

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ БАКТЕРИЯМИ-ЭПИБИОНТАМИ *NANOSYNBACTER LYTICUS* И ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПАРОДОНТА

Л. В. Побожьева , Г. А. Скворцов-Игралов, Ю. А. Бочарова, И. С. Копецкий, И. В. Чеботарь

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

Патогенез воспалительных заболеваний пародонта детерминирован микроорганизмами полости рта. Кроме хорошо изученных пародонтопатогенов, при гингивите и пародонтите обнаруживаются микробные агенты с недоказанным клиническим значением, к числу которых принадлежат бактерии-эпибионты. Целью работы было определить взаимосвязь между присутствием эпибионта *Nanosynbacter lyticus* и воспалительными заболеваниями пародонта. У 47 участников исследования (среди них 31 женщина и 16 мужчин) в возрасте 18–45 лет с помощью ПЦР определяли наличие консервативных последовательностей ДНК, специфичных для родов *Nanosynbacter*, *Schaalia*, а также домена *Bacteria*. Результаты выражали в виде индексов, определяющих количественные соотношения между *N. lyticus* и *Schaalia spp.* (индекс NS), а также между *N. lyticus* и представителями домена *Bacteria* (индекс NB). У значительной доли (11/27, 40,7%) пациентов без пародонтита *Schaalia spp.* не были обнаружены. Все пациенты со средней и тяжелой степенью пародонтита, а также 75% пациентов с легкой степенью пародонтита были носителями *Schaalia spp.* Для всех *Schaalia*-позитивных образцов от пациентов с пародонтитом индекс NS был более высоким ($p < 0,05$), чем у *Schaalia*-позитивных образцов без пародонтита: медианы показателя NS составляли соответственно $Me = 0,89 (0,79; 0,93)$ и $Me = 0,63 (0,00; 0,73)$. Индекс NB у пациентов, страдающих хроническим генерализованным пародонтитом ($Me = 0,83 (0,79; 0,85)$), был достоверно выше ($p < 0,05$), чем у пациентов без пародонтита, $Me = 0,67 (0,00; 0,81)$.

Ключевые слова: гингивит, пародонтит, бактерии, эпибионты, *Nanosynbacter lyticus*, *Schaalia odontolytica*

Финансирование: исследование выполнено в рамках государственного задания Минздрава России №121073000019-6.

Вклад авторов: Л. В. Побожьева — сбор образцов, анализ данных, написание проекта статьи; Г. А. Скворцов-Игралов — выполнение лабораторных исследований; Ю. А. Бочарова — дизайн исследования, анализ данных, И. С. Копецкий — критический пересмотр статьи в части значимого интеллектуального содержания; И. В. Чеботарь — дизайн исследования, редактирование статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено локальным этическим комитетом Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н. И. Пирогова (протокол № 238 от 19 марта 2024 г.).

✉ **Для корреспонденции:** Людмила Владимировна Побожьева
ludmila-stomatolog@mail.ru

Статья получена: 07.10.2024 **Статья принята к печати:** 30.10.2024 **Опубликована онлайн:** 22.11.2024

DOI: 10.24075/vrgmu.2024.050

ASSOCIATION BETWEEN THE *NANOSYNBACTER LYTICUS* EPIBIOTIC BACTERIA AND INFLAMMATORY PERIODONTAL DISEASES

Pobozhieva LV , Skvortsov-Igralov GA, Bocharova YuA, Kopetskiy IS, Chebotar IV

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

The inflammatory periodontal disease pathogenesis is determined by microorganisms of the oral cavity. Along with the well-studied periodontopathogens, microbial agents of unproven clinical significance, including epibiotic bacteria, are found in individuals with gingivitis and periodontitis. The study aimed to determine the association between the *Nanosynbacter lyticus* epibiont and inflammatory periodontal diseases. Conservative DNA sequences specific for the genera *Nanosynbacter*, *Schaalia* and the *Bacteria* domain were identified using PCR in 47 study participants (31 females and 16 males) aged 18–45 years. The results were expressed as indices determining the quantitative relationships between *N. lyticus* and *Schaalia spp.* (NS index), as well as between *N. lyticus* and representatives of the *Bacteria* domain (NB index). *Schaalia spp.* were not found in a large share (11/27, 40.7%) of patients with no periodontitis. All patients with moderate-to-severe periodontitis, as well as 75% of patients with mild periodontitis were carriers of *Schaalia spp.* All the *Schaalia*-positive samples from patients with periodontitis showed higher NS indices ($p < 0.05$) compared to *Schaalia*-positive samples from patients with no periodontitis: the median NS values were $Me = 0.89 (0.79; 0.93)$ and $Me = 0.63 (0.00; 0.73)$, respectively. The patients suffering from chronic generalized periodontitis had significantly higher NB indices ($Me = 0.83 (0.79; 0.85)$) ($p < 0.05$) compared to patients with no periodontitis, $Me = 0.67 (0.00; 0.81)$.

Keywords: gingivitis, periodontitis, bacteria, epibionts, *Nanosynbacter lyticus*, *Schaalia odontolytica*

Funding: this work was supported by the Ministry of Health of the Russian Federation state assignment #121073000019-6.

Author contribution: Pobozhieva LV — sample collection, data analysis, manuscript draft writing; Skvortsov-Igralov GA — laboratory tests; Bocharova YuA — study design, data analysis, Kopetskiy IS — critical revision of the article in terms of important intellectual content; Chebotar IV — study design, manuscript editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the local Ethics Committee of the Pirogov Russian National Research Medical University (protocol No. 238 dated 19 March 2024).

✉ **Correspondence should be addressed:** Ludmila V. Pobozhieva
ludmila-stomatolog@mail.ru

Received: 07.10.2024 **Accepted:** 30.10.2024 **Published online:** 22.11.2024

DOI: 10.24075/brsmu.2024.050

Воспалительные заболевания пародонта являются одними из наиболее распространенных заболеваний полости рта. Тяжелые формы пародонтита встречаются более чем у 700 млн человек в мире [1]. Хотя пародонтит считают многофакторным процессом, ведущая роль микроорганизмов в его развитии неоспорима. Современные метагеномные исследования показывают, что пародонтит не обусловлен присутствием нескольких специфических пародонтальных патогенов, а является

результатом полимикробной синергии десятков видов микроорганизмов [2, 3]. Патогенетическая значимость многих представителей домена *Bacteria* до настоящего времени остается неясной. Кроме типичных пародонтопатогенов, к которым относят *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella spp.*, *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Filifactor alocis*, *Peptostreptococcus spp.* и др. [4–7], в ротовой полости обитает множество резидентных бактерий с

неизученными свойствами. Особый интерес вызывает группа некультивируемых бактерий, а именно эбионты, ведущие симбиотический образ жизни на поверхности других бактерий. *Nanosynbacter lyticus* — типичный пример эбионтов бактерий полости рта, который является эписимбиотом пародонтопатогена *Schaalia odontolytica* (прежнее название — *Actinomyces odontolyticus*) [8]. На сегодняшний день *N. lyticus* — единственный вид из рода *Nanosynbacter*, присутствие которого в полости рта человека доказано корректными исследованиями. О патогенетической роли *N. lyticus* имеются весьма противоречивые сведения. По одним данным, количество *N. lyticus* положительно коррелирует с воспалительными заболеваниями полости рта — периодонтитом, перикоронитом [9, 10]. Другие авторы обнаружили обратные результаты: увеличение количества *N. lyticus* сочеталось с уменьшением воспаления за счет угнетения бактерий-возбудителей [11].

Цель настоящей работы — определить взаимосвязь между присутствием бактерий *N. lyticus* и воспалительными заболеваниями пародонта.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 47 человек (31 женщина и 16 мужчин). Критерии включения в исследование: лица обоих полов, возраст 18–45 лет; отсутствие предшествующего стоматологического лечения в течение не менее шести месяцев. Критерии исключения: прием антибиотиков и применение антисептиков полости рта в течение последних трех месяцев; беременность, послеродовой период; возраст младше 18 лет и старше 45 лет; наличие острых воспалительных заболеваний; обострение хронической общесоматической патологии, соматические заболевания в стадии декомпенсации; онкологические заболевания, отказ от участия в исследовании. Общие сведения о пациентах представлены в табл. 1. Все участники дали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Клиническая часть исследования включала сбор жалоб, анамнеза и осмотр полости рта. Диагностику заболеваний твердых тканей зубов и тканей пародонта проводили по МКБ-10 (K05.31 — хронический пародонтит, K05.10 — хронический гингивит, K02.1 — кариес), а также на основании классификации заболеваний пародонта Стоматологической ассоциации России.

Среди обследованных хронический катаральный генерализованный гингивит (K05.10) был выявлен в 21,3% случаев, хронический генерализованный пародонтит легкой степени тяжести (K05.31) — в 8,5% случаев, хронический генерализованный пародонтит средней степени тяжести (K05.31) — в 17%, хронический генерализованный пародонтит тяжелой степени (K05.31) — в 17% случаев. Доля лиц без воспалительных заболеваний пародонта составила 36,2% среди всех обследованных.

Для лабораторного исследования были собраны образцы поддесневого содержимого из зубодесневой борозды или пародонтального кармана. Образцы

транспортировали в лабораторию для выделения ДНК в охлажденном состоянии в течение 6 ч.

Перед выделением ДНК образцы инкубировали с раствором лизоцима (Sisce Research Laboratories; Индия), конечная концентрация 1 мг/мл, при 37 °С, 60 мин [12]. Выделение геномной ДНК из образцов проводили с использованием набора «SKYamp Micro DNA» (SkyGene; Россия). Проверку качества выделения проводили с помощью набора «Equalbit 1x dsDNA HS Assay Kit» (Vazyme; Китай), с использованием флуориметра «Fluo-200» (Allsheng; Китай).

Образцы выделенной ДНК анализировали при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени. Определяли наличие консервативных последовательностей ДНК, специфичных для родов *Nanosynbacter*, *Schaalia*, а также домена *Bacteria* с использованием трех пар праймеров и трех зондов в разных каналах флуоресценции (табл. 2).

«Nuclease-free Water» (New England Biolabs; США) использовали как отрицательный контроль. В качестве положительных контролей использовали: 1) искусственно синтезированную олиго-ДНК, идентичную участку 23S рРНК *Nanosynbacter* (ранее эту группу бактерий называли *Saccharibacteria* или TM7), построенную на основе последовательностей из базы данных GenBank [13]; 2) ДНК бактерий из рода *Schaalia spp.* (прежнее название — *Actinomyces spp.*); 3) смесь бактериальной ДНК из культур *Staphylococcus aureus* ATCC 29213; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; *Escherichia coli* ATCC 25922.

Состав смеси для ПЦР: 10 мкл «БиоМастер HS-qPCR» (HS-Taq ДНК-полимераза, смесь dNTP, ПЦР-буфер, Mg²⁺ и стерильная вода) (Biolabmix; Россия); по 2 мкл каждого специфического праймера (5 мкМ), 1 мкл специфического зонда (5 мкМ), 5 мкл образца с концентрацией ДНК не менее 0,1 нг/мкл. Смесь для ПЦР готовили согласно инструкции фирмы-производителя. Протокол реакции: 5 мин активации при 95 °С, затем 35 циклов по 15 с при 94 °С, 15 с при 62 °С и 20 с при 72 °С. Реакцию проводили при помощи амплификатора «ДТпрайм» («ДНК-технология»; Россия).

Для оценки количества ДНК каждого из исследуемых видов определяли значения пороговых циклов *C_p*. Далее при помощи статистических инструментов Microsoft Excel 2010 рассчитывали условные показатели, отражающие количественные соотношения между: 1) представителями *Nanosynbacter* и рода *Schaalia* (индекс NS) по значениям *C_p*; 2) бактериями рода *Nanosynbacter* и домена *Bacteria* (индекс NB) по значениям *C_p*. Показатели NS и NB рассчитывали по формулам:

$$NS = \frac{Cp^{-1}_{Nanosynbacter} * 100}{Cp^{-1}_{положительный контроль Nanosynbacter}} / \frac{Cp^{-1}_{Schaalia} * 100}{Cp^{-1}_{положительный контроль Schaalia}}$$

$$NB = \frac{Cp^{-1}_{Nanosynbacter} * 100}{Cp^{-1}_{положительный контроль Nanosynbacter}} / \frac{Cp^{-1}_{Bacteria} * 100}{Cp^{-1}_{положительный контроль Bacteria}}$$

Статистический анализ полученных результатов был выполнен с помощью программы IBM SPSS Statistics for Windows, version 27.0 (IBM Corp., США).

Таблица 1. Распределение участников исследования по полу и возрасту

Общее число обследованных, человек	n = 47	
Средний возраст обследованных, лет	34,2 (± 8,36) (min 18 – max 45)	
Распределение обследованных по полу, человек	Мужчины n = 16	Женщины n = 31
Средний возраст обследованных в зависимости от пола, лет	34,8 (± 9,41) (min 20 – max 45)	32,6 (± 8,54) (min 18 – max 43)

Таблица 2. Праймеры и зонды, используемые в данном исследовании

	Олигонуклеотид	<i>Nanosynbacter</i>	<i>Schaalia spp.</i>	Общая бактериальная ДНК
Прямой праймер		5'-GGCTTATAGCGCCCAATAG-3'	5'-GGTCTCTGGGCCGTTACTGA-3'	5'-TCCTACGGGAGGCAGCAGT-3'
Обратный праймер		5'-CGGATATAAACCGAACTGTC-3'	5'-CCCCACACCTAGTGCCC-3'	5'-GGACTACCAGGGTATCTAATCC TGTT-3'
Зонд		(FAM) -5'-CATAGACGGCGCTGTTGGCAC-3'-(RTQ1)	(FAM)-5'- CGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACC-3'-(TAMRA)	(ROX)-5'- CGTATTACCGCGGCTGCTGGCAC-3'-(RTQ2)
Ссылка на литературу		[14]	[15]	[16]

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При исследовании 47 образцов не было обнаружено каких-либо корреляций индексов NS и NB с возрастом и полом пациентов. В 12 образцах из 47 (25,5%) специфичные для рода *Schaalia* нуклеотидные последовательности не были обнаружены. Все *Schaalia*-негативные образцы были получены от пациентов без признаков пародонтита тяжелой и средней степени тяжести, лишь один *Schaalia*-негативный образец был получен от пациента с легкой степенью пародонтита. В 7 из 12 *Schaalia*-негативных образцов были обнаружены *N. lyticus*.

У значительной доли (11/27, 40,7%) пациентов без пародонтита *Schaalia spp.* не были обнаружены. Все пациенты (100%) со средней и тяжелой степенью пародонтита, а также 3 из 4 (75%) пациентов с легкой степенью пародонтита были носителями *Schaalia spp.*

Индекс NS, отражающий соотношение между представителями рода *Nanosynbacter* и *Schaalia spp.*, был равен нулю в 8 образцах из 47 (17%); ни один из этих образцов не был получен у пациентов с пародонтитом. Для всех *Schaalia*-позитивных образцов от пациентов с пародонтитом (K05.31) индекс NS был высоким: Me = 0,89 (0,79; 0,93), что значительно больше ($p < 0,05$) по сравнению с другими *Schaalia*-позитивными образцами, для которых Me = 0,63 (0,00; 0,73).

Из 10 образцов, полученных от пациентов с хроническим катаральным генерализованным гингивитом, три образца не содержали специфичных для рода *Schaalia* генетических маркеров и один образец не содержал *Nanosynbacter*-специфичных маркеров. Поэтому позитивной корреляции между значениями индекса NS и диагнозом «хронический

катаральный генерализованный гингивит» (K05.10) не выявлено ($p > 0,05$).

Более интересные результаты были получены при исследовании индекса NB (см. рис.). Индекс NB у пациентов, страдающих хроническим генерализованным пародонтитом (K05.31) (Me = 0,83 (0,79; 0,85)), был достоверно выше ($p < 0,05$), чем у пациентов без пародонтита Me = 0,67 (0,00; 0,81)). Образцы от пациентов с пародонтитом легкой степени тяжести демонстрировали значения индекса NB (Me = 0,77 (0,38; 0,78)), которые существенно не отличались ($p > 0,05$) от значений NB в образцах от пациентов без пародонтита, но были значительно ниже ($p < 0,05$), чем показатели NB в образцах от пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом средней и тяжелой степени тяжести (Me 0,85 (0,81; 0,85) и Me 0,84 (0,81; 0,88) соответственно). Показатели NB от пациентов с пародонтитом средней и тяжелой степеней тяжести достоверно не отличались ($p > 0,05$).

Достоверных корреляций индекса NB с другими группами пациентов (гингивит, пациенты без воспалительных заболеваний полости рта) не обнаружено.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Первое интересное наблюдение, возникающее при анализе результатов, касается несоответствия между присутствием в анализируемых образцах *N. lyticus* и бактерий *Schaalia spp.* Это доказывает, что *S. odontolytica* не является единственным хозяином для *N. lyticus*. Факт симбиоза *N. lyticus* с представителями других таксонов, включая *Actinomyces oris*, *Fusobacterium nucleatum*, был предсказан ранее [17–19].

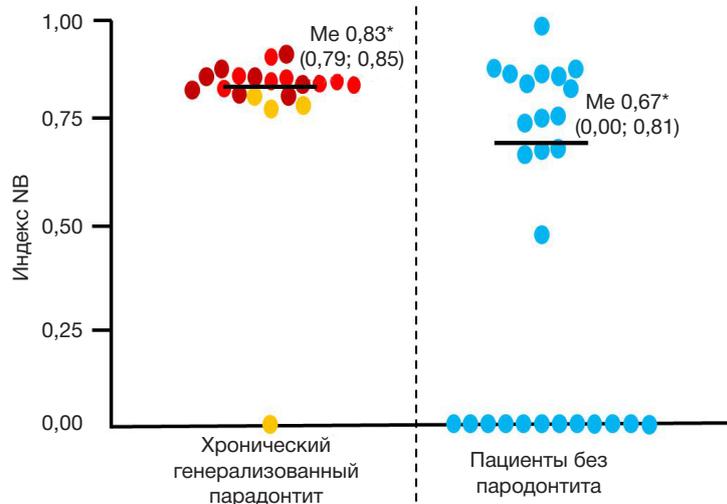


Рис. Индекс NB, отражающий соотношение между представителями рода *Nanosynbacter* и домена *Bacteria*, у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом и лиц без пародонтита. Оранжевым цветом показана легкая форма пародонтита, красным — пародонтит средней тяжести, бордовым — тяжелая форма. Me — медиана (в скобках — нижний и верхний квартили); * — статистически значимые различия показателей, $p < 0,05$

Второй результат подтверждает негативное участие бактерий *Schaalia spp.* в патогенезе средне-тяжелых и тяжелых форм пародонтита. Действительно, 100% пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом средней и тяжелой степени тяжести (K05.31) были носителями *Schaalia spp.*, тогда как значительная доля (40,7%) пациентов без пародонтита не являлись носителями этой группы бактерий. Эта находка дополняет литературные данные, свидетельствующие о том, что *S. odontolytica* (прежнее название — *A. odontolyticus*) активно образует биопленки в пародонтальных карманах, но не является значимым пародонтопатогеном [20].

Самый важный результат настоящего исследования касается положительной корреляции между индексом NS (отражает соотношение между представителями *Nanosynbacter* и *Schaalia spp.*) и степенью тяжести хронического генерализованного пародонтита. Наиболее логичным объяснением этого факта может быть повышение вирулентности бактерий *S. odontolytica* под влиянием увеличения количества закрепившихся на них эубионтов *N. lyticus*. Схожее наблюдение было сделано другими авторами, которые зарегистрировали индуцированное эубионтами через регуляторы системы «Quorum Sensing» усиление биопленкообразования у *A. odontolyticus* (современное название — *S. odontolytica*) [21].

В качестве полезного результата можно рассматривать наблюдение, касающееся отсутствия взаимосвязей между количеством *Nanosynbacter* и хроническим генерализованным гингивитом.

ВЫВОДЫ

Вероятно, *N. lyticus* являются симбионтами не только бактерий рода *Schaalia*, но и представителей других таксонов. Полученные нами результаты побуждают задуматься о проведении перспективного исследования, направленного на поиск новых хозяев *N. Lyticus*. Бактерии рода *Schaalia spp.* вовлечены в патогенез хронических генерализованных форм пародонтита средней и тяжелой степени. Индекс NB, отражающий соотношение между представителями рода *Nanosynbacter* и общим количеством бактерий, повышается при хроническом генерализованном пародонтите и может быть следствием усиления вирулентности патогенетически значимых бактерий под влиянием эубионтов *N. lyticus*. Индекс NS, отражающий соотношение между представителями рода *Nanosynbacter* и *Schaalia spp.*, не может быть полезным для оценки состояния тяжести у пациентов с хроническим генерализованным гингивитом.

Литература

1. Yixin Li, Yonggang Xiang, Haixia Ren, et al. Association between periodontitis and dental caries: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Oral Investigations*. 2024; 28: 306. DOI: 10.1007/s00784-024-05687-2.
2. Krutyhołowa A, Strzelec K, Dziedzic A, Bereta GP, Łazarz-Bartyzel K, Potempa J, et al. Host and bacterial factors linking periodontitis and rheumatoid arthritis. *Front Immunol*. 2022; 13: 980805. DOI: 10.3389/fimmu.2022.980805.
3. Cai Z, Lin S, Hu S, Zhao L. Structure and function of oral microbial community in periodontitis based on integrated data. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021; 11: 663756. DOI: 10.3389/fcimb.2021.663756.
4. Jiao Y, Hasegawa M, Inohara N. The role of oral pathobionts in dysbiosis during periodontitis development. *Journal of Dental Research*. 2014; 93(6): 539–46. DOI: 10.1177/0022034514528212.
5. Antezack A, Etcheopar-Etchart D, La Scola B, Monnet-Corti V. New putative periodontopathogens and periodontal health-associated species: a systematic review and meta-analysis. 2023; 58: 893–906. DOI: 10.1111/jre.13173
6. Valm AM. The structure of dental plaque microbial communities in the transition from health to dental caries and periodontal disease. *J Mol Biol*. 2019; 431 (16): 2957–69. DOI: 10.1016/j.jmb.2019.05.016.
7. Hajshengallis G. Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. *Trends in Immunology*. 2014; 35 (1): 3–11. DOI: 10.1016/j.it.2013.09.001.
8. Daniel R Utter, Xuesong He, Colleen M Cavanaugh, et al. The saccharibacterium TM7x elicits differential responses across its host range. *The ISME Journal*. 2020; 14 (12): 3054–67. DOI: 10.1038/s41396-020-00736-6.
9. Bo Liu, Faller LL, Klitgord N, et al. Deep sequencing of the oral microbiome reveals signatures of periodontal disease. *PLOS one*. 2012; 7 (6): 37919. DOI: 10.1371/journal.pone.0037919.
10. Mansfield JM, Campbell JH, Bhandari AR, et al. Molecular analysis of 16S rRNA genes identifies potentially periodontal pathogenic bacteria and archaea in the plaque of partially erupted third molars. *J Oral Maxillofac Surg*. 2012; 70 (7): 1507–14. DOI: 10.1016/J.JOMS.2011.09.049.
11. Chipashvili O, Utter DR, Bedree JK, et al. Epibiotic Saccharibacteria suppresses gingival inflammation and bone loss in mice through host bacterial modulation. *Cell Host & Microbe*. 2021; 29 (11): 1649–62. DOI: 10.1016/J.CHOM.2021.09.009.
12. Rosenbaum J, Usyk M, Chen Z, et al. Evaluation of oral cavity DNA extraction methods on bacterial and fungal microbiota. *Scientific Reports*. 2019; 9 (1): 1531. DOI: 10.1038/s41598-018-38049-6.
13. Benson DA, Cavanaugh M, Clark K, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, Sayers EW. GenBank. *Nucleic Acids Res*. 2013; 41: D36–42. DOI: 10.1093/nar/gks1195.
14. Ahmad Ibrahim, Mohamad Maatouk, Andriamiharimamy Rajaonison, et al. Adapted protocol for Saccharibacteria cocultivation: two new members join the club of candidate phyla radiation. *Microbiol Spectr*. 2021; 9 (3): e0106921. DOI: 10.1128/spectrum.01069-21.
15. Bilgiler C, Fuereder T, Kastner M-T, et al. Oral abundance of actinomyces spp. in breast cancer patients. *Oncology*. 2022; 100 (4): 221–7. DOI: 10.1159/000522070.
16. Nadkarni MA, Martin FE, Jacques NA, et al. Determination of bacterial load by real-time PCR using a broad-range (universal) probe and primers set. *Microbiology*. 2002; 148 (Pt 1): 257–66. DOI: 10.1099/00221287-148-1-257.
17. Ying Qi, Sheng-qi Zang, Juan Wei, et al. High-throughput sequencing provides insights into oral microbiota dysbiosis in association with inflammatory bowel disease. *Genomics*. 2021; 113 (1): 664–76. DOI: 10.1016/j.ygeno.2020.09.063.
18. Utter DR, He X, Cavanaugh CM, et al. The saccharibacterium TM7x elicits differential responses across its host range. *The ISME Journal*. 2020; 14 (12): 3054–67. DOI: 10.1038/s41396-020-00736-6.
19. Jie Nie, Utter DR, Kerns KA. Strain-Level Variation and diverse host bacterial responses in Epibiotic Saccharibacteria. *mSystems*. 2022; 7 (2): e0148821. DOI: 10.1128/msystems.01488-21.
20. Könönen E, Wade WG. Actinomyces and related organisms in human infections. *Clinical Microbiology Reviews*. 2015; 28 (2): 419–42. DOI: 10.1128/CMR.00100-14.
21. Bedree JK, Bor B, Sen J, et al. Quorum sensing modulates the epibiotic-parasitic relationship between *Actinomyces odontolyticus* and its *Saccharibacteria* epibiont, a *Nanosynbacter lyticus* Strain, TM7x. *Front Microbiol*. 2018; 9: 2049. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02049.

References

1. Yixin Li, Yonggang Xiang, Haixia Ren, et al. Association between periodontitis and dental caries: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Oral Investigations*. 2024; 28: 306. DOI: 10.1007/s00784-024-05687-2.
2. Krutyholowa A, Strzelec K, Dziedzic A, Bereta GP, Łazarz-Bartyzel K, Potempa J, et al. Host and bacterial factors linking periodontitis and rheumatoid arthritis. *Front Immunol*. 2022; 13: 980805. DOI: 10.3389/fimmu.2022.980805.
3. Cai Z, Lin S, Hu S, Zhao L. Structure and function of oral microbial community in periodontitis based on integrated data. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021; 11: 663756. DOI: 10.3389/fcimb.2021.663756.
4. Jiao Y, Hasegawa M, Inohara N. The role of oral pathobionts in dysbiosis during periodontitis development. *Journal of Dental Research*. 2014; 93(6): 539–46. DOI: 10.1177/0022034514528212.
5. Antezack A, Etchecopar-etchart D, La Scola B, Monnet-Corti V. New putative periodontopathogens and periodontal health-associated species: a systematic review and meta-analysis. 2023; 58: 893–906. DOI: 10.1111/jre.13173.
6. Valm AM. The structure of dental plaque microbial communities in the transition from health to dental caries and periodontal disease. *J Mol Biol*. 2019; 431 (16): 2957–69. DOI: 10.1016/j.jmb.2019.05.016.
7. Hajishengallis G. Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. *Trends in Immunology*. 2014; 35 (1): 3–11. DOI: 10.1016/j.it.2013.09.001.
8. Daniel R Utter, Xuesong He, Colleen M Cavanaugh, et al. The saccharibacterium TM7x elicits differential responses across its host range. *The ISME Journal*. 2020; 14 (12): 3054–67. DOI: 10.1038/s41396-020-00736-6.
9. Bo Liu, Faller LL, Klitgord N, et al. Deep sequencing of the oral microbiome reveals signatures of periodontal disease. *PLOS one*. 2012; 7 (6): 37919. DOI: 10.1371/journal.pone.0037919.
10. Mansfield JM, Campbell JH, Bhandari AR, et al. Molecular analysis of 16S rRNA genes identifies potentially periodontal pathogenic bacteria and archaea in the plaque of partially erupted third molars. *J Oral Maxillofac Surg*. 2012; 70 (7): 1507–14. DOI: 10.1016/J.JOMS.2011.09.049.
11. Chipashvili O, Utter DR, Bedree JK, et al. Episymbiotic Saccharibacteria suppresses gingival inflammation and bone loss in mice through host bacterial modulation. *Cell Host & Microbe*. 2021; 29 (11): 1649–62. DOI: 10.1016/J.CHOM.2021.09.009.
12. Rosenbaum J, Usyk M, Chen Z, et al. Evaluation of oral cavity DNA extraction methods on bacterial and fungal microbiota. *Scientific Reports*. 2019; 9 (1): 1531. DOI: 10.1038/s41598-018-38049-6.
13. Benson DA, Cavanaugh M, Clark K, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, Sayers EW. GenBank. *Nucleic Acids Res*. 2013; 41: D36–42. DOI: 10.1093/nar/gks1195.
14. Ahmad Ibrahim, Mohamad Maatouk, Andriamiharimamy Rajaonison, et al. Adapted protocol for Saccharibacteria cocultivation: two new members join the club of candidate phyla radiation. *Microbiol Spectr*. 2021; 9 (3): e0106921. DOI: 10.1128/spectrum.01069-21.
15. Bilgiler C, Fuereder T, Kastner M-T, et al. Oral abundance of actinomyces spp. in breast cancer patients. *Oncology*. 2022; 100 (4): 221–7. DOI: 10.1159/000522070.
16. Nadkarni MA, Martin FE, Jacques NA, et al. Determination of bacterial load by real-time PCR using a broad-range (universal) probe and primers set. *Microbiology*. 2002; 148 (Pt 1): 257–66. DOI: 10.1099/00221287-148-1-257.
17. Ying Qi, Sheng-qj Zang, Juan Wei, et al. High-throughput sequencing provides insights into oral microbiota dysbiosis in association with inflammatory bowel disease. *Genomics*. 2021; 113 (1): 664–76. DOI: 10.1016/j.ygeno.2020.09.063.
18. Utter DR, He X, Cavanaugh CM, et al. The saccharibacterium TM7x elicits differential responses across its host range. *The ISME Journal*. 2020; 14 (12): 3054–67. DOI: 10.1038/s41396-020-00736-6.
19. Jie Nie, Utter DR, Kerns KA. Strain-Level Variation and diverse host bacterial responses in Episymbiotic Saccharibacteria. *mSystems*. 2022; 7 (2): e0148821. DOI: 10.1128/msystems.01488-21.
20. Könönen E, Wade WG. Actinomyces and related organisms in human infections. *Clinical Microbiology Reviews*. 2015; 28 (2): 419–42. DOI: 10.1128/CMR.00100-14.
21. Bedree JK, Bor B, Sen J, et al. Quorum sensing modulates the epibiotic-parasitic relationship between Actinomyces odontolyticus and its Saccharibacteria epibiont, a Nanosynbacter lyticus Strain, TM7x. *Front Microbiol*. 2018; 9: 2049. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02049.