

绵阳地区136例3~5岁儿童口腔微生物菌群结构及其对患龋的影响

龚静 王荣

【摘要】目的 分析绵阳地区3~5岁儿童的口腔微生物菌群结构,探究其对患龋的影响。**方法** 对2023年3月~6月绵阳地区10所幼儿园的136例3~5岁儿童进行口腔流行病学调查,筛选患龋儿童和口腔健康儿童各68例,分别作为观察组和对照组。收集两组儿童唾液样本,提取其全基因组脱氧核糖核酸(DNA)并进行16S核糖体脱氧核糖核酸(16S rDNA)高通量测序,采用独立样本 t 检验、PCoA、非参数协方差分析(PERMANOVA)、相似性分析(ANOSIM)、Wilcoxon秩和检验比较两组儿童口腔样本微生物菌群多样性、物种组成结构、优势菌群及功能差异。**结果** α 多样性分析结果显示,观察组儿童Shannon指数(3.02 ± 0.70)和Simpson指数(0.86 ± 0.35)显著高于对照组(2.70 ± 0.46 、 0.67 ± 0.15),差异均有统计学意义($t = 3.150$ 、 $P = 0.002$, $t = 4.115$ 、 $P < 0.001$);主坐标分析(PCoA)显示两组儿童口腔菌群呈现显著分离($F = 3.428$ 、 $P < 0.001$),且对照组与观察组间的Bray-Curtis距离(0.58 ± 0.22)显著高于组内($R = 0.659$ 、 $P = 0.003$)。属层级水平上,观察组儿童唾液样本中的链球菌属、纤毛菌属、巨球形菌属和普雷沃菌属丰度显著高于对照组,嗜血杆菌属、梭杆菌属、志贺菌和大肠埃希菌属丰度显著低于对照组(P 均 < 0.05);种层级水平上,观察组儿童的副流感嗜血杆菌丰度显著低于对照组,纤毛菌IK040、产黑普雷沃菌、洛氏普雷沃菌丰度显著高于对照组,差异均有统计学意义(P 均 < 0.05)。观察组儿童磷酸戊糖途径、丙酮酸代谢和丙脂酸代谢丰度显著低于对照组,差异均有统计学意义(P 均 < 0.05)。**结论** 与健康儿童相比,龋病儿童口腔微生物菌群多样性增加,结构紊乱。

【关键词】 儿童; 龋病; 口腔微生物; 菌群结构; 菌群多样性; 丰度

Structure of oral microflora and its effect on dental caries in 136 children aged 3-5 years old in Mianyang area Gong Jing, Wang Rong. Department of Stomatology, Electronic Science and Technology University Medical School Affiliated Hospital of Mianyang Central Hospital, Mianyang 621000, China
Corresponding author: Gong Jing, Email: gongjing559@163.com.cn

【Abstract】Objective To explore the structure of oral microflora in children aged 3 to 5 years old in Mianyang area, and to analyze its effect on dental caries. **Methods** An oral epidemiological survey was conducted on 136 children aged 3 to 5 years old in 10 kindergartens in Mianyang from March to June 2023. Total of 68 children with caries and 68 children with oral health were selected as observation group and control group, respectively. Saliva samples of both groups were collected, and the whole genomic DNA was extracted and sequenced with 16s ribosomal DNA (16S rDNA). Independent sample t -test, permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA), analysis of similarity (ANOSIM) and Wilcoxon rank sum test were used to compare the diversity of microflora, species composition, dominant flora and functional differences between the two groups. **Results** The results of α diversity analysis showed that the Shannon index (3.02 ± 0.70) and Simpson index (0.86 ± 0.35) of the observation group were significantly higher than those of the control group (2.70 ± 0.46 ; 0.67 ± 0.15), with significant differences ($t = 3.150$, $P = 0.002$; $t = 4.115$, $P < 0.001$). Principal coordinate analysis (PCoA) showed that the oral flora of both groups were significantly separated ($F = 3.428$, $P < 0.001$), and the Bray-Curtis distance between the control group and the observation group (0.58 ± 0.22) was significantly higher than that of the group ($R = 0.659$, $P = 0.003$). At the level of genera, the abundance of *Streptococcus*, *Leptotrichia*, *Megasphaera* and *Prevotella* in saliva samples of the observation group were significantly higher than those of the control group, while the abundance of *Haemophilus*, *Fusobacterium* and *Escherichia-Shigella* of the observation group were significantly

lower than those of the control group, with significant differences (all $P < 0.05$). At the species level, the abundance of *Haemophilus parainfluenzae* of the observation group was significantly lower than that of the control group, while the abundance of *Leptotrichia*_IK040, *Prevotella melaninogenica* and *Prevotella loescheii* of the observation group were significantly higher than those of the control group, with significant differences (all $P < 0.05$). The abundance of pentose phosphate pathway, pyruvate metabolism and propanoate metabolism of the observation group were significantly lower than those of the control group (all $P < 0.05$). **Conclusions** Compared with healthy children, children with caries have increased oral microbial flora diversity and structural disturbances.

【Key words】 Children; Dental caries; Oral microorganism; Flora structure; Microflora diversity; Abundance

儿童口腔疾病中龋病最为常见, 具有患病率高、进展迅速和复发率高等特点, 其发病率居于儿童疾病首位, 已成为全球性的公共卫生挑战^[1-2]。虽然我国采取了一系列措施对儿童龋病进行预防, 但其患病率仍居高不下, 且呈逐年上升趋势^[3]。相关调查显示^[4-6], 3~5岁儿童龋病发生率高达62.5%, 对牙齿造成不可逆性损害, 还会严重影响儿童的颌骨发育, 甚至引发全身疾病, 不利于儿童的身心健康发展。因此, 探究儿童龋病的发生机制对于临床预防和治疗具有重要意义。儿童龋病病因较为复杂, 其中宿主、时间、环境和细菌为4个必要因素, 而细菌为导致龋病发生的关键, 为始动因素^[7-8]。部分口腔微生物以生物膜形式附着于口腔软硬组织表面, 长期高糖饮食儿童口腔微生物产生大量的酸性物质超出唾液的缓冲能力时, 优势菌群变成在酸性环境中具有竞争优势的变形链球菌等产酸耐酸菌, 促进牙体硬组织脱矿能力, 从而导致儿童龋病的发生^[9-10]。随着人类微生物组学取得了突破性进展, 口腔微生物菌群失衡参与龋病发生发展这一观点越来越被众多学者认可, 且目前相关研究随着高通量测序 (high-throughput sequencing, NGS) 技术的日趋成熟而不断深入^[11]。然而, 口腔微生物生态型受到多种因素影响, 不同地理位置、不同饮食习惯人群间可能存在较大差异。目前关于对绵阳地区患龋儿童口腔微生物的研究较少。本研究通过16S核糖体脱氧核糖核酸 (16S ribosomal deoxyribonucleic acid, 16S rDNA) 高通量测序技术分析绵阳地区136例3~5岁儿童口腔微生物菌群结构, 探究其对患龋的影响, 为儿童龋病的生态防治提供参考, 现报道如下。

资料与方法

一、研究对象

2023年3~6月对绵阳地区10所幼儿园的3~5岁136例儿童进行口腔流行病学调查, 采用简单随机

抽样法筛选出68例患龋儿童和68例口腔健康儿童作为研究对象, 分别作为观察组和对照组。观察组儿童中男32例, 女36例; 年龄 (4.12 ± 1.08) 岁。对照组儿童中男30例, 女38例; 年龄 (4.23 ± 1.12) 岁。两组儿童性别 ($\chi^2 = 0.119$, $P = 0.731$) 和年龄 ($t = 0.583$, $P = 0.561$) 差异均无统计学意义。本研究经电子科技大学医学院附属绵阳医院绵阳市中心医院伦理委员会审批通过 (批号: 31-1720485)。所有样品采集及资料调查均取得患者及其家属知情同意并签字确认。

二、纳入标准与排除标准

1. 纳入标准: ①患龋儿童符合国际龋病诊断和评估标准 II 中关于龋病的诊断标准^[12], 评分为3~6分, 且龋失补牙数 (decayed, missing and filled teeth, DMFS) ≥ 6 ; ②口腔健康儿童的DMFS = 0。

2. 排除标准: ①系统性疾病; ②牙周疾病和口腔黏膜疾病; ③取样前3个月内使用氟化物、微生态调节剂或抗菌药物; ④佩戴正畸矫正器及配件; ⑤全身病毒或细菌感染。

三、方法

样本采集及全基因组脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid, DNA) 的提取: 参照美国国立卫生研究院 (National Institutes of Health, NIH) 制定的标准采样流程^[13]完成对儿童唾液样本的采集。儿童唾液样本采集当天早晨不刷牙, 采样前2 h不进食, 并用20 ml生理盐水漱口1 min, 将2 ml非刺激性唾液置于无菌冻存管内, 保存于-80℃冰箱。研磨冻存唾液样本, 提取样本中的全基因组DNA。

2. 16S rDNA高通量测序技术: 采用KAPA 2G Robust Hot Start Ready Mix试剂盒 (美国Kapa Biosystems公司) 对唾液样本16S rRNA片段上的V3-V4高变区进行PCR扩增, 通过illumina Hiseq测序平台 (美国Illumina公司) 对扩增产物进行单端测序分析, 获得各模板DNA片段的碱基序列

(Reads)。

3. 口腔微生物菌落结构分析: 将存在97%相似度的序列进行操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU) 聚类, 每类OTU代表序列的物种注释采用RDP-classifier, 追溯物种来源, 并将其划分到界、门、纲、目、科、属和种等层级。①通过绘制稀释性曲线和物种累积曲线评估测序深度的合理性及样本量大小。②样本多样性分析: 采用Mothur计算Shannon、Simpson指数以分析唾液样本的 α 多样性; 通过UniFrac软件分析样本的 β 多样性, 包括Bray-Curtis矩阵分析和主坐标分析 (principal co-ordinates analysis, PCoA), 以评估微生物菌落的复杂性, 分析两组样本菌群组成的区别和共同特征。③菌群功能预测分析: 通过kobas软件和京都基因和基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 数据库 (<https://www.kegg.jp>) 对口腔微生物菌群的功能进行预测分析, 分析其功能分布特征。

四、统计学处理

数据分析采用SPSS 22.0统计学软件。计量资料中年龄、Shannon指数、Simpson指数呈正态分布, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用两独立样本 t 检验; 计数资料 (性别) 以例数表示, 组间比较采用 χ^2 检验; 基于Bray-Curtis距离进行不同唾液样本菌群结构相似性分析 (Analysis of similarity, ANOSIM); 基于PCoA进行非参数协方差分析 (permutational multivariate analysis of variance, PERMANOVA) 分析; 物种和功能丰度以例数 (%) 表示, 两组间比较采用Wilcoxon秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、构建稀释性曲线和物种累积曲线

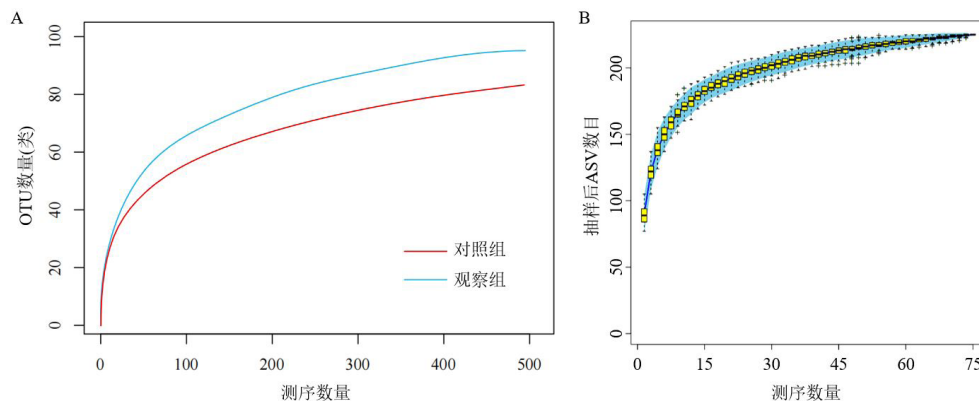
两组儿童唾液样本的稀释性曲线随着样本测序深度的增加逐渐趋向平坦, 表明测序数量足够多, 测序深度合理, 见图1A。物种累积曲线随着样本量的增多最终处于平缓状态, 进一步增加测序深度抽样后ASV数目不会显著增加, 进一步表明样本量充足, 见图1B。

二、两组样本多样性分析

1. α 多样性分析: 观察组Shannon指数 (3.02 ± 0.70)、Simpson指数 (0.86 ± 0.35) 均显著高于对照组 (2.70 ± 0.46 、 0.67 ± 0.15), 差异均有统计学意义 ($t = 3.150$ 、 $P = 0.002$, $t = 4.115$ 、 $P < 0.001$)。见图2。

β 多样性分析: 对照组组内菌群结构的Bray-Curtis距离为 (0.54 ± 0.19), 观察组组内菌群结构的Bray-Curtis距离为 (0.62 ± 0.15), 对照组与观察组组间为 (0.58 ± 0.22), 136例唾液样本组内为 (0.54 ± 0.15), ANOSIM分析结果显示, 对照组与观察组组间Bray-Curtis距离显著高于组内距离 ($R = 0.659$ 、 $P = 0.003$), 见图3A。PCoA分析与PERMANOVA分析结果显示, 横纵坐标主成分贡献率分别为73.9%和13.9%, 累积贡献率为87.8%, 两组样本菌群呈现显著分离 ($F = 3.428$, $P < 0.001$), 见图3B。

三、观察组和对照组样本微生物菌群物种组成在门、属、种水平对两组样本物种丰度统计显示, 共检测出46个菌门, 主要隶属于变形菌门、厚壁菌门、梭杆菌门、放线菌门、拟杆菌门和候



A: 稀释性曲线; B: 物种累积曲线

图1 唾液样本多样性分析

选菌TM7, 对照组和观察组的优势菌门一致, 见图4。在属层级水平共鉴定出1 597个菌属, 其中有35个菌属的相对丰度在1%以上, 相对丰度为前20的菌属见图5。在种层级水平共鉴定出11 908个菌种, 其中有22个菌种的相对丰度在1%以上, 相对丰度为前20的菌种见图6。

四、优势菌群分析

采用Wilcoxon秩和检验比较两组唾液样本的优势菌群, 结果显示在属层级水平, 观察组儿童唾液样本中的链球菌属、纤毛菌属、巨球形菌属、普雷沃菌属丰度显著高于对照组, 嗜血杆菌属、梭杆菌属、志贺菌和大肠埃希菌属丰度显著低于对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表1和图7。

在种层级水平, 观察组儿童唾液样本中的副流感嗜血杆菌丰度显著低于对照组, 纤毛菌IK040、产

黑普雷沃菌、洛氏普雷沃菌丰度显著高于对照组, 差异具有统计学意义 (P 均 < 0.05), 见表1和图8。

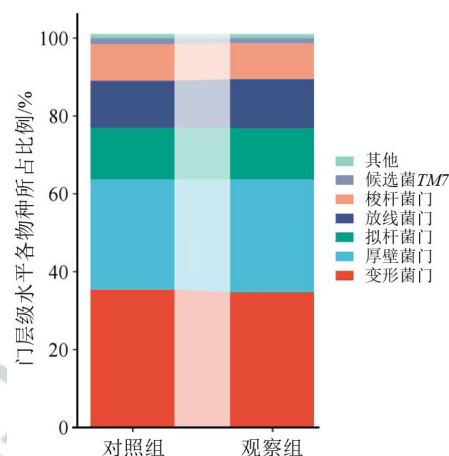


图4 观察组与对照组门层级水平主要物种分布

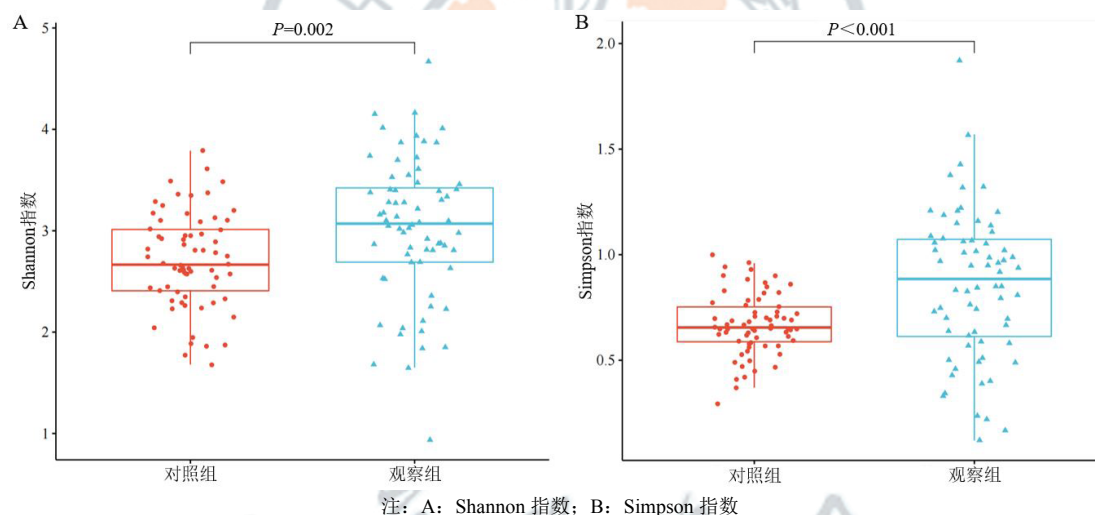


图2 对照组和观察组口腔微生物菌群 α 多样性分析箱式图

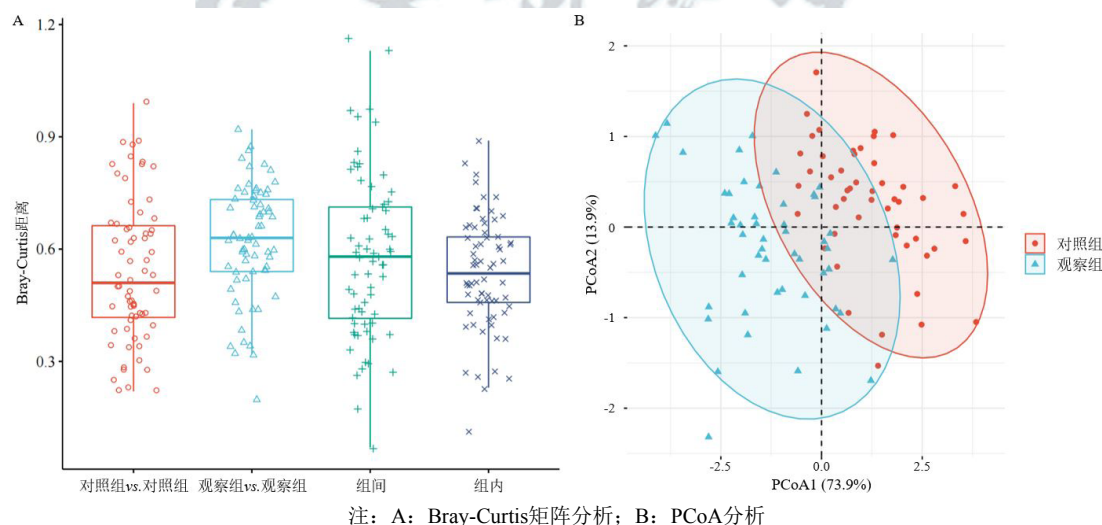


图3 对照组和观察组口腔微生物菌群 β 多样性分析

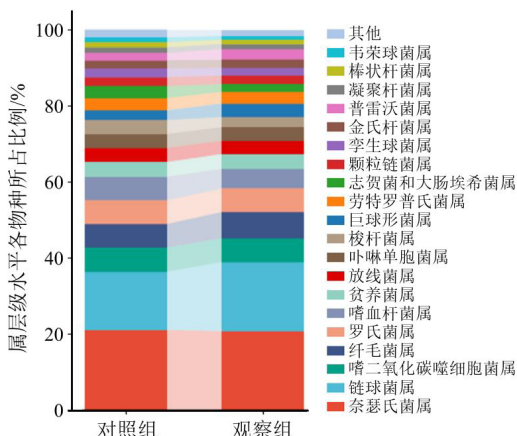


图5 观察组与对照组属层级水平主要物种分布

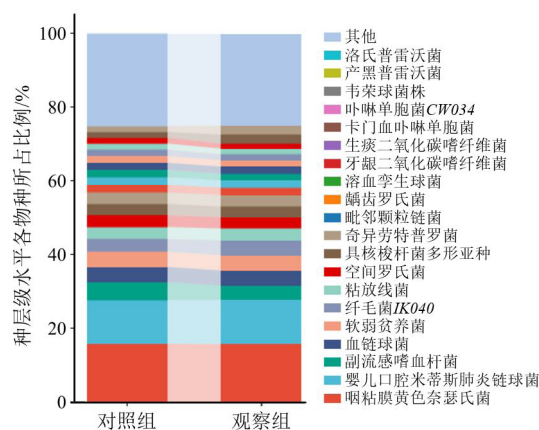


图6 观察组与对照组种层级水平主要物种分布

表1 观察组与对照组口腔样本优势菌群分析

优势菌群	比例差值	95%CI	P值
属层级			
链球菌属	2.87	0.84~4.73	0.002
纤毛菌属	0.65	0.12~1.18	0.045
巨球形菌属	1.04	0.31~1.77	0.016
普雷沃菌属	0.91	0.12~1.73	0.026
嗜血杆菌属	-1.04	-1.85~-0.21	0.015
梭杆菌属	-1.01	-1.93~-0.16	0.019
志贺菌和大肠埃希菌属	-1.13	-2.05~-0.21	0.013
种层级			
副流感嗜血杆菌	-0.93	-1.62~-0.26	0.021
纤毛菌IK040	0.60	0.12~1.12	0.043
产黑普雷沃菌	0.88	0.12~1.64	0.037
洛氏普雷沃菌	0.97	0.21~1.73	0.015

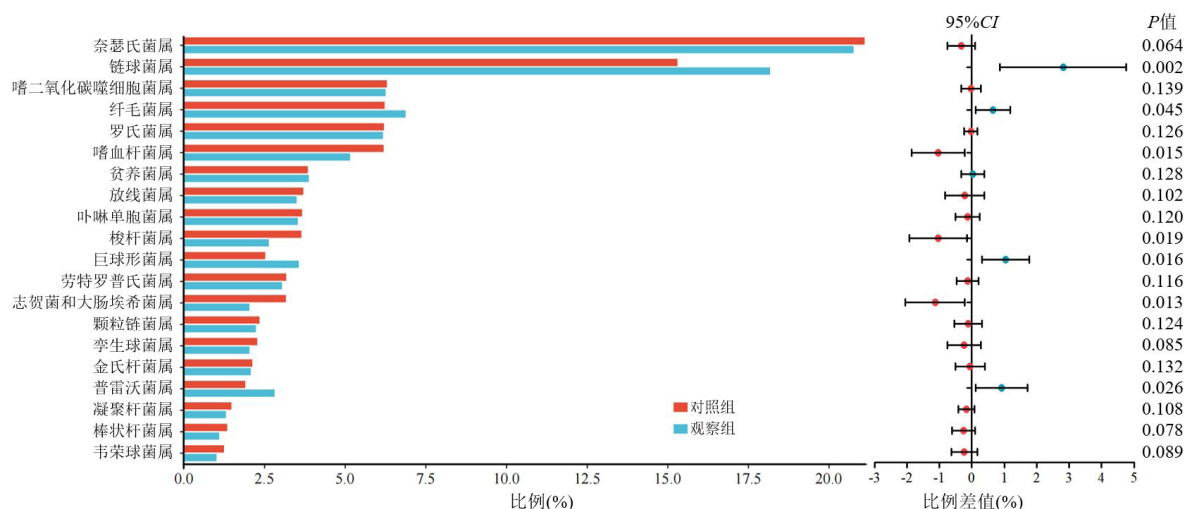


图7 观察组与对照组口腔微生物属层级水平的Wilcoxon秩和检验

五、功能预测分析

比较观察组与对照组口腔微生物菌群功能

差异,结果显示相对丰度在1%以上的前20个通路见图9,功能丰度由高到低为安莎霉素生物

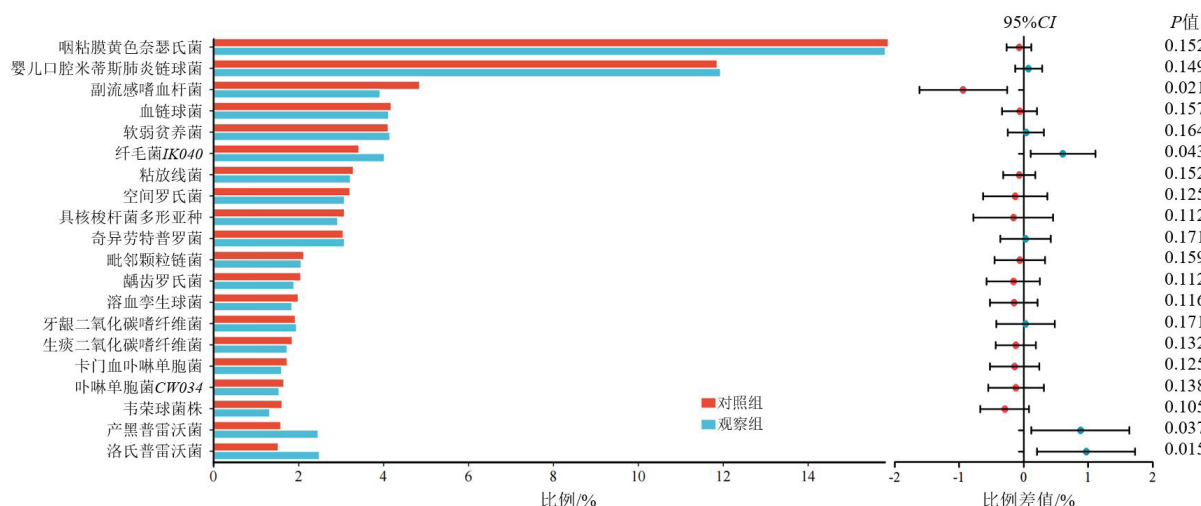


图8 观察组与对照组口腔微生物种层级水平的Wilcoxon秩和检验

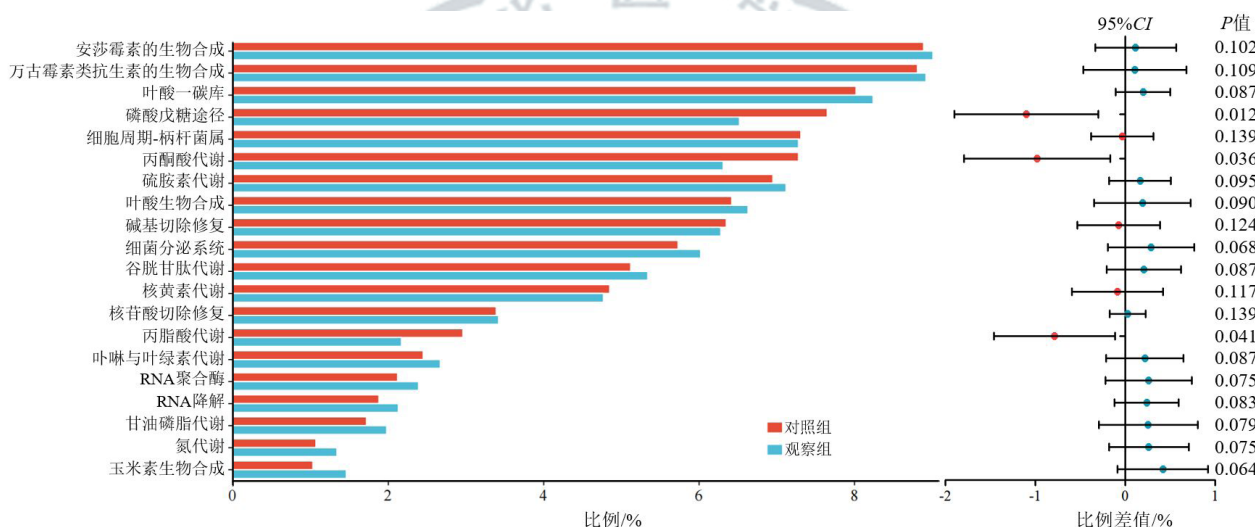


图9 观察组与对照组口腔微生物菌群基于功能分类3水平的KEGG功能分析

合成、万古霉素类抗菌药物的生物合成、叶酸—碳库等，观察组磷酸戊糖途径（比例差值为-1.13、95%CI: -1.88~-0.28、 $P = 0.012$ ）、丙酮酸代谢（比例差值为-0.97、95%CI: -1.79~-0.17、 $P = 0.036$ ）和丙脂酸代谢（比例差值为-0.97、95%CI: -1.79~-0.17、 $P = 0.036$ ）丰度显著低于对照组，差异具有统计学意义。

讨 论

龋病是儿童最为常见的慢性疾病，因口腔环境变化导致口腔微生物菌群结构平衡被打破从而引发的由生物膜介导的非生物性疾病，影响着全球约50%儿童，引起了医学界的密切关注。即使推广了一系列预防措施，如涂氟和窝沟封闭等，但儿

童患龋率仍较高，若未采取有效的措施进行治疗还易发展为多发龋^[14-17]；深入探究儿童龋病的发病机制对于临床预防和治疗具有重要意义。口腔微生物菌群整体平衡的维系在维持口腔健康中发挥着重要作用，当口腔环境改变使微生态的动态平衡被打破时，变形链球菌等产酸菌或致病菌成为优势菌群，最终导致龋病的发生^[18-19]。有研究证实^[20-22]，龋病发生是由于整个口腔微生物菌群结构改变引起的，且因地理位置不同呈现明显差异；口腔微生物菌群结构与儿童龋病发生间的关系仍有待进一步研究。

本研究 α 多样性分析结果显示，龋病儿童唾液样本微生物菌群的Shannon指数和Simpson指数均显著高于口腔健康儿童，表明口腔微生物多样性增加可能导致儿童龋病的发生。 β 多样性分析结果显示，龋病儿童唾液样本中微生物的Bray-Curtis距离较远

且更为复杂,口腔健康儿童的群落结构较为相似,两组儿童口腔微生物菌群存在显著差异,表明龋病微生物菌群存在个体异质性。上述研究结果显示,龋病的发生可能并非由某种特异性细菌引起,所涉及的微生物菌群结构变化较为复杂。刘梦佳等^[23]研究发现,青岛市5岁低龄重症龋儿童龈上菌斑普雷沃菌属丰度显著高于口腔健康儿童,嗜血杆菌属丰度显著低于口腔健康儿童;王媛等^[24]研究显示,龋病儿童唾液微生物菌群中的巨球形菌属丰度较无龋儿童显著增加;拜炯等^[25]研究显示,云南傈僳族高龋儿童唾液微生物菌群中的链球菌属丰度较无龋儿童显著增加,嗜血杆菌属、志贺菌和大肠埃希菌属、梭杆菌属丰度较无龋儿童显著降低。本研究结果与上述研究基本一致,在属层级水平,龋病儿童唾液样本中的链球菌属、纤毛菌属、巨球形菌属、普雷沃菌属丰度显著高于健康儿童,嗜血杆菌属、梭杆菌属、志贺菌和大肠埃希菌属丰度显著低于健康儿童,且上述菌属的某些物种在龋病与口腔健康儿童唾液样本间存在显著差异。嗜血杆菌属、梭杆菌属、志贺菌和大肠埃希菌属为有害菌,其在龋病儿童中的丰度降低,推测其可能无致龋作用,甚至有抑龋作用,但具体作用机制仍需进一步探讨。此外,刘梦佳等^[23]研究还发现,在门层级水平,重症龋儿童龈上菌斑微生物菌群中的梭杆菌门、TM7丰度显著高于口腔健康儿童,而本研究中龋病儿童与口腔健康儿童唾液样本微生物菌群在门层级水平无显著差异,与刘梦佳等^[23]研究结果存在差异,可能与研究对象地理位置不同有关。

多种微生物共同作用引发口腔微生态失衡从而导致龋病的发生。链球菌属为革兰阳性菌,大多物种无致病作用,是健康儿童口腔中的主要菌属,但其中的变形链球菌具备高度耐酸和产酸特性,在牙菌斑生物膜形成的初期发挥着关键的作用,是导致多种口腔疾病发生的重要致病菌,致龋能力较强^[26]。刘梦佳等^[23]研究结果显示,重症低龄儿童龋的儿童龈上菌斑变形链球菌、纤毛菌IK040、产黑普雷沃菌和洛氏普雷沃菌丰度显著高于口腔健康儿童,副流感嗜血杆菌丰度显著低于口腔健康儿童。在种层级水平,本研究也进一步证实龋病儿童的副流感嗜血杆菌丰度显著低于健康儿童,纤毛菌IK040、产黑普雷沃菌、洛氏普雷沃菌丰度显著高于健康儿童。副流感嗜血杆菌是一种革兰阴性微需氧菌,在牙周菌群的稳定中起到重要作用,随着龋

病的发生发展,口腔微环境中pH等化学物理性质发生改变,促使得副流感嗜血杆菌向牙髓卟啉单胞菌等革兰阴性厌氧菌转变。普雷沃菌属为革兰阴性菌,属于拟杆菌门,具备中度耐酸能力,是潜在的牙周病原体,可作为低龄儿童龋的诊断标志物,但其并无产酸能力,可能通过自身独特的蛋白溶解特性发挥致龋的作用。但本研究中并未检测出龋病儿童与健康儿童间链球菌属相关物种的差异,特别是变形链球菌,这可能与物种注释时删除了相对丰度低于0.1%的物种有关。

刘梦佳^[27]在分析高龋儿童和健康儿童龈上菌斑微生物差异功能基因的研究中证实,磷酸戊糖途径、丙酮酸代谢和丙脂酸代谢的基因簇在健康儿童龈上菌斑中富集,丰度显著高于高龋儿童。本研究进一步探究口腔微生物菌群结构改变与功能的关系发现,儿童口腔微生物功能主要为安莎霉素的生物合成、万古霉素类抗菌药物的生物合成和叶酸一碳库等,且龋病儿童唾液样本微生物的磷酸戊糖途径、丙酮酸代谢和丙脂酸代谢功能丰度较健康儿童显著降低,表明龋病儿童口腔微生物的碳水化合物代谢相关功能减弱。当摄入过多碳水化合物时,口腔微环境改变,产生的酸性环境有利于致龋菌的生长和增殖,并通过糖代谢持续代谢碳水化合物,使健康菌或酸敏感菌的生长和增殖受到抑制,促进儿童龋病的发生发展^[28]。

综上,龋病儿童口腔微生物菌群多样性更高,健康的口腔微生态中碳水化合物代谢更为活跃。但本研究仍存在一定局限性,首先,本研究纵向采样时间较短,对测序结果的稳定性可能产生一定影响;其次,未进一步分析性别、不同地域(城市或农村)、饮食习惯等因素对口腔微生物菌群结构的影响;第三,未严格区分龋齿严重程度(单个和多个龋齿)和病程长短等因素。在后续研究中仍需进行深入探讨,并将基于龋病儿童与口腔健康儿童唾液样本微生物差异菌群结构建立3~5岁儿童龋病评估模型,用于临床上龋病风险的快速和精确评估。

参 考 文 献

- [1] Mahboobi Z, Pakdaman A, Yazdani R, et al. Dietary free sugar and dental caries in children: A systematic review on longitudinal studies[J]. Health Promot Perspect, 2021, 11(3): 271-280.
- [2] Shi J, Wang Q, Ruan G, et al. Efficacy of probiotics against dental caries in children: a systematic review and meta-analysis[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2023, 63(29): 9977-9994.
- [3] Shi R, Lin C, Li S, et al. Obesity is negatively associated with dental

- caries among children and adolescents in Huizhou: a cross-sectional study[J]. BMC Oral Health,2022,22(1):76-86.
- [4] US Preventive Services Task Force, Davidson KW, Barry MJ, et al. Screening and interventions to prevent dental caries in children younger than 5 years: US preventive services task force recommendation statement[J]. JAMA,2021,326(21):2172-2178.
- [5] Shen A, Bernabé E, Sabbah W. Systematic review of intervention studies aiming at reducing inequality in dental caries among children[J]. Int J Environ Res Public Health,2021,18(3):1300-1310.
- [6] Echeverria MS, Schuch HS, Cenci MS, et al. Trajectories of sugar consumption and dental caries in early childhood[J]. J Dent Res,2022,101(6):724-730.
- [7] Butera A, Maiorani C, Morandini A, et al. Evaluation of children caries risk factors: A narrative review of nutritional aspects, oral hygiene habits, and bacterial alterations[J]. Children (Basel),2022,9(2):262-275.
- [8] Mallineni SK, Alassaf A, Almulhim B, et al. Influence of tooth brushing and previous dental visits on dental caries status among Saudi Arabian children[J]. Children (Basel),2023,10(3):471-481.
- [9] Yadufashije C, Uwase D, Muhimpundu L, et al. Profiles of sugar fermenting bacteria of the oral cavity among children with dental caries attending stomatology services at Ruhengeri referral hospital in Musanze District, Northern Rwanda[J]. Niger Postgrad Med J,2022,29(3):236-243.
- [10] Nizar A, Sheikh M, Khan FR, et al. Streptococcus mutans carriage in the saliva of mothers and its association with dental caries and Streptococcus mutans carriage in the saliva of children between 6 and 30 months old in a low-income setting in Karachi, Pakistan[J]. Clin Exp Dent Res,2022,8(6):1523-1532.
- [11] Sruthi MA, Mani G, Ramakrishnan M, et al. Dental caries as a source of Helicobacter pylori infection in children: An RT-PCR study[J]. Int J Paediatr Dent,2023,33(1):82-88.
- [12] Børsting T, Venkatraman V, Fagerhaug TN, et al. Systematic assessment of salivary inflammatory markers and dental caries in children: an exploratory study[J]. Acta Odontol Scand, 2022,80(5):338-345.
- [13] Rogers HJ, Sagabiel J, Marshman Z, et al. Adolescent valuation of CARIES-QC-U: a child-centred preference-based measure of dental caries[J]. Health Qual Life Outcomes,2022,20(1):18-32.
- [14] Estai M, Kanagasigam Y, Mehdizadeh M, et al. Mobile photographic screening for dental caries in children: Diagnostic performance compared to unaided visual dental examination[J]. J Public Health Dent,2022,82(2):166-175.
- [15] Drumond VZ, Souza GLN, Pereira MJC, et al. Dental caries in children with attention deficit/hyperactivity disorder: A Meta-analysis[J]. Caries Res,2022,56(1):3-14.
- [16] Luo H, Moss ME, Wright W, et al. Racial/ethnic disparities in preventive dental services use and dental caries among children[J]. J Public Health Dent,2023,83(2):161-168.
- [17] Karam SA, Costa FDS, Peres KG, et al. Two decades of socioeconomic inequalities in the prevalence of untreated dental caries in early childhood: Results from three birth cohorts in southern Brazil[J]. Community Dent Oral Epidemiol,2023,51(2):355-363.
- [18] Martins M, Mascarenhas P, Evangelista JG, et al. The incidence of dental caries in children with down syndrome: A systematic review and Meta-analysis[J]. Dent J (Basel),2022,10(11):205-220.
- [19] Zhang Y, Fang J, Yang J, et al. Streptococcus mutans-associated bacteria in dental plaque of severe early childhood caries[J]. J Oral Microbiol,2022,14(1):2046309.
- [20] Zhai Y, Gao L, Yu G. Does dental caries play a role on the asthma development?-systematic review and meta-analysis[J]. J Clin Pediatr Dent,2023,47(4):95-103.
- [21] Olczak-Kowalczyk D, Kaczmarek U, Gozdowski D, et al. Association of parental-reported vitamin D supplementation with dental caries of 3-year-old children in Poland: a cross-sectional study[J]. Clin Oral Investig,2021,25(11):6147-6158.
- [22] Andayasari L, Mubasyiroh R, Nurlinawati I, et al. Association between tobacco smoking and dental caries in the Indonesian population: results of a national study in 2018[J]. J Prev Med Public Health,2023,56(4):357-367.
- [23] 刘梦佳, 滕飞, 公文, 等. 青岛市5岁低龄儿童重度龋患者龈上菌斑微生物群落的宏基因组学研究[J]. 实用口腔医学杂志,2021,37(3):347-351.
- [24] 王媛, 张杰, 凌宗欣, 等. 龋病儿童唾液菌群动态变化及功能分析[J]. 四川大学学报(医学版),2022,53(2):242-249.
- [25] 拜娟, 崔瑶, 周庆, 等. 云南省傈僳族儿童乳牙龋的唾液微生物研究[J]. 昆明医科大学学报,2022,43(3):86-93.
- [26] 王海燕, 张冬雪, 栗申平, 等. 光动力联合龈下喷砂疗法对种植体周围炎龈沟液菌群分布改变的疗效[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版),2022,16(6):391-403.
- [27] 刘梦佳. 青岛市5岁儿童乳牙列龋病龈上菌斑微生物的宏基因组学研究[D]. 青岛大学, 2021.
- [28] Ribeiro AA, Paster BJ. Dental caries and their microbiomes in children: what do we do now?[J]. J Oral Microbiol,2023,15(1):2198433.

(收稿日期: 2023-10-22)

(本文编辑: 孙荣华)

龚静, 王荣, 等. 绵阳地区 136 例 3 ~ 5 岁儿童口腔微生物菌群结构及其对患龋的影响 [J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志 (电子版), 2024, 18(2): 100-107.