

DOI:10.13350/j.cjpb.250207

• 论著 •

儿童防龋齿涂氟对口腔菌群和真菌群的双重影响<sup>\*</sup>闫震<sup>1\*\*</sup>, 闫秀薇<sup>2</sup>, 薛晖<sup>3</sup>, 孙洁<sup>4</sup>(1. 运城护理职业学院护理系, 山西运城 044000; 2. 运城中心医院口腔科; 3. 运城护理职业学院医学基础部;  
4. 运城护理职业学院口腔系)

**【摘要】** 目的 旨在通过系统地评估定期涂氟治疗对儿童口腔细菌群和真菌群的影响, 探讨这些微生物组变化与龋齿预防效果之间的关联, 揭示涂氟治疗在调控儿童口腔微生物平衡中的作用。方法 本研究采用前瞻性、随机对照设计, 选取 40 名 3~12 岁儿童, 随机分为实验组 ( $n=20$ ) 和对照组 ( $n=20$ ), 研究周期为 2 年。实验组接受定期涂氟治疗, 对照组未进行涂氟治疗。样本收集时间点为 Baseline、6 mo、12 mo、18 mo 和 24 mo, 包括唾液和牙菌斑样本。通过 16S rRNA 和 ITS 高通量测序技术分析样本的细菌和真菌群落, 并使用 QIIME 2 软件进行数据处理。采用 Shannon 多样性指数和 Simpson 多样性指数评估微生物多样性, 使用冗余分析 (RDA) 和线性混合模型 (LMM) 评估微生物组成与龋病发病率之间的关联。结果 实验组在 6 mo、12 mo、18 mo 和 24 mo 的 Shannon 多样性指数 (分别为  $3.72 \pm 0.28$ 、 $3.80 \pm 0.27$ 、 $3.85 \pm 0.25$ 、 $3.90 \pm 0.26$ ) 显著高于对照组 (分别为  $3.50 \pm 0.29$ 、 $3.55 \pm 0.31$ 、 $3.60 \pm 0.28$ 、 $3.62 \pm 0.29$ ),  $P$  值分别为 0.013、0.004、0.002 和 0.001。同样地, 实验组的 Simpson 多样性指数在各时间点也显著高于对照组,  $P$  值均小于 0.01。细菌群中, *Streptococcus mutans*、*Lactobacillus* 和 *Actinomyces* 的丰度在实验组显著降低 (*Streptococcus mutans* 在 6 mo 时实验组为  $8.32\% \pm 1.45\%$ , 对照组为  $12.05 \pm 2.22\%$ ,  $P=0.013$ )。真菌群中, *Candida albicans* 的丰度在实验组显著降低 (*Candida albicans* 在 6 mo 时实验组为  $3.32\% \pm 0.85\%$ , 对照组为  $5.05\% \pm 1.22\%$ ,  $P=0.013$ )。冗余分析显示, 实验组的 RDA1 和 RDA2 值在各时间点均显著高于对照组, 表明涂氟处理对微生物群落结构的显著影响。线性混合模型分析结果显示, 时间效应 (参数估计值  $= -0.032$ ,  $P=0.004$ ) 和处理效应 (参数估计值  $= -0.045$ ,  $P=0.002$ ) 对微生物组成和龋病发病率具有显著影响。结论 定期涂氟治疗不仅显著提高了儿童口腔微生物群的多样性, 还通过调控微生物群落结构和抑制与龋齿发生相关的功能基因, 显著降低了龋病发病率。

**【关键词】** 儿童龋齿; 涂氟治疗; 口腔微生物组; 细菌群落; 真菌群落

**【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-5234(2025)02-0164-07

[Journal of Pathogen Biology. 2025 Feb.; 20(02):164-170.]

**Oral microbiome analysis of the dual effects of fluoride application for caries prevention in children**

YAN Zhen<sup>1</sup>, YAN Xiuwei<sup>2</sup>, XUE Hui<sup>3</sup>, SUN Jie<sup>4</sup> (1. Department of Nursing, Yuncheng Nursing Vocational College, Yuncheng 044000, Shanxi, China; 2. Department of Stomatology, Yuncheng Central Hospital; 3. Medical Foundation Department of Yuncheng Nursing Vocational College; 4. Department of Stomatology, Yuncheng Nursing Vocational College) <sup>\*\*\*</sup>

**【Abstract】** **Objective** To systematically evaluate the effects of regular fluoride treatment on oral bacterial and fungal communities in children, explore the association between these microbiome changes and the effect of dental caries prevention, and reveal the role of fluoride treatment in regulating the balance of oral microorganisms in children.

**Methods** This prospective, randomized controlled study selected 40 children aged 3 to 12 years and randomly divided them into an experimental group ( $n=20$ ) and a control group ( $n=20$ ) for a period of 2 years. The experimental group received regular fluoride treatment, while the control group did not. Samples were collected at baseline, 6 months, 12 months, 18 months, and 24 months, including saliva and dental plaque samples. The bacterial and fungal communities of the samples were analyzed by 16S rRNA and ITS high-throughput sequencing technologies, and the data were processed using QIIME 2 software. The Shannon diversity index and Simpson diversity index were used to evaluate microbial diversity, and the association between microbial composition and dental caries incidence was evaluated using redundancy analysis (RDA) and linear mixed models (LMM). **Results** The Shannon diversity index of the experimental group at 6 months, 12 months, 18 months and 24 months ( $3.72 \pm 0.28$ ,  $3.80 \pm 0.27$ ,  $3.85 \pm 0.25$ ,  $3.90 \pm 0.26$ , respectively) was significantly higher than that of the control group ( $3.50 \pm 0.29$ ,  $3.55 \pm 0.31$ ,  $3.60 \pm 0.28$ ,  $3.62 \pm 0.29$ , respectively), with

\* **【基金项目】** 山西省教育科学规划基础教育立项项目 (No. GH-19301)。

\*\* **【通讯作者 (简介)】** 闫震 (1984-), 女, 山西运城人, 硕士, 讲师/主管护师, 主要研究方向: 口腔护理、基础护理等。  
E-mail: yanzhen8404@163.com

$P$  values of 0.013, 0.004, 0.002 and 0.001, respectively. Similarly, the Simpson diversity index of the experimental group was also significantly higher than that of the control group at each time point, with  $P$  values less than 0.01. In the bacterial community, the abundance of *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* and *Actinomyces* was significantly reduced in the experimental group (*Streptococcus mutans* was  $8.32\% \pm 1.45\%$  in the experimental group and  $12.05\% \pm 2.22\%$  in the control group at 6 months,  $P=0.013$ ). In the fungal community, the abundance of *Candida albicans* was significantly reduced in the experimental group (*Candida albicans* was  $3.32\% \pm 0.85\%$  in the experimental group and  $5.05\% \pm 1.22\%$  in the control group at 6 months,  $P=0.013$ ). Redundancy analysis showed that the RDA1 and RDA2 values of the experimental group were significantly higher than those of the control group at each time point, indicating that fluoride treatment had a significant effect on the structure of the microbial community. The results of linear mixed model analysis showed that the time effect (parameter estimate =  $-0.032$ ,  $P=0.004$ ) and treatment effect (parameter estimate =  $-0.045$ ,  $P=0.002$ ) had a significant effect on the microbial composition and the incidence of dental caries. **Conclusion** Regular fluoride treatment not only significantly improved the diversity of children's oral microbiota, but also significantly reduced the incidence of dental caries by regulating the structure of microbial communities and inhibiting functional genes related to dental caries.

**【Keywords】** Childhood caries; fluoride treatment; oral microbiome; bacterial community; fungal community

在儿童口腔健康领域,龋齿依然是最常见的慢性疾病之一,其发病率和普遍性在全球范围内仍是一项重要的公共卫生问题<sup>[1-2]</sup>。龋齿的发生和发展与多种因素有关,其中微生物因素尤为关键<sup>[3-4]</sup>。尽管现有的预防措施,如氟化物的使用,已被证明可以显著减少龋齿的发病率<sup>[5-6]</sup>,但目前对其作用机制,尤其是氟化物如何影响口腔微生物稳态尚缺少足够的证据。氟化物作为一种防龋治疗手段,其防龋效果主要通过抑制微生物代谢中的酸产生以及增强牙釉质的抗酸性和修复能力来实现<sup>[7-9]</sup>。然而,氟化物对口腔内不同微生物群的影响程度及其生态效应尚未完全明了。目前,关于氟化物如何影响口腔中真菌群落的研究相对较少,限制了人们对其抗龋机制的全面理解。

近年来,随着高通量测序技术的发展,口腔微生物组的研究已经取得了突破性进展。这些技术的广泛应用不仅可以帮助人们深入分析细菌群落的复杂性<sup>[10-11]</sup>,还可以探索口腔真菌的多样性及其在口腔健康和疾病中的作用<sup>[12-13]</sup>。因此,综合分析口腔细菌和真菌群落的变化对于深入理解氟化物的防龋效果具有重要意义。本研究旨在通过系统地评估定期涂氟治疗对儿童口腔细菌群和真菌群的影响,探讨这些微生物组变化与龋齿预防效果之间的关联。本研究有助于揭示涂氟治疗在调控儿童口腔微生物平衡中的作用,进而促进口腔健康,期望能够为口腔卫生实践提供更为科学的依据,并为未来的防龋策略开发提供新的视角和数据支持。

## 对象和方法

### 1 研究对象

本研究采用前瞻性、随机对照的设计方法,选取40例自2022年3月至2024年3月期间在运城市

中心医院和运城护理职业学院附属医院口腔科就诊的3至12岁儿童,并随机分为2组:实验组( $n=20$ )儿童接受定期涂氟治疗,对照组( $n=20$ )儿童未接受定期涂氟治疗。研究周期2年,期间样本收集频率为每6mo 1次,以分析治疗对口腔细菌和真菌群落的长期影响。入组儿童需具有完整的乳牙或乳牙混合牙列,排除入组前3mo内接受过口腔抗菌治疗的儿童,以及有显著系统性疾病或正在使用其他可能会影响研究结果的药物的儿童。

本研究获得我院伦理委员会的批准[2022医伦审第(2201)号]。研究开始前,所有参与儿童的家长或法定监护人均签署了知情同意书,充分了解了研究目的、程序以及可能的风险和益处。本研究过程符合《赫尔辛基宣言》伦理规范。

### 2 样本收集

本研究中的样本收集包括唾液和牙菌斑2种类型。样本的收集时间点为研究开始时(Baseline)、治疗后6mo、12mo、18mo和24mo。唾液样本的收集于儿童早晨起床后30min内进行,采用无刺激唾液收集法。儿童在收集前应避免任何饮食活动,收集过程中要求儿童自然唾液积聚在口腔中,随后轻轻吐入无菌收集容器中,每次至少收集5mL唾液。牙菌斑样本则由经过专业培训的医生使用无菌牙科工具轻轻刮取。样本取自儿童口腔内的特定牙齿表面,确保每次采样的位置和方法一致。所有样本在收集后立即转移到含有RNA抑制剂的无菌试管中,并在4℃条件下暂存,随后送到实验室冷冻保存于-80℃备检。

### 3 微生物组分析

本研究的微生物组学分析包括样本DNA的提取和16s rRNA高通量测序。从唾液和牙菌斑样本中提取DNA。使用Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit

(Qiagen)提取 DNA 后对其进行质量和浓度检测,取保提取的样本符合测序条件后即对其进行 16S rRNA 基因测序,过程中对样本 DNA 的 V3-V4 变异区域进行扩增以确保覆盖范围广泛且具有代表性,真菌群落分析则利用内转录间隔区 (Internal transcribed spacer, ITS) 测序<sup>[14]</sup>。测序完成后,使用 QIIME 2 软件进行原始数据的质量控制、操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU) 的挑选、物种注释以及多样性分析,构建每个样本的微生物组成图谱,并评估不同时间点的群落结构变化<sup>[15]</sup>。此外,本研究还通过 PICRUST (Phylogenetic Investigation of Communities by Reconstruction of Unobserved States) 工具预测代谢功能<sup>[16]</sup>,以更深入地理解涂氟治疗对儿童口腔微生物功能潜能的影响。

#### 4 统计学分析

本研究统计分析使用 R 语言 (版本:4.1.3) 进行,数据以均值±标准差 (Mean±SD) 表示。微生物组数据的描述性统计分析包括计算各个样本的微生物多样性指数 (如 Shannon 多样性指数和 Simpson 多样性指数) 和物种丰富度。采用 Mann-Whitney U 检验比较实验组和对照组之间的微生物组成差异,以评估 2 组间在各个时间点的微生物丰度和多样性的显著性差异。使用 Kruskal-Wallis 方法比较多个时间点的数据。采用冗余分析 (Redundancy analysis, RDA) 探讨微生物组成与龋病发病率之间的关系,分析微生物组成与临床测量指标之间的潜在关联。通过线性混合模型 (Linear mixed model, LMM) 来评估时间效应和处理效应对微生物组成的影响,同时考虑个体间的随机效应。所有统计检验均设定显著性水平为 0.05,采用 Bonferroni 方法校正 P 值。

### 结 果

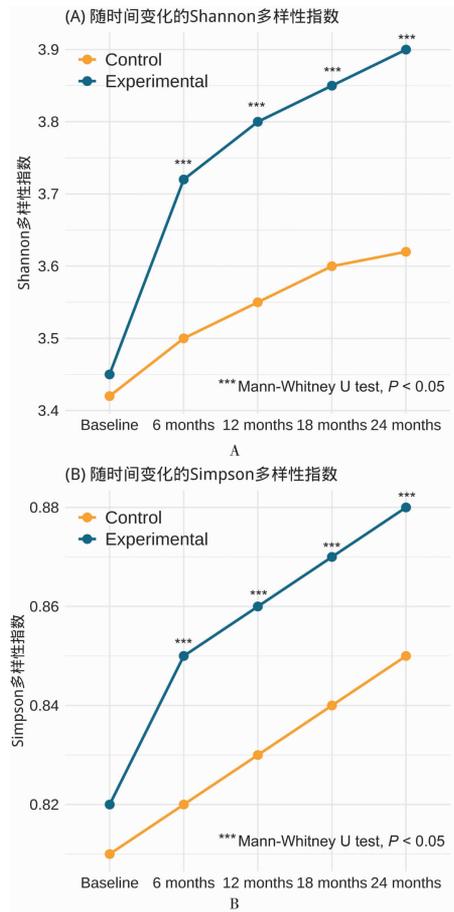
#### 1 一般资料

开始治疗前,实验组和对照组的儿童在年龄和性别分布上无显著差异。实验组平均年龄 7.45±1.89 岁,对照组的平均年龄为 7.50±1.92 岁 ( $t=-0.093, P=0.926$ )。性别分布方面,实验组内男女比例为 10:10,对照组内男女比例亦 10:10,2 组间差异无统计学意义 ( $\chi^2=0.000, P=1.000$ )。在样本收集和质量控制过程中,每个时间点 (Baseline、6mo、12mo、18mo、24mo) 分别收集 40 份样本 (实验组和对照组各 20 份)。如表 1 所示,所有样本的 DNA 浓度分布为 20~50 ng/μL,  $A_{260}/A_{280}$  比值范围在 1.8~2.0 之间,符合高通量测序的要求。

#### 2 微生物多样性分析

通过计算每个时间点的 Shannon 多样性指数和

Simpson 多样性指数,本研究发发现实验组和对照组的口腔微生物群在不同时间点的多样性指数存在显著差异 (图 1)。实验组在 6 mo ( $U=290.0, P=0.013$ )、12 mo ( $U=275.5, P=0.004$ )、18 mo ( $U=262.0, P=0.002$ ) 和 24 mo ( $U=247.5, P=0.001$ ) 的 Shannon 多样性指数显著高于对照组 (表 2), P 值分别为 0.013、0.004、0.002 和 0.001。同样地,实验组的 Simpson 多样性指数亦从实验第 6 mo 以后显著升高 (表 2)。结果表明定期涂氟治疗显著提高了儿童口腔微生物群的多样性。



A Shannon 多样性指数 B Simpson 多样性指数比较

图 1 实验组和对照组在各个时间点的

Fig. 1 Comparison of Shannon diversity index

表 1 样本质量控制结果  
Table 1 Sample quality control results

时间点	平均 DNA 浓度 (ng/μL)		$A_{260}/A_{280}$ 比值		样本总数
	唾液样本	牙菌斑样本	唾液样本	牙菌斑样本	
Baseline	31.45±4.12	29.76±4.01	1.92±0.03	1.91±0.03	40
6 mo	32.12±4.98	30.54±4.19	1.91±0.02	1.92±0.03	40
12 mo	30.87±4.24	30.23±4.87	1.93±0.04	1.90±0.02	40
18 mo	31.54±4.31	31.12±4.14	1.90±0.03	1.91±0.03	40
24 mo	30.22±4.08	30.09±4.27	1.89±0.02	1.89±0.03	40

#### 3 细菌群与真菌群的丰度变化

对于细菌群丰度变化,实验组和对照组共有的 Top10 微生物群分别为 *Streptococcus mutans*、

*Lactobacillus*、*Actinomyces*、*Streptococcus sanguinis*、*Streptococcus mitis*、*Veillonella*、*Neisseria*、*Prevotella*、*Fusobacterium* 和 *Porphyromonas*。对各个时间点 2 组间的丰度占比进行比较后发现，*Streptococcus mutans*、*Lactobacillus* 和 *Actinomyces* 的丰度在 6 mo、12 mo、18 mo 和 24 mo 时均显著降低，而对照组中则变化不大（图 2）。其中 *Streptococcus mutans* 在 6 mo 时实验组的丰度显著低于对照组 ( $U=290.0, P=0.013$ )，12 mo 时这种差异更加显著 ( $U=275.5, P=0.004$ )。

表 2 Shannon 多样性指数和 Simpson 多样性指数的比较  
Table 2 Comparison of Shannon diversity index and Simpson diversity index

时间点	Shannon 指数 (Mean ± SD)				Simpson 指数 (Mean ± SD)			
	实验组	对照组	U	P	实验组	对照组	U	P
Baseline	3.45 ± 0.32	3.42 ± 0.30	382.5	0.746	0.82 ± 0.05	0.81 ± 0.06	376.0	0.692
6 mo	3.72 ± 0.28	3.50 ± 0.29	290.0	0.013	0.85 ± 0.03	0.82 ± 0.04	284.5	0.009
12 mo	3.80 ± 0.27	3.55 ± 0.31	275.5	0.004	0.86 ± 0.04	0.83 ± 0.05	269.0	0.002
18 mo	3.85 ± 0.25	3.60 ± 0.28	262.0	0.002	0.87 ± 0.03	0.84 ± 0.04	255.5	0.001
24 mo	3.90 ± 0.26	3.62 ± 0.29	247.5	0.001	0.88 ± 0.04	0.85 ± 0.05	241.0	0.001

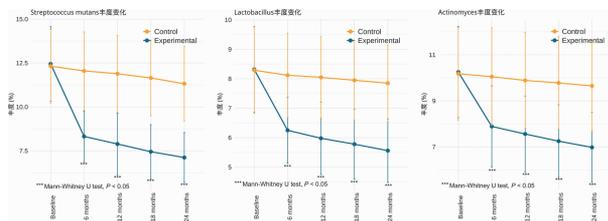


图 2 实验组和对照组中存在显著差异的细菌群随时间变化的丰度占比

Fig. 2 The proportion of abundance of bacterial groups with significant differences between the experimental group and the control group over time

对于真菌群丰度变化，实验组和对照组共有的 Top10 关键菌群分别为 *Candida albicans*、*Aspergillus*、*Penicillium*、*Candida glabrata*、*Candida tropicalis*、*Saccharomyces*、*Cladosporium*、*Malassezia*、*Trichosporon* 和 *Cryptococcus*。对各个时间点 2 组间的丰度占比进行比较的结果显示，实验组中 *Candida albicans*、*Aspergillus* 和 *Penicillium* 的丰度在 6 mo、12 mo、18 mo 和 24 mo 时均显著降低，而对照组中则变化不大（图 3）。*Candida albicans* 在 6 mo 时实验组的丰度显著低于对照组 ( $U=290.0, P=0.013$ )，12 mo 时这种差异也显著存在 ( $U=275.5, P=0.004$ )。

#### 4 群落结构的动态变化

对于细菌群落结构的动态变化，分析结果显示实验组和对照组在各个时间点的细菌群落结构变化存在显著差异（表 3）。实验组在 6 mo、12 mo、18 mo 和 24 mo 的群落结构变化显著 ( $P$  值分别为 0.045、0.038、

0.032 和 0.028)。图 4A 展示了实验组和对照组在不同时间点的细菌群落组成，实验组的细菌群落结构在涂氟治疗后显著变化。对于真菌群落结构的动态变化，分析结果显示 2 组在各个时间点的真菌群落结构变化也存在显著差异（表 4）。实验组在 12 mo、18 mo 和 24 mo 的群落结构变化显著 ( $P$  值分别为 0.048、0.042 和 0.038)。图 4B 展示了实验组和对照组在不同时间点的真菌群落组成，实验组的真菌群落结构在涂氟治疗后显著变化。冗余分析结果表明，涂氟处理对细菌和真菌群落结构均有显著影响（表 5、表 6）。实验组的 RDA1 和 RDA2 值在各个时间点均高于对照组，证明了涂氟处理在调控口腔微生物群落结构中的重要作用。

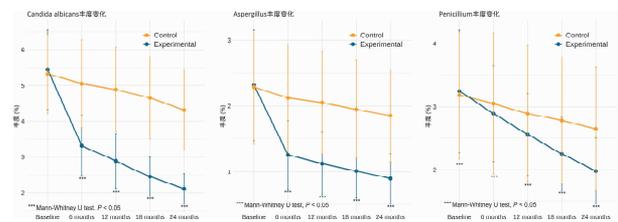


图 3 实验组和对照组中存在显著差异的真菌群随时间变化的丰度占比  
Fig. 3 The abundance proportion of fungal groups with significant differences between the experimental group and the control group changes over time

表 3 细菌群落结构变化的冗余分析结果  
Table 3 Redundancy analysis results of changes in bacterial community structure

时间点	组别	RDA1 (%)	RDA2 (%)	F	P
Baseline	实验组	35.12	15.25	1.45	0.214
	对照组	34.98	15.12	1.42	0.217
6 mo	实验组	40.25	18.45	2.32	0.045
	对照组	35.12	15.32	1.56	0.198
12 mo	实验组	42.78	20.12	2.56	0.038
	对照组	36.45	16.78	1.68	0.189
18 mo	实验组	44.12	21.56	2.78	0.032
	对照组	37.12	17.25	1.75	0.178
24 mo	实验组	45.56	22.45	2.98	0.028
	对照组	38.12	18.12	1.85	0.169

表 4 真菌群落结构变化的冗余分析结果  
Table 4 Redundancy analysis results of changes in fungal community structure

时间点	组别	RDA1 (%)	RDA2 (%)	F	P
Baseline	实验组	30.12	12.25	1.32	0.241
	对照组	29.98	12.12	1.30	0.245
6 mo	实验组	35.25	15.45	2.12	0.052
	对照组	30.12	12.32	1.45	0.223
12 mo	实验组	37.78	17.12	2.32	0.048
	对照组	31.45	13.78	1.56	0.210
18 mo	实验组	39.12	18.56	2.45	0.042
	对照组	32.12	14.25	1.62	0.198
24 mo	实验组	40.56	19.45	2.62	0.038
	对照组	33.12	15.12	1.72	0.189

表 5 主要功能基因相对丰度变化

功能基因	时间点	实验组	对照组	U 值	P 值
碳水化合物代谢	Baseline	0.45±0.12	0.46±0.11	382.5	0.746
	6 mo	0.32±0.10	0.45±0.12	290.0	0.013
	12 mo	0.30±0.09	0.44±0.11	275.5	0.004
	18 mo	0.28±0.08	0.43±0.12	262.0	0.002
	24 mo	0.25±0.07	0.42±0.11	247.5	0.001
酸生成	Baseline	0.38±0.11	0.39±0.10	376.0	0.692
	6 mo	0.28±0.09	0.38±0.11	284.5	0.009
	12 mo	0.26±0.08	0.37±0.10	269.0	0.002
	18 mo	0.24±0.07	0.36±0.09	255.5	0.001
	24 mo	0.22±0.06	0.35±0.09	241.0	0.001
抗氧化	Baseline	0.35±0.10	0.34±0.11	379.0	0.719
	6 mo	0.25±0.08	0.33±0.10	293.5	0.015
	12 mo	0.23±0.07	0.32±0.09	278.0	0.005
	18 mo	0.21±0.06	0.31±0.08	265.0	0.003
	24 mo	0.20±0.05	0.30±0.08	252.0	0.002

表 6 实验组和对照组在不同时间点的龋病发病率 (%) 比较

时间点	实验组	对照组	U	P
Baseline	15.0±2.52	14.81±2.63	380.5	0.736
6 mo	10.5±2.01	14.23±2.44	295.1	0.015
12 mo	8.50±1.82	13.82±2.30	281.0	0.006
18 mo	7.04±1.51	13.41±2.28	268.5	0.003
24 mo	5.54±1.22	12.83±2.10	255.2	0.001

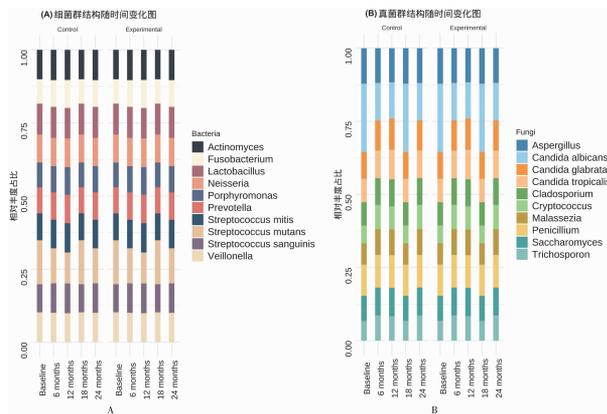


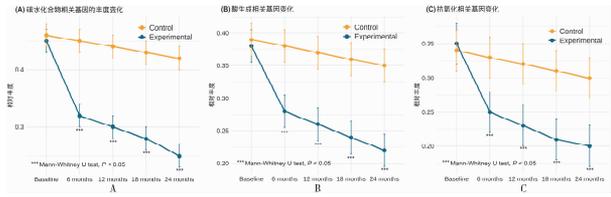
图 4 实验组和对照组在不同时间点的 (A) 细菌群落结构和 (B) 真菌群落结构变化

Fig. 4 Changes in (A) bacterial community structure and (B) fungal community structure in the experimental group and the control group at different time points

### 5 氟化物处理对微生物功能潜能的影响

在微生物功能潜能分析中,本研究使用 PICRUSt 工具预测了各个时间点实验组和对照组的微生物功能基因丰度。结果显示,实验组在 6 mo、12 mo、18 mo 和 24 mo 的龋齿发生相关的基因丰度均显著低于对照组,包括与碳水化合物代谢 (Carbohydrate metabolism)、酸生成 (Acid production) 和抗氧化功能 (Antioxidant) 相关基因 (图 5)。如表 5 所示,实验组在 6 mo 时碳水化合物代谢基因的相对丰度显著低于

对照组 ( $U=290.0, P=0.013$ ), 12 mo 时这种差异更加显著 ( $U=275.5, P=0.004$ )。酸生成基因和抗氧化基因的丰度在各时间点也显示出类似的显著差异,这表明涂氟治疗有效地抑制了与龋齿发生相关的微生物功能基因的表达。



A 碳水化合物代谢功能基因丰度变化图 B 酸生成功能基因丰度变化图 C 抗氧化功能基因丰度变化图

图 5 实验组和对照组功能基因丰度的变化比较

Fig. 5 Comparison of changes in the abundance of functional genes between the experimental group and the control group

### 6 微生物组成与龋病发病率之间的关联

为了评估微生物组成与龋病发病率之间的关联,本研究对各个时间点实验组和对照组的龋病发病率进行统计后,使用冗余分析和线性混合模型 (Linear Mixed Model, LMM) 评估了微生物组成与龋病发病率之间的潜在关联。结果显示,实验组在 6 mo、12 mo、18 mo 和 24 mo 的龋病发病率显著低于对照组 (表 6), 实验组在 6 mo 时龋病发病率为 10.5%, 显著低于对照组的 14.2% ( $U=295.0, P=0.015$ ), 12 mo 时差异更加显著 ( $U=281.0, P=0.006$ )。

冗余分析结果表明,微生物组成的变化与龋病发病率显著相关。实验组的 RDA1 和 RDA2 值在各个时间点均显著高于对照组 (表 7), 证明了涂氟处理在调控口腔微生物群落结构和降低龋病发病率中的重要作用。线性混合模型分析结果显示,时间效应 (参数估计值  $= -0.032, P=0.004$ ) 和处理效应 (参数估计值  $= -0.045, P=0.002$ ) 对微生物组成和龋病发病率具有显著影响 (表 8)。

表 7 冗余分析 (RDA) 评估微生物组成与龋病发病率之间的关系  
Table 7 Redundancy analysis (RDA) to assess the relationship between microbial composition and dental caries incidence

时间点	组别	RDA1 (%)	RDA2 (%)	F	P
Baseline	实验组	35.12	15.25	1.45	0.214
	对照组	34.98	15.12	1.42	0.217
6 mo	实验组	40.25	18.45	2.32	0.045
	对照组	35.12	15.32	1.56	0.198
12 mo	实验组	42.78	20.12	2.56	0.038
	对照组	36.45	16.78	1.68	0.189
18 mo	实验组	44.12	21.56	2.78	0.032
	对照组	37.12	17.25	1.75	0.178
24 mo	实验组	45.56	22.45	2.98	0.028
	对照组	38.12	18.12	1.85	0.169

表 8 线性混合模型(LMM)评估时间效应和处理效应对微生物组成和龋病发病率的影响

Table 8 Linear mixed model (LMM) to assess the effects of time and treatment on microbial composition and dental caries incidence

因素	参数估计值	标准误	t	P
时间效应	-0.032	0.011	-2.91	0.004
处理效应	-0.045	0.014	-3.21	0.002

## 讨 论

本研究通过系统地评估定期涂氟治疗对儿童口腔细菌群和真菌群的影响,深入探讨了微生物群落变化与龋齿预防效果之间的关系。结果表明,涂氟治疗不仅显著提高了儿童口腔微生物群的多样性,而且在调控细菌和真菌群落结构、降低龋病发病率以及抑制与龋齿发生相关的微生物功能基因方面具有显著作用。本研究发现,实验组在 6 mo、12 mo、18 mo 和 24 mo 的 Shannon 多样性指数和 Simpson 多样性指数均显著高于对照组,表明定期涂氟治疗显著提高了儿童口腔微生物群的多样性。这一发现与既往研究一致,表明氟化物不仅通过化学机制抑制龋齿的发生,还通过生物机制影响口腔微生物群的多样性<sup>[17-19]</sup>,多样性增加可能有助于维持口腔微生态的稳定,从而增强口腔健康。在细菌群中, *Streptococcus mutans*、*Lactobacillus* 和 *Actinomyces* 的丰度在实验组中显著降低,而对照组中变化不大。*Streptococcus mutans* 是已知的主要致龋菌,其丰度的降低直接与龋齿发生率的降低相关<sup>[20-21]</sup>。此外, *Lactobacillus* 和 *Actinomyces* 也与龋齿的发生密切相关,这些细菌的丰度降低进一步支持了涂氟治疗在防龋中的有效性<sup>[22,23]</sup>。对于真菌群,实验组中 *Candida albicans*、*Aspergillus* 和 *Penicillium* 的丰度在各时间点均显著降低<sup>[24]</sup>。*Candida albicans* 是口腔中常见的真菌,与口腔疾病包括龋齿和口腔念珠菌病有关<sup>[25]</sup>。真菌群丰度的降低表明,涂氟治疗不仅对细菌群有效,对真菌群也具有显著的抑制作用。

冗余分析结果显示,实验组的细菌和真菌群落结构在 6 mo、12 mo、18 mo 和 24 mo 均发生显著变化,而对照组的变化不显著。这表明涂氟治疗对口腔微生物群落结构具有显著的调控作用。细菌和真菌群落结构的显著变化可能与涂氟治疗的抗菌和抗真菌作用有关,这些变化有助于维持口腔微生态的平衡,从而减少龋齿的发生<sup>[26]</sup>。本研究使用 PICRUSt 工具预测了微生物功能基因的丰度,结果显示实验组在 6 mo、12 mo、18 mo 和 24 mo 的碳水化合物代谢、酸生成和抗氧化功能基因丰度均显著低于对照组。这些基因的丰度降低表明,涂氟治疗有效地抑制了与龋齿发生相关的微生物功能基因的表达。氟化物通过抑制致龋菌的代谢功能,减少酸的产生,从而降低龋齿的发生风险。

线性混合模型分析结果显示,时间效应和处理效应对微生物组成和龋病发病率具有显著影响。冗余分析结果进一步证实,微生物群落结构的变化与龋病发病率显著相关。实验组在各时间点的龋病发病率显著低于对照组,表明涂氟处理在降低龋病发病率方面的显著效果。

在本次研究中,通过系统的微生物组学分析,揭示了定期涂氟治疗在调控儿童口腔微生物群平衡、降低龋病发病率方面的显著作用。本研究结果表明,涂氟治疗不仅通过提高口腔微生物群的多样性和调控微生物群落结构来预防龋齿,还通过抑制与龋齿发生相关的微生物功能基因来减少酸的产生。但是当前关于定期涂氟对儿童口腔微生物群和真菌群影响的研究仅揭示了其在短期内的作用效果,可能仍存在一些不足:缺乏对微生物群和真菌群长期动态变化的深入研究,此外样本量和代表性不足,使得结果的普适性受到限制。因此,对于涂氟对特定菌群和真菌群的特异性影响,尤其是变异链球菌和念珠菌的研究仍有待深入。未来的研究应侧重于多组学整合和个性化预防方案的开发,同时加强对真菌群的研究,并将基础研究与临床应用紧密结合,以提高防龋策略的科学性和实用性。

## 【参考文献】

- [1] Rashed T, Alkhalefa N, Adam A, et al. Pit and fissure sealant versus fluoride varnish for the prevention of dental caries in school children: A systematic review and meta-analysis [J]. Int J Clin Pract, 2022, 2022(1): 8635254.
- [2] Uribe SE, Innes N, Maldupa I. The global prevalence of early childhood caries: A systematic review with meta-analysis using the WHO diagnostic criteria [J]. Int J Paediatr Dent, 2021, 31(6): 817-830.
- [3] 罗晓婷,刘颖萍. 儿童复发性口疮与唾液微生物群落之间关联研究[J]. 中国微生态学杂志, 2023, 35(12): 1407-1409, 1417.
- [4] Luo SC, Wei SM, Luo XT, et al. How probiotics, prebiotics, synbiotics, and postbiotics prevent dental caries: an oral microbiota perspective [J]. NPJ Biofilms Microbiomes, 2024, 10(1): 14.
- [5] Chan AKY, Tamrakar M, Jiang CM, et al. Clinical evidence for professionally applied fluoride therapy to prevent and arrest dental caries in older adults: A systematic review [J]. J Dent, 2022, 125(1): 104273.
- [6] Manchanda S, Sardana D, Liu P, et al. Topical fluoride to prevent early childhood caries: Systematic review with network meta-analysis [J]. J Dent, 2022, 116(1): 103885.
- [7] Schmoekkel J, Gorseta K, Spleth CH, et al. How to intervene in the caries process: Early childhood caries - A systematic review [J]. Caries Res, 2020, 54(2): 102-112.
- [8] Ballikaya E, Unverdi GE, Cehreli ZC. Management of initial carious lesions of hypomineralized molars (MIH) with silver diamine fluoride or silver-modified atraumatic restorative treatment (SMART): 1-year results of a prospective, randomized

- clinical trial [J]. Clin Oral Investig, 2022, 26(2): 2197-2205.
- [9] Cabalen MB, Molina GF, Bono A, et al. Nonrestorative caries treatment: A systematic review update [J]. Int Dent J, 2022, 72(6): 746-764.
- [10] Wang JX, Liu SS, Han SY, et al. High-throughput sequencing reveals soil bacterial community structure and their interactions with environmental factors of the grassland fairy ring [J]. Environ Microbiol Rep, 2022, 14(4): 479-493.
- [11] 孙雁斐, 卢洁, 杨加震, 等. 基于微生物组新颖指数构建龋病菌群诊断模型[J]. 华西口腔医学杂志, 2023, 41(2): 208-217.
- [12] Jang H, Patoine A, Wu TT, et al. Oral microflora and pregnancy: a systematic review and meta-analysis [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 16870.
- [13] Baker JL, Mark Welch JL, Kauffman KM, et al. The oral microbiome: diversity, biogeography and human health [J]. Nat Rev Microbiol, 2024, 22(2): 89-104.
- [14] Rolling T, Zhai B, Frame J, et al. Customization of a DADA2-based pipeline for fungal internal transcribed spacer 1 (ITS1) amplicon data sets [J]. JCI Insight, 2022, 7(1): e151663.
- [15] Rai SN, Qian C, Pan J, et al. Microbiome data analysis with applications to pre-clinical studies using QIIME2: Statistical considerations [J]. Genes Dis, 2021, 8(2): 215-223.
- [16] Ijoma GN, Nkuna R, Mutungwazi A, et al. Applying PICRUSt and 16S rRNA functional characterisation to predicting co-digestion strategies of various animal manures for biogas production [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 19913.
- [17] 龚静, 王荣. 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]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2024, 18(2): 100-107.
- [18] Kruse AB, Schlueter N, Kortmann VK, et al. Long-term use of oral hygiene products containing stannous and fluoride ions: effect on viable salivary bacteria [J]. Antibiotics (Basel), 2021, 10(5): 481.
- [19] Yang Z, Cai T, Li Y, et al. Effects of topical fluoride application on oral microbiota in young children with severe dental caries [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2023, 13(1): 1104343.
- [20] Naka S, Wato K, Misaki T, et al. *Streptococcus mutans* induces IgA nephropathy-like glomerulonephritis in rats with severe dental caries [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 5784.
- [21] Lin Y, Chen J, Zhou X, et al. Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm formation by strategies targeting the metabolism of exopolysaccharides [J]. Crit Rev Microbiol, 2021, 47(5): 667-677.
- [19] 林秀燕. 学龄前儿童龋活性及其唾液微生物相关性的研究[D]. 河北: 河北医科大学, 2023.
- [24] 杨子靓, 王悦, 贾博莎, 等. 口腔真菌感染病原菌分布特征及危险因素研究进展[J]. 中国病原生物学杂志, 2024, 19(2): 226-229.
- [25] 吕晓慧, 王琨, 张凌琳. 白色念珠菌与龋病相关性的研究进展[J]. 中华口腔医学杂志, 2021, 56(5): 491-496.
- LV Xiaohui, WANG Kun, ZHANG Linglin. Research progress on the correlation between *Candida albicans* and dental caries [J]. Chin J Stomatol, 2021, 56(5): 491-496. (in Chinese)
- [26] Fakhruddin KS, Egusa H, Ngo HC, et al. Silver diamine fluoride (SDF) used in childhood caries management has potent antifungal activity against oral *Candida* species [J]. BMC Microbiol, 2020, 20(1): 95.
- 【收稿日期】 2024-09-26 【修回日期】 2024-12-10
- 
- (上接 163 页)
- [8] 曲沛, 郭杰, 李韦杰, 等. 4387 例性病门诊患者沙眼衣原体、淋球菌、解脲脲原体感染情况分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2019, 26(12): 1994-1996, 2002.
- [9] 马娜, 张小斌, 刘春桃, 等. 生殖道沙眼衣原体和淋球菌感染流行状况与防治[J]. 皮肤病与性病, 2021, 43(5): 623-625.
- [10] 王千秋, 刘全忠, 徐金华, 等. 梅毒、淋病和生殖道沙眼衣原体感染诊疗指南(2020 年)[J]. 中华皮肤科杂志, 2020, 53(3): 168-179.
- [11] Wilson JD, Wallace HE, Loftus-Keeling M, et al. Swab-yourself trial with economic monitoring and testing for infections collectively (SYSTEMATIC): Part 2. A diagnostic accuracy and cost-effectiveness study comparing rectal, pharyngeal, and urogenital samples analyzed individually, versus as a pooled specimen, for the diagnosis of gonorrhoea and chlamydia. [J]. Clin Infect Dis, 2021, 73(9): 3183-3193.
- [12] Ma C, Du J, He W, et al. Rapid and accurate diagnosis of *Chlamydia trachomatis* in the urogenital tract by a dual-gene multiplex qPCR method [J]. J Med Microbiol, 2019, 68(12): 1732-1739.
- [13] Eboigbodin, Kevin E. Simultaneous detection of chlamydia trachomatis and neisseria gonorrhoeae using Real-Time Multiplex qPCR assay [J]. Methods Mol Biol. 2019, 2042(4): 27-32.
- [14] Del Romero J, Moreno Guillen S, Rodriguez-Artalejo FJ, et al. Sexually transmitted infections in Spain: Current status [J]. Rev Esp Quimioter. 2023, 36(5): 444-465.
- [15] Kelly H, Coltart CEM, Pant Pai N, et al. Systematic reviews of point-of-care tests for the diagnosis of urogenital *Chlamydia trachomatis* infections [J]. Sex Transm Infect, 2017, 93(4): 22-30.
- [16] 王雪亮, 刘芬, 蒋玲丽, 等. 环介导等温扩增技术快速检测沙眼衣原体 [J]. 检验医学, 2017, 32(9): 809-812.
- [17] Adamson PC, Pandori MW, Doernberg SB, et al. Analytical evaluation of the Abbott RealTime CT/NG assay for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in rectal and pharyngeal swabs [J]. J Mol Diagn, 2020, 22(6): 811-816.
- [18] Land KJ, Boeras DI, Chen XS, et al. REASSURED diagnostics to inform disease control strategies, strengthen health systems and improve patient outcomes [J]. Nat Microbiol, 2019, 4(1): 46-54.
- [19] Pol BVD, Taylor SN, Mena L, et al. Evaluation of the performance of a point-of-care test for chlamydia and gonorrhoea [J]. JAMA Netw Open, 2020, 3(5): 204819-204819.
- 【收稿日期】 2024-09-30 【修回日期】 2024-12-06