

## 心脏移植患者 3 种牙周可疑致病菌的检测

曹莹<sup>1\*</sup> 吕亚林<sup>1</sup> 贾一新<sup>2</sup> 韩笑<sup>1</sup> 刘冬宇<sup>1</sup> 丁芳<sup>1</sup>

(1. 首都医科大学附属北京安贞医院口腔医疗中心 北京 100029;

2. 首都医科大学附属北京安贞医院心外科)

[摘要] 目的:应用聚合酶链反应法对心脏移植患者龈上菌斑中牙龈卟啉单胞菌、福赛坦氏菌和齿垢密螺旋体进行检测,分析其存在状况与牙周临床指标的关系。方法:55 例心脏移植患者为实验组,36 例正常成人作为对照组。以 16、26 为受检牙位,分别采集龈上菌斑,应用 PCR 技术检测菌斑中的 Pg, Tf, Td。同时记录受检牙位的菌斑指数、龈沟出血指数、龈沟探诊深度及附着丧失。结果:心脏移植组 PLI、SBI、PD 均高于对照组( $P<0.05$ ),心脏移植组龈上菌斑中 Pg, Tf, Td 检出率分别为 81.8%、69.1%、76.4%,对照组中 3 种细菌检出率分别为 58.3%、41.7%、41.7%。检出率均高于对照组( $P<0.05$ )。心脏移植组 3 种致病菌同时检测出率为 53.6%(59/110),对照组 3 种致病菌同时检出率为 29.2%(21/72),两组差异有统计学意义( $P<0.05$ )。心脏移植组中 3 种致病菌均为阳性患者的 PLI、SBI、PD 均高于对照组( $P<0.05$ )。结论:心脏移植患者口腔卫生状况较差,为防止牙周疾病的发生,应及早进行口腔卫生干预治疗。

[关键词] 心移植 龈上菌斑 聚合酶链式反应

[中图分类号] R781.4 [文献标识码] A [文章编号] 1671-7651(2014)06-0519-04

DOI:10.13701/j.cnki.kqxyj.2014.06.008

**Detection of Periodontal Pathogens in Patients with Heart Transplantation.** CAO Ying, LV Ya-lin, JIA Yi-xin, et al. Medical Centre of Stomatology, Affiliated Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University Beijing 100029

[Abstract] **Objective:** To detect the presence of Porphyromonas gingivalis (Pg), Tannerella forsythius (Tf) and Treponema denticola (Td) in supragingival plaque from patients with heart transplantation using PCR, and investigate the relationship between the periodontal pathogens and clinical parameters. **Methods:** Supragingival plaque were collected from 55 patients with heart transplantation and 36 subjects without periodontitis. The samples were collected from the labial surfaces of both maxillary first molar. Extracted DNA from plaque samples was used for PCR analysis. Intraoral examination, plaque index (PLI), sulcus bleeding index (SBI), probing depth (PD) and attachment loss (AL) were performed and recorded. **Results:** PLI, SBI, and PD were higher in the patients with heart transplantation than the control group ( $P<0.05$ ). There was no statistically difference in AL between two groups. Pg, Tf, Td were more frequently detected in the patients with heart transplantation (81.8%, 69.1%, 76.4%) than that in the control group (58.3%, 41.7%, 41.7%) ( $P<0.05$ ). The combined detection frequency of red complex (Pg+Tf+Td) was 53.6% in the patients with heart transplantation (59/110), significantly higher than the control group (29.2%, 21/72). PLI, SBI, and PD of the heart transplantation patients with 3 putative periodontal pathogens were higher than the control group ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** Detection rates of putative periodontal pathogens including Pg, Tf, Td were high in the patients with heart transplantation. It is necessary to strengthen oral health education and disease control to the patients with heart transplantation.

[Key words] Heart transplant Supragingival plaque Polymerase chain reaction

基金项目 国家自然科学基金资助项目(编号:81170282)

首都医科大学附属北京安贞医院院长科技发展基金资助项目(编号:2012Z06)

作者简介 曹莹(1974~),女,辽宁人,副主任医师,硕士,主要从事口腔内科临床及研究工作。

\*通讯作者 曹莹,电话:010-64456076

接受器官移植的患者由于术后长期服用免疫抑制制剂,机体的免疫功能受抑制,抵抗力相对较低。目前,国内约 70% 心脏移植患者术后服用环孢菌素 A (cyclosporine A, CsA), CsA 引起药物性牙龈增生的发生率为 30%~80%<sup>[1]</sup>。牙周病是由多种细菌混合导致的牙周组织慢性感染性疾病,牙龈斑中细

菌及其产物不但是诱发牙周病的始动因子,而且菌斑引起的感染又是药物性牙龈增生的重要危险因素。牙周斑微生物中的牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*, Pg)、福赛坦氏菌(*Tannerella forsythia*, Tf)和齿垢密螺旋体(*Treponema denticola*, Td)与牙周病的发生发展密切相关。在前期的研究中,通过对心脏移植患者进行口腔健康状况调查,我们发现心脏移植患者的口腔保健知识普遍匮乏,口腔卫生状况较差,大多数患者的口腔中存在不同程度的牙周问题<sup>[2]</sup>。本文通过聚合酶链式反应(PCR)检测心脏移植患者龈上菌斑中 Pg、Tf、Td 三种牙周可疑致病菌分布,同时检测患者的牙周临床指标,为心脏移植患者应及早进行牙周疾病的防治提供科学依据。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 试验组病例来自首都医科大学附属北京安贞医院心外科 2010 年 3 月~2012 年 12 月心脏移植术后定期复查的患者,经口腔检查排除牙周炎,入选病例 55 例。男性 52 例,女性 3 例,年龄 20~65 岁,所有患者接受心脏移植后服用环孢菌素时间均超过 3 个月,平均年龄( $45.4 \pm 11.5$ )岁。对照组病例为同期就诊于安贞医院口腔科的非牙周炎患者 36 例,男性 34 例,女性 2 例,平均年龄( $43.8 \pm 15.5$ )岁。两组间性别、年龄构成,各年龄组人数之间无统计学差异。所有研究对象已排除过去 6 个月内进行过牙周治疗或过去 3 个月内使用过广谱抗生素和非甾体类抗炎药物,无全身系统性疾病,妇女无妊娠,全口存留牙不少于 16 颗。所有研究对象均签署知情同意书,本研究获得首都医科大学医学伦理委员会的批准。

1.2 受检牙位菌斑采集及牙周临床检查 龈上菌斑从 16、26 近中颊侧取得,嘱患者漱口清除食物残渣,局部隔湿,用无菌刮治器刮取牙冠颊侧颈 1/3 的龈上菌斑,把收集的菌斑放入盛有无菌生理盐水的 1.5 mL 无菌离心管中,  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  冻存待检。临床检查时记录受检牙位菌斑指数(plaque index, PLI)、龈沟出血指数(sulcus bleeding index, SBI)、龈沟探诊深度(probing depth, PD)及附着丧失(attachment loss, AL)。采集菌斑及临床检查过程由受过训练的同一个研究者完成。

## 1.3 PCR 法检测牙周致病菌

1.3.1 龈上菌斑 DNA 的提取 冻存样品在室温下溶解,漩涡振荡器上震荡均匀,应用上海华舜生物工程有限公司提供的小量细菌基因组 DNA 快速抽

提纯化试剂盒进行 DNA 的提取,提取方法参照试剂盒操作手册。

1.3.2 PCR 引物及扩增条件 3 种微生物的引物来自编码 16S rRNA 的基因,参照文献设计引物序列<sup>[3]</sup>,引物由上海生工生物工程有限公司(Sangon)合成。3 种细菌引物序列及产物片段长度见表 1。PCR 反应体系为 20  $\mu\text{L}$ ,在 0.5 mL 的离心管中,依次加入试剂:2  $\mu\text{L}$  模板,10 $\times$  PCR Buffer 2  $\mu\text{L}$ ,25 mmol/L dNTP 混合物 2  $\mu\text{L}$ ,25 mmol/L MgCl<sub>2</sub> 2  $\mu\text{L}$ ,20 pmol 上下游引物各 1  $\mu\text{L}$ ,Taq 酶 1.25 U,用三蒸水调整 PCR 总反应体系为 20  $\mu\text{L}$ 。PCR 扩增条件及产物分析:95  $^{\circ}\text{C}$  预变性 2 min,95  $^{\circ}\text{C}$  热变性 30 s,60  $^{\circ}\text{C}$  退火 1 min,72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 1 min,共 38 个循环,最后 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 2 min。每批 PCR 扩增均设有阳性对照和阴性对照。阳性对照为 3 种微生物的标准菌株,分别为 Pg(ATCC33277)、Tf(ATCC43037)、Td(ATCC33520),阴性对照采用灭菌去离子水,50%的样本经过重复 PCR 实验。取 3  $\mu\text{L}$  扩增产物,经 3% 琼脂糖凝胶电泳,溴乙啶染色,在紫外检测仪(NTM-10, Fwncoshi, Japan)下观察其特征性 DNA 区带并拍照。

表 1 引物序列及扩增产物片段大小

Table 1 PCR primer sequences and product size

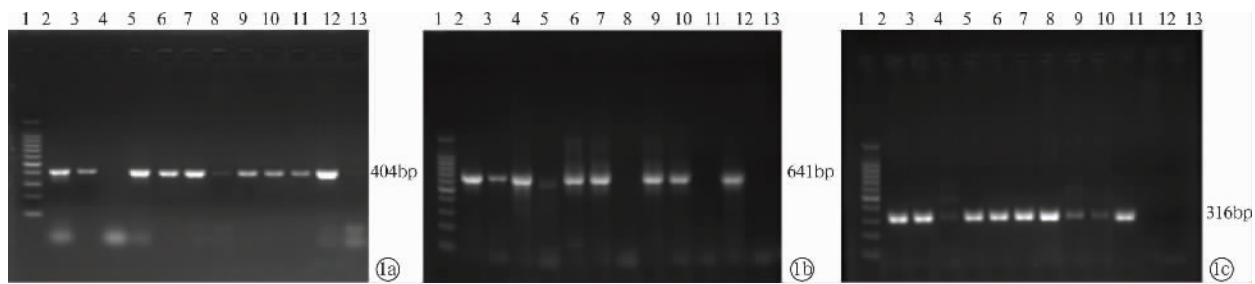
细菌引物序列 Primer set(5'-3')	扩增产物片段长度/bp	退火温度/ $^{\circ}\text{C}$
牙龈卟啉单胞菌(Pg) 上游 AGG CAG CTT GCC ATA CTG CG 下游 ATC GTT AGC AAC TAC CGA TGT	404	60
福赛坦氏菌(Tf) 上游 GCG TAT GTA ACC TGC CCG CA 下游 TGC TTC AGT GTC AGT TAT ACC T	641	60
齿垢密螺旋体(Td) 上游 TAATACCGAATGTGCTCATITACAT 下游 TCA AAG AAG CAT TCC CTC TTC TTC TTA	316	60

1.4 统计学方法 应用 SPSS 17.0 软件对本组数据进行统计学分析,患者临床指标的比较采用  $t$  检验,3 种牙周致病菌检出率比较采用  $\chi^2$  检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两组牙周临床指标的比较 结果显示:心脏移植组 PLI、SBI、PD 均高于对照组,两组间差异有统计学意义( $P < 0.05$ );AL 在两组间无统计学意义的差异,见表 2。

2.2 3 种牙周致病菌 PCR 检测结果,见图 1



1a;1,100bp DNA Ladder Marker;2,Pg positive control;3 to 12,supragingival plaque samples of patients with heart transplantation;13,Pg negative control. 1b;1,100bp DNA Ladder Marker;2,Tf positive control; 3 to 12,supragingival plaque samples of patients with heart transplantation; 13,Tf negative control. 1c;1,100bp DNA Ladder Marker;2,Td positive control;3 to 12,supragingival plaque samples of patients with heart transplantation;13,Td negative control.

图 1 3 种细菌 16S rRNA 基因片段的 PCR 产物电泳图

Fig. 1 Gel imaging figure of PCR for the three periodontal pathogens

2.3 3 种细菌在两组间检出率的比较 结果显示:心脏移植组 Pg、Tf、Td 3 种细菌检出率均高于对照组,两组间差异有统计学意义( $P<0.05$ )。心移植组 3 种细菌同时检出率为 53.6%,高于对照组(29.2%),且差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 3。

2.4 3 种细菌均为阳性的两组个体间牙周临床指标的比较 结果显示:心脏移植组同时检出 3 种细菌的患者的 PLI、SBI、PD 均高于对照组,两组间差异有统计学意义( $P<0.05$ );心脏移植组 AL 略高于对照组,两组间差异尚无统计学意义,见表 4。

表 2 心移植组和对照组牙周临床指标比较

Table 2 Comparison of clinical periodontal index in two groups

分组	样本数	PLI	SBI	PD	AL/mm
心脏移植组	110	$2.41 \pm 0.11^*$	$2.58 \pm 0.14^*$	$3.24 \pm 0.12^*$	$0.44 \pm 0.23$
对照组	72	$1.57 \pm 0.17$	$1.64 \pm 0.25$	$2.09 \pm 0.07$	$0.38 \pm 0.16$

注: \*  $P<0.05$

表 3 两组间细菌检出率的比较

Table 3 Detection frequencies of three supragingival microorganisms in two groups

分组	样本数	Pg 阳性	Tf 阳性	Td 阳性	Pg+Td+Tf 阳性
心脏移植组	110	81.8(90)*	69.1(76)*	76.4(84)*	53.6(59)*
对照组	72	58.3(42)	41.7(30)	41.7(30)	29.2(21)

注: \*  $P<0.05$

表 4 Pg+ Tf + Td 阳性的两组样本间牙周临床指标的比较

Table 4 Comparison of clinical periodontal index of the patients with red complex in two groups

分组	样本数	PLI	SBI	PD	AL/mm
心脏移植组	59	$2.82 \pm 0.09^*$	$2.91 \pm 0.21^*$	$3.69 \pm 0.10^*$	$0.72 \pm 0.11$
对照组	21	$1.79 \pm 0.14$	$1.78 \pm 0.15$	$2.45 \pm 0.24$	$0.49 \pm 0.13$

注: \*  $P<0.05$

### 3 讨论

菌斑中的细菌及代谢产物是牙周病发生的始动因子,牙周疾病的发展取决于细菌和宿主之间的平衡,其中致病菌的数量、局部环境和宿主的易感性都起着至关重要的作用。器官移植患者由于长期服用免疫抑制剂,机体处于免疫抑制状态,自身的免疫反应和细菌致病力之间的平衡易受到破坏,在牙周局部致病菌达到一定数量时,比正常人可能更易引起牙周组织的破坏。本文是在对心脏移植患者进行口

腔健康状况调查的基础上,研究与牙周疾病密切相关的 3 种致病菌(Pg、Tf、Td)在患者龈上菌斑中的分布情况,为进一步探讨牙周致病菌在心脏移植患者牙周疾病中的作用奠定基础。

目前,国内心脏移植术后约 70% 的患者在服用免疫抑制剂 CsA,CsA 常见的副作用是引起药物性牙龈增生,菌斑引起的感染是药物性牙龈增生发展过程中重要的危险因素。目前对器官移植患者龈上菌斑中牙周致病菌的检测报道较少,以往众多关于

牙周疾病致病菌的研究多采用龈下菌斑,在实际操作中,龈下菌斑取材时无法避免的会受龈上菌斑、牙龈出血和唾液的干扰,影响定性研究的结果。本研究是为探讨导致心脏移植患者牙龈炎症相对较高的微生物学因素,近龈缘的龈上菌斑与患者牙龈的健康状况密切相关,因而采用龈上菌斑作为检测样本。

本试验中两组入选研究对象均不伴有牙周炎,经检测两组牙周附着丧失(AL)均不足 1 mm,且组间差异无统计学意义。在前期的研究中,我们调查发现接受心脏移植(术后 3 个月以上)患者的口腔卫生状况普遍较差<sup>[2]</sup>,PLI、SBI、PD 是反映口腔卫生状况和牙龈炎症的牙周指标,在本研究中心脏移植组患者 PLI、SBI、PD 均高于对照组,组间差异有统计学意义,这提示心脏移植组患者的口腔卫生状况较差,与正常人群相比其牙龈炎症程度相对较高。

牙周疾病的始动因素为牙菌斑,牙周致病菌的联合感染较单一感染或任两种致病菌感染所造成的牙周组织损害更严重<sup>[4]</sup>。Socransky 的研究中<sup>[5]</sup>将牙周致病菌按聚集特性以及与牙周状况的关系,分为红、橙、黄、绿、紫、蓝 6 种主要微生物复合体。其中 Pg、Tf、Td 致病性最强,且与牙周炎症程度关系最密切,三者共同构成"红色复合体"(red complex)。“红色复合体”微生物在牙周炎患者的龈下菌斑中有较高的检出率<sup>[6,7]</sup>,在本试验中两组患者的龈上菌斑中“红色复合体”均有一定的检出率,其可能与牙龈炎的发生发展存在密切关系。

牙龈卟啉单胞菌(Pg)是慢性牙周炎患者龈下菌斑中检出率较高的牙周致病菌,有研究表明 Pg 细菌数量与牙周组织炎症程度呈正相关<sup>[8]</sup>,患者的出血指数和探诊深度与龈下菌斑中 Pg 的量有关<sup>[9]</sup>。在本试验中,心脏移植组菌斑指数(PLI)和龈沟出血指数(SBI)高于对照组,且其龈上菌斑中 Pg 的检出率也明显高于对照组,心脏移植组患者龈上菌斑中的 Pg 高频分布可能是其牙龈炎症程度相对较高的原因之一。

福赛斯拟杆菌(Tf)与进展性牙周炎和侵袭性牙周炎密切相关<sup>[10]</sup>。随着探诊深度的加深以及附着丧失的加重,Tf 检出率明显增高<sup>[11]</sup>。有研究提示在基线时检测到 Tf,其牙周袋深度增加的危险增大了 7 倍,与未检测出 Tf 的部位相比,发生牙槽骨丧失的比例更高<sup>[12]</sup>。Tf 可入侵上皮细胞,引发宿主免疫反应,诱导细胞凋亡;通过细菌表明活性物质

引起骨吸收,分解细胞外基质,从而引起牙周组织破坏。本研究中心脏移植组的 Tf 检测率明显高于对照组,在检测出“红色复合体”的两组患者中,心脏移植组牙周探诊深度(PD)高于对照组,这可能与心脏移植组龈上菌斑中 Tf 的数量和致病性较高有关。龈上菌斑中的 Tf 还可能与龈下菌斑中 Tf 协同作用,对牙周组织造成破坏。由于心脏移植组患者龈上菌斑中 Tf 检出率高于对照组,提示其牙周组织可能更易遭受破坏。

齿垢密螺旋体(Td)为严格的专性厌氧菌,体外研究表明,Td 可粘附于成纤维细胞、上皮细胞及细胞外基质,并对上皮细胞和成纤维细胞有细胞毒性作用。有研究证明慢性牙周炎患者龈下菌斑中 Td 检出率高达 90%<sup>[13]</sup>。本研究两组患者龈上菌斑中 Td 均有一定数量的分布,由于 Td 主要在慢性牙周炎的进展期发挥作用,心脏移植组龈上菌斑中 Td 的检出率明显高于对照组,提示心脏移植组患者的牙龈炎进一步发展成牙周炎的可能性较大。

在本试验中,心脏移植组“红色复合体”的检出率(59/110,53.6%)高于对照组(21/72,29.2%),说明在心脏移植组患者的龈上菌斑中 Pg、Tf、Td 定植和分布的频度更高。“红色复合体”阳性的两组间牙周检测指标(PLI、SBI、PD)差异有统计学意义,心脏移植组高于对照组,这说明 3 种高危牙周致病菌同时存在时,与对照组相比,心脏移植组患者牙龈的炎症程度相对较高,可能是因为心脏移植组患者服用免疫抑制剂,其自身免疫受抑制的原因所致。在口腔局部卫生环境和细菌两方面的因素的共同作用下,可能增加了心脏移植组患者龈上菌斑中致病菌进一步诱发牙周疾病的风险性。

本研究表明心脏移植组患者牙龈炎症程度较重,龈上菌斑中 Pg、Tf、Td 检出率较高,提示这部分患者是牙周病的高危人群,加之患者机体免疫功能较低,一旦发生牙周病,其治疗和疗效巩固的难度都较普通牙周病患者更大,因而应及早对心脏移植患者进行牙周病的预防保健工作,以防止牙周病、药物性牙龈增生的发生发展。

#### 参考文献

- [1] 曹莹,吕亚林,丁芳,等.不同口腔卫生干预措施对心脏移植患者牙周健康状况的影响[J].口腔医学研究,2012,28(6):526

3.3.1 软硬组织移动比率 正颌外科手术后软硬组织的移动比率是影响计算机预测系统准确性的最主要因素,国内外许多学者在移动比率方面做了很多研究。不同人种在颅面形态和颜面软组织覆盖厚度上有一定差异,其术后软硬组织的移动比率亦有所不同,不同位置的骨面,软组织长度、厚度及弹性等均有差异,以致软硬组织间的关联性也不一致<sup>[1]</sup>。本系统软硬组织移动比率可手动设置,这就避免统一化的比率应用于不同种族时产生的误差。

3.3.2 复发 外科手术是包含许多随机因素在内的过程,虽然在操作中力求达到模型外科所要求的移动方向及数据,但由于各种因素仍可能有微小误差,从而导致了手术和头颅定位侧位片预测数据的差异。Loretta<sup>[5]</sup>指出正颌手术后骨块移到新的位置,打破了原来存在的软硬组织之间的平衡,软组织的回复、骨段及髁状突的旋转、多因素作用的个体生理差异等均可导致骨块细微的位移,从而导致了术后测量值和预测值的差异。

3.3.3 其他影响因素 患者摄头颅侧位定位片时头位的水平位的偏斜、肌肉紧张及手术因素也在一定程度上影响了预测的准确性。

#### 4 结论

Winceph 8.0 系统对正颌手术术后硬组织侧貌的预测准确,对软组织的预测稍显不足,尤其是上唇长。预测结果不受性别影响。下颌骨段后退大于 8 mm 的患者,上唇长的预测准确性较低。

#### 参考文献

- [1] 宋恩,莫康楠,朱赴东,等. 计算机辅助正颌外科模拟和预测系统的准确性评估[J]. 口腔医学,2013,33(1): 17-20
- [2] 陈波,张震康,王兴. 正颌外科患者术后满意度及相关因素分析[J]. 中华口腔医学杂志,2002,82(20): 1436-1437
- [3] Lew KK. The reliability of computerized cephalometric soft tissue prediction following bimaxillary anterior subapical osteotomy [J]. Int J Adult Orthodon Orthognath Surg,1992,7(2): 97-101
- [4] Jones RM, Khambay BS, McHugh S. The validity of a computer-assisted simulation system for orthognathic surgery (CASSOS) for planning the surgical correction of class III skeletal deformities: single-jaw versus bimaxillary surgery [J]. Int J Oral Maxillofac Surg,2007,36(10): 900-908
- [5] Rubenstein LK, Strauss RA, Lindauer SJ, et al. Tantalum implants as markets for evaluation postoperative orthognathic surgical changes [J]. Int J Adult Orthodon Orthognath Surg, 1993,(3): 203-209

[收稿日期:2013-08-20]

(本文编辑 李四群)

(上接 522 页)

- [2] 曹莹,吕亚林,贾一新,等. 60 例原位心脏移植患者口腔健康状况调查[J]. 口腔颌面修复学杂志,2011,12(6): 16-20
- [3] 冯向辉,张立,孟焕新,等. 牙周炎患者唾液和龈下菌斑 3 种厌氧微生物的检测[J]. 北京大学学报,2009,41(1): 44-48
- [4] Chen LL, Wu YM, Yan J, et al. Association between coinfection of Porphyromonas gingivalis, Actinobacillus actinomycetemcomitans and Treponema denticola and periodontal tissue destruction in chronic periodontitis [J]. Chin Med J (Engl), 2005, 118(11): 915-921
- [5] Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, et al. Microbial complexes in subgingival plaque [J]. J Clin Periodontol, 1998, 25(2): 134-144
- [6] 冯向辉,张立,孟焕新,等. 侵袭性牙周炎病原微生物的检测[J]. 中华口腔医学杂志,2006,41(6): 344-347
- [7] Takeuchi Y, Umeda M, Ishizuka M, et al. Prevalence of periodontopathic bacteria in aggressive periodontitis patients in a Japanese population [J]. J Periodontol, 2003, 74(10): 1460-1469
- [8] Socransky SS, Haffajee AD, Smith C, et al. Relation of counts of microbial species to clinical status at the sampled site [J].

J Clin Periodontol, 1991, 18(10): 766-775

- [9] Mineoka T, Awano S, Rikimaru T. Site-specific development of periodontal disease is associated with increased levels of Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola, and Tannerella forsythia in subgingival plaque [J]. J Periodontol, 2008, 79(4): 670-676
- [10] Lee JW, Choi BK, Yoo YJ, et al. Distribution of periodontal pathogens in Korean aggressive periodontitis [J]. J Periodontol, 2003, 74(9): 1329-1335
- [11] 杨禾,吴亚菲,赵蕾,等. 慢性牙周炎患者龈下菌斑中福赛斯坦纳菌与临床指标的关系[J]. 华西口腔医学杂志,2007,25(1): 46-49
- [12] Machtei EE, Hausmann E, Dunford R, et al. Longitudinal study of predictive factors for periodontal disease and tooth loss [J]. J Clin Periodontol, 1999, 26(6): 374-380
- [13] 张贤华,张斌,吴织芬. 3 种寡核苷酸探针针对龈下菌斑中牙周致病菌的检测[J]. 华西口腔医学杂志,2003,21(4): 287-288,310

[收稿日期:2013-09-26]

(本文编辑 汪喻忠)