

通过培养组学表征儿童早期严重龋齿的微生物群

Xiaowei Zhao*, Yuhong Li

湖北省口腔医学基础科学国家重点实验室培育基地暨口腔生物医学教育部重点实验室（武汉大学） 湖北武汉

【摘要】本研究纳入了两名 SECC 患儿和两名同龄无龋儿童，利用培养组学技术，即通过设定不同的条件（温度、氧气条件、培养基）对口腔牙菌斑中的微生物进行分离培养，通过 16S rRNA 测序鉴定菌种，并结合临床信息对菌株功能进行深入分析。本研究共鉴定出 37 种菌种，其中 4 种以前从未与口腔相关，3 种从未从临床标本中分离过。这项先导研究能够为 SECC 患者和同龄健康儿童的菌群复杂性提供一些新的信息。

【关键词】 SECC；培养组学；口腔微生物群

【收稿日期】 2025 年 3 月 23 日

【出刊日期】 2025 年 4 月 23 日

【DOI】 10.12208/j.beb.20250002

Characterizing Severe Early Childhood Caries Microbiota through Culturomics

Xiaowei Zhao*, Yuhong Li

The State Key Laboratory Breeding Base of Basic Science of Stomatology, Hubei Province & Key Laboratory of Oral Biomedicine (Wuhan University), Ministry of Education, Wuhan, Hubei

【Abstract】 Severe early childhood caries (SECC) is a common widespread caries affecting multiple deciduous teeth in children, which seriously affects children's physical and mental health and growth. Investigation of their pathogenic flora is essential. Two children with SECC and two caries-free children of the same age were included in this study. Using cultureomics techniques, that is, microorganisms in oral dental plaque were isolated and cultured by setting different conditions (temperature, oxygen conditions, culture medium). Species were identified by 16S rRNA sequencing, and strain function was analyzed in depth in combination with clinical information. A total of 37 species were identified in this study. 4 species had never been associated with the oral cavity before, and 3 of them had never been isolated from clinical specimens. This pilot study was able to provide some new information on the complexity of the microbiota in SECC patients versus healthy children of the same age.

【Keywords】 SECC; Cultureomics; Oral microbiota

1 简介

龋齿是最常见的儿童慢性疾病之一，全球影响着超过 5.6 亿儿童^[1]。乳牙龋齿被称为早期儿童龋齿（ECC），其严重形式 SECC（严重早期儿童龋齿）的定义，取决于儿童年龄以及龋洞、龋齿缺失（因龋齿引起）或补牙的数量。例如，对于一个 4 岁的儿童，如果 5 颗或更多乳牙受到龋齿的影响，则可以诊断为 SECC。^[2]每个人的口腔微生物组组成都是独一无二的，反映了各种内源性和外源性的影响（行为、免疫、遗传和环境因素）。微生物组分析结合相关因素评估，可以提高现有 SECC 风险预测方法的

准确性，为 SECC 的发生提供更大的可预测性。

口腔微生物是改变口腔乃至全身健康与疾病平衡的重要组成部分^[3]。基于现代基因高通量测序技术，在牙齿、龈沟、颊舌、软硬腭等软硬组织表面发现了超过 700 种不同的微生物，例如细菌、病毒、真菌、支原体和衣原体，它们统称为口腔微生物组^[4]。这些非培养方法发现了大量未培养的菌株信息，未培养菌株约占 70%。许多在样本中占据优势地位的物种没有培养的参考菌株；一些标签序列只能划分到非常粗略的分类学层级（例如，细菌界或门），这表明培养物种库中缺少完整的大分类单元（例如，

*通讯作者：Xiaowei Zhao

注：本文于 2023 年发表在 International Journal of Clinical and Experimental Medicine Research 期刊 7 卷 2 期，为其授权翻译版本。

大量的候选门)。这些信息的缺乏阻碍了宏基因组学领域的发展;对于这些在培养中大量缺失的分类单元,迫切需要分离培养代表性菌株并研究其功能,以推断菌群在相应环境中的功能。除了通过非培养技术进行验证外,通常还需要通过分离培养相应菌株进行功能验证,并进一步用于干预研究。^[5]培养组学是一种利用多种培养条件^[6]。该方法基于培养条件的多样化,尽可能模拟细菌所在的自然环境来获取培养物。该方法能够检测出细菌,而不管其相对丰度如何,并且只能鉴定出活的微生物。培养组学可用于鉴定新物种。Hamad 等人利用培养组学从 14 个粪便样本中分离出总共 17,800 个真菌菌落,并鉴定出 41 种真菌,其中 10 种此前未在人体肠道中报道过^[7]。目前,尚无关于 SECC 儿童可培养微生物组的研究报道。

本研究采集了 2 例无龋儿童和 2 例 SECC 儿童的牙菌斑,结合临床资料及 16S rRNA 基因序列鉴定与比较分析,分析了 SECC 儿童与同龄健康儿童的可培养微生物群落特征。

2 材料和方法

2.1 口腔检查

本研究经武汉大学口腔医院医学伦理委员会批准,并获得每位患儿及其监护人的知情同意。由一名检查员对受试儿童进行全面的口腔检查,并由一名记录员记录结果。受试者的口腔检查主要包括口腔软组织检查、硬组织检查和牙体检查。软组织检查包括软组织颜色、形态、质地等有无异常;硬组织检查包括结构和形态有无异常。牙体检查包括每颗前牙 4 个牙面(唇侧、舌侧、内侧、远中)和每颗后牙 5 个牙面(颊侧、舌侧、内侧、远中、咬合侧)。主要检查牙体组织有无龋损,并记录相应的牙位和牙面,计算龋缺充填牙 dmft 和龋缺充填面 dmfs;同时记录每颗牙面菌斑,计算菌斑指数。

2.2 唾液 pH 值和唾液缓冲能力的测定

使用龋齿指示剂试纸(Eyte 公司,中国),检查时取出龋齿指示剂试纸,用唾液润湿试纸,待试纸颜色稳定后(一般为 10s)与包装瓶上的标准比色卡比对,根据比色卡除以面积即可判断龋齿置换风险。

2.3 斑块产酸能力(Cariostat 测试)

用标准棉签反复擦拭取样上颌后牙颊侧、下颌前牙舌侧,置于增菌培养基(Yuba, 中国)中反复

摇晃,转入 37°C 培养箱中培养 48 小时后读数。

2.4 样本采集与处理

选取 2 名健康无龋儿童和 2 名 SECC 儿童。纳入和排除标准如下:1.不吸烟;无全身性疾病;无长期用药史;取样前 3 个月未接受过抗生素治疗;2.健康无龋儿童,dmft 为 0,口腔软硬组织正常;3.SECC 患儿,3 岁以下儿童口腔内牙齿光滑面出现龋病,或 3 岁以上 dmft 大于 4,或 4 岁时 dmft 大于 5,或 5 岁时 dmft 大于 6。除龋病外,口腔软硬组织均正常。所有儿童在取样前 2 小时禁食禁水。

采样的具体程序如下。用无菌棉球轻轻擦洗 6 颗索引牙(55、51、63、71、75、83)表面的菌斑,并用无菌小刷去除水分。将样品收集于含 1mL PBS 的 1.5mL EP 管中,旋转 1min。将 EP 管置于冰盒中,1h 内转运至实验室进行进一步分离培养。

2.5 培养组学方法

将样本在涡旋式培养箱中充分摇晃后,平均分入两个装有 2mL 布鲁氏菌肉汤或 2mL 巯基乙酸盐肉汤(THIO)的无菌小瓶中。然后将这些样本接种到血培养瓶中,分别在 37°C、30°C 和 42°C 下培养 7 天和 14 天。培养结束后,将样本接种到琼脂培养基上。所用的生长条件如下。BHI(脑心浸液琼脂,HKM,中国)、PYGV(PYGV 培养基:矿物质元素溶液 20.00ml(NTA, 1g; MgSO₄·7H₂O, 2.97g; CaCl₂, 0.252g; Na₂MoO₄·2H₂O, 1.267mg; FeSO₄·7H₂O, 0.01g), 0.25g 蛋白胨, 0.25g 酵母提取物, 15.00g 琼脂, 965.00ml 无菌水,在 115°C 下混合 20min,冷却后加入 10.00ml (2.5%) 无菌葡萄糖溶液)、CBA(哥伦比亚血琼脂,HKM,中国)+5% 羊血用于需氧菌。厌氧菌:BHI、PYGV、CBA+5% 羊血、CDC(厌氧血琼脂基础培养基,海博,中国)+5% 羊血。将平板分别在 37°C、30°C 和 42°C 下进行需氧和厌氧培养 5 天。培养基上的任何菌落均需纯化,并使用与上述相同的培养基和生长条件重新培养。随后,对所有生长出的细菌进行 16S 基因序列分析,并将测序结果与 NCBI 上的 BLAST 进行比对分析。具体流程如图 1 所示。

3 结果

4 名入选儿童的相关信息如下(表 1、表 2),本研究对 2 名正常无龋儿童和 2 名 SECC 患者的牙菌斑进行了培养组学分析。所有鉴定出的微生物均报告于表 3 中。

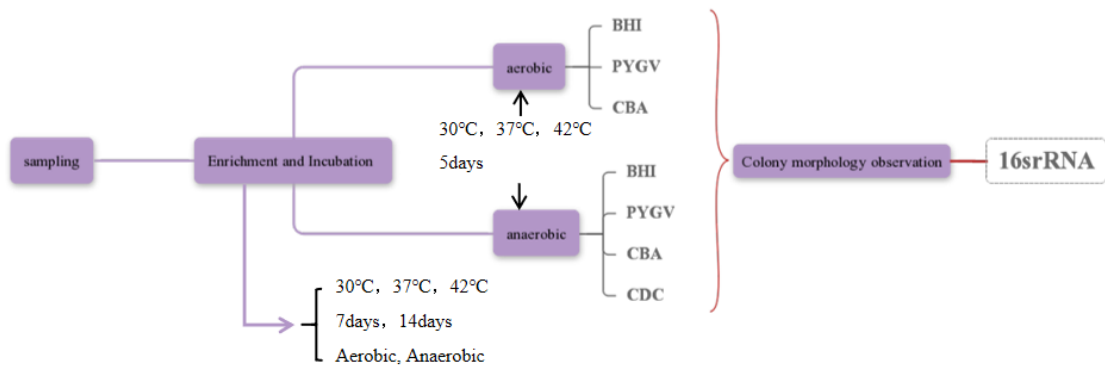


图 1 培养组学流程图。

表 1 临床信息

	年龄	唾液 pH 值	唾液缓冲能力	牙齿状况	斑块状态	斑块产酸能力（Cariostat 检测）
无龋儿童 1	4	6.5-7.0	<250ppm	dmfs=0 dmft=0	45.00%	绿色（机械值：1/160）
无龋儿童 2	4	6.5-7.0	<250ppm	dmfs=0 dmft=0	35.00%	绿色（机械值：1/113）
SECC 子项 1	4	≤6.0	<250ppm	dmfs=14dmft=7	40.00%	绿色（机械值：1/216）
SECC 子项 2	4	≤6.0	<250ppm	dmfs=44dmft=18	35.00%	绿色（机械值：1/147）

表 1 口腔组织检查

	口腔	舌头	牙龈	硬腭	软腭	唇音	前庭	粘膜	其他的
无龋儿童 1	普通的	普通的	普通的	普通的	普通的	普通的	普通的	普通的	普通的
无龋儿童 2	普通的	普通的	普通的	普通的	普通的	普通的	普通的	普通的	普通的
SECC 子项 1	普通的	普通的	普通的	普通的	普通的	普通的	普通的	普通的	普通的
SECC 子项 2	普通的	普通的	普通的	普通的	普通的	普通的	普通的	普通的	普通的

表 3 从每位患者体内分离出的菌种汇总

通过培养组学鉴定的物种	
无龋儿童 1	戊糖乳杆菌、厚壁菌门、Rothiaeria、干燥奈瑟菌、苏黄奈瑟菌、长奈瑟菌、植物乳杆菌、内氏放线菌、口腔奈瑟菌、变形链球菌、血链球菌、口腔链球菌
无龋儿童 2	冠状链球菌、干燥奈瑟菌、粘性放线菌、环状芽孢杆菌、硬质棒状杆菌、蒂莫链球菌、苏黄奈瑟氏菌、内氏放线菌、口腔放线菌、婴儿链球菌、口腔链球菌、轻链球菌、罗氏菌、罗氏齿菌、粘膜奈瑟菌
SECC 子项 1	戈登链球菌、轻链球菌、肺炎链球菌、葡萄球菌、Abiotropicia adiacens、Sporisorium reilianum、热带念珠菌、植物乳杆菌、内氏放线菌、口腔奈瑟菌、变形链球菌、血链球菌、口腔链球菌
SECC 子项 2	澳大利亚链球菌、乳房链球菌、变形链球菌、粘液罗氏菌、唾液乳杆菌、嗜热蛋白酶产生菌、梭状芽孢杆菌、普氏菌、环状念珠菌、乳房链球菌、血链球菌、中间链球菌、婴儿链球菌、内氏放线菌、口腔放线菌、婴儿链球菌、口腔链球菌、轻链球菌、空气罗氏菌、齿状罗氏菌、粘膜奈瑟菌。

4 讨论

本研究采用培养组学方法分析了龋齿菌斑微生物，重点关注无龋学龄前儿童和同龄龋齿患者。对上述口腔样本的分析表明，鉴定并培养出了一些从未从口腔中分离出的细菌物种。这些物种包括丝孢

菌、环状念珠菌、嗜热蛋白酶产生菌和提莫链球菌。此外，其中一些物种此前从未与人类微生物群相关，包括丝孢菌、环状念珠菌和产嗜热蛋白酶菌。进一步，我们在健康学龄前儿童和 SECC 患儿的对比分析中发现，除了口腔链球菌（S.oralis）外，还分离

出了缓症链球菌(*S. mitis*)、血链球菌(*S. sanguinis*)、变形链球菌(*S. mutans*)、口腔放线菌(*A. oralis*)、内氏放线菌(*A. naeslundii*)、植物乳酸杆菌(*L. plantarum*)、粘液杆菌(*N. mucilaginosa*)等常见的口腔正常菌群。在健康个体中也分离出了 *Rothia aeria*。这种细菌于 2004 年在俄罗斯空间站首次分离并鉴定^[8]并于 2014 年在中国开展研究。近年来,中国人群口腔菌群与吸烟的关系、活动性龋齿儿童唾液菌群的性别差异、利用 HOMINGS 测序技术分析乳牙及早期混合牙期儿童龈上牙生物膜细菌特征等研究均被提及^[9-11]。干燥奈瑟菌和浅黄奈瑟菌均仅在正常儿童牙菌斑中分离。此外,在无龋儿童 2 的牙菌斑中也分离培养出细长奈瑟菌和口腔奈瑟菌。人类是奈瑟菌的天然宿主,上述分离的奈瑟菌菌株通常不具有致病性,且栖息于鼻咽黏膜。^[12]奈瑟菌和链球菌属在健康儿童中很常见。值得一提的是,从无龋儿童 2 的口腔菌斑中分离出的冠状链球菌被认为是一种有益的共生菌。已有研究证明,该菌通过影响 NF- κ B 来减弱具核梭杆菌诱导的细胞因子表达,并抑制牙龈卟啉单胞菌的致病性。^[13]硬粒棒状杆菌也是一种新近报道的口服益生菌^[14]。

我们重点研究了 SECC 患儿的口腔细菌组成。对于 SECC 患儿 1,常见的机会性病原体包括肺炎链球菌^[15],葡萄球菌^[16],热带念珠菌^[17]被分离出来。这些细菌往往在身体抵抗力下降的情况下繁殖,并引起急性症状。此外,从该儿童口腔菌斑中分离出的更有趣的菌种是 *Abiotrophia adiacens* 和 *Sporisorium reilianum*。前者与多种炎症性疾病有关,包括角膜炎、骨关节炎、骨髓炎、菌血症和感染性心内膜炎^[18-19]。有更多报道称,它与肺癌发展的风险密切相关^[20]。一项研究表明,这种细菌可以从正常口腔微生物群转变为急性牙髓感染^[21]后者,丝孢霉(*Sporisorium reilianum*),首次从口腔中分离培养,此前尚未见其与人类微生物相关的报道。它主要引起玉米丝黑穗病,丝黑穗病在土壤中越冬,并在种子发芽时侵入玉米根部,一旦进入顶端花器官的分生组织,便会引发病害症状。由于受害部位是花器官,因此易感植物呈颗粒状,不易被感染。它可通过载体土壤、种子等传播^[22]。

SECC 儿童 2 的细菌组成最为丰富,培养组学分析发现了两种以前从未从人类身上分离出来的细菌:嗜热蛋白酶产生细菌^[23], *Niallia circulans*^[24]此

外,梭菌^[25]也首次在口腔菌斑中分离培养。该患者分离出的致病性和机会性病原体主要包括粘液罗氏菌、齿状罗氏菌、中间链球菌、梭状芽胞杆菌、乳房链球菌。选择 *Rothia mucilaginosa*、链球菌属和小韦荣球菌作为所有模型中的重要区别特征已被记录为 ECC 风险的生物标志物^[26]中间链球菌是咽峡炎链球菌群的成员^[27]据报道,即使在免疫功能正常的宿主中,它也能引起脑膜炎、心内膜炎和脓肿^[28]已报道多例 *S. intermedius* 肝脓肿伴有活动性牙周感染的病例^[29]梭菌在口腔中罕见报道。该菌大多在严格厌氧条件下生长,其中大部分为腐生寄生菌,少数为致病菌。其分泌的外毒素和酶可导致人类和动物患病。^[30]最后,对于乳房链球菌,相关报道主要围绕牛乳腺炎,在人类中的报道很少^[31]。

需要强调的是,本研究存在一些局限性。研究对象数量可能是本研究的一个主要限制因素。本研究耗时较长,工作量也很大。事实上,尽管可培养技术可以对口腔微生物群进行深入而准确的描述性分析,但样本量较小不利于探究微生物与疾病之间关联的可能性,尤其对于 SECC 患儿而言,因为培养细菌的组成差异很大。我们将继续扩大样本量,以便后续得出更多结论。此外,本研究结果表明,培养组学是一种适用于口腔疾病个性化诊断和治疗的方法。宏基因组学和培养组学都应被视为识别新潜在病原体的策略。这项先导研究能够提供一些关于 SECC 患者与同龄健康儿童的微生物群复杂性的新信息。

参考文献

- [1] Li K, Wang J, Du N, Sun Y, Sun Q, Yin W, Li H, Meng L, Liu X. Salivary microbiome and metabolome analysis of severe early childhood caries. BMC Oral Health. 2023 Jan 19; 23(1):30.
- [2] Cvanova M, Ruzicka F, Kukletova M, Lipovy B, Gachova D, Izakovicova Holla L, Danek Z, Hola V, Bartosova M, Jarkovsky J, Dusek L, Borilova Linhartova P. Candida species and selected behavioral factors co-associated with severe early childhood caries: Case-control study. Front Cell Infect Microbiol. 2022 Jul 25; 12:943480.
- [3] Peng X, Cheng L, You Y, Tang C, Ren B, Li Y, Xu X, Zhou X. Oral microbiota in human systematic diseases. Int J Oral Sci. 2022 Mar 2; 14(1):14.

- [4] Pathak JL, Yan Y, Zhang Q, Wang L, Ge L. The role of oral microbiome in respiratory health and diseases. *Respir Med*. 2021 Aug-Sep; 185:106475.
- [5] Matar G, Bilen M. Culturomics, a potential approach paving the way toward bacteriotherapy. *Curr Opin Microbiol*. 2022 Oct; 69:102194.
- [6] Lagier JC, Dubourg G, Million M, Cadoret F, Bilen M, Fenollar F, Levasseur A, Rolain JM, Fournier PE, Raoult D. Culturing the human microbiota and culturomics. *Nat Rev Microbiol*. 2018 May 1; 16:540-550.
- [7] Hamad I, Ranque S, Azhar EI, Yasir M, Jiman-Fatani AA, Tissot-Dupont H, Raoult D, Bittar F. Culturomics and Amplicon-based Metagenomic Approaches for the Study of Fungal Population in Human Gut Microbiota. *Sci Rep*. 2017 Dec 1; 7(1):16788.
- [8] Li Y, Kawamura Y, Fujiwara N, Naka T, Liu H, Huang X, Kobayashi K, Ezaki T. *Rothia aeria* sp. nov., *Rhodococcus baikonurensis* sp. nov. and *Arthrobacter russicus* sp. nov., isolated from air in the Russian space laboratory Mir. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2004 May; 54(Pt 3):827-835.
- [9] Jia YJ, Liao Y, He YQ, Zheng MQ, Tong XT, Xue WQ, Zhang JB, Yuan LL, Zhang WL, Jia WH. Association Between Oral Microbiota and Cigarette Smoking in the Chinese Population. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021 May 28; 11:658203.
- [10] Ortiz S, Herrman E, Lyashenko C, Purcell A, Raslan K, Khor B, Snow M, Forsyth A, Choi D, Maier T, Machida CA. Sex-specific differences in the salivary microbiome of caries-active children. *J Oral Microbiol*. 2019 Aug 28; 11(1):1653124. doi: 10.1080/20002297.2019.1653124. PMID: 31497256; PMCID: PMC6720314.
- [11] Harris-Ricardo J, Fang L, Herrera-Herrera A, Fortich-Mesa N, Olier-Castillo D, Cavanzo-Rojas D, González-Quintero R. Bacterial profile of the supragingival dental biofilm in children with deciduous and early mixed dentition using next generation sequencing (HOMINGS) technique. *Enferm Infecc Microbiol Clin (Engl Ed)*. 2019 Aug-Sep; 37(7):448-453. English, Spanish.
- [12] Callaghan MM, Dillard JP. Mucus Is a Key Factor in *Neisseria meningitidis* Commensalism. *mSphere*. 2019 Dec. 4; 4(6): e00777-19.
- [13] Zhang G, Rudney JD. *Streptococcus cristatus* attenuates *Fusobacterium nucleatum*-induced cytokine expression by influencing pathways converging on nuclear factor- κ B. *Mol Oral Microbiol*. 2011 Apr; 26(2):150-63.
- [14] Treerat P, Redanz U, Redanz S, Giacaman RA, Merritt J, Kreth J. Synergism between *Corynebacterium* and *Streptococcus sanguinis* reveals new interactions between oral commensals. *ISME J*. 2020 May; 14(5):1154-1169.
- [15] Yesilkaya H, Oggioni MR, Andrew PW. *Streptococcus pneumoniae*: 'captain of the men of death' and financial burden. *Microbiology (Reading)*. 2022 Dec; 168(12).
- [16] Tabah A, Laupland KB. Update on *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *Curr Opin Crit Care*. 2022 Oct 1; 28(5):495-504.
- [17] Atencia-Carrera MB, Cabezas-Mera FS, Vizuete K, Debut A, Tejera E, Machado A. Evaluation of the biofilm life cycle between *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022 Aug 18; 12:953168.
- [18] Al-Lozi A, Cai S, Chen X, Perez VL, Venkateswaran N. *Granulicatella adiacens* as an Unusual Cause of Microbial Keratitis and Endophthalmitis: A Case Series and Literature Review. *Ocul Immunol Inflamm*. 2022 Jul; 30(5):1181-1185.
- [19] Padilla Bautista M, Farraís Villalba M, Hayek Peraza M. Atypical presentation of infective endocarditis due to *Granulicatella adiacens*. *Med Clin (Barc)*. 2022 Dec 20:S0025-7753(22)00589-9. English, Spanish.
- [20] Shirazi MSR, Al-Alo KZK, Al-Yasiri MH, Lateef ZM, Ghasemian A. Microbiome Dysbiosis and Predominant Bacterial Species as Human Cancer Biomarkers. *J Gastrointest Cancer*. 2020 Sep; 51(3):725-728.
- [21] Siqueira JF Jr, Rôças IN. *Catonella morbi* and *Granulicatella adiacens*: new species in endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006 Aug; 102(2):259-64.
- [22] Khan M, Djamei A. Performing Infection Assays of *Sporisorium reilianum* f. sp. *Zae* in Maize. *Methods Mol Biol*. 2022; 2494: 291-298.
- [23] Dai C, Hou Y, Xu H, Umego EC, Huang L, He R, Ma H.

- Identification of a thermophilic protease-producing strain and its application in solid-state fermentation of soybean meal. *J Sci Food Agric*. 2022 Apr; 102(6):2359-2370.
- [24] Thorat V, Kirdat K, Tiwarekar B, Dhanavade P, Karodi P, Shouche Y, Sathe S, Lodha T, Yadav A. *Paenibacillus albicereus* sp. nov. and *Niallia alba* sp. nov., isolated from digestive syrup. *Arch Microbiol*. 2022 Jan 8; 204(2):127.
- [25] Dürre P. Physiology and Sporulation in *Clostridium*. *Microbiol Spectr*. 2014 Aug; 2(4):TBS-0010-2012.
- [26] Grier A, Myers JA, O'Connor TG, Quivey RG, Gill SR, Kopycka-Kedzierawski DT. Oral Microbiota Composition Predicts Early Childhood Caries Onset. *J Dent Res*. 2021 Jun; 100(6):599-607.
- [27] Pilarczyk-Zurek M, Sitkiewicz I, Koziel J. The Clinical View on *Streptococcus anginosus* Group - Opportunistic Pathogens Coming Out of Hiding. *Front Microbiol*. 2022 Jul 8; 13:956677.
- [28] Issa E, Salloum T, Tokajian S. From Normal Flora to Brain Abscesses: A Review of *Streptococcus intermedius*. *Front Microbiol*. 2020 May 7; 11:826.
- [29] Tan DJA, Sng ECY, Ling XW. *Clostridium septicum* brain abscess. *BMJ Case Rep*. 2022 Nov 21; 15(11):e251719.
- [30] Fessia AS, Odierno LM. Potential factors involved in the early pathogenesis of *Streptococcus uberis* mastitis: a review. *Folia Microbiol (Praha)*. 2021 Aug; 66(4):509-523.

版权声明：©2025 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

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



OPEN ACCESS