

DOI: 10.37988/1811-153X\_2023\_3\_38

[Д.Т. Цинеккер](#)<sup>1</sup>,

аспирант кафедры стоматологии детского возраста

[Т.Н. Модина](#)<sup>2</sup>,

д.м.н., профессор кафедры челюстно-лицевой хирургии и стоматологии

[И.Х. Хусаинов](#)<sup>1</sup>,

аспирант кафедры биохимии и клинической лабораторной диагностики

[Д.А. Цинеккер](#)<sup>1</sup>,

к.м.н., доцент кафедры стоматологии детского возраста

[Я.В. Грибова](#)<sup>3</sup>,

к.фарм.н., доцент кафедры организации и экономики фармации

[З.И. Набиева](#)<sup>1</sup>,

студентка V курса

[Е.В. Мамаева](#)<sup>1</sup>,

д.м.н., профессор кафедры стоматологии детского возраста

<sup>1</sup> Казанский ГМУ, 420012, Казань, Россия<sup>2</sup> НМХЦ им. Н.И. Пирогова, 105203, Москва, Россия<sup>3</sup> Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, 119991, Москва, Россия**ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:**

Цинеккер Д.Т., Модина Т.Н., Хусаинов И.Х., Цинеккер Д.А., Грибова Я.В., Набиева З.И., Мамаева Е.В. Особенности микробиома полости рта при ассоциации пародонтита и кандидоза в постковидном периоде. — *Клиническая стоматология*. — 2023; 26 (3): 38—44. DOI: 10.37988/1811-153X\_2023\_3\_38

[D.T. Tsinekker](#)<sup>1</sup>,

postgraduate at the Pediatric dentistry Department

[T.N. Modina](#)<sup>2</sup>,

PhD in Medical Sciences, full professor of the Maxillofacial dentistry Department

[I.H. Khusainov](#)<sup>1</sup>,

postgraduate at the Biochemistry and clinical laboratory diagnostics Department

[D.A. Tsinekker](#)<sup>1</sup>,

PhD in Medical Sciences, associate professor of the Pediatric dentistry Department

[Ya.V. Gribova](#)<sup>3</sup>,

PhD in Pharmacy, associate professor of the Pharmacy organisation and economics Department

[Z.I. Nabieva](#)<sup>1</sup>,

5th year student

## Особенности микробиома полости рта при ассоциации пародонтита и кандидоза в постковидном периоде

**Реферат.** Совершенствование диагностики и оказания стоматологической помощи пациентам с хроническим пародонтитом в сочетании с кандидозным стоматитом — актуальная цель многих исследований. Пандемия COVID-19, в том числе течение ее постковидного периода, несколько изменила взгляд специалистов на диагностику и лечение указанных заболеваний. **Цель исследования** — метагеномный анализ микробиоты пациентов с пародонтитом в сочетании с кандидозным стоматитом в постковидном периоде. **Материалы и методы.** В экспериментальную I группу вошли 12 пациентов в постковидном периоде, не вакцинированные, с диагнозом «кандидозный стоматит» (B37.0); во II группу (сравнения) — 11 пациентов, не инфицированных новой коронавирусной инфекцией, не вакцинированных (сбор материала проведен до пандемии COVID-19). Отбор биоматериала произведен из пародонтальных карманов после профессиональной гигиены рта. Культуральные и морфологические свойства грибов рода *Candida* изучены классическим способом, идентификация выполнена с помощью MALDI-TOF MS, метагеномный анализ — с использованием спектрофотометра Nanodrop ND-2000 (Wilmington), наборов для анализа Quant-iT dsDNA HS и секвенатора MiSeq (Illumina). **Результаты.** Выявлены 117 фило типов на уровне родов, относящихся к 21 типу, выделены 34 наиболее многочисленных фило типа на уровне родов. У пациентов I группы при идентификации грибов рода *Candida* определены гарантированная идентификация рода и видовые штаммы *Candida albicans* DSM 11945 DSM (2,106), *Candida albicans* CBS 1905 NT CBS (2,037), *Candida albicans* DSM 3454 DSM (2,011), *Candida inconspicua* CBS 180T CBS (1,71); а также увеличенный средний индекс биораспределения Шеннона (6,26). При распределении полученных результатов на известные микробные пародонтальные комплексы выявлено сниженное количество относительного обилия пародонтопатогенов 1-го и 2-го порядка (в 3 и 1,38 раза соответственно) на фоне увеличения микроорганизмов — комменсаллов (*Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Leptotrichia*) (в 2,9 раз), что может говорить о каскаде воспалительной реакции и смене микрофлоры рта на фоне снижения местного или общего иммунитета у пациента. **Заключение.** Выявлены особенности микробиома пародонтального кармана у пациентов с пародонтитом и кандидозом в постковидный период, идентифицированы отдельные представители микробиома, описаны их особенности, что дает основания к применению различных методов лечения, в том числе с использованием малоинвазивной терапии, на фоне антимикотиков.

**Ключевые слова:** COVID-19, пародонтит, кандидоз, грибы рода *Candida*, метагеномный анализ

## Features of the oral microbiome in the association of periodontitis and candidiasis in the postcovid period

**Abstract.** Improvement of diagnostics and provision of dental care to patients with chronic periodontitis combined with candidal stomatitis is an actual goal of many studies. The COVID-19 pandemic, including the course of its post-candida period, has somewhat changed the view of specialists on the diagnosis and treatment of these diseases. **The aim of study** is metagenomic analysis of microbiota of patients with periodontitis combined with candidal stomatitis in the post-ovoid period. **Materials and methods.** The experimental group I included 12 patients in the post-ovarian period, unvaccinated, diagnosed with candidal stomatitis (B37.0); group II (comparison) included 11 patients not infected with a new coronavirus infection, unvaccinated (material collection was performed before the COVID-19 pandemic). Biomaterial was sampled from periodontal pockets after professional oral hygiene. Culture and morphological properties of fungi of the genus *Candida* were studied in the classical way, identification was performed using MALDI-TOF MS, metagenomic analysis was performed using Nanodrop ND-2000 spectrophotometer (Wilmington), Quant-iT dsDNA HS analysis kits and MiSeq sequencer (Illumina). **Results.** A total of 117 phylotypes at the

**E.V. Mamaeva**<sup>1</sup>,

PhD in Medical Sciences, full professor  
of the Pediatric dentistry Department

<sup>1</sup> Kazan State Medical University,  
420012, Kazan, Russia

<sup>2</sup> Pirogov National Medical & Surgical  
Center, 105203, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Sechenov University,  
119991, Moscow, Russia

genus level belonging to 21 types were identified, and the 34 most abundant phylotypes at the genus level were isolated. In group I patients, the identification of fungi of the genus *Candida* determined guaranteed genus identification and species strains of *Candida albicans* DSM 11945 DSM (2.106), *Candida albicans* CBS 1905 NT CBS (2.037), *Candida albicans* DSM 3454 DSM (2.011), *Candida inconspicua* CBS 180T CBS (1.71); and an increased mean Shannon biodistribution index (6.26). When distributing the obtained results to the known microbial periodontal complexes, a reduced number of relative abundance of periodontopathogens of the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> order (3 and 1.38 times, respectively) against the background of an increase in microorganisms-commensals (*Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Leptotrichia*) (2.9 times) was revealed, which may indicate a cascade of inflammatory response and change of oral microflora against the background of decreased local or general immunity in the patient. **Conclusion.** The peculiarities of periodontal pocket microbiome in patients with periodontitis and candidiasis in the postcovid period have been revealed, individual representatives of the microbiome have been identified, their features have been described, which gives grounds for the application of various methods of treatment, including minimally invasive therapy, against the background of antimicrobials.

**Key words:** COVID-19, periodontitis, candidiasis, fungi of the genus *Candida*, metagenomic analysis

**FOR CITATION:**

Tsinekker D.T., Modina T.N., Khusainov I.H., Tsinekker D.A., Gribova Ya.V., Nabieva Z.I., Mamaeva E.V. Features of the oral microbiome in the association of periodontitis and candidiasis in the postcovid period. *Clinical Dentistry (Russia)*. 2023; 26 (3): 38—44 (In Russian). DOI: 10.37988/1811-153X\_2023\_3\_38

**ВВЕДЕНИЕ**

Совершенствование диагностики и оказания стоматологической помощи пациентам с хроническим пародонтитом в сочетании с кандидозным стоматитом — актуальная цель многих исследований. При этом пандемия COVID-19, в том числе течение ее постковидного периода, несколько изменили взгляд специалистов на диагностику и лечение указанных заболеваний. Коронавирусная инфекция изменяет локальный иммунитет и микробиом рта в сторону увеличения количества условно-патогенной микробиоты на фоне «цитокинового шторма», а постковидный период стимулирует развитие патологических процессов. Спутниками в постковидный период могут стать кандидозные поражения, при которых возможна сопряженность коронавирусной инфекции в аспекте иммуносупрессии организма. Лечение коронавирусной инфекции провоцирует значительное количество случаев кандидозных поражений и у стоматологических пациентов в виде гиперпластического кандидозного стоматита (V37.0) самостоятельно и у пациентов с хроническим пародонтитом.

Хронический генерализованный пародонтит (ХГП) представляет собой многофакторное воспалительное заболевание, при котором пародонтальные патогены, в основном *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia* и *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, играют ключевую роль в развитии и прогрессировании заболевания. Они обладают высоким патогенным потенциалом и образуют сложное бактериальное сообщество, известное как биопленка. Помимо пародонтальных патогенов, зубной налет содержит другие бактерии, а также грибы, роль которых активно изучается. Многие исследователи считают, что дрожжеподобные грибы, в частности *Candida spp.*, являются одной из важных причин развития, прогрессирования и осложненного течения ХГП [1] — они условно-патогенны, колонизируют слизистую оболочку рта

и кожу здоровых людей, а также считаются предупредительным признаком иммунного расстройства. Этот условно-патогенный микроорганизм длительное время может персистировать в разных нишах рта без клинических проявлений, однако при снижении иммунного статуса (например, у пациентов с сахарным диабетом или иммунодефицитом, у детей раннего возраста или у пожилых людей) или при изменении окружающей среды его факторы вирулентности могут вызывать заболевание. На сегодняшний день выделено более 180 видов *Candida*, наиболее распространен *C. albicans*, выделены также *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* [2].

Высокая устойчивость *Candida albicans* позволяет ей колонизировать в различных средах, создавая смешанные биопленки с комменсальными, а также с патогенными бактериями в аэробных и анаэробных условиях. Их способность сосуществовать с комменсальными и патогенными бактериями является важным фактором вирулентности, которая придает обоим микроорганизмам новые характеристики и позволяет им колонизировать новые ниши [3]. Стоит отметить, что *Candida spp.* может адаптироваться в различных оральных нишах, экспрессируя различные фенотипы и факторы вирулентности в зависимости от pH, наличия кислорода или полисахаридов. Пародонтальные карманы являются благоприятной средой для прорастания *C. albicans* и роста кончиков ее гиф. По сравнению с дрожжевыми клетками гифы *Candida* в большей степени способны прикрепляться к клеткам-хозяевам и проникать в ткани [4]. Они могут взаимодействовать со *Streptococcus gordonii*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* и *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, образуя смешанные биопленки, что делает *C. albicans* активным участником воспалительно-деструктивного процесса при заболеваниях пародонта. Есть исследования, которые показывают, что грибы рода *Candida* часто вступают в ассоциации с бактериями. Например, бактерии рода

*Leptotrichia*, относящиеся к нормальной микрофлоре рта, вступая в ассоциацию с грибами рода *Candida*, могут вызывать дополнительный воспалительный процесс.

*Candida* является наиболее часто выделяемым видом при местных и системных грибковых инфекциях, а их видовая идентификация грибов важна для определения чувствительности к противогрибковым препаратам при назначении. В последние годы увеличилась частота выделения видов, не относящихся к *C. albicans*. Так, *C. norvegensis* и *C. inconspicua* могут комменсально обнаруживаться в ротоглотке, дыхательной системе и вагинальной флоре человека. Это условно-патогенные микроорганизмы, которые обычно вызывают различные инфекции, особенно инфекции дыхательных путей, у лиц с ослабленным иммунитетом [5, 6].

COVID-19 имеет множество побочных эффектов, кандидозы — изменения, которые связаны со средней и тяжелой формой COVID-19, являясь продуктом их лечения. При этом состояние полости рта пациентов должно быть оценено при длительной госпитализации или при иммуносупрессивных состояниях. Развитие кандидоза у пациентов с COVID-19 может быть связано с вдыханием спор, приводящим к застою в легких и/или в носовых пазухах, длительной искусственной вентиляцией легких в условиях отделения интенсивной терапии и применением антибиотиков широкого спектра. Начало кандидоза после появления клинических признаков и симптомов COVID-19 значительно варьирует и в большинстве случаев, описанных в литературе, регистрируется в течение 1–30 дней [7]. Так, в период пандемии новой коронавирусной инфекции применялся антибактериальный препарат широкого спектра азитромицин, который входил в клинические рекомендации по лечению новой коронавирусной инфекции и не мог не повлиять на общее снижение иммунитета, что привело к развитию кандидозов [«Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Временные методические рекомендации», версия 17 (09.12.2022), утв. Минздравом России].

**Цель исследования** — метагеномный анализ пародонтальной микробиоты при хроническом пародонтите в сочетании с грибковыми поражениями в постковидном периоде.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В обследование вошли 23 пациента в возрасте 18–19 лет с пародонтологическим статусом, соответствующим диагнозу «хронический генерализованный пародонтит средней степени тяжести» (K05.3). Все пациенты имели полные зубные ряды, были без мукогингивальной и ортодонтической патологии, не использовали ортопедические и ортодонтические конструкции, не имели вредных привычек. Женщины-участницы (10) не были беременны и не использовали гормональную контрацепцию. Всех участников исследования разделили на 2 группы:

- I — 12 пациентов в постковидном периоде с диагнозом «кандидозный стоматит» (B37.0);
- II — 11 пациентов (группа сравнения), биологические пробы которых были взяты до пандемии COVID-19.

Все пациенты не были вакцинированы от COVID-19.

Отбор образцов биоматериала проводили стерильными бумажными штифтами из пародонтальных карманов 5 случайно выбранных зубов после профессиональной гигиены рта и изоляции зубов. Пробы были помещены в микроцентрифужные пробирки объемом 2 мл и заморожены при  $-40^{\circ}\text{C}$ .

Изучался максимально возможный состав микрофлоры с помощью классических методов бактериологии. Доставленные в транспортной среде Amies с древесным углем (срок хранения до 48 ч) пробы высевали в день получения биоматериала. На каждого пациента было применено 6 бактериологических сред:

- 1) Кровяной агар в микроаэрофильных условиях (5%  $\text{CO}_2$ ).
- 2) Кровяной агар в анаэробных условиях (газогенерирующий пакет BD GasPak).
- 3) Среда МЖСА.
- 4) Среда Сабуро (агар).
- 5) Шоколадный агар с диском бацитрацина.
- 6) Селективный агар для грибов *Candida* (хромогенный).

Использованы следующие методы идентификации:

- Осмотр чашки на морфологические свойства микроорганизмов и пересев подозрительных колоний для получения чистой культуры (рис. 1А).
- Микроскопия подозрительных колоний с окраской по Граму (рис. 1В–D).
- Тест на ростовые трубочки как дополнительный метод идентификации *Candida albicans* (использовалась сыворотка крупного рогатого скота).
- Пересев на селективный агар для грибов *Candida* (хромогенный) для подтверждения видовой идентификации *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. inconspicua*, *C. krusei*, *C. tropicalis* (рис. 1Е).
- Времяпролетная масс-спектрометрия с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF).

Метагеномный профиль определен с использованием спектрофотометра Nanodrop ND-2000 (Wilmington). Фрагменты бактериальных генов 16S рРНК (регионы V3 и V4) амплифицировали со штрихкодированными праймерами Bakt\_341F (5'-CCT ACG GGN GGC WGC AG-3') и Bakt\_805R (5'-GAC TAC HVG GGT ATC TAA TCC-3') с использованием Phusion High-Fidelity ДНК-полимеразы (Thermo Fisher Scientific, США) в трех повторях для каждого образца. Полученный ампликон для каждого образца объединяли и очищали с использованием гранул Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, США). Количество ДНК определяли с помощью набора для анализа Quant-iT dsDNA HS. Секвенирование проводили на секвенаторе MiSeq (Illumina, США).

Также были проанализированы структуры микробных сообществ, идентифицированы флотипы на уровне родов, найдены уникальные микробные сообщества и проведен сравнительный анализ геномного состава микробиот пародонтального кармана.

При статистической обработке результатов сравнение биоразнообразия в исследуемых группах проводили с применением индекса Шеннона.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

При идентификации грибов рода *Candida* у всех пациентов I группы определена гарантированная идентификация рода (возможная идентификация вида; от 2,000 до 2,299 усл. ед.) или возможная идентификация рода (1,700–1,999 усл. ед.). Высокая вероятность идентификации (от 3,000 до 3,300 усл. ед.), как и отсутствие ненадежной идентификации (до 1,699 усл. ед.), нами

не определены ни в одном случае. Гарантированную идентификацию рода *Candida albicans* (возможная идентификация вида) имели видовые штаммы DSM 11945 DSM (2,106), CBS 1905 NT CBS (2,037) и DSM 3454 DSM (2,011).

Было выявлено 117 фило типов на уровне родов, относящихся к 21 типам; выделено 34 наиболее многочисленных фило типа на уровне родов (см. таблицу).

## Относительное обилие видов/фило типов, распределенных между образцами и пересчитанных в долевом соотношении по метагеномным данным

Relative abundance of species/phylotypes distributed between samples and converted to a percentage based on metagenomic data

Название	I группа (n=12)	II группа (n=11)	Название	I группа (n=12)	II группа (n=11)	Название	I группа (n=12)	II группа (n=11)
<i>Streptococcus</i>	23,86	22,91	<i>Prevotella</i>	7,05	5,46	<i>Comamonas</i>	0,51	0,08
<i>Haemophilus</i>	1,08	2,06	<i>Campylobacter</i>	2,30	0,26	<i>Tannerella</i>	0,40	1,09
<i>Fusobacterium</i>	3,48	9,16	<i>Olsenella</i>	1,06	—	<i>Treponema</i>	1,12	1,59
<i>Corynebacterium</i>	4,27	1,17	<i>Dialister</i>	1,17	1,80	<i>Eikenella</i>	0,25	0,29
<i>Actinomyces</i>	6,75	1,94	<i>Granulicatella</i>	0,65	2,50	<i>Abiotrophia</i>	0,30	0,91
<i>Alloprevotella</i>	1,77	—	<i>Lachnoanaerobaculum</i>	1,12	—	<i>Filifactor</i>	—	1,13
<i>Veillonella</i>	0,65	3,10	<i>Selenomonas</i>	2,82	1,45	<i>Peptostreptococcus</i>	—	0,99
<i>Leptotrichia</i>	7,32	3,36	<i>Capnocytophaga</i>	3,62	3,04	<i>Mogibacterium</i>	—	0,87
<i>Saccharimonadaceae</i>	7,47	4,56	<i>Aggregatibacter</i>	1,01	0,68	Прочие*	7,29	11,42
<i>Neisseria</i>	4,42	3,97	<i>Cardiobacterium</i>	0,87	0,26			
<i>Rothia</i>	1,75	2,34	<i>Lautropia</i>	0,54	0,72			
<i>Gemella</i>	0,92	4,09	<i>Parvimonas</i>	0,80	1,13			
<i>Talaromyces</i>	2,16	—	<i>Porphyromonas</i>	1,22	5,67			

Примечание. \* — не классифицированные, не дифференцированные, редкие и не представляющие научного интереса микроорганизмы.

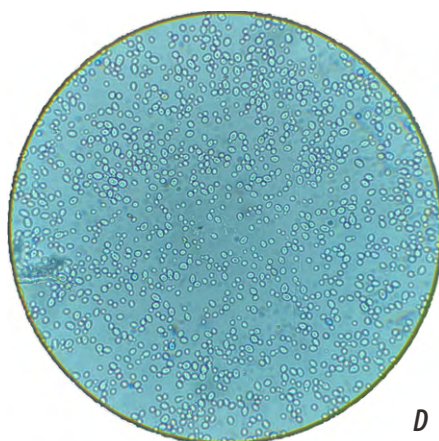
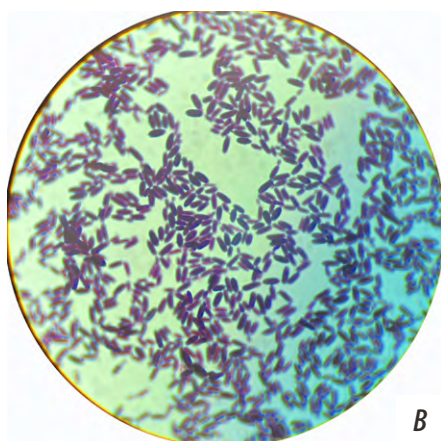
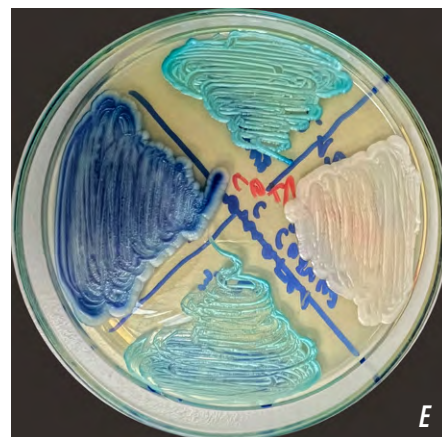
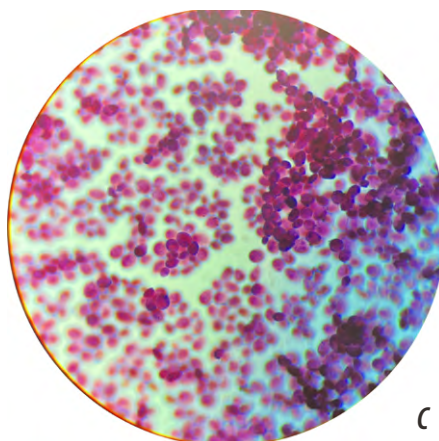
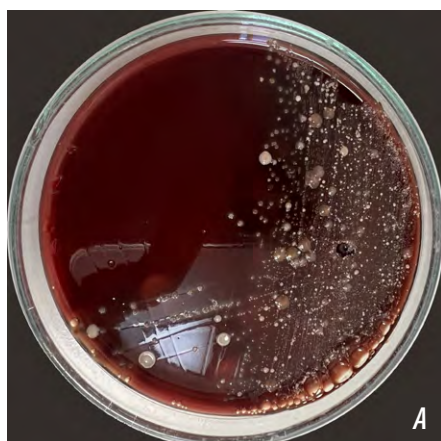


Рис. 1. Визуальный контроль роста грибов рода *Candida*: А) колонии на кровяном агаре (в условиях 5%  $CO_2$ ); В) колонии *C. albicans* со среды Сабуро (агар), нативный мазок (ув. 40); С) колонии *C. inconspicua* со среды Сабуро (агар), нативный мазок (ув. 40); D) колонии *C. albicans* со среды Сабуро (агар), окраска по Граму (ув. 90); E) селективный хромогенный агар с колониями грибов рода *Candida*

Fig. 1. Colonies of fungi of the genus *Candida*: A) blood agar medium (microaerophilic conditions, 5% of  $CO_2$ ); B) colonies from Sabouraud's medium (agar; mag. x40); C) *Candida inconspicua* colonies (Gram stain) from Sabouraud's medium (agar; mag. x40); D) *Candida albicans* colonies (Gram stain) from Sabouraud's medium (agar; mag. x90); E) selective agar for *Candida* fungi (chromogenic) with colonies of fungi of the genus *Candida*

Средний индекс биораспределения Шеннона (видовое обилие) в I группе составил 6,26 — выше среднего, что косвенно говорит о нарушении состава микрофлоры рта. Во II группе индекс биораспределения Шеннона хотя и был выше среднего — 6,07, статистически достоверно отличался от показателя I группы ( $p < 0,05$  по двустороннему критерию Манна—Уитни—Вилкоксона).

Во всех образцах преобладали представители таксономической группы *Streptococcus*. У обеих групп распространенность таксономической группы *Streptococcus* составила 23,86% (I группа) и 22,91% (II группа), что в среднем ниже нормального уровня *Streptococcus* и может косвенно свидетельствовать о снижении иммунного статуса [1].

При попытке распределения полученных результатов на известные микробные пародонтальные комплексы нами выявлены следующие закономерности.

Среди микроорганизмов-комменсалов («зеленый» комплекс) в I группе заселенность *Actinomyces*, *Corynebacterium* и *Leptotrichia* была в среднем в 2,9 раза выше, чем во II группе. Так, доля *Neisseria* составила 4,42%, *Rothia* — 1,75%, *Actinomyces* — 6,75% *Capnocytophaga* — 3,62%, *Corynebacterium* — 4,27%, *Leptotrichia* — 7,32%, против 3,97, 2,34, 1,94, 3,04, 1,17 и 3,36% во II группе соответственно.

В группах микроорганизмов 1-го порядка («красный комплекс») у II группы распространенность пародонтопатогенных бактерий выше в среднем в 3 раза. Так, доля микроорганизмов рода *Porphyromonas* в I группе в 5 раз меньше, чем во II. Разница между долями микроорганизмов рода *Tannerella* составила 2 раза, 0,40 и 1,09%, в I и II группе соответственно. Микроорганизмы рода *Treponema* в I и во II группах приблизительно на одинаковом уровне — 1,12 и 1,59% соответственно.

В группах микроорганизмов 2-го порядка («оранжевый комплекс») у пациентов I группы род *Prevotella* в 1,5 раза превышает количество данного рода у пациентов II группы. Микроорганизмы рода *Fusobacterium*

во II группе в 3 раза превышают количество данных пародонтопатогенов у I группы.

Рассматривая относительно низкий распространенность комменсалов и два важных комплекса бактерий, которые имеют большой потенциал в развитии хронического пародонтита, можно отметить, что у пациентов с пародонтитом до коронавируса (II группа) в сравнении с пациентами с пародонтитом после коронавируса (I группа) распространенность этих микроорганизмов была выше. Это свидетельствует о фундаментальной проблеме тканей пародонта у пациентов с пародонтитом вне зависимости от наличия или отсутствия коронавируса.

Условные пародонтопатогены рода *Saccharimonadaceae* у пациентов I группы идентифицируются в 2 раза чаще, чем во II группе. Микроорганизмы рода *Veillonella* ранней стадии колонизации биопленок во II группе в 5 раз превышают численность рода *Veillonella* в I группе. Микроорганизмы рода *Selemonas* практически в 2 раза больше во II группе, чем в I группе.

На рис. 2 и 3 наглядно представлено относительное обилие видов/филотипов, распределенных между образцами и пересчитанных в долевом соотношении по метагеномным данным. Зеленым цветом отмечены бактерии, относящиеся к нормофлоре, при этом интересны изменения в относительном обилии таких микроорганизмов, как *Leptotrichia*, *Corynebacterium*, *Actinomyces*, которых относят к комменсалам, способным стать протективными агентами патологии. Фиолетовым цветом обозначены бактерии, которые могут отрицательно влиять на течение пародонтита, оранжевым цветом — бактерии из группы пародонтопатогенных микроорганизмов 2-го порядка, относящиеся к «оранжевому комплексу», красным цветом — бактерии из группы пародонтопатогенных микроорганизмов 1-го порядка, относящиеся к «красному комплексу».

При проведении данного исследования у одного пациента был выявлен необычный вид гриба *Candida*

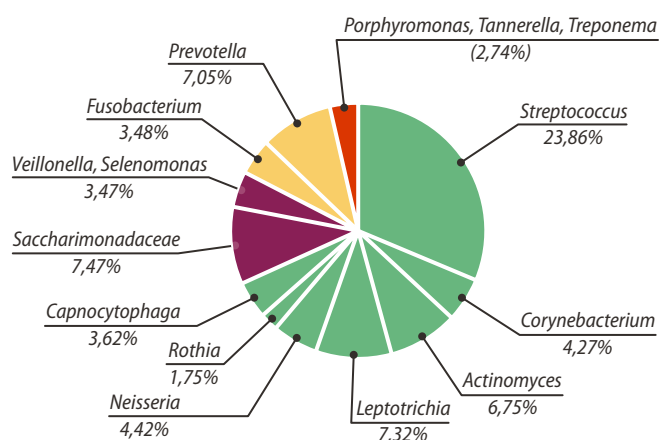


Рис. 2. Относительное обилие видов/филотипов, распределенных между образцами и пересчитанных в долевом соотношении по метагеномным данным в I группе (пациенты после новой коронавирусной инфекции)

Fig. 2. Relative abundance of species / phylotypes distributed between the samples and converted to a percentage according to metagenomic data in group I (patients after a new coronavirus infection)

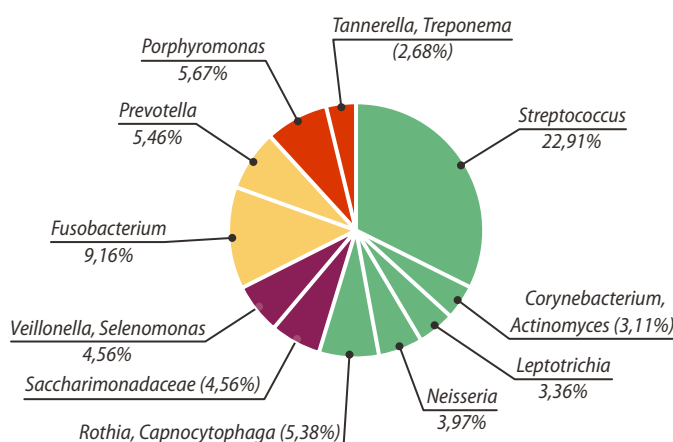


Рис. 3. Относительное обилие видов/филотипов, распределенных между образцами и пересчитанных в долевом соотношении по метагеномным данным во II группе (пациенты до новой коронавирусной инфекции)

Fig. 3. Relative abundance of species/phylogenetic types distributed between the samples and converted to a percentage based on metagenomic data in group II (patients before novel coronavirus infection)

*inconspicua*, который считается довольно редким и патогенным. Хотя мы и получили лишь возможную идентификацию рода методом MALDI-TOF, в бактериологическом методе исключили самые частые варианты видов *Candida* [8, 9]. Морфологически, культурально все указывало на вид *C. inconspicua*. Важно подчеркнуть, что *C. inconspicua* ассоциируют с частым применением антибиотиков широкого спектра, СПИДом и ВИЧ-инфекцией, остеомиелитом, кандидемией и кандидозным гепатитом, нейтропенией и гемобластозом [9–13].

### Клинический пример

Пациент И., 18 лет, с хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести (K05.3) и кандидозным гиперпластическим стоматитом (B37.0). Объективно на поверхности языка чувствительные, но не болезненные поражения. Элементы поражения — легкоудаляемый белесоватый творожистый налет, способный сливаться в бляшки, сплошную пленку. После удаления налета поверхность гиперемированная, без нарушения целостности, иногда кровоточащая (рис. 4). Пародонтологический статус соответствует диагнозу: ОНI-S —  $2,2 \pm 0,2$ , API —  $86,6 \pm 4,5\%$ , индекс кровоточивости GI —  $1,6 \pm 0,3$ , индекс CPI —  $4,7 \pm 0,9$ , PMA —  $46,0 \pm 6,1\%$ .

Видо/штаммовый *Candida*-профиль — *Candida inconspicua*. Штамм — *Candida inconspicua* CBS 180T CBS. Показатель идентификации MALDI biotyper — 1,71.

Метагеномный профиль — индекс распределения Шеннона увеличен и равен 6,304, столь большое распределение говорит о значительном нарушении микрофлоры рта.

Количество представителей таксономической группы *Streptococcus* крайне снижено (15,64%), *Rothia* — до критического 0,23%. Известно, что *Rothia* считается комменсалом, присутствует практически всегда, образуя биопленки, однако при патологии ее место занимают антагонистические патогенные бактерии. Другие бактерии, относящиеся к нормобиоте, распределились следующим образом: *Leptotrichia* — 8,6%, *Neisseria* — 5,78%. *Actinomyces* — 5,27%, *Granulicatella* — 1,01%, *Haemophilus* — 0,32%.

Из распределения пародонтальных групп таксономической группы 1-го порядка обнаружены *Porphyromonas* — 1,0%, *Treponema* — 0,63%, *Tannerella* — 0,5%; 2-го порядка — *Fusobacterium* — 3,58%, *Prevotella* — 3,02%.

Определен сильный рост таксономической группы *Corynebacterium* (13,09%), который определяет их участие в формировании зубных камней и характеризует наличие воспалительного процесса [14, 15]. В больших количествах обнаружена флора, негативно влияющая на здоровье полости рта: *Selemonas* — 5,57%, *Campylobacter* — 3,68%. Причем *Selemonas* в основном выделяется у пациентов с генерализованным агрессивным пародонтитом, а наличие таксономической группы *Cardiobacterium* характеризует тяжелую форму пародонтита и возможный эндокардит [16, 17]. *Saccharimonadaceae* (0,63%) паразитирует другие бактерии и способна менять флору, а также поддерживать не только свой рост, но и отрицательно влиять на течение пародонтитов [18, 19].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании достоверных результатов проведенного исследования можно заключить, что перенесенный COVID-19 повлиял на состав микрофлоры пациентов.

Сочетание бактериального метода диагностики и метагеномного анализа позволили нам выявить особенности микробиома пародонтального кармана у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом и кандидозом в постковидный период. Метагеномный анализ был использован, чтобы получить возможность расширенного таксономического анализа на основе секвенирования генома ДНК гена 16S рРНК. Было выявлено 117 флотипов на уровне родов, относящихся к 21 типу, выделены 34 наиболее многочисленных флотипа на уровне родов и описаны их особенности.

У пациентов I группы при идентификации грибов рода *Candida* определена гарантированная идентификация рода и видовые штаммы *Candida albicans* DSM 11945 DSM (2,106), *Candida albicans* CBS 1905 NT CBS (2,037), *Candida albicans* DSM 3454 DSM (2,011), *Candida inconspicua* CBS 180T CBS (1,71), а также увеличенный средний индекс биораспределения Шеннона (6,26). При распределении полученных результатов на известные микробные пародонтальные комплексы выявлено уменьшение относительного обилия пародонтопатогенов 1-го и 2-го порядка (в 3 и 1,38 раз соответственно) на фоне увеличения микроорганизмов-комменсалов (*Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Leptotrichia*) в 2,9 раза, что позволяет отнести их к протективным агентам изучаемой патологии и может говорить о каскаде воспалительной реакции и смене микрофлоры рта, на фоне снижения местного или общего иммунитета у пациента. Выявлена разница между результатами метагеномного анализа пациентов, что дает основания к применению различных методов лечения у таких пациентов, в том числе с использованием малоинвазивной терапии; могут быть даны клинические рекомендации по использованию различных стратегий лечения.



Рис. 4. Пациент И., 18 лет, с хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести (K05.3) и кандидозным гиперпластическим стоматитом (B37.0)

Fig. 4. Patient I., 18 years old, with chronic generalized periodontitis of moderate severity (K05.3) and hyperplastic candidal stomatitis (B37.0)

## ВЫВОДЫ

Выявлены особенности микробиома пародонтально-го кармана у пациентов с пародонтитом и кандидозом в постковидный период, идентифицированы отдельные представители микробиома, описаны их особенности, что дает основания к применению различных методов лечения, в том числе с использованием малоинвазивной терапии, на фоне антимикотиков.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

**Поступила:** 20.06.2023      **Принята в печать:** 27.07.2023

**Conflict of interests.** The authors declare no conflict of interests.

**Received:** 20.06.2023      **Accepted:** 27.07.2023

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

- Slazhneva E., Tikhomirova E., Tsarev V., Orekhova L., Loboda E., Atrushkevich V. Candida species detection in patients with chronic periodontitis: A systematic review and meta-analysis. — *Clin Exp Dent Res.* — 2022; 8 (6): 1354—1375. [PMID: 35903878](#)
- Moorhouse A.J., Rennison C., Raza M., Lilic D., Gow N.A. Clonal strain persistence of *Candida albicans* Isolates from chronic mucocutaneous candidiasis patients. — *PLoS One.* — 2016; 11 (2): e0145888. [PMID: 26849050](#)
- Bernard C., Girardot M., Imbert C. *Candida albicans* interaction with Gram-positive bacteria within interkingdom biofilms. — *J Mycol Med.* — 2020; 30 (1): 100909. [PMID: 31771904](#)
- Bartnicka D., Gonzalez-Gonzalez M., Sykut J., Koziel J., Cias-ton I., Adamowicz K., Bras G., Zawrotniak M., Karkowska-Kuleta J., Satala D., Kozik A., Zyla E., Gawron K., Lazarz-Bartyzel K., Chomyszyn-Gajewska M., Rapala-Kozik M. *Candida albicans* shields the periodontal killer *Porphyromonas gingivalis* from recognition by the host immune system and supports the bacterial infection of gingival tissue. — *Int J Mol Sci.* — 2020; 21 (6): 1984. [PMID: 32183255](#)
- Baily G.G., Moore C.B., Essayag S.M., de Wit S., Burnie J.P., Denning D.W. *Candida inconspicua*, a fluconazole-resistant pathogen in patients infected with human immunodeficiency virus. — *Clin Infect Dis.* — 1997; 25 (1): 161—3. [PMID: 9243058](#)
- Singh A., Verma R., Murari A., Agrawal A. Oral candidiasis: An overview. — *J Oral Maxillofac Pathol.* — 2014; 18 (Suppl 1): S81—5. [PMID: 25364186](#)
- Цинеккер Д.Т., Модина Т.Н., Хусаинов И.Х., Цинеккер Д.А., Гаффарова А.А., Шайдуллин А.И., Мамаева Е.В. Коморбидность пародонтита и герпеса в постковидном периоде. — *Клиническая стоматология.* — 2023; 1: 98—104. [Tsinekker D.T., Modina T.N., Khusainov I.H., Tsinekker D.A., Gaf-farova A.A., Shaidullin A.I., Mamaeva E.V. Comorbidity of peri-odontitis and herpes in the postcovid period. — *Clinical Dentistry (Russia).* — 2023; 1: 98—104 (In Russian)]. [eLibrary ID: 50465575](#)
- Cuevas-Gonzalez M.V., Espinosa-Cristóbal L.F., Donohue-Cornejo A., Tovar-Carrillo K.L., Saucedo-Acuña R.A., García-Calderón A.G., Guzmán-Gastelum D.A., Cuevas-Gonzalez J.C. COVID-19 and its manifestations in the oral cavity: A system-atic review. — *Medicine (Baltimore).* — 2021; 100 (51): e28327. [PMID: 34941133](#)
- Абдрахманов А.К., Модина Т.Н., Цинеккер Д.А., Ильинская О.Н., Мамаева Е.В. Метагеном сообществ зубодесневой борозды у молодых людей с хроническим гингивитом. — *Пародонтология.* — 2019; 4: 345—350. [Abdrakhmanov A.K., Modina T.N., Tsinekker D.A., Ilyinskaya O.N., Mamaeva E.V. Metagenome of dentogingival sulcus communities in young people with chronic gingivitis. — *Parodontologiya.* — 2019; 4: 345—350 (In Russian)]. [eLibrary ID: 41531654](#)
- Kessler S.Q.S., Lang P.M., Dal-Pizzol T.S., Montagner F. Resistance profiles to antifungal agents in *Candida albicans* isolated from human oral cavities: systematic review and meta-analysis. — *Clin Oral Investig.* — 2022; 26 (11): 6479—6489. [PMID: 36167858](#)
- O'Donnell L.E., Millhouse E., Sherry L., Kean R., Malcolm J., Nile C.J., Ramage G. Polymicrobial *Candida* biofilms: friends and foe in the oral cavity. — *FEMS Yeast Res.* — 2015; 15 (7): fov077. [PMID: 26298018](#)
- Lourenço A.G., Ribeiro A.E.R.A., Nakao C., Motta A.C.F., Antonio L.G.L., Machado A.A., Komesu M.C. Oral *Candida* spp carriage and periodontal diseases in HIV-infected patients in Ribeirão Preto, Brazil. — *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* — 2017; 59: e29. [PMID: 28591257](#)
- Szabó B., Majoros L., Papp-Falusi E., Szabó Z., Szabó J., Márton I., Kelentey B. Studies on the possible aetiological role of different *Candida* species in pathogenesis of dentine caries by monitoring the calcium release from tooth particles. — *Acta Microbiol Immunol Hung.* — 2014; 61 (1): 11—7. [PMID: 24631750](#)
- Tsuzukibashi O., Uchibori S., Shinozaki-Kuwahara N., Kobayashi T., Takada K., Hirasawa M. A selective medium for the isolation of *Corynebacterium* species in oral cavities. — *J Microbiol Methods.* — 2014; 104: 67—71. [PMID: 24971800](#)
- Benabdelkader S., Boxberger M., Lo C.I., Aboudharam G., La Sciola B., Fenollar F. *Corynebacterium dentalis* sp. nov., a new bacterium isolated from dental plaque of a woman with periodontitis. — *New Microbes New Infect.* — 2020; 33: 100625. [PMID: 31908782](#)
- Sedghi L., DiMassa V., Harrington A., Lynch S.V., Kapila Y.L. The oral microbiome: Role of key organisms and complex networks in oral health and disease. — *Periodontol 2000.* — 2021; 87 (1): 107—131. [PMID: 34463991](#)
- Bor B., Bedree J.K., Shi W., McLean J.S., He X. Saccharibacteria (TM7) in the human oral microbiome. — *J Dent Res.* — 2019; 98 (5): 500—509. [PMID: 30894042](#)
- Vieira Lima C.P., Grisi D.C., Guimarães M.D.C.M., Salles L.P., Kruly P.C., Do T., Dos Anjos Borges L.G., Dame-Teixeira N. Enrichment of sulphate-reducers and depletion of butyrate-producers may be hyperglycaemia signatures in the diabetic oral microbiome. — *J Oral Microbiol.* — 2022; 14 (1): 2082727. [PMID: 35694216](#)
- Saito D., Lemos L.N., Ferreira A.T.R.N., Saito C.P.B., de Oliveira R.F., Cannavan F.S., Tsai S.M. Draft Genome Sequences of Five Putatively Novel Saccharibacteria Species Assembled from the Human Oral Metagenome. — *Microbiol Resour Announc.* — 2022; 11 (7): e0024622. [PMID: 35758687](#)