

A.A. Kameneva* – student

M.M. Kvardina – student

A.S. Nechitailo – Department assistant

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

kameneva.nastasya@bk.ru

УДК 579.26

ИССЛЕДОВАНИЕ ВАГИНАЛЬНОЙ ЛАКТОФЛОРЫ МАТЕРЕЙ И ИХ ДОЧЕРЕЙ В РЕПРОДУКТИВНОМ ВОЗРАСТЕ

Анастасия Евгеньевна Карякина¹, Василий Михайлович Петров¹, Данила Леонидович Зорников^{1,2}, Екатерина Сергеевна Ворошилина^{1,3}

¹Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии

²Лаборатория генетических и эпигенетических основ прогнозирования нарушений онтогенеза и старения человека

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения РФ

³Медицинский центр «Гармония»

Екатеринбург, Россия

Аннотация

Введение. Нормальная вагинальная микробиота большинства женщин в репродуктивном возрасте преимущественно представлена лактобациллами. При этом материнская вагинальная микробиота является основным источником микробиоты новорожденного в случае естественных родов. Исходя из этого, можно предположить, что микробиота детей зависит от микробиоты матерей.

Цель исследования – сравнить видовой состав вагинальных лактобацилл в парах матерей и их дочерей в репродуктивном возрасте. **Материал и методы.** В исследование включены 46 пар матерей и их дочерей, наблюдавшихся в медицинском центре Гармония (г. Екатеринбург). Выделение ДНК осуществляли с использованием комплекта реагентов ПРОБА-ГС. Суммарное количество лактобацилл в пробе определяли методом ПЦР в режиме реального времени. Статистическую обработку данных проводили в R. **Результаты.** Количество выявляемых видов лактобацилл и уровень лактобациллярной ДНК не различался у матерей и дочерей. В группе матерей наиболее частыми преобладающими видами были *L. iners* (45,7%) и *L. crispatus* (28,2%), тогда как в группе дочерей – *L. crispatus* (53,8% для *virgo*, 42,4% для *non-virgo*) и *L. iners* (38,5% для *virgo*, 24,2% для *non-virgo*). Преобладающие виды лактобацилл совпадали только у 16 (32,7%) пар матерей и их дочерей. **Вывод.** Видовой состав вагинальных лактобацилл дочерей не зависел от видового состава вагинальных лактобацилл их матерей.

Ключевые слова: материнская вагинальная микробиота, передача микробиоты, вагинальные лактобациллы, полимеразная цепная реакция

INVESTIGATION OF VAGINAL LACTOBACILLI IN THE REPRODUCTIVE-AGE MOTHERS AND DAUGHTERS

Anastasia E. Kariakina¹, Vasiliy M. Petrov¹, Danila L. Zornikov^{1,2}, Ekaterina S. Voroshilina^{1,3}

¹Department of Microbiology, Virology, and Immunology

²Laboratory of Genetic and Epigenetic Bases of the Human Ontogenesis Abnormalities and Human Senescence

Ural state medical university

³Medical Center «Garmonia»

Yekaterinburg, Russia

Abstract

Introduction. In most reproductive-age women the normal vaginal microbiota is represented by lactobacilli. The vaginal maternal microbiota is considered as the main source of microbiota for a newborn in case of vaginal delivery. Hence, it is tempting to speculate that the child microbiota depends on the vaginal maternal microbiota.

The purpose of the study is to compare the *Lactobacillus* species composition in vaginal microbiota of reproductive-age mothers and their reproductive-age daughters.

Material and methods. The study included 46 pairs of mothers and their daughters who came to the “Garmonia” Medical Center (Yekaterinburg, Russia) from 2015 to 2016. DNA isolation was performed by PROBA-GS kit (DNA-Technology, Russia). The total *Lactobacillus* load and the quantities of *L. crispatus*, *L. acidophilus*, *L. iners*, *L. jensenii*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. vaginalis* were determined by real-time PCR. Data was analyzed with R.

Results. Both the average number of *Lactobacillus* species and the *Lactobacillus* load did not differ between mothers and daughters. The most common dominant species for mothers were *L. iners* (45.7%) and *L. crispatus* (28.2%), and vice versa for daughters: *L. crispatus* (53.8% for virgo and 42.4% for non-virgo) and *L. iners* (38.5% for virgo and 24.2% for non-virgo). Only 16 (32.7%) of the mother-daughter pairs had the same dominant *Lactobacillus* species.

Conclusions. For vaginal samples the *Lactobacillus* species composition of daughters did not depend on the *Lactobacillus* species composition of their mothers.

Keywords: vaginal maternal microbiota, microbiota transmission, vaginal lactobacilli, real-time PCR

ВВЕДЕНИЕ

Организм человека населен разными популяциями микробов, которые вместе составляют микробиоту. Доказано, что она является одним из важнейших факторов, определяющих здоровье человека [1]. Вагинальная микробиота, по сравнению с другими биотопами человека, обладает наименьшим видовым разнообразием [2]. В качестве нормальной микробиоты влагалища рассматриваются бактерии рода *Lactobacillus*, доминирующие у большинства здоровых женщин в репродуктивном возрасте [2]. Лактобациллы обеспечивают колонизационную резистентность влагалища, подавляя рост и размножение условно-патогенных микроорганизмов.

Материнская вагинальная микробиота является основным источником микробиоты для новорожденного в случае естественных родов [3]. Однако в дальнейшем микробиота новорожденного, а впоследствии ребенка, претерпевает значительные изменения [4]. При этом некоторые исследователи

полагают, что состав микробиоты частично определяется генетическими факторами. В качестве косвенного подтверждения данной гипотезы приводят различия в микробиоте в зависимости от принадлежности к определенной этнической группе [5]. Все вышеперечисленное наталкивает на мысль о возможной зависимости микробиоты детей, в том числе нормальной вагинальной микробиоты, от микробиоты матерей.

Цель исследования – сравнить видовой состав вагинальных лактобацилл в парах матерей и их дочерей в репродуктивном возрасте.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование включены 46 пар матерей и их дочерей, наблюдавшихся в медицинском центре Гармония (г. Екатеринбург) с 2015 по 2016 год, которым было проведено исследование микробиоценоза влагалища и определение количества 7 видов вагинальных лактобацилл. Средний возраст матерей составил 46,6 (42,8-48,0) лет, дочерей – 21,3 (18,9-23,8) лет. В группе дочерей дополнительно выделяли 2 подгруппы: дочерей *virgo* (n=13, медиана возраста – 19,3 лет) и дочерей *non-virgo* (n=36, медиана возраста – 23,1 лет). В качестве исследуемого материала использовали образцы вагинального отделяемого.

Выделение ДНК проводили с использованием комплекта реагентов ПРОБА-ГС (ДНК-Технология, Москва). Суммарное количество лактобацилл в пробе определяли методом ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с помощью набора реагентов Фемофлор-16 (ДНК-Технология, Москва). Определение количества *Lactobacillus crispatus*, *L. acidophilus*, *L. iners*, *L. jensenii*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. vaginalis* также осуществляли методом ПЦР-РВ с помощью набора реагентов для научного применения (ДНК-Технология, Москва). Все реакции ПЦР-РВ выполняли в детектирующих амплификаторах ДТ-96 и ДТ-Прайм (ДНК-Технология, Москва) с использованием оригинального программного обеспечения того же производителя. Все количества микроорганизмов выражали в геномэквивалентах в 1 мл (ГЭ/мл).

Статистическую обработку данных проводили в R (версия 4.2.2, сборка 2022-10-31 ucrt). Нормальность распределения признаков определяли тестом Шариро-Уилка. В качестве средних величин использовали медианы; для описания вариации признаков приводили значения 0,25 и 0,75 перцентилей. Достоверность различий между сравниваемыми количественными показателями оценивали с помощью теста Краскела-Уоллиса, между частотными показателями – χ^2 теста. Все различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В пробах вагинального отделяемого матерей и дочерей выявляли одновременно до 5 видов лактобацилл в количестве до $10^{8,7}$ ГЭ/мл. Средние значения данных показателей представлены в таблице 1. При этом не отмечали значимых различий ни по количеству одновременно обнаруживаемых видов, ни по уровню ДНК лактобацилл между группами матерей, дочерей *virgo* и дочерей *non-virgo*.

Таблица 1

Количество видов и суммарная нагрузка лактобацилл у матерей и их дочерей (n=92)

	Матери (n=46)	Дочери non-virgo (n=33)	Дочери virgo (n=13)	p
Количество одновременно выявляемых видов лактобацилл	2 (1-4)	2 (1-3)	3 (2-4)	0,376
Суммарное количество ДНК лактобацилл, ГЭ/мл	10 ^{7,8} (10 ^{6,2} -10 ^{7,9})	10 ^{7,4} (10 ^{6,5} -10 ^{7,7})	10 ^{7,6} (10 ^{7,4} -10 ^{8,0})	0,255

В случае обнаружения нескольких видов лактобацилл в одной пробе содержащийся в наибольшем количестве вид определяли как преобладающий. Частота выявления отдельных видов лактобацилл у матерей и их дочерей в качестве преобладающих представлена в таблице 2. Статистически значимых различий по частоте обнаружения разных видов в качестве преобладающих между исследуемыми группами отмечено не было. Однако наблюдали тенденции к более частому преобладанию *L. iners* у матерей (45,7% против 38,5% у дочерей virgo и 24,2% у дочерей non-virgo). Тогда как *L. crispatus* в качестве преобладающего чаще выявляли у их дочерей (53,8% у дочерей virgo, 42,4% у дочерей non-virgo и 28,2% у матерей).

Таблица 2

Частота выявления преобладающих видов лактобацилл у матерей и их дочерей (n=92)

	Матери (n=46)	Дочери non-virgo (n=33)	Дочери virgo (n=13)	p
<i>L. crispatus</i>	13 (28,2%)	14 (42,4%)	7 (53,8%)	0,173
<i>L. acidophilus</i>	0	0	0 (0%)	-
<i>L. iners</i>	21 (45,7%)	8 (24,2%)	5 (38,5%)	0,150
<i>L. jensenii</i>	2 (4,3%)	2 (6,1%)	1 (7,7%)	0,878
<i>L. gasseri</i>	7 (15,2%)	6 (18,2%)	0 (0%)	0,268
<i>L. johnsonii</i>	0	0	0	-
<i>L. vaginalis</i>	2 (4,3%)	2 (6,1%)	0	0,662
Без доминирующего вида	0	1 (3,0%)	0	0,405
Без лактобацилл	1 (2,2%)	0	0	0,603

Далее мы сопоставили преобладающие виды лактобацилл в каждой паре мать-дочь. С этой целью оценивали как часто преобладающий вид лактобацилл дочерей совпадал с таковым у их матерей (таблица 3). Такие совпадения отмечали лишь у 16 (32,7%) дочерей. Чаще остальных фиксировали совпадение по *L. crispatus*; данный вид в качестве преобладающего идентифицировали у 14 матерей и у 7 (50,0%) их дочерей. Тогда как совпадение по *L. iners* и *L. gasseri*

регистровали в 6 (30,0%) и 2 (28,6%) случаях, соответственно. По остальным видам совпадений отмечено не было.

Таблица 3

Сопоставление доминирующих видов лактобацилл в паре мать-дочь. Все пары поделены на 7 подгрупп в зависимости от преобладающего вида лактобацилл (или его отсутствия) у матери. Указанный процент отражает частоту преобладания указанного вида у дочерей внутри выделенных подгрупп (n=46)

		Доминирующий вид лактобацилл дочери						
		<i>L. crispatus</i> (n=21)	<i>L. gasseri</i> (n=6)	<i>L. iners</i> (n=13)	<i>L. jensenii</i> (n=3)	<i>L. vaginalis</i> (n=2)	без доминирующего вида (1)	без лактобацилл (n=0)
Доминирующий вид лактобацилл матери	<i>L. crispatus</i> (n=14)	50,0%	7,1%	21,4%	14,4%	7,1%	0,0%	0,0%
	<i>L. gasseri</i> (n=7)	28,6%	28,6%	42,9%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
	<i>L. iners</i> (n=20)	45,0%	10,0%	30,0%	5,0%	5,0%	5,0%	0,0%
	<i>L. jensenii</i> (n=2)	50,0%	0,0%	50,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
	<i>L. vaginalis</i> (n=2)	50,0%	50,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
	без доминирующего вида (n=0)	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
	без лактобацилл (n=1)	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%

ОБСУЖДЕНИЕ

Некоторые исследователи отмечают, что на состав микробиоты (в т.ч. вагинальной) оказывают влияние генетические факторы. Например, этим пытаются объяснить более частое выявление нелактобациллярных вариантов вагинальной микробиоты у темнокожих женщин [5]. Помимо этого известен факт, что первичная колонизация новорожденного происходит именно вагинальной микробиотой матери в случае естественных родов [3]. Совокупность этих данных позволяет предположить, что вагинальная микробиота дочерей может быть схожа с вагинальной микробиотой их матерей, а видовой состав вагинальных лактобацилл матерей в дальнейшем предопределяет таковой у их дочерей.

В нашем исследовании мы отметили сопоставимые показатели по количеству выявляемых видов лактобацилл и уровню лактобациллярной ДНК у матерей и их дочерей. Преобладающие виды лактобацилл совпадали только у 16 (32,7%) пар. Скорее всего, данные совпадения были случайными, что видно из большей частоты совпадений для более распространенных видов лактобацилл. Так у каждой второй дочери преобладал *L. crispatus* в случае его

преобладания у матери, что примерно соответствовало частоте преобладания *L. crispatus* во всей группе обследованных дочерей. Тогда как в случае реже выявляемых среди дочерей видов *L. iners* и *L. gasseri* совпадения отмечали менее чем в трети случаев, по самым редким видам *L. jensenii* и *L. vaginalis* – вообще не было выявлено совпадений.

Полученные результаты продемонстрировали отсутствие зависимости преобладающего вида лактобацилл дочери от такового у матери. Более того, мы почти в два раза чаще отмечали преобладание *L. iners* у матерей, тогда как *L. crispatus* почти в два раза чаще преобладал у дочерей. При этом отсутствие статистически значимых различий по частоте преобладания этих двух видов лактобацилл вероятно обусловлено низкой размерностью групп.

При сравнении вагинальной лактофлоры у дочерей *virgo* и дочерей *non-virgo* также не было выявлено достоверных различий как между данными группами, так и при их сравнении с группой матерей.

Кроме ограниченного числа наблюдений, одним из основных ограничений данного исследования является его одномоментность. Мы отдаем себе отчет, что состав вагинальной микробиоты является динамическим, и изменения могут развиваться даже в течение нескольких дней [6]. Не исключено, что различия по составу лактофлоры в парах матерей и их дочерей были ситуативными, тогда как на более продолжительном периоде наблюдения лактофлора может характеризоваться большей схожестью.

ВЫВОДЫ

1. Количество одновременно выявляемых видов лактобацилл и уровень лактобациллярной ДНК не отличался в пробах вагинального отделяемого матерей и дочерей.

2. В пробах вагинального отделяемого от дочерей отмечали тенденцию к более частому преобладанию *L. crispatus*, в пробах от матерей – *L. iners*.

3. Преобладающий вид лактобацилл дочерей не зависел от преобладающего вида лактобацилл их матерей.

4. Видовой состав вагинальных лактобацилл не отличался в группах дочерей *virgo* и *non-virgo*.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. The human microbiome: at the interface of health and disease/ Cho, I., Blaser, M.J. // Nature reviews. Genetics. - 2012.-Vol. 13, № 4. - P. 260–270.

2. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome/ Human Microbiome Project Consortium // Nature. - 2012. - Vol. 486, № 7402.- P. 207-14.

3. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns / Dominguez-Bello MG, Costello EK [et al.]// Natl Acad Sci USA. - 2010.- Vol.107, № 26.- P.11971-5.

4. Mother-to-Infant Microbial Transmission from Different Body Sites Shapes the Developing Infant Gut Microbiome/ Pamela Ferretti, Edoardo Pasolli [et al.]// Cell Host & Microbe. -2018. - Vol. 24, № 1.- P.133-145.e5.

5. Vaginal microbiome of reproductive-age women/ Ravel J., Gajer P. [et al.]// Proc Natl Acad Sci USA. - 2011. -Vol.108,№ 1.- P.4680-7.

6. Daily temporal dynamics of vaginal microbiota before, during and after episodes of bacterial vaginosis/ Ravel J., Brotman R.M. [et al.]/Microbiome.- 2013. - Vol.1(1).- P.29.

Сведения об авторах

А.Е. Карякина* – студентка

В.М. Петров – кандидат медицинских наук, доцент

Д.Л. Зорников – кандидат медицинских наук, доцент

Е.С. Ворошилина – доктор медицинских наук, профессор

Information about the authors

A.E. Kariakina – student

V. M. Petrov – Candidate of Sciences, Associate Professor

D.L. Zornikov – Candidate of Sciences, Associate Professor

E.S. Voroshilina – Doctor of Sciences, Professor

***Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):**

kariakina05@mail.ru

УДК 616-036.22

АНАЛИЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ КЛЕЩЕВЫМ ВИРУСНЫМ ЭНЦЕФАЛИТОМ В ЧКАЛОВСКОМ РАЙОНЕ ГОРОДА ЕКАТЕРИНБУРГА ЗА ПЕРИОД 2012-2022 гг.

Мария Михайловна Квардина¹, Татьяна Евгеньевна Быба^{1,2}, Анна Викторовна Сомова^{1,3}, Павел Леонидович Шулев¹

¹Кафедра эпидемиологии, социальной гигиены и организации госсанэпидслужбы

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ

²Филиал ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области в Чкаловском районе города Екатеринбурга, городе Полевской и Сысертском районе»

³Федеральное бюджетное учреждение здравоохранения «Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области»

Екатеринбург, Россия

Аннотация

Введение. Клещевой вирусный энцефалит (КВЭ) – природно-очаговое заболевание, широко распространенное в лесной и лесостепной ландшафтных зонах. Территория Свердловской области относится к числу высокоэндемичных по КВЭ субъектов РФ. **Цель исследования** – изучить эпидемиологические особенности заболеваемости КВЭ на территории Чкаловского района г. Екатеринбурга за период 2012-2022 гг. **Материал и методы.** В процессе исследования проведен ретроспективный эпидемиологический анализ заболеваемости КВЭ на территории Чкаловского района г. Екатеринбурга. Методы исследования: эпидемиологический, энтомологический, лабораторный и статистический. **Результаты.** В период с 2012 по 2022 годы было зарегистрировано 103 случая КВЭ на территории Чкаловского района г.