώματος του μητρικού γάλατος δεν είναι πλήρως γνωστός, όμως υπάρχουν υποθέσεις που εξηγούν την παρουσία των μικροβίων. Η υπόθεση είναι ότι τα μικρόβια που ανευρίσκονται στην επιφάνεια του δέρματος του μαστού της γυναίκας και συνεπώς στη στοματική κοιλότητα του νεογνού, μεταφέρονται αντίστροφα προς τους μαστικούς αδένες της μητέρας, εξηγώντας την παρουσία των *Streptococcus spp.* και *Staphylococcus spp.* στο μικροβίωμα του γάλατος. Η παρουσία ειδών που τυπικά ευδοκιμούν στο έντερο εξηγείται με την υπόθεση της συμμετοχής των δενδριτικών κυττάρων (DCs) και των CD¹⁸⁺ κυττάρων τα οποία είναι ικανά να αιχμαλωτίσουν τα μικρόβια αυτά από το επιθήλιο του εντέρου και να τα μεταφέρουν στους μαστικούς αδένες από όπου εκκρίνεται το μητρικό γάλα. Εφόσον τα μικρόβια αυτά είναι μητρικής προέλευσης και προέρχονται από τους μαστικούς αδένες απουσιάζουν από τα υποκατάστατα γάλατος.

Η συνεχής παροχή των μικροβίων μέσω του μητρικού γάλατος, οδηγεί στο σχηματισμό ενός αρχικού ευμετάβλητου μικροβιώματος το οποίο συμμετέχει στην ωρίμανση του αμυντικού συστήματος. Οποιαδήποτε διαταραχή στη διαδικασία της εγκατάστασης των μικροβίων στον οργανισμό του νεογνού/βρέφους, μπορεί να οδηγήσει σε μόνιμη δυσβίωση και σε αυξημένη νοσηρότητα κατά την παιδική ηλικία. Πράγματι, τα νεογνά που θηλάζουν εμφανίζουν σωστότερα δομημένο και πιο ισορροπημένο μικροβίωμα από τα νεογνά που σιτίζονται με φόρμουλα, καθώς επίσης η ανοσολογική απάντηση των οργανισμών των θηλάζοντων νεογνών ρυθμίζεται από το υγιές μικροβίωμά τους προστατεύοντάς τα από μεταβολικά και αυτοάνοσα νοσήματα. Το ανώριμο ανοσοποιητικό σύστημα του νεογνού είναι «εκ δημιουργίας» πλούσιο σε T λευκοκύτταρα, συγκεκριμένα σε T2 βοηθητικά (Th2), τα οποία παρέχουν χυμική ανοσία με την παραγωγή ιντερλευκινών 4, 6 και 21 και αυξημένη απάντηση B-κυττάρων, συνεπώς είναι πιο ευαίσθητο σε αλλεργικές αντιδράσεις. Το εγκατεστημένο μικροβίωμα του νεογνού διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην κυτταροτοξική ανοσολογική απάντηση

του οργανισμού. Σε έρευνες *in vitro* φάνηκε ότι η έκθεση των DCs σε λιποπολυσακχαρίτες οδηγεί στη διαφοροποίηση των T λευκοκυττάρων, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι το ώριμο μητρικό γάλα συμμετέχει στην ωρίμανση των Th1 κυττάρων και στην αποτελεσματικότητά τους έναντι των λοιμώξεων, ιδιαίτερα από τον 7^ο έως τον 12^ο μήνα ζωής. Τέλος, τα θηλάζοντα νεογνά φάνηκε να έχουν μεγαλύτερη προστασία απέναντι σε γαστρεντερικά και αναπνευστικά νοσήματα και περισσότερο επιτυχημένη επιθηλιακή ανοσολογική απάντηση συγκριτικά με τα σιτιζόμενα με φόρμουλα νεογνά. Συγκεκριμένα τα εντερικά βακτήρια προάγουν την ανάπτυξη των B κυττάρων και αυξάνουν την παραγωγή των επιθηλιακών αντισωμάτων IgA, τα οποία είναι τα κύρια αντισώματα και δρουν ως πρώτη γραμμή άμυνας.⁽⁶²⁾ Συνοπτικά, ο ρόλος της εντερικής χλωρίδας στην εκπαίδευση και ενίσχυση του αδύναμου νεογνικού αμυντικού συστήματος είναι αδιαμφισβήτητος, με τα καλύτερα αποτελέσματα να εμφανίζονται από τη σίτιση του νεογνού (ανεξαρτήτου ηλικίας γέννησης) με μητρικό γάλα.

3.4 ΕΠΙΡΡΟΗ ΤΗΣ ΕΙΣΑΓΩΓΗΣ ΣΤΕΡΕΩΝ ΤΡΟΦΩΝ ΣΤΟ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ

Η εισαγωγή στερεών τροφών στο διαιτολόγιο του βρέφους, αποτελεί (ακολουθώντας το θηλασμό) ακόμα ένα ορόσημο για την ωρίμανση και την ανάπτυξη του μικροβιώματος του εντερικού συστήματος. Ενώ ο θηλασμός διατηρεί την κυριαρχία του πληθυσμού των *Bifidobacterium*, με την εισαγωγή στερεών τροφών αυξάνονται είδη όπως τα *Lachnospiraceae* και *Ruminococcaceae* που παρατηρούνται και στους ενήλικες. Έρευνα του 2014 στη Δανία που περιλάμβανε 330 παιδιά μεταξύ 9 και 36 μηνών, ανέδειξε τη μείωση των *Lactobacillaceae*, *Bifidobacteriaceae*, *Enterococcaceae* και *Enterobacteriaceae* κατά τη μείωση του θηλασμού, με την ταυτόχρονη αύξηση των *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae* και *Bacteroidaceae* καθώς στερεές τροφές εισήχθησαν στη διατροφή των βρεφών-παιδιών. Άλλη μια έρευνα με 531 παιδιά γεννημένα σε 5 διαφορετικές χώρες, ανέδειξε ότι η αλλαγή αυτή συμβαίνει με την εισαγωγή των στερεών τροφών στο διαιτολόγιο των παιδιών άσχετα με το είδος τοκετού, τη λήψη ή μη αντιβιοτικών, και το εξωτερικό περιβάλλον.⁽⁶³⁾

Μια μεγάλη μελέτη κοόρτης που διεξήχθη στη Δανία (SKOT), μελέτησε 300 υγιή, τελειόμηνα νεογέννητα για μια περίοδο 3 χρόνων από τους πρώτους 9 έως τους 36 πρώτους μήνες της ζωής τους, με 3 χρονικές περιόδους-σταθμούς: στους 9, 18 και 36

62 Marco Toscano, Roberta De Grandi, Enzo Grossi, and Lorenzo Drago (2017), Role of the Human Breast Milk-Associated Microbiota on the Newborns' Immune System: A Mini Review, *Frontiers in Microbiology* 2017; 8: 2100. doi: 10.3389/fmicb.2017.02100

63 Tien S. Dong and Arpana Gupta (2019), Influence of Early Life, Diet, and the Environment on the Microbiome, *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2019 Jan; 17(2): 231–242. doi: 10.1016/j.cgh.2018.08.067

μήνες. Φάνηκε ότι το μικροβίωμα υπόκειται σε δραματικές αλλαγές κατά τους πρώτους 9-18 μήνες ζωής, με τη διακοπή του θηλασμού να προκαλεί μείωση του πληθυσμού των ειδών που τρέφονται με τους ολιγοσακχαρίτες του μητρικού γάλακτος και τον πολλαπλασιασμό των *Firmicutes* και *Bacteroidetes* με μικρότερους πληθυσμούς από *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, και *Verrucomicrobia*. Αυτό που φαίνεται αρκετά ενδιαφέρον είναι ότι η μεταβολή αυτή στη σύσταση του μικροβιώματος, δεν συμβαίνει μέχρι τη διακοπή του θηλασμού, καθώς τα βρέφη της έρευνας που συνέχισαν να θηλάζουν μέχρι τους 9 μήνες ζωής συνέχιζαν να έχουν αυξημένο αριθμό *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, και *B. Longum*, ενώ είχαν μικρότερους αριθμούς από *Desulfovibrio spp.* και *Akkermansia muciniphila*, όπως και του φύλου των *Bacteroidetes*. Οι διαφορές αυτές φαίνονται να παραμένουν μέχρι των 18^ο μήνα ζωής, καθώς μετά εξαλείφονται σταδιακά και το ιστορικό του θηλασμού μετά τον 36^ο μήνα, δεν φαίνεται να έχει πλέον επιρροές στη σύσταση του μικροβιώματος. Στη διάρκεια των 18-36 μηνών ζωής, φαίνεται η μεταβολή προς το ενήλικο πρότυπο της εντερικής μικροχλωρίδας, με τα νεότερα δεδομένα να αυξάνουν τις γνώσεις για το πως μεταβάλλεται και αναπτύσσεται το μικροβίωμα κατά τα πρώτα έτη ζωής, πιθανολογώντας για παρεμβάσεις κατά αυτή την περίοδο που θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε μια καλύτερη μακροπρόθεσμη υγεία του ατόμου.⁽⁶⁴⁾

64 Anders Bergström, Thomas Hjort Skov, Martin Iain Bahl et al. (2014), Establishment of Intestinal Microbiota during Early Life: a Longitudinal, Explorative Study of a Large Cohort of Danish Infants, Applied and Environmental Microbiology 2014 May; 80(9): 2889–2900. doi: 10.1128/AEM.00342-14

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η μικροβιακή κοινότητα που υπάρχει στο εσωτερικό και στην επιφάνεια του οργανισμού μας, αποτελεί ένα μοναδικό στοιχείο για το κάθε άτομο και επιτελεί λειτουργίες που το ανθρώπινο σύστημα δεν είναι ικανό να διεκπαιρέώσει από μόνο του. Τα μικρόβια αυτά που συμβιώνουν με τον ανθρώπινο οργανισμό και ευημερούν στο εσωτερικό του, αποκτώνται από τη μητέρα του κάθε ατόμου κατά τη διάρκεια της κύησης αρχικά, με τον τοκετό μετέπειτα και με το θηλασμό και την αλληλεπίδραση με το εξωτερικό περιβάλλον αργότερα.

Η ισορροπία της μικροβιακής κοινότητας του γεννητικού συστήματος της κάθε γυναίκας μεταβάλλεται φυσιολογικά κατά τη διάρκεια της κύησης υπό την επίρεια των ορμονικών αλλαγών που επισυμβαίνουν και από άλλους εξωγενείς παράγοντες που προκαλούν διαταραχές στην ισορροπημένη σχέση μεταξύ των διαφόρων ειδών της κολπικής μικροχλωρίδας. Η δυσβίωση στην κολπική χλωρίδα της μητέρας (ειδικά η παρουσία των ειδών Firmicutes, Proteobacteria, και Bacteriodetes) φάνηκε να προδιαθέτει σε πρόωρο τοκετό, συντομεύοντας τη διάρκεια της κύησης και αυξάνοντας τις επιπτώσεις στην υγεία του νεογνού και στο μικροβιώμά του. Οποιαδήποτε τέτοια διαταραχή δύναται να συμβάλλει στην έναρξη ενός πρόωρου τοκετού, καθώς το γεννητικό κανάλι αποτελεί τοποθεσία ύπαρξης και ανάπτυξης πολλών ειδών που είναι ικανά να προκαλέσουν ανιούσες λοιμώξεις και χοριοαμνιονίτιδα.

Το πέρασμα του απόγονου από το γεννητικό κανάλι της μητέρας, παλιότερα θεωρούταν ότι αποτελούσε το «μικροβιακό βάπτισμα» του νεογνού, ενώ νεότερα δεδομένα αποκαλύπτουν την ενδομήτρια ύπαρξη μικροβίων στις διάφορες δομές του περιεχόμενου της μήτρας κατά την κύηση (ομφαλίδα, πλακούντας, αμνιακό υγρό), γεγονός που επιβεβαιώθηκε τα τελευταία χρόνια, παρότι ο σκοπός της παρουσίας τους στην κοιλότητα της μήτρας παραμένει άγνωστος. Συνεπώς, το είδος τοκετού είναι λιγότερο καθοριστικό για τον μικροβιακό αποικισμό αλλά εξακολουθεί να κατέχει εξέχουσα θέση στη μεταφορά και στο ποιόν του μικροβιώματος.

Επιπλέον άλλοι παράγοντες όπως η λήψη αντιβιοτικής αγωγής από τη μητέρα (πριν και κατά τον τοκετό) ή το νεογνό και ο παρατεταμένος χρόνος νοσηλείας του νεογνού στο νοσοκομειακό περιβάλλον, παρεμποδίζουν και καθυστερούν την εγκατάσταση του μικροβιώματος προδιαθέτοντας το νεογνό σε λοιμώξεις και σε ανάπτυξη αυτοάνοσων φλεγμονωδών νοσημάτων στη μετέπειτα ζωή του. Ο τρόπος σίτισης του νεογνού έχει καθοριστικό ρόλο για τη συνολική υγεία του καθώς αποδείχθηκε πλέον η ύπαρξη διαφορών μεταξύ νεογνών που σιτίζονται με φόρμουλα και νεογνών που θηλάζουν. Η σίτιση του νεογνού/βρέφους με μητρικό γάλα το οποίο είναι πλούσιο σε θρεπτικά συστατικά και ολιγοσακχαρίτες οι οποίοι δρουν σαν προβιοτικά αποτελώντας, εκτός από

ιδανική τροφή για το νεογνό, ένα μέσο συντήρησης και εγκατάστασης των μικροβίων στο γαστρεντερικό σύστημά του υπογραμμίζοντας με τον τρόπο αυτό ακόμα ένα μεγάλο πλεονέκτημα του μητρικού θηλασμού στο νεογνό/βρέφος.

Τέλος, η παραμονή του νεογνού σε Μονάδα Εντατικής Νοσηλείας και η ταυτόχρονη απουσία σωματικής επαφής επηρεάζουν αρνητικά την εγκατάσταση του μικροβιώματος και προδιαθέτουν σε μια δυσβιωτική σχέση μεταξύ του μικροβιακού οικοσυστήματος. Έτσι συμπεραίνεται ότι η μεταφορά και η εγκατάσταση του μικροβιώματος και της μικροβιακής κοινότητας, αποτελεί μια συνεχή και πολυπαραγοντική διαδικασία, η οποία πιθανώς ξεκινάει από την ενδομήτρια ζωή για το έμβρυο και συνεχίζεται αδιάκοπα ως και το τέλος του δεύτερου έτους ζωής του βρέφους, κατέχοντας καθοριστικό ρόλο για τη γενικότερη και μακροπρόθεσμη υγεία του ατόμου. Με την ανακάλυψη και τη μελέτη των διαφόρων παραγόντων που επιδρούν στη διαδικασία αυτή, δίνεται η ευκαιρία πρόληψης και αποφυγής λαθών και άσκοπων ενεργειών που μπορούν να αποτρέψουν τον απόγονο από την επίτευξη του μέγιστου δυνατού επιπέδου ευεξίας, αλλά και ενθάρρυνσης πρακτικών και τεχνικών που ωφελούν τη διαδικασία αυτή.

Περισσότερη έρευνα και δεδομένα απαιτούνται, ώστε να αποσαφηνιστούν πλήρως τα αίτια εμφάνισης δυσβίωσης στο γυναικείο γεννητικό σύστημα κατά την κύηση αλλά και στη θέσπιση περισσότερο αξιόπιστων και έγκυρων μεθόδων διάγνωσης των βακτηριακών κολίτιδων (BV). Επιπλέον, είναι χρήσιμο να μελετηθούν παραπάνω μέθοδοι αποκατάστασης και εμπλουτισμού του μικροβιώματος των νεογνών που γεννήθηκαν με ΚΤ ώστε να φέρουν ένα πιο ολοκληρωμένο και ωφέλιμο μικροβίωμα. Τέλος, το πεδίο της σίτισης με υποκατάστατα μητρικού γάλατος ή συμπληρωματικής χορήγησής τους να ενδυναμωθεί με νέες φόρμουλες οι οποίες θα περιέχουν συστατικά που υποστηρίζουν περισσότερο την ανάπτυξη ωφέλιμων ειδών στο νεογνικό/βρεφικό γαστρεντερικό σύστημα.

Για να επιτευχθούν τα μέγιστα δυνατά αποτελέσματα για τις γυναίκες και τα νεογνά/βρέφη τους σε όλες τις περιγεννητικές περιόδους, είναι απαραίτητη η ενημέρωση των επαγγελματιών υγείας σχετικά με τα επιπλέον οφέλη που προσφέρει η μείωση των παρεμβάσεων κατά τον τοκετό, η υποστήριξη και η επιμονή για φυσιολογικό τοκετό και η αποφυγή των αναίτιων καισαρικών τομών, με ταυτόχρονη ενθάρρυνση για θηλασμό και συνεχή σωματική επαφή των γονέων με τα νεογνά/βρέφη. Οι επαγγελματίες υγείας οφείλουν να αναβαθμίσουν τις συμβουλευτικές τους δεξιότητες, βασισμένοι στα νεότερα επιστημονικά δεδομένα, ενημερώνοντας τις γυναίκες για τα οφέλη που προσφέρουν ο φυσιολογικός τοκετός, η σωματική επαφή με το νεογνό/βρέφος, ο θηλασμός και ο τοκετός στο σπίτι, ώστε οι ίδιες να επιλέξουν και να υποστηρίξουν συνειδητά τους δρόμους αυτούς γνωρίζοντας το κέρδος που θα αποκομίσουν οι ίδιες και τα νεογνά/βρέφη τους.

ΕΠΙΛΟΓΟΣ

Από την παρούσα εργασία διαφαίνεται ότι τα τελευταία χρόνια, έχει διεξαχθεί ένας μεγάλος αριθμός ερευνών για το ανθρώπινο μικροβίωμα και το συμβολή του στην υγεία του ανθρώπινου οργανισμού και τους παράγοντες που το επηρεάζουν.

Είναι πρόδηλη η αναγκαιότητα διεξαγωγής περισσότερων μελετών για τους τρόπους με τους οποίους μπορεί να διαφυλακτεί και να υποστηριχτεί το μικροβίωμα έναντι της καλύτερης υγείας του ανθρώπου κατά την κύηση, τον τοκετό, τη λοχεία και εν γένει τον πρώτο χρόνο ζωής, που όπως φαίνεται κρίνονται ως κρίσιμες περίοδοι.

Η υποστήριξη του φυσιολογικού τοκετού, η μείωση του ποσοστού των καισαρικών τομών, η δερματική επαφή με τη μητέρα, η αύξηση του αποκλειστικού μητρικού θηλασμού και της συμπαραμονής του νεογνού με τη μητέρα του, είναι μερικές από τις στρατηγικές που συντελούν στην υποστήριξη της υγιούς μικροβιοκοινότητας και συμπίπτουν με τις στρατηγικές και τους στόχους του επαγγέλματος της μαίας και του μαιευτή.

Αυτή η νεότερη γνώση είναι απαραίτητο να διαχυθεί στην κοινότητα μέσω της αγωγής υγείας προκειμένου να επικοινωνηθεί προς όφελος των γυναικών και των συντρόφων τους και να προωθηθεί η ενημερωμένη επιλογή που είναι σημαντική κατά την περίοδο της αναπαραγωγικής διαδικασίας.

Περαιτέρω στρατηγικές βρίσκονται σε ερευνητικό ακόμη επίπεδο και κρίνεται σημαντική η συνεχής αναθεώρηση των υφιστάμενων πρωτοκόλλων στην περιγεννητική φροντίδα υγείας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Ursell LK, Metcalf JL, Parfrey LW, Knight R. (2012), Defining the Human Microbiome, *Nutr Rev.* 2012 Aug; 70(Suppl 1): S38–S44. doi: 10.1111/j.1753-4887.2012.00493.x. retrieved February 2019 from PubMed Central Database
2. Α-Φ.Α. Μεντής, Φ. Γύπας (2013), Ανθρώπινο μικροβίωμα του εντέρου ο ρόλος του στην υγεία και στη νόσο. *Αρχεία ελληνικής ιατρικής* 2013, 30(3): 272-288
3. Ann M O'Hara, Fergus Shanahan (2006), The gut flora as a forgotten organ, *European Molecular Biology Organization reports* 2006 Jul; 7(7): 688–693. doi:10.1038/sj.embor.7400731. retrieved February 2019 from PubMed Central Database
4. Distrutti E, Monaldi L, Ricci P, Fiorucci S. (2016), Gut microbiota role in irritable bowel syndrome: New therapeutic strategies, *World Journal of Gastroenterology* 2016 Feb 21; 22(7): 2219–2241. doi: 10.3748/wjg.v22.i7.2219. retrieved February 2019 from PubMed Central Database
5. Pannaraj PS, Li F, Cerini C, Bender JM, Yang S, Rollie A, Adisetiyo H, Zabih S, Lincez PJ, Bittinger K, Bailey A, Bushman FD, Sleasman JW, Aldrovandi GM. (2017), Association Between Breast Milk Bacterial Communities and Establishment and Development of the Infant Gut Microbiome, *JAMA Pediatrics* 2017 Jul; 171(7): 647–654. doi: 10.1001/jamapediatrics.2017.0378. retrieved February 2019 from PubMed Central Database
6. R Wall, R.P Ross, C.A Ryan, S Hussey, B Murphy, G.F Fitzgerald, and C Stanton (2009), Role of Gut Microbiota in Early Infant Development, *Clinical Medicine Pediatrics* 2009; 3: 45–54. Published online 2009 Mar 4. Retrieved February 2019 from PubMed Central Database
7. Mueller NT, Bakacs E, Combellick J, Grigoryan Z, Dominguez-Bello MG (2014), The infant microbiome development: mom matters, *Trends in molecular medicine* 2015 Feb; 21(2): 109–117. doi: 10.1016/j.molmed.2014.12.002.
8. Iara Moreno Linhares, Paulo Cesar Giraldo, Edmund Chada Baracat (2010), New findings about vaginal bacterial flora, *Review Article, Rev Assoc Med Bras* 2010; 56(3): 370-4.
9. Raquel M. Martineza et al. (2014), Molecular Analysis and Clinical Significance of *Lactobacillus* spp. Recovered from Clinical Specimens Presumptively Associated with Disease, *Journal of Clinical Microbiology*, 2014 Jan; 52(1): 30–36. doi: 10.1128/JCM.02072-13.
10. David H. Martin (2012), The Microbiota of the Vagina and Its Influence on Women's Health and Disease, *the American Journal of the Medical Sciences*, January 2012, Volume 343, Issue 1, Pages 2–9. doi: 10.1097/MAJ.0b013e31823ea228.
11. Elizabeth Stepp Gilbert (2016), “Κύηση και τοκετός υψηλού κινδύνου”, Αθήνα: ΛΑΓΟΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ

12. Subramaniam A, Lees BF, Becker DA, Tang Y, Khan MJ, Edwards RK. (2016), Evaluation of Human Papillomavirus as a Risk Factor for Preterm Birth or Pregnancy-Related Hypertension, Abstract, *Obstet Gynecol.* 2016 Feb;127(2):233-40. doi: 10.1097/AOG.0000000000001247. retrieved February 2019 from PubMed Central Database
13. Coralia Bleotu, Socolov Demetra, Ruxandra Stănculescu, Razvan Socolov, Mariana Anton, Gabriela Anton (2017), Methods of investigation of human microbiome in obstetrics and gynecology, *Romanian Biotechnological Letters*, Volume 24, Number 2, March-April 2019, pages 344-353. doi: 10.25083/rbl/24.2/344.353
14. Vicky Jaspers, Janneke van de Wijgert, Piet Cools, Rita Verhelst, Hans Verstraelen, Sinead Delany-Moretlwe, Mary Mwaura, Gilles F Ndayisaba, Kishor Mandaliya, Joris Menten, Liselotte Hardy, Tania Crucitti and for the Vaginal Biomarkers Study Group (2015), The significance of *Lactobacillus crispatus* and *L. vaginalis* for vaginal health and the negative effect of recent sex: a cross-sectional descriptive study across groups of African women, *BMC Infectious Diseases*, March 2015 15:115. doi: 10.1186/s12879-015-0825-z
15. Higgins RD, Saade G, Polin RA, Grobman WA, Buhimschi IA, Watterberg K, Silver RM, Raju TN; Chorioamnionitis Workshop Participants. (2016), Evaluation and Management of Women and Newborns With a Maternal Diagnosis of Chorioamnionitis: Summary of a Workshop, *Obstetrics & Gynecology*: March 2016 Volume 127 Issue 3, p 426–436. doi: 10.1097/AOG.0000000000001246
16. The American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG), ACOG (2017) Intrapartum Management of Intraamniotic Infection, ανοίχθηκε τον Μάρτιο του 2019 από την ηλεκτρονική διεύθυνση <https://www.acog.org/Clinical-Guidance-and-Publications/Committee-Opinions/Committee-on-Obstetric-Practice/Intrapartum-Management-of-Intraamniotic-Infection>
17. Meekai To, Michael Kidd, Darryl Maxwell (2011), Prenatal diagnosis and management of fetal infections, *The Obstetrician & Gynaecologist*, First published: 26 January 2011. Ανοίχθηκε από την ηλεκτρονική διεύθυνση <https://doi.org/10.1576/toag.11.2.108.27484>
18. Robert L. Goldenberg, M.D., John C. Hauth, M.D., William W. Andrews, Ph.D., M.D (2000), Intrauterine Infection and Preterm Delivery, *N Engl J Med* 2000; 342:1500-1507. doi: 10.1056/NEJM200005183422007
19. Mark A Underwood, William M Gilbert, Michael P Sherman (2005), Amniotic Fluid: Not Just Fetal Urine Anymore, *Journal of Perinatology*, March 2005 volume 25, pages 341–348. doi: 10.1038/sj.jp.7211290
20. Daniel B. DiGiulio, Roberto Romero, Harold P. Amogan, Juan Pedro Kusanovic, Elisabeth M. Bik, Francesca Gotsch, Chong Jai Kim, Offer Erez, Sam Edwin, David A. Relman (2008), Microbial Prevalence, Diversity and Abundance in Amniotic Fluid During Preterm Labor: A Molecular and Culture-Based Investigation, Research Article, *PLoS One*, Published: August 26, 2008. Ανοίχθηκε από την ηλεκτρονική διεύθυνση <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003056>

21. Alan T. N. Tita and William W. Andrews (2010), Diagnosis and Management of Clinical Chorioamnionitis, *Clin Perinatol.* 2010 Jun; 37(2): 339–354. doi: 10.1016/j.clp.2010.02.003. retrieved March 2019 from PubMed Central Database
22. Leitich H, Bodner-Adler B, Brunbauer M, Kaider A, Egarter C, Husslein P. (2003), Bacterial vaginosis as a risk factor for preterm delivery: a meta-analysis, Abstract, *Am J Obstet Gynecol.* 2003 Jul;189(1):139-47.
23. David H. Martin, MD, Marcela Zozaya, PhD, Rebecca Lillis, MD, Julia Miller, MSN, and Michael J. Ferris, PhD (2012), The Microbiota of the Human Genitourinary Tract: Trying to See the Forest Through the Trees, *Trans Am Clin Climatol Assoc.* 2012; 123: 242–256. Retrieved March 2019 from PubMed Central Database: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3540603/>
24. Ronald F. Lamont, Chia-Ling Nhan-Chang, Jack D. Sobel, Kimberly Workowski, Agustin Conde-Agudelo, and Roberto Romero (2011), Treatment of abnormal vaginal flora in early pregnancy with clindamycin for the prevention of spontaneous preterm birth: a systematic review and metaanalysis, *Am J Obstet Gynecol.* 2011 Sep; 205(3): 177–190. doi: 10.1016/j.ajog.2011.03.047.
25. Benn CS, Thorsen P, Jensen JS, Kjaer BB, Bisgaard H, Andersen M, Rostgaard K, Björkstén B, Melbye M. (2002), Maternal vaginal microflora during pregnancy and the risk of asthma hospitalization and use of antiasthma medication in early childhood, Abstract, *J Allergy Clin Immunol.* 2002 Jul;110(1):72-7.
26. Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. (2014), The placenta harbors a unique Microbiome, Abstract, *Sci Transl Med.* 2014 May 21;6(237):237ra65. doi: 10.1126/scitranslmed.3008599.
27. Maria Carmen Collado, Samuli Rautava, Juhani Aakko, Erika Isolauri & Seppo Salminen (2016), Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid, *Scientific Reports* volume 6, Article number: 23129 (2016), Published 22 March 2016.
28. Sharon B. Meropol, Amy Edwards (2015), Development of the Infant Intestinal Microbiome: A Bird’s Eye View of a Complex Process, *Birth Defects Res C Embryo Today.* 2015 Dec; 105(4): 228–239. doi: 10.1002/bdrc.21114. Retrieved March 2019 from Wiley Online Library.
29. Jianzhong Hu , Yoko Nomura, Ali Bashir, Heriberto Fernandez-Hernandez, Steven Itzkowitz, Zhiheng Pei, Joanne Stone, Holly Loudon, Inga Peter (2013), Diversified Microbiota of Meconium Is Affected by Maternal Diabetes Status, *PLoS One*, Published: November 6, 2013, Αναίχθηκε από την ηλεκτρονική διεύθυνση <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078257>
30. Kjersti Aagaard, Kevin Riehle, Jun Ma, Nicola Segata, Toni-Ann Mistretta, Cristian Coarfa, Sabeen Raza, Sean Rosenbaum, Ignatia Van den Veyver, Aleksandar Milosavljevic, Dirk Gevers, Curtis Huttenhower, Joseph Petrosino, and James Versalovic (2012), A Metagenomic

- Approach to Characterization of the Vaginal Microbiome Signature in Pregnancy, PLoS One. 2012; 7(6): e36466. doi: 10.1371/journal.pone.0036466.
31. David J. Gallacher, Sailesh Kotecha (2016), Respiratory Microbiome of New-Born Infants, *Front Pediatr.* 2016; 4: 10. doi: 10.3389/fped.2016.00010.
 32. R Murgas Torrazza & J Neu (2011), The developing intestinal microbiome and its relationship to health and disease in the neonate, *Journal of Perinatology* volume 31, pages S29–S34. Published: 30 March 2011, Ανοίχθηκε από την ηλεκτρονική διεύθυνση <https://www.nature.com/articles/jp2010172#t1>
 33. Maria G. Dominguez-Bello, Elizabeth K. Costello, Monica Contreras, Magda Magris, Glida Hidalgo, Noah Fierer, and Rob Knight (2010), Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010 Jun 29; 107(26): 11971–11975. doi: 10.1073/pnas.1002601107.
 34. Grönlund MM, Lehtonen OP, Eerola E, Kero P. (1999), Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery, Abstract, *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1999 Jan;28(1):19-25.
 35. Lisa F. Stinson, Matthew S. Payne, and Jeffrey A. Keelan (2018), A Critical Review of the Bacterial Baptism Hypothesis and the Impact of Cesarean Delivery on the Infant Microbiome, *Front Med (Lausanne).* 2018; 5: 135. doi: 10.3389/fmed.2018.00135.
 36. Marie-Claire Arrieta, Leah T. Stiemsma, Nelly Amenyo, Eric M. Brown and Brett Finlay (2014), The intestinal microbiome in early life: health and disease, *Front. Immunol.*, 05 September 2014, Ανοίχθηκε από την ηλεκτρονική διεύθυνση <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00427>
 37. Noel T. Mueller, Hakdong Shin, Aline Pizoni, Isabel C. Werlang, Ursula Matte, Marcelo Z. Goldani, Helena A. S. Goldani, and Maria G. Dominguez-Bello (2017), Delivery Mode and the Transition of Pioneering Gut-Microbiota Structure, Composition and Predicted Metabolic Function, *Genes (Basel).* 2017 Dec; 8(12): 364. doi: 10.3390/genes8120364.
 38. Jakobsson HE, Abrahamsson TR, Jenmalm MC, Harris K, Quince C, Jernberg C, Björkstén B, Engstrand L, Andersson AF. (2013), Decreased gut microbiota diversity, delayed Bacteroidetes colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by caesarean section, Abstract, *Gut. British Society of Gastroenterology* 2014 Apr;63(4):559-66. doi: 10.1136/gutjnl-2012-303249. Epub 2013 Aug 7.
 39. Neu J. (2017), Dysbiosis in the Neonatal Period: Role of Cesarean Section, Abstract, *Nestle Nutr Inst Workshop Ser.* 2017;88:57-66. doi: 10.1159/000455215. Epub 2017 Mar 27.
 40. The American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG), ACOG (2017), ACOG Committee Opinion, Vaginal Seeding, Ανοίχθηκε τον Απρίλιο του 2019 από την ηλεκτρονική διεύθυνση <https://www.acog.org/Clinical-Guidance-and-Publications/Committee-Opinions/Committee-on-Obstetric-Practice/Vaginal-Seeding>

41. Pearl D. Houghteling, W. Allan Walker (2015), Why is initial bacterial colonization of the intestine important to the infant's and child's health?, *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2015 Mar; 60(3): 294–307. doi: 10.1097/MPG.0000000000000597
42. Joan L. Combellick, Hakdong Shin, Dongjae Shin, Yi Cai, Holly Hagan, Corey Lacher, Din L. Lin, Kathryn McCauley, Susan V. Lynch, and Maria Gloria Dominguez-Bello (2018), Differences in the fecal microbiota of neonates born at home or in the hospital, *Scientific Reports* 2018; 8: 15660. doi: 10.1038/s41598-018-33995-7.
43. LOWDERMILK, PERRY, CASHION (2013), Νοσηλευτική μητρότητας, 8^η έκδοση, Ιατρικές εκδόσεις ΛΑΓΟΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ
44. Sadaki Asakuma, Emi Hatakeyama, Tadasu Urashima, Erina Yoshida, Takane Katayama, Kenji Yamamoto, Hidehiko Kumagai, Hisashi Ashida, Junko Hirose, and Motomitsu Kitaoka (2011), Physiology of Consumption of Human Milk Oligosaccharides by Infant Gut-associated Bifidobacteria, *J Biol Chem.* 2011 Oct 7; 286(40): 34583–34592. doi: 10.1074/jbc.M111.248138.
45. Olivia Ballard, Ardythe L. Morrow (2013), Human Milk Composition: Nutrients and Bioactive Factors, *Pediatric Clinics of North America*, Volume 60, Issue 1, February 2013, Pages 49-74, Ανοίχθηκε τον Απρίλιο του 2019 από PubMed Central Database
46. Nicholas J. Andreas, Beate Kampmann, Kirsty Le Doare (2015), Human breast milk: A review on its composition and bioactivity, *Early human development* 91(11) September 2015. DOI: 10.1016/j.earlhumdev.2015.08.013
47. Pia S. Pannaraj, MD, MPH, Fan Li, PhD, Chiara Cerini, MD, Jeffrey M. Bender, MD, Shangxin Yang, PhD, Adrienne Rollie, MS, Helty Adisetiyo, PhD, Sara Zabih, MS, Pamela J. Lincez, PhD, Kyle Bittinger, PhD, Aubrey Bailey, MS, Frederic D. Bushman, PhD, John W. Sleasman, MD, and Grace M. Aldrovandi, MD (2017), Association Between Breast Milk Bacterial Communities and Establishment and Development of the Infant Gut Microbiome, *JAMA Pediatr.* 2017 Jul; 171(7): 647–654. doi: 10.1001/jamapediatrics.2017.0378.
48. Camilla Urbaniak, Jeremy Paul Burton, Gregor Reid (2012), Breast, milk and microbes: A complex relationship that does not end with lactation, *Women's Health*, SAGE Journals, 2012 Jul;8(4):385-98. doi: 10.2217/whe.12.23. Ανοίχθηκε τον Απρίλιο 2019 από PubMed Central Database
49. Lars Bode (2012), Human milk oligosaccharides: Every baby needs a sugar mama, *Glycobiology*, Volume 22, Issue 9, September 2012 Pages 1147–1162, <https://doi.org/10.1093/glycob/cws074>
50. Vassilis Triantis, Lars Bode and R. J. Joost van Neerven (2018), Immunological Effects of Human Milk Oligosaccharides, *Frontiers in Pediatrics*, 02 July 2018 Ανοίχθηκε Μάρτιο του 2019 από την ηλεκτρονική διεύθυνση <https://doi.org/10.3389/fped.2018.00190>
51. Rosa Maria Espinosa, Martha Tamez and Pedro Prieto (2007), Efforts to emulate human milk oligosaccharides, *British Journal of Nutrition* (2007), 98, Suppl. 1, S74–S79

52. Yvan Vandenplas, Irina Zakharova, Yulia Dmitrieva (2015), Oligosaccharides in infant formula: more evidence to validate the role of prebiotics, *British Journal of Nutrition*, Volume 113, Issue 9, May 2015. <https://doi.org/10.1017/S0007114515000823>.
53. Mark A. Underwood (2013), Human milk for the premature infant, *Pediatr Clin North Am.* 2013 Feb; 60(1): 189–207. Published online 2012 Oct 18. doi: 10.1016/j.pcl.2012.09.008. Ανοίχθηκε τον Απρίλιο 2019 από PubMed Central Database
54. Z. Hossain, W. Diehl-Jones, D. MacKay, A. Chiu , and J.K. Friel, Human milk fortifiers and the premature infant, *Handbook of dietary and nutritional aspects of bottle feeding*, Chapter: 18, Pages: 285 – 304. Published Wageningen Academic, 2014
55. Brandon Brooks, Matthew R. Olm, Brian A. Firek, Robyn Baker, David Geller-McGrath, Sophia R. Reimer, Karina R. Soenjoyo, Jennifer S. Yip, Dylan Dahan, Brian C. Thomas, Michael J. Morowitz and Jillian F. Banfield (2018), The developing premature infant gut microbiome is a major factor shaping the microbiome of neonatal intensive care unit rooms, *Microbiome e-journal*, 2018 6:112. Ανοίχθηκε Απρίλιο 2019 από την ηλεκτρονική διεύθυνση <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0493-5>.
56. Richard A. Polin (2012), the COMMITTEE ON FETUS AND NEWBORN, Management of Neonates With Suspected or Proven Early-Onset Bacterial Sepsis, *Pediatrics*, May 2012, 129 (5) 1006-1015; DOI: 10.1542/peds.2012-0541
57. Irene Yang, Elizabeth J. Corwin, Patricia A. Brennan, Sheila Jordan, Jordan R. Murphy, and Anne Dunlop (2016), The Infant Microbiome: Implications for Infant Health and Neurocognitive Development, *Nurs Res.* 2016 Jan-Feb; 65(1): 76–88. doi: 10.1097/NNR.0000000000000133. Ανοίχθηκε Απρίλιο 2019 από PubMed Central Database
58. Katri Korpela, Paul Costea, Luis Pedro Coelho, Stefanie Kandels-Lewis, Gonneke Willemsen, Dorret I. Boomsma, Nicola Segata and Peer Bork (2018), Selective maternal seeding and environment shape the human gut Microbiome, *Genome Research*, *Genome Res.* 2018. 28: 561-568. doi: 10.1101/gr.233940.117.
59. Ferretti P, Pasolli E, Tett A, Asnicar F, Gorfer V, Fedi S, Armanini F, Truong DT, Manara S, Zolfo M, Beghini F, Bertorelli R, De Sanctis V, Bariletti I, Canto R, Clementi R, Cologna M, Crifò T, Cusumano G, Gottardi S, Innamorati C, Masè C, Postai D, Savoi D, Duranti S, Lugli GA, Mancabelli L, Turrone F, Ferrario C, Milani C, Mangifesta M, Anzalone R, Viappiani A, Yassour M, Vlamakis H, Xavier R, Collado CM, Koren O, Tateo S, Soffiati M, Pedrotti A, Ventura M, Huttenhower C, Bork P, Segata N (2018), Mother-to-Infant Microbial Transmission from Different Body Sites Shapes the Developing Infant Gut Microbiome, Abstract, *Cell Host & Microbe* 2018 Jul 11;24(1):133-145.doi: 10.1016/j.chom.2018.06.005.
60. Laure C. Roger, Adele Costabile, Diane T. Holland, Lesley Hoyles, Anne L. McCartney (2010), Examination of faecal Bifidobacterium populations in breast- and formula-fed infants during the first 18 months of life, *Microbiology* 156: 3329-3341, doi: 10.1099/mic.0.043224-0
61. Timmerman HM, Rutten NBMM, Boekhorst J, Saulnier DM, Kortman GAM, Contractor N, Kullen M, Floris E, Harmsen HJM, Vlieger AM, Kleerebezem M, Rijkers GT (2017),

Intestinal colonisation patterns in breastfed and formula-fed infants during the first 12 weeks of life reveal sequential microbiota signatures, Abstract, Scientific Reports 2017 Aug 21;7(1):8327. doi: 10.1038/s41598-017-08268-4.

62. Marco Toscano, Roberta De Grandi, Enzo Grossi, and Lorenzo Drago (2017), Role of the Human Breast Milk-Associated Microbiota on the Newborns' Immune System: A Mini Review, *Frontiers in Microbiology* 2017; 8: 2100. doi: 10.3389/fmicb.2017.02100.
63. Tien S. Dong and Arpana Gupta (2019), Influence of Early Life, Diet, and the Environment on the Microbiome, *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2019 Jan; 17(2): 231–242. doi: 10.1016/j.cgh.2018.08.067.
64. Anders Bergström, Thomas Hjort Skov, Martin Iain Bahl, Henrik Munch Roager, Line Brinch Christensen, Katrine Tschentscher Ejlerskov, Christian Mølgaard, Kim F. Michaelsen, and Tine Rask Licht (2014), Establishment of Intestinal Microbiota during Early Life: a Longitudinal, Explorative Study of a Large Cohort of Danish Infants, *Applied and Environmental Microbiology* 2014 May; 80(9): 2889–2900. doi: 10.1128/AEM.00342-14.