

# 复合益生菌压片糖果调节口腔微生态 改善早期儿童龋齿效果研究

喻喜华<sup>1,2</sup> 王 一<sup>1,2</sup> 李刘若兰<sup>1,2</sup> 任 玉<sup>3</sup> 崔树茂<sup>3</sup> 徐贤寅<sup>4</sup>

(1. 国药控股星鲨制药(厦门)有限公司, 福建 厦门 361026; 2. 厦门市母婴健康营养产品重点实验室, 福建 厦门 361005; 3. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122; 4. 江南大学附属儿童医院 (无锡市儿童医院) 口腔科, 江苏 无锡 214042)

**摘要:** [目的] 探究鼠李糖乳酪杆菌 CCFM1070 和唾液联合乳杆菌 CCFM1215 的复合益生菌压片糖果对早期儿童龋齿 (ECC) 患者口腔中变异链球菌 (*Streptococcus mutans*) 及微生物群落结构的影响。[方法] 纳入 43 例 ECC 患者, 随机分为益生菌组 ( $n=21$ ) 与安慰剂组 ( $n=22$ )。常规牙科治疗后进行 4 周干预。通过定量 PCR (qPCR) 和 16S rRNA 测序技术系统分析基线期 (第 0 天) 和干预结束 (第 28 天) 时唾液及牙菌斑微生物的动态变化。[结果] 干预后, 益生菌组唾液和牙菌斑中变异链球菌含量分别从 0.78, 0.97 lg (DNA 拷贝数/ng) 显著降至 0.71 ( $P<0.01$ ) 和 0.90 lg (DNA 拷贝数/ng) ( $P<0.05$ ), 降幅显著高于安慰剂组。微生物组分析显示, 益生菌干预可显著降低 *Streptococcus* 等致龋菌属的相对丰度, 同时提升 *Fusobacterium* 等共生菌属的相对丰度, 优化 ECC 患者口腔微生物结构并增加群落丰富度, 有效改善口腔健康。[结论] 复合益生菌压片糖果可通过抑制致龋菌增殖、富集共生菌群, 重塑口腔微生物群落稳态, 从而改善龋齿进展。  
**关键词:** 复合益生菌压片糖果; 鼠李糖乳酪杆菌; 唾液联合乳杆菌; 口腔微生态; 早期儿童龋齿

## Effect of composite probiotic tablet candy on oral microbiome in early childhood caries

YU Xihua<sup>1,2</sup> WANG Yi<sup>1,2</sup> LI Liuruolan<sup>1,2</sup> REN Yu<sup>3</sup> CUI Shumao<sup>3</sup> XU Xianyin<sup>4</sup>

(1. Sinopharm Xingsha Pharmaceuticals (Xiamen) Co., Ltd., Xiamen, Fujian 361026, China; 2. Xiamen Key Laboratory of Maternal and Infant Health and Nutrition Products, Xiamen, Fujian 361005, China; 3. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China; 4. Department of Stomatology, Affiliated Children's Hospital of Jiangnan University (Wuxi Children's Hospital), Wuxi, Jiangsu 214042, China)

**Abstract:** [Objective] To investigate the effects of composite probiotic tablet candy containing *Lactocaseibacillus rhamnosus* CCFM1070 and *Ligilactobacillus salivarius* CCFM1215 on *Streptococcus mutans* levels and the microbial community structure in children with early childhood caries (ECC). [Methods] Forty-three ECC patients are randomly assigned to either a probiotic group ( $n=21$ ) or a placebo group ( $n=22$ ). Following standard dental treatment, a 4-week intervention is administered. Quantitative PCR (qPCR) and 16S rRNA sequencing are used to systematically analyze microbial dynamics in saliva and dental plaque at baseline (Day 0) and post-intervention (Day 28). [Results] Following the intervention, the levels of *S. mutans* in saliva and dental plaque of the probiotic group significantly decrease from 0.78 and 0.97 lg (DNA copies/ng) to 0.71 lg (DNA copies/ng) ( $P<0.01$ ) and 0.90 lg (DNA copies/ng) ( $P<0.05$ ), with a greater reduction than the placebo group. Probiotic intervention significantly decreases the relative abundance of cariogenic genera like *Streptococcus* and increases that of commensal genera like *Fusobacterium*. This effectively improves the oral microbial structure and microbial richness in

通信作者: 徐贤寅 (1974—), 男, 江南大学附属儿童医院 (无锡市儿童医院) 主任医师, 硕士。E-mail: imaginal\_line@sina.com

收稿日期: 2025-07-03 改回日期: 2025-08-06

引用格式: 喻喜华, 王一, 李刘若兰, 等. 复合益生菌压片糖果调节口腔微生态改善早期儿童龋齿效果研究[J]. 食品与机械, 2025, 41(8): 118-125.

Citation: YU Xihua, WANG Yi, LI Liuruolan, et al. Effect of composite probiotic tablet candy on oral microbiome in early childhood caries [J]. Food & Machinery, 2025, 41(8): 118-125.

ECC patients, promoting oral health. **[Conclusion]** The findings demonstrate that composite probiotic tablet candy can ameliorate caries progression by inhibiting cariogenic pathogens and enriching oral commensals to remodel oral microbial homeostasis.

**Keywords:** composite probiotic tablet candy; *Lactacaseibacillus rhamnosus*; *Ligilactobacillus salivarius*; oral microbiome; early childhood caries

早期儿童龋齿(early childhood caries, ECC)定义为6岁以下儿童乳牙中存在至少1个龋损(包括龋洞、缺失或充填牙面)的进行性疾病<sup>[1]</sup>,是儿童期最为普遍的慢性疾病。其在发展中国家和工业化国家贫困学龄前群体中流行显著,部分地区的患病率高达72.7%<sup>[2]</sup>。ECC进展迅速、侵袭性强,其引发的持续性牙体疼痛不仅导致咀嚼功能受限,更可造成继发性营养吸收障碍,进而影响儿童生长发育及全身健康<sup>[3]</sup>。因此,ECC已成为全球公共卫生系统优先防控的疾病<sup>[4]</sup>。

龋齿本质上是口腔微生态失衡介导的生物膜依赖性脱矿化过程<sup>[5]</sup>。口腔作为高度复杂的微生态系统,定植着细菌、真菌及病毒等700余种微生物<sup>[6]</sup>,在生理状态下通过代谢互动与宿主免疫调控维持动态平衡<sup>[7-8]</sup>。当碳水化合物摄入过量或宿主防御机制受损时,可导致产酸、耐酸性微生物的异常增殖,同时抑制共生及健康相关微生物的生长<sup>[9-10]</sup>,致使生物膜pH值持续下降,最终导致牙釉质脱矿<sup>[6, 11]</sup>。其中,变异链球菌因其强产酸性及生物膜形成能力,被确认为是ECC始动阶段的核心致病菌<sup>[12-13]</sup>。Kamada等<sup>[14]</sup>研究发现,白色念珠菌在ECC患儿牙菌斑中与变异链球菌呈显著共现性,二者的协同作用可加速龋损进程。

目前,ECC临床管理主要依赖传统防治手段。常规充填治疗虽可恢复牙体形态,却难以逆转致龋菌的生态优势<sup>[15]</sup>,导致继发性龋齿发生率高达60%<sup>[16]</sup>。基于上述困境,靶向调控口腔菌群的微生态干预策略日益成为研究焦点。特定益生菌可通过竞争性占位、分泌抗菌肽及调节Th17免疫应答等机制抑制致龋菌定植,从而改善龋齿状况<sup>[17-19]</sup>。然而,现有研究多集中于单一菌株效应的评估。鉴于口腔微生态系统的高度复杂性,多菌种协同可能产生更显著的生态调控效果。目前,关于多菌种协同抑制致龋菌及其调节口腔菌群平衡的作用仍缺乏充分的临床证据。前期研究<sup>[20]</sup>发现,由鼠李糖乳酪杆菌CCFM1070和唾液联合乳杆菌CCFM1215组成的复合益生菌压片糖果可以有效减少大鼠口腔中致龋菌的数量,预防继发龋齿。试验旨在通过随机双盲对照试验评估该复合益生菌的临床效果,以期为ECC的益生菌防治提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 复合益生菌和安慰剂

复合益生菌压片糖果主要成分包含鼠李糖乳酪杆菌CCFM1070、唾液联合乳杆菌CCFM1215及辅料,质量为0.5 g/片,鼠李糖乳酪杆菌CCFM1070活菌数为 $1.33 \times 10^9$  CFU/g,唾液联合乳杆菌CCFM1215活菌数为 $5.7 \times 10^8$  CFU/g;复合益生菌主要成分见表1,安慰剂由不含益生菌的辅料组成。

| 表1 复合益生菌成分表                                 |       |
|---------------------------------------------|-------|
| Table 1 Composition of composite probiotics |       |
| 名称                                          | 配比/%  |
| 鼠李糖乳酪杆菌 CCFM1070(活性益生菌)                     | 3.04  |
| 唾液联合乳杆菌 CCFM1215(活性益生菌)                     | 1.30  |
| 山梨糖醇(片剂定型)                                  | 49.00 |
| 碳酸氢钠(起发泡剂)                                  | 14.70 |
| 无水柠檬酸(起发泡剂)                                 | 14.40 |
| D-甘露聚糖(调味剂)                                 | 10.00 |
| 微晶纤维素(片剂定型)                                 | 4.20  |
| 硬脂酸镁(片剂定型)                                  | 1.50  |
| 蔓越莓果粉(活性成分)                                 | 0.30  |
| 茶多酚(活性成分)                                   | 0.05  |
| 甜菊糖苷(调味剂)                                   | 0.09  |
| 三氯蔗糖(调味剂)                                   | 0.10  |
| 薄荷味香精(调味剂)                                  | 0.96  |
| 珍珠甜味香精(调味剂)                                 | 0.36  |

### 1.2 试验方法

该试验方案经江南大学附属儿童医院(无锡市儿童医院)伦理管理委员会审批(审批号WXCH2024-07-105),并严格遵循赫尔辛基宣言原则进行。该试验已在中国临床注册中心进行注册(注册号ChiCTR2400092615)。试验周期为4周,受试者每日早晚刷牙或漱口后,含服1片益生菌压片糖果(干预前后分别记为T1和T2)或安慰剂(避免直接吞服或咀嚼,干预前后分别记为C1和C2),含服后30 min内禁食禁水。试验期间,所有受试者均接受标准牙科基础治疗,并禁用任何含益生菌产品或抗生素类药物。符合纳入标准的ECC患儿监护人需填写问卷,以评估受试者的口腔卫生习惯。

### 1.3 受试者纳入与样本采集

试验于2024年8—12月在江南大学附属儿童医院(无锡市儿童医院)口腔科开展。受试者纳入标准:年龄3~8周岁;乳牙列完整;龋失补牙数(DMFT)≥6;除龋齿外,无其他口腔或系统性疾病。受试者排除标准:入组前1个月内接受过抗生素治疗;入组前1个月内使用过益生菌产品;无法按计划完成随访。受试者招募前,试验医师已向患儿监护人充分说明试验内容,并获得其签署的书面知情同意书。

分别于基线(第1天,D1)和干预结束(第28天,D28)采集受试者的唾液和牙菌斑样品。采样前,所有受试者均需至少禁水禁食2 h。由口腔科主任医师评估ECC患儿龋损严重程度并记录DMFT。使用专业无菌挖匙采集

损处牙菌斑样本,置于含 1 mL 磷酸盐缓冲液(PBS)的无菌管中。收集唾液时,受试者闭口静坐 3~5 min,低头使非刺激性唾液自然流入无菌痰杯。所有样本采集后 2 h 内冷冻并于-20 ℃保存。

1.4 *S. mutans*和*C. albicans*的qPCR检测

将变异链球菌 ATCC 25175 和白色念珠菌 ATCC 18804 标准菌株分别以 2% (体积分数)的接种量接种于 5 mL BHI 培养基和 YPD 培养基中,37 ℃培养 24 h 后连续传代。收集第 3 代对数期菌体,提取基因组 DNA,并进行 10 倍梯度稀释,测定 DNA 浓度。以稀释后的 DNA 为模板进行 qPCR 检测,反应体系见表 2,引物见表 3。

表 2 qPCR反应体系

Table 2 qPCR reaction system

| 名称                                   | 体积/ $\mu$ L |
|--------------------------------------|-------------|
| ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix | 5.0         |
| 模板 DNA                               | 2.0         |
| 引物 F(10 $\mu$ mol/L)                 | 0.5         |
| 引物 R(10 $\mu$ mol/L)                 | 0.5         |
| dd H <sub>2</sub> O                  | 2.0         |

表 3 变异链球菌和白色念珠菌特异性引物<sup>[21]</sup>

Table 3 Specific primers for *S. mutans* and *C. albicans*

| 引物名称      | 引物序列(5'-3')                                          | DNA 长度/<br>bp |
|-----------|------------------------------------------------------|---------------|
| 变异链<br>球菌 | F:GATAATTGATTGAAAGATGCAAGC<br>R:ATTCCCTACTGCTGCCTCCC | 175           |
| 白色念<br>珠菌 | F:TTTATCAACTTGTCACACCAGA<br>R:ATCCCGCCTTACCACTACCG   | 273           |

根据式(1)计算 DNA 拷贝数,并以 DNA 拷贝数的对数值(用 lg DNA 拷贝数表示)为横坐标、 $C_t$ 值为纵坐标,绘制变异链球菌和白色念珠菌的标准曲线。其中变异链球菌的标准曲线为  $C_t=-2.316\ 9\lg(\text{DNA 拷贝数})+38.114$ ,相关系数为 0.969 9;白色念珠菌的标准曲线为  $C_t=-1.953\ 7\lg(\text{DNA 拷贝数})+44.574$ ,相关系数为 0.979 9。

$$\frac{6.02 \times 10^{23} \times \text{DNA concentration} \times 10^{-9}}{\text{DNA length} \times 660} \quad (1)$$

对于唾液和牙菌斑样本中目标菌的定量分析,均按上述流程操作。将样本测定的  $C_t$ 值代入相应的标准曲线方程,计算唾液和牙菌斑中变异链球菌和白色念珠菌的数量,最终结果以 lg(DNA 拷贝数/ng)表示。

1.5 DNA 提取和 16S rDNA 测序

牙菌斑样本采用 FastDNA spin kit for soil 土壤 DNA 进行基因组 DNA 提取,操作步骤严格遵循配套说明书要求。以上述 DNA 为模板,采用特异性引物 341F (CCTAYGGGRBGCASCAG)与 806R (GGACTACNNGG

GTATCTAAT)对细菌 16S rRNA 基因 V3~V4 高变区进行 PCR 扩增,扩增长度为 465 bp。扩增反应完成后,通过 1.5% 琼脂糖凝胶电泳分离目标片段,并采用凝胶纯化试剂盒回收特异性条带。根据 DNA 浓度测定结果,按等质量浓度混合纯化产物,配制总质量 200 ng、终体积 50  $\mu$ L 的混合文库。按照 Turseq DNA LT sample preparation kit 试剂盒说明书构建文库后,测定 DNA 片段大小,然后利用 KAPA 试剂盒说明书精确测定文库的浓度,将构建好的文库经过稀释、变性,最后加入 reagent kit cartridge 上机测序。

1.6 生物信息学和统计分析

使用 Quantitative Insights Into Microbial Ecology (QIIME 2,美国)2.0 进行分析。使用 VSEARCH 将序列聚类为操作分类单元(OTUs;相似性阈值为 97%),使用 cluster-features-de-novo 模块将 OTUs 重新聚类,参数为 0.99。使用 Silva 数据库(版本 138)对每个 OTU 的代表性序列进行分类,最低识别阈值为 80%。在 OTU 标准化后,计算  $\alpha$  多样性指数(Shannon 和 Faith PD)和  $\beta$  多样性(PCoA; Bray-Curtis 距离)。线性判别分析效应大小(LEfSe)分析用于确定组间的差异特征,采用 Kruskal-Wallis 检验, $P$ 值设定为 0.05, LDA 评分阈值设定为 3.5。 $t$  检验用于比较每次回访之间的差异。统计分析图通过 GraphPad Prism 8 软件完成。数据统计学分析采用 SPSS (Version22.0)分析。用\*表示两组数据具有显著性差异;\*为  $P<0.05$ ;\*\*为  $P<0.01$ 。

2 结果与分析

2.1 受试者基本信息

试验期间共纳入 60 例 ECC 患者,其中 17 名在试验期间因患病、无法联系或依从性差而被排除在外。共 43 名 ECC 患者完成试验,其中益生菌组 21 名,安慰剂组 22 名。受试者基线期的基本信息见表 4。益生菌组与安慰剂组的平均年龄分别为 5.57,5.84 岁;DMFT 分别为  $10.05 \pm 1.84$ , $10.64 \pm 2.55$ 。两组在年龄和 DMFT 指数上均无显著差异( $P>0.05$ )。

2.2 益生菌对 ECC 患者口腔中变异链球菌和白色念珠菌数量的影响

临床试验中,口腔中变异链球菌含量是评估益生菌抗龋效果的重要指标<sup>[22]</sup>。由图 1 可知,益生菌组和安慰剂组人群的唾液和牙菌斑中变异链球菌的平均定量

表 4 受试者基线期基本信息

Table 4 Baseline characteristics of ECC patients

| 组别    | 人数 | 性别(男/女) | 年龄/岁            | DMFT             |
|-------|----|---------|-----------------|------------------|
| 益生菌组  | 21 | 7/14    | $5.57 \pm 1.35$ | $10.05 \pm 1.84$ |
| 安慰剂组  | 22 | 8/14    | $5.84 \pm 1.12$ | $10.64 \pm 2.55$ |
| $t$ 值 |    |         | 0.694           | 0.845            |
| $P$ 值 |    |         | 0.491           | 0.403            |

[lg(DNA 拷贝数/ng)]均无显著差异。干预4周后,益生菌组唾液中变异链球菌的平均定量由从0.78 lg(DNA 拷贝数/ng)显著下降至0.71 lg(DNA 拷贝数/ng)( $P<0.01$ ),牙菌斑中则由0.97 lg(DNA 拷贝数/ng)显著下降至0.90 lg(DNA 拷贝数/ng)( $P<0.05$ ),而安慰剂组干预后唾液和牙菌斑中均无显著变化,表明该复合益生菌可以有效降低ECC患者口腔变异链球菌数量。研究表明,鼠李糖乳酪杆菌CCFM1070可抑制变异链球菌生物膜形成<sup>[23]</sup>,而唾液联合乳杆菌的干预能减少变异链球菌的黏附和定植<sup>[24]</sup>。这种抑制作用可能是由于复合益生菌下调了变异链球菌生物膜合成相关基因*gtfB*和*fff*等的表达,破坏了其致龋潜力<sup>[25]</sup>,或者通过改变唾液膜的蛋白质组成,在羟基磷灰石上形成保护屏障,从而特异性地阻止变异链球菌黏附<sup>[26]</sup>。

对于白色念珠菌,无论是益生菌组还是安慰剂组,其平均定量在干预前后均无显著变化,可能是由于益生菌对真菌的抑制效果不够理想。

### 2.3 益生菌对ECC患者口腔菌群多样性的影响

研究<sup>[27-28]</sup>表明,龋病患者口腔中菌群的 $\alpha$ 多样性低于健康人群。由图2可知,干预后益生菌组香农指数显著上升( $P<0.01$ ),说明益生菌组提高了ECC患者的口腔菌群丰富度,这可能是由于益生菌对变异链球菌等产酸和耐酸菌的抑制,为口腔共生菌释放了生态位空间<sup>[29]</sup>。安慰剂组的香农指数在干预后也有所上升,但益生菌组的显著性更高。安慰剂组的变化可能与牙齿充填治疗有关。益生菌组和安慰剂组的Faith系统发育多样性在干预前后均无显著差异。

$\beta$ 多样性可以反映不同群体间生物群落分化程度。

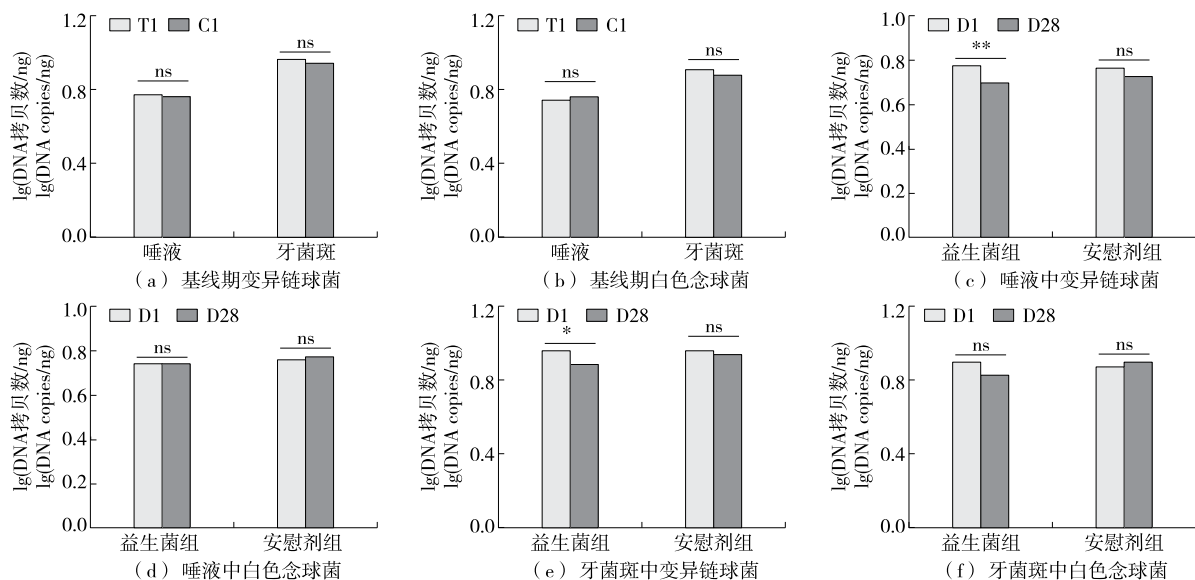


图1 干预前后ECC患者口腔中变异链球菌和白色念珠菌数量的变化

Figure 1 Changes in oral *S. mutans* and *C. albicans* levels in ECC patients before and after intervention

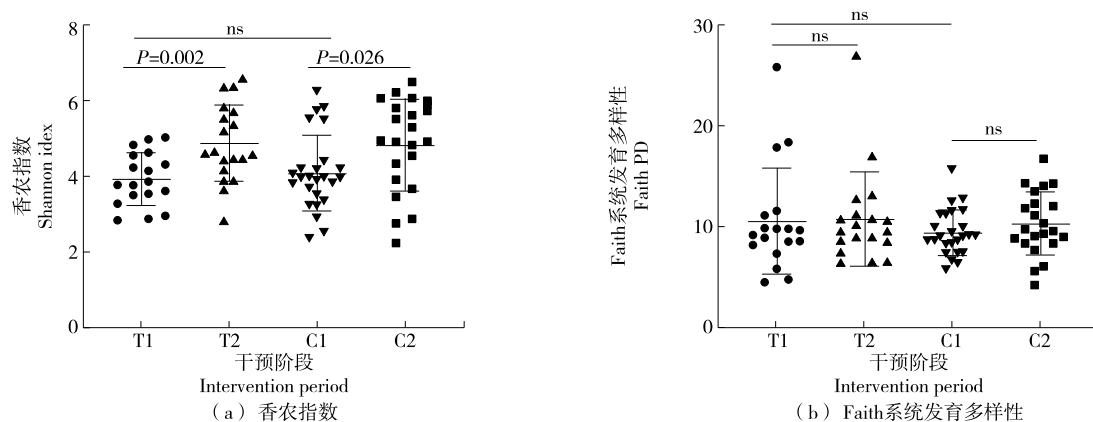


图2 益生菌和安慰剂干预前后ECC患者口腔菌群 $\alpha$ 多样性指数的变化

Figure 2 Changes in  $\alpha$ -diversity indices of the oral microbiota in ECC patients before and after probiotic or placebo intervention



为了可视化不同组别间口腔微生物群落的结构差异,进行了基于 Bray-Curtis 距离的主坐标分析(PCoA),样本之间的距离越远,样本的物种组成差异越大。由图 3 可知,基线期,益生菌组和安慰剂组物种组成无显著差异。干

预后,安慰剂组物种组成无显著变化,益生菌组牙菌斑物种组成差异显著,表明单纯基础牙齿充填修复无法影响口腔微生物群落结构,而益生菌可以有效调节菌群平衡,与 Xu 等<sup>[30]</sup>的研究结果相似。

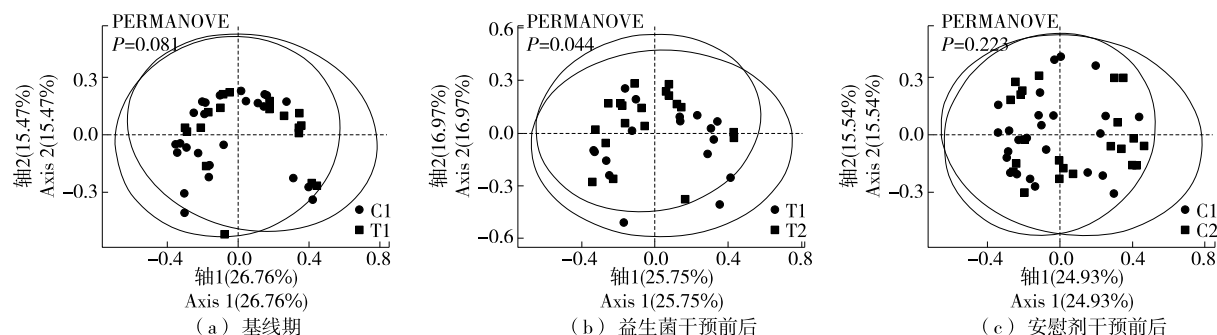


图 3 基线期、益生菌和安慰剂干预前后 ECC 患者口腔菌群  $\beta$  多样性指数的变化

Figure 3 Changes in  $\beta$ -diversity indices of oral microbiota in ECC patients at baseline, and before and after intervention with probiotic and placebo

#### 2.4 益生菌对 ECC 患者口腔菌群结构的影响

ECC 的发生是口腔微生态失衡的结果<sup>[31]</sup>。在门水平上共鉴定到 19 个菌门,其中相对丰度超过 1% 的菌门如图 4(a) 所示。口腔微生物群主要由厚壁菌门(*Firmicutes*)组成,其次为放线菌门(*Actinobacteria*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、梭杆菌门(*Fusobacteria*)及拟杆菌门(*Bacteroidetes*)。干预后两组变化较大的是 *Firmicutes*,其中益生菌组相对丰度下降 21.86%,安慰剂组下降 11.67%。Rizzardi 等<sup>[32]</sup>研究发现,*Firmicutes* 在肥胖的 ECC 患者口腔中的相对丰度高于肥胖无龋儿童,说明 *Firmicutes* 与 ECC 有关。服用益生菌后,*Firmicutes* 的相对丰度降低,提示益生菌对其具有调控作用;安慰剂组 *Firmicutes* 也有所降低,但降幅低于益生菌组,可能与所有受试者均接受牙科基础治疗有关。

在属水平上共鉴定到 212 个菌属,主要由链球菌属(*Streptococcus*)、韦荣氏球菌属(*Veillonella*)、奈瑟氏菌属

(*Neisseria*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、棒杆菌属(*Corynebacterium*)、纤毛菌属(*Leptotrichia*)、放线菌属(*Actinomyces*)、梭杆菌属(*Fusobacterium*)和普雷沃氏菌属(*Prevotella*)组成[图 4(b)]。干预后,益生菌组变化幅度最大的是 *Streptococcus*,其相对丰度从 41.84% 降至 27.53%,安慰剂组的 *Streptococcus* 从 38.40% 下降至 32.32%,降幅小于益生菌组。此外,两组中的 *Veillonella* 及 *Lactobacillus* 相对丰度也有所下降,益生菌组的降幅大于安慰剂组。临床研究表明,ECC 患儿口腔中 *Streptococcus*<sup>[33-34]</sup>、*Lactobacillus*<sup>[35-36]</sup> 和 *Veillonella*<sup>[35, 37]</sup> 含量高于无龋儿童。其中,*Streptococcus* 中的变异链球菌可以通过碳水化合物代谢产生有机酸,降低局部微环境的 pH 值,从而导致牙齿表面脱矿,是导致龋齿的主要致病菌<sup>[38]</sup>; *Lactobacillus* 在龋齿牙本质中广泛分布,通过产酸参与致龋过程<sup>[39]</sup>; *Veillonella* 则能增加变异链球菌生物膜的毒力<sup>[40]</sup>,减少  $H_2O_2$  对变异链球菌的抑制,加速龋齿的

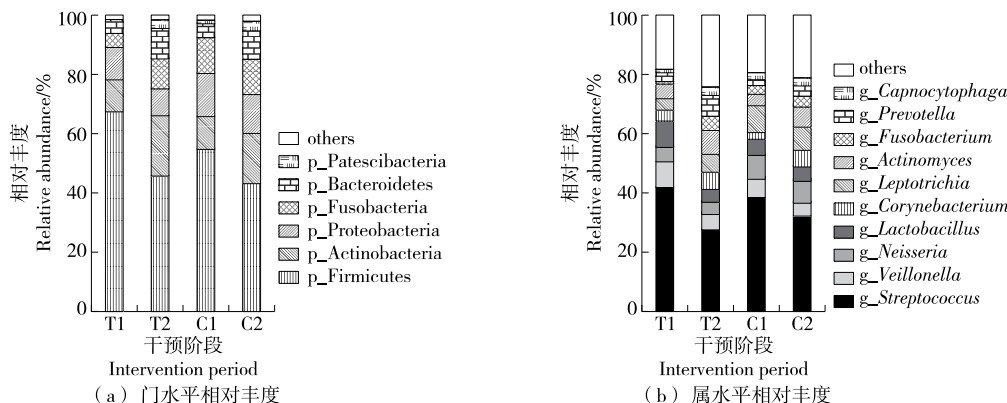


图 4 干预前后 ECC 患者牙菌斑菌群门水平和属水平相对丰度变化

Figure 4 Changes in relative abundance of oral plaque microbiota at phylum and genus levels before and after intervention

发展<sup>[41-42]</sup>。益生菌干预可降低上述有害菌属的相对丰度,表明益生菌能对口腔微生物群落产生有益调节。益生菌可通过产生细菌素和酶等方式降低致龋菌的风险<sup>[43-44]</sup>。一项临床研究<sup>[45]</sup>也证实,复合益生菌干预14 d可显著降低患龋儿童口腔中致龋菌的水平。此外,益生菌还能竞争牙齿表面的黏附位点,减少病原体定植,保护口腔组织<sup>[30, 44]</sup>。*Actinomyces*、*Fusobacterium*和*Prevotella*相对丰度在两组中均有所上升,且益生菌组的变化幅度大于安慰剂组。

## 2.5 益生菌对ECC患者口腔差异菌属的影响

由图5可知,基线期,*Streptococcus*和*Rothia*的LDA得分较高;干预后,益生菌组*Prevotella*、*Fusobacterium*、*Actinomyces*和*Porphyromonas*升高,安慰剂组则表现出*Corynebacterium*的富集。

## 2.6 差异菌属在干预前后的相对丰度变化

由图6可知,益生菌干预后,*Streptococcus*从41.87%下降至27.53% ( $P<0.05$ );而*Fusobacterium*、*Prevotella*和*Porphyromonas*的相对丰度显著上升 ( $P<0.05$ ),这与属水平上物种相对丰度变化结果一致,提示这3株菌与龋齿的缓解存在关联。*Actinomyces*和*Corynebacterium*的相对丰度无显著变化。安慰剂干预后,上述差异菌属均无显著变化。Jiang等<sup>[33-34]</sup>研究发现,无龋儿童牙菌斑中*Fusobacterium*和*Porphyromonas*的丰度低于ECC患儿。Zhang等<sup>[46]</sup>研究指出,无龋儿童的微生物群中含有特定物种,如*Fusobacterium periodonticum*和*Porphyromonas asperi*,可能是这两个菌属在益生菌干预后上升的主要原因。Xu等<sup>[34]</sup>研究发现,*Actinomyces*和*Prevotella*在无龋个体中的

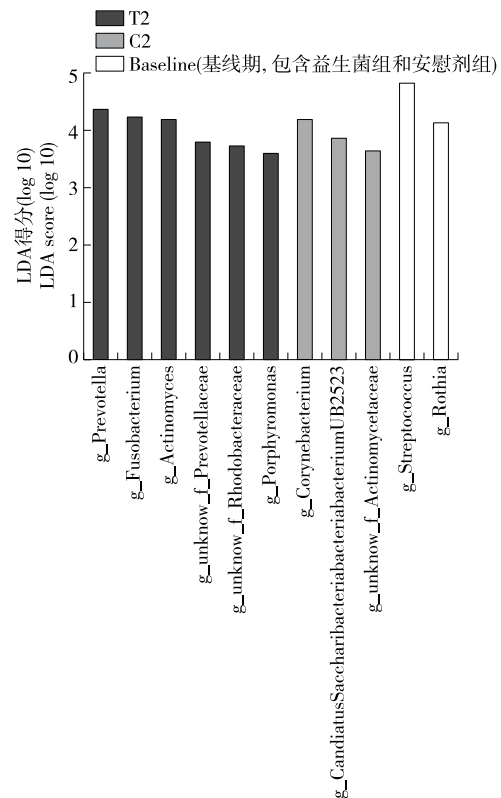


图5 基线期和干预后口腔菌群样本LEfSe分析  
Figure 5 LefSe analysis of oral microbiota samples at baseline and post-intervention

丰度也倾向于高于龋齿患者,与试验结果高度相似,进一步支持了益生菌对口腔共生菌的调节作用。Qudeimat

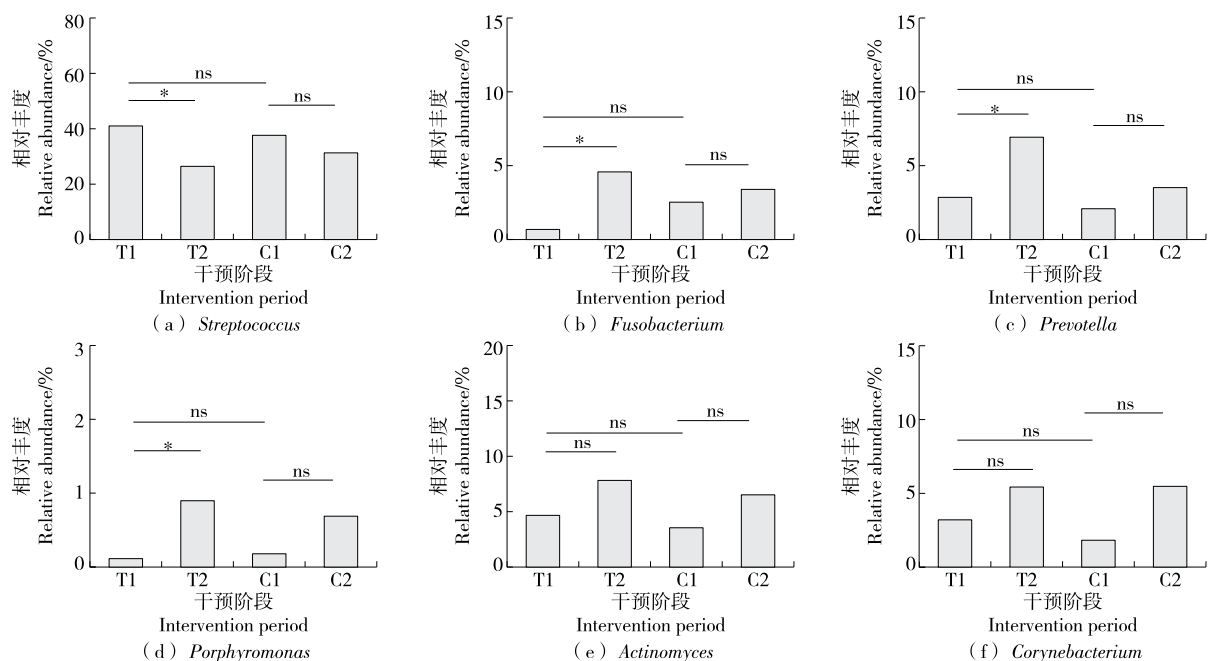


图6 差异菌属在干预前后的相对丰度变化

Figure 6 Changes in relative abundance of differentially abundant genera before and after intervention

等<sup>[47]</sup>研究认为,这些菌属与龋齿的发生有关。地理、年龄及生活方式差异可能是导致矛盾结果的重要因素,需进一步明确其确切作用。

### 3 结论

复合益生菌(鼠李糖乳酪杆菌 CCFM1070 和唾液联合乳杆菌 CCFM1215)压片糖果可通过抑制早期儿童龋齿患儿口腔中核心致龋菌变异链球菌的水平同时富集共生菌,改变口腔菌群组成并提升其丰富度,从而促进口腔微生态平衡,对缓解儿童龋齿起到一定作用。后续研究有必要延长干预时间、扩大样本规模,以更深入地阐明该益生菌组合的作用机制,并评估其在龋病综合防治体系中的长期应用价值。

#### 参考文献

- [1] MANCHANDA S, SARDANA D, LIU P, et al. Topical fluoride to prevent early childhood caries: systematic review with network meta-analysis[J]. Journal of Dentistry, 2022, 116: 103885.
- [2] DYE B A, HSU K C, AFFUL J. Prevalence and measurement of dental caries in young children[J]. Pediatric Dentistry, 2015, 37 (3): 200-216.
- [3] KANSAL V, RANA V, SRIVASTAVA N, et al. Biological restorations: an underrated modality of pediatric restorative dentistry[J]. International Journal of Community Medicine and Public Health, 2022, 9(6): 2 742.
- [4] BASSA S, WORKIE S B, KASSA Y, et al. Prevalence of dental caries and relation with nutritional status among school-age children in resource limited setting of southern Ethiopia[J]. BMC Oral Health, 2023, 23(1): 1-10.
- [5] LIU Q, MA T, FENG C J, et al. Adjuvant postbiotic administration improves dental caries prognosis by restoring the oral microbiota[J]. Food Science and Human Wellness, 2024, 13 (5): 2 690-2 702.
- [6] GE K X, QUOCK R, CHU C H, et al. The preventive effect of glass ionomer cement restorations on secondary caries formation: a systematic review and meta-analysis[J]. Dental Materials, 2023, 39(12): e1-e17.
- [7] ZHANG H, CHEN A Q, LI S L, et al. Spatio-temporal change of skin and oral microbiota: a longitudinal study of microbial diversity and stability[J]. Electrophoresis, 2025, 46(1/2): 92-103.
- [8] STASZCZYK M, JAMKA-KASPRZYK M, KOŚCIELNIAK D, et al. Effect of a short-term intervention with *Lactobacillus salivarius* probiotic on early childhood caries-an open label randomized controlled trial[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2022, 19(19): 12447.
- [9] SPATAFORA G, LI Y H, HE X S, et al. The evolving microbiome of dental caries[J]. Microorganisms, 2024, 12 (1): 121.
- [10] ZHANG Q X, SHAN B K, XU X Y, et al. *Lactiplantibacillus plantarum* CCFM8724 reduces the amounts of oral pathogens and alters the oral microbiota in children with dental caries: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial[J]. Journal of the American Nutrition Association, 2023, 42(4): 361-370.
- [11] YANG F, ZENG X W, NING K, et al. Saliva microbiomes distinguish caries-active from healthy human populations[J]. The ISME Journal, 2012, 6(1): 1-10.
- [12] LAMONT R J, KOO H, HAJISHENGALLIS G. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions[J]. Nature Reviews Microbiology, 2018, 16(12): 745-759.
- [13] ZHANG B, ZHAO M, TIAN J G, et al. Novel antimicrobial agents targeting the *Streptococcus mutans* biofilms discovery through computer technology[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2022, 12: 1065235.
- [14] KAMADA N, SEO S U, CHEN G Y, et al. Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease[J]. Nat Rev Immunol, 2013, 13(5): 321-335.
- [15] AL-SHAHRANI M A. Microbiology of dental caries: a literature review[J]. Ann Med Health Sci Res, 2019, 9: 655-659.
- [16] MARSH P D. In sickness and in health-what does the oral microbiome mean to us? an ecological perspective[J]. Advances in Dental Research, 2018, 29(1): 60-65.
- [17] KAŻMIERCZYK-WINCIÓREK M, NĘDZI-GÓRA M, SŁOTWIŃSKA S M. The immunomodulating role of probiotics in the prevention and treatment of oral diseases[J]. Central-European Journal of Immunology, 2021, 46(1): 99-104.
- [18] HAJISHENGALLIS E, PARSAEI Y, KLEIN M I, et al. Advances in the microbial etiology and pathogenesis of early childhood caries[J]. Molecular Oral Microbiology, 2017, 32 (1): 24-34.
- [19] LIN Y W, CHEN J M, ZHOU X D, et al. Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm formation by strategies targeting the metabolism of exopolysaccharides[J]. Critical Reviews in Microbiology, 2021, 47(5): 667-677.
- [20] 李刘若兰, 喻喜华, 王一, 等. 复合益生菌对大鼠龋齿的改善作用[J/OL]. 食品与发酵工业. (2025-06-10) [2025-06-18]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.042644>.
- [21] LI L R L, YU X H, WANG Y, et al. The improvement effect of composite probiotics on rat dental caries[J/OL]. Food and Fermentation Industries. (2025-06-10) [2025-06-18]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.042644>.
- [22] 单宝坤. 植物乳杆菌 CCFM8724 预防低龄儿童龋病的效果评价及功能基因探究[D]. 无锡: 江南大学, 2022: 1-48.
- [23] SHAN B K. Effect evaluation and functional genes exploration of *L. plantarum* CCFM8724 in preventing early childhood caries[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2022: 1-48.
- [22] PAHUMUNTO N, SOPHATHA B, PIWAT S, et al. Increasing salivary IgA and reducing *Streptococcus mutans* by probiotic *Lactobacillus paracasei* SD1: a double-blind, randomized, controlled study[J]. Journal of Dental Sciences, 2019, 14(2): 178-184.
- [23] 陈卫, 张秋香, 秦苏佳, 等. 一株能够预防/或治疗龋齿的鼠李糖乳杆菌及其应用: CN111518713B[P]. 2021-09-28.

- CHEN W, ZHANG Q X, QIN S J, et al. *Lactobacillus rhamnosus* capable of preventing and/or treating decayed tooth and application of *Lactobacillus rhamnosus*: CN111518713B [P]. 2021-09-28.
- [24] SAÑUDO A I, LUQUE R. *In vitro* and *in vivo* anti-microbial activity evaluation of inactivated cells of *Lactobacillus salivarius* CECT 5713 against *Streptococcus mutans*[J]. Archives of Oral Biology, 2017, 84: 58-63.
- [25] NIRANJAN R, PATIL S, DUBEY A, et al. Small cyclic dipeptide produced by *Lactobacillus rhamnosus* with anti-biofilm properties against *Streptococcus mutans* biofilm[J]. Biofilm, 2024, 8: 100237.
- [26] HAKIOJA A, LOIMARANTA V, TENOVUO J. Probiotic bacteria affect the composition of salivary pellicle and streptococcal adhesion *in vitro*[J]. Oral Microbiology and Immunology, 2008, 23(4): 336-343.
- [27] WANG X Y, HUANG H, MA Q Z, et al. Microbial shifts in dental plaque of children with severe early childhood caries following comprehensive dental treatment under general anesthesia[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2025, 15: 1541785.
- [28] SHAO Q Y, FENG D F, YU Z D, et al. The role of microbial interactions in dental caries: dental plaque microbiota analysis [J]. Microbial Pathogenesis, 2023, 185: 106390.
- [29] 张瑾, 徐欣. 乳杆菌与龋病关系的研究进展[J]. 四川大学学报(医学版), 2022, 53(5): 929-934.
- ZHANG J, XU X. Research progress in the relationship between *Lactobacillus* and dental caries[J]. Journal of Sichuan University (Medical Sciences), 2022, 53(5): 929-934.
- [30] XU L, WANG Y, WU Z F, et al. Salivary microbial community alterations due to probiotic yogurt in preschool children with healthy deciduous teeth[J]. Archives of Microbiology, 2021, 203(6): 3 045-3 053.
- [31] BIZZINI B, PIZZO G, SCAPAGNINI G, et al. Probiotics and oral health[J]. Current Pharmaceutical Design, 2012, 18(34): 5 522-5 531.
- [32] RIZZARDI K F, DOS SANTOS PEREIRA INDIANI C M, DE OLIVEIRA MATTOS-GRANER R, et al. Firmicutes levels in the mouth reflect the gut condition with respect to obesity and early childhood caries[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2021, 11: 593734.
- [33] JIANG W, LING Z X, LIN X L, et al. Pyrosequencing analysis of oral microbiota shifting in various caries states in childhood [J]. Microbial Ecology, 2014, 67(4): 962-969.
- [34] XU H, HAO W J, ZHOU Q, et al. Plaque bacterial microbiome diversity in children younger than 30 months with or without caries prior to eruption of second primary molars[J]. PLoS One, 2014, 9(2): e89269.
- [35] XIAO X F, HE S D, HE F, et al. Metagenomic analysis reveals *Neisseria bacilliformis* variation in the early childhood caries plaque microbiome[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021, 2021: 2774772.
- [36] TANDON A, SRIVASTAVA A, SINGH P, et al. Beyond decay: exploring the age-associated variations in *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* in dental caries[J]. International Journal of Clinical Pediatric Dentistry, 2024, 17(9): 993-998.
- [37] KARCHED M, ALYAHYA A, KHALAF M E, et al. Comparative analysis of salivary cytokine profiles and oral microbial composition in caries-active and caries-free children [J]. Journal of Dentistry, 2025, 154: 105611.
- [38] LU Y F, LIN Y F, LI M Y, et al. Roles of *Streptococcus mutans*- *Candida albicans* interaction in early childhood caries: a literature review[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2023, 13: 1151532.
- [39] BYUN R, NADKARNI M A, CHHOUR K L, et al. Quantitative analysis of diverse *Lactobacillus* species present in advanced dental caries[J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(7): 3 128-3 136.
- [40] WEI Y, ZHANG Y, ZHUANG Y, et al. *Veillonella parvula* acts as a pathobiont promoting the biofilm virulence and cariogenicity of *Streptococcus mutans* in adult severe caries[J]. Microbiology Spectrum, 2024, 12(11): e0431823.
- [41] LUPPENS S B I, KARA D, BANDOONAS L, et al. Effect of *Veillonella parvula* on the antimicrobial resistance and gene expression of *Streptococcus mutans* grown in a dual-species biofilm[J]. Oral Microbiology and Immunology, 2008, 23(3): 183-189.
- [42] ZHOU P, LI X L, HUANG I H, et al. *Veillonella* catalase protects the growth of *Fusobacterium nucleatum* in microaerophilic and *Streptococcus gordonii*-resident environments[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2017, 83(19): e01079-17.
- [43] KRUPA N C, THIPPESWAMY H M, CHANDRASHEKAR B R. Antimicrobial efficacy of xylitol, probiotic and chlorhexidine mouth rinses among children and elderly population at high risk for dental caries: a randomized controlled trial[J]. J Prev Med Hyg, 2022, 63(2): E282-E287.
- [44] SIVAMARUTHI B S, KESIKA P, CHAIYASUT C. A review of the role of probiotic supplementation in dental caries[J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2020, 12(4): 1 300-1 309.
- [45] NEKKANTI S, KAUR K, MADIYAL M, et al. Effect of chewing gums containing probiotics and xylitol on oral health in children: a randomized controlled trial[J]. Journal of International Oral Health, 2018, 10(5): 237.
- [46] ZHANG D X, TAKESHITA T, FURUTA M, et al. Tongue microbiota composition and dental caries experience in primary school children[J]. mSphere, 2021, 6(2): e01252-20.
- [47] QUDEIMAT M A, ALYAHYA A, KARCHED M, et al. Dental plaque microbiota profiles of children with caries-free and caries-active dentition[J]. Journal of Dentistry, 2021, 104: 103539.