

UNIVERZITA PARDUBICE

NÁZEV FAKULTY

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2024

Lenka Bohoňková

Univerzita Pardubice
Chemicko-technologická

Výskyt kapnofilních bakterií v dutině ústní
Bakalářská práce

2024

Lenka Bohoňková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Lenka Bohoňková**
Osobní číslo: **C20204**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Výskyt kapnofilních bakterií v dutině ústní**
Téma práce anglicky: **Capnophilic Bacteria in the Oral Cavity**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Charakterizujte kapnofilní bakterie.
2. Zaměřte se na druhy osídlující dutinu ústní člověka.
3. Specifikujte vhodnou laboratorní diagnostiku kapnofilních bakterií.
4. Charakterizujte možná onemocnění způsobená těmito bakteriemi.
5. Bakalářskou práci zpracujte v souladu se směrnici č. 7/2019 Univerzity Pardubice "Pravidla pro odevzdání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací".

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucí bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **RNDr. Markéta Vydržalová, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **22. prosince 2023**
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2024**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

LS.

doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 29. února 2024

Prohlašuji:

Práci s názvem Výskyt kapnofilních bakterií v dutině ústní jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 27.6.2024

Lenka Bohoňková

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala paní RNDr. Markétě Vydržalové, Ph.D. za všechny konzultace spojené s pomocí ohledně mé bakalářské práce.

ANOTACE

Teoretická část popisuje dutinu ústní, její části a mikroorganismy, které ji osídlují. Dále se práce zabývá onemocněním, které způsobují ústní bakterie, a především výčtem kapnofilních bakterií, které jsou součástí orální mikrobioty.

KLÍČOVÁ SLOVA

kapnofilní bakterie, dutina ústní, parodontitida, gingivitida

TITLE

Occurrence of capnophilic bacteria in the oral cavity

ANNOTATION

The theoretical part of the thesis describes the oral cavity, its parts and the microorganisms that inhabit it. In addition, there are diseases caused by oral bacteria, especially the list of capnophilic bacteria, which are part of the oral microbiota.

KEYWORDS

capnophilic bacteria, oral cavity, periodontitis, gingivitis

OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK.....	10
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK	12
TERMINOLOGIE	13
ÚVOD.....	14
1. Dutina ústní.....	15
1.1. Jazyk	16
1.2. Zuby.....	16
1.3. Slinné žlázy.....	19
2. Mikroflóra dutiny ústní.....	21
3. Kapnofilní bakterie	23
3.1. Rod <i>Capnocytophaga</i>	23
3.1.1. Charakteristika rodu.....	23
3.1.2. Stavba buněčné stěny.....	23
3.1.3. Onemocnění způsobená zástupci rodu <i>Capnocytophaga</i>	24
3.1.4. Citlivost na antibiotika rodu <i>Capnocytophaga</i>	24
3.1.5. Druhy rodu <i>Capnocytophaga</i>	24
3.2. Další kapnofilní mikroorganismy	27
4. Onemocnění dutiny ústní	32
4.1. Gingivitida	32
4.2. Parodontitida.....	33
4.3. Zubní kaz	35
4.4. Halitóza.....	35
4.5. Rakovina dutiny ústní	36
5. Laboratorní diagnostika	37
5.1. Polymerázová řetězová reakce.....	37
5.1.1. Real-time PCR (PCR v reálném čase)	38
5.1.2. PCR-RFLP	38
5.2. Sekvence 16 S rRNA	40

5.3.	MALDI-TOF	41
5.4.	Mikrobiologická diagnostika	41
5.4.1.	Grammovo barvení	42
5.4.2.	Kultivační průkaz.....	42
	ZÁVĚR	44
	POUŽITÁ LITERATURA	45
	SEZNAM PŘÍLOH.....	57

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1: Dutina ústní, převzato a upraveno dle: [5].	15
Obrázek 2: Popis zubu, převzato a upraveno: [10].	17
Obrázek 3 Morfologie bakteriálních buněk <i>C.gingivalis</i> z elektronového mikroskopu, převzato a upraveno: [116].	25
Obrázek 4: Buňka kmene Marseille-Q4570T) po 48 hodinách růstu na agaru Columbia s 5 % ovčí krve, převzato a upraveno: [42].	27
Obrázek 5: Kolonie <i>Eikenella corrodens</i> na krevním agaru, inkubováno při 37 °C, 48 hodin v 5 % CO ₂ , převzato a upraveno dle: [60].	28
Obrázek 6: Zánět dásní, převzato a upraveno dle: [83].	32
Obrázek 7: Porovnání stavu zubu u onemocnění parodontitidy, převzato a upraveno dle: [17].	34
Obrázek 8: Vývoj zubního kazu, převzato a upraveno dle: [94].	35
Obrázek 9: Princip PCR, převzato a upraveno dle: [99].	37
Obrázek 10: Elektroforéza vybraných druhů rodu <i>Capnocytophaga</i> na agarózovém gelu, převzato a upraveno: [103].	39
Obrázek 11: 16 S rRNA PCR-RFLP analýza druhů rodu <i>Capnocytophaga</i> , převzato a upraveno: [101].	40
Obrázek 12: Stručný popis diagnostiky pomocí MALDI, převzato a upraveno: [105].	41
Obrázek 13: <i>Capnocytophaga ochracea</i> po obarvení dle Gramma (A) a <i>C.ochracea</i> vykazující klouzavý pohyb na krevním agaru (B), převzato a upraveno dle: [112].	43

Tabulka 1: Citlivost kmenů <i>Capnocytophaga gingivalis</i> na antibiotika, převzato a upraveno dle: [46].	25
Tabulka 2: Onemocnění způsobená <i>Eikenella corrodens</i>, převzato a upraveno dle: [57].	29

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

HACEK = označení bakteriálních rodů patřících do jedné skupiny: Haemophilus, Aggregatibacter, Cardiobacterium, Eikenella, Kingella

PCR = polymerázová řetězová reakce

RFLP = polymorfismus délky restrikčních fragmentů

TERMINOLOGIE

Xerostomie = snížená vlhkost v ústech

Cancer oris (noma) = gangrenózní nemoc úst a obličeje, která způsobuje vředy a později i dochází k nekróze tkáně.

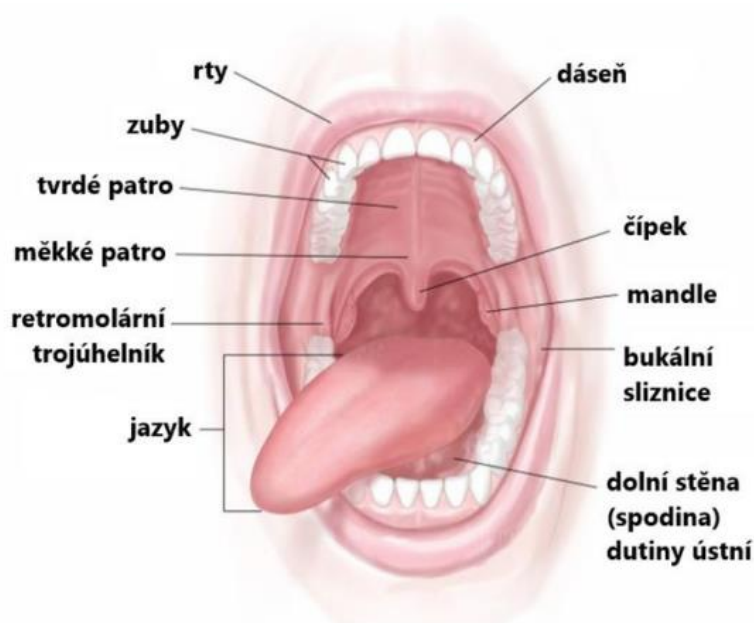
Amplikon = DNA produkt polymerázové řetězové reakce

ÚVOD

Dutinu ústní obývá rozsáhlý počet přirozeně se vyskytujících mikroorganismů nazývaný jako ústní mikrobiom. Jedná se převážně o skupinu pro člověka prospěšných bakterií, která chrání ústní dutinu před nepříznivými vlivy. Čím více těchto druhů bakterií žije v dutině ústní, tím lépe je chráněna. Při narušení fyziologické ústní mikroflóry tzv. dysbióze, dochází ke vzniku mnoha onemocnění. Prevencí proti vzniku dysbiózy může být pravidelná péče o ústní hygienu, pravidelné návštěvy zubních lékařů nebo nadstandardní využívání zubních doplňků. Pokud nebudeme dodržovat ústní hygienu, je téměř jisté, že onemocníme např. zubním kazem nebo zánětem dásní. Specifickou skupinou bakterií, která je v bakalářské práci probírána, je skupina kapnofilních bakterií. Kapnofilní bakterie jsou schopné růstu při 5-10 % CO₂ v atmosféře. V dutině ústní se vyskytuje převážně rod *Capnocytophaga*, který je z kapnofilních bakterií nejznámější. Jsou to gramnegativní fakultativně anaerobní bakterie a patří mezi obyvatelé přirozené mikrobiální flóry dutiny ústní lidí, koček nebo psů. Nejčastěji způsobují u lidí parodontitidu nebo systémová onemocnění.

1. Dutina ústní

Dutina ústní (cavitas oris) je počátečním oddílem trávicího traktu a z anatomického hlediska se skládá ze rtů, jazyka, patra a zubů [1]. Dochází v ní k přijetí potravy, která je dále chemicky a mechanicky zpracována a posunuta do jícnu. Mimo jiné dutina ústní výrazně přispívá k tvorbě řeči a k celkové komunikaci [2; 3]. Dělíme ji na předsíň (vestibulum oris) a vlastní dutinu ústní (cavum oris proprium) [4]. Předsíň dutiny ústní je známá jako štěrbina, která je ohraničená z vnější části rty a tvářemi a z vnitřní části zuby a dásněmi [3; 4]. Vlastní dutina ústní hraničí se zuby, měkkým a tvrdým patrem a spodinou ústní [4]. Součástí spodiny ústní je svalová přepážka (musculus mylohyoideus) pokryta v horní části nadjazyčkovým svalem (musculus geniohyoideus). Další částí dutiny ústní je patro (palatum), které vytváří stropní oddíl dutiny ústní a tvoří oddělující panel mezi dutinou ústní a dutinou nosní. Dále patro členíme na tvrdé patro (palatum durum) kostěného původu a měkké patro (palatum molle) obsahující vazivovou ploténku s upínajícími svaly [3].



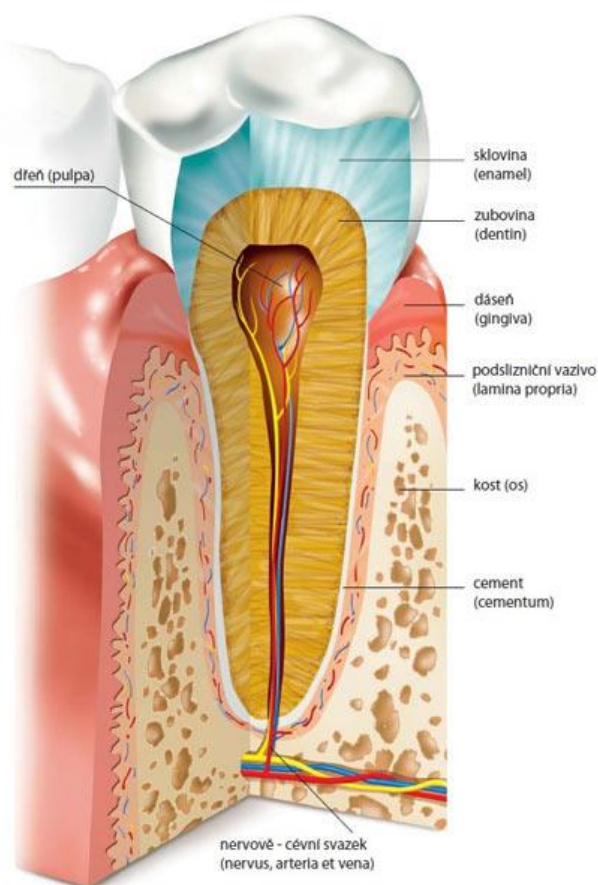
Obrázek 1: Dutina ústní, převzato a upraveno dle: [5].

1.1.Jazyk

Jazyk (lingua) je svalový pohyblivý orgán, díky kterému dochází při změně tvaru a velikosti k posunu potravy nebo k významným řečovým funkcím [6]. Nachází se na spodině dutiny ústní, kde na jeho povrchu vidíme sliznici, ve které jsou uloženy receptory na chuť a hmat [6; 7]. Jazyk obsahuje mnoho svalů, kterými spojuje okolní úseky jako jsou dolní čelist, jazyk, bodcovitý výběžek (processus styloideus), měkké patro a stěnu hltanu. Mezi hlavní části jazyka patří kořen (radix linguae), tělo jazyka (corpus linguae), hrot jazyka (apex linguae) a hřbet jazyka (dorsum linguae). Na jeho povrchu nalezneme mnohvrstevný dlaždicový epitel [7]. V místech hřbetu a hrotu jazyka jsou výběžky, tzv. papily jazyka (papillae linguales) [7; 8]. Papily slouží jako chuťové pohárky jazyka a dělíme je na papily mechanické (*papillae mechanicae*) a chuťové (papillae gustatoriae) [1; 2]. Mechanické papily slouží k vnímání bolesti a hmatových podnětů a řadíme k nim papily nitkové (papillae filiformes). Součástí chuťových papil jsou chuťové pohárky (caliculi gustatorii) a patří sem papily houbovitě (papillae fungiformes), listovité (papillae foliatae) a hrazené (papillae vallatae) [2].

1.2.Zuby

Zuby (dentes) vznikají z ektodermu a ektomezenchymu. Jejich hlavní funkcí je uchopování, dělení a rozměňování potravy [7]. V dutině ústní jsou uspořádány do horního a dolního zubního oblouku (arcus dentalis superior et inferior), kde horní zubní oblouk překrývá ten dolní [4; 9]. K upravení potravy pomocí zubů přispívají tvary hran, valů a jamek podélných a příčných rýh na ploškách zubů [9; 7]. Z hlediska morfologické stránky můžeme na zubech rozpoznat zubní korunku (corona dentis), krček zubu (collum dentis), kořen zubu (radix dentis) a dřeňovou dutinu zubu (cavitas dentis). Součástí dřeňové dutiny jsou cévy, nervová vlákna a zubní dřeň (pulpa dentis). Obsah zubu tvoří zubovina neboli dentin (substantia eburnea), sklovina, enamelum (substantia adamantina) a zubní cement (substantia ossea). Soubor cement-periodontální membrána-kost stěny zubního lůžka-okrajová část gingivy je nazývána v klinické praxi jako parodont [7].



Obrázek 2: Popis zuby, převzato a upraveno dle: [10].

Lidský chrup obsahuje zuby dočasné (dentes decidui) neboli mléčné (dentes lactei): v polovině dolního i horního patra jsou 2 řezáky (dentes incisivi), 2 stoličky (dentes molares) a 1 špičák (dentes canini); a zuby stálé (dentes permanentes): každou polovinu horního a dolního patra tvoří 2 řezáky, 2 zuby třenové (dentes premolares), 3 stoličky a 1 špičák [11]. V trvalém chrupu najdeme celkem 32 zubů a v mléčném chrupu pouze 20 zubů. Podle počátečních latinských názvů zubů jsou zuby pojmenovány (I, C, P, M) [6].

Zubovina (dentin) tvoří hlavní složku zuby s až 70 % podílem anorganických látek, díky kterým je pružná a zároveň má tvrdší povahu nežli kost. Naopak organických látek v zubovině je pouze 20 % [7]. Zubovina také disponuje citlivostí na změny teplot a tlaku nebo může ovlivňovat počáteční tvarování zuby [6]. Odontoblasty se podílí na vzniku základní složky dentinu, jejíž obsah je složen z kolagenu a proteoglykanů. Při naléhání odontoblastů na zubovinu z vnitřní části dřevné dutiny, dochází k vysílání výběžků do dentinu [7]. Tyto cytoplasmatické výběžky nazýváme Tomesova vlákna, kolem kterých vznikají kanálky dentinu a vlákna v kanálcích dentinu se přibližují až k dentinu na korunce (dotýkající se skloviny) a na kořenu (sousedící s cementem) [7; 12]. V organické složce dentinu se nachází kolagenní vlákna

a mukopolysacharidy [12]. S mineralizací základní hmoty je hlavně spojován hydroxyapatit [7]. Zubovina se člení na 3 typy: primární dentin vzniká do doby završení vývinu zubu, sekundární dentin zmenšuje obsah hlavně v rozích dřeňové dutiny, terciární dentin se vytváří v oblasti dráždění pulpy [9].

Sklovinu (enamelum) označujeme jako nejtvrďší tkáň v celém lidském těle s nejvyšším stupněm mineralizace [13]. Vytváří izolační bariéru, která zub chrání před fyzikálními nebo chemickými vlivy [14]. Na jejím povrchu najdeme 1-2 μm silnou blanku, cuticula dentis, která nemá zvápenatělý povrch sklovinné hmoty. Součástí skloviny jsou minerální látky, které zaujímají 96-97 %, organické látky 1,0-1,7 % a zbytek hmoty je voda [7]. Sklovina vzniká při procesu zvaném amelogeneze [14]. Základ hmoty skloviny tvoří proteiny bez kolagenu a mezi hlavní z nich se řadí amelogeniny a enameliny. Sklovinu můžeme rozdělit na dva sloupce pojmenované prismata enameli a sklovinová prismata. Prismata jsou vzájemně propojena základní hmotou skloviny a vyvíjí se od hranice dentinu a skloviny až k povrchu skloviny [15].

Cement (cementum) je tvrdá pojivová tkáň, která je spojena pomocí kolagenních vláken k povrchu dentinu. Obsah zubního cementu je tvořen 46 až 50 % minerálních látek a kryje krček a kořen zubu [7]. Hydroxyapatit je obsažen ve velké části anorganické hmoty cementu [16]. V oblasti krčku najdeme velice tenkou (20–30 μm) vrstvu cementu, a proto podráždění krčku může zasáhnout nervy dentinu. Kořeny zubů pokrývá robustní vrstva (1–2 mm) cementu [15].

Dřeň zubní (pulpa dentis) je měkká tkáň skládající se z řídkého vaziva, kde jsou uloženy nervy a cévy, mízní i krevní. Zubní dřeň plní kanálek zubu u kořene i dřeňovou dutinu korunky [13; 7]. Zmíněné cévy a nervy zubu vstupují a vycházejí hrotovým otvorem. Kolem dřeně se nachází vrstva odontoblastů. S přibývajícím věkem se kvůli tvorbě sekundárního dentinu dřeňová dutina zmenšuje a postupně je zbavena buněk i cév [7]. Případný průnik zubního kazu nebo otevření dřeňové dutiny by mohl způsobit vznik infekce nebo zánětu, který by znamenal zánik dřeně [13].

Parodontium (periodontium, ozubice, periodontální membrána) je skupinové označení pro vrstvu vazivové tkáně obklopující kořen zubu, který je zároveň upevněn v alveolární části zubní čelisti. Ozubice představuje periost, dáseň, alveolus, cement a závěsný vazivový aparát [17; 13]. Výplň štěrbin mezi stěnou zubu a kořenem označujeme jako periodont. Tato štěrbina vytváří oblast kolem kořenového hrotu nazývanou jako periapikální prostor a má intraalveolární charakter [13]. Periodontální vlákna zajišťují upevnění zubu v alveolární kosti a také rozděluje prostředí kořene zubu od dutiny ústní [18]. Parodont se vyvíjí po dobu života zubu a při vyšším

věku zubu dochází k postupnému ubývání parodontu nebo dokonce ke ztrátě celého zubu. Senzitivní i senzoricou funkci peridontia zajišťují nervová zakončení s velmi velkou citlivostí na změnu napětí vláken v peridontiu nebo reakce na bolestivé vjemy kvůli přeháněnému tlaku na zub [13].

Zubní dásně (gingiva) je vystlána epiteliální a pojivovou tkání a připojena na zuby, které obklopuje [9]. Gingiva se zabarvuje do světlé barvy a pokrývá alveolární výběžky čelistí a mezizubní septa [7; 9]. V úseku orální a vestibulární plochy je uzavírána mukogingivální mezí, kde najdeme přechod do ústní sliznice [9]. Dásně se skládá ze čtyř částí, margo gingivalis, sulcus gingivalis, gingivodentální uzávěr a papillae gingivales. Margo gingivalis je vyvýšený okraj dásně kolem zubu a mezi nímž a povrchem zubu se nachází prohlubeň (sulcus gingivalis). Gingivodentální uzávěr chrání před vniknutím infekce do pojiva okolo krčku a kořene zubu. Mezizubní prostor v oblasti krčků je vyvýšen ve formě papil (papillae gingivales), které tvoří mezi zuby výběžky dásní, přední a zadní cípy [7].

Zdravá gingiva se barví do bledé až růžovobílé barvy, představuje velmi pevnou strukturu a nemá sklony ke krvácení [18]. Na povrchu gingivy nacházíme po osušení obvyklé dolíčky (stippling). Přirozeně na okraji volné gingivy vystylá krček zubů a interdentální papila prostor mezi zuby [9].

1.3.Slinné žlázy

Slinné žlázy úst (glandulae oris) jsou početné žlázy s vývody vedoucí do dutiny ústní, jejichž produktem je slina (saliva) [11]. Za den jsou schopné vyprodukovat až 1,5 l slin [4]. Slina je řídké (serózní) nebo hlenovité (mucinózní) povahy. Serózní složka se skládá z enzymu štěpící škroby, naopak mucinózní složka se stará o sousto, aby mělo hladký povrch kvůli lepšímu polknutí. Látky ve slinách se podílí na udržování neutrálního pH, které může škodlivým bakteriím zabraňovat v růstu [2; 11]. Slinné žlázy dělíme na malé slinné žlázy (glandulae salivariae minores) a velké slinné žlázy (glandulae salivariae majores). Mezi velké slinné žlázy zařazujeme žlázu příušní (glandula parotis), žlázu podčelistní (glandula submandibularis), žlázu podjazykovou (glandula sublingualis) [11].

Ústní sliznice

Ústní sliznice je tvořena vrstevnatým dlaždicovým epitelem a vyplňuje vnitřní část úst [1]. Její významnou funkcí je zajištění ochrany tkání před chemickými a mechanickými vlivy [19]. Mezi faktory patologických stavů ústní sliznice se řadí přítomnost slin, bohaté cévní zásoben

nebo přítomnost ústní mikrobiální flóry. Důležitá je i struktura povrchu jazyka, která dává prostor k rozmnožení ústní mikroflóry nebo k tvorbě nové vrchní vrstvy jazyka během nemoci [9].

Normální sliznice dutiny ústní

Normální sliznice dutiny ústní je definována značnými faktory, které ji charakterizují, a to jsou barva, vlhkost, tloušťka sliznice a její povrch. Barva sliznice bývá bledě růžová. Světlejší barva sliznice značí místa s nedostatkem submukózního vaziva, oproti tomu zčervenání sliznice probíhá u zánětů. Ústní sliznice by měla disponovat přiměřenou vlhkostí. Při nedostatku pitného režimu člověka může nastat xerostomie. Dalším faktorem sliznice bývá její tloušťka. V momentě chronického dráždění dochází k zesílení sliznice (hyperplazii) naopak při onemocnění spojené s karencí sliznice zeslabuje svou tloušťku. Povrch slizniční dutiny ústní je přirozeně lesklý, hladký a průsvitný. Naopak u hyperkeratóz najdeme povrch drsný až hrbolatý s obsahem zrníček (u papilomatózy) [9].

2. Mikroflóra dutiny ústní

V lidské ústní mikrobiální floře žije přes 700 druhů bakterií podle dat o sekvenci genu 16 S rRNA, které vytváří ústní mikrobiom [20; 21]. Ovšem velká část ústních bakterií se dodnes nekultivovala in vitro a o jejich výskytu se můžeme přesvědčit jen díky molekulárním znakům. Bakterie dutiny ústní jsou příčinou mnoha nemocí jako jsou zubní kaz, paradentóza, periimplantitida nebo endodontické infekce. K dalším onemocněním způsobeným ústními bakteriemi patří onemocnění koronárních tepen, respirační infekce, cerebrovaskulární onemocnění nebo revmatoidní artritida. Ústní bakterie mají důležitou roli v potlačení patogenních bakterií [20]. Ústní mikrobiota se stará o rovnovážný chod dutiny ústní. Pokud je chod narušen, dochází k jevu označovanému jako dysbióza, který má důležitou roli při vzniku onemocnění parodontu [21; 20]. Mezi přední kmeny, které mohou způsobovat destruktivní periodontální nemoci patří *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* a *Porphyromona intermedia* [22].

Prevotella intermedia patří ke gramnegativním anaerobním mikroorganismům, které jsou součástí biofilmu subgingiválního plaku a spolu s *P. gingivalis* způsobuje parodontitidu [23].

Streptococcus je rod grampozitivních fakultativně anaerobních bakterií [24]. Streptokoky se mohou nacházet kdekoli na těle, ale hlavně v dutině ústní a v horních cestách dýchacích. Rod *Streptococcus* je řazen do osmi skupin: *mitis*, *sanguini*, *anginosus*, *salivarius*, *downei*, *mutans*, *pyogenis* a *bovis*. Orální streptokoky zahrnujeme do skupiny viridujících streptokoků (*Streptococcus viridans*) a patří sem všechny streptokoky kromě skupiny *bovis* a *pyogenis* [25].

Streptococcus mitis obývá mikrobiální flóru dutiny ústní. Mezi nemoci, které tento druh může způsobit, se řadí infekční endokartitida nebo peritonitida [26].

Streptococcus anginosus group je skupina tří streptokoků a tím jsou *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus constellatus* a *Streptococcus intermedius*. Zástupce najdeme v oblasti úst [27].

Streptococcus salivarius obývá povrch lidské ústní sliznice. *S. salivarius* K12 byl izolován z dětských slin v roce 1989 a stal se prvním vzniklým probiotikem za účelem komerce. V současnosti se mezinárodně používá ve žvýkačkách nebo ústních vodách pro bionickou ochranu před infekcemi v ústech. Díky své schopnosti vázat se na povrch sliznice a vytvářet biofilm pomáhá udržovat stabilní a prospěšné druhy ústní mikrobioty, čímž předchází přilnutí patogenních mikrobů [28].

Streptococcus mutans patří k acidorezistentním druhům a je zodpovědný za tvorbu zubního kazu. Na povrchu zubu vytváří *S. mutans* biofilm v kyselém prostředí a dochází k demineralizaci zubu. Dále podporuje shromažďování a adhezi mikroorganismů k zubům, které jsou pokryty slinami [29].

Fusobacterium je rod gramnegativních nepohyblivých anaerobních bakterií. Zástupci tohoto rodu se vyskytují u pacientů s tonzilitidou, zubní sepsí nebo paratonzilárními abscesy. Nejčastějším druhem v zubním plaku je *F. nucleatum*, který je členěn do 5 poddruhů: *F. nucleatum*, *F. polymorphum*, *F. animalis*, *F. vincentii* a *F. fusiforme* [30].

Treponema denticola patří k obligátně anaerobním pohyblivým bakteriím dáváním do souvislosti s parodontitidou [31].

Zástupci rodu *Veillonella* jsou gramnegativní anaerobní koky se schopností fermentace laktózy. V dutině ústní najdeme druhy *V. parvula*, *V. atypic* a *V. dispar*. *V. parvula* je schopna konzumovat kyselinu mléčnou a zabraňovat efektivně jejímu hromadění v ústech [24].

Rod *Neisseria* patří ke gramnegativním bakteriím a 10 % z nich obývá prostory jazyka. Druhy jako jsou *N. cinerea*, *N. polysaccharea*, *N. lactamica* a *N. sicca* se řadí k původcům orálních onemocnění jen zřídka [25; 24].

3. Kapnofilní bakterie

Kapnofilní bakterie potřebují k růstu 5-10 % CO₂ v atmosféře. Bakterie, které nemají karbonickou anhydrázu, jsou závislé na vysoké koncentraci oxidu uhličitého a nemohou být kultivovány za klasických atmosférických podmínek [32].

3.1. Rod *Capnocytophaga*

Capnocytophaga je jeden z gramnegativních kapnofilních rodů s fakultativně anaerobními vlastnostmi patřící do čeledi *Flavobacteriaceae* [33]. Tento bakteriální rod popsal jako první americký mikrobiolog Leadbetter a patří k normální mikrobiální flóře dutiny ústní lidí, koček nebo psů [33; 34]. Pojmenování rodu pochází z řeckého capnos (kouř) v překladu oxid uhličitý [35]. V současné době registrujeme osm druhů rodu *Capnocytophaga* u lidí: *C. gingivalis*, *C. granulosa*, *C. haemolytica*, *C. leadbetteri*, *C. ochracea*, *C. sputigena*, *C. periodontitidis* a *C. genospecies AHN8471* a 4 druhy u koček a psů: *C. canimorsus*, *C. canis*, *C. felis* a *C. cynodegmi* [33; 36]. *Capnocytophaga* u lidí je často spojována s parodontitidou nebo se systémovými onemocněními. Ostatní druhy se objevují po psím nebo kočičím kousnutí. Nejčastěji jsou izolovány z ústní mikroflóry druhy *C. ochracea* a *C. sputigena* [37].

3.1.1. Charakteristika rodu

Kapnofágové se pohybují klouzáním bez pomoci bičíku a jejich zdrojem energie je protonová hnací síla. Svůj pohyb využívají k přechodu přes membrány, k invazi do hostitelské buňky nebo výstupu z ní [38]. Zvířecí druhy *Capnocytophaga* se od humánních odlišují pozitivní reakcí na oxidázu a katalázu [39]. Pod mikroskopem tvoří kapnofágové jemné, vřetenovité a pleumorfnní tvary. Jsou zaznamenávány jako bakterie s náročným růstem [40]. Kolonie *Capnocytophaga* je možné identifikovat po 2 až 4 dnech nebo i déle na některých médiích, například na krevním agaru. Zástupci tohoto rodu fermentují všechny sacharidy s výjimkou xylózy a mannitolu. Druhy *Capnocytophaga* rozeznáváme s pomocí hybridizace DNA, MALDI-TOF spektrometrie nebo analýzou 16 S rRNA [39]. *Capnocytophaga* spp. spadá do skupiny HACEK, která způsobuje u lidí vyšší riziko vzniku onemocnění parodontitidy [38].

3.1.2. Stavba buněčné stěny

Kapnocytofágy se řadí mezi gramnegativní bakterie, jak už bylo popsáno výše. Bakteriální stěna gramnegativních bakterií je oproti grampozitivním bakteriím tenčí a měří asi 15 nm. Tvoří ji zevní membrána a pod ní uložený peptidoglykan, který je tenký a obsahuje kyselinu diaminopimelovou. Nad cytoplazmatickou membránou je tzv. periplasmatický prostor, který

obsahuje peptidoglykan [41]. Při studii Godchaux a Leadbetter v roce 2013 zjistili, že sulfonolipidy nazývané kapniny jsou součástí buněčného obalu u klouzavých bakterií [38].

Zevní membrána je složena z lipopolysacharidů, proteinů a dvojité vrstvy fosfolipidů, v kterých se nachází bílkoviny tvořící kanálky tzv. poriny, které transportují živiny do periplasmatického prostoru. Některá barviva, antibiotika nebo soli žlučových kyselin jsou pro zevní membránu nepropustné [41].

Periplasmatický prostor je tvořen bílkovinami, které jsou použity jako enzymy ke štěpení nebo transportu živiny. Některé enzymy mohou díky své schopnosti inaktivovat antibiotika např. u beta-laktamasy [41].

3.1.3. Onemocnění způsobená zástupci rodu *Capnocytophaga*

Zástupci rodu *Capnocytophaga* mohou způsobit infekce jako těžké sepse, infekci krevního řečiště a osteomyelitidu. Představitelé rodu *Capnocytophaga* jsou označováni také za parodontální patogeny nejvíce u gingivitidy a parodontitidy. Rod *Capnocytophaga* je úzce spojen s vývojem rakoviny dutiny ústní. *C.gingivalis* koreluje s orálním spinocelulárním karcinomem (OSCC) a je označován jako diagnostický marker této nemoci [42].

3.1.4. Citlivost na antibiotika rodu *Capnocytophaga*

Rod *Capnocytophaga* se výrazně podílí na beta-laktamové rezistenci [37]. S využitím techniky MALDI-TOF MS bylo možné detekovat několik karbapenemáz a beta-laktamáz s rozšířeným spektrem (ESBL). V ústní dutině se zvyšuje prevalence beta-laktamázy na základě vysoké prevalence *cfxA* pozitivních PCR kmenů a kvůli ní dochází k cefalosporinové rezistenci třetí generace u rodu *Capnocytophaga*. Odolnost vůči cefalosporinům třetí generace zajišťuje gen *cfxA* [43]. Jsou citlivé na klindamycin, makrolidy nebo tetracykliny [40].

Faktory virulence rodu *Capnocytophaga*

U druhů *C.gingivalis*, *C. ochracea* a *C.sputigena* se setkáme s faktory virulence epiteliotoxin, faktor inhibitoru fibroblastů a jejich schopnost degradovat imunoglobuliny A a G [44].

3.1.5. Druhy rodu *Capnocytophaga*

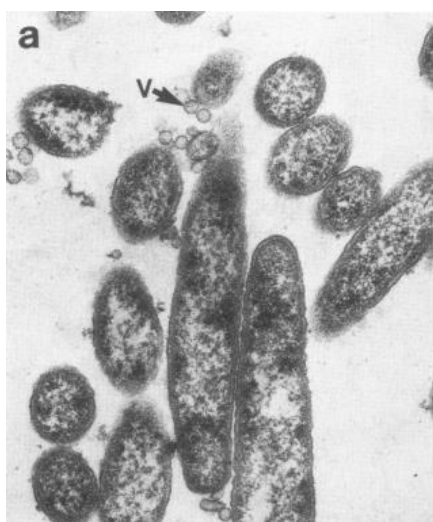
Capnocytophaga gingivalis

Capnocytophaga gingivalis je kapnofilní, fusiformní bakterie, která je schopna kolonizovat na povrchu kořene zubu. Jedná se o sacharolytickou bakterii, která se projevuje zvýšenou biomasou a proteolytickým potenciálem v prostředí se zvýšeným množstvím glukózy [45].

Tato bakterie se objevuje jako zdroj infekce u imunokompetentních pacientů jen minimálně [46]. Mimo jiné se *C.gingivalis* spolu s *F.nucleatum* podílí na ústní dysbióze a orálním karcinomu [45]. U *C. gingivalis* byla prokázána citlivost na antibiotika viz. Tabulka 1 [46] na ampicilin-sulbaktam, metronidazol a meropenem, a naopak rezistence se potvrdila u klindamycinu a penicilinu [47].

Tabulka 1: Citlivost kmenů *Capnocytophaga gingivalis* na antibiotika, převzato a upraveno dle: [46].

Izolovaný mikroorganismus: <i>Capnocytophaga gingivalis</i>		
Antibiotika	MIC($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Výsledek
ampicilin/sulbaktam	0,094	citlivý
klindamycin	>256	rezistentní
meropenem	0,032	citlivý
metronidazol	8	citlivý
penicilin	2	rezistentní



Obrázek 3 Morfologie bakteriálních buněk *C.gingivalis* z elektronového mikroskopu, převzato a upraveno dle: [118].

Capnocytophaga ochracea

Capnocytophaga ochracea je gramnegativní bakterie, která se pohybuje klouzavým pohybem kvůli chybějícímu pohybovému aparátu. Název ochracea překládáme jako žluté zbarvení, které můžeme pozorovat díky pigmentovaným buňkám. Mimo jiné tento druh je kataláza a oxidáza negativní. *C. ochracea* má imunopresivní vlastnosti, díky kterým potlačuje funkce imunitního systému. Fermentace glukózy, maltózy nebo sacharózy patří k vlastnostem tohoto druhu, který roste při teplotě 37 °C [48]. *C.ochracea* je původcem ulcerace ústní sliznice, která je často vyvolaná po chemoterapii rakoviny. Dále může způsobovat i invazivní infekci při neutropenii [39]. *C. ochracea* se může vyskytovat u lidí s parodontálním onemocněním [49]. Následující studie autora Vasileva z roku 2023 poukázala na nukleázu CoCas9 z *C.ochracea*

dekódující nový řetězec 5'-NRRWC-3' PAM a štěpící DNA in vitro. Informace o nukleáze Ccas9 jsou využitelné pro budoucí zkoumání *C. ochracea* v genovém inženýrství díky jejímu endogennímu systému CRISPR-Cas [50].

Capnocytophaga haemolytica

Capnocytophaga haemolytica je gramnegativní bakterie v dutině ústní, objevující se hlavně ve spojitosti s onemocněním parodontu [35]. Podle analýzy DNA-DNA bylo prokázáno, že *C. haemolytica* a *C. granulosa* jsou si navzájem a k ostatním druhům příbuzné z méně než 20 %. *C. haemolytica* není schopná aktivovat aminopeptidázu, naopak je pro ni charakteristická hemolytická aktivita [51].

Capnocytophaga granulosa

C. granulosa jsou tenké gramnegativní tyčinky obsahující zrnité inkluze, které vidíme při obarvení bazickým fuchsinem. Lze je pozorovat v bujónu GAM při 37 °C v anaerobním prostředí za 5–7 dní. Na TBBP agaru vyrostou ploché šedé kolonie zbarvené do šedé až fialové s nerovnými okraji bez hemolýzy po 5 až 7 dnech. Sledujeme je i na Trypton-sójovém agaru ve žlutém zbarvení kolonií [51].

Ve studii autora M. Ciantar z roku 2001 byly společně izolovány *C. granulosa* a *C. haemolytica* z subgingiviálního plaku 29 pacientů s chronickou parodontitidou. Vzorky byly naneseny na Fastidious Anaerobe Agar a inkubovány anaerobně. Po 5 dnech byla nutná další kultivace na stejném agaru s přidáním 5 % CO₂ při 37 °C na následující 3 dny. Po obarvení podle Grama bylo zjištěno, že se jedná o gramnegativní tyčinky s vřetenovitými konci s typickým klouzavým pohybem. Pro stanovení bakterií byla dále použita metoda PCR. Studie prokázala, že *C. granulosa* a *C. haemolytica* byly nalezeny u 16 z 29 (55 %) pacientů [44]. U *C. granulosa* a *C. haemolytica* je vhodné pro zlepšení identifikace použití extrakce kyselinou mravenčí [52].

Capnocytophaga leadbetteri

C. leadbetteri je jedna z gramnegativních tyčinek o průměru kolonií 1-2 mm, která na agaru vyrůstá v béžových nebo růžových koloniích. Tento druh byl testován na indol, dále na beta-hemolýzu na krevním agaru, glykogen nebo hydrolýzu močoviny a výsledky byly negativní [34]. Infekce způsobená *C. leadbetteri* může přispívat k riziku vzniku onemocnění u pacientů s imunodeficiencí jako např. u infekce HIV [53].

Capnocytophaga sputigena

Capnocytophaga sputigena patří k pomalu rostoucím, kapnofilním bakteriím vyskytující se v orofaryngeální oblasti a způsobuje periodontální onemocnění nebo bakterémie [54]. *C.sputigena* způsobuje infekce v dutině ústní u imunokompromitovaných pacientů, zejména u dětí [55]. Nejběžněji je izolován z parodontálních kapes nebo periodontálních abscesů, kde žije mnoho dalších bakterií způsobující toto onemocnění.

Studie Angéline Antezack a Manon Boxberger z roku 2021 charakterizuje vznik nového izolovaného druhu ze vzorku zubního plaku u chlapců se zánětem dásní. Zjistilo se, že kmen Marseille-Q4570T je gramnegativní bakterie s podlouhlou kulatou špičkou rostoucí při 25–56 °C v rozmezí tolerovaného pH 5,5 – 8,5 a obsahem NaCl 5-15 g/l. Díky analýze podobnosti na principu 16 S rDNA bylo zaznamenáno, že kmen Marseille-Q4570T je příbuzný s kmenem *Capnocytophaga leadbetteri* AHN8855T v 97,24 %. Dalším parametrem byly hodnoty ortologní průměrné nukleotidové identity a digitální DNA–DNA hybridizace, které byly mezi těmito kmeny 76,81 % a 25,6 %. Na základě těchto hodnot vznikl nový druh rodu *Capnocytophaga* s názvem *Capnocytophaga bilanii* sp.nov [42].



Obrázek 4: Buňka kmene Marseille-Q4570T) po 48 hodinách růstu na agaru Columbia s 5 % ovčí krve, převzato a upraveno dle: [42].

3.2.Další kapnofilní mikroorganismy

Eikenella corrodens

Eikenella corrodens je součástí mikroflóry dutiny ústní čeledi *Neisseriaceae*, rodu *Eikenella* a patří do skupiny HACEK [56]. *E.corrodens* se řadí mezi obyvatelé normální flóry úst, horních

cest dýchacích, gastrointestinálního nebo urogenitálního traktu [57]. V roce 1958 byla popsána mikrobiologem Eikenem a byla původně zařazena do rodu *Bacteroides*. Později bylo zjištěno, že obsahuje jiné procento guanin-cytosinu než rod *Bacteroides*, a že žije aerobně v kultivačních médiích s heminem. Na základě těchto zjištěných informací byla tato bakterie přejmenována na nynější název *Eikenella corrodens* [56]. Jedná se o fakultativně anaerobní kapnofilní gramnegativní tyčinku, kterou najdeme v místě infekce lidského kousnutí. *E. corrodens* občas může způsobovat infekci krevního řečiště nebo orbitální infekce [58]. Tento kmen je schopen narůst i v aerobním prostředí, pokud do půdy přidáme krev nebo hemin. *E. corrodens* inkubujeme v atmosféře 5 % CO₂ [59]. Tato bakterie je citlivá na cefalosporiny 3. generace nebo karbapenemy [57].



Obrázek 5: Kolonie *Eikenella corrodens* na krevním agaru, inkubováno při 37 °C, 48 hodin v 5 % CO₂, převzato a upraveno dle: [60].

Mezi lety 2013-2019 způsobila *E. corrodens* řadu infekcí. Ve studii jsou podrobně popsány 3 případy z 58 zkoumaných. Dvě ze tří zkoumaných dětí měly abscesy štítné žlázy a jedno mělo subperiostální orbitální absces. Místa vzniku infekce se lišila a řada pacientů měla i další onemocnění viz. Tabulka 2 [57].

Tabulka 2: Onemocnění způsobená *Eikenella corrodens*, převzato a upraveno dle: [57].

Výskyt <i>Eikenella corrodens</i>	
Diagnóza	Počet pozitivních vzorků
mozkový/epidurální absces	19%
akutní hnisavá tyreoiditida/absces štítné žlázy	17,20%
Orbitální celulitida/periorbitální absces	12,10%
Sinusitida	12,10%
Tonsilitida/peritonsilární absces	12,10%
Cholesteatom/Akutní zánět středního ucha	10,30%
Osteomyelitida	8,60%
Septická flebitida levé vnitřní jugulární žíly	5,20%
Infekce moláru	3,40%
Subgaleální absces	3,40%
Infekce v místě chirurgického zákroku	3,40%
Slušní pištěl	1,70%
Endoftalmitida	1,70%
Infikované lidské kousnutí na čele	1,70%
Absces krku	1,70%
Novorozenecká konjunktivitida	1,70%
Parotitida	1,70%
Pterygoidní absces	1,70%
Retrofaryngeální absces	1,70%
Trombóza septického kavernózního sinu	1,70%

Nejčastějším příznakem infekce byla horečka u 66 % osob nebo bolest u 59,6 % osob. Koinfekce jinými bakteriemi, než je *E. corrodens* se našla u 74,1 % případů a jedná se hlavně o skupinu viridujících streptokoků z 60,5 %. Mezi nejčastěji předepsaná antibiotika byla zařazena z 37,5 % penicilin a 25 % klindamycin. Nebylo hlášeno žádné úmrtí a kompletní zotavení bez trvalých následků bylo zřejmé u 67,6 % případů [57].

Aggregatibacter aphrophilus

Aggregatibacter aphrophilus je gramnegativní, kapnofilní, nepohyblivá bakterie s vlastnostmi oxidáza a kataláza-negativní. Byla izolována ze zubního plaku a gingivální kapsy. *A. aphrophilus* způsobuje také onemocnění jako je mozkový absces, empyém nebo meningitidu [61]. Průkaz tohoto mikroorganismu kultivací je velmi náročný, proto je vhodnou volbou sekvenování genu 16 S rRNA nebo hmotnostní spektrometrie. Po ošetření zubním lékařem mohou nastat komplikace spojené s infekcí jako např. při infekční endokartitidě. *A. aphrophilus* je považován za komenzála dutiny ústní [62].

Aggregatibacter actinomycetemcomitans je gramnegativní, kapnofilní, fakultativní kokobacil mající mnoho faktorů virulence, které zjednoduší osídlení a proniknutí do tkáně parodontu [22]. V orální mikrobiomu je jediným mikroorganismem, mezi jehož faktory virulence patří leukotoxin a cytoletální distendující toxin [63]. *A. actinomycetemcomitans* je zodpovědný za gingivitidu a poškození periodontálního vazů a jeho typickou vlastností je pomalý růst na hemokultuře [64]. Může se objevovat i u lokalizované agresivní formy parodontitidy [65]. Tato komenzální bakterie je součástí skupiny HACEK (*Haemophilus*, *Aggregatibacter*, *Cardiobacterium*, *Eikenella* a *Kingella*), která způsobuje infekční endokarditidu, bakteriémií nebo septikémií [66]. Bylo prokázáno, že existuje souvislost mezi parodontitidou a *A. actinomycetemcomitans* kvůli genotypu JP2, který je schopný vyprodukovat mnoho leukotoxinu [67].

Porphyromonas gingivalis je součástí gramnegativních anaerobních kapnofilních bakterií, které se podílí na zánětlivém onemocnění zubní tkáně. S dalšími mikroorganismy v dutině ústní tvoří zubní biofilm [68; 69]. Tato orální bakterie se objevuje u pacientů s kardiovaskulárním onemocněním, ulcerózní kolitidou, ale primárně u lidí s periodontálním onemocněním. *P. gingivalis* je schopný vyhýbat se obranným mechanismům hostitele a oslabit jeho imunitní odpověď. K faktorům virulence bezpochyby patří cysteinové proteázy, lipopolysacharid nebo ceramid a vnější membránové proteiny [69]. Na krevním agaru *P. gingivalis* roste v černých koloniích. Ve spojitosti s chronickou parodontitidou byl *P. gingivalis* identifikován u 87,75 % pacientů [70]. Je podporován bakterií *F. nucleatum*, která pro něj vytváří kapnofilní prostředí k metabolismu molekulárního kyslíku a peroxidu vodíku [71].

Zástupci rodu *Gemella* jsou považováni za účastníky lidského ústního mikrobiomu. Jedná se o komenzální bakterie, i přestože způsobují oportunní infekce. Lze je zpozorovat u pacientů s onemocněním dutiny ústní nebo endokarditidou. Z mikrobiologického hlediska se jeví jako nepohyblivé kapnofilní koky s vlastností oxidáza, kataláza negativní. Rozlišujeme 5 lidských druhů. Ve studii od autora Morales z roku 2023 byly vyizolovány vzorky z devíti odlišných míst v ústech člověka pro zjištění lokalizace rodu *Gemella* v dutině ústní. Potvrdila se existence tří orálních lidských druhů rodu *Gemella*: *G. haemolysans*, *G. sanguinis* a *G. morbillorum*. *G. haemolysans* najdeme na bukalní sliznici nebo keratinizované dásni, *G. sanguinis* sídlí na jazyku a *G. morbillorum* v zubním plaku [72]. V roce 1917 byla *G. morbillorum*, dříve *Peptostreptococcus*, objevena Tunicliffem [73].

Studie Patel a kol. (2021) naznačuje, jak je důležitá péče o dutinu ústní při léčbě endokarditidy způsobenou *Gemella morbillorum* a *Actinomyces odontolyticus* [74]. Tyto bakterie jsou často zaměňovány s gramnegativními bakteriemi kvůli jejich rychlému odbarvování [75]. Výstupem studie Miyoshi a kol. (2021) byla informace, že *G.haemolysans* má vyšší podíl výskytu u zdravých pacientů než u pacientů s onemocněním parodontu. Na základě výsledků testu inhibice růstu byly prokázány proteinové částice v supernatantu *G.haemolysans*, které se podílí na potlačení růstu *P.gingivalis* [76]. *G. spp* identifikujeme metodou sekvenování genu 16 S rRNA [77].

Actinomyces odontolyticus patří mezi anaerobní, grampozitivní, kapnofilní, nepohyblivé tyčinky, u kterých pozorujeme hladké až zrnité kolonie s červeným pigmentem [78]. V roce 1958 byl *A. odontolyticus* objeven u pacientů s pokročilým stádiem zubního kazu. Nachází se většinou na povrchu jazyka v supra nebo subgingiviální oblasti [79].

4. Onemocnění dutiny ústní

4.1. Gingivitida

Gingivitida je zánět dásní, který je způsoben primárně tvorbou bakteriálního plaku na povrchu zubů a patří k nejčastějším chorobám dásní [80]. Při zánětu dásní dochází u gingivy k zarudnutí. Gingivitida se projevuje v akutní nebo chronické fázi a může způsobit přechod do parodontitidy [81; 17]. Ve studii autora Duque z roku 2016 byly pozorovány děti s diabetem 1. typu a děti bez diabetu a jejich souvislost se zánětem dásní. Výsledky potvrdily přítomnost druhů *Capnocytophaga sputigena* a *Capnocytophaga ochracea* u zánětu dásní u dětí postižených diabetes melitus 1. typu [82].



Obrázek 6: Zánět dásní, převzato a upraveno dle: [83].

Léčba gingivitidy

Efektivním čištěním zubů docílíme rychlejšího odstranění zubního plaku a zánětu dásní. Pravidelnou péčí o naše zuby přispíváme k zdraví nejen dutiny ústní, ale i k zdraví celého těla. Studie Munirah Yaacob z roku 2014 prokázaly, že elektrické kartáčky výrazněji redukuje zánět dásní než ty manuální [80]. Další variantou odstranění zánětu dásní je návštěva dentálního hygienisty, který je schopen díky profesionálním nástrojům zničit zubní plak, ale i zubní kámen v prostorech mezizubních nebo na povrchu zubu. Zamezení gingivitidy docílíme i používáním mezizubních kartáčků nebo zubní niti [81].

Typy gingivitidy

Akutní nekrotizující ulcerózní gingivitida

Akutní nekrotizující ulcerózní gingivitida patří mezi velmi ojedinělé onemocnění gingivy způsobené fusiformními a spirochetovými bakteriemi. Jedná se o velmi akutní a destruktivní ulcerace a zánět v mezizubních dásních. Při nedodržení léčby dochází k okamžitému rozpadu tkáně, nástupu nekrotizující ulcerózní parodontitidy nebo dokonce i k *cancrum oris* (noma). Podle studií autorů Dufty J z roku 2017 a Kaplan D z roku 1981 způsobují akutní nekrotizující ulcerózní gingivitidu hlavně spirochety a gramnegativní bakterie jako jsou *Bacteroides intermedius* a *Fusobacterium* spp [84].

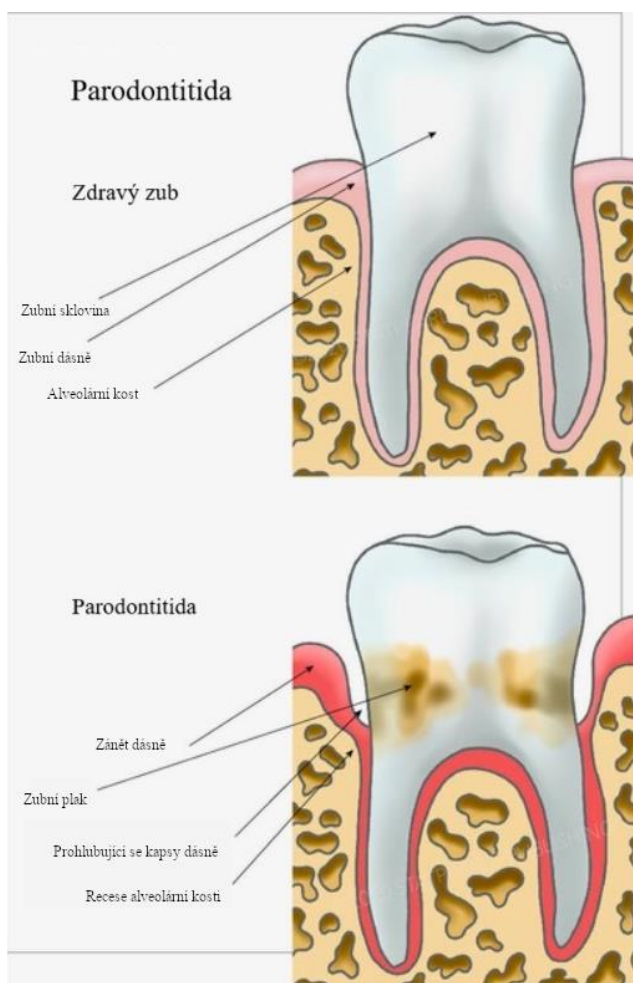
Odlišná studie autora Malek R z roku 2017 tvrdí, že tuto infekci způsobují zástupci *Treponema* spp., *Selenomonas* spp., *Fusobacterium* spp nebo *Prevotella intermedia*. Nejčastěji se setkáme s touto nemocí u mladých podvyživených dětí nebo mladých HIV pozitivních osob [85]. Léčba akutní nekrotizující ulcerózní gingivitidy záleží na případu, většinou je pacientovi podán metronidazol a doporučeno dodržovat správnou ústní hygienu včetně použití ústní vody [84].

Nekrotizující ulcerózní gingivitida

Nekrotizující ulcerózní gingivitida je akutní klinický typ zánětu dásní, u kterého rychle dochází k vzniku bolesti, k nekróze a postupnému krvácení v oblasti gingivy. Nekrotizující ulcerózní gingivitida má mnoho pojmenování známé jako Vincentova nemoc nebo fusospirochetální gingivitida. Tato nemoc se projevuje u lidí s nízkou imunitou, převážně u lidí s onemocněním HIV [85]. *Capnocytophaga* spp. je zodpovědná za nekrotizující ulcerózní gingivitidu [38].

4.2.Parodontitida

Parodontitida je mikrobiální infekce, která může vést k zánětu zubní tkáně [22]. Toto onemocnění je typické ztrátou dásní, vazů, kostí a hluboké parodontální kapsy mezi zubem a dásní [86]. Mezi druhy, které mohou způsobovat destruktivní periodontální nemoci patří *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas intermedia* nebo *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. V nejvyšší míře nacházíme hlavně druh *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* [22; 64]. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* je častokrát spojován s lokalizovanou agresivní parodontitidou, kterou doprovází ztráta alveolární kosti čelisti a následnou ztrátu zubu [64]. Kapnofágové byli izolováni z parodontálních kapes a bylo zjištěno, že mohou způsobovat onemocnění parodontu [87]. U onemocnění parodontu rozlišujeme chronickou a agresivní formu [88].



Obrázek 7: Porovnání stavu zubu u onemocnění parodontitidy, převzato a upraveno dle: [17].

Chronická parodontitida je nejběžnějším projevem parodontózy a patří mezi hlavní důvody, kvůli kterým dospělým jedincům vypadávají zuby. V parodontálních kapsách se nachází přes 500 bakteriálních druhů, které zapříčiňují chronické onemocnění parodontu. K nejznámějším bakteriím patří *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* a *Agregatibacter actinomycetemcomitans*. Těchto 5 bakterií bylo sledováno a použito při porovnání skupiny marockých pacientů s těžkou chronickou parodontitidou a kontrolní skupinou se stejným onemocněním v agresivní formě. Vzorek byl odejmut ze 4 nejhlubších míst subgingiválního plaku pacientů a poté by proveden test PCR. Byla prokázána přítomnost patogenních bakterií v parodontu u 23 zkoumaných pacientů, avšak studie nepotvrdila významné rozdíly v mikrobiologickém profilu mezi onemocněním těžké chronické parodontitidy a agresivní parodontitidy [89].

4.3. Zubní kaz

Zubní kaz patří mezi nejčastější onemocnění zubů s 35 % světovou prevalencí napříč všemi věkovými kategoriemi. K zubnímu kazu dochází při zvýšené demineralizaci tvrdých zubních tkání díky bakteriálnímu ústnímu biofilmu [90]. Hostitel přispívá ke vzniku onemocnění stravou s fermentovanými cukry a sacharidy [91]. Pro zamezení tvorby zubního kazu je důležité dodržovat ústní hygienu, zdravé stravování a omezit sycené nápoje. Další faktory, které přispívají ke zmíněnému onemocnění patří požití alkoholu nebo kouření. Podle světové zdravotnické organizace (WHO) trpí zubním kazem po celém světě 2 miliardy lidí [90]. Onemocnění lze detekovat prostřednictvím mnoha metod jako je např. rentgen, který se využívá nejběžněji. CBCT (Cone Beam Computed Tomography) je důležitý pro diagnostiku zubních kazů kvůli jeho nízké expoziční době a velmi vysoké přesnosti [92]. Skoro u 50 % bakterií, včetně rodu *Capnocytophaga*, způsobující zubní kaz, není možná kultivace na umělém médiu [93].



Obrázek 8: Vývoj zubního kazu, převzato a upraveno dle: [94].

4.4. Halitóza

Halitóza neboli zápach z úst má primárně bakteriální původ. Pro zlepšení halitózy existují ústní vody s chlorhexidinem, které výrazně snižují zápach z úst [95]. Důsledkem této nemoci lidé ztrácí sebevědomí a mají pocit nedostatečnosti. Pro vyšetření halitózy je vhodný halimetr, nejčastěji s kvantifikací těkavých sloučenin jako je síra. Síra je obsažena v hnilobě ústních mikroorganismů hlavně v podobě sirovodíku, které produkují gramnegativní anaerobní bakterie způsobující zápach z úst [96]. Výzkum autorů Izidoro z roku 2023 prokázal, že i přítomnost druhu *Capnocytophaga gingivalis*, zástupce subgingiviálního plaku, u pacientů po léčbě s parodontitidou může mít souvislost se snížením hodnot u halitózy [45].

4.5. Rakovina dutiny ústní

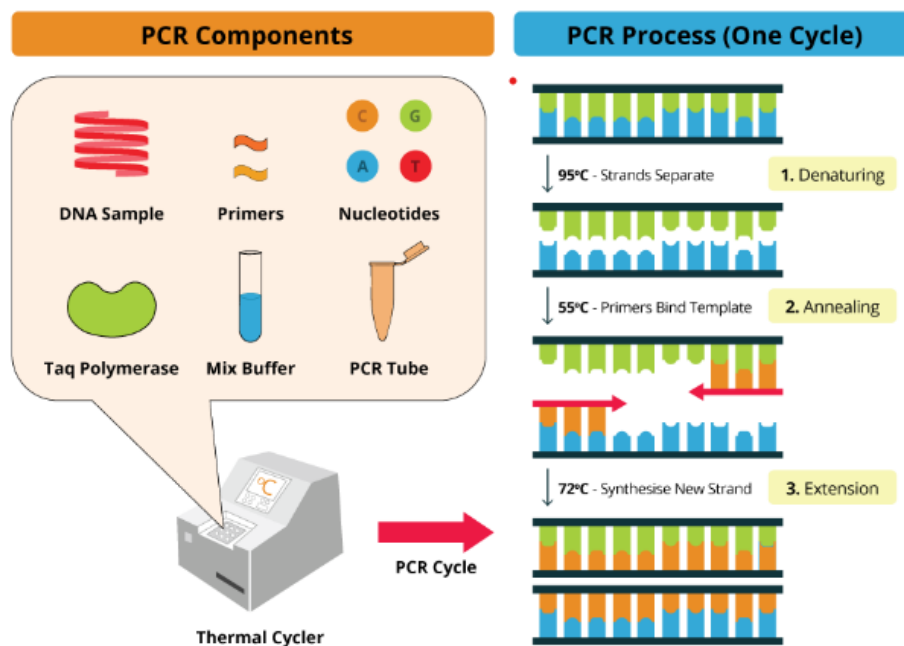
Přes 400 tisíc případů nádorů hlavy a krku ročně se vyskytuje z 40 % v dutině ústní. U rakoviny dutiny ústní patří mezi rizika např. zvýšená konzumace tabáku a alkoholu, která v současnosti se pojí s dysbiózou orální mikrobioty. Studie zabývající se rakovinou dutiny ústní naznačuje, že pomocí detekce pyrosekvenováním genu 16 S rRNA identifikujeme bakterie způsobující toto onemocnění. Mezi nejčastěji nalezené rody patří *Streptococcus*, *Porphyromonas* nebo *Fusobacterium* a pro kontrolní skupinu: *Prevotella*, *Capnocytophaga*, *Actinobacillus* nebo *Oribacterium* [97].

5. Laboratorní diagnostika

5.1. Polymerázová řetězová reakce

Polymerázová řetězová reakce (PCR) vznikla v roce 1983 a jejím vynálezcem byl Dr. Cary Mullis. Jedná se o jednoduchou, rychlou, a hlavně cenově nenáročnou metodu in-vitro, která funguje na principu amplifikace specifických sekvencí DNA. Dochází u ní k zmnožení DNA na počet kopií, které cílí na dvouřetězcové úseky DNA.

Principem testu PCR je opakování 3 fází: 1) denaturace, 2) hybridizace, 3) elongace (syntetická fáze). Denaturace probíhá při 94-95° C. Dosednutí primerů podmiňuje jejich teplota tání, která je v rozhraní od 55-70 °C a elongační fáze začíná při 70° C. Iniciačním krokem označujeme spojení druhé a třetí fáze PCR kvůli rychlejšímu průběhu analýzy [98].



Obrázek 9: Princip PCR, převzato a upraveno dle: [99].

5.1.1. Real-time PCR (PCR v reálném čase)

Real-time PCR je jinou možností pro zjišťování malých segmentů DNA prostřednictvím krátkého trvání cyklů nebo také eliminace průběžných kroků pro PCR. Real-time PCR se liší od klasického PCR tak, že dokáže v rychlém čase detekovat amplikony. Amplikony v real-time PCR jsou detekovány díky sledování značených primerů a fluorogenních molekul obsahujících sondy nebo samotné amplikony. Proti klasické PCR má real-time PCR nevýhodu, že vyžaduje otevření systému pro sledování amplikonů [100]. Při kvantitativním stanovení metodou Real-time PCR lyzátů z gingivy bylo zjištěno, že *A. actinomycetemcomitans* se vyskytuje v širší míře u mladších pacientů s agresivní parodontitidou na rozdíl od chronické parodontitidy nebo zdravých jedinců [88]. Při jiné studii autora Lindholm z roku 2021 bylo testováno 284 vzorků slin od adolescentů na přítomnost bakterií *A. actinomycetemcomitans* a jejího genotypu JP2 a *A. aphrophilus* kvantitativní metodou PCR. Výskyt druhu *A. actinomycetemcomitans* byl prokázán u 71,8 % pacientů a JP2 genotyp u toho druhu byl přítomen u jednotlivce a 99 % JP2 genotypu bylo zjištěno u *A. aphrophilus* [67].

5.1.2. PCR-RFLP

K vyšetření rodu *Capnocytophaga* je vhodné použití metody PCR prostřednictvím polymorfismu délky restrikčních fragmentů [87]. Tuto metodu lze separovat elektroforézou na agarózovém gelu [101]. RFLP se odlišuje homologními sekvencemi DNA, které použijeme k detekci přítomných fragmentů jiných délek pro štěpení vzorků DNA specifickými restrikčními endonukleázami. Molekulový marker RFLP je kodominantní a konkrétní pro jeden klon nebo restrikční enzym. Sonda RFLP je hybridizující sekvence DNA s jedním nebo více fragmenty DNA [102].

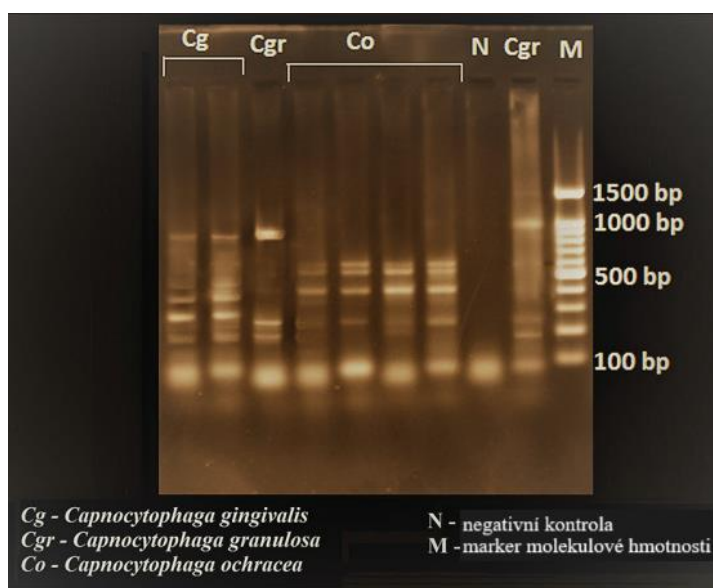
Odběr vzorku a extrakce rodu *Capnocytophaga*

Ze zubního plaku je odebrán vzorek pomocí sterilní kyrety, dále převeden do redukované transportní tekutiny a odeslán do laboratoře. V laboratoři je vzorek vortexován kvůli uvolnění mikroorganismů v tekutině a je připraven k extrakci DNA, která je nutná před zahájením PCR prostřednictvím polymorfismu délky restrikčních fragmentů [103].

Extrakce DNA rodu *Capnocytophaga*

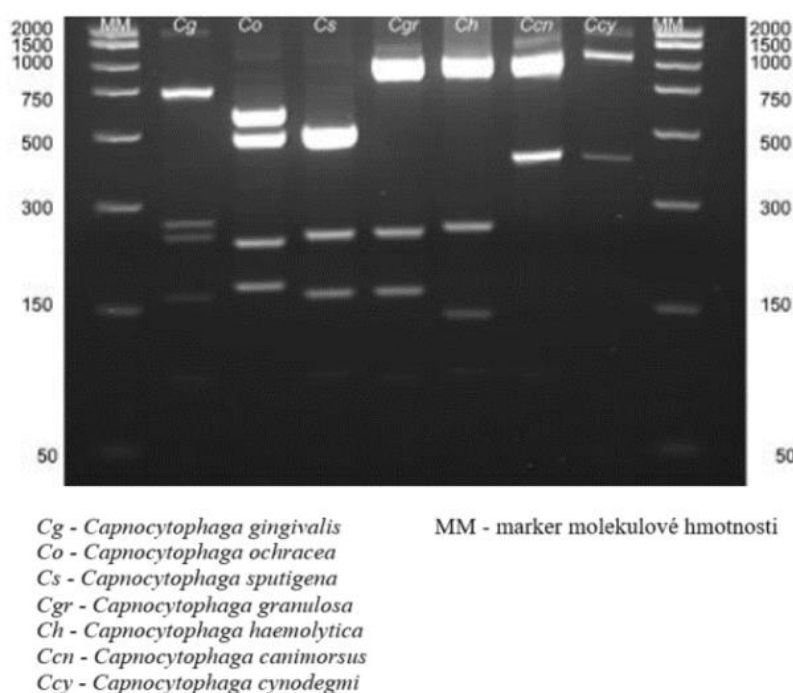
V prvním kroku je DNA extrahována pomocí modifikované metody proteinázy K. Vzorky kapnofágů jsou přeneseny do zkumavky s TE pufrem a pak probíhá homogenizace vortexováním. Poté jsou zkumavky zcentrifugovány při 5000 ot./min. po dobu 5 minut. Dalším krokem dojde k odstranění supernatantu, promytí TE pufrem a přidání lyzačního pufru 1. Proběhne znovu vortexování a vzorek je uchován v pokojové teplotě po dobu 5 minut [87]. V následujícím kroku přidáme lyzační pufr 2, proteinázu K a zkumavky inkubujeme při 60 °C na 2 h. Díky vložení zkumavek do vroucí vodní lázně na 10 minut, došlo k deaktivaci enzymu. Vzorky byly dále centrifugovány při stejných otáčkách na stejnou dobu. V závěru extrakce byl ve zkumavce nalezen supernatant s DNA, který byl uskladněn při teplotě - 20 °C před další analýzou [103].

Primery byly cílené na oblast 16 S rRNA určenou pro druhy kapnofágů. Detekce amplifikovaného produktu 1500 bp proběhla pomocí elektroforézy na 2 % agarózovém gelu. Došlo ke štěpení vzorků restrikcí enzymem HhaI, dále byla provedena inkubace a směs byla dána na 2,5 % agarózu pro elektroforézu při 80 V. Do každého gelu byl přidán 100 bp DNA žebřík, přidání ethidium bromidu dospělo k obarvení gelu a poté byly vzorky zachyceny pomocí gelového dokumentačního systému. Studie autora Idate z roku 2020 prokázala, že ze 300 vzorků zdravých pacientů a pacientů s onemocněním parodontu byly nalezeny 3 druhy rodu *Capnocytophaga* u 237 (79 %) všech pacientů. Konkrétně *C. ochracea* byla identifikována s vyšším podílem 36,33 %, dále *C. granulosa* s 32,66 % a *C. gingivalis* s 10 % [103].



Obrázek 10: Elektroforéza vybraných druhů rodu *Capnocytophaga* na agarózovém gelu, převzato a upraveno dle: [103].

Jiná studie podle Ciantara z roku 2005 zkoumala izolaci 187 klinických izolátů *Capnocytophaga* spp. ze subgingiviálního plaku od pacientů s chronickou parodontitidou pomocí 16 S rRNA PCR-RFLP. Do výzkumu bylo zahrnuto sedm druhů kapnofágů: *C. gingivalis*, *C. ochracea*, *C. sputigena*, *C. granulosa*, *C. haemolytica*, *C. canimorsus* a *C. cynodegmi*. Na RFLP se použily tři restriční enzymy: CfoI, HaeIII a RsaI, ovšem CfoI byl jediným, který prokázal všech sedm druhů *Capnocytophaga* [101].



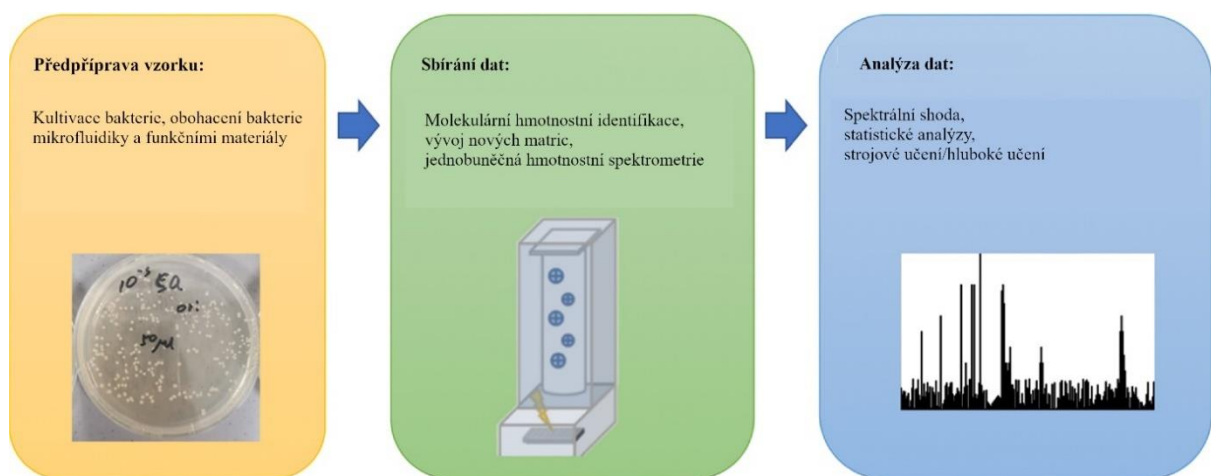
Obrázek 11: 16 S rRNA PCR-RFLP analýza druhů rodu *Capnocytophaga*, převzato a upraveno dle: [101].

5.2. Sekvence 16 S rRNA

U dvou zkoumaných gramnegativních kmenů p1a2T a 051621 došlo k izolaci ze subgingiviálního plaku u pacientů s těžkým onemocněním parodontu. V průběhu sekvenování 16 S rRNA studie autora Zhang z roku 2021 prokázala, že se jedná s méně než 96,4 % jistotou o druhy rodu *Capnocytophaga*. Celogenomové sekvence zmíněných kmenů vyšly s méně než 91,9% nukleotidovou shodou. Identifikace kmenů probíhala i digitální hybridizační metodou DNA–DNA, kde hodnoty vycházely 48,4% v porovnání s jinými typovými kmeny druhů rodu *Capnocytophaga*. Na základě genotypových, fenotypových a fylogenetických informací byl nalezen nový druh kapnofágů kmene p1a2T, *Capnocytophaga periodontitis* [104].

5.3.MALDI-TOF

V dnešní době jsou často využívány hmotnostní spektrometry (TOF) pro rozpoznání patogenních bakterií kultivovaných z klinických vzorků. V minulosti byla vynalezena měkká ionizační technika, která se častokrát využívala společně s hmotnostním spektrometrem a dominovala vlastností rychlé analýzy, jednoduchou obsluhou nebo vysokou citlivostí. Metoda MALDI-TOF MS je specializovaná na diferenciaci bakterií na jejich proteinech rozpustných ve vodě [43]. V současnosti je metoda MALDI-TOF MS frekventovaně používána v laboratořích klinické mikrobiologie k rychlé identifikaci mikroorganismů [52].



Obrázek 12: Stručný popis diagnostiky pomocí MALDI, převzato a upraveno dle: [105].

Podle studie Rodríguez-Sánchez z roku 2016 MALDI-TOF MS lze použít pro levnou a rychlou identifikaci na úrovni rodu *Capnocytophaga* se 100 % přesností a s 77,4 % shodou pro detekci lidských kapnofágů. Ovšem bylo zjištěno, že MALDI-TOF MS není schopna *C.leadbetteri* v databázi najít [106]. V jiné studii autora Frandsen z roku 1996 tato metoda nerozeznala ani *C. gingivalis* a *C. granulosa* [107].

5.4.Mikrobiologická diagnostika

Pro zjištění morfologie bakterií využíváme znalosti mikroskopických technik. Mikroskopický průkaz bakterií je levný a rychlý. K určení mikroorganismu využíváme fixaci a obarvení preparátu. Nejvyužívanější barvicí technikou je v praxi Grammovo barvení, které umožňuje vidět tvar bakterie a rozpoznat její vlastnosti [41].

5.4.1. Grammovo barvení

Grammovo barvení se řadí mezi nejdůležitější diagnostické barvicí techniky pro identifikaci organismů v mikrobiologii. Principem tohoto barvení je zachycení barviva buněčnou stěnou bakterie po omytí alkoholem. Bakteriální stěna u gramnegativních bakterií oproti grampozitivním bakteriím je tenká a lze ji odbarvit alkoholem. Rozpoznání kmenů na grampozitivní a gramnegativní spočívá v barevném odlišení druhů pod mikroskopem. Grampozitivní mikroorganismy poznáme podle zachování modrofialové barvy, naopak gramnegativní druhy jsou červené. [108]. Grampozitivní a gramnegativní kmeny mají mimo jiné i odlišnou citlivost na antibiotika. Barvení podle Gramma využíváme hlavně pro diagnostiku anaerobních infekcí [41].

Postup Grammova barvení

Prvním krokem zbarvíme sklíčko použitím barviva krystalová violet. Druhým krokem zafixujeme barvivo přidáním roztoku s jódem známý jako Lugolův roztok, který zabraňuje odstranění barviva. Poté použijeme alkohol pro odbarvení barviva. Posledním krokem Grammova barvení je přidání fuchsinu nebo safraninu. Tento poslední krok je významný pro odbarvené gramnegativní bakterie, které přijmou růžovou barvu pro lepší identifikaci [108].

5.4.2. Kultivační průkaz

Přímý průkaz bakterií kultivací funguje na principu zmnožení jednotlivých mikroorganismů na neživých půdách. Kultivací prokazujeme množství mikrobů ve vzorku a izolujeme jednotlivé kmeny potřebné pro identifikaci mikroorganismů. Obrovským benefitem kultivačního průkazu bakterií je možnost stanovení citlivosti na více antibiotik díky úzkému kontaktu s izolovaným kmenem [109].

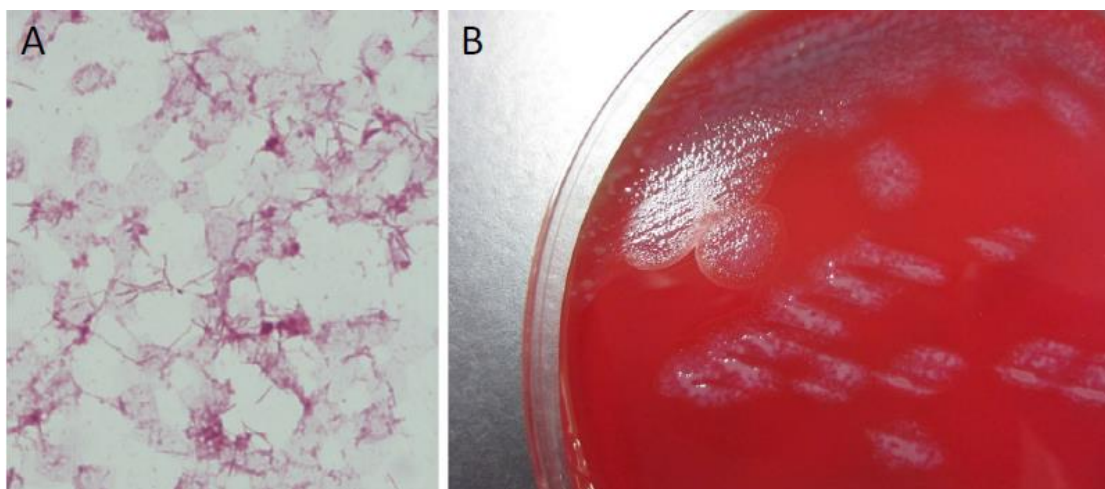
Kultivace rodu *Capnocytophaga*

Fastidious Anaerobe Agar je vhodný ke kultivaci náročných anaerobů. Skládá se z peptonu, škrobu, hydrogenuhličitanu sodného, heminu, specifických činidel pro podporu růstu jednotlivých mikroorganismů, pyruvátu, vitamínu K, sukcinátu sodného a glukózy [110].

TBBP médium je určené pro kapnofilní bakterie, které vyrostou na tomto selektivním médiu v hnědých koloniích [87]. Médium obsahuje 4 % Trypton Soya Agar, 5 % ovčí krve, 0,1 % kvasnicového extraktu, 50 µg/ml bacitracinu a 100 µg/ml polymyxinu B [111].

Vhodným agarem pro druhy rodu *Capnocytophaga* je neselektivní **agar Brucella** s heminem a vitamínem K. Pro inkubaci zvolíme anaerobní komoru s atmosférou 10 % H₂, 5 % CO₂ a 85 % N₂ při 37 °C [52].

Tyto bakterie jsou vkládány do anaerobních lahví a inkubovány při 37 °C v systému BacT/ALERT. Bakteriální kolonie po 72 hodinách pod 5 % CO₂ vykazují na krevním agaru klouzavý pohyb, který je pro tyto mikroorganismy charakteristický [112].



Obrázek 13: *Capnocytophaga ochracea* po obarvení dle Gramma (A) a *C.ochracea* vykazující klouzavý pohyb na krevním agaru (B), převzato a upraveno dle: [112].

Ideální agar pro kapnofágy je i **Columbia agar** s 5 % ovčí krví inkubovaný při 37 °C po dobu 48 h [42]. Dalším způsobem, jak vypěstovat kapnofila, je použití sklenice na svíčku, CO₂ inkubátoru nebo vaku [113]. Sklenice na svíčku obsahuje sklenice s přiléhajícím víčkem, kam se vloží kultury a svíčky. Poté se svíčka zapálí a víko se uzavře. Hořením svíčky dochází ke spotřebě většiny přítomného kyslíku a uvolnění CO₂ [114].

Existují vzduchotěsné vaky vyrobeny z průhledného plastu, které vytváří vhodnou atmosféru pro kultivaci kapnofilních bakterií. Poměr O₂ a CO₂ se upraví množstvím chemických sloučenin v každém sáčku, u kterého dojde k absorpci kyslíku a uvolnění oxidu uhličitého [115]. CO₂ inkubátory jsou určeny k růstu, udržování a kultivaci mikrobiologických kultur, které žijí za speciálního složení atmosféry jako např. kapnofilní bakterie. Inkubátor zajišťuje uvnitř optimální teplotu, vlhkost, CO₂ a obsah O₂ v atmosféře [116].

Ze zkoumané studie od autora Rummens z roku 1985 vyplývá, že CAP medium je výborné použít k obnovení rodu *Capnocytophaga* z kontaminovaných klinických vzorků [117].

ZÁVĚR

Bakalářská práce se zabývá výskytem kapnofilních bakterií v dutině ústní. V úvodu je popsána dutina ústní, podrobně části zubů a jejich zásadní funkce v organismu.

Dále je popisována role orální mikrobioty při potlačení patogenních bakterií a důsledky vzniku onemocnění v dutině ústní. Díky nerovnováze v ústní dutině vlivem dysbiózy, dochází k vyvolání mnoha ústních onemocnění a vede k zhoršení prostředí v ústech člověka. K tomuto stavu člověk přispívá nevhodným stravováním, zanedbáváním pravidelné péče o své zuby nebo užíváním návykových látek. Mezi nejčastější onemocnění způsobené bakteriální nerovnováhou v dutině ústní patří gingivitida nebo zubní kaz. Abychom těmto nemocem předešli, je potřeba se zdravě stravovat, pravidelně si čistit zuby a omezit kouření a alkohol.

V široké míře se moje bakalářská práce zaměřuje na kapnofilní bakterie, které rostou při 5-10 % CO₂ v atmosféře. Existuje mnoho kapnofilních druhů jako je např. rod *Capnocytophaga* nebo *Eikenella*.

Podrobněji se práce věnuje rodu *Capnocytophaga*, který lze prokázat v zubním plaku u lidí. Zástupci tohoto rodu jsou gramnegativní kapnofilní bakterie, které mohou ve vzácných případech způsobit u lidí těžké sepse nebo infekce krevního řečiště. Bakterie rodu *Capnocytophaga* jsou považovány za parodontální patogeny u gingivitidy nebo parodontitidy. Mimo jiné je tento rod rezistentní vůči cefalosporinům třetí generace.

V závěrečné kapitole bakalářské práce jsou zmiňovány možnosti, jakými způsoby diagnostikovat kapnofilní bakterie v laboratoři a principy jejich metod. Nejvyužívanější metodou pro detekci kapnofilních bakterií je metoda PCR, díky jejímu přesnému a rychlému měření na rozdíl od kultivačních technik, které jsou často zdlouhavé.

POUŽITÁ LITERATURA

Bibliografie

- [1] KAMRANI, Payvand a SADIQ, Nazia. *Anatomy, Head and Neck, Oral Cavity (Mouth)*. online. In: National Library of Medicine. 2023. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545271/>. [cit. 2024-06-03].
- [2] *Ústní dutina a jazyk*. online. In: Národní zdravotnický informační portál. 2022. Dostupné z: <https://www.nzip.cz/clanek/649-ustni-dutina-a-jazyk>. [cit. 2024-05-29].
- [3] ČIHÁK, Radomír. *Anatomie*. 2., upr. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2002. ISBN 80-247-0143-X.
- [4] STUČHLÁ, Lada. *Přehled anatomie a fyziologie člověka pro nelékařské zdravotnické obory*. 1. Grada, 2024. ISBN 978-80-271-2903-4.
- [5] WINSLOW, Terese. Dutina ústní. online. In: *National cancer institute*. Dostupné z: <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/oral-cavity>. [cit. 2024-06-24].
- [6] DYLEVSKÝ, Ivan. *Funkční anatomie*. 1. Grada, 2009, s. 314. ISBN 978-80-247-3240-4.
- [7] ČIHÁK, Radomír. *Anatomie 2*. Třetí, upravené a doplněné vydání. Praha: Grada, 2013. ISBN 978-80-247-4788-0.
- [8] SHAIKH, Fahad; SONI, Abhinandan a SHUMWAY, Karlie. *Physiology, Taste*. online. In: National Library of Medicine. 2023. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557768/>. [cit. 2024-06-03].
- [9] MAZÁNEK, Jiří. *Zubní lékařství: pro studující nestomatologických oborů*. 2018. Praha: Grada Publishing, 2018. ISBN 978-80-247-5807-7.
- [10] Popis zubu a jeho částí. online. In: *Kardient*. 2018. Dostupné z: <https://www.karident.cz/popis-zubu-a-jeho-casti/>. [cit. 2024-06-24].
- [11] ČIHÁK, Radomír. *Anatomie*. Třetí, upravené a doplněné vydání. Praha: Grada, 2011. ISBN 978-80-247-4788-0.
- [12] MONHARTOVÁ, Květoslava a HECOVÁ, Hana. *Morfologie zubů. Kreslení a modelování zubů*. 3. Karolinum, 2017. ISBN 978-80-246-2188-3.
- [13] MAZÁNEK, Jiří. *Zubní lékařství: propedeutika*. Praha: Grada, 2014. ISBN 978-80-247-3534-4.

- [14] LACRUZ, Rodrigo; HABELITZ, Stefan a WRIGHT, J. Dental Enamel Formation and Implications for Oral Health and Disease. online. *Physiol Reviews*. 2017, roč. 97, č. 3. Dostupné z: <https://doi.org/10.1152/physrev.00030.2016>. [cit. 2024-06-24].
- [15] ČIHÁK, Radomír. *Anatomie 2*. Praha: Grada Publishing, a.s., 2013, s. 512.
- [16] CERRITO, Paola; BAILEY, Shara a HU, Bin. Parturitions, menopause and other physiological stressors are recorded in dental cementum microstructure. online. *Scientific Reports*. 2020, roč. 10, č. 5381. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62177-7>. [cit. 2024-06-24].
- [17] TORABI, Shahrzad a SONI, Abhinandan. *Histology, Periodontium*. online. In: . 2023. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK570604/>. [cit. 2024-06-03].
- [18] DOSTÁLOVÁ, Tatjana a SEYDLOVÁ A KOLEKTIV, Michaela. *Stomatologie*. 1. Grada, 2008. ISBN 978-80-247-2700-4.
- [19] BRIZUELA, Melina a WINTERS, Ryan. *Histology, Oral Mucosa*. online. In: . 2023. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK572115/>. [cit. 2024-06-05].
- [20] G. BHAT, Kishore; INGALAGI, Preeti a PATIL, Suvarna. Antimicrobial susceptibility pattern of oral gram negative anaerobes from Indian subjects. online. *Anaerobe*. 2021, roč. 70. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2021.102367>. [cit. 2024-06-24].
- [21] SEDGHI, Lea; KAPILA, Yvonne a BACINO, Margot. Periodontal Disease: The Good, The Bad, and The Unknown. online. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2021, roč. 11, č. 766944. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.766944>. [cit. 2024-06-24].
- [22] B. GADEKAR, Nikita; V. HOSMANI, Jagadish a G. BHAT, Kishore. Detection of antibodies against *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in serum and saliva through ELISA in periodontally healthy individuals and individuals with chronic periodontitis. online. *Microbial Pathogenesis*. 2018, roč. 125. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.10.007>. [cit. 2024-06-24].
- [23] ZOU, Peihui; CAO, Pei a LIU, Jia. Comparisons of the killing effect of direct current partially mediated by reactive oxygen species on *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia* in planktonic state and biofilm state - an in vitro study. online. 2022. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jds.2021.07.025>. [cit. 2024-06-24].
- [24] HENG, Yuan; JINGYI, Qiu a TING, Zhang. Quantitative changes of *Veillonella*, *Streptococcus*, and *Neisseria* in the oral cavity of patients with recurrent aphthous stomatitis: A systematic review and meta-analysis. online. *Archives of Oral Biology*. 2021, roč. 129. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2021.105198>. [cit. 2024-06-24].
- [25] ABRANCHES, Jacqueline; ZENG, Lin; K. KAJFASZ, Jessica a PALMER, Sara. *Biology of Oral Streptococci*: American Society for Microbiology Press. online.

- Microbiology Spectrum*. 2018, roč. 6, č. 5. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0042-2018>. [cit. 2024-06-24].
- [26] FUKAYAMA, Haruka; SHOJI, Kensuke a YOSHIDA, Michiko. Bacterial meningitis due to the *Streptococcus mitis* group in children with cerebrospinal fluid leak. online. *IDCases*. 2022, roč. 27. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.idcr.2022.e01406>. [cit. 2024-06-24].
- [27] PILARCZYK-ZUREK, Magdalena; SITKIEWICZ, Izabela a KOZIEL, Joanna. The Clinical View on *Streptococcus anginosus* Group – Opportunistic Pathogens Coming Out of Hiding. online. *Frontiers in Microbiology*. 2022, roč. 13, č. 956677. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.956677>. [cit. 2024-06-24].
- [28] YE, Jiajia; LIANG, Wen a WU, Lang. Antimicrobial effect of *Streptococcus salivarius* outer membrane-coated nanocomplexes against *Candida albicans* and oral candidiasis. online. *Materials & Design*. 2023, roč. 233. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2023.112177>. [cit. 2024-06-24].
- [29] GAO, Zhen; CHEN, Xiaoyong a WANG, Chen. New strategies and mechanisms for targeting *Streptococcus mutans* biofilm formation to prevent dental caries: A review. online. *Microbiological Research*. 2024, roč. 278. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2023.127526>. [cit. 2024-06-24].
- [30] YANG ANG, Mia; DUTTA, Avirup a YEE WEE, Wei. Comparative Genome Analysis of *Fusobacterium nucleatum*. online. *Genome Biology and Evolution*. 2016, roč. 8, č. 9. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/gbe/evw199>. [cit. 2024-06-24].
- [31] KURNIYATI, Kurni a LI, Chunhao. Genetic Manipulations of Oral Spirochete *Treponema denticola*. online. *Methods Mol Biol*. 2021, č. 2210. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0939-2_2. [cit. 2024-06-24].
- [32] NUR ÇALIŞKAN, Bilge; ALTINSOY, İrem a CEREN KARAHAN, Zeynep. Investigation of the presence of Capnophilic bacteria in routine urine cultures. online. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2023, roč. 42, č. 2. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10096-023-04570-4>. [cit. 2024-06-24].
- [33] RODRIGUES MENDES, Fernanda; SCHMIDT, Jayir a RIBEIRO BRUNIERA, Felipe. Capnocytophaga sputigena bloodstream infection in hematopoietic stem cell transplantations: two cases report and review of the literature,. online. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2020, roč. 62, č. 48. Dostupné z: <https://doi.org/10.1590/s1678-9946202062048>. [cit. 2024-06-24].
- [34] FRANDBSEN, Ellen; KÖNÖNEN, Eija a POULSEN, Knud. Diversity of Capnocytophaga species in children and description of *Capnocytophaga leadbetteri* sp. nov. and *Capnocytophaga* genospecies AHN8471. online. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2008, roč. 58, č. 2. Dostupné z: <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65373-0>. [cit. 2024-06-24].

- [35] GUTIERREZ-MARTIN, Maria; ARAJI, Omar a BARQUERO, Jose. Aortic Valve Endocarditis by Capnocytophaga Haemolytica. online. *The Society of Thoracic Surgeons*. 2007, roč. 84, č. 3. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2007.03.072>. [cit. 2024-06-24].
- [36] SHINOHARA, Koh; TSUCHIDO, Yasuhiro a SUZUK, Michio. Putative Novel Species of Genus Capnocytophaga, Capnocytophaga stomatis Bacteremia in a Patient with Multiple Myeloma after Direct Contact with a Cat. online. *Internal Medicine*. 2022, roč. 61, č. 14. Dostupné z: <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.7947-21>. [cit. 2024-06-24].
- [37] EHRMANN, Elodie; JOLIVET-GOUGEON, Anne a BONNAURE-MALLET, Martine. Multidrug-resistant oral Capnocytophaga gingivalis responsible for an acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease: Case report and literature review. online. *Anaerobe*. 2016, č. 42. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2016.08.003>. [cit. 2024-06-24].
- [38] PIAU, Caroline; BONNAURE-MALLET, Martine a ARVIEUX, Cédric. Capnocytophaga spp. involvement in bone infections: a review. online. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2013, roč. 41, č. 6. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2013.03.001>. [cit. 2024-06-24].
- [39] RUBIN, Lorry G. *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases: Capnocytophaga Species*. online. 5. Elsevier, 2018. ISBN 978-0-323-40181-4. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-40181-4.00165-1>. [cit. 2024-03-20].
- [40] FERNÁNDEZ V, Alejandra; VALENZUELA M, M a L, Chrystal. Capnocytophaga. online. *Revista chilena de infectología*. 2007, roč. 24, č. 1. Dostupné z: <https://doi.org/10.4067/S0716-10182007000100009>. [cit. 2024-06-24].
- [41] VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2. přeprac. vyd. Brno: Neptun, 2005. ISBN 80-868-5000-5.
- [42] ANTEZACK, Angéline; BOXBERGER, Manon; LA SCOLA, Bernard a MONNET-CORTI, Virginie. Isolation and Characterization of Capnocytophaga bilenii sp. nov., a Novel Capnocytophaga Species Detected in a Gingivitis Subject. online. *Pathogens*. 2021, roč. 10, č. 5. ISSN 2076-0817. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/pathogens10050547>. [cit. 2024-04-21].
- [43] JOLIVET-GOUGEON, Anne; HELSENS, Nicolas a RENARD, Elise. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of human oral Capnocytophaga species. online. *Anaerobe*. 2017, roč. 48. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2017.07.003>. [cit. 2024-06-24].
- [44] CIANTAR, M; SPRATT, D a NEWMAN, H. Capnocytophaga granulosa and Capnocytophaga haemolytica: novel species in subgingival plaque. online. *Journal of Clinical Periodontology*. 2001, roč. 28, č. 7. Dostupné z: <https://doi.org/10.1034/j.1600-051x.2001.028007701.x>. [cit. 2024-06-24].

- [45] IZIDORO, Catarina; BOTELHO, João a MACHADO, Vanessa. Non-Surgical Periodontal Treatment Impact on Subgingival Microbiome and Intra-Oral Halitosis. online. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023, č. 24. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms24032518>. [cit. 2024-06-24].
- [46] LAWAL, Folake a BAER, Stephanie. Capnocytophaga gingivalis Bacteremia After Upper Gastrointestinal Bleeding in Immunocompromised Patient. online. *Journal of Investigative Medicine High Impact*. 2021, roč. 9. Dostupné z: <https://doi.org/10.1177/23247096211020672>. [cit. 2024-06-24].
- [47] KAGERMEIER, Angelika a LONDON, Jack. Identification and Preliminary Characterization of a Lectinlike Protein from Capnocytophaga gingivalis (Emended). online. *Infection and immunity*. 1985, roč. 51, č. 2. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/iai.51.2.490-494.1986>. [cit. 2024-06-24].
- [48] MAVROMMATIS, Konstantinos; SAUNDERS, Elizabeth a GRONOW, Sabine. Complete genome sequence of Capnocytophaga ochracea type strain (VPI 2845T). online. *Stand Genomic Sciences*. 2009, roč. 1, č. 2. Dostupné z: <https://doi.org/10.4056/sigs.15195>. [cit. 2024-06-24].
- [49] HOSOHAMA-SAITO, Kyoko; KOKUBU, Eitoyo a OKAMOTO-SHIBAYAMA, Kazuko. Involvement of luxS in Biofilm Formation by Capnocytophaga ochracea. online. *Plos one*. 2016, roč. 11, č. 1. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147114>. [cit. 2024-06-24].
- [50] VASILEVA, A.; SELKOVA, P. a ARSENIEVA, A. Characterization of CoCas9 nuclease from Capnocytophaga ochracea. online. *Rna Biology*. 2023, roč. 20, č. 1. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/15476286.2023.2256578>. [cit. 2024-06-24].
- [51] YAMAMOTO, T; WATANABE, T a KAJIURA, S. Capnocytophaga haemolytica sp. nov. and Capnocytophaga granulosa sp. nov., from human dental plaque. online. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 1994, roč. 44, č. 2. Dostupné z: <https://doi.org/10.1099/00207713-44-2-324>. [cit. 2024-06-24].
- [52] HARJU, Inka; ALGAHAWI, Ahmed a KÖNÖNEN, Eija. Factors affecting the quality and reproducibility of MALDI-TOF MS identification for human Capnocytophaga species. online. *Journal of Microbiological Methods*. 2024, roč. 220. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2024.106911>. [cit. 2024-06-24].
- [53] FOSSÉ, Q; GOMART, C a FLATEAU, C. Severe community-acquired Capnocytophaga leadbetteri pneumonia in a HIV-infected patient Pneumopathie infectieuse grave à Capnocytophaga leadbetteri chez un patient immunodéprimé par le VIH. online. *Médecine et Maladies Infectieuses*. 2018, roč. 48, č. 2. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2017.11.003>. [cit. 2024-06-24].
- [54] VAN DE GUCHTEC, Adriana; FABREA, Shelcie a MALIK, Yesha. Catheter-related bloodstream infection due to biofilm-producing Capnocytophaga sputigena. online.

- IDCases*. 2021, roč. 25. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.idcr.2021.e01231>. [cit. 2024-04-19].
- [55] GUILLON, Hélène; MAMMERI, Hedi a EB, François. Characterization of CSP-1, a novel extended-spectrum beta-lactamase produced by a clinical isolate of *Capnocytophaga sputigena*. online. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2010, roč. 54, č. 5. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/AAC.00791-09>. [cit. 2024-06-24].
- [56] *Revista chilena de infectología*. online. In: Scielo: *Eikenella corrodens*. 2013. Dostupné z: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182013000200007&lng=en&nrm=iso&tlng=en. [cit. 2024-03-23].
- [57] PENTON, Manuel; SCHIBECI ORAA, Silvia a ABDELHEMID, Ashraf. Head and neck infections in children due to *Eikenella corrodens*: Report of three cases and review of literature. online. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 2020, roč. 138. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2020.110287>. [cit. 2024-06-24].
- [58] PATEL, Kishan; MEMON, Zain a PARK, Connie. *Eikenella Corrodens* and *Streptococcus anginosus* co-infection causing skull base osteomyelitis and internal carotid artery lesion. online. *IDCases*. 2020, roč. 20, č. 00740. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.idcr.2020.e00740>. [cit. 2024-06-24].
- [59] J. C. GOLDSTEIN, Ellie; E. CHERUBIN, Charles a SHULMAN, Michael. Comparison of microtiter broth dilution and agar dilution methods for susceptibility testing of *Eikenella corrodens*. online. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1983, roč. 23, č. 1. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/AAC.23.1.42>. [cit. 2024-06-24].
- [60] *Eikenella corrodens*. online. In: *Microbe Canvas*. Dostupné z: <https://microbe-canvas.com/Bacteria/gram-negative-rods/facultative-anaerobic-3/no-growth-on-mcconkey-agar-without-salt-1/catalase-negative-3/oxidase-positive-5/eikenella-corrodens.html>. [cit. 2024-06-24].
- [61] MARAKI, Sofia; CHRONAKIS, Efkleidis a S PAPADAKIS, Ioannis. *Aggregatibacter aphrophilus* brain abscess secondary to primary tooth extraction: Case report and literature review. online. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 2016, roč. 49, č. 1. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2013.12.007>. [cit. 2024-06-24].
- [62] OKUMURA, Taiki; SOYA, Keisuke a HIHARA, Yu. The First Known Case of Liver Abscess Caused by *Aggregatibacter aphrophilus* in Japan. online. *Internal Medicine*. 2020, roč. 59, č. 11. Dostupné z: <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.4220-19>. [cit. 2024-06-24].
- [63] BELIBASAKIS, Georgios; MAULA, Terhi a BAO, Kai. Virulence and Pathogenicity Properties of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. online. *Pathogens*. 2019, roč. 8, č. 222. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/pathogens8040222>. [cit. 2024-06-24].

- [64] HENDERSON, Brian; WILSON, Michael a SHARP, Lindsay. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. online. *Journal of Medical Microbiology*. 2002, roč. 51, č. 12. Dostupné z: <https://doi.org/10.1099/0022-1317-51-12-1013>. [cit. 2024-06-24].
- [65] ETEMADI, Ardavan; SHAHABODIN HASHEMI, Seyed a CHINIFORUSH, Nasim. Evaluation of the effect of photodynamic therapy with Curcumin and Riboflavin on implant surface contaminated with *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. online. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 2023, roč. 44. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2023.103833>. [cit. 2024-06-24].
- [66] HAKMI, Mohammed; MEHDI BOURICHA, El a EL HARTI, Jaouad. Computational modeling and druggability assessment of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* leukotoxin. online. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*. 2022, roč. 222. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2022.106952>. [cit. 2024-06-24].
- [67] LINDHOLM, Mark; CLAEISSON, Rolf a KEMOLI, Arthur. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and *Aggregatibacter aphrophilus* in a Kenyan Maasai Adolescent Population and Inhibition of Leukotoxic Activity by Herbal Plants Used as Part of Oral Hygiene Procedures. online. *Journal of Clinical Medicine*. 2021, roč. 10, č. 5402. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/jcm10225402>. [cit. 2024-06-24].
- [68] WAN JIUN, Tan; TAIB, Haslina a MAJDIAH WAN MOHAMAD, Wan. Periodontal health status, *Porphyromonas gingivalis* and anti-cyclic citrullinated peptide antibodies among rheumatoid arthritis patients. online. *International Immunopharmacology*. 2023, roč. 124. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2023.110940>. [cit. 2024-06-24].
- [69] CHOPRA, Aditi; EBERHARD, Joerg a SHIHEIDO-WATANABE, Yuka. Editorial: *Porphyromonas gingivalis*: molecular mechanisms of invasion, immune evasion, and dysbiosis. online. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2023, roč. 13. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1289103>. [cit. 2024-06-24].
- [70] XU, Weizhe; ZHOU, Wei a WANG, Huizhi. Roles of *Porphyromonas gingivalis* and its Virulence factors in periodontitis. online. *Adv Protein Chem Struct Biol*. 2020, roč. 120. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2019.12.001>. [cit. 2024-06-24].
- [71] QUEIROZ DE ANDRADE, Kívia; OJCIUS, David a ALMEIDA-DA-SILVA, Cássio. Differential involvement of the canonical and noncanonical inflammasomes in the immune response against infection by the periodontal bacteria *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum*. online. *Current Research in Microbial Sciences*. 2021, roč. 2. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100023>. [cit. 2024-06-24].
- [72] TORRES-MORALES, Julian; E. DEWHIRST, Floyd a WELCH, Jessica. Site-specialization of human oral *Gemella* species. online. *Journal of Oral Microbiology*. 2023, roč. 15, č. 1. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/20002297.2023.2225261>. [cit. 2024-06-24].
- [73] SAADA, Eltaib; S. ABDALLAA, Mohammed a FARISA, Mohammed. A Rare Pathogen of Bones and Joints: A Systematic Review of Osteoarticular Infections Caused

- by *Gemella morbillorum*. online. *Journal of Clinical Medicine Research*. 2023, roč. 15, č. 4. Dostupné z: <https://doi.org/10.14740/jocmr4891>. [cit. 2024-06-24].
- [74] PATEL, Kishan; MACDONALD, Matt a HMOUD, Hosam. Aortic valve endocarditis by *Actinomyces odontolyticus* and *Gemella morbillorum* oral pathogens. online. *IDCases*. 2021, roč. 24, č. 01079. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.idcr.2021.e01079>. [cit. 2024-06-24].
- [75] SAIDCOR, Mina a TIRTHANI, Ekta. *Gemella morbillorum*- and *Capnocytophaga* sp.-Related Mycotic Thoracic Aortic Aneurysm and Mediastinal Abscess: An Unusual Case Report, a Treatment Challenge, and a Review of Literature. online. *Cureus*. 2021, roč. 13. Dostupné z: <https://doi.org/10.7759/cureus.17728>. [cit. 2024-06-24].
- [76] MIYOSHI, Tomohiro; OGE, Shogo a NAKATA, Satoshi. *Gemella haemolysans* inhibits the growth of the periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis*. online. *Scientific Reports*. 2021, roč. 11, č. 1. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91267-3>. [cit. 2024-06-24].
- [77] LÓPEZ, Ernesto a MARTÍN-GALIANO, Antonio. The Versatility of Opportunistic Infections Caused by *Gemella* Isolates Is Supported by the Carriage of Virulence Factors From Multiple Origins. online. *Front Microbiology*. 2020, roč. 11. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00524>. [cit. 2024-06-24].
- [78] CLYDE, Melissa; OBEIDALLAH, Alison a MCALLISTER, Jamie. *Actinomyces odontolyticus* infection 3 months postrobotic-assisted laparoscopic prostatectomy. online. *BMJ Case Report*. 2019, roč. 12, č. 228184. Dostupné z: <https://doi.org/10.1136/bcr-2018-228184>. [cit. 2024-06-24].
- [79] ALI, Maisa; ZIGLAM, Hisham a RAZOK, Almurtada. A 5-year retrospective study of *Actinomyces odontolyticus* bacteremia in the state of Qatar, case series. online. *Annals of Medicine and Surgery*. 2022, roč. 76. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2022.103583>. [cit. 2024-06-24].
- [80] ADAM, Ralf; ZOUA, Yuanshu a GRENDERA, Julie. A Meta-analysis Comparing Toothbrush Technologies on Gingivitis and Plaque. online. *International dental journal*. 2024, roč. 74, č. 1. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.identj.2023.06.009>. [cit. 2024-06-24].
- [81] GESUNDHEIT.GV.AT, . *Zánět dásní (gingivitida)*. online. In: Národní zdravotnický informační portál. Dostupné z: <https://www.nzip.cz/clanek/664-zanet-dasni-gingivitida>. [cit. 2024-02-28].
- [82] DUQUE, Cristiane; FERREIRA DIB JOÃO, Mariana a ALESSANDRA DA CRUZ GALHARDO CAMARGO, Gabriela. Microbiological, lipid and immunological profiles in children with gingivitis and type 1 diabetes mellitus. online. *Journal of Applied Oral Science*. 2016, roč. 25, č. 2. Dostupné z: <https://doi.org/10.1590/1678-77572016-0196>. [cit. 2024-06-24].

- [83] Zánět dásní gingivitida. online. In: . Dostupné z: <https://www.nzip.cz/clanek/664-zanet-dasni-gingivitida>). [cit. 2024-06-24].
- [84] AARON, Stephanie a DEBLOIS, Katy. *Acute Necrotizing Ulcerative Gingivitis*. online. StatPearls, 2023. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562243/>. [cit. 2024-03-23].
- [85] MALEK, Rayhana; GHARIBI, Amina; KHLIL, Nadia a KISSA, Jamila. Necrotizing Ulcerative Gingivitis. online. *Contemporary Clinical Dentistry*. 2017, roč. 8, č. 3. Dostupné z: https://doi.org/10.4103/ccd.ccd_1181_16. [cit. 2024-06-24].
- [86] LIU, Siqin; XIE, Guofang a CHEN, Meifeng. Oral microbial dysbiosis in patients with periodontitis and chronic obstructive pulmonary disease. online. *Front Cell Infect Microbiology*. 2023, roč. 13. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1121399>. [cit. 2024-06-24].
- [87] IDATE, Ulka; BHAT, Kishore a KULKARNI, R. Comparison of culture and polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism for identification of various Capnocytophaga species from subgingival plaque samples of healthy and periodontally diseased individuals. online. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*. 2022, roč. 26, č. 2. Dostupné z: https://doi.org/10.4103/jomfp.jomfp_172_21. [cit. 2024-06-24].
- [88] GUTHMILLER, Janet a NOVAK, Karen. *Periodontal Diseases*. online. In: National Library of Medicine. 2002. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2496/>. [cit. 2024-06-05].
- [89] BENRACHADI, L; BOUZIANE, A a BOUZIANE-OUARTINI, F. Screening for periodontopathogenic bacteria in severe chronic periodontitis in a Moroccan population. online. *Médecine et maladies infectieuses*. 2012, roč. 42, č. 12. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2012.10.003>. [cit. 2024-06-24].
- [90] JAVED, Kiran; ZUBAIR NASIR, Muhammad a JALEES, Maham. Role of diet and dietary habits in causing dental caries among adults reporting to a tertiary care hospital in Pakistan; a case-control study. online. *Heliyon*. 2023, roč. 9, č. 12. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e23117>. [cit. 2024-06-24].
- [91] MOUSSA, Dina; AHMAD, Paras a MANSOUR, Tamer. Current State and Challenges of the Global Outcomes of Dental Caries Research in the Meta-Omics Era. online. *Sec. Microbiome in Health and Disease*. 2022, roč. 12. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.887907>. [cit. 2024-06-24].
- [92] ESMAEILYFARD, Rasool; BONYADIFARD, Haniyeh a PAKNAHAD, Maryam. Dental Caries Detection and Classification in CBCT Images Using Deep Learning. online. *International Dental Journal*. 2023, roč. 74, č. 2. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.identj.2023.10.003>. [cit. 2024-06-24].
- [93] MARU, Mandie; TEKLEMARIAM, Zelalem a ADMAS, Desalegn. Magnitude, associated factors, and antimicrobial susceptibility pattern of bacterial isolates among

- adult dental caries patients attending Hiwot Fana comprehensive specialized university hospital, Harar, Eastern Ethiopia. online. *Plos one*. 2023, roč. 18, č. 2. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0278829>. [cit. 2024-06-24].
- [94] Dental caries. online. In: *Wow dental*. Dostupné z: <https://wowdental.in/dental-caries-tooth-decay/>. [cit. 2024-06-24].
- [95] LEE, Wen-Yi; MARC O'DONNELL, John a KUO, Shu-Yu. Effects of preoperative oral care on bacterial colonisation and halitosis in patients undergoing elective surgery: A randomised controlled study. online. *Intensive and Critical Care Nursing*. 2024, roč. 80. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.iccn.2023.103532>. [cit. 2024-06-24].
- [96] SZALAI, Eszter; TAJTI, Péter a SZABÓ, Bence. Organoleptic and halitometric assessments do not correlate well in intra-oral halitosis: A systematic review and meta-analysis. online. *Journal of Evidence-Based Dental Practice*. 2023, roč. 23, č. 3. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jebdp.2023.101862>. [cit. 2024-06-24].
- [97] VILLAMIL-POVEDA, Jean-Carlos; INFANTE-RODRÍGUEZ, Luís-Felipe a CASTAÑEDA-CORZOA, Gabriel-Jaime. Association of *Prevotella intermedia* with oropharyngeal cancer: A patient-control study. online. *Heliyon*. 2023, roč. 9. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14293>. [cit. 2024-06-24].
- [98] MADADELAHI, Masoud; O MARTINEZ-CHAPA, Sergio a AGARWAL, Rahul. A roadmap to high-speed polymerase chain reaction (PCR): COVID-19 as a technology akcelerator. online. *Biosensors and Bioelectronics*. 2024, roč. 246. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2023.115830>. [cit. 2024-06-24].
- [99] PCR Principle. online. In: *Boster*. Dostupné z: <https://www.bosterbio.com/protocol-and-troubleshooting/pcr-principle>. [cit. 2024-06-24].
- [100] KHEHRA, Nimrat; PADDA, Inderbir a SWIFT, Cathi. *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. StatPearls Publishing, 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK589663/>.
- [101] CIANTAR, Marilou; NEWMAN, Hubert a WILSON, Michael. Molecular Identification of *Capnocytophaga* spp. via 16S rRNA PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis. online. *American Society for Microbiology*. 2005, roč. 43, č. 4. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/JCM.43.4.1894-1901.2005>. [cit. 2024-06-24].
- [102] *Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)*. online. In: National Library of Medicine. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/probe/docs/techrflp/>. [cit. 2024-06-02].
- [103] IDATE, Ulka; KOTRASHETTI, Vijayalakshmi a BHAT, Kishore. Molecular identification of *Capnocytophaga* species from the oral cavity of patients with chronic periodontitis and healthy individuals. online. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*. 2020, roč. 26, č. 2. Dostupné z: https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_33_20. [cit. 2024-06-24].

- [104] ZHANG, Yifei; QIAO, Dan a SHI, Wenyu. *Capnocytophaga periodontitidis* sp. nov., isolated from subgingival plaque of periodontitis patient. online. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2021, roč. 71, č. 8. Dostupné z: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004979>. [cit. 2024-06-24].
- [105] QIAO, Liang. MALDI-TOF MS for pathogenic bacteria analysis. online. *International Journal of Mass Spectrometry*. 2022, roč. 482. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijms.2022.116935>. [cit. 2024-06-24].
- [106] RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ, Belén; ALCALÁ, Luis a MARÍN, Mercedes. Evaluation of MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry) for routine identification of anaerobic bacteria. online. *Anaerobe*. 2016, roč. 42. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2016.09.009>. [cit. 2024-06-24].
- [107] FRANDBSEN, Ellen a WADE, William. Differentiation of human *Capnocytophaga* species by multilocus enzyme electrophoretic analysis and serotyping of immunoglobulin A1 proteases. online. *Microbiology*. 1996, roč. 142, č. 2. Dostupné z: <https://doi.org/10.1099/13500872-142-2-441>. [cit. 2024-06-24].
- [108] TRIPATHI, Nishant a SAPRA, Amit. *Gram Staining*. online. In: NIH NLM. 2023. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562156/>. [cit. 2024-02-28].
- [109] ŽEMLIČKOVÁ, Helena. *Praktikum lékařské mikrobiologie*. 2019. Praha: Univerzita Karlova, nakladatelství Karolinum, 2019. ISBN 978-80-246-4378-6.
- [110] *Fastidious Anaerobe Agar*. online. In: Neogen. 2023. Dostupné z: <https://www.neogen.com/zh-hans/categories/microbiology/fastidious-anaerobe-agar/>. [cit. 2024-06-01].
- [111] MASHIMO, P; YAMAMOTO, Y a NAKAMURA, M. Selective recovery of oral *Capnocytophaga* spp. with sheep blood agar containing bacitracin and polymyxin B. online. *Journal of Clinical Microbiology*. 1983, roč. 17, č. 2. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/jcm.17.2.187-191.1983>. [cit. 2024-06-24].
- [112] ITO, Shimpei; HAGIYA, Hideharu a KIMURA, Keigo. *Capnocytophaga* ochracea-related Bacterium Bacteremia in a Hypertrophic Cardiomyopathy Patient without Neutropenia. online. *Internal Medicine*. 2016, roč. 55, č. 18. Dostupné z: <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.55.6593>. [cit. 2024-06-24].
- [113] TANKESHWAR, Acharya. *Oxygen Requirements for Pathogenic Bacteria*. online. 2023. Dostupné z: <https://microbeonline.com/oxygen-requirements-for-pathogenic-bacteria/#Capnophiles>. [cit. 2024-05-14].
- [114] *Oxygen Requirements for Microbial Growth*. online. In: Suny microbiology. Dostupné z: <https://courses.lumenlearning.com/suny-microbiology/chapter/oxygen-requirements-for-microbial-growth/>. [cit. 2024-05-14].
- [115] *Medical and Laboratory Equipment*. online. 2020. Dostupné z: <https://c-e.am/en/product/genbag-genbox/>. [cit. 2024-05-14].

- [116] EPS BIOTECHNOLOGY. *CO2 inkubátor Steri-Cycle*. online. Dostupné z: https://www.epsbiotechnology.cz/eps_sluzby/sluzby_5/sluzby_5_5_4.html. [cit. 2024-05-15].
- [117] RUMMENS, Jean-Luc; FOSSEPRE, Jean-Marie a GRUYTER, Marnix. Isolation of Capnocytophaga Species with a New Selective Medium. online. *Journal of Clinical Microbiology*. 1985, roč. 22, č. 3. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/jcm.22.3.375-378.1985>. [cit. 2024-06-24].
- [118] IACONO, VINCENT; GROSSBARD, BARBARA a ZOVE, STEVEN. Lysozyme-Mediated Aggregation and Lysis of the Periodontal Microorganism *Capnocytophaga gingivalis* 2010. online. In: . 1985. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC263192/pdf/iai00119-0121.pdf>. [cit. 2024-06-24].

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha A: Název přílohy

PŘÍLOHA A: Název přílohy

Vložit přílohu, popis přílohy A, zdroj.