

探究一款后生元牙膏对口腔菌群的影响

李颖甜^{1*}, 张文瑾¹, 王梦雪¹, 黄正梅², 赵化冰^{1,3#}

¹天津科技大学生物工程学院, 天津

²山东本真化妆品有限公司天科本真人体微生态研究院, 山东 德州

³天津科技大学工业发酵微生物教育部重点实验室, 天津

收稿日期: 2024年9月11日; 录用日期: 2024年12月20日; 发布日期: 2024年12月31日

摘要

目的: 探究一款后生元牙膏对健康人群口腔菌群的影响。方法: 纳入30名口腔健康人群, 在使用牙膏前(0 d)和使用30天后(30 d)分别采集唾液, 测定PLI值和CAT值, 并进行16S rDNA测序, 分析两组菌群结构及多样性差异。结果: 与使用前相比, 使用牙膏后的PLI值和CAT值均显著降低($P < 0.0001$)。使用牙膏前后口腔菌群的优势菌基本一致, 但在相对丰度上存在差异。与使用前相比, 使用牙膏后的Alpha多样性指数Ace和Chao均显著降低($P < 0.0001$)。PCA分析结果显示, 使用牙膏前后的口腔菌群组成差异主要由嗜二氧化碳细胞菌属(*Capnocytophaga*)和李生球菌属(*Gemella*)导致。结论: 该款后生元牙膏能够有效减少牙菌斑, 降低龋病风险, 并能够调节口腔微生态。

关键词

后生元牙膏, PLI, CAT, 16S rDNA测序技术, 口腔菌群

Exploring the Impact of a Postbiotic Toothpaste on Oral Microbiota

Yingtian Li^{1*}, Wenjin Zhang¹, Mengxue Wang¹, Zhengmei Huang², Huabing Zhao^{1,3#}

¹School of Bioengineering, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin

²Tianke Benzhen Human Microecology Research Institute, Shandong Benzhen Cosmetics Co. Ltd., Dezhou Shandong

³Key Laboratory of Industrial Fermentation Microbiology, Ministry of Education, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin

Received: Sep. 11th, 2024; accepted: Dec. 20th, 2024; published: Dec. 31st, 2024

Abstract

Objective: To investigate the effect of a postbiotic toothpaste on the oral microbiota of healthy

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 李颖甜, 张文瑾, 王梦雪, 黄正梅, 赵化冰. 探究一款后生元牙膏对口腔菌群的影响[J]. 微生物前沿, 2024, 13(4): 267-276. DOI: 10.12677/amb.2024.134028

people. **Methods:** A total of 30 oral health individuals were enrolled, and saliva was collected before (0 day) and 30 days after 30 days (30 days) of toothpaste, and PLI and CAT values were measured, and 16S rDNA sequencing was performed to analyze the differences in microbial community structure and diversity between the two groups. **Results:** Compared with the before use, the PLI value and CAT value were significantly reduced after using toothpaste ($P < 0.0001$). The dominant bacteria in the oral microbiota were basically the same before and after the use of toothpaste, but there were differences in relative abundance. Compared with the before use, the alpha diversity index Ace and Chao were significantly decreased after using toothpaste ($P < 0.0001$). The results of PCA analysis showed that the differences in oral microbiota composition before and after toothpaste use were mainly caused by Capnocytophaga and Gemella. **Conclusion:** This postbiotic toothpaste can effectively reduce dental plaque, reduce the risk of caries, and regulate the oral microecology.

Keywords

Postbiotic Toothpaste, PLI, CAT, 16S rDNA Sequencing Technology, Oral Flora

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

口腔微生态系统是指定植于口腔的菌群及其与宿主之间相互作用的系统,包括牙齿表面、口腔黏膜、舌面以及其他口腔组织表面的微生物[1]。口腔菌群是口腔微生态系统的重要组成部分,包含至少 600 多种微生物,其中细菌占大多数[2]。健康人群的口腔菌群与人体保持动态平衡,但当口腔微生态失调时,口腔菌群中的变异链球菌(*Streptococcus mutans*)、牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)等菌属占数量优势[3],容易引发龋齿[4]、牙周炎[5]、口腔癌[6]、心血管疾病[7]、糖尿病[8]、类风湿性关节炎[9]等各类全身疾病[10]。因此,维持口腔菌群平衡对人体健康至关重要,应着重关注口腔护理产品对维持口腔菌群平衡的功效。

目前,益生菌、后生元在口腔护理产品中均有应用[11]-[15],并对龋齿、牙周炎等口腔疾病具有一定的改善功效[16]-[19]。后生元的作用机制与益生菌类似,主要通过以下几种方式维护口腔菌群平衡:调控口腔菌群的代谢途径或合成某些活性代谢物;抑制致龋微生物生物膜形成;实现竞争性粘附和定植,从而占据生态位优势;与病原体发生聚集作用,限制其活动;以及调节免疫系统反应,共同作用于口腔微生态,来维护口腔菌群平衡[20]。国际微生物学会联合会(IUMS)根据临床资料推测,口腔护理产品中使用活的益生菌依然存在一定的潜在风险[21]。后生元作为无活性的益生菌发酵产物,具有良好的酸碱和热稳定性,易于储存和使用,安全性高,应用前景广阔[22]-[24]。但口腔后生元护理产品的安全性和有效性数据有限,还有待进一步评估[20]。因此,本研究中我们通过人群实验,探讨了一款后生元牙膏对口腔菌群的影响,为后生元口腔护理产品的开发提供依据。

2. 材料和方法

2.1. 研究对象和纳排标准

纳入标准:年龄 18~30 岁,男女不限,对市售口腔产品或化妆品无过敏史,自愿参加本试验,能按时参加试验复查并能完成整个试验步骤(4 周时间),愿意填写知情同意书及提供个人病史,在试验期间不使用其他牙膏及漱口液等口腔护理产品,至少有 20 颗未做冠修复的天然恒牙(除第三磨牙),最近 3 个月

内没有使用过抗生素和专业牙科预防药物, 牙齿健康, 无龋洞, 无疼痛感, 牙龈颜色正常, 用棉签划牙龈无出血现象。

排除标准: 患有慢性病包括糖尿病、移植、艾滋病、心脏病和传染性疾病者, 因其他慢性疾病, 需要服用抗生素、激素、非甾体类抗炎药物、免疫抑制剂、免疫增强剂、细胞毒药物、细胞周期类药物、止痛药等对牙龈及口腔黏膜存在影响的药物或制剂, 正在进行正畸治疗或戴有可摘式局部义齿, 孕妇及哺乳期妇女, 最近一个月参加了临床研究、进行了医疗或牙科手术、正在进行医疗或牙科治疗, 可见龋齿或严重牙周病, 吸烟者, 对牙膏成分过敏者。

本研究获得天津科技大学伦理委员会批准(伦理编号: TUST2022-10-01), 所有志愿者均在取样和收集信息前签署书面知情同意书。

2.2. 实验设计

按照纳排标准纳入 30 名口腔健康志愿者。分别在第 0 天和第 30 天采集唾液样本, 进行 16S rDNA 测序分析, 并检测 PLI 值和 CAT 值。实验期间, 受试者使用统一发放的实验牙膏及标准软毛牙刷。根据 WS/T326-2010《牙膏功效评价》[25]要求, 每天早晚 2 次刷牙, 牙膏使用量为膏体长度 1 cm, 每次刷牙计时满 2 分钟, 按照 Bass 刷牙法刷牙。

2.3. 实验材料

主要试剂: 唾液取样器(美迪科生物医疗科技有限公司, 中国)、菌斑指示剂片剂(TePe 公司, 美国)、CAT 试剂盒(河北冈大生物科技有限公司, 中国)。

主要材料: 知情同意书、志愿者招募文件、评分记录表、一款后生元牙膏(由山东本真化妆品有限公司提供): 含 20% *Lactobacilli* sp. BZ 发酵提取物、磷酸二氢钙、甘油、水、纤维素、果胶、黄原胶、结冷胶、凝乳胶、琼脂、牙刷、无菌棉签、标签、冰盒。

2.4. 唾液样本的采集及 16S rDNA 测序分析

受试者需确保检测前 14 日内未使用抗生素, 检测前 2 h 未进食, 未漱口和刷牙。采集时, 按照顺序领取唾液采集管, 待采集到 4 ml 唾液样本后, 贴好标签置于 -20℃ 冰箱保存。

唾液送上海美吉生物医药科技有限公司, 采用紫外分光光度计和琼脂糖凝胶电泳进行浓度和纯度检测, 对口腔菌群 16S rDNA 的 V3-V4 区域进行测序, 本研究采用的引物序列为: 338F (5'-ACTCCTACGG-GAGGCAGCAG-3'), 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'), 将 PCR 产物用 QuantiFluor™-ST 蓝色荧光定量系统(Promega 公司)进行检测定量, 对测序结果用 Flash1.2.11

(<https://ccb.jhu.edu/software/FLASH/index.shtml>)进行 pair-end 双端序列拼接, 对连接上的序列通过 index 完全匹配得到每个样品的有效序列, 进行过滤, 将高质量的 Clean data 用于后期数据分析。

通过 reads 之间的重叠关系将其拼接成 Tags, 用 Qiime1.9.1 (<http://qiime.org/install/index.html>)按 97% 的相似度将 Tags 聚类成操作分类单元(Operational taxonomic units, OTU), 然后用 RDP Classifier2.13

(<https://sourceforge.net/projects/rdp-classifier/>)将 OTU 序列与 Greengenes 和 RDP 数据库进行比对和物种注释。

1) 应用 Mothur1.30.2 (https://www.mothur.org/wiki/Download_mothur)中的 summary, single 命令进行 alpha 多样性分析, 得到 Chao、Ace、Shannon、Simpson 指数; 2) 用 Mothur1.30.2

(https://www.mothur.org/wiki/Download_mothur)中的 metastats 命令进行物种组成分析, 通过颜色梯度反映每组样品在门、属水平上物种组成的相似性和差异性; 3) 用 Qiime1.9.1 (<http://qiime.org/install/index.html>)计算 Beta 多样性距离矩阵, 用 R 语言 3.3.1 进行 PCA 分析, 其中一个点代表一个样品, 颜色相同的点属于一个分组, 两点之间的距离越近, 说明两个样品的微生物群落组成差异越小。

2.5. 菌斑指数(plaque index, PLI)评分

受试者领取菌斑指示剂片剂，在口中嚼碎并用舌头涂满口腔中的各颗牙齿进行菌斑染色，实验者检查全口牙面，每颗牙检查 2 个牙面，即远中颊面和舌面。每个牙面取中间和侧边各三个部分的分值，每颗牙的记分为 2 个牙面记分之之和除以 6，个人记分为每颗牙记分之之和除以受检牙数。

计分标准：0 = 龈缘区无菌斑；1 = 龈缘区的牙面有薄的菌斑，但视诊不可见，若用探针尖刮牙面可见牙菌斑；2 = 在龈缘或邻面可见中等量菌斑，但不超过牙面 1/2 处；3 = 在龈缘或邻面可见中等量菌斑，超过牙面 1/2 处；4 = 龈沟内或龈缘区及邻面软垢偏多；5 = 龈沟内或龈缘区及邻面有大量软垢。

2.6. 龋病活跃性试验(caries activity test, CAT)

用专用的消毒棉签采集口腔中一侧上下后牙颊面颈 1/3 软垢和菌斑的混合物后，将棉签放入 1 ml 的 CAT 试剂中，摇匀，震荡 1 min，2 h 内送入 37℃ 恒温箱中培养 48 h 后测定 pH 值。经 48 h 培养，菌斑内的细菌生长繁殖，分解培养液中的蔗糖产酸，培养液中的 pH 值指示剂则产生颜色的改变，根据颜色的变化程度，与标准比色板比较并进行评价。

CAT 值：0 (龋极低危，pH 值 5.8~7.2，颜色为蓝色)、1.0 (龋低危性，pH 值为 5.4 ± 0.3 ，绿色)、2.0 (龋中危性，pH 值 4.7 ± 0.3 ，黄绿色)、3.0 (龋高危性，pH 值 < 4.4 ，黄色)。

2.7. 统计方法

使用 Origin 2021 对实践结果进行统计学分析，用 Wilcoxon 符号秩检验比较使用后生元牙膏前、后的 PLI 值、CAT 值变化情况，以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3. 结果与分析

3.1. PLI 值

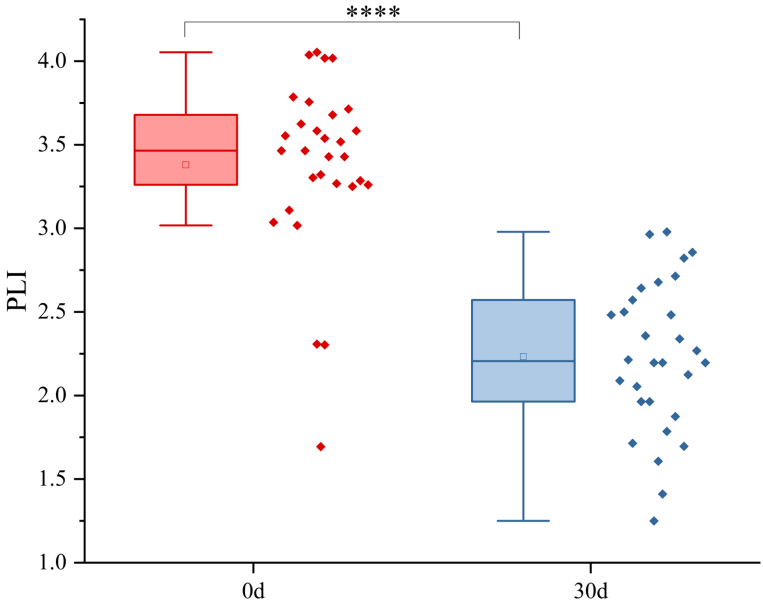


Figure 1. Box plots of two groups of PLI values
图 1. 两组 PLI 值箱线图

Silness 和 Loe 在 1964 年提出菌斑指数(PLI)的概念[26]，即根据牙面菌斑的厚度记分而不根据菌斑覆

盖面积记分,用于评价口腔卫生状况和衡量牙周病防治效果。经测定,30位志愿者使用牙膏前(0 d)和使用牙膏后(30 d)的 PLI 均值分别为 3.380 和 2.233,PLI 值显著降低, $P < 0.0001$ (图 1),说明该后生元牙膏能有效减少牙菌斑。

3.2. CAT 值

Cariostat 龋易感检测法是日本学者于 20 世纪 70 年代开发的龋病风险评估工具,其原理是通过检测牙菌斑的产酸能力,进而测定机体龋病活跃性[27],近几年开始在我国使用,具有操作安全性高、重复性好、准确度高的优点。经测定,30 位志愿者使用牙膏前(0 d)和使用牙膏后(30 d)的 CAT 均值分别为 1.8 和 0.867, CAT 值显著降低, $P < 0.0001$ (图 2),说明该后生元牙膏能有效降低龋病活跃性,降低患龋病可能性。

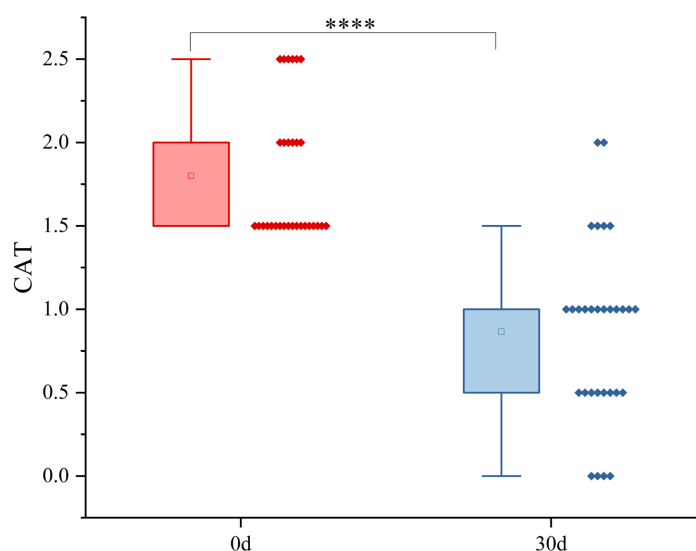


Figure 2. Box plots of two groups of CAT values

图 2. 两组 CAT 值箱线图

3.3. 16S rDNA 测序结果

通过对 16S rDNA 的 V3-V4 区域进行测序,分析序列变异程度以及每种不同序列的丰富度,可以获得环境样本中微生物群组成和结构的信息[28]。该技术现已广泛应用于口腔菌群结构研究[29]。

3.3.1. OTU 聚类分析

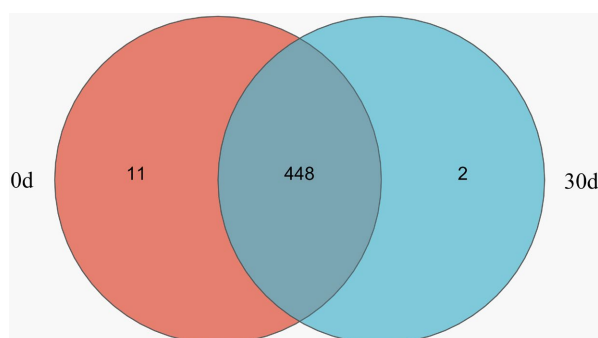


Figure 3. Venn plot analysis of the number of OTUs in two groups

图 3. 两组 OTU 数量的 Venn 图分析

对唾液样本菌群进行 16S rDNA 测序, 得到有效序列 1,635,960 条。根据序列的 97%相似性进行 OTU 聚类, 共得到 461 个 OTU。Venn 图(图 3)显示, 同时存在于使用前(0 d)、后(30 d)的 OTUs 为 448, 使用前独有的菌种 11 个, 使用后独有的菌种 2 个, 说明使用牙膏后受试者口腔菌群趋于相似。

3.3.2. 菌群组成和相对丰度

在门水平, 使用牙膏前(0 d)、后(30 d)的优势菌门均为: 变形菌门(*Proteobacteria*, 0 d: 31%, 30 d: 33%)、厚壁菌门(*Firmicutes*, 0 d: 30%, 30 d: 28%)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*, 0 d: 24%, 30 d: 26%)、梭杆菌门(*Fusobacteria*, 0 d: 7%, 30 d: 8%)和放线菌门(*Actinobacteria*, 0 d: 5%, 30 d: 3%) (图 4); 优势菌属均为: 链球菌属(*Streptococcus*, 0 d: 22%, 30 d: 14%)、普氏菌属(*Prevotella*, 0 d: 12%, 30 d: 19%)、奈瑟菌属(*Neisseria*, 0 d: 15%, 30 d: 15%)、嗜血杆菌属(*Haemophilus*, 0 d: 12%, 30 d: 16%)和梭杆菌属(*Fusobacterium*, 0 d: 6%, 30 d: 7%) (图 5)。菌门或菌属的丰度占比已在图中用百分比标出。使用牙膏前后, 志愿者优势菌门和优势菌属无显著性差异。

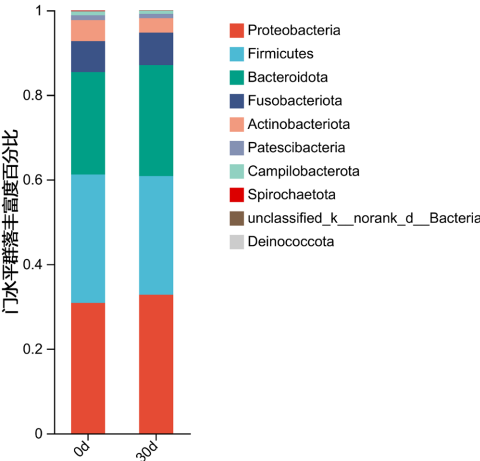


Figure 4. Distribution of dominant Phylum in two groups (legend labeled in proportion from bottom to top)
图 4. 优势菌门在两组中的分布情况(图例为从下到上按比例排序标注)

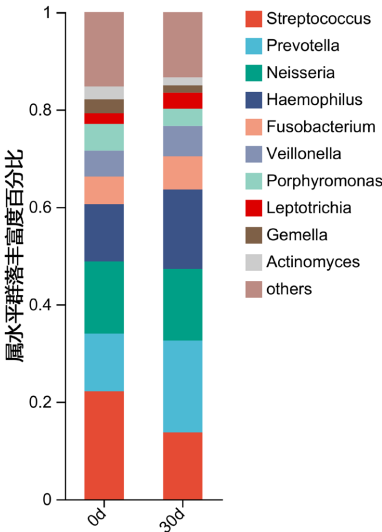


Figure 5. Distribution of dominant Genus in two groups (legend labeled in proportion from bottom to top)
图 5. 优势菌属在两组中的分布情况(图例为从下到上按比例排序标注)

3.3.3. Alpha 多样性分析

采用 Ace 指数、Chao 指数、Simpson 指数和 Shannon 指数表征群落的 Alpha 多样性。Ace 指数和 Chao 指数用来估计群落中 OTU 数目，其值越高，则 OTU 数目越多；Simpson 指数描述的是从一个群落中连续两次抽样所得到的个体数属于同一种的概率，当 Simpson 指数上升时，表示群落中物种的多样性降低；Shannon 指数是一个综合了物种丰富度和均匀度的多样性指数，Shannon 指数值越大，表示群落中物种多样性越高。经统计学分析(表 1)，使用后的 Ace 指数和 Chao 指数值均显著低于使用前($P < 0.0001$)，说明使用牙膏后，受试者口腔菌群物种丰富程度显著下降，参考图 3 的结果，提示我们使用牙膏降低了志愿者菌群的个体差异。Shannon 指数值下降，Simpson 指数值上升，但均不显著($P > 0.05$)，说明使用牙膏后，受试者口腔菌群多样性下降但不显著。

Table 1. Alpha diversity index of two groups
表 1. 两组的 Alpha 多样性指数表

组号	Ace	Chao	Shannon	Simpson
0 d	430.60 ± 75.06	418.62 ± 59.65	3.25 ± 0.35	0.10 ± 0.04
30 d	341.10 ± 60.53	329.57 ± 60.82	3.11 ± 0.34	0.10 ± 0.03
P	3.70E-6	6.49E-7	0.09	0.42

3.3.4. Beta 多样性分析

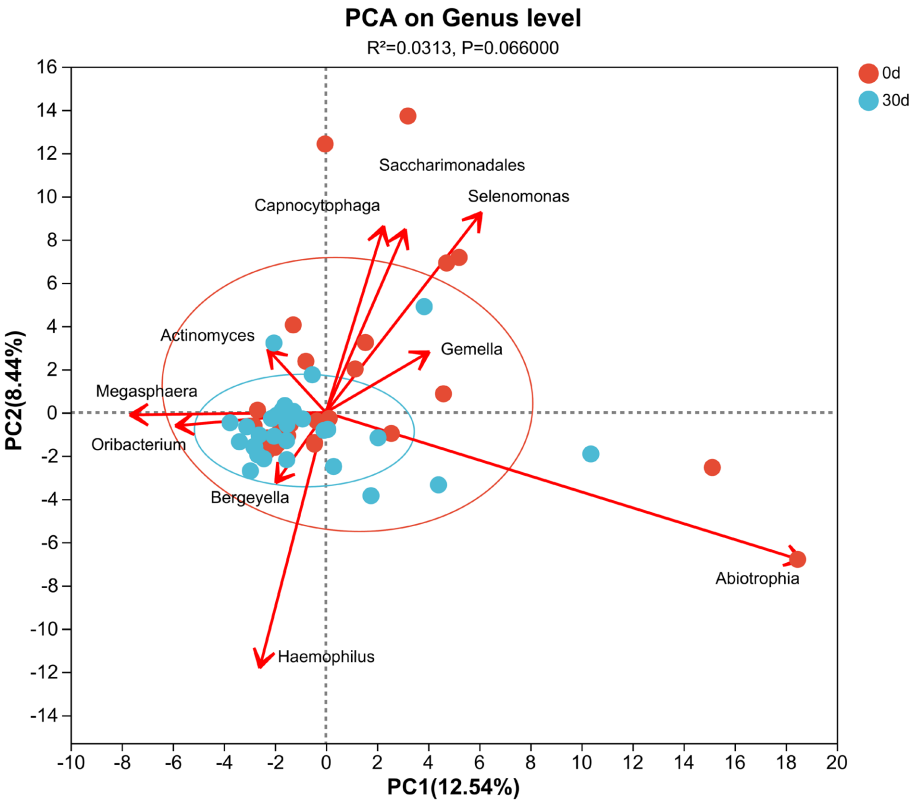


Figure 6. PCA analysis of two groups
图 6. 两组的 PCA 分析图

为了更好了解使用牙膏前后口腔菌群结构变化，我们进行了 PCA 分析。图 6 显示，PCA 的 2 个主成

分分别占 12.54%和 8.44%。使用牙膏前, 志愿者口腔菌群个体差异较大, 数据较为离散; 使用牙膏后, 志愿者口腔菌群结构趋于一致。造成使用牙膏前后的口腔菌群组成差异的主要贡献者包括二氧化碳噬细胞菌(*Capnocytophaga*)、糖单胞菌(*Saccharimonadales*)、月形单胞菌(*Selenomonas*)、孪生球菌(*Gemella*)、毗邻贫养菌(*Abiotrophia*)等。

4. 结论

在当前的口腔健康研究与应用领域, 无细胞上清液(CFS)以及热灭活益生菌等后生元成分, 已经作为重要的辅助手段, 应用于龋齿等口腔疾病的预防与治疗[30][31]。这些后生元凭借其独特的益生特性, 不仅能够有效促进口腔微生态平衡, 还展现出对口腔健康的显著保护作用, 在口腔护理领域展现出了巨大的应用潜力和广阔的前景。但是, 后生元牙膏对口腔菌群影响的研究数据依然有限。为此, 我们招募 30 名口腔健康志愿者, 使用某款后生元牙膏 30 天后, 我们发现志愿者口腔的 PLI 值和 CAT 值相较于使用前均显著下降, 说明该后生元牙膏能有效清除牙菌斑, 降低龋病活性, 对维持口腔健康有积极作用。Lin 等在人体研究中发现, 唾液乳杆菌水杨素亚种(*Ligilactobacillus salivarius* subsp. *Salicinius*) AP-32 和类干酪乳杆菌类干酪亚种 ET-66 通过提高口腔中 IgA、TGF- β 和 IL-10 基因的表达水平, 减少口腔病原菌变形链球菌(*Streptococcus mutans*)数量, 增强口腔健康和免疫力[32]。也有相关实验证明, 后生元牙膏对金黄色葡萄球菌(ATCC6538)、大肠杆菌(8099)、白色念珠菌(ATCC10231)、牙龈卟啉单胞菌(ATCC33277)有较强的抑菌作用, 可以有效减少口腔中引起的口源性口臭的牙周致病菌数量[33]。

进一步, 我们对于志愿者唾液微生物组的 16S rDNA 进行测序, 发现优势菌门均为变形菌门、厚壁菌门、拟杆菌门、梭杆菌门和放线菌门, 优势菌属均为链球菌属、普氏菌属、奈瑟菌属、嗜血杆菌属和梭杆菌属, 与前人报道基本一致, 证实测序结果可靠[34]。而且, 使用牙膏前后, 优势菌门和菌属没有显著差异, 说明该牙膏不会剧烈扰动口腔菌群。Alpha 多样性分析显示, 口腔菌群 OTU 数量显著下降, 但是菌群均匀度上升。Beta 多样性分析结果, 使用牙膏前后菌群结构差异的主要贡献者是嗜二氧化碳噬细胞菌、糖单胞菌, 月形单胞菌、孪生球菌属等, 且使用后生元牙膏后这 4 种菌属丰度降低。目前已有研究表明, 嗜二氧化碳噬细胞菌是口腔鳞状细胞癌的潜在促进剂[35], 以及各种牙周病相关的牙周病原体[36]。糖单胞菌可能与口腔黏膜伴溃疡、生殖器黏膜伴溃疡等疾病相关[37], 但具体作用机制需要进一步研究揭示。月形单胞菌属[38]也是一种重要的牙周病原体, 与牙龈炎和牙周炎有关。孪生球菌属是健康人群口腔微生物组的核心菌属, 但可能与口腔扁平苔藓等炎症相关[39]。因此, 可以推断使用后生元牙膏后, 健康人群口腔的致病菌丰度相对下降, 说明后生元牙膏对口腔菌群可能具有积极作用。但这种相对下降是否会影响菌群平衡还需要进一步的研究来证实。未来的研究应该关注后生元牙膏对口腔菌群具体组成和多样性的长期影响, 以及这种影响与口腔健康之间的关系。同时, 在使用后生元牙膏时, 也应注意适量、适度, 避免过度使用可能带来的潜在风险。

综上所述, 该后生元牙膏能有效清除牙菌斑, 降低龋病活性, 有效降低口腔中的致病菌丰度, 在调节健康人群口腔菌群方面发挥积极作用。但由于样本和技术有限, 未来还需要用不同评估标准进行进一步分析和研究。

基金项目

天津市大学生创新创业训练计划项目, 本真 - 生态化妆品的引领者, 编号: 202210057038。

参考文献

- [1] 陈敏珊, 郑娟, 李平. 口腔微生态的研究进展及益生菌在口腔护理中的应用研究[J]. 口腔护理用品工业, 2023,

- 33(1): 4-12.
- [2] 杨洁如, 吕文飞, 胡欢, 等. 氟在口腔微生态作用中的研究进展[J]. 微生物学通报, 2024, 6(11): 1-11
 - [3] Moran, G.P., Zgaga, L., Daly, B., Harding, M. and Montgomery, T. (2023) Does Fluoride Exposure Impact on the Human Microbiome? *Toxicology Letters*, **379**, 11-19. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2023.03.001>
 - [4] 胡佩男, 刘洋, 李阳, 等. 口腔微生态与龋病防治的研究进展[J]. 现代医药卫生, 2022, 38(9): 1531-1535.
 - [5] 张玉英. 口腔微生态 PH 平衡与龋病牙周炎相关性研究[D]: [硕士学位论文]. 青岛: 青岛大学, 2016.
 - [6] de Mendoza, I.L.I., Mendia, X.M., de la Fuente, A.M.G., Andrés, G.Q. and Urizar, J.M.A. (2019) Role of *porphyromonas gingivalis* in Oral Squamous Cell Carcinoma Development: A Systematic Review. *Journal of Periodontal Research*, **55**, 13-22. <https://doi.org/10.1111/jre.12691>
 - [7] 骆凯华, 彭显, 李继遥. 牙周致病菌促进心血管疾病发生发展的分子机制研究进展[J]. 口腔疾病防治, 2023, 31(2): 147-152.
 - [8] Ruff, W.E., Greiling, T.M. and Kriegel, M.A. (2020) Host-Microbiota Interactions in Immune-Mediated Diseases. *Nature Reviews Microbiology*, **18**, 521-538. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0367-2>
 - [9] 刘蓉, 杨琨. 牙周炎通过菌群作用促进类风湿关节炎的研究进展[J]. 口腔医学研究, 2023, 39(5): 392-395.
 - [10] 陈馨怡, 姚运海, 张涵清. 口腔微生态与人类疾病发生的研究[J]. 系统医学, 2023, 8(10): 190-193.
 - [11] 陆艺峰, 戴振刚. 益生菌牙膏与抗菌测试[J]. 口腔护理用品工业, 2021, 31(6): 20-22.
 - [12] 陈健芬, 宋云云, 孙东方, 等. 可量化的益生菌与茶多酚复配模型的抑菌机理及其在牙膏中的功效研究[J]. 口腔护理用品工业, 2022, 32(4): 4-11.
 - [13] 王冬雪, 张倩霞, 文艺, 等. 益生元对口腔健康促进作用和机制研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(2): 742-753.
 - [14] Li, X., Zhong, Y., Jiang, X., *et al.* (2015) Randomized Clinical Trial of the Efficacy of Dentifrices Containing 1.5% Arginine, an Insoluble Calcium Compound and 1450 ppm Fluoride Over Two Years. *The Journal of Clinical Dentistry*, **26**, 7-12.
 - [15] Leila, B., Eskandar, M., Afrooz, S., *et al.* (2022) Effect of Postbiotic-Toothpaste on Salivary Levels of IgA in 6- to 12-Year-Old Children: Study Protocol for a Randomized Triple-Blind Placebo-Controlled Trial. *Frontiers in Pediatrics*, **10**, Article 1042973. <https://doi.org/10.3389/fped.2022.1042973>
 - [16] 林祯灏, 李素洁. 益生菌联合牙周基础治疗对慢性牙周炎患者牙龈出血指数及牙齿松动度的影响[J]. 临床医学工程, 2022, 29(4): 481-482.
 - [17] 赵素倩, 穆楠楠, 赵大敏, 等. 益生菌联合新痕片治疗牙周病的效果分析[J]. 南昌大学学报(医学版), 2023, 63(3): 60-63, 92.
 - [18] Zanatta, C.A.R., Fritz, P.C., Comelli, E.M. and Ward, W.E. (2021) Intervention with Inulin Prior to and during Sanative Therapy to Further Support Periodontal Health: Study Protocol for a Randomized Controlled Trial. *Trials*, **22**, Article No. 527. <https://doi.org/10.1186/s13063-021-05504-1>
 - [19] 刘清. 基于 16S rRNA 全长测序的后生元含片辅助龋病充填治疗人群的口腔菌群分析[D]: [硕士学位论文]. 南昌: 南昌大学, 2022.
 - [20] Luo, S., Wei, S., Luo, X., Yang, Q., Wong, K., Cheung, P.C.K., *et al.* (2024) How Probiotics, Prebiotics, Synbiotics, and Postbiotics Prevent Dental Caries: An Oral Microbiota Perspective. *npj Biofilms and Microbiomes*, **10**, Article No. 14. <https://doi.org/10.1038/s41522-024-00488-7>
 - [21] 赵琛, 华红, 闫志敏. 益生菌预防和治疗口腔疾病的研究进展[J]. 口腔医学研究, 2016, 32(4): 418-420.
 - [22] Salminen, S., Collado, M.C., Endo, A., Hill, C., Lebeer, S., Quigley, E.M.M., *et al.* (2021) The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) Consensus Statement on the Definition and Scope of Postbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, **18**, 649-667. <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00440-6>
 - [23] Moradi, M., Kousheh, S.A., Almasi, H., Alizadeh, A., Guimarães, J.T., Yılmaz, N., *et al.* (2020) Postbiotics Produced by Lactic Acid Bacteria: The Next Frontier in Food Safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **19**, 3390-3415. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12613>
 - [24] 王扬蕊, 史晓丹, 杨雨宁, 等. 后生元制备技术及益生效应研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2024, 43(4): 8-16.
 - [25] 牙膏功效评价(WS/T 326-2010) [J]. 口腔护理用品工业, 2010, 20(6): 11-15.
 - [26] Macgregor, I.D. (1987) Comparison of the Silness-Loe (1964) Index with Gravimetric Measurement of Dental Plaque. *Clinical Preventive Dentistry*, **9**, 9-12.
 - [27] Koroluk, L., Hoover, J.N. and Komiyama, K. (1994) The Sensitivity and Specificity of a Colorimetric Microbiological Caries Activity Test (Cariostat) in Preschool Children. *Pediatric Dentistry*, **16**, 276-281.

- [28] Watts, G.S., Youens-Clark, K., Slepian, M.J., Wolk, D.M., Oshiro, M.M., Metzger, G.S., *et al.* (2017) 16S rRNA Gene Sequencing on a Benchtop Sequencer: Accuracy for Identification of Clinically Important Bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, **123**, 1584-1596. <https://doi.org/10.1111/jam.13590>
- [29] Iglesias, R.A., González, V.L., Castro, B.C., *et al.* (2024) Impact of 16S rRNA Gene Redundancy and Primer Pair Selection on the Quantification and Classification of Oral Microbiota in Next-Generation Sequencing. *Microbiology Spectrum*, **11**, e0439822. <https://doi.org/10.1128/spectrum.04398-22>
- [30] Salminen, S., Collado, M.C., Endo, A., Hill, C., Lebeer, S., Quigley, E.M.M., *et al.* (2021) The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) Consensus Statement on the Definition and Scope of Postbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, **18**, 649-667. <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00440-6>
- [31] Holz, C., Alexander, C., Balcke, C., Moré, M., Auinger, A., Bauer, M., *et al.* (2013) *Lactobacillus paracasei* DSMZ16671 Reduces Mutans Streptococci: A Short-Term Pilot Study. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, **5**, 259-263. <https://doi.org/10.1007/s12602-013-9148-9>
- [32] Lin, W., Kuo, Y., Chen, C., Huang, Y., Hsu, C., Lin, J., *et al.* (2021) Viable and Heat-Killed Probiotic Strains Improve Oral Immunity by Elevating the IgA Concentration in the Oral Mucosa. *Current Microbiology*, **78**, 3541-3549. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02569-8>
- [33] 王春梅, 李琳. 减轻口臭牙膏的研发[J]. 口腔护理用品工业, 2023, 33(6): 33-36.
- [34] Sabharwal, A., Ganley, K., Miecznikowski, J.C., Haase, E.M., Barnes, V. and Scannapieco, F.A. (2018) The Salivary Microbiome of Diabetic and Non-Diabetic Adults with Periodontal Disease. *Journal of Periodontology*, **90**, 26-34. <https://doi.org/10.1002/jper.18-0167>
- [35] Zhu, W., Shen, W., Wang, J., Xu, Y., Zhai, R., Zhang, J., *et al.* (2022) *Capnocytophaga gingivalis* Is a Potential Tumor Promotor in Oral Cancer. *Oral Diseases*, **30**, 353-362. <https://doi.org/10.1111/odi.14376>
- [36] Kotrashetti, V., Idate, U., Bhat, K., Kugaji, M. and Kumbar, V. (2020) Molecular Identification of *Capnocytophaga* Species from the Oral Cavity of Patients with Chronic Periodontitis and Healthy Individuals. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, **24**, 397. https://doi.org/10.4103/jomfp.jomfp_33_20
- [37] Ogunkolade, W., Senusi, A.A., Desai, P., Sacoar, S., Bibi, A., Gokani, B., *et al.* (2023) Profiling the Microbiome of Oral and Genital Mucosal Surfaces in Behçet's Disease. *Clinical Immunology*, **253**, Article 109654. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2023.109654>
- [38] McDaniel, J., McDaniel, S., Samiano, B.J., Marrujo, M., Kingsley, K. and Howard, K.M. (2021) Microbial Screening Reveals Oral Site-Specific Locations of the Periodontal Pathogen *Selenomonas noxia*. *Current Issues in Molecular Biology*, **43**, 353-364. <https://doi.org/10.3390/cimb43010029>
- [39] Pignatelli, P., Curia, M.C., Tenore, G., Bondi, D., Piattelli, A. and Romeo, U. (2024) Oral Bacteriome and Oral Potentially Malignant Disorders: A Systematic Review of the Associations. *Archives of Oral Biology*, **160**, Article 105891. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2024.105891>