

# РОЛЬ ИНФЕКЦИОННОГО АГЕНТА В РАЗВИТИИ ПОРАЖЕНИЯ ЗУБОВ

А.В. Любимова<sup>1</sup>, Т.В. Бродина<sup>1</sup>, А.Е. Гончаров<sup>1</sup>, А.В. Силин<sup>1</sup>, Л.П. Зуева<sup>1</sup>,  
Е.А. Климова<sup>2</sup>, Л.В. Белова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** Цель: оценить влияние колонизации полости рта штаммами *S. mutans* с различными генотипическими характеристиками на степень пораженности зубов у детей. **Материалы и методы.** В исследование были включены 274 ребенка в возрасте от 5 до 17 лет (153 девочки и 121 мальчик), которым проводился профилактический стоматологический осмотр. Степень пораженности зубов оценивалась по индексу КПУ (сумма кариозных, пломбированных, удаленных по причине кариеса зубов), согласно рекомендациям ВОЗ. Зубной налет собирался стерильными деревянными зубочистками с щечно-десневого края либо с фиссур первых моляров и помещался в 1,5 мл пробирки Eppendorf, затем проводился посев на среду Mitis Salivarius Agar (HiMedia, REF, Индия). Для дальнейшего изучения был отобран 481 штамм *S. mutans*. Выделение ДНК осуществлялось экспресс-методом. Амплификация выполнялась в термоциклере CFX-96 (Bio-Rad, США). Серотипирование проводилось методом мультиплекс-ПЦР. Анализ ПЦР-продуктов осуществлялся методом гель-электрофореза в 1,5% агарозном геле с окраской ДНК этидиумом бромидом (10 мг/мл) производства Helicon (Москва) и визуализацией в УФ-лучах на трансиллюминаторе UVT1 производства Biokom. Генотипирование осуществлялось согласно методике (Saarela и соавт., 1996) олигонуклеотидным праймером OPA-02 (5'-TGCCGAGCTG-3'). Штаммы *S. mutans* были изучены на наличие следующих генов: *gtfB*, *spaP*, *cnm*, *fruA*, *gtfB*, *htrA*, *comE*, *mutA (I)*, *mutA (II)*, *mutA (III)*, *nlmAB (IV)*, *adcA*, *Smu.399*, *Smu.583*, *Smu.761*, *Smu.940c*, *Smu.1449*, *Smu.2130*. **Результаты.** *S. mutans* был выделен у всех обследованных детей. Поражение зубов выявлено у 82,4% детей. Среди изучаемых штаммов были обнаружены все 4 серотипа: у детей с индексом КПУ = 0 обнаруживались только серотипы k и f, доминирующим серотипом у детей с поражением зубов являлся с (74,7%). Были идентифицированы 19 генотипов *S. mutans*. У детей без кариеса (индекс КПУ = 0) *S. mutans* не содержали гены *spaP*, *comE*, *adcA*, *Smu.2130*, *smu1449*, *gtfB*, *htrA*. С увеличением индекса КПУ увеличивалась частота их обнаружения. Все 7 факторов вирулентности имели 9 генотипов *S. mutans*. При колонизации данными «вирулентными» генотипами у 94,9% детей отмечался высокий индекс КПУ. **Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о том, что лишь отдельные штаммы обладают кариесогенным потенциалом. У детей с поражением зубов были выделены штаммы *S. mutans* серотипов e и c, имеющие сочетание генов вирулентности: *spaP*, *gtfB*, *comE*, *adcA*, *Smu.2130*, *Smu.1449*, *htrA*. Штаммы, не имеющие данных факторов, повреждений зубов не вызывали. Степень пораженности зубов увеличивается при колонизации несколькими генотипами с данным профилем факторов вирулентности.

**Ключевые слова:** *S. mutans*, генотипирование, серотипирование, гены вирулентности, поражение зубов, вирулентный потенциал.

## Адрес для переписки:

Любимова Анна Викторовна  
191015, Россия, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41,  
Северо-Западный государственный медицинский университет  
имени И.И. Мечникова.  
Тел.: 8 906 244-83-22.  
E-mail: lubimova@gmail.com

## Contacts:

Anna V. Liubimova  
191015, Russian Federation, St. Petersburg, Kirochnaya str., 41,  
North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov.  
Phone: +7 906 244-83-22.  
E-mail: lubimova@gmail.com

## Библиографическое описание:

Любимова А.В., Бродина Т.В., Гончаров А.Е., Силин А.В., Зуева Л.П.,  
Климова Е.А., Белова Л.В. Роль инфекционного агента в развитии  
поражения зубов // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 4. С. 747–754.  
doi: 10.15789/2220-7619-TRO-1138

## Citation:

Liubimova A.V., Brodina T.V., Goncharov A.E., Silin A.V., Zueva L.P.,  
Klimova E.A., Belova L.V. The role of infectious agent in development of tooth  
decay // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet,  
2020, vol. 10, no. 4, pp. 747–754. doi: 10.15789/2220-7619-TRO-1138

## THE ROLE OF INFECTIOUS AGENT IN DEVELOPMENT OF TOOTH DECAY

Liubimova A.V.<sup>a</sup>, Brodina T.V.<sup>a</sup>, Goncharov A.E.<sup>a</sup>, Silin A.V.<sup>a</sup>, Zueva L.P.<sup>a</sup>, Klimova E.A.<sup>b</sup>, Belova L.V.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>b</sup> St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

**Abstract.** Aim: to assess the relationship between colonization of the oral cavity with *S. mutans* and different genotypic characteristics and the degree of tooth decay in children. *Materials and methods.* 274 children aged 5 to 17 years (153 girls and 121 boys) who received a preventive dental checkup were included in the study. The dental caries experience was assessed by the DMFT index (number of decayed, missing due to caries, and filled teeth), according to WHO recommendations. The plaque was collected with sterile wooden toothpicks from the buccal gingival margin or from fissures of the first molars and placed in 1.5 mL Eppendorf tubes, and then plated on Mitis Salivarius Agar medium (HiMedia, India). 481 strains of *S. mutans* were selected for further study. DNA was extracted by an express method. Amplification was performed in the CFX-96 thermal cycler (Bio-Rad, USA). Serotyping was performed by multiplex PCR. PCR products were analyzed by gel electrophoresis in 1.5% agarose gel with ethidium bromide (10 mg/mL) manufactured by Helicon, Moscow, and visualized in UV light in transilluminator UVT1 by Biokom. Genotyping was performed according to the methodology (Saarela et al., 1996) with the oligonucleotide primer OPA-02 (5'-TGCCGAGCTG-3'). Strains of *S. mutans* were studied for the presence of the following genes: *gtfB*, *spaP*, *cnm*, *fruA*, *gtfB*, *htrA*, *comE*, *mutA x(I)*, *mutA (II)*, *mutA (III)*, *nlmAB (IV)*, *adcA*, *Smu.399*, *Smu.583*, *Smu.761*, *Smu.940c*, *Smu.1449*, *Smu.2130*. *Results.* *S. mutans* was isolated from all the examined children. Dental decay was detected in 82.4% of the children. Among the strains studied, all 4 serotypes were found: in children with a DMFT = 0 only serotypes k and f were detected; the predominant serotype in children with tooth decay was serotype c (74.7%). 19 genotypes of *S. mutans* were identified. In children without caries (DMFT = 0), *S. mutans* did not contain the genes *spaP*, *comE*, *adcA*, *Smu.2130*, *Smu.1449*, *gtfB*, *htrA*. With the increase in the DMFT index, the frequency of their detection increased. 9 genotypes of *S. mutans* had all 7 virulence factors. In 94.9% of children colonized by these "virulent" genotypes, high DMFT index scores were observed. *Conclusion.* The data obtained indicate that only a limited number of specific strains have a cariogenic potential. Strains of *S. mutans* belonging to serotypes e and c with a combination of virulence genes *spaP*, *gtfB*, *comE*, *adcA*, *Smu.2130*, *Smu.1449*, and *htrA* were isolated from children with tooth decay. Strains without these factors did not cause any damage to the teeth. The degree of tooth decay increases with colonization by several genotypes with the combination of virulence factors described above.

**Key words:** *S. mutans*, genotyping, serotyping, virulence genes, tooth decay, virulent potential.

## Введение

Поражение зубов является одной из самых распространенных причин, ухудшающих качество жизни людей. На здоровье зубов влияет широкий спектр экзогенных и эндогенных факторов [1, 8, 16]. Наиболее обсуждаемым вопросом в настоящее время является роль микроорганизмов в развитии поражения зубов, в частности *S. mutans* [13, 14]. Было показано, что поражение зубов зависит не только от факта наличия *S. mutans* в зубном налете, но и от его концентрации [7, 17].

Повреждающий потенциал *S. mutans* зависит от ряда факторов вирулентности [9, 13]. К ним относятся: 1) способность метаболизировать углеводы с сопутствующей продукцией молочной кислоты (ацидогенность), толерантность к кислой среде (ацидофильность), возможность прикрепляться к гидроксиапатиту зубов (адгезивность), способность к формированию сложных полибактериальных структур в зубном налете (образование биопленок), устранение других штаммов бактерий за счет продукции бактериоцинов. Вирулентность *S. mutans* обусловлена экспрессией ряда генов. Так, например, ген *spaP* отвечает за адгезию к поверхности зубов. А ген *gfp* кодирует глюкансвязывающие белки, ко-

торые связывают образуемые глюкозилтрансферазами глюканы, и способствуют адгезии и формированию биопленки. Если эти и некоторые другие факторы вирулентности фенотипически выражены штаммами *S. mutans* и работают скоординированно, то зубная биопленка приобретает прогрессивный повреждающий потенциал [2].

На сегодняшний день описано 52 генотипа и 4 серотипа (c, e, f, k) *S. mutans* [11, 18]. Некоторые исследования показывают, что не все штаммы *S. mutans* одинаково способны вызывать поражение зубов [10]. Однако данный вопрос остается недостаточно изученным.

Цель: оценить взаимосвязь между колонизацией полости рта штаммами *S. mutans* с различными генотипическими характеристиками и степенью пораженности зубов у детей.

## Материалы и методы

Сбор данных проводился на базах 3-го Стоматологического отделения СЗГМУ им. И.И. Мечникова и общеобразовательных школ № 369, № 291, № 547 Красносельского и № 76 Выборгского районов в период с сентября 2015 г. по июнь 2017 г. В данное исследование включены дети, родители (или законные представители)

которых были проинформированы о цели и методах исследования и дали письменное согласие на участие в данном исследовании и обработку персональных данных. Организация и проведение диссертационного исследования одобрены Комитетом по вопросам этики при ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова Минздрава России.

В исследование были включены 274 человека в возрасте от 5 до 17 лет (153 девочки и 121 мальчик), которым проводился профилактический осмотр. В процессе клинического обследования был оценен стоматологический статус каждого ребенка. Состояние зубов оценивали путем визуального осмотра с использованием плоских зеркал. Результат подтверждался обследованием с использованием стандартных диагностических процедур, согласно рекомендациям ВОЗ [12]. Поражения зуба на момент осмотра определяли по наличию следующих признаков: полость, размягчение эмали или разрыхление поверхности или стенки зуба. В случае сомнений в диагнозе, повреждение не регистрировалось. Для каждого ребенка был подсчитан индекс КПУ (сумма кариозных, пломбированных, удаленных по причине кариеса зубов) с учетом прикуса. Клиническое обследование проводилось двумя независимыми специалистами-стоматологами.

У каждого обследуемого осуществлялось взятие зубного налета для посева на питательные среды с целью дальнейшего выделения штаммов *S. mutans*. Взятие зубного налета производилось с любого из четырех постоянных первых моляров каждого исследуемого. Зубной налет собирался стерильными деревянными зубочистками, которыми проводили либо вдоль щечно-десневого края, либо по фиссуре первых моляров, на которых чаще всего возникает деструкция. Свободный конец каждой зубочистки отрезали, а отобранные образцы сразу помещали в 1,5 мл пробирки Eppendorf,

содержащие триптозно-соевый бульон 200 мкл с предварительно опущенным в него диском бацитрацина 0,04 ед.

Для обнаружения и выделения чистой культуры *S. mutans* неразведенные образцы через несколько часов после забора засеивались на селективную питательную среду для культивирования оральных стрептококков (Mitis Salivarius Agar, HiMedia, REF, Индия) методом истощающего штриха и инкубировались в термостате в условиях эксикатора при  $t = +37^{\circ}\text{C}$  в течение 48 ч. Колонии выросших микроорганизмов оценивались по морфологии, подозрительные на *S. mutans* пересевались до получения чистых культур и отдельных штаммов. С целью дальнейшего исследования из каждого образца были отобраны от 2 до 18 штаммов *S. mutans*, чтобы обеспечить достаточное количество изолятов для определения генотипического и серотипового разнообразия у одного исследуемого (всего 481 штамм).

Выделение ДНК штаммов *S. mutans* осуществлялось экспресс-методом. ДНК микроорганизмов выделялась при помощи набора химических реагентов в пробирках для экстракции ДНК из биопроб «ДНК-экспресс» производства НПФ «Литех», Москва. Перед использованием образцы геномной ДНК хранились при  $t = -20^{\circ}\text{C}$ .

Аmplification выполнялась в термоциклере CFX-96 (Bio-Rad, США) с последующей электрофоретической оценкой результатов реакции.

Серотипирование проводилось методом мультиплекс-ПЦР четырьмя парами олигонуклеотидных праймеров (табл. 1).

Анализ ПЦР-продуктов осуществлялся методом гель-электрофореза в 1,5% агарозном геле с окраской ДНК этидием бромидом (10 мг/мл) производства Helicon (Москва), и визуализацией в УФ-лучах на трансиллюминаторе UVT1 производства Biocom. В качестве стандарта для оценки длины полученных ампликонов использовали маркер длин фрагментов с шагом в 100 пар

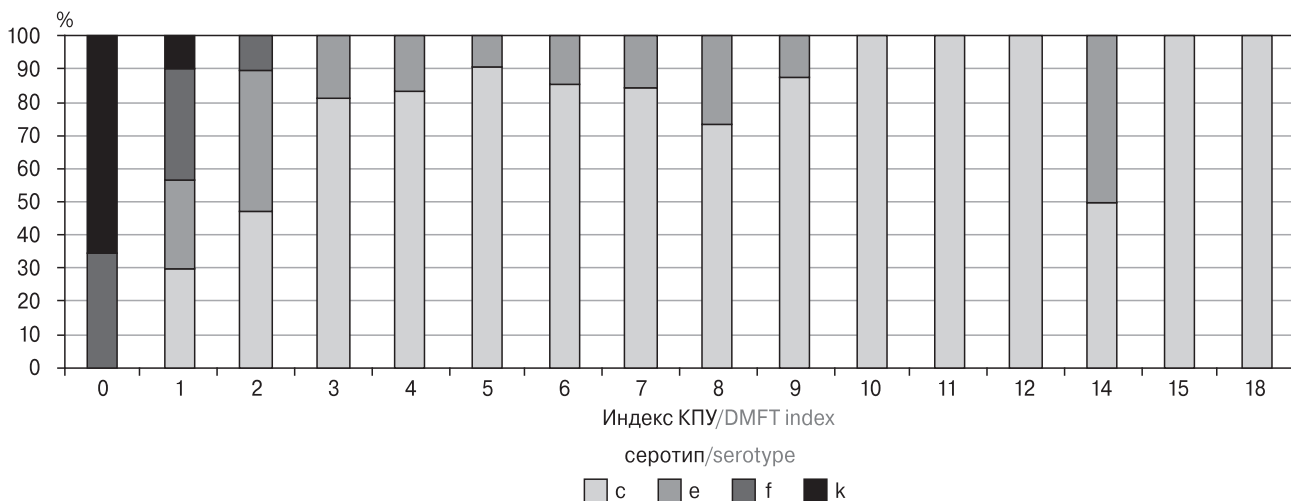
**Таблица 1. Олигонуклеотидные праймеры для серотипирования штаммов *S. mutans***

Table 1. Oligonucleotide primers for the serotyping of *S. mutans* strains

Серотип Serotype	Локус/ген Locus/gene	Олигонуклеотид/Oligonucleotide		Размер ампликона, п.н. Amplicon size, bp	Ссылка Reference
		Название Name	Последовательность 5'-3' The sequence 5'-3'		
c	<i>rgpF-ORF12</i>	SC-F	CGGAGTGCTTTTACAAGTGCTGG	727	2
		SC-R	AACCACGGCCAGCAAACCCTTAT		
e	<i>rgpF-ORF12</i>	SE-F	CCTGCTTTTCAAGTACCTTTTCGCC	517	2
		SE-R	CTGCTTGCCAAGCCCTACTAGAAA		
f	<i>rgpF-ORF12</i>	SF-F	CCCACAATTGGCTTCAAGAGGAGA	316	2
		SF-R	TGCGAAACCATAAGCATAGCGAGG		
k	<i>rgpF</i>	CEFK-F	ATCCCCGCCGTTGGACCATTC	294	3
		K-R	CCAATGTGATTCATCCCATCAC		

**Примечание.** \**rgpF-ORF12* — ген, расположенный на переменном участке у штаммов серотипов c, e, f между *rgpF* и ORF12.

Note. \**rgpF-ORF12* — gene located on the variable region of strains of serotypes c, e, f between *rgpF* and ORF12.



**Рисунок 1. Распределение *S. mutans* разных серотипов у детей с различной степенью пораженности зубов**

Figure 1. Distribution of *S. mutans* of different serotypes in children with varying degrees of tooth decay

нуклеотидов производства НПО «СибЭнзим» (8 мкл маркера на дорожку). Электрофорез осуществлялся при помощи источника питания для электрофореза нуклеиновых кислот в агарозных и акриламидных гелях «Эльф-4» и «Эльф-8». Параметры электрофореза: 180 В, 19,0 Вт, 180 мА в течение 25 мин.

Генотипирование штаммов *S. mutans* осуществлялось согласно методике Saarela и соавт. (1996) олигонуклеотидным праймером ОРА-02 (5'-TGCCGAGCTG-3'). Для оценки полученных ПЦР-профилей использовался электрофоретический метод с последующей УФ-визуализацией.

Также нами был изучен набор некоторых генов вирулентности *S. mutans*, для этого было проанализировано распределение генов вирулентности методом ПЦР. Рассматривались гены, отвечающие за адгезию (*gtfB*, *spaP*, *cnm*), ацидогенность (*fruA*, *gtfB*), ацидофильность (*htrA*), способность образовывать биопленки (*comE*) и производить бактериоцины/мутацины [*mutA* (I), *mutA* (II), *mutA* (III), *nlmAB* (IV)]. В исследование также включено определение других предполагаемых генов вирулентности, кодирующих поверхностный адгезин/Zn-зависимый липопротеин (*adcA*), С3-деградирующую протеиназу (*Smu.399*), гемолизин (*Smu.583*), коллагеназу (*Smu.761*), гемолизин III (*Smu.940c*), фибронектин/фибриноген-зависимый белок (*Smu.1449*), эксфолиативный токсин (*Smu.2130*).

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы Epi Info (версия 3.5.1). Анализ влияния предполагаемых факторов риска осуществлялся в исследовании «случай–контроль» с оценкой показателя отношения шансов (ОШ) с 95% доверительными интервалами. Критерием статистической значимости полученных результатов считали величину  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

*S. mutans* был выделен у всех обследованных детей. Поражение зубов выявлено у 82,4% детей. Среди изученных штаммов были обнаружены все известные 4 серотипа с, е, f и k. От каждого ребенка были выделены штаммы *S. mutans* только одного серотипа. В общей популяции детей преобладал *S. mutans* серотипа с (61,1%), доля других серотипов составляла от 10,5 до 15,6%. Преобладание серотипа с в общей структуре согласуется с данными других исследований, в которых частота его встречаемости колебалась от 60 до 80% [4, 11, 15].

Разные серотипы *S. mutans* с разной частотой были обнаружены у детей с различной степенью пораженности кариесом зубов. У детей с индексом КПУ = 0 (абсолютно здоровые зубы) обнаруживались только серотипы k и f; все четыре серотипа были выявлены у детей с индексом КПУ = 1; у детей с индексом КПУ = 2 уже в 90% случаев были обнаружены серотипы е и с и только в 10% — серотип f, у всех остальных детей с индексом КПУ более двух обнаружены только е- и с-серотипы с преобладанием серотипа с (рис. 1).

Таким образом, *S. mutans* серотипа с в основном обнаруживались у детей с поражением зубов (74,7%). Серотип с достоверно чаще встречался в группе детей с КПУ+кпу = 6–18 (ОШ = 41,9, 95%, ДИ = 16,8–104,3) ( $p < 0,001$ ) и КПУ+кпу = 2–5 (ОШ = 28,8, 95%, ДИ = 12,6–66,0) ( $p < 0,001$ ) по сравнению с детьми с КПУ 0–1.

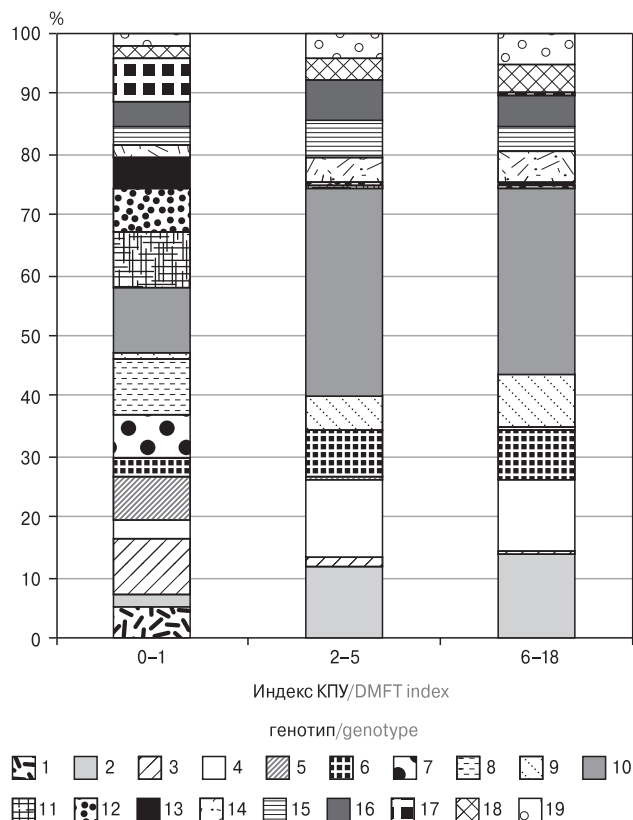
Девятнадцать генотипов были идентифицированы среди 598 изолятов, выделенных от 274 детей. Анализ общности генотипов *S. mutans* выявил, что в популяции случайно отобранных детей доминирует циркуляция не-

скольких генотипов. Самым распространенным являлся 10 генотип, который был выявлен у 173 из 274 (62,9%) детей и составлял 28,9% от всех изолятов *S. mutans*. Чаше остальных встречались также 2, 4, 6 и 9 генотипы, которые были выявлены у 24,4; 23,6; 15,6 и 13,5% детей соответственно.

Данное исследование показало, что генетическое разнообразие *S. mutans* имеет прямую положительную связь с распространенностью кариеса зубов. Обращает на себя внимание то, что уже в группе детей с индексом КПУ = 2–5 генотипический состав *S. mutans* резко отличался от такового в группе детей с индексом КПУ = 0–1 и с ростом его значения практически не изменялся (рис. 2).

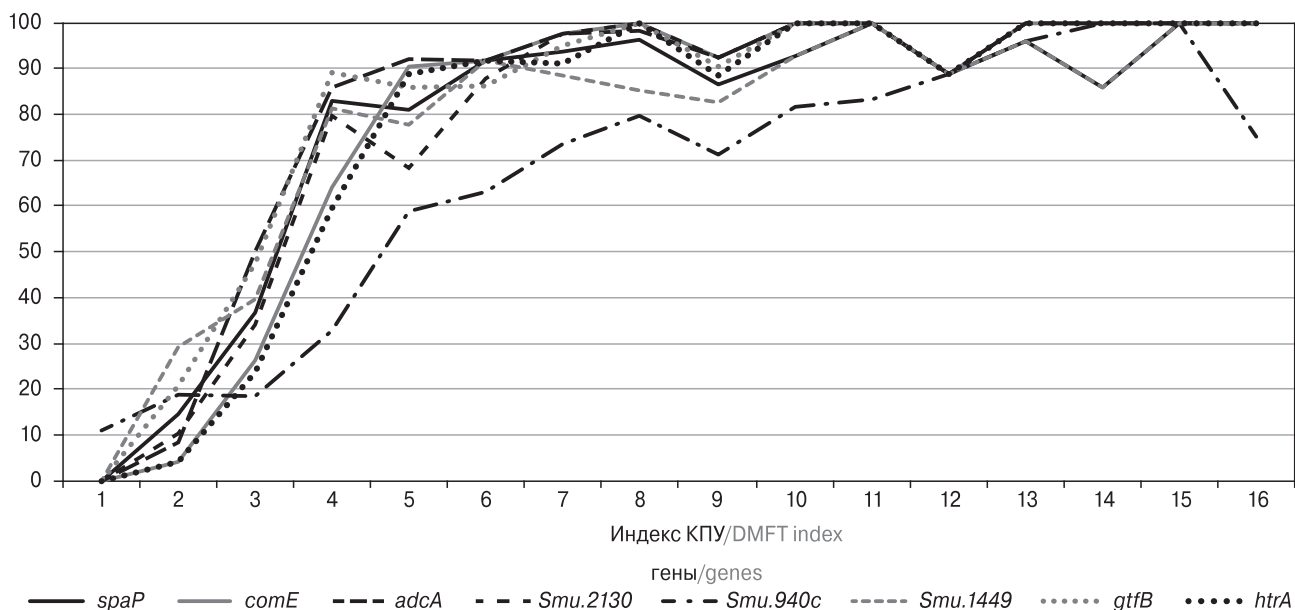
Результаты исследования позволяют предположить, что доминирующие генотипы и/или определенные сочетания конкретных генотипов *S. mutans* были связаны с развитием повреждений зубов. Аналогичные выводы были сделаны в исследовании Vottner A. и соавт., в котором было показано, что у большинства обследованных детей с ранним тяжелым поражением зубов был обнаружен один доминирующий генотип *S. mutans* [3].

При анализе наличия генов вирулентности у штаммов *S. mutans*, которыми были колонизированы дети, имеющие различный индекс КПУ, было выявлено, что у детей без кариеса (индекс КПУ = 0) *S. mutans* не имели следующих генов вирулентности: *spaP*, *comE*, *adcA*, *Smu.2130*, *Smu.1449*, *gtfB*, *htrA* (рис. 3).



**Рисунок 2. Характеристика разнообразия генотипов *S. mutans* в группах с различной степенью поражения зубов**

Figure 2. Characteristics of diversity of *S. mutans* genotypes in groups with varying degrees of tooth decay



**Рисунок 3. Частота обнаружения генов, кодирующих факторы вирулентности у штаммов *S. mutans*, выделенных от детей с различной степенью пораженности зубов**

Figure 3. Frequency of detection of genes encoding virulence factors in *S. mutans* strains isolated from children with different degrees of tooth decay

**Таблица 2. Частота обнаружения генов, кодирующих факторы вирулентности, у различных генотипов штаммов *S. mutans***

Table 2. The frequency of detection of genes encoding virulence factors in different genotypes of *S. mutans* strains

Генотип Genotype	<i>spaP</i>	<i>comE</i>	<i>fruA</i>	<i>adca</i>	<i>Smu.761</i>	<i>Smu.583</i>	<i>Smu.2130</i>	<i>Smu.399</i>	<i>Smu.940 c</i>	<i>Smu.1449</i>	<i>gtfB</i>	<i>mutA (I)</i>	<i>mutA (II)</i>	<i>mutA (III)</i>	<i>nmlAB (IV)</i>	<i>cnm</i>	<i>htrA</i>
2	91	81	0	88	70	93	73	57	64	93	81	0	0	0	0	0	84
4	88	95	0	92	91	45	89	69	86	86	97	0	74	0	0	0	82
6	86	88	0	81	84	77	86	0	88	84	93	0	0	0	60	0	91
9	81	92	0	95	70	65	89	0	62	92	70	0	0	0	0	0	84
10	97	82	0	94	88	81	84	65	62	95	99	0	62	0	0	0	82
3	0	0	85	0	69	0	0	0	0	0	0	46	92	0	0	85	0
5	0	0	100	0	75	0	0	63	0	0	0	0	0	100	88	88	0
7	0	0	86	0	0	0	0	71	0	0	0	100	100	0	100	86	0
8	0	0	80	0	0	0	0	0	50	0	0	0	0	90	0	50	0
11	0	0	100	0	0	70	0	0	0	0	0	80	0	60	0	70	0
12	0	0	70	0	0	0	0	0	60	0	0	0	70	100	0	0	0
13	0	0	71	0	71	71	0	0	0	0	0	71	0	0	86	71	0
14	84	92	0	80	0	64	88	68	72	92	76	0	0	0	64	0	84
15	93	82	0	96	64	0	82	0	68	54	89	0	75	0	0	0	100
16	68	88	0	85	76	56	82	0	0	65	62	0	0	0	0	0	71
17	0	0	100	0	0	0	0	0	50	0	0	88	0	88	100	88	0
18	74	61	0	65	0	0	96	0	0	83	87	0	0	0	0	0	70
19	0	64	0	72	0	56	68	52	64	0	76	0	0	0	0	0	60

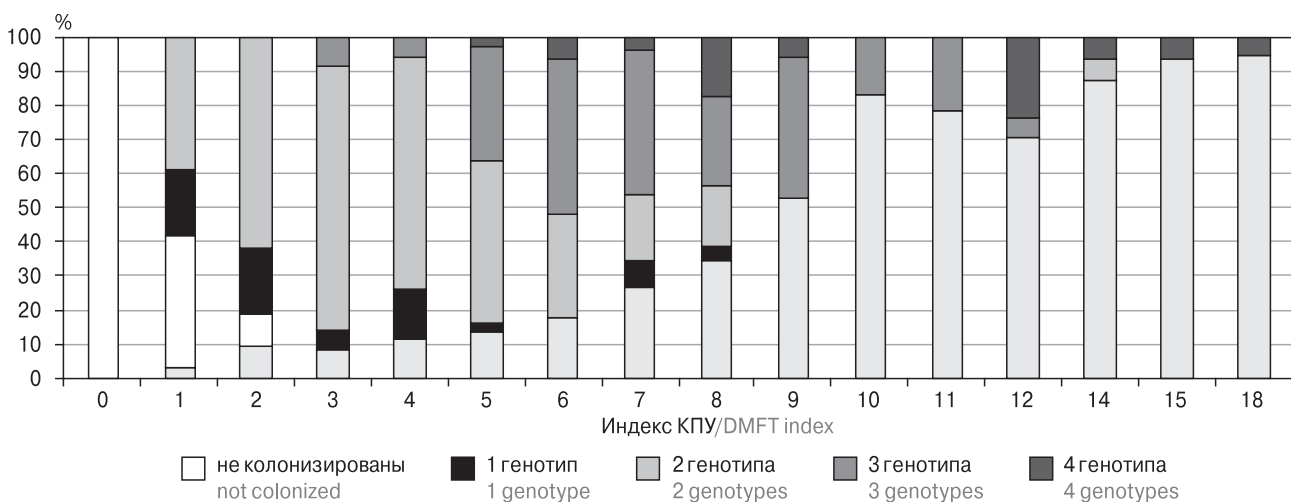
По мере увеличения индекса КПУ частота выявления данных генов прогрессивно увеличивалась.

При анализе распределения генов вирулентности среди различных генотипов *S. mutans* было выявлено, что все 7 факторов вирулентности имели 9 генотипов *S. mutans*: генотипы 2, 4, 6, 9, 10, 14, 15, 16, 18 (табл. 2).

При колонизации данными «вирулентными» генотипами у 94,9% детей было выявлено поражение зубов.

Степень пораженности зубов увеличивалась при колонизации несколькими генотипами с данным профилем факторов вирулентности (рис. 4).

Если ребенок имел более одного генотипа *S. mutans*, это приводило к развитию кариеса зубов ( $\chi^2$  Мантеля–Гензеля = 102,2, 95%;  $p < 0,001$ ) в группе с КПУ+кпу = 6–18 и (ОШ = 124,3, 95% ДИ = 35,2–438,8;  $p < 0,001$ ) с КПУ+кпу = 2–5. В группе «контролей» (КПУ+кпу = 0–1) не было выявлено детей с 3 и 4 генотипами *S. mutans*, в отличие от других групп. В другом



**Рисунок 4. Удельный вес колонизации детей несколькими «вирулентными» генотипами *S. mutans* в зависимости от степени пораженности зубов**

Figure 4. Specific weight of colonization of children by several “virulent” genotypes of *S. mutans*, depending on the degree of tooth damage

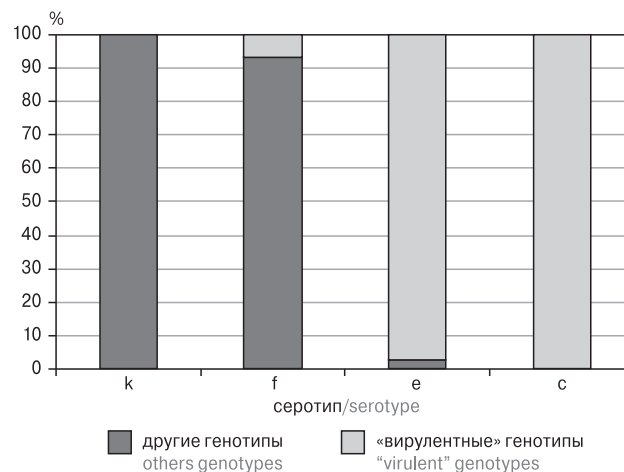
исследовании при сравнении количества генотипов до и после пломбирования зубов было выявлено от 2 до 3 разных генотипов *S. mutans* до пломбирования, тогда как после пломбирования — от 1 до 2 [6]. Это может свидетельствовать о том, что тяжелое поражение зубов не только связано с колонизацией несколькими генотипами, но и может приводить к увеличению ее степени. Последнее подтверждается данными исследования Cheon K. и соавт., в котором было показано, что меньшее количество разрушенных поверхностей зубов в значительной степени связано с меньшим разнообразием и более высокой стабильностью генотипов *S. mutans* [5].

Анализ распределения «вирулентных» и «невирулентных» генотипов среди различных серотипов *S. mutans* показал, что «вирулентные» генотипы были в основном среди серотипов е и с, а «невирулентные» — среди к и f (рис. 5).

Кроме того, «вирулентные» штаммы обнаруживались в основном в составе ассоциаций друг с другом (99,2%), тогда как 75,6% «невирулентных» штаммов были выделены в монокультуре, что составило 93,6% от всех монокультур.

## Заключение

Полученные данные свидетельствуют о том, что лишь отдельные штаммы обладают кариесогенным потенциалом из-за генерации у них генов вирулентности. У детей с поражением зубов были выделены штаммы *S. mutans* серотипов е и с, имеющие сочетание генов вирулентности: *spaP*, *gtf B* (адгезия), *comE* (образование



**Рисунок 5. Частота обнаружения «вирулентных» генотипов среди различных серотипов *S. mutans***

Figure 5. Frequency of detection of “virulent” genotypes among various serotypes of *S. mutans*

биопленок), *adcA* (поверхностный адгезин/*Zn*-зависимый липопротеин), *Smu.2130* (экзофолиативный токсин), *Smu.1449* (фибронектин/фибриноген-зависимый белок), *htrA* (ацидофильность). Штаммы, не имеющие данных факторов, повреждений зубов не вызывали. Степень пораженности зубов увеличивается при колонизации несколькими генотипами с данным профилем факторов вирулентности. Разработка бактериофагов к вирулентным штаммам *S. mutans* может явиться ключевым моментом в профилактике поражения зубов.

## Список литературы/References

1. Скрипкина Г.И. Комплексный подход к возможности прогнозирования кариозного процесса в детском возрасте на донозологическом этапе развития заболевания // *Стоматология для всех*. 2011. № 2. С. 34–38. [Scripkina G.I. Comprehensive approach to the opportunity of carious process prognostication in childhood at prenosologic stage of disease development. *Stomatologiya dlya vsekh = Stomatology for All*, 2011, no. 2, pp. 34–38. (In Russ.)]
2. Argimón S., Caufield P.W. Distribution of putative virulence genes in *Streptococcus mutans* strains does not correlate with caries experience. *J. Clin. Microbiol.*, 2011, vol. 49, no. 3, pp. 982–984. doi: 10.1128/JCM.01993-10
3. Bottner A., He R.Y., Sarbu A., Nainar S.M.H., Dufour D., Gong S.G., Lévesque C.M. *Streptococcus mutans* isolated from children with severe-early childhood caries form higher levels of persisters. *Arch. Oral Biol.*, 2020, vol. 110: 104601. doi: 10.1016/j.archoralbio.2019.104601
4. Carletto-Körber F.P., González-Ittig R.E., Jimenez M.G., Cornejo L.S. Serotype diversity of *Streptococcus mutans* and caries activity in children in Argentina. *Eur. J. Paediatr. Dent.*, 2015, vol. 16, no. 3, pp. 177–180.
5. Cheon K., Moser S.A., Wiener H.W., Whiddon J., Momeni S.S., Ruby J.D., Cutter G.R., Childers N.K. Characteristics of *Streptococcus mutans* genotypes and dental caries in children. *Eur. J. Oral Sci.*, 2013, vol. 121, no. 3, pt. 1, pp. 148–155. doi: 10.1111/eos.12044
6. Damé-Teixeira N., Arthur R.A., Parolo C.C., Maltz M. Genotypic diversity and virulence traits of *Streptococcus mutans* isolated from carious dentin after partial caries removal and sealing. *ScientificWorldJournal*, 2014, vol. 21: 165201. doi: 10.1155/2014/165201
7. Fan C.C., Wang W.H., Xu T., Zheng S.G. Risk factors of early childhood caries (ECC) among children in Beijing — a prospective cohort study. *BMC Oral Health*, 2019, vol. 19, no. 1, p. 34. doi: 10.1186/s12903-019-0721-9
8. Gomes M.C., Pinto-Sarmiento T.C., Costa E.M., Martins C.C., Granville-Garcia A.F., Paiva S.M. Impact of oral health conditions on the quality of life of preschool children and their families: a cross-sectional study. *Health Qual. Life Outcomes*, 2014, no. 12, pp. 55–63. doi: 10.1186/1477-7525-12-55
9. Kreth J., Merritt J., Zhu L., Shi W., Qi F. Cell density- and ComE-dependent expression of a group of mutacins and mutacin-like gene in *Streptococcus mutans*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2006, vol. 265, no. 1, pp. 11–17. doi: 10.1111/j.1574-6968.2006.00459.x

10. Lembo F.L., Longo P.L., Ota-Tsuzuki C., Rodrigues C.R., Mayer M.P. Genotypic and phenotypic analysis of Streptococcus mutans from different oral cavity sites of caries-free and caries-active children. *Oral Microbiol. Immunol.*, 2007, vol. 22, no. 5, pp. 313–319. doi: 10.1111/j.1399-302X.2007.00361.x
11. Nakano K., Ooshima T. Serotype classification of Streptococcus mutans and its detection outside the oral cavity. *Future Microbiol.*, 2009, vol. 4, no. 7, pp. 891–902. doi: 10.2217/fmb.09.64
12. Oral Health Survey. Basic methods; 5<sup>th</sup> ed. Geneva: World Health Organization, 2013. 70 p.
13. Palmer E.A., Nielsen T., Peirano P., Nguyen A.T., Vo A., Nguyen A., Jackson S., Finlayson T., Sauerwein R., Marsh K., Edwards I., Wilmot B., Engle J., Peterson J., Maier T., Machida C.A. Children with severe early childhood caries: pilot study examining mutans streptococci genotypic strains after full-mouth caries restorative therapy. *Pediatr. Dent.*, 2012, vol. 34, no. 2, pp. 1–10.
14. Palmer E.A., Vo A., Hiles S.B., Peirano P., Chaudhry S., Trevor A., Kasimi I., Pollard J., Kyles C., Leo M., Wilmot B., Engle J., Peterson J., Maier T., Machida C.A. Mutans streptococci genetic strains in children with severe early childhood caries: follow-up study at one-year post-dental rehabilitation therapy. *J. Oral Microbiol.*, 2012, no. 4, pp. 167–173. doi: 10.3402/jom.v4i0.19530
15. Rincón-Rodríguez R.J., Parada-Sánchez M.T., Bedoya-Correa C.M., Arboleda-Toro D. Genetic diversity of Streptococcus mutans serotype c isolated from white spot and cavitated caries lesions from schoolchildren. *Arch. Oral Biol.*, 2019, vol. 100, pp. 33–41. doi: 10.1016/j.archoralbio.2019.02.003
16. Struzycka I. The oral microbiome in dental caries. *Pol. J. Microbiol.*, 2014, vol. 63, no. 2, pp. 127–135.
17. Suzuki S., Ukiya T., Kawauchi Y., Ishii H., Sugihara N. Decision tree analysis for factors associated with dental caries in school-aged children in Japan. *Community Dent. Health.*, 2018, vol. 35, no. 4, pp. 247–251. doi: 10.1922/CDH\_4409Suzuki05
18. Zhou Q., Qin X., Qin M., Ge L. Genotypic diversity of Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus in 3–4-year-old children with severe caries or without caries. *Int. J. Paediatr. Dent.*, 2011, vol. 21, no. 6, pp. 422–431. doi: 10.1111/j.1365-263X.2011.01145.x

**Авторы:**

**Любимова А.В.**, д.м.н., доцент, профессор кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет (СЗГМУ) имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

**Бродина Т.В.**, аспирант кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

**Гончаров А.Е.**, д.м.н., доцент кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

**Силин А.В.**, д.м.н., профессор кафедры стоматологии общей практики ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

**Зуева Л.П.**, д.м.н., профессор, зав. кафедрой эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

**Климова Е.А.**, детский стоматолог, аспирант кафедры детской стоматологии ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

**Белова Л.В.**, д.м.н., профессор кафедры профилактической медицины и охраны здоровья ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия.

**Authors:**

**Liubimova A.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor of Epidemiology Department, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

**Brodina T.V.**, PhD Student, Epidemiology Department, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

**Goncharov A.E.**, PhD, MD (Medicine), Assistant Professor, Epidemiology Department, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

**Silin A.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor of the Department of General Practice Dentistry, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

**Zueva L.P.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Epidemiology Department of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

**Klimova E.A.**, Children's Dentist, PhD Student, Department of Pediatric Dentistry, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation;

**Belova L.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor of the Department of Preventive Medicine and Health, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 23.01.2019  
Отправлена на доработку 14.02.2020  
Принята к печати 14.09.2020

Received 23.01.2019  
Revision received 14.02.2020  
Accepted 14.09.2020