

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Гимранова И.А., Хакимова Л.Р., Акмалова Г.М., Газизуллина Г.Р.

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА: ВОЗМОЖНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 450000, г. Уфа, Россия

Микробиом полости рта имеет большое значение при заболеваниях пародонта. Микроорганизмы, образующие зубной налет, являются основной причиной пародонтита. Быстрая колонизация в поддесневой области может радикально изменить клиническое состояние пародонта. Идентификация состава биопленок ротовой полости и понимание сложных взаимосвязей, в которых участвуют микроорганизмы, факторы окружающей среды и состояние здоровья человека, позволяют улучшить диагностику, целенаправленную терапию пациентов с пародонтитом и прогнозирование течения заболевания. Методы молекулярной диагностики все больше отодвигают идентификацию пародонтопатогенов микробиологическими исследованиями. Так как имеют значительные преимущества такие, как быстрое и более точное получение результатов, способность обнаруживать и идентифицировать все микроорганизмы в биопленках полости рта, включая некультивируемые виды, показывая сложность микробиома полости рта и обнаруживая появление устойчивости к антибиотикам у патогенных микроорганизмов. В обзоре описаны следующие методы: культивирование пародонтопатогенов, полимеразная цепная реакция (ПЦР), полимеразная цепная реакция в реальном времени (ПЦР в реальном времени), изотермическая петлевая амплификация (LAMP), секвенирование гена 16S рРНК, секвенирование следующего поколения (NGS) и микрочипы с использованием метода гибридизации. Описаны преимущества и недостатки методов в исследовании пародонтопатогенов. Перечисленные методы позволяют быстро обнаруживать даже небольшие количества бактерий, присутствующие в диагностическом материале, и оказываются особенно полезными для обнаружения микроорганизмов, которые трудно или невозможно вырастить в бактериологических лабораториях.

Ключевые слова: пародонтит, диагностика; *Porphyromonas gingivalis*; *Treponema denticola* и *Tannerella forsythia*; ПЦР; секвенирование; NGS-секвенирование.

Для цитирования: Гимранова И.А., Хакимова Л.Р., Акмалова Г.М., Газизуллина Г.Р.

Современные методы диагностики заболеваний пародонта: возможности и перспективы (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (9): 570-577. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-9-570-577>

Для корреспонденции: Гимранова Ирина Анатольевна, канд. мед. наук, и.о. зав. каф. фундаментальной и прикладной микробиологии; e-mail: mia8408@mail.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 02.05.2023

Принята к печати 30.05.2023

Опубликовано 08.09.2023

Gimranova I.A., Khakimova L.R., Akmalova G.M., Gazizullina G. R.

MODERN METHODS OF DIAGNOSIS OF PERIODONTAL DISEASES: OPPORTUNITIES AND PROSPECTS (REVIEW OF LITERATURE)

Bashkir State Medical University (BSMU), 450008, Ufa, Russia

The oral microbiome is of great importance in periodontal disease. Plaque forming microorganisms are the main cause of periodontitis. Rapid colonization in the subgingival region can radically change the clinical state of the periodontium. Identify the composition of oral biofilms and understand the complex relationships that involve microorganisms, environmental factors, and human health. All this makes it possible to improve the diagnosis, targeted therapy of patients with periodontitis and the prognosis of the course of the disease. Methods of molecular diagnostics increasingly postpone the identification of periodontopathogens by microbiological studies. Since there are significant advantages such as faster and more accurate results, the ability to detect and identify all microorganisms in oral biofilms, including non-culturable species, showing the complexity of the oral microbiome and detecting the emergence of antibiotic resistance in pathogenic microorganisms. The following methods are described in the review: cultivation of periodontal pathogens, polymerase chain reaction (PCR), real-time polymerase chain reaction (real-time PCR), isothermal loop amplification (LAMP), 16S rRNA gene sequencing, next generation sequencing (NGS), and microarrays with using the hybridization method. The advantages and disadvantages of methods in the study of periodontopathogens are described. These methods allow for the rapid detection of even small amounts of bacteria present in diagnostic material and are particularly useful for the detection of microorganisms that are difficult or impossible to grow in bacteriological laboratories.

Key words: periodontitis; diagnostics; *Porphyromonas gingivalis*; *Treponema denticola* and *Tannerella forsythia*; PCR; sequencing; NGS sequencing.

For citation: Gimranova I.A., Khakimova L.R., Akmalova G.M., Gazizullina G. R.

Modern methods of diagnosis of periodontal diseases: opportunities and prospects (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68 (9): 570-577 (in Russ.)

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-9-570-577>

For correspondence: Gimranova I.A., PhD. Sci. Med., head Department of Fundamental and Applied Microbiology BSMU;

e-mail: mia8408@mail.ru

Information about authors:

Gimranova I.A., <https://orcid.org/0000-0002-6024-0191>;

Khakimova L.R., <https://orcid.org/0000-0003-0979-0283>;

Akmalova G.M., <https://orcid.org/0000-0002-8487-1879>;

Gazizullina G. R., <https://orcid.org/0009-0005-2508-7901>.

Conflict of interest. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 02.05.2023

Accepted 30.05.2023

Published 08.09.2023

Пародонтит. Микроорганизмы, живущие в симбиозе с людьми, имеют большое значение для здоровья организма человека и играют важную роль в патологических состояниях организма. Изменения в микробиоме способствуют патогенезу многих заболеваний и отражают состояние здоровья или болезни человека. Таким образом, мониторинг изменений в микробиоме являются многообещающим потенциально новым критерием в диагностике и прогнозировании заболеваний [1].

Заболевания пародонта – одна из наиболее актуальных и изучаемых проблем в стоматологии. Результаты исследования, проведенного научным объединением ВОЗ, демонстрируют, что уровень заболеваний пародонта находится на высоком уровне и эволюционирует в возрастной группе от 20 до 44 лет (65-95%) и в возрасте 15-19 лет (55-89%). В России распространенность заболеваний пародонта варьирует от 48,2% среди детей в возрасте 12 лет до 86,2% к 44 годам, а среди людей в возрасте 60-65 лет она достигает 100% [2]. Пародонтит – хроническое воспалительное заболевание, связанное с изменениями в поддесневой микробиоте. Тяжелое течение заболевания может привести к потере зубов и значительному снижению качества жизни пациента. Нарушение баланса в микробиоме ротовой полости вместе с факторами окружающей среды и наследственностью являются основными причинами, влияющими на возникновение и прогрессирование данного заболевания [3]. В начальной стадии пародонтита и при его прогрессировании патогенные бактерии колонизируют пародонтальный карман, образуют поддесневые биопленки, которые прикрепляются, в основном, к поверхности корня зуба, вызывая воспаление в тканях пародонта [4]. При тяжелых формах заболевания отмечается деструкция пародонтальных тканей, что приводит к прогрессирующей потере костной ткани и, в конечном счете, к подвижности и потере зубов. Инфекционный процесс при пародонтите вызывает воспалительную реакцию иммунной системы человека и обострение других хронических заболеваний [1]. Хотя болезнь может быть купирована, состояние пародонта необходимо постоянно контролировать после первоначального лечения потому, что болезнь может повторяться и прогрессировать без явных симптомов. Этиология данного заболевания до конца не ясна, и к нему могут привести хронические заболевания, такие как сахарный диабет, ожирение, синдром

приобретенного иммунодефицита и стресс, которые способствуют развитию воспаления пародонта. К примеру, избыточный уровень глюкозы в крови вызывает провоспалительный каскад при формировании заболевания [5]. Курение приводит к значительному сужению микрососудов, маскирующему клинические признаки кровоточивости при зондировании [6]. Ранее окклюзионная травма (повреждение опорного аппарата зуба вследствие воздействия жевательных сил) считалась основным фактором, приводящим к пародонтиту, что наблюдалось на моделях животных, но не определены доказательства такого явления у человека [7, 8].

Таким образом, традиционные, используемые клинические критерии для прогнозирования течения заболевания могут быть полезны, но они не могут адекватно предсказать взаимосвязь между начальными проявлениями и прогрессированием заболевания. Без надежного способа прогнозирования прогрессирования болезни, выявление больных, нуждающихся в лечении, возникает только после очевидных разрушений тканей.

Микробиом полости рта при пародонтите. Клинический диагноз заболеваний пародонта в значительной степени зависит от признаков, таких как потеря эпителиального прикрепления зуба, глубина зондирования кармана, кровоточивость при зондировании, индекс зубного налета, подвижность зуба, поражение фуркаций и рентгенологическая оценка костных структур. Однако, эти показатели не отображают текущее состояние болезни и не дают информацию об активности или риске развития заболевания [8]. Клиническая диагностика имеет свои ограничения и не позволяет врачам-клиницистам определить причину, патогенез или прогноз заболевания в случае запущенной стадии пародонтита. Поэтому считается, что использование доступных технологий, таких как молекулярный анализ может помочь в определении качественного и количественного состава пародонтальной микробиоты. Точное определение состава микробиома пародонтальных карманов может сыграть важную роль в процессе разработки эффективной и адекватной терапии [9].

В здоровом состоянии пародонта количество бактерий ротовой полости в среднем составляет около 10^9 , тогда как в случае пародонтита это количество превышает 10^{87} [10]. Оценка состава поддесневой биопленки микробиологическими и молекулярными методами выявили связь с большим количеством

микроорганизмов, некоторые из которых способны разрушать ткани пародонта [11]. Еще в 1998 году S.S. Socransky и соавт. [12] сгруппировали бактерии на несколько подклассов, основанных на их патогенности и способности к колонизации в поддесневой области. Они предложили концепцию бактериальных комплексов, связанных с тяжестью пародонтита и разделили их на пять цветов: желтый, красный, зеленый, оранжевый и фиолетовый. Исследователи пришли к мнению, что первоначально непатогенные бактерии, принадлежащие к желтому, зеленому и фиолетовому комплексам, выступают инициаторами образования биопленок [13]. Однако было также обнаружено, что эти виды микроорганизмов придают адгезивные свойства бактериям из оранжевого комплекса, что может привести к созданию благоприятных условий для роста таких бактерий, как *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* и *Tannerella forsythia*, которые относятся к красному комплексу и вызывают пародонтит различной степени тяжести. Кроме бактерий «красного комплекса» в пародонтальных карманах находят и *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, который отнесен к фиолетовому комплексу и связан с возникновением агрессивных форм воспаления пародонта, например, локализованный ювенильный пародонтит или резистентный к лечению пародонтит (рефрактерный пародонтит). Это грамотрицательные бактерии, серотипы А, В и С которых играют важную роль в быстром прогрессировании заболевания [14]. Другие комплексы имеют низкое или умеренное влияние на развитие пародонтита [12]. Среди многих других бактерий, участвующих в развитии болезни встречаются *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Peptostreptococcus micros* и виды *Spirochetes* [15].

В отечественной классификации пародонтопатогены разделены на два порядка. Пародонтопатогены I порядка, такие как *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* и *T. forsythia* способствуют быстрому прогрессированию заболевания, так как они обладают внутриклеточной формой жизни и содержатся в эпителии десен и тканях пародонта, а их факторы вирулентности приводят к разрушению тканей [4, 16]. С другой стороны, пародонтопатогены II порядка (*T. denticola*, *Fusobacterium nucleatum* и *Prevotella intermedia*) играют менее важную роль в процессе развития заболеваний пародонта. Однако, они могут образовывать ассоциации с *P. gingivalis* и *T. forsythia*, более патогенными видами бактерий, что способствует распространению воспаления в поддесневой области. Если у пациента обнаружена только *P. intermedia* это может указывать на начало воспалительного процесса, в то время как наличие ассоциаций с другими пародонтопатогенами свидетельствует о прогрессировании заболевания [17, 18].

Показано также, что различные вирусные агенты, такие как вирусы герпеса, принимают активное участие в процессе агрессивного пародонтита [19]. Кроме того, у лиц с первичным и приобретенным иммунодефицитом встречаются множество различных грибковых агентов, включая *Candida albicans*, которая играет немаловажную роль во взаимодействиях с

другими пародонтопатогенами, усиливающими клиническое течение заболевания [20, 21].

Методы диагностики пародонтопатогенов. Идеальный метод диагностики пародонтита должен позволять, во-первых, проводить скрининг микробиоты, во-вторых, прогнозировать течение заболевания, в-третьих, контролировать эффективность проводимой терапии [8].

В настоящее время происходит постепенный отход от анализа влияния конкретных патогенов на развитие заболеваний пародонта в сторону анализа всего микробиома. Для изучения роли бактерий в развитии пародонтита требуются новые методы диагностики, позволяющие обнаруживать все более сложные взаимосвязи микроорганизмов, факторы внешней среды и состояние здоровья человека. Большинство видов микроорганизмов невозможно культивировать в бактериологических лабораториях, так как бактерии полости рта не могут воссоздавать свои трофические взаимосвязи друг с другом, преобладающие в их естественной среде. Поэтому большинство видов не обнаруживаются стандартными микробиологическими методами [22, 23].

Культивирование микроорганизмов. Долгое время методы культивирования считались золотым стандартом в диагностике пародонтопатогенов. Как и любые способы диагностики, традиционные микробиологические методы имеют свои преимущества, но также и ряд ограничений. Большинство возбудителей, присутствующих в глубоких пародонтальных карманах, являются анаэробами и, соответственно, требуют специфические условия культивирования, условия отбора проб и транспортировки, несоблюдение строгих правил потенциально может привести к ошибочному диагностическому результату. К трудностям также относятся отбор подходящих сред для культивирования, низкая концентрация выделенных бактерий, длительные периоды роста бактерий и ожидания перед постановкой точного диагноза. Также микробиологический метод не позволяет дифференцировать до вида между близкородственными таксонами. Кроме того, данный метод не подходит для идентификации многих клинически значимых микроорганизмов, к примеру, *T. forsythia* [24]. Несмотря на большое количество недостатков, тем не менее, невозможно отказаться от данного метода, так как он применяется для определения чувствительности к антибиотикам, что имеет большую значимость в назначении антибактериальных препаратов для лечения пациентов. Таким образом, традиционные методы, основанные на культивировании, не совсем соответствуют требованиям современной стоматологии, но отказаться от них полностью не представляется возможным.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Современная потребность в точности, быстрой идентификации и количественном определении пародонтальных патогенов требовали разработки других эффективных методов. Кроме микробиологического метода использовали метод проточной цитометрии, гибридизации ДНК-ДНК, иммунохимические анализы и другие. Однако данные методы имеют относитель-

но низкую специфичность и чувствительность при идентификации пародонтопатогенов [25]. Появление ПЦР привело к созданию более точного инструмента для идентификации общего количества патогенов за счет разработки видоспецифичных праймеров, которые амплифицируют только целевые последовательности [26]. Например, разработаны различные тест-системы ПЦР-диагностики для более точной и быстрой детекции множества пародонтопатогенов. Наиболее известная в нашей стране - отечественная тест-система «МультиДент-5» производства ООО «ГенЛаб» (Россия) для мультиплексной ПЦР с праймерами к пяти основным анаэробным пародонтопатогенам: *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia*, *P. intermedia*, *P. gingivalis* и *T. denticola*, также используются «Комплекс Дентоскрин» и набор «ДНК Экспресс» для выделения ДНК из биологического материала и последующего анализа выделенной ДНК методом ПЦР [18, 27]. Немаловажно, что кроме способности обнаруживать анаэробные бактерии ротовой полости, ПЦР позволяет обнаружить ДНК жизнеспособных и нежизнеспособных клеток, тем самым обеспечивая более полную информацию о микробиоте рта, что дает возможность коррекции текущего состояния заболевания [8]. Однако для ПЦР тоже есть некоторые ограничения в виде ингибиторов ДНК-полимеразы, присутствующих в клинических образцах – гемоглобин, гепарин и этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА), спирты, детергенты и соли, присутствующие в процессе выделения ДНК, которые могут снижать эффективность реакции или даже тормозить её. Другим ограничением является потребность в дорогостоящем специализированном оборудовании хорошо оснащенных лабораториями [28].

За многие годы методика ПЦР претерпела множество модификаций, что позволило расширить ее возможности. Например, ОТ-ПЦР (обратная транскрипция) – метод для обнаружения молекул РНК в образце с заранее известным участком последовательности, комплементарным праймеру, ПЦР-ПДРФ (полиморфизм длины рестрикционных фрагментов) – реакция ПЦР в сочетании с рестрикционным анализом продуктов амплификации и другие. ПЦР в режиме реального времени (или количественная ПЦР, англ. *Real-time PCR*, *qPCR*, *qRT-PCR*) с видоспецифичными праймерами обеспечивает точную количественную оценку отдельных видов бактерий и их общее количество в образцах зубного налета. Этот метод позволяет определить, какие виды бактерий, образующие биопленку полости рта, являются доминирующими, что дает возможность применения эффективной противомикробной терапии. ПЦР в реальном времени используется для качественной и количественной оценки пародонтопатогенов зубного налета, содержимого пародонтальных карманов [29]. Примером применения данного метода служит использование в нашей стране набора Дентофлор (ООО «ДНК-Технология», Россия), который позволяет определить суммарное количество бактериальной 16S рДНК шести пародонтопатогенов (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. denticola*, *T. forsythia* и *C. albicans*) и

хромосомной ДНК человека [30]. Определение количества отдельных микроорганизмов позволяет получить более полное представление об экосистеме полости рта и выделить преобладание конкретных бактерий или их комплексы [23].

За счет всех вышеперечисленных преимуществ в современном мире метод ПЦР считается золотым стандартом для выявления этиологических факторов, участвующих в прогрессировании заболеваний пародонта [31, 32].

Изотермическая петлевая амплификация (LAMP). LAMP является распространенным методом для быстрой и чувствительной диагностики. Данный способ также можно считать наиболее перспективным для анализа в условиях, когда время и ресурсы ограничены, что идеально подходит для определения микробиоты пародонтальных карманов и определения эффективного лечения в стоматологических клиниках. В LAMP используются ДНК-полимеразы, отличающиеся цепь-вытесняющей активностью и 4-6 праймеров, чтобы обеспечить более специфическую реакцию. В конечном итоге в результате образуются специфические структуры из повторяющихся инвертированных последовательностей оригинальной ДНК-мишени, связанные вместе петлями одноцепочечной ДНК. Метод LAMP эффективно увеличивает количество ДНК в 10^9 - 10^{10} раз за 15-60 минут, благодаря использованию ДНК-полимераз с цепь-вытесняющей активностью, что обеспечивает высокую эффективность амплификации. В дополнение к этому, метод LAMP может использоваться для амплификации РНК, если в реакционную смесь добавляется обратная транскриптаза. Метод LAMP на микрочипе занимает от 15 минут до часа, что меньше, чем обычно требуется для ПЦР. Микросистемы для обоих методов чувствительны и специфичны, однако LAMP предпочтительнее благодаря изотермическому режиму реакций, который делает его более простым и доступным. Кроме того, разнообразие визуальных методов детектирования продуктов LAMP позволяет выбирать варианты, не требующие использования специального оборудования для детекции положительных и отрицательных результатов. Часто эти системы применяются для предварительного тестирования или быстрого мониторинга. Если необходим количественный анализ методом LAMP, требуются стандартные разведения или внутренние контроли. Однако, сложность мультиплексного анализа является ограничением метода LAMP, но благодаря иммобилизации праймеров в микроструктурах чипа, амплификация и детектирование разных фрагментов ДНК одновременно в разных камерах может быть осуществлена, используя один тот же интеркалирующий краситель [33]. В настоящее время существуют различные коммерческие наборы для идентификации *Escherichia coli* и *Listeria monocytogenes* методом LAMP [34]. Также данный метод применяется и для идентификации ДНК вирусов, таких как вирус простого герпеса человека (HSV), аденовирусы и другие, для обнаружения паразитов, например, токсоплазмы. Интересно использование данного метода для обна-

ружения генетически модифицированных продуктов путем сочетания LAMP с иммунохроматографией [8].

К преимуществам петлевой изотермической амплификации относится способность идентифицировать отдельные штаммы бактерий (по ДНК или из целых клеток) высокоспецифичным и быстрым способом посредством визуальной интерпретации результатов. Все это позволяет использовать метод LAMP в условиях стоматологических поликлиник, чтобы упростить и ускорить процессы диагностики заболеваний пародонта.

Секвенирование гена 16S рРНК. Еще одним методом молекулярной диагностики пародонтита является секвенирование консервативного гена 16S рРНК. Между последовательностями данного гена у разных бактерий существуют уникальные различия, которые позволяют идентифицировать анализируемые бактерии до рода или даже до вида [23]. Секвенирование на начальных этапах идет при помощи ПЦР с праймерами, подобранными к гену 16S рРНК. Затем продукт ПЦР секвенируется и полученные последовательности сравниваются с базами данных известных видов бактерий [22]. Первой глобальной базой данных, содержащей информацию о микроорганизмах полости рта была «HOMD» (Human Oral Microbiome Database). Там представлены данные почти о 700 видах бактерий, обитающих в ротовой полости человека. Около 49% из них имеют официальное название, 17% без названий и 34% считаются некультивируемыми фило типами, т.е. таксономическими единицами различного ранга: штаммы, виды, роды (www.homd.org). Инструменты HOMD позволяют сравнивать последовательность анализируемых бактерий с фенотипической, филогенетической и клинической информацией, доступной в базе данных. Предполагается, что если последовательность гена 16S рРНК совпадает не менее чем на 97% с известной последовательностью из базы данных, то можно отнести исследуемые бактерии к роду, а если совпадение на 99%, то можно отнести его и к определенному виду [23].

Также преимуществом секвенирования 16S рРНК является подбор узкоспецифичных праймеров для определенных групп или штаммов бактерий и возможность их амплификации из образцов материала. Это позволяет диагностировать инфекции, вызванные некультивируемыми бактериями. Недостатком метода является низкая эффективность в разделении близкородственных и сильно рекомбинируемых видов, например, виды из рода *Neisseria* и некоторые виды рода *Streptococcus*. Несмотря на это, секвенирование гена 16S рРНК позволило выявить более 300 видов бактерий, ранее не идентифицируемых стандартными методами культивирования [23].

С помощью секвенирования 16S рРНК определили частоту встречаемости *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythia* и *T. denticola* [35]. Обнаружили бактерии, вызывающие пародонтит в других частях тела человека, где эти бактерии могут быть обнаружены в очаговых инфекциях [36]. Метод секвенирования гена, кодирующего 16S рРНК, может быть полезен и в диагностике эндопародонтальных

инфекций, так как определяет бактериальный состав в очаге поражения и позволяет определить источник инфекции [37]. Благодаря секвенированию возможно изучение состава всего микробиома полости рта с определением изменения под воздействиями различных факторов. Например, сравнить и изучить микробиом поддесневой зубного налета курильщиков и некурящих людей, связанный с воспалением вокруг зубных имплантатов [38].

Секвенирование нового поколения (NGS). В последние годы произошло значительное развитие технологий секвенирования ДНК. Массовое параллельное или глубокое секвенирование — это термины, обозначающие технологию секвенирования ДНК, которая произвела революцию в геномных исследованиях. Используя NGS, весь человеческий геном можно секвенировать в течение одного дня. Секвенирование следующего поколения нашло применение в выявлении и понимании биоразнообразия геномов вирусов, в том числе гриппа, ВИЧ и вирусного гепатита В [39]. Данный метод использовался при оценке изменений в составе микробиома поддесневой области у больных с пародонтитом после лечения, а также сравнивался с микробиомом пародонтальных карманов у курильщиков и некурящих людей [40]. NGS-секвенирование — отличный инструмент для изучения разнообразия биопленок, обнаруживаемых в ротовой полости человека [41]. Данный метод успешно используется в молекулярной диагностике воспаления пародонта, но требуется стандартизация метода [23].

Микрочипы с использованием метода гибридизации. Микрочипы с использованием метода гибридизации применяются для идентификации микроорганизмов и определения экспрессии генов. Они состоят из одноцепочечных зондов, связанных ковалентно со стеклянными или нейлоновыми поверхностями микросхемы. Для обнаружения специфичных фрагментов нуклеиновых кислот используются зонды в виде одноцепочечных фрагментов ДНК с известной последовательностью, продукты ПЦР или олигонуклеотиды. Зонды предназначены для гибридизации со специфическими последовательностями РНК или ДНК из тестируемого образца биологического материала. Последовательность зондов чаще всего выбирается из баз данных GeneBank или UniGene [23, 42].

Все коммерческие доступные наборы микрочипов имеют один механизм действия. После нанесения образца на поверхность чипа искомым одноцепочечным фрагмент нуклеиновой кислоты гибридизируется с комплементарным зондом. Образуются двухцепочечные фрагменты, которые регистрируются флуоресцентным, хемилюминесцентным или масс-спектрометрическими методами. Интенсивность сигнала, полученного от анализируемого образца, позволяет определить количество связанной нуклеиновой кислоты, и, таким образом, оценить количество микроорганизмов или уровень экспрессии генов в тестируемом материале [43]. Таким способом возможно определить агенты, связанные с вирулентностью микроорганизмов, например, гены устойчивости к антибиотикам. Микрочипы ДНК имеют неограни-

ченные возможности для обнаружения различных последовательностей ДНК. Они могут содержать от сотен до тысяч зондов на своей поверхности, а микрочипы с высокой плотностью содержат от тысяч до миллионов молекулярных зондов [43]. Коммерческие ДНК-чипы идентифицируют микроорганизмы биопленок при пародонтите. Микрочип для клинической пародонтальной диагностики ParoCheck® позволяет обнаруживать 10 видов ассоциированных бактерий с пародонтитом [44].

Заключение. Таким образом, биопленки в полости рта представляют собой сложные взаимодействия между сообществами микроорганизмов, и их состав имеет большое значение на течение заболеваний пародонта, что указывает на необходимость наиболее чувствительных, специфичных, быстрых методов диагностики. Современные методы молекулярной диагностики, применяемые в настоящее время, позволяют успешно исследовать микробиом полости рта, быстро обнаруживать пародонтопатогены, присутствующие в диагностическом биоматериале даже в небольших количествах, а также идентифицировать клинически значимые некультивируемые и труднокультивируемые виды микроорганизмов. Учитывая вышперечисленное, на сегодняшний день наиболее оптимальным является комбинация различных методов для каждого конкретного случая. Такой подход при этиологической диагностике больных пародонтитом позволяет успешно подбирать наиболее эффективные методы лечения, но необходимы дополнительные исследования по усовершенствованию, стандартизации и снижению стоимости описанных методов.

ЛИТЕРАТУРА

- Shi B., Chang M., Martin J., Mitreva M., Lux R., Klokkevold P., Sodergren E., Weinstock G.M., Naake S.K., Li H. Dynamic changes in the subgingival microbiome and their potential for diagnosis and prognosis of periodontitis. *mBio*. 2015; 6(1):e01926-14. DOI: 10.1128/mBio.01926-14.
- Корж В. И., Корж Д. В., Артеменко М. В. Ортопедическое лечение в системной концепции пародонтита. *Актуальные вопросы стоматологии: Сборник научных трудов, посвященный основателю кафедры ортопедической стоматологии КГМУ профессору Исааку Михайловичу Оксану*. Казань: Казанский государственный медицинский университет; 2021: 620-4.
- Lamont R.J., Koo H., Hajishengallis G. The Oral Microbiota: Dynamic Communities and Host Interactions. *Nat. Rev. Microbiol.* 2018; 16:745–59.
- Царёв В.Н., Арутюнов С.Д., Балмасова И.П., Бабаев Э.А., Николаева Е.Н., Ипполитов Е.В., Ильина Е.Н., Габибов А.Г. Молекулярная диагностика пародонтита и метагеномный анализ микробиоты пародонта у пациентов с сахарным диабетом II типа. *Бактериология*. 2018; 3(2): 30–7. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-2-30-37.
- Chapple I.L.C., Genco R. Diabetes and Periodontal Diseases: Consensus Report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J. Periodontol.* 2013; 84: 106–12.
- Zhang Y., He J., He B., Huang R., Li M. Effect of Tobacco on Periodontal Disease and Oral Cancer. *Tob. Induc. Dis.* 2019; 17. DOI: 10.18332/tid/1061878.
- Fan J., Caton J.G. Occlusal Trauma and Excessive Occlusal Forces: Narrative Review, Case Definitions, and Diagnostic Considerations: Occlusal Trauma and Excessive Occlusal Forces. *J. Periodontol.* 2018; 89: 214–22.
- Lenkowski M., Nijakowski K., Kaczmarek M., Surdacka A. The Loop-Mediated Isothermal Amplification Technique in Periodontal Diagnostics: A Systematic Review. *J. Clin. Med.* 2021; 10: 1189. DOI: 10.3390/jcm10061189.
- Wolf D.L., Lamster I.B. Contemporary Concepts in the Diagnosis of Periodontal Disease. *Dental Clinics*. 2011; 55: 47–61.
- Chen C., Hemme C., Beleno J., Shi Z.J., Ning D., Qin Y., Tu Q., Jorgensen M., He Z., Wu L. et al. Oral Microbiota of Periodontal Health and Disease and Their Changes after Nonsurgical Periodontal Therapy. *ISME J.* 2018; 12: 1210–24.
- Deo P.N., Deshmukh R. Oral Microbiome: Unveiling the Fundamentals. *J. Oral Maxillofac. Pathol. JOMFP* 2019; 23: 122–8.
- Socransky S.S., Haffajee A.D., Cugini M.A., Smith C., Kent R.L. Microbial Complexes in Subgingival Plaque. *J. Clin. Periodontol.* 1998; 25: 134–44.
- Aruni, A.W., Dou, Y., Mishra, A., Fletcher H.M. The Biofilm Community: Rebels with a Cause. *Curr. Oral Health Rep.* 2015; 2: 48–56.
- Nørskov-Lauritsen N., Claesson R., Birkeholm J.A., Åberg C.H., Haubek D. Aggregatibacter Actinomycetemcomitans: Clinical Significance of a Pathobiont Subjected to Ample Changes in Classification and Nomenclature. *Pathogens*. 2019; 8: 243.
- Dahlen G., Basic A., Bylund J. Importance of Virulence Factors for the Persistence of Oral Bacteria in the Inflamed Gingival Crevice and in the Pathogenesis of Periodontal Disease. *J. Clin. Med.* 2019; 8: 1339.
- Балмасова И.П., Царёв В.Н., Янушевич О.О., Маев И.В., Мкртымян А.М., Арутюнов С.Д. Микроэкология пародонта. Взаимосвязь локальных и системных эффектов. М.: Практическая медицина; 2021.
- Царев В.Н., Николаева Е.Н., Ипполитов Е.В. Пародонтопатогенные бактерии – основной фактор возникновения и развития пародонтита. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2017; 5: 101-12. DOI: 10.36233/0372-9311-2017-5-101-112.
- Чуйкин С.В., Мавзютов А.Р., Чуйкин О.С., Акатьева Г.Г., Кучук К.Н. Исследование пародонтопатогенной микрофлоры методом полимеразной цепной реакции у детей с врожденной расщелиной неба и дефектом после уранопластики. *Стоматология детского возраста и профилактика*. 2022; 22(1): 19-28. DOI: 10.33925/1683-3031-2021-22-1-19-28.
- Slots J., Slots H. Periodontal Herpesvirus Morbidity and Treatment. *Periodontol.* 2000. 2019; 79: 210–20.
- Sztukowska M.N., Dutton L.C., Delaney C., Ramsdale M., Ramage G., Jenkinson H.F., Nobbs A.H., Lamont R.J. Community Development between *Porphyromonas gingivalis* and *Candida albicans* Mediated by InlJ and Als3. *MBio*. 2018; 9:e00202-18.
- 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. São Paulo*. 2017; 59:e29. DOI: 10.1590/S1678-9946201759029.
- Tomita S., Komiya-Ito A., Imamura K., Kita D., Ota K., Takayama S., Makino-Oi A., Kinumatsu T., Ota M., Saito A.: Prevalence of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythia* in Japanese patients with generalized chronic and aggressive periodontitis. *Microb. Pathog.* 2013; 61-62: 11-5.
- Korona-Główniak I., Siwiec R., Berger M., Malm A., Szymańska J. Molecular diagnostics of periodontitis. *Postępy Hig Med Dosw (Online)*. 2017; 71(0):47-56. DOI: 10.5604/17322693.1229820. PMID: 28181911.
- Hiranmayi K.V., Sirisha K., Ramoji R.M., Sudhakar P. Novel Pathogens in Periodontal Microbiology. *J. Pharm. Bioallied Sci.* 2017; 9:155–63.
- Danišová O., Halánová M., Valenčáková A., Luptáková L. Sensitivity, Specificity and Comparison of Three Commercially Available Immunological Tests in the Diagnosis of *Cryptosporidium* Species in Animals. *Braz. J. Microbiol.* 2018; 49: 177–83.
- Kumawat R., Ganvir S., Hazarey V., Qureshi A., Purohit H. Detection of *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola* in Chronic and Aggressive Periodontitis Patients: A Comparative Polymerase Chain Reaction Study. *Contemp. Clin. Dent.* 2016; 7: 481.
- Царев В.Н., Николаева Е. Н., Ягодина Е. В., Трефилова Ю.А., Ипполитов Е.В. Молекулярные методы диагностики гингивита

- и пародонтита у ВИЧ-инфицированных пациентов. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61(1): 54-9.
28. Sidstedt M., Rådström P., Hedman J. PCR Inhibition in QPCR, DPCR and MPS—Mechanisms and Solutions. *Anal. Bioanal. Chem.* 2020; 412: 2009–23.
29. Gatto M.R., Montevocchi M., Paolucci M., Landini M.P., Checchi L.: Prevalence of six periodontal pathogens in subgingival samples of Italian patients with chronic periodontitis. *New Microbiol.* 2014; 37: 517-24.
30. Зорина О.А., Венедиктова В.А., Прокопьев В.В., Амхадова М.А. Изучение влияния пародонтопротекторов на состоянии пародонта в норме и при хроническом пародонтите. *Стоматология для всех*. 2016; 3: 34-9.
31. Choi H., Kim E., Kang J., Kim H.-J., Lee J.-Y., Choi J., Joo J.-Y. Real-Time PCR Quantification of 9 Periodontal Pathogens in Saliva Samples from Periodontally Healthy Korean Young Adults. *J. Periodontal Implant Sci.* 2018; 48: 261.
32. Arenas R.V.A., de Avila E.D., Nakano V., Avila-Campos M.J. Qualitative, Quantitative and Genotypic Evaluation of Aggregatibacter Actinomycetemcomitans and Fusobacterium Nucleatum Isolated from Individuals with Different Periodontal Clinical Conditions. *Anaerobe*. 2018; 52: 50–8.
33. Зубик А.Н., Рудницкая Г.Е., Евстапов А.А. Изотермическая петлевая амплификация LAMP в формате микроустройств (обзор). *Научное приборостроение*. 2021; 31(1): 3–43.
34. Lim H.S.Y., Zheng Q., Miks-Krajnik M., Turner M., Yu, H.-G. Evaluation of Commercial Kit Based on Loop-Mediated Isothermal Amplification for Rapid Detection of Low Levels of Uninjured and Injured Salmonella on Duck Meat, Bean Sprouts, and Fishballs in Singapore. *J. Food Prot.* 2015; 78: 1203–7.
35. Ramich T., Schacher B., Scharf S., Röhlke L., Arndt R., Eickholz P., Nickles K. Subgingival plaque sampling after combined mechanical and antibiotic nonsurgical periodontal therapy. *Clin. Oral Investig.* 2015; 19: 27-34.
36. Ding F., Lyu Y., Han X., Zhang H., Liu D., Hei W., Liu Y. Detection of periodontal pathogens in the patients with aortic aneurysm. *Chin. Med. J.* 2014; 127: 4114-8.
37. Fujii R., Muramatsu T., Yamaguchi Y., Asai T., Aida N., Suehara M., Moringa K., Furusawa M. An endodontic-periodontal lesion with primary periodontal disease: a case report on its bacterial profile. *Bull. Tokyo Dent. Coll.* 2014; 55: 33-7.
38. Moon J.H., Lee J.H., Lee J.Y. Subgingival microbiome in smokers and non-smokers in Korean chronic periodontitis patients. *Mol. Oral Microbiol.* 2015; 30: 227-41.
39. Radford A.D., Chapman D., Dixon L., Chantrey J., Darby A.C., Hall N. Application of next-generation sequencing technologies in virology. *J. Gen. Virol.* 2012; 93: 1853-68.
40. Schwarzberg K., Le R., Bharti B., Lindsay S., Casaburi G., Salvatore F., Saber M.H., Alonazian F., Slots J., Gottlieb R.A., Caporaso J.G., Kelley S.T. The personal human oral microbiome obscures the effects of treatment on periodontal disease. *PLoS One*. 2014; 9: e86708.
41. Shokralla S., Spall J.L., Gibson J.F., Hajibabaei M. Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research. *Mol. Ecol.* 2012; 21: 1794-1805.
42. Столповский Ю.А., Кузнецов С.Б., Солоднева Е.В., Шумов И.Д. Новая система генотипирования крупного рогатого скота на основе технологии ДНК-микрочипов. *Генетика*. 2022; 58(8): 857-71. DOI: 10.31857/S0016675822080094.
43. Pozhitkov A.E., Beikler T., Flemmig T., Noble P.A. High-throughput methods for analysis of the human oral microbiome. *Periodontol. 2000*. 2011; 55: 70-86.
44. Topcuoglu N., Kulekci G. 16S rRNA based microarray analysis of ten periodontal bacteria in patients with different forms of periodontitis. *Anaerobe*. 2015; 35: 35-40.
- es in the subgingival microbiome and their potential for diagnosis and prognosis of periodontitis. *mBio*. 2015; 6(1):e01926-14. DOI: 10.1128/mBio.01926-14.
2. Korzh V. I., Korzh D. V., Artemenko M. V. Orthopedic treatment in the systemic concept of periodontitis. Actual issues of dentistry: Collection of scientific papers dedicated to the founder of the Department of Orthopedic Dentistry of KSMU, Professor Isaak Mikhailovich Oksman. Kazan': Kazanskiy gosudarstvennyi meditsinskiy universitet; 2021: 620-4. (in Russian)
3. Lamont R.J., Koo H., Hajishengallis G. The Oral Microbiota: Dynamic Communities and Host Interactions. *Nat. Rev. Microbiol.* 2018; 16: 745–59.
4. Tsarev V.N., Arutunov S.D., Balmasova I.P., Babaev E.A., Nikolaeva E.N., Ippolitov E.V., Ilina E.N., Gabibov A.G. Molecular diagnostic of periodontitis and metagenomic analysis of the periodontal microbiota in patients by type II diabetes mellitus. *Bakteriologiya*. 2018; 3(2): 30–7. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-2-30-37. (in Russian)
5. Chapple I.L.C., Genco R. Diabetes and Periodontal Diseases: Consensus Report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J. Periodontol.* 2013; 84: 106–12.
6. Zhang Y., He J., He B., Huang R., Li M. Effect of Tobacco on Periodontal Disease and Oral Cancer. *Tob. Induc. Dis.* 2019; 17. <http://dx.doi.org/10.18332/tid/1061878>. Kolenbrander P.E., Palmer R.J. Jr, Periasamy S., Jakubovics N.S. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance. *Nat. Rev. Microbiol.* 2010. 8: 471-80. DOI: 10.1038/nrmicro2381.
7. Fan J., Caton J.G. Occlusal Trauma and Excessive Occlusal Forces: Narrative Review, Case Definitions, and Diagnostic Considerations: Occlusal Trauma and Excessive Occlusal Forces. *J. Periodontol.* 2018; 89: 214–22.
8. Lenkowski M., Nijakowski K., Kaczmarek M., Surdacka A. The Loop-Mediated Isothermal Amplification Technique in Periodontal Diagnostics: A Systematic Review. *J. Clin. Med.* 2021; 10: 1189. DOI: 10.3390/jcm10061189.
9. Wolf D.L., Lamster I.B. Contemporary Concepts in the Diagnosis of Periodontal Disease. *Dental Clinics*. 2011; 55: 47–61.
10. Chen C., Hemme C., Beleno J., Shi Z.J., Ning D., Qin Y., Tu Q., Jorgensen M., He Z., Wu L. et al. Oral Microbiota of Periodontal Health and Disease and Their Changes after Nonsurgical Periodontal Therapy. *ISME J.* 2018; 12: 1210–24.
11. Deo P.N., Deshmukh R. Oral Microbiome: Unveiling the Fundamentals. *J. Oral Maxillofac. Pathol. JOMFP*. 2019; 23: 122–8.
12. Socransky S.S., Haffajee A.D., Cugini M.A., Smith C., Kent R.L. Microbial Complexes in Subgingival Plaque. *J. Clin. Periodontol.* 1998; 25: 134–44.
13. Aruni A.W., Dou Y., Mishra A., Fletcher H.M. The Biofilm Community: Rebels with a Cause. *Curr. Oral Health Rep.* 2015; 2: 48–56.
14. Nørskov-Lauritsen N., Claesson R., Birkeholm J.A., Åberg C.H., Haubek D. Aggregatibacter Actinomycetemcomitans: Clinical Significance of a Pathobiont Subjected to Ample Changes in Classification and Nomenclature. *Pathogens*. 2019; 8: 243.
15. Dahlen G., Basic A., Bylund J. Importance of Virulence Factors for the Persistence of Oral Bacteria in the Inflamed Gingival Crevice and in the Pathogenesis of Periodontal Disease. *J. Clin. Med.* 2019; 8: 1339.
16. Balmasova I.P., Tsarev V.N., Yanushevich O.O., Maev I.V., Mkrtyunyan A.M., Arutyunov S.D. Microecology of the periodontium. The relationship of occurrence and systemic effects. Moscow: Prakticheskaya meditsina; 2021. (in Russian)
17. Tsarev V.N., Nikolaeva E.N., Ippolitov E.V. Periodontopathogenic bacteria are the main factor in the occurrence and development of periodontitis. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2017; 5: 101-12. DOI: 10.36233/0372-9311-2017-5-101-112. (in Russian)
18. Chuykin S.V., Mavzyutov A.R., Chuykin O.S., Akat'yeva G.G., Kuchuk K.N. Study of periodontal pathogens by polymerase chain reaction in children with congenital cleft palate and a postoperative defect. *Stomatologiya detskogo vozrasta i profilaktika*. 2022; 22(1): 19-28. DOI: 10.33925/1683-3031-2021-22-1-19-28. (in Russian)
19. Slots J., Slots H. Periodontal Herpesvirus Morbidity and Treatment. *Periodontol. 2000*. 2019; 79: 210–20.
20. Sztukowska M.N., Dutton L.C., Delaney C., Ramsdale M., Ramage

REFERENCES

1. Shi B., Chang M., Martin J., Mitreva M., Lux R., Klokkevold P., Sodergren E., Weinstock G.M., Haake S.K., Li H. Dynamic chang-

- G., Jenkinson H.F., Nobbs A.H., Lamont R.J. Community Development between *Porphyromonas Gingivalis* and *Candida Albicans* Mediated by InJ and Als3. *MBio*. 2018; 9: e00202-18.
21. 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. São Paulo*. 2017; 59:e29. DOI: 10.1590/S1678-9946201759029.
22. Tomita S., Komiya-Ito A., Imamura K., Kita D., Ota K., Takayama S., Makino-Oi A., Kinumatsu T., Ota M., Saito A.: Prevalence of Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis and Tannerella forsythia in Japanese patients with generalized chronic and aggressive periodontitis. *Microb.Pathog*. 2013; 61-62: 11-5.
23. Korona-Główniak I., Siwiec R., Berger M., Malm A., Szymańska J. Molecular diagnostics of periodontitis. *Postepy Hig Med. Dosw* (Online). 2017; 71(0): 47-56. DOI: 10.5604/17322693.1229820. PMID: 28181911.
24. Hiranmayi K.V., Sirisha K., Ramoji R.M., Sudhakar P. Novel Pathogens in Periodontal Microbiology. *J. Pharm. Bioallied Sci*. 2017; 9:155-63.
25. Danišová O., Halánová M., Valenčáková A., Luptáková L. Sensitivity, Specificity and Comparison of Three Commercially Available Immunological Tests in the Diagnosis of *Cryptosporidium* Species in Animals. *Braz. J. Microbiol*. 2018; 49: 177-83.
26. Kumawat R., Ganvir S., Hazarey V., Qureshi A., Purohit H. Detection of *Porphyromonas Gingivalis* and *Treponema Denticola* in Chronic and Aggressive Periodontitis Patients: A Comparative Polymerase Chain Reaction Study. *Contemp. Clin. Dent*. 2016; 7: 481.
27. Tsarev V.N., Nikolaeva E.N., Yagodina E.V., Trefilova Yu.A., Ippolitov E.V. The molecular techniques of diagnostic of gingivitis and periodontitis in HIV-infected patients. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2016; 61(1): 54-9. (in Russian)
28. Sidstedt M., Rådström P., Hedman J. PCR Inhibition in QPCR, DPCR and MPS—Mechanisms and Solutions. *Anal. Bioanal. Chem*. 2020; 412: 2009-23.
29. Gatto M.R., Montevecchi M., Paolucci M., Landini M.P., Checchi, L.: Prevalence of six periodontal pathogens in subgingival samples of Italian patients with chronic periodontitis. *New Microbiol*. 2014; 37: 517-24.
30. Zorina O.A., Venediktova V.A., Prokop'ev V.V., Amkhadova M.A. Study of the influence of periodontal protectors on the state of periodontium in normal and chronic periodontitis. *Stomatologiya dlya vseh*. 2016; 3: 34-9. (in Russian)
31. Choi H., Kim E., Kang J., Kim H.-J., Lee J.-Y., Choi J., Joo J.-Y. Real-Time PCR Quantification of 9 Periodontal Pathogens in Saliva Samples from Periodontally Healthy Korean Young Adults. *J. Periodontal Implant Sci*. 2018; 48: 261.
32. Arenas R.V.A., de Avila E.D., Nakano V., Avila-Campos M.J. Qualitative, Quantitative and Genotypic Evaluation of Aggregatibacter Actinomycetemcomitans and Fusobacterium Nucleatum Isolated from Individuals with Different Periodontal Clinical Conditions. *Anaerobe*. 2018; 52: 50-8.
33. Zubik A. N., Rudnitskaya G. E., Evstrapov A. A. Isothermal loop amplification of LAMP in microdevice format (review). *Nauchnoye priborostroyeniye*. 2021; 31(1): 3-43. (in Russian)
34. Lim H.S.Y., Zheng Q., Miks-Krajnik M., Turner M., Yu, H.-G. Evaluation of Commercial Kit Based on Loop-Mediated Isothermal Amplification for Rapid Detection of Low Levels of Uninjured and Impured Salmonella on Duck Meat, Bean Sprouts, and Fishballs in Singapore. *J. Food Prot*. 2015; 78: 1203-7.
35. Ramich T., Schacher B., Scharf S., Röhlke L., Arndt R., Eickholz P., Nickles K. Subgingival plaque sampling after combined mechanical and antibiotic nonsurgical periodontal therapy. *Clin. Oral Investig*. 2015; 19: 27-34.
36. Ding F., Lyu Y., Han X., Zhang H., Liu D., Hei W., Liu Y. Detection of periodontal pathogens in the patients with aortic aneurysm. *Chin. Med. J*. 2014; 127: 4114-8.
37. Fujii R., Muramatsu T., Yamaguchi Y., Asai T., Aida N., Suehara M., Morinaga K., Furusawa M. An endodontic-periodontal lesion with primary periodontal disease: a case report on its bacterial profile. *Bull. Tokyo Dent. Coll*. 2014; 55: 33-7.
38. Moon J.H., Lee J.H., Lee J.Y. Subgingival microbiome in smokers and non-smokers in Korean chronic periodontitis patients. *Mol. Oral Microbiol*. 2015; 30: 227-41.
39. Radford A.D., Chapman D., Dixon L., Chantrey J., Darby A.C., Hall N. Application of next-generation sequencing technologies in virology. *J. Gen. Virol*. 2012; 93: 1853-68.
40. Schwarzbach K., Le R., Bharti B., Lindsay S., Casaburi G., Salvatore F., Saber M.H., Alonaizan F., Slots J., Gottlieb R.A., Caporaso J.G., Kelley S.T. The personal human oral microbiome obscures the effects of treatment on periodontal disease. *PLoS One*. 2014; 9: e86708.
41. Shokralla S., Spall J.L., Gibson J.F., Hajibabaei M. Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research. *Mol. Ecol*, 2012; 21: 1794-1805.
42. Stolpovsky Yu. A., Kuznetsov S.B., Solodneva E.V., Shumov I.D. New cattle genotyping system based on DNA microarray technology. *Genetika*. 2022; 58(8): 857-71. DOI 10.31857/S0016675822080094. (in Russian)
43. Pozhitkov A.E., Beikler T., Flemmig T., Noble P.A. High-throughput methods for analysis of the human oral microbiome. *Periodontol*. 2000. 2011; 55: 70-86.
44. Topcuoglu N., Kulekci G. 16S rRNA based microarray analysis of ten periodontal bacteria in patients with different forms of periodontitis. *Anaerobe*. 2015; 35: 35-40.