

[DOI]10.12016/j.issn.2096-1456.2019.04.003

· 基础研究 ·

博尔塔拉蒙古自治州儿童口腔变形链球菌的分布及其与龋病的相关性研究

杨婷, 张婉婷, 李贝贝, 董英, 曹宏飞, 赵今
新疆医科大学口腔医学院, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市(830054)

【摘要】 目的 研究博尔塔拉蒙古自治州(博州)3~5岁汉族、维吾尔族、蒙古族儿童口腔内变形链球菌的检出率,以及基因型与儿童龋病间的相关性。方法 从博州地区儿童口腔流行病学调查资料样本库中分层随机抽取90名儿童为研究对象,高龋组(龋失补牙数 ≥ 5)45名,无龋组(龋失补牙数=0)45名,每组中汉族、维吾尔族、蒙古族儿童各15名,收集牙菌斑样本,用轻唾-杆菌肽琼脂培养基和脑心浸液培养基培养变形链球菌,通过革兰氏染色,生化鉴定和聚合酶链反应等方法进一步分离鉴定临床分离株,并通过随机引物聚合酶链式反应检测基因型分布。结果 在90名受检儿童中变形链球菌的检出率为75.5%,高龋组变形链球菌的检出率为86.7%,高于无龋组的64.4%($P=0.014$)。汉族、维吾尔族、蒙古族间比较时,变形链球菌的检出率差异无统计学意义($P=0.457$)。本实验共获得549株变形链球菌临床菌株,发现113种不同的基因型。高龋组中61.5%的个体携带超过一种以上的变形链球菌基因型,无龋组有37.9%的个体具有一种以上的基因型,高龋组变形链球菌基因多态性高于无龋组,差异具有统计学意义($P=0.035$)。Spearman相关分析表明,三民族儿童口腔内变形链球菌基因多态性与龋敏感度呈正相关($r=0.258, P=0.034$)。结论 博州儿童口腔内变形链球菌在高龋组与无龋组间分布有差异,在民族间无差异,高龋组群体中存在的变形链球菌比无龋组拥有更多的基因型数量,其基因多态性可能与变形链球菌的致龋性能相关。

【关键词】 变形链球菌; 儿童; 牙菌斑; 龋病; 基因型; 基因多态性; 民族; 相关性

【中图分类号】 R781 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2019)04-0219-07

【引用著录格式】 杨婷,张婉婷,李贝贝,等.博尔塔拉蒙古自治州儿童口腔变形链球菌的分布及其与龋病的相关性研究[J].口腔疾病防治,2019,27(4):219-225.

Distribution of oral *Streptococcus mutans* and its correlation with dental caries in children of Bortala Mongolian Autonomous Prefecture YANG Ting, ZHANG Wanting, LI Beibei, DONG Ying, CAO Hongfei, ZHAO Jin.

Stomatological College, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China

Corresponding author: ZHAO Jin, Email: merryjin@sina.com, Tel: 0086-991-4361216

【Abstract】 Objective To study the detection rate of *Streptococcus mutans* in oral cavities of 3-5-year-old Han, Uygur and Mongolian children in Bortala Mongolian Autonomous Prefecture, and the correlation between genotype and dental caries of preschool children. **Methods** Ninety children were randomly selected from the sample bank of children's oral epidemiological survey data in the Bozhou area of Xinjiang. Forty-five children were included in the high caries group (more than 5 missing teeth), and 45 children were included in the noncaries group (0 missing teeth); each group comprised 15 children of each of the Han, Uygur and Mongolian nationalities. Plaque samples were collected and cultured with light saliva-bacillin agar medium and brain-heart infusion medium. *Streptococcus mutans* were cultured, and clinical isolates were further isolated and identified by Gram staining, biochemical identification and polymerase chain reaction. Genotype distribution was detected by random primer polymerase chain reaction. **Results** The detection rate of *Streptococcus mutans* in the 90 included children was 75.5%. The detection rate of *Streptococcus mutans* in

【收稿日期】 2018-10-20; **【修回日期】** 2018-11-13

【基金项目】 国家自然科学基金资助项目(81760194);新疆研究生科研创新项目(XJGR2017086)

【作者简介】 杨婷,在读硕士研究生,Email:1186271967@qq.com

【通信作者】 赵今,教授,博士,Email: merryjin@sina.com, Tel: 0086-991-4361216

the high caries group was 86.7%, which was significantly higher than that in the caries-free group (64.4%) ($P = 0.014$). There was no significant difference in the distribution of *Streptococcus mutans* among Han, Uygur and Mongolian nationalities ($P = 0.457$). A total of 549 clinical strains of *Streptococcus mutans* were obtained, and 113 different genotypes were found. In the high caries group, 61.5% carried more than one genotype of *Streptococcus mutans*, and 37.9% of the caries-free group had more than one genotype. The genetic polymorphism of *Streptococcus mutans* in the high caries group was significantly higher than that in the caries-free group ($P = 0.035$). Spearman correlation analysis showed that there was a positive correlation between oral *Streptococcus mutans* gene polymorphism and caries sensitivity ($r = 0.258$, $P = 0.034$). **Conclusion** The distribution of *Streptococcus mutans* in children's oral cavity in the Bozhou area was different between the high caries group and the caries-free group, but there was no difference among nationalities. *Streptococcus mutans* in the high caries group had more genotypes than those in the caries-free group. The genetic polymorphism of *Streptococcus mutans* might be related to the caries-causing ability of *Streptococcus mutans*.

【Key words】 *Streptococcus mutans*; Children; Dental plaque; Dental caries; Genotype; Gene polymorphisms; Ethnic; Correlation

3~5岁儿童由于其饮食习惯的特殊性和正常的口腔卫生习惯尚未建立,是龋病的好发人群。在2017年第四次全国口腔健康流行病学调查中^[1],5岁儿童乳牙龋病患龋率为70.9%,比10年前上升了5.8个百分点,儿童乳牙龋齿的发生率已呈现上升态势,各国家及地区差别较大。本团队前期调查显示博尔塔拉蒙古自治州(博州)的低龄儿童龋病发生率高达72.20%,高于全国水平^[2]。乳牙龋病进一步发展会引起疼痛,感染,成为重型低龄儿童龋病(severe early childhood caries, S-ECC),使儿童的身心健康受到严重威胁^[3]。在健康的口腔生态环境中,牙菌斑生物膜中的各种微生物物种保持自然平衡并限制潜在的致龋细菌定植。当这种平衡受到破坏时,将促进致龋细菌的生长,导致龋齿^[4]。变形链球菌被认为是口腔中主要致龋菌之一,而且有充分的证据表明变形链球菌的检出率与低龄儿童龋相关,变形链球菌在不同个体口腔中表现出不同的基因型和致龋性,其遗传多态性可能是儿童龋病的病因^[5-9]。博州是以汉族、维吾尔族、蒙古族为主的多民族聚居区,具有独特的文化背景和饮食生活习惯。本研究旨在了解博州地区汉族、维吾尔族、蒙古族儿童口腔内变形链球菌的检出情况及其基因型分布,明确变形链球菌基因型与低龄儿童龋病之间的关系,为博州儿童乳牙龋的防治提供参考。

1 材料和方法

1.1 研究对象

根据本课题组前期对新疆乌鲁木齐市,喀什市不同民族儿童进行的变形链球菌致龋相关研

究,从博州汉族、维吾尔族、蒙古族中采用随机数表法进行抽样,分别筛选出高龋组(龋失补牙数 ≥ 5)和无龋组儿童(龋失补牙数=0)各15名,共计90名儿童作为研究对象。

纳入标准:无系统性疾病;无口腔黏膜疾病;口内未佩戴正畸装置;且在采集菌斑前1个月内,未服用任何抗生素类药物。**排除标准:**牙齿结构异常;近1个月内使用过漱口水或服用抗生素;有严重全身系统性疾病;接受过正畸治疗或有口腔黏膜疾病者。整个实验流程均得到新疆医科大学第一附属医院伦理委员会的批准(伦审号:20150214-162),同时征得儿童家长同意。

1.2 材料

1.2.1 细菌菌种 变形链球菌标准菌株 UA159 购自北京大学口腔医学院中心实验室。

1.2.2 主要试剂和仪器 轻唾琼脂培养基(青岛日水,中国),杆菌肽(青岛日水,中国),脑心浸液培养基(BD,美国),革兰氏染色染剂(BIOMIGA,美国),细菌微量生化反应管(杭州滨和微生物试剂有限公司,中国),细菌基因组快速提取试剂盒(天根,中国),Marker 2000(BIOMIGA,美国),引物合成(上海生工,中国),PCR扩增仪(BIO-RAD,美国),凝胶成像仪(BIO-RAD,美国)。

1.3 变形链球菌样本收集

于上午10点左右(空腹)进行取样,受试儿童用清水漱口,采样时避免手指接触,以防止交叉感染及对菌斑样本的污染。由同一检查者刮取无龋组儿童上下颌第一乳磨牙颊侧颈1/3及上前牙唇面颈1/3菌斑,有龋儿童取其龋坏组织邻近的牙面菌斑,酒精灯旁取样后立刻置于无菌脑心浸液培

培养基(brian heart infusion, BHI)中冰冻保存,并在 2 h 内冰浴下转运至实验室, -80 °C冻存备用。

1.4 变形链球菌选择性培养

将 100 μL 菌悬液直接接种于加入亚碲酸钾的轻唾-杆菌肽琼脂(mitis-salivarius-bacitracin agar, MSB)^[10]平皿上, 37 °C厌氧条件下培养 48 h(一代菌)。每个实验对象通过肉眼观察挑取 8~10 个不同形态的菌落, 接种于 MSB 培养平板内, 培养条件同细菌初代培养(二代菌)。用无菌接种环挑取二代菌中的单个菌落进行革兰氏染色, 并在显微镜下确认为革兰氏阳性菌后, 将符合形态的纯培养物划线转种于 BHI, 培养条件同前(三代菌)。然后转至 2 mL BHI 液体培养基中增菌 18~24 h, 加入 50%甘油, -20 °C冻存备用。

1.5 鉴定变形链球菌的临床分离株

1.5.1 形态学鉴定 挑取第二代细菌的单个菌落用于革兰氏染色, 并在油镜下观察菌体形态(×100)。

1.5.2 生化鉴定 菌株通过细菌微量生化反应管发酵甘露醇、山梨醇、棉子糖、蜜二糖、精氨酸、七叶苷, 经 37 °C恒温培养 24 h 后观察结果。变形链球菌标准菌株 UA159 及无菌生理盐水分别被用作阳性对照和阴性对照。由于生化鉴定并不能完全区分变形链球菌和远缘链球菌, 因此需要通过聚合酶链反应(biochemical identification and polymerase chain reaction, PCR)技术再次鉴定。

1.5.3 分子生物学鉴定 根据细菌基因组 DNA 提取试剂盒说明书规范提取变形链球菌 DNA, 并通过核酸定量仪测定 DNA 纯度和浓度。葡糖基转移酶 *gtfB* 基因的特异性引物 GtfB (5'-ACTACACTTTTCGGGTGGCTTGG-3', 5'-CAGTATAAGCGC-CAGTTTCATC-3')和葡聚糖结合蛋白 *gpbB* 基因的特异性引物 GpbB (5'-CAACAGAAGCACAACCATCA-3', 5'-GTCCACCATTACCCAGT-3')用于对变形链球菌的再次鉴定^[5]。PCR 反应体系(25 μL): DNA 模板 2 μL, PCR Master Mix 12.5 μL, 上下游引物各 0.5 μL, 双蒸水(dd H₂O)9.5 μL。反应条件: 95 °C预变性 2 min, 26 个循环(95 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 1 min, 72 °C延伸 1 min)后, 72 °C延伸 5 min。将扩增产物在 1.5%琼脂糖凝胶上电泳(1 倍 TBE 缓冲液, 110 V 电泳 40 min), UA159 用作阳性对照, 蒸馏水作阴性对照, DNA 相对分子质量标准为 DL 2000, 凝胶成像系统记录带型。使用两种引物分别在 517 bp 和 104 bp 处扩增出单条带者为变形链球菌, 见表 1。

表 1 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequence for PCR

引物	序列	扩增片段(bp)
GtfB-F	ACTACACTTTTCGGGTGGCTTGG	517
GtfB-R	CAGTATAAGCGCCAGTTTCATC	
GpbB-F	CAACAGAAGCACAACCATCA	104
GpbB-R	GTCCACCATTACCCAGT	

1.6 随机引物聚合酶链反应(arbitrarily primed PCR, AP-PCR)基因分型

变形链球菌 AP-PCR 根据参考文献选取最佳引物序列 OPA02(5'-TGCCGAGCTG-3')^[11]。反应体系 25 μL: DNA 模板 2 μL, 引物 1 μL, PCR Master Mix 12.5 μL, 双蒸水(dd H₂O)9.5 μL。随机引物 OPA02 的反应条件: 95 °C预变性 2 min, 30 个循环(94 °C 1 min, 32 °C 1 min, 72 °C 2 min)后, 72 °C 延伸 5 min。1.5%琼脂糖凝胶电泳检测后, 对 AP-PCR 基因指纹图谱的评价参考 Grönroos 等^[12]的标准: 观察凝胶电泳结果, 若主条带不同, 认为图谱不相同; 若主条带相同, 其余条带中不同的条带多于两条, 则认为图谱不相同。AP-PCR 指纹图谱的带型用 Bio-Rad 凝胶成像仪的 Quantity One 软件进行相对分子质量确定, 将数据导入 Excel。

1.7 统计学分析

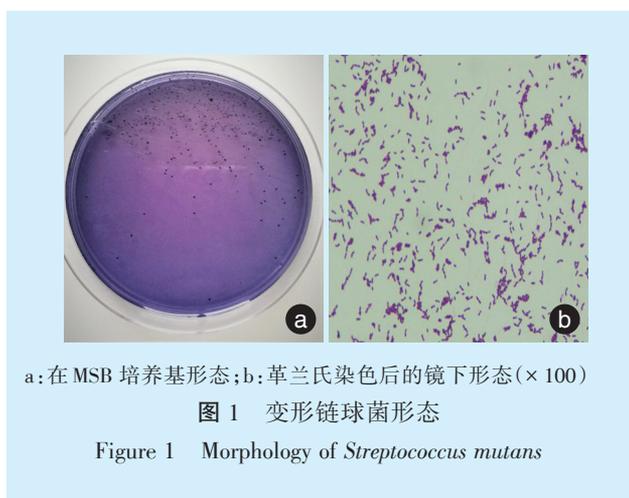
采用 SPSS24.0 软件进行数据处理。对变形链球菌在民族分布及高龋组与无龋组中的检出率等计数资料采用 χ^2 检验。Mann-Whitney U 和 Kruskal-Wallis H 检验分别用于分析变形链球菌基因多态性在不同龋敏感组及民族间分布的差异, Spearman 相关分析用于 dmft 与变形链球菌的基因型数目间的相关性分析。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

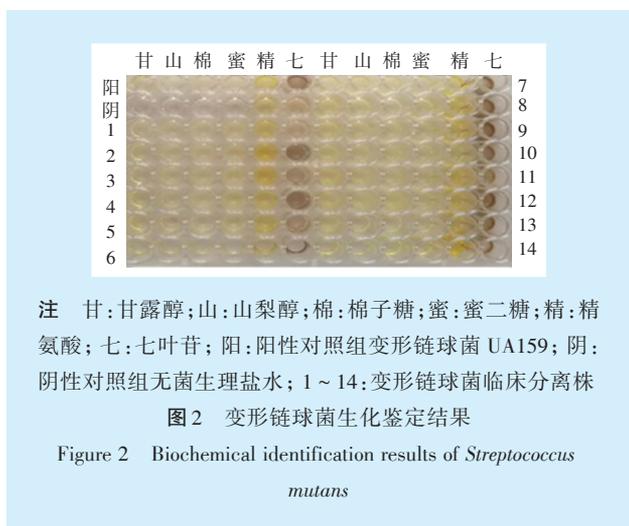
2.1 变形链球菌的分离鉴定

2.1.1 变形链球菌菌落检测和细菌形态学鉴定 MSB 培养基上菌落肉眼观察结果: 深蓝色, 直径约 1 mm, 菌落高度凸起、坚硬、嵌入琼脂中, 边缘不整齐(图 1a)。革兰氏染色后, 油镜下(×100)观察到变形链球菌菌落成簇或散在分布, 为长链或短链状革兰氏阳性小球菌(图 1b)。

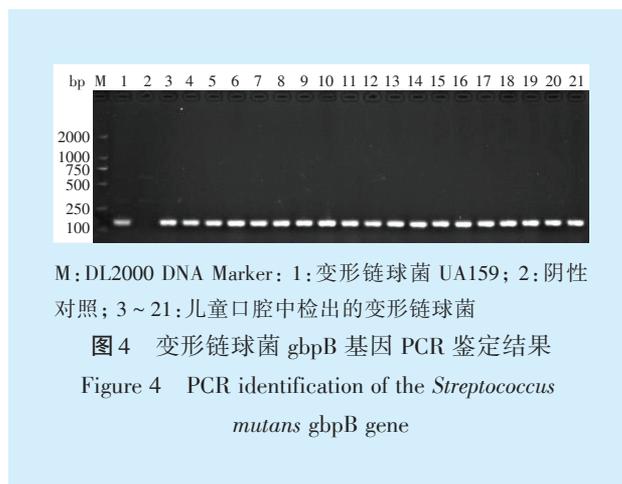
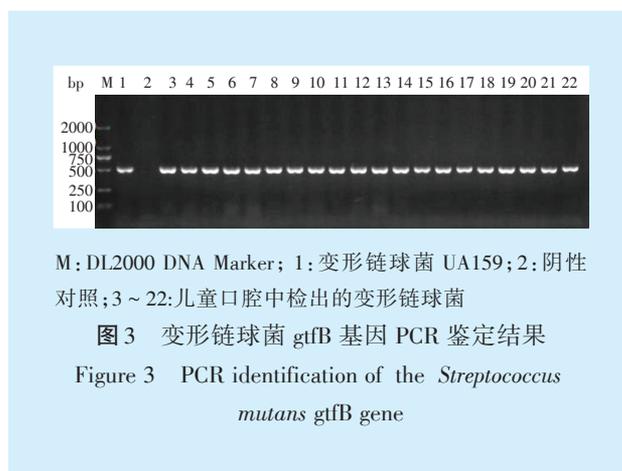
2.1.2 变形链球菌生化鉴定 通过细菌微量生化反应管鉴定具有变形链球菌典型形态的临床分离株。甘露醇、山梨醇、棉子糖、蜜二糖的发酵实验阳性显示为黄色, 精氨酸阳性呈红色, 七叶苷水解



阳性则呈深棕色。变形链球菌标准菌株 UA159 生化鉴定结果:甘露醇、山梨醇、棉子糖、蜜二糖、七叶苷呈阳性结果,精氨酸为阴性结果;无菌生理盐水的6个生化反应结果都为阴性;经鉴定,1~14分离株与阳性对照组颜色变化一致,表明均为变形链球菌(图2)。



2.1.3 变形链球菌的PCR鉴定 特异性引物 *gtfB* 和 *gbpB* 鉴定结果显示,变形链球菌标准菌株 UA159 的 *gtfB* 基因在 517 bp 处有特异性条带,阴性对照组无条带出现,3~22泳道均出现与变形链球菌 UA159 一致的条带,表明3~22经PCR鉴定后均为变形链球菌(图3)。变形链球菌标准菌株 UA159 的 *gbpB* 基因在 104 bp 处有特异性条带,阴性对照组无条带出现,3~21泳道均出现与变形链球菌 UA159 一致的条带,表明3~21均为变形链球菌(图4)。



2.2 三民族儿童口腔中变形链球菌的检出情况

儿童口腔中变形链球菌的检出情况见表2。总体样本中,变形链球菌的检出率为75.5%,高龋组变形链球菌的检出率为86.7%,无龋组64.4%,差异有统计学意义($P=0.014$)。在汉族、维吾尔族、蒙古族儿童中,高龋组变形链球菌检出率均高于无龋组,但差异无统计学意义($P>0.05$)。蒙古族儿童口腔中变形链球菌检出率为83.3%,略高于维吾尔族(73.3%)和汉族(70%),但差异无统计学意义($\chi^2=1.564, P=0.457$)。

2.3 三民族儿童口腔中变形链球菌基因型分布

分离鉴定后,共获得549株变形链球菌临床菌株,使用 OPA 02 随机引物扩增 DNA, AP-PCR 电泳结果显示可以扩增出4~10个条带(图5)。用 Quantity One 软件进行相对分子质量确定并做聚类分析,根据指纹图谱得到113种不同基因型,三民族高龋和无龋儿童变形链球菌基因型分布详见表3。

表2 三民族受检儿童口腔中高龋组与无龋组变形链球菌的检出情况

Table 2 Detection of *Streptococcus mutans* in the S-ECC groups and the CF groups of children in the three ethnic groups

组别	人数	变形链球菌检出[例(%)]	n(%)	
			χ^2 值	P值
汉族	30	21(70.0)	1.429	0.427
高龋组	15	12(80.0)		
无龋组	15	9(60.0)		
维吾尔族	30	22(73.3)	2.727	0.215
高龋组	15	13(86.7)		
无龋组	15	9(60.0)		
蒙古族	30	25(83.3)	2.160	0.330
高龋组	15	14(93.0)		
无龋组	15	11(73.3)		
合计	90	68(75.5)	6.016	0.014
高龋组	45	39(86.7)		
无龋组	45	29(64.4)		

由表3可知三民族儿童口腔中变形链球菌存在明显的基因多态性,高龋组中61.5%的个体携带一种以上变形链球菌基因型,无龋组37.9%的个体携带一种以上变形链球菌基因型, Mann-Whit-

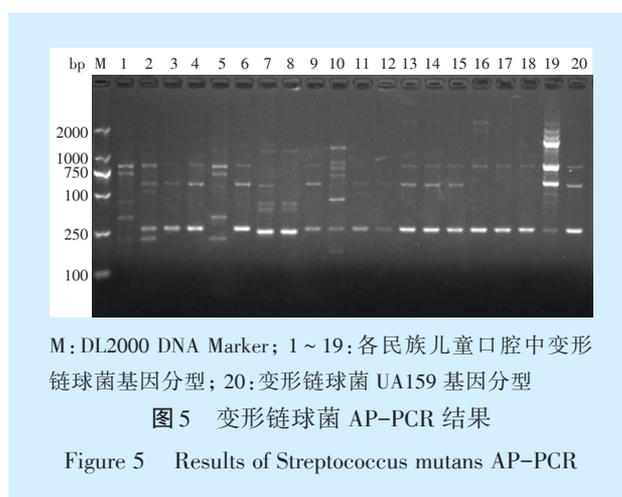
表3 三民族儿童口腔中高龋组和无龋组变形链球菌基因多态性比较

Table 3 Comparison of gene polymorphisms of *Streptococcus mutans* in the S-ECC and CF groups of children of the three ethnic groups

组别	人数	基因型数量				Z值	P值
		1	2	3	4		
汉族	21						
高龋组	12	6(50.0)	2(16.7)	4(33.3)	0(0)	-1.196	0.232
无龋组	9	6(66.7)	3(33.3)	0(0)	0(0)		
维吾尔族	22						
高龋组	13	4(30.8)	7(53.8)	1(7.7)	1(7.7)	-1.057	0.290
无龋组	9	5(55.5)	3(33.3)	1(11.1)	0(0)		
蒙古族	25						
高龋组	14	5(35.7)	5(35.7)	2(14.3)	2(14.3)	-0.986	0.324
无龋组	11	7(63.6)	2(18.2)	2(18.2)	0(0)		
合计	68						
高龋组	39	15(38.5)	14(35.9)	7(17.9)	3(7.7)	-2.113	0.035
无龋组	29	18(62.1)	8(27.6)	3(10.3)	0(0)		

3 讨论

低龄儿童龋病长久以来都是龋病的研究热点,其发展速度快,破坏严重,进一步发展会导致乳牙早失,错颌畸形等,从而影响到儿童的生长发育。目前变形链球菌被公认为是口腔主要致龋菌之一, Banas等^[13]发现口腔中存在的变形链球菌的



ney U 检验结果显示,高龋组变形链球菌基因多态性高于无龋组,差异具有统计学意义($Z = -2.113$, $P = 0.035$)。Kruskal-Wallis H 检验结果显示,在高龋组和无龋组中,变形链球菌基因型在不同民族间的分布差异无统计学意义(高龋组: $\chi^2 = 0.292$, $P = 0.864$;无龋组: $\chi^2 = 0.372$, $P = 0.830$)。Spearman 相关分析表明博州地区人群中基因多态性与龋敏感度呈正相关($r = 0.258$, $P = 0.034$)。

检出率与龋齿的关系并不恒定,变形链球菌的数量在保持口腔生态环境平衡中起着重要作用。以往关于唾液、菌斑中变形链球菌的检出率与学龄前儿童龋病程度相关性的研究,不同研究者给出的结果并不相同。有学者^[14-15]认为龋坏程度与变形链球菌的检出密切相关,本研究显示高龋组变

形链球菌的检出率为 86.7%, 高于无龋组, 此结果与上述文献一致。而另有一些研究^[16-17]却不能说明龋敏感性与变形链球菌检出情况具有相关性。影响变形链球菌检出率的因素有很多, 例如纳入研究对象的人数、地域、民族等一般特征, 不同的培养基与鉴定方法也可能导致变形链球菌检出率的差异。本研究采用的 MSB 培养基是一种选择性培养基, 易于鉴定分离变形链球菌菌落, 同时 BHI 培养基又能为变形链球菌的生长提供更丰富的营养。由于分离培养的菌株数目较多, 本实验首先采用操作简便的生化鉴定方法对分离菌株进行初步鉴定, 然后将变形链球菌用 GtfB 和 GbpB 两种特异性引物同时进行 PCR 扩增, 分别获得的扩增产物为单一条带, 目的片段大小为 517 bp, 104 bp 的菌株才能被证实为变形链球菌, 增加了本研究变形链球菌检出率的可靠性。比较汉族、维吾尔族与蒙古族儿童口腔中变形链球菌的检出率时, 发现蒙古族略高于维吾尔族和汉族, 但差异无统计学意义, 这说明民族的差异并不影响变形链球菌的检出, 可能是由于该地区人口长期混居, 饮食及生活习惯互相融合, 导致各民族之间的差异逐渐消失。

AP-PCR 法是在事先不知道所鉴定的 DNA 序列的前提下, 以随机排列的碱基序列为引物, 随机扩增 DNA, 并对获得的指纹图谱进行分析的一种方法, 目前已经广泛应用于口腔致病菌的分型鉴定中^[18]。Cheon 等^[19]在评估基因型多样性所需的个体变形链球菌分离株的最小数量的研究中发现, 每个样本收集 7~10 个变形链球菌分离株即可检测到代表性基因型, 尤其是在 5~6 岁的儿童中。

本研究在前期变形链球菌菌株的分离培养时, 每个样本分别取 8~10 株, 尽可能获得较完善的样本基因型种类。本实验中选择的引物 OPA 02 因其分型效能高的优点目前已广泛运用于 AP-PCR 分型研究中。此次实验共获得 113 种不同的基因型, 汉族, 维吾尔族, 蒙古族儿童口腔变形链球菌菌株间存在明显的基因多态性。

Pieralisi 等^[20]对 28 名不同龋敏感巴西学龄前儿童变形链球菌进行基因型分析发现高龋组携带更多的基因型, 其中 2 名重度儿童龋患者基因型种类高达 5 种。Cheon 等^[21]对 67 名美国黑人不同龋敏感儿童变形链球菌基因多态性研究后认为儿童龋敏感性与携带基因型呈相关关系, 在低龋及

无龋者口腔变异链球菌基因型较高龋者单一。林静等^[5]发现与无龋组相比, 在维吾尔族高龋儿童口腔中定植的变形链球菌拥有更多的基因型。

本项研究证实了博州 3~5 岁汉族、维吾尔族和蒙古族儿童口腔变形链球菌在不同龋敏感组中均呈现出基因多态性, 且发现高龋组中存在的变形链球菌基因型较无龋组更丰富, 携带基因型的种类可能与其致龋能力相关, 该研究结果与国内外低龄儿童龋病相关类似研究一致。在探究基因型数目与民族之间关系时未发现不同, 这提示变形链球菌基因型构成可能与民族无关。

由于变形链球菌在口腔内的数量及毒力因子会受到其它微生物的调控, 样本量的局限性及一些混杂因素的影响, 变形链球菌基因多态性与儿童龋病和民族间的关系有待进一步研究。因此, 课题组在今后研究中还需不断完善、细化研究分组, 加大样本量, 进一步深入研究变形链球菌的致龋机制及其与乳酸杆菌, 白色念珠菌等口腔微生物的相互作用, 以期探讨新疆不同地区、不同民族儿童龋病的发病机制, 制定个性化的治疗方案, 降低儿童乳牙的患龋率。

参考文献

- [1] 王兴. 第四次全国口腔健康流行病学调查报告[M]. 人民卫生出版社, 2018.
- [2] 李培森, 杨欢, 侯鑫山, 等. 新疆博州地区低龄儿童重度龋病危险因素调查分析[J]. 现代口腔医学杂志, 2018, 32(4): 220-228.
- [3] 韩轩, 霍媛媛, 张琼, 等. 低龄儿童龋致龋微生物相关生物标志物的研究进展[J]. 口腔疾病防治, 2018, 26(6): 391-395.
- [4] Patidar D, Sogi S, Singh V, et al. Salivary levels of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* in early childhood caries: an in vivo study[J]. J Indian Soc Pedod Prev Dent, 2018, 36(4): 386-390.
- [5] 林静, 赵今, 努尔比亚木·麦麦提依明, 等. 新疆维吾尔族儿童乳牙龋与变形链球菌基因型相关性的初步研究[J]. 中华口腔医学杂志, 2011, 46(5): 267-271.
- [6] Ramamurthy PH, Swamy HS, Bennete F, et al. Relationship between severe-early childhood caries, *salivary mutans streptococci*, and *lactobacilli* in preschool children of low socioeconomic status in Bengaluru city[J]. J Indian Soc Pedod Prev Dent, 2014, 32(1): 44-47.
- [7] de Camargo ER, Canalle JB, Capozzoli R, et al. Contribution of *Streptococcus Mutans* virulence factors and saliva agglutinating capacity to caries susceptibility in children: a preliminary study [J]. J Clin Pediatr Dent, 2018, 42(3): 188-194.
- [8] Valdez RMA, Duque C, Caiiffa KS, et al. Genotypic diversity and phenotypic traits of *Streptococcus mutans* isolates and their relation to severity of early childhood caries[J]. BMC Oral Health,

- 2017, 17(1): 115.
- [9] Liu S, Ye T, Yu L, et al. Analysis of small RNAs in *Streptococcus mutans* under acid stress—a new insight for caries research[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(9): 1529.
- [10] Salman HA, Senthilkumar R, Imran K, Selvam KP. Isolation and typing of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* from caries-active subjects[J]. Contemp Clin Dent. 2017, 8(4): 587-593.
- [11] Villhauer AL, Lynch DJ, Warren JJ, et al. Genotypic characterization and comparison of *Streptococcus mutans* in American Indian and Southeast Iowa children[J]. Clin Exp Dent Res, 2017, 3(6): 235-243.
- [12] Grönroos L, Alaluusua S. Site-specific oral colonization of *Mutans Streptococci*, detected by arbitrarily primed PCR fingerprinting[J]. Caries Res, 2000, 34(6): 474-480.
- [13] Banas JA, Drake DR. Are the mutans streptococci still considered relevant to understanding the microbial etiology of dental caries? [J]. BMC Oral Health, 2018, 18(1): 129.
- [14] Hemadi AS, Huang R, Zhou Y, et al. Salivary proteins and microbiota as biomarkers for early childhood caries risk assessment[J]. Int J Oral Sci, 2017, 9(11): e1.
- [15] Johansson I, Witkowska E, Kaveh B, et al. The Microbiome in populations with a low and high prevalence of caries[J]. J Dent Res, 2016, 95(1): 80-86.
- [16] Fragkou S, Balasouli C, Tsuzukibashi O, et al. *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* and *Candida albicans* in oral samples from caries-free and caries-active children[J]. Eur Arch Paediatr Dent, 2016, 17(5): 1-9.
- [17] Xiao C, Ran S, Huang Z, et al. Bacterial diversity and community structure of supragingival plaques in adults with dental health or caries revealed by 16S pyrosequencing[J]. Front Microbiol, 2016, 7(119): 1145.
- [18] Momeni SS, Whiddon J, Cheon K, et al. Genetic diversity and evidence for transmission of *Streptococcus mutans* by diversiLab rep-PCR[J]. J Microbiol Methods, 2016, 128: 108-117.
- [19] Cheon K, Moser SA, Whiddon J, et al. Genetic diversity of plaque *mutans streptococci* with rep-PCR[J]. J Dent Res, 2011, 90(3): 331-335.
- [20] Pieralisi FJS, Rodrigues MR, Segura VG, et al. Genotypic diversity of *Streptococcus mutans* in caries-free and caries-active preschool children[J]. Int J Dent, 2010, 12(2): 59-61.
- [21] Cheon K, Moser SA, Wiener HW, et al. Characteristics of *Streptococcus mutans* genotypes and dental caries in children[J]. Eur J Oral Sci, 2013, 121(301): 148-155.

(编辑 罗燕鸿, 刘影)

· 短讯 ·

《口腔疾病防治》杂志征稿及2019年征订启事

《口腔疾病防治》是国内外公开发行的口腔医学学术类期刊,月刊,CN 44-1724/R,ISSN 2096-1456,CODEN KJFOA4,为中国科技核心期刊,被国内外多家重要数据库收录,由南方医科大学口腔医院(广东省口腔医院)、广东省牙病防治指导中心主办,中南大学、郑州大学、南昌大学、重庆医科大学、福建医科大学等五所大学口腔医学院协办;主要报道国内外口腔医学研究新进展和口腔疾病防治新成果、新技术、新经验,服务口腔疾病预防治疗领域学术交流和口腔疾病防控工作。

本刊图随文走、全铜版纸彩色印刷,设有专家论坛、专家述评、专栏论著、基础研究、临床研究、防治实践、综述等栏目。本刊对录用论文实行免费快速发表,不收取作者任何费用并支付稿酬。

本刊官网及投稿网址为 <http://www.kqjbfz.com>,本刊官网文献实行开放获取(Open Access, OA),免费为读者提供全文服务。《口腔疾病防治》已开设微信公众号,每月推出专家论坛文章及当期全文,读者可通过扫描杂志封面的二维码或者搜索微信公众号“口腔疾病防治杂志”、微信号“kqjbfz”关注本刊。

本刊没有授权或委托任何其他网站受理作者投稿,谨防诈骗。欢迎广大读者订阅。全国各地邮局均可订阅,邮发代号46-225。每月20日出版,定价为每册5.00元,全年60元。如错过邮局订阅时间,可直接向编辑部订购。请将款项汇入开户银行:广州市建行昌岗路支行,账号:44001430402050202779,户名:南方医科大学口腔医院,并且将订阅者的邮政编码、详细地址、姓名、联系电话、订阅年度、份数及汇款回执扫描件发送至本刊邮箱(kqjbfz@vip.126.com)。编辑部电话:020-84403311, Email:kqjbfz@vip.126.com。

《口腔疾病防治》编辑部