

Пробиотики в акушерской практике: эффективность и безопасность применения

Ю.Э. Доброхотова, Е.И. Боровкова✉

ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия

✉katyanikitina@mail.ru

Аннотация

Микробиота кишечника модулирует иммунное программирование и может предотвращать реализацию аллергического фенотипа. Для формирования нормального микробиоценоза кишечника, кожи и ротовой полости необходима достаточная количественная и качественная бактериальная колонизация новорожденного в течение перехода от «стерильной» внутриутробной среды к микробной колонизации, завершающейся появлением более 10^{14} микроорганизмов. Низкие уровни бифидобактерий и ранняя колонизация потенциально патогенными бактериями ассоциированы с развитием выраженных аллергических реакций. Назначение пробиотиков, содержащих *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG), в концентрации 10^8 – 10^{10} КОЕ с 36 нед беременности и в течение первых 3–4 мес лактации ассоциировано с 21% снижением риска развития у ребенка аллергических реакций.

Ключевые слова: пробиотик, пребиотик, синбиотик, микробиота, аллергические реакции, экзема, беременность, лактация.

Для цитирования: Доброхотова Ю.Э., Боровкова Е.И. Пробиотики в акушерской практике: эффективность и безопасность применения. Гинекология. 2020; 22 (3): 11–14. DOI: 10.26442/20795696.2020.3.190561

Review

Probiotics in obstetric practice: efficacy and safety

Julia E. Dobrokhotova, Ekaterina I. Borovkova✉

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

✉katyanikitina@mail.ru

Abstract

The intestinal microbiota modulates immune programming and can prevent the realization of an allergic phenotype. For the formation of a normal microbiocenosis of the intestine, skin and oral cavity, a sufficient quantitative and qualitative bacterial colonization of the newborn is necessary during the transition from a «sterile» intrauterine environment to microbial colonization, resulting in the appearance of more than 10^{14} microorganisms. Low levels of bifidobacteria and early colonization of potentially pathogenic bacteria are associated with the development of severe allergic reactions. Prescribing probiotics containing *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) at a concentration of 10^8 – 10^{10} CFU from 36 weeks of gestation and during the first 3–4 months of lactation is associated with a 21% reduction in the risk of allergic reactions in the child.

Key words: probiotic, prebiotic, synbiotic, microbiota, allergic reactions, eczema, pregnancy, lactation.

For citation: Dobrokhotova Ju. E., Borovkova E.I. Probiotics in obstetric practice: efficacy and safety. Gynecology. 2020; 22 (3): 11–14. DOI: 10.26442/20795696.2020.3.190561

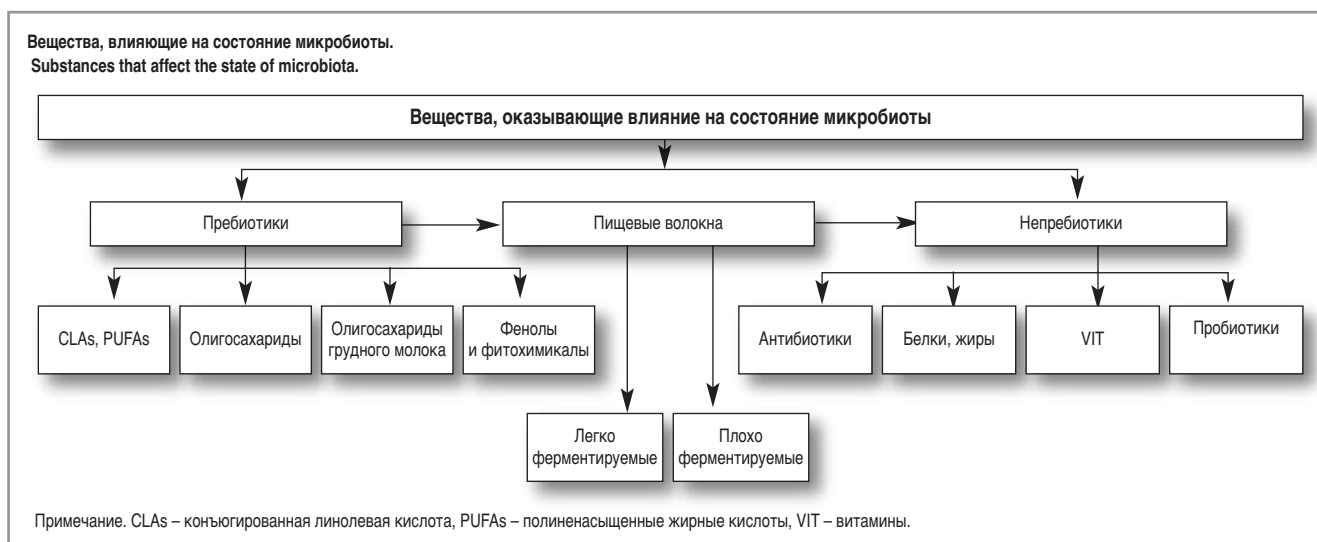
С первой половины XX в. среди жителей развитых стран многократно увеличилась распространенность аллергического ринита, бронхиальной астмы, экземы и пищевой аллергии. Одной из теорий, объясняющей данный факт, является экологическая. Однако до конца не определены конкретные изменения окружающей среды, которые стали движущей силой эпидемии аллергии. Согласно гигиенической теории в основе развития аллергии лежит снижение общего микробного обсеменения в раннем детстве с соответствующими изменениями комменсальной микробиоты кишечника [1]. Появляется все больше доказательств того, что нарушение микробного состава играет первостепенную роль в патофизиологии иммуноопосредованных состояний, таких как аллергические заболевания. Именно кишечная микробиота является ключевым фактором формирования местного иммунитета и системного иммунного ответа, а эпидемиологические связи между нарушением микробиоценоза и развитием аллергических заболеваний подтверждены экспериментально на животных [2, 3].

Микробиота кишечника участвует в обеспечении специфических иммунных защитных реакций, которые опосредуются через лимфоидную ткань кишечника (GALT), являющуюся самым большим иммунным «органом» человека. Эти эффекты включают изменение локальной продукции иммуноглобулина А, индукцию дендритных клеток и регуляторных популяций Т-клеток с продукцией иммуномодулирующих цитокинов (интерлейкин-10, трансформирующей фактор роста β) [4]. Эти механизмы в совокупности подавляют местное воспаление, улучшают механизмы кишечного барьера и снижают риск возникновения неадекватных системных иммунных реакций.

В течение первых месяцев жизни происходит переход от «стерильной» внутриутробной среды к микробной колонизации, завершающейся появлением более чем 10^{14} микроорганизмов, численность которых в 10 раз превышает общее количество клеток человеческого организма. В тот же период функционально незрелая иммунная система новорожденных должна сформировать баланс между защитой и иммунной толерантностью. Принципиально важным является ранняя колонизация индигенными микроорганизмами, позволяющая создать иммунологическую толерантность не только в кишечнике, но и в полости рта и на коже [5]. Исследования показали, что низкие уровни бифидобактерий и ранняя колонизация потенциально патогенными бактериями, такими как *Clostridioides difficile* и *Staphylococcus aureus*, ассоциированы с развитием выраженных аллергических реакций [5, 6].

В крупных проспективных исследованиях доказано, что влагалищные или абдоминальные роды не оказывают принципиального влияния на состояние микробиоты кишечника новорожденного и риски развития аллергических реакций, так как наиболее активно колонизация происходит в течение первых недель внеутробной жизни ребенка [7, 8]. Таким образом, важным является сформировать или поддержать нормальные показатели кишечной микробиоты беременной и кормящей женщины в интересах здоровья ее ребенка.

В случае преждевременных родов дополнительное применение пробиотиков у новорожденных также имеет свои benefits. В метаанализе двух исследований (329 пациентов) показано, что назначение пробиотиков приводит к снижению частоты грибковой колонизации кишечника у недоношенных детей (12% против 31%; относительный риск – ОР



0,43, 95% доверительный интервал – ДИ 0,27–0,68) [9]. По результатам двух крупнейших исследований PiPS (использовался пробиотик *Bifidobacterium breve* BBG-001) и ProPrams (использовался пробиотик *Bifidobacterium infantis*, *Streptococcus thermophilus* и *Bifidobacterium lactis*), посвященных эффективности и безопасности применения пробиотиков у недоношенных детей от 23 до 30 нед гестации, выявлено отсутствие влияния пробиотиков на частоту развития сепсиса и некротизирующего энтероколита [10, 11]. Однако при метаанализе от 2016 г., состоящем из 37 исследований (включая PiPS и ProPrams), выявлено статистически значимое снижение риска развития сепсиса у новорожденных при использовании пробиотиков в сравнении с плацебо (13,9% против 16,3%; ОР 0,86, 95% ДИ 0,78–0,94) [12]. Отдельный метаанализ показал также, что применение пробиотиков несколько снижает младенческую смертность (4,9% против 6,8%; ОР 0,72, 95% ДИ 0,57–0,92), причем этот эффект наиболее выражен у новорожденных, находящихся исключительно на грудном вскармливании [13].

Гигиеническая гипотеза является концептуальной основой для применения пробиотиков во время беременности и после родов для предотвращения аллергических заболеваний у детей. Потребление пробиотических добавок становится все более популярным в мире. Число исследований по их применению во время беременности ограничено, но достаточно для суждения об отсутствии риска неблагоприятных последствий для матери и плода [14]. Кроме того, выявлены полезные эффекты, такие как снижение риска воспалительных заболеваний, преэклампсии и улучшение метаболизма глюкозы (снижение риска чрезмерной прибавки массы тела и развития гестационного сахарного диабета) [15].

Что же такое пробиотик и есть ли различия между про- и пребиотиками? Термины «пребиотики», «пробиотики» и

«синбиотики» не являются синонимами. «Пребиотики» относятся к субстрату, который избирательно используется индигенными микроорганизмами хозяина [16]. Они состоят из неперевариваемых углеводов, но могут также включать жирные кислоты, фенольные и фитохимические вещества (см. рисунок) [16].

Наиболее распространенными пребиотиками являются ферментируемые олигосахариды инулин, фруктоолигосахариды (FOS или фруктаны), галактоолигосахариды (GOS) и лактулоза (см. таблицу) [16].

«Пробиотики» – общий термин (по аналогии с термином «антибиотики»), используемый для различных штаммов и видов микроорганизмов, обладающих различным диапазоном клинических и иммунологических возможностей. Продовольственная и сельскохозяйственная организация (Food and Agriculture Organization) ООН и Всемирная организация здравоохранения определили пробиотики как «живые микроорганизмы, которые при введении в адекватных количествах приносят пользу здоровью» [17]. Наиболее часто используемыми пробиотиками являются штаммы лактобацилл и бифидобактерий [18]. Термин «синбиотики» обозначает комбинацию пре- и пробиотиков.

Пребиотические углеводы являются основным субстратом для роста бактерий, избирательно стимулируя рост и/или активность представителей микробиоты кишечника, особенно бифидобактерий [19]. Кишечные микроорганизмы ферментируют пребиотики с образованием короткоцепочечных жирных кислот (SCFA), которые оказывают прямое противовоспалительное действие, способствуют целостности кишечника посредством воздействия на пролиферацию и дифференцировку эпителиальных клеток [20].

Характеристики и источники общих FODMAP Characteristics and sources of common FODMAPs			
	Слово, которое соответствует букве в акрониме	Соединение	Продукты, которые содержат эти соединения
F	Вызывающие брожение		
O	Олигосахариды	Фруктаны, галактоолигосахариды	Пшеница, ячмень, рожь, лук, лук-порей, белая часть зеленого лука, чеснок, лук-шалот, артишоки, свекла, укроп, горох, цикорий, фисташки, кешью, бобовые, чечевица и нут
D	Дисахариды	Лактоза	Молоко, заварной крем, мороженое и йогурт
M	Моносахариды	«Свободная фруктоза» (фруктоза с избытком глюкозы)	Яблоки, груши, манго, вишня, арбуз, спаржа, сахарный горох, мед, кукурузный сироп с высоким содержанием фруктозы
A	И		
P	Полиолы	Сорбит, маннит, мальтит и ксилит	Яблоки, груши, абрикосы, вишня, нектарины, персики, сливы, арбуз, грибы, цветная капуста, искусственно подслащенная жевательная резинка и кондитерские изделия

Пробиотики улучшают кишечную микробную композицию, модулируют иммунную систему организма, способствуют снижению выраженности местного воспаления, стабилизируют целостность кишечного барьера и потенциально снижают системную антигенную нагрузку [21]. Некоторые штаммы лактобацилл и бифидобактерий могут влиять на иммунную функцию посредством воздействия на энтероциты, антигенпрезентирующие клетки (циркулирующие моноциты, локальные дендритные клетки), регуляторные Т-клетки, эффекторные Т- и В-клетки [4]. Безопасность пробиотиков во время беременности доказана в метаанализе, по данным которого не выявлено влияния данных препаратов на частоту оперативного родоразрешения, гестационный срок родов и массу новорожденного [22].

Всемирная организация аллергии предлагает использовать пробиотики у детей, которые не находятся на грудном вскармливании, и пробиотики у беременных и кормящих женщин, а также у детей грудного возраста, когда существует высокий риск развития аллергии [23].

При этом отмечается положительное влияние штаммов *L. rhamnosus GR-1* и *L. reuteri RC-14* при применении у беременных на разных сроках гестации. Так, в плацебо-контролируемое исследование были включены 110 женщин на 35–37-й неделе беременности с положительным результатом на вагинальную и ректальную колонизацию стрептококками группы В. Женщины 1-й группы получали комбинацию штаммов *L. rhamnosus GR-1* и *L. reuteri RC-14* по 2 капсулы перорально перед сном вплоть до родоразрешения, а 2-й – плацебо по той же схеме. За оцениваемый период результаты колонизации изменились с положительными на отрицательные у 43% женщин в группе, применявших пробиотик, против 18% принимавших плацебо (χ^2 ; $p=0,007$) [24].

В отечественном сравнительном исследовании также принимали участие 140 беременных женщин в III триместре беременности (36–39 нед гестации) с установленным диагнозом «бактериальный вагиноз» (1-я группа, $n=60$) и обострением инфекционных экстрагенитальных заболеваний (2-я группа, $n=80$), которые получали антибактериальную терапию. За 10–14 дней до родоразрешения 100 пациенток получали перорально комбинацию штаммов *L. rhamnosus GR-1* и *L. reuteri RC-14*: 60 (1-я группа) – для лечения бактериального вагиноза, 40 (2-я группа) – для профилактики дисбиоза влагалища на фоне системной антибиотикотерапии. Остальные пациентки были включены в группу контроля и пробиотик не получали. Данная комбинация штаммов продемонстрировала способность восстанавливать вагинальную микрофлору, поддерживать и сохранять равновесие микроорганизмов во влагалище, предупреждать нарушения биоценоза, связанные с приемом антибиотиков (кандидозный вульвовагинит). При родоразрешении через естественные родовые пути травматические повреждения тканей родового канала чаще встречались у пациенток, не получавших пробиотик (40%), чем у получавших (10%). У новорожденных от матерей, получавших пробиотик, не было проявлений тяжелых форм инфекционно-воспалительных заболеваний в отличие от группы контроля (21%) [25].

В другом проспективном наблюдательном исследовании принимали участие беременные женщины ($n=30$) с дисбиозом влагалища в I триместре беременности. Пациентки на втором этапе получали комбинацию штаммов *L. rhamnosus GR-1* и *L. reuteri RC-14*. Были показаны восстановление титра *Lactobacillus* spp. ($>10^6$ КОЕ/мл) у 87% из них к 42-му дню после начала лечения и уменьшение степени колонизации влагалища условно-патогенными бактериями вплоть до полной их элиминации при отсутствии побочных эффектов [26].

Эффективность антенатальной терапии пробиотиками

Данные метаанализа подтвердили эффективность антенатального применения пробиотиков с целью профилактики развития экземы у новорожденных [23, 27, 28]. Мета-

анализ, проведенный в 2012 г., включил 13 исследований, на основании которых доказано, что пробиотическое лечение значительно снижает частоту возникновения экземы у детей до 2 лет на 21% (ОР 0,79, 95% ДИ 0,71–0,88) [29–34]. При этом использованы комбинации *B. lactis*, *L. rhamnosus* и *L. acidophilus* с 36 нед беременности и на фоне 3 мес лактации. В ряде исследований получены результаты при назначении других комбинаций пробиотиков: *B. bifidum*, *B. lactis* и *Lactococcus lactis*; *B. bifidum*, *B. lactis* и *L. acidophilus*; LGG, *L. acidophilus* и *B. lactis*; *L. rhamnosus* LPR и *B. longum* или *L. paracasei* и *B. longum* [30–34]. Для достижения желаемых показателей бактериальной колонизации концентрация живых бактерий в пробиотике должна варьироваться от 10^8 до 10^{10} КОЕ [35]. Для получения хорошего эффекта для новорожденного длительность антенатальной терапии должна быть не менее 4–6 нед, а после родов продолжаться от 3 мес до 2 лет [34].

Заключение

- Пробиотики – это живые микроорганизмы, которые приносят пользу организму человека.
- На животных моделях и в исследованиях *in vitro* доказано, что микробиота кишечника модулирует иммунное программирование и может предотвращать реализацию аллергического фенотипа.
- Метаанализы предполагают наличие пользы от до- и послеродового применения пробиотиков для снижения развития экземы у детей в возрасте до 2 лет.
- Единственным пробиотическим штаммом с воспроизводимыми данными является *L. rhamnosus GG* (LGG).
- Международная организация аллергии рекомендует назначать пробиотики во время беременности и кормления грудью на фоне применения антибиотиков, в случае наличия толстокишечного стаза и для снижения риска аллергических реакций у новорожденных. Оптимальным профилактическим курсом является назначение пробиотика с 36 нед беременности и в течение 3–4 мес после родов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests. The authors declare that there is not conflict of interests.

Литература/References

1. Wold AE. The hygiene hypothesis revised: is the rising frequency of allergy due to changes in the intestinal flora? *Allergy* 1998; 53: 20.
2. West CE, Renz H, Jenmalm MC et al. The gut microbiota and inflammatory noncommunicable diseases: associations and potentials for gut microbiota therapies. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 135: 3.
3. Hill DA, Siracusa MC, Abt MC et al. Commensal bacteria-derived signals regulate basophil hematopoiesis and allergic inflammation. *Nat Med* 2012; 18: 538.
4. Prescott SL, Björkstén B. Probiotics for the prevention or treatment of allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120: 255.
5. Björkstén B, Sepp E, Julge K et al. Allergy development and the intestinal microflora during the first year of life. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108: 516.
6. Kalliomäki M, Kirjavainen P, Eerola E et al. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 129.
7. Adlerberth I, Strachan DP, Matricardi PM et al. Gut microbiota and development of atopic eczema in 3 European birth cohorts. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120: 343.
8. Penders J, Thijs C, van den Brandt PA et al. Gut microbiota composition and development of atopic manifestations in infancy: the KOALA Birth Cohort Study. *Gut* 2007; 56: 661.
9. Zbinden A, Zbinden R, Berger C, Arlettaz R. Case series of Bifidobacterium longum bacteremia in three preterm infants on probiotic therapy. *Neonatology* 2015; 107: 56.
10. Jacobs SE, Tobin JM, Opie GF et al. Probiotic effects on late-onset sepsis in very preterm infants: a randomized controlled trial. *Pediatrics* 2013; 132: 1055.

11. Rao SC, Athalye-Jape GK, Deshpande GC et al. Probiotic Supplementation and Late-Onset Sepsis in Preterm Infants: A Meta-analysis. *Pediatrics* 2016; 137: e20153684.
12. Thomas JP, Raine T, Reddy S, Belteki G. Probiotics for the prevention of necrotising enterocolitis in very low-birth-weight infants: a meta-analysis and systematic review. *Acta Paediatr* 2017; 106: 1729.
13. Esaiassen E, Cavanagh P, Hjerde E et al. Bifidobacterium longum Subspecies infantis Bacteremia in 3 Extremely Preterm Infants Receiving Probiotics. *Emerg Infect Dis* 2016; 22: 1664.
14. Elias J, Bozzo P, Einarson A. Are probiotics safe for use during pregnancy and lactation? *Can Fam Physician* 2011; 57: 299.
15. Dallanora S, Medeiros de Souza Y, Deon RG et al. Do probiotics effectively ameliorate glycemic control during gestational diabetes? A systematic review. *Arch Gynecol Obstet* 2018; 298: 477.
16. Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017; 14: 491.
17. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf
18. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Guidelines for the evaluation of probiotics in food <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wg-report2.pdf>
19. Boehm G, Lidestri M, Casetta P et al. Supplementation of a bovine milk formula with an oligosaccharide mixture increases counts of faecal bifidobacteria in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2002; 86: F178.
20. Maslowski KM, Vieira AT, Ng A et al. Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature* 2009; 461: 1282.
21. Kelly D, Campbell JI, King TP et al. Commensal anaerobic gut bacteria attenuate inflammation by regulating nuclear-cytoplasmic shuttling of PPAR-gamma and RelA. *Nat Immunol* 2004; 5: 104.
22. Dugoua JJ, Machado M, Zhu X et al. Probiotic safety in pregnancy: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials of Lactobacillus, Bifidobacterium, and Saccharomyces spp. *J Obstet Gynaecol Can* 2009; 31: 542.
23. Fiocchi A, Pawankar R, Cuervo-Garcia C et al. World Allergy Organization-McMaster University Guidelines for Allergic Disease Prevention (GLAD-P): Probiotics. *World Allergy Organ J* 2015; 8: 4.
24. Ho M, Chang YY, Chang WC et al. Oral Lactobacillus rhamnosus GR-1 and Lactobacillus reuteri RC-14 to reduce Group B Streptococcus colonization in pregnant women: A randomized controlled trial. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2016; 55 (4): 515–18. DOI: 10.1016/j.tjog.2016.06.003
25. Новикова С.В., Лозутова Л.С., Игнатиева М.А. Клиническая оценка эффективности и безопасности применения препарата вагилак для лечения бактериального вагиноза у беременных. *Мед. совет.* 2018; 13: 90–4. [Novikova S.V., Logutova L.S., Ignatieva M.A. Clinical evaluation of the efficacy and safety of the use of the drug vagilac for the treatment of bacterial vaginosis in pregnant women. *Med. sovet.* 2018; 13: 90–4 (in Russian).]
26. Радзинский В.Е., Ордиянц И.М., Апресян С.В. Эффективность коррекции дисбиоза влагалища в I триместре беременности. *Рос. вестн. акушера-гинеколога.* 2010; 10 (3): 38–41. [Radzinsky V.E., Ordiansky I.M., Apresyan S.V. The effectiveness of the correction of vaginal dysbiosis in the first trimester of pregnancy. *Ros. vestn. akushera-ginekologa.* 2010; 10 (3): 38–41 (in Russian).]
27. Tang ML, Lahtinen SJ, Boyle RJ. Probiotics and prebiotics: clinical effects in allergic disease. *Curr Opin Pediatr* 2010; 22: 626.
28. Lee J, Seto D, Bielory L. Meta-analysis of clinical trials of probiotics for prevention and treatment of pediatric atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 116.
29. Azad MB, Coneys JG, Kozyskyj AL et al. Probiotic supplementation during pregnancy or infancy for the prevention of asthma and wheeze: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2013; 347: f6471.
30. Kim JY, Kwon JH, Ahn SH et al. Effect of probiotic mix (Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium lactis, Lactobacillus acidophilus) in the primary prevention of eczema: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Pediatr Allergy Immunol* 2010; 21: e386.
31. Boyle RJ, Ismail IH, Kivivuori S et al. Lactobacillus GG treatment during pregnancy for the prevention of eczema: a randomized controlled trial. *Allergy* 2011; 66: 509.
32. Niers L, Martín R, Rijkers G et al. The effects of selected probiotic strains on the development of eczema (the Panda study). *Allergy* 2009; 64: 1349.
33. Dotterud CK, Storror O, Johnsen R, Oien T. Probiotics in pregnant women to prevent allergic disease: a randomized, double-blind trial. *Br J Dermatol* 2010; 163: 616.
34. Rautava S, Kainonen E, Salminen S, Isolauri E. Maternal probiotic supplementation during pregnancy and breast-feeding reduces the risk of eczema in the infant. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130: 1355.
35. Petschow BW, Figueroa R, Harris CL et al. Effects of feeding an infant formula containing Lactobacillus GG on the colonization of the intestine: a dose-response study in healthy infants. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 786.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Доброхотова Юлия Эдуардовна – д-р мед. наук, проф., зав. каф. акушерства и гинекологии лечебного фак-та ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова». ORCID: 0000-0001-5388-3669

Боровкова Екатерина Игоревна – д-р мед. наук, проф. каф. акушерства и гинекологии лечебного фак-та ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова». E-mail: katanikitina@mail.ru

Julia E. Dobrokhotova – D. Sci. (Med.), Prof., Pirogov Russian National Research Medical University. ORCID: 0000-0001-5388-3669

Ekaterina I. Borovkova – D. Sci. (Med.), Prof., Pirogov Russian National Research Medical University. E-mail: katanikitina@mail.ru

Статья поступила в редакцию / The article received: 10.10.2019

Статья принята к печати / The article approved for publication: 29.06.2020