

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2024

Kateřina Jindrová

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Dentální biofilm  
Kateřina Jindrová

Bakalářská práce  
2024

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

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Kateřina Jindrová**  
Osobní číslo: **C21183**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Téma práce: **Dentální biofilm**  
Téma práce anglicky: **Dental Biofilm**  
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

## Zásady pro vypracování

1. Seznamte se s literárními prameny v dané oblasti a vypracujte rešerši na zadané téma. V úvodu práce se věnujte mikrobiálnímu biofilmu (definice, vlastnosti, fáze vzniku, atp.).
2. Zpracujte literární rešerši o onemocněních spojených s tvorbou biofilmů mikrobiálních agens.
3. Zaměřte se zejména na dentální biofilm, a to mj. ve vztahu k dopadům na pacienta, možnostem klinické diagnostiky i následné terapie.
4. Bakalářskou práci zpracujte v souladu se Směrnicí č. 7/2019 Univerzity Pardubice "Pravidla pro odevzdávání, 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 vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. David Šilha, 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

L.S.

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

V Pardubicích dne 29. února 2024

Prohlašuji:

Práci s názvem **Dentální biofilm** jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, 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 18. 5. 2024

Kateřina Jindrová v. r.

## **PODĚKOVÁNÍ**

Ráda bych tímto poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce doc. Ing. Davidu Šilhovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, ochotu a čas, který mi věnoval při vypracování této práce.

## **ANOTACE**

Tato bakalářská práce poskytuje ucelený přehled o biofilmech, se zvláštním důrazem na dentální biofilm a jeho význam pro zdraví dutiny ústní. Práce popisuje vznik, strukturu a vývoj biofilmů. Dále je text věnovaný také dalším onemocněním spojených s tvorbou biofilmů, jako jsou infekce dýchacích a močových cest, chronické rány a infekce související s implantáty. Práce představuje různé moderní diagnostické a terapeutické přístupy, které podporují efektivnější léčbu a prevenci negativních dopadů biofilmů na lidské zdraví.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Biofilm, dentální biofilm, bakterie, detekce biofilmů, mikrobiální infekce

## **TITLE**

Dental biofilm

## **ANNOTATION**

This bachelor thesis provides a comprehensive overview of biofilms, emphasizing dental biofilms and their importance for oral health. The thesis describes the origin, structure, and development of biofilms. In addition, the text also discusses other diseases associated with biofilm formation, such as respiratory and urinary tract infections, chronic wounds, and implant-related infections. The work presents various modern diagnostic and therapeutic approaches that promote more effective treatment and prevention of the negative impact of biofilms on human health.

## **KEYWORDS**

Biofilm, dental biofilm, bacteria, biofilm detection, microbial infections

# OBSAH

Seznam obrázků.....	10
Seznam tabulek .....	11
Seznam zkratk a značek .....	12
ÚVOD.....	13
<b>1 MIKROBIÁLNÍ BIOFILM.....</b>	<b>14</b>
1.1 Struktura biofilmu.....	14
1.2 Vlastnosti biofilmu .....	15
1.3 Vznik a vývoj biofilmu .....	16
1.4 <i>Quorum sensing</i> .....	18
1.5 Detekce mikrobiálního biofilmu.....	19
<b>2 DENTÁLNÍ BIOFILM.....</b>	<b>22</b>
2.1 Struktura dentálního biofilmu.....	22
2.2 Bakterie v dentálním biofilmu .....	24
2.2.1 Orální streptokoky .....	24
2.2.2 <i>Actinomyces naeslundii</i> .....	25
2.2.3 <i>Lactobacillus casei</i> .....	26
2.2.4 <i>Fusobacterium nucleatum</i> .....	26
2.2.5 <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	27
2.2.6 <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> .....	28
2.2.7 Další bakterie dentálního biofilmu .....	29
2.3 Klinické dopady dentálního biofilmu .....	29
2.3.1 Zubní kaz .....	30
2.3.2 Parodontitida.....	32
2.4 Detekce dentálního biofilmu.....	33
2.5 Prevence a léčba dentálního biofilmu.....	35
<b>3 DALŠÍ ONEMOCNĚNÍ SPOJENÁ S TVORBOU BIOFILMŮ .....</b>	<b>38</b>
3.1 Infekce dýchacích cest.....	38
3.1.1 Cystická fibróza .....	38
3.1.2 Ventilátorová pneumonie (VAP).....	39

3.1.3	Protrahovaná bakteriální bronchitida a bronchiektázie .....	39
3.2	Infekce chronických ran.....	40
3.3	Infekce močových cest.....	41
3.4	Zánět středního ucha .....	42
3.5	Infekční endokarditida .....	43
3.6	Infekce související s implantáty.....	44
3.7	Osteomyelitida .....	45
<b>ZÁVĚR</b>	.....	<b>47</b>
<b>Použitá literatura</b>	.....	<b>48</b>

## SEZNAM OBRÁZKŮ

<b>Obrázek 1:</b> Proces tvorby mikrobiálního biofilmu.....	17
<b>Obrázek 2:</b> Chemické struktury signálních molekul v procesech <i>quorum sensing</i> .....	19
<b>Obrázek 3:</b> Struktura supragingiválního biofilmu.....	23
<b>Obrázek 4:</b> Vrstvy subgingiválního biofilmu.....	23
<b>Obrázek 5:</b> Orální streptokoky .....	24
<b>Obrázek 6:</b> <i>Lactobacillus casei</i> na kultivačních půdách .....	26
<b>Obrázek 7:</b> <i>Fusobacterium nucleatum</i> .....	27
<b>Obrázek 8:</b> Kolonie <i>Porphyromonas gingivalis</i> na krevním agaru.....	28
<b>Obrázek 9:</b> Proces vzniku zubního kazu .....	31
<b>Obrázek 10:</b> Parodontitida s vrstvou zubního kamene.....	33
<b>Obrázek 11:</b> Vizualizace zubního plaku.....	34
<b>Obrázek 12:</b> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> v dýchacích cestách při onemocnění cystickou fibrózou .....	39
<b>Obrázek 13:</b> Infekce chronické rány na dolní končetině.....	40
<b>Obrázek 14:</b> Krystalizovaný biofilm při infekci močových cest.....	42
<b>Obrázek 15:</b> Bakterie <i>Staphylococcus aureus</i> související s osteomyelitidou .....	46

## **SEZNAM TABULEK**

**Tabulka 1:** Bakterie vyskytující se v dentálním biofilmu a jejich vliv na dutinu ústní.....29

**Tabulka 2:** Vybrané bakterie související se vznikem zubního kazu ..... 31 - 32

**Tabulka 3:** Přehled patogenů způsobujících infekce na implantátech ..... 45 - 46

## SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

AHL	Acyl-homoserin lakton
AIP	Autoindukující peptidy
AMP	Antimikrobiální peptidy
APDT	Antimikrobiální fotodynamická terapie
ASDT	Antimikrobiální sonodynamická terapie
CAUTI	Infekce močových cest spojených s katetrem (z angl. Catheter-Associated Urinary Tract Infection)
CLSM	Konfokální laserový skenovací mikroskop
EPS	Extracelulární polymerní látky
ESEM	Environmentální skenovací elektronová mikroskopie
ROS	Reaktivní formy kyslíku (z angl. Reactive Oxygen Species)
SECM	Rastrovací elektrochemická mikroskopie (z angl. Scanning Electrochemical Microscopy)
SEM	Skenovací elektronová mikroskopie
VAP	Ventilátorová pneumonie

# ÚVOD

Biofilm je strukturovaný shluk mikroorganismů obklopených extracelulárními polymerními látkami. Historie výzkumu biofilmů sahá až k prvním mikroskopickým pozorováním Anthonieho van Leeuwenhoeka a rozšířila se s pokroky v molekulární biologii a mikroskopických technologiích. Dnes zahrnuje pokročilé techniky jako elektronová a konfokální mikroskopie, které poskytují hlubší pochopení biofilmové struktury, dynamiky a vlastností. Vlastnosti biofilmu hrají klíčovou roli ve zvýšené odolnosti mikroorganismů vůči nepříznivým vnějším faktorům.

Význam dentálního biofilmu pro zdraví ústní dutiny je nepřehlédnutelný, jelikož je úzce spojen s vývojem zubního kazu a parodontitidy. Tato onemocnění mají značný vliv na kvalitu života postižených jedinců. Způsoby boje proti negativním účinkům dentálního biofilmu zahrnují mechanické čištění zubů, chemické látky a rozvoj nových antimikrobiálních přípravků.

Cílem této práce je poskytnout ucelený přehled o vzniku, struktuře a vývoji biofilmů, s hlavním zaměřením na dentální biofilm. Zároveň se práce věnuje porozumění dalším onemocněním spojených s tvorbou biofilmů, jako jsou infekce dýchacích a močových cest, chronické rány či infekce spojené s implantáty. Přístupy k detekci a léčbě biofilmů jsou zde prezentovány s využitím moderních metod a technologií. Tyto metody podporují efektivnější diagnostiku a umožňují efektivnější zásah proti negativním dopadům biofilmů na lidské zdraví.

# 1 MIKROBIÁLNÍ BIOFILM

Biofilm je organizovaný shluk mikroorganismů, které jsou pevně přichyceny k živým či neživým povrchům a obklopeny matricí tvořenou extracelulárními polymerními látkami (EPS) (Donlan, 2002). V minulosti se však předpokládalo, že mikroorganismy se vyskytují převážně jako volně plující planktonní buňky (Dufour a kol., 2010). Tuto teorii začal vyvracet již Anthoni van Leeuwenhoek, který jednoduchým mikroskopem pozoroval shluky mikroorganismů na povrchu zubů (Donlan, 2002). Následně Louis Pasteur objevil a načrtl agregáty bakterií při kvašení vína (Høiby, 2017). O více než dvě století později americký bakteriolog Henrici pozoroval růst řas v akváriu. Kromě řas však našel také tenkou rovnoměrnou vrstvu bakteriálního povlaku. Ve své práci uvedl, že vodní bakterie nejsou volně plovoucí organismy, ale rostou na souvislých površích pod hladinou (Dufour a kol., 2010). Jen o pár let později došli k podobnému závěru i Heller a Heukelekian. Ti popsali vyšší aktivitu a podpořený růst mořských mikroorganismů na přilnavém povrchu (Donlan, 2002). Avšak detailnější zkoumání biofilmu nebylo v té době možné, neboť vývoj elektronové mikroskopie byl v počátcích. Až v roce 1969 byl využit transmisní elektronový mikroskop k pozorování biofilmu ve vodním prostředí. Tímto typem mikroskopie byly rozlišeny morfologicky různorodé typy buněk (Donlan, 2002). Termín „biofilm“ zavedl počátkem 70. let 20. století mikrobiolog J. W. Costerton. Se svými kolegy studoval bakteriální společenství vytvořená na površích ve vodním prostředí. Zjistil, že tato společenství nejsou jen náhodné agregáty jednotlivých buněk, ale že se jedná o vysoce organizované struktury se specializovanými adaptivními funkcemi ovlivňujícími např. příjem živin, odstraňování odpadních látek a také ochranu buněk (Bamford a kol., 2023).

## 1.1 Struktura biofilmu

Biofilmová extracelulární polymerní substance je složena z polysacharidů, proteinů, lipidů a nukleových kyselin, které tvoří hydratovaný polární materiál trojrozměrné struktury. Složení matrice závisí na podmínkách prostředí, např. na dostupnosti živin, stáří biofilmu či přítomnosti různých mikrobiálních kmenů (Abdallah a kol., 2014). V této struktuře se mohou vyskytovat také nebuněčné složky (minerální krystaly, části korodovaných materiálů, jílu či sedimentu). Z toho vyplývá, že se biofilmy mohou tvořit v různém prostředí a na různých površích. Může se jednat o živé tkáně, lékařské pomůcky, vodovodní potrubí nebo o různé povrchy v přírodě (Donlan, 2002).

Struktura biofilmu může být výrazně ovlivněna také vlastnostmi povrchu, rozhraním, hydrodynamikou a prouděním tekutiny. Např. biofilmy rostoucí v laminárním proudění jsou nerovnoměrné a tvoří je hrubé kulovité agregáty buněk oddělené dutinami, zatímco v turbulentním proudění jsou biofilmové struktury spíše protáhlé (Davey a O'toole, 2000).

Detailnější prozkoumání struktury biofilmů umožnil až konfokální skenovací laserový mikroskop (Davey a O'toole, 2000). Tímto typem mikroskopie bylo objasněno, že zralý biofilm má trojrozměrnou strukturu (Aparna a Yadav, 2008). Pomocí této mikroskopie bylo dále zjištěno, že mikrokolonie v biofilmu mohou být složeny z jednoho druhu bakterií, z vícedruhových společenstev bakterií či z různých kombinací dalších mikroorganismů, např. kvasinek, plísní či archeí (Davey a O'toole, 2000; Liu a kol., 2023).

## 1.2 Vlastnosti biofilmu

Struktura biofilmu úzce souvisí s jeho vlastnostmi a funkcí. Mikroorganismy v biofilmu se totiž velmi liší od planktonních buněk a toto společenství jim přináší určité výhody. Bakterie v biofilmu mají odlišnou morfologickou strukturu, nižší citlivost k environmentálním faktorům (např. vysychání), vyšší odolnost vůči toxickým látkám a mechanickému poškození. Dále vykazují vyšší odolnost i vůči bakteriofágům či predátorům. Bakterie v biofilmu mají také vyšší metabolickou aktivitu, odlišné biologické charakteristiky i genetickou výbavu. Trojrozměrná struktura biofilmu také nejspíše poskytuje přirozenou bariéru a ochrannou vrstvu pro mikroorganismy (Liu a kol., 2023).

Bakterie v biofilmu jsou odolnější vůči UV záření, protože je matrice dokáže ochránit. Záření se totiž nedostane do hloubky, a tak většinou poškodí jen první vrstvu biofilmu. Některé bakterie dokáží tvořit látky přirozeně chránící před UV zářením, např. aminokyseliny podobné mykosporinu anebo karotenoidní pigmenty (de Carvalho, 2017).

Odolnost biofilmových buněk vůči dezinfekčním prostředkům je několikanásobně vyšší, než je tomu u planktonních mikroorganismů. Tato rezistence může souviset s omezeným pronikáním biocidů do struktury biofilmu. Buňky jsou zabudovány do matrice exopolysacharidů, která brání průniku biocidů k buňkám. Některé bakterie mohou měnit expresi membránových proteinů a tím se zhorší průnik biocidu do membrány. Avšak také může dojít k tomu, že se buňky adaptovaly na prostředí nebo se v biofilmu vyskytují perzistentní buňky (Abdallah a kol., 2014). Bylo také zjištěno, že vícedruhové biofilmy jsou odolnější vůči dezinfekčním prostředkům ve srovnání s biofilmy jednodruhovými (Liu a kol., 2023). Rezistence biofilmu vůči antibiotikům může mít fyzikální podstatu (např. tloušťka a chemické

složení matrice brání průniku antibiotika k buňkám), nebo fyziologickou podstatu (snížení příjmu živin, zpomalení růstu a snížení účinku antibiotik). Buňky v biofilmu si mohou předávat geny rezistence a také se zde vyskytuje větší počet různých efluxních pump odstraňujících různé druhy léčiv (Yin a kol., 2019).

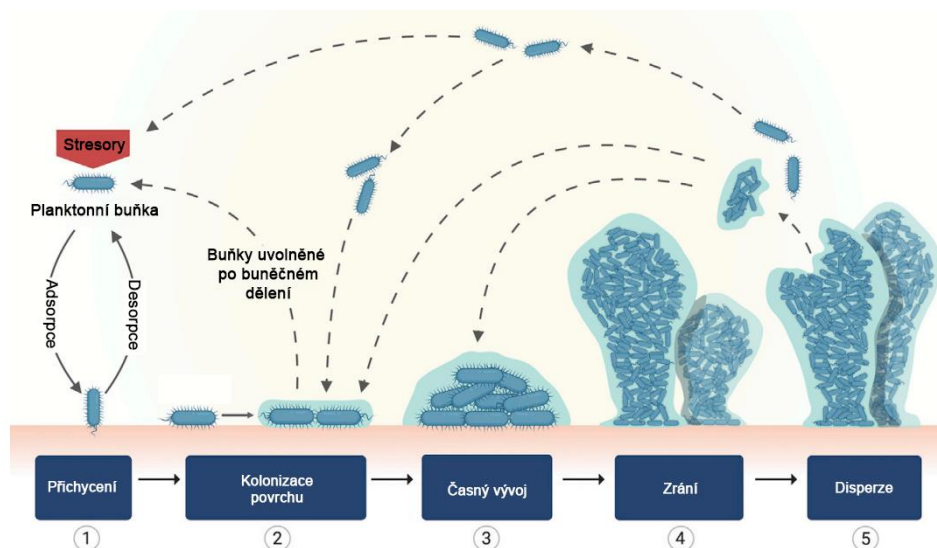
Buňky v biofilmu také lépe unikají imunitnímu systému. Interagují s fagocytárními leukocyty a vyhýbají se jim tím, že si mezi sebou vyměňují biochemické signály. Další možností, jak biofilmy mohou fagocytóze zabránit, jsou mechanické prostředky. Schopnost fagocytu pohltit agregát biofilmu totiž závisí na jeho velikosti, materiálových vlastnostech a adhezni i kohezni síle. To znamená, že pokud je agregát příliš velký nebo pevně přichycený k povrchu, fagocyt není schopen jej zneškodnit (Stewart, 2014).

Struktura biofilmu umožňuje mikroorganismům získat větší odolnost vůči působení tepelného stresu. V prostředí s extrémně vysokými teplotami jim biofilm odolává a udržuje vhodné podmínky pro růst a rozmnožování buněk. Naopak v extrémně chladném prostředí poskytuje biofilm ochranu a buňky tak lépe přežívají (Yin a kol., 2019).

Lze tedy říci, že odolnost biofilmů vůči extrémním podmínkám prostředí umožňuje vytvoření vhodných biotopů a usnadňuje výměnu materiálu a informace mezi buňkami. Tvorba biofilmu je tedy významným obranným mechanismem mikroorganismů (Liu a kol., 2023).

### **1.3 Vznik a vývoj biofilmu**

Vývoj biofilmu je nepřetržitý, dynamický a složitý proces vyžadující kooperaci buněk. Roli v jeho tvorbě hrají vnitřní charakteristiky buněk, metabolismus buněk, genetická výbava, signální molekuly, ale také podmínky prostředí, např. kultivační médium (Yin a kol., 2019). K tvorbě biofilmu dochází zpravidla na rozhraní dvou fází – na rozhraní plynné a pevné fáze (např. plicní infekce), pevné a kapalné fáze (katetry, potrubí) či kapalné a plynné fáze (povlaky na hladině vody) (Renner a Weibel, 2011; Rulík a Holá, 2012). Vznik biofilmu můžeme popsat pěti postupnými kroky, viz Obrázek 1.



**Obrázek 1:** Proces tvorby mikrobiálního biofilmu (upraveno dle Guzmán-Soto a kol., 2021)

**Přichycení** planktonních buněk je první a zásadní krok tvorby biofilmu. Bakterie využívají své povrchové orgány a proteiny (bičíky, fimbrie, curlí, proteiny zevní membrány) ke snímání a připojení k povrchu. K navázání buňky musí být substrát ponořen či být v kontaktu s tekutinami obsahujícími některé makromolekuly (např. DNA, proteiny a huminové kyseliny) (Renner a Weibel, 2011). Poté vzniká kondicionační vrstva obsahující volné proteiny a sacharidy (Dincer a kol., 2020). Tato vrstva přitahuje mikroorganismy, jež se reverzibilně adsorbují na povrch, a to pomocí slabých interakcí, jako jsou van der Waalsovy síly (Yin a kol., 2019) či Levisovy acidobazické a elektrostatické interakce (Abdallah a kol., 2014). Adheze na povrchy je dále ovlivněna teplotou, organickou hmotou či pH prostředí (Abdallah a kol., 2014).

**Kolonizace** je druhou fází při tvorbě biofilmu. Mikroorganismy se ireverzibilně připojí k povrchu a začne se tvořit EPS, která umožní snadnější adhezi mezi buňkami i povrchy (Renner a Weibel, 2011). Na kolonizační vrstvě se hromadí elektrický náboj, který přitahuje bakterie s opačným nábojem. Připojení je uskutečněno hydrofilní či hydrofobní interakcí bičíky, pili, lipopolysacharidy, exopolysacharidy, adhezivními proteiny vázajícími kolagen, atd. (Yin a kol., 2019).

Ve fázi **vývoje** biofilmu dochází k rozmnožování i akumulaci buněk a dále k tvorbě mikrokolonií. Bakterie také ve velkém množství produkují a vylučují EPS a jsou zapouzdřeny ve vrstvě hydrogelu. Ten tvoří fyzickou bariéru mezi extracelulárním prostředím a touto komunitou. Tvorbu a sekreci EPS stimuluje chemická komunikace mezi buňkami (Renner a Weibel, 2011).

**Zráním** biofilmu se buněčné společenství dále rozvíjí. Tvoří trojrozměrné struktury a dozrává v komplexní biofilm. To vše díky replikaci buněk a hromadění extracelulárních

polymerních látek (Renner a Weibel, 2011). Zralý biofilm obsahuje vrstvu bohatou na živiny, která podporuje rychlý růst mikroorganismů. Také jsou v něm přítomny difúzní kanály zajišťující distribuci živin, kyslíku, signálních molekul a dalších látek potřebných pro růst mikroorganismů. Tyto kanály slouží i k odstraňování odpadních produktů a mrtvých buněk (Dincer a kol., 2020).

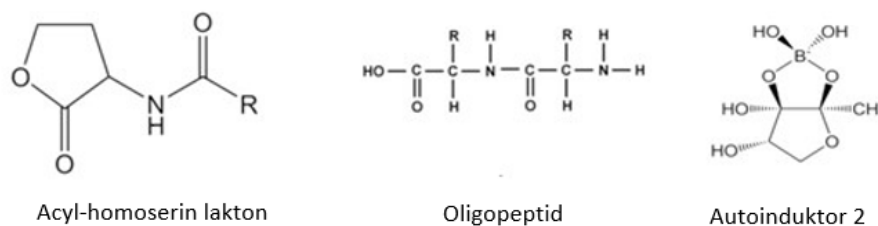
Posledním krokem tvorby biofilmu je **disperze** buněk z biofilmové struktury (Dincer a kol., 2020). Mikrobiální buňky jsou odděleny od povrchu, a to buď ve shlucích nebo jednotlivě. Tyto buňky následně kolonizují jiná místa a začíná tak další proces tvorby biofilmu. Je to důležitý krok pro šíření a sebeobnovu mikrobiálního společenství. K disperzi buněk dochází v případě vyčerpání kyslíku či při nedostatku živin, a dále v důsledku interakce s různými vnějšími či vnitřními faktory. Tyto faktory podporují aktivaci genů zapojených do disperze (Abdallah a kol., 2014).

## 1.4 *Quorum sensing*

*Quorum sensing* je v podstatě chemická komunikace mezi bakteriemi. Jedná se o signální mechanismus. Některé bakterie umí reagovat na chemické molekuly – autoinduktory (podobnost s hormony). Jejich koncentrace totiž odpovídá hustotě mikrobiální populace. Pokud autoinduktor dosáhne prahové koncentrace, bakterie signál zachytí a reaguje na něj změnou genové exprese (Reading a Sperandio, 2006). Toto je důležitý proces nejen při tvorbě biofilmu. Pomáhá formovat také řadu buněčných funkcí – patogenezí, získávání živin, konjugaci, pohyblivost, produkci sekundárních metabolitů (Renner a Weibel, 2011), rezistenci k antibiotikům či bioluminiscenci. Avšak k tomu dochází jen v případě dosažení vysoké hustoty populace (Turan a kol., 2017).

Proces *quorum sensing* je u každé bakterie mírně odlišný. Struktura různých signálních molekul je znázorněna na Obrázku 2. U Gram-pozitivních bakterií jsou signálními molekulami autoindukující peptidy (AIP). Tyto peptidy jsou tvořeny v ribozomu a jsou aktivně transportovány z bakteriální buňky (Azimi a kol., 2020). Vylučované peptidy se vážou na signální receptor, interagují s dvousložkovým systémem, a nakonec regulují genovou expresi (Reading a Sperandio, 2006). Komunikaci u Gram-negativních bakterií řídí např. proteinový systém LuxI/LuxR. Protein LuxI (signální syntáza) produkuje signální molekulu acyl-homoserin lakton (AHL) (Turan a kol., 2017). Zvýšená koncentrace AHL vede k vazbě na signálový receptor LuxR a k následné aktivaci transkripce genů (Li a Tian, 2012). Existuje ještě třetí typ signálních molekul, který je přítomen u některých Gram-pozitivních

a Gram-negativních bakterií. Jedná se o autoinduktor 2 a slouží hlavně pro mezidruhovou komunikaci (Turan a kol., 2017).



**Obrázek 2:** Chemické struktury signálních molekul v procesech quorum sensing (upraveno dle Turan a kol., 2017)

## 1.5 Detekce mikrobiálního biofilmu

Detekce tvorby biofilmů je možná prostřednictvím jednoduchého testu v mikrotitračních destičkách. Biofilmy se vytváří na povrchu jednotlivých jamek, kde jsou následně obarveny krystalovou violetí. Barví se však mrtvé i živé bakteriální buňky a také některé složky matrice biofilmu. Destičky musí být po obarvení promyty, aby bylo odstraněno nenavázané barvivo a planktonní buňky. Poté se provádí spektrofotometrické měření. Intenzita zbarvení odpovídá množství vytvořeného biofilmu (Azeredo a kol., 2017). Kromě mikrotitrační destičky lze použít i osmikomorová sklička. Nevýhodou těchto metod je, že se vyrostlé biofilmy nedají považovat za zralé kvůli statickým podmínkám při kultivaci (Cleaver a Garnett, 2023).

Pro dynamické hodnocení růstu biofilmu v reálném čase slouží mikrofluidní zařízení s malými kanálky a konstantním průtokem tekutiny. Tento systém umožňuje růst biofilmu v samostatných skleněných komorách nebo kanálcích. Analýza biofilmu je možná pomocí elektromagnetické impedanční spektroskopie. K detekci růstu biofilmu využívá elektrický proud aplikovaný na vzorek a měří odezvu pomocí senzorů. To umožňuje analýzu dynamického růstu bez použití konfokálního mikroskopu. Hlavní výhodou mikrofluidních systémů je možnost zobrazování biofilmu *in situ* v reálném čase. S využitím sond a barviv můžeme s pomocí konfokálního mikroskopu vytvářet komplexní obrazy struktury biofilmu a jeho složek (Cleaver a Garnett, 2023).

Pro zobrazení biofilmu lze využít také mikroskopické techniky. Nejjednodušší z nich je světelná mikroskopie a slouží převážně k vizuálnímu ověření přítomnosti biofilmu na zkoumaném substrátu. Její nízká rozlišovací schopnost však není vhodná pro detailnější zkoumání biofilmu (Cleaver a Garnett, 2023).

Mnohem lepší představu o struktuře biofilmu poskytuje fluorescenční mikroskop a konfokální laserový skenovací mikroskop (CLSM). Oba tyto typy využívají fluorescenční

sondy a barviva (Cleaver a Garnett, 2023). Nejčastěji se používají barviva nukleových kyselin, např. SYBR-Green (Azeredo a kol., 2017). Fluorescenční mikroskop umožňuje zobrazení do větší hloubky ve srovnání s CLSM. Na druhou stranu má však konfokální laserový skenovací mikroskop lepší rozlišení díky přesnému laseru. Laser navíc umožňuje skenovat biofilm ve třech rovinách, což vede k torbě 3D modelu (Cleaver a Garnett, 2023; Wilson a kol., 2017). 3D model poskytuje informace o hloubce biofilmu, biomase a ploše povrchu (Cleaver a Garnett, 2023). CLSM navíc umožňuje vizualizaci plně hydratovaných živých vzorků v reálném čase, což poskytuje údaje o složení a vlastnostech matrice biofilmu (Schlafer a Meyer, 2017).

Další mikroskopickou metodou pro analýzu vzorků je skenovací elektronová mikroskopie s vysokým rozlišením (SEM). Tato metoda je široce používána pro posouzení interakcí mezi bakteriemi v biofilmu a povrchem substrátu. Také se využívá k hodnocení struktury biofilmu, k posouzení účinnosti antimikrobiálních látek a metod k odstranění biofilmů (Cleaver a Garnett, 2023). SEM využívá pro zobrazení vzorku svazek elektronů, jež po průchodu elektromagnetickými čočkami interagují s povrchovými molekulami vzorku. To vyvolá emisi sekundárních elektronů, které jsou zachyceny speciálním senzorem a převedeny na digitální obraz. Velkou nevýhodou SEM je nemožnost použití na živé vzorky a vyžaduje zdlouhavou přípravu vzorku, vč. fixace a dehydratace. Vzhledem k tomu, že biofilm obsahuje až 97 % vody, může celková dehydratace vést k deformaci celé struktury (Wilson a kol., 2017).

Existují však modifikace SEM, jako je Kryo-SEM a environmentální skenovací elektronová mikroskopie (ESEM). Kryo-SEM umožňuje uchování biofilmů ve zmrazeném hydratovaném stavu. Po rozlomení zmrazeného vzorku se odhalí strukturní detaily roviny zlomu a vnitřní struktura biofilmu. ESEM zachovává integritu biofilmu v přirozeném stavu. Neupravený vzorek je umístěn do komory s proměnným tlakem místo do komory s vakuem, což umožňuje vizualizaci snímků hydratovaných živých bakteriálních biofilmů (Azeredo a kol., 2017).

Také rastrovací elektrochemickou mikroskopii (SECM) lze využít k zobrazení biofilmu. Tato metoda hodnotí bioelektrické proudy pomocí malých mikroelektrod. Sondou je skenován povrch biofilmu a redoxní procesy kolem vzorku. SECM může poskytnout 3D mapu prostředí a také ji lze využít k hodnocení růstu a metabolického potenciálu biofilmů. Další možnost využití je hodnocení povrchu biofilmu, zejména faktorů virulence. Hlavní výhodou SECM je nedestruktivnost a možnost použití v reálném čase. Tato metoda má však i svá omezení, zejména dlouhou dobu skenování a nemožnost skenovat velké a drsné povrchy (Cleaver a Garnett, 2023).

Spektroskopické metody se k detekci biofilmu také využívají. Jedná se zejména o infračervenou spektroskopii a Ramanovu spektroskopii. Infračervená spektroskopie detekuje chemické signály prostřednictvím absorpce světla, zatímco Ramanova spektroskopie detekuje rozptyl světla. Obě metody poskytují klíčové informace o struktuře a mezibuněčné komunikaci (Wilson a kol., 2017).

Biofilm lze detektovat také pomocí molekulárně-biologické analýzy. Příkladem takové metody je transkriptomika. Jedná se o analýzu kompletních mRNA transkriptů buněk, což odhaluje rozdíly v genové expresi mezi různými buňkami. Tato metoda poskytuje informace o aktivitě biofilmů. Především prostorová transkriptomika nabízí přehled o chování mikroorganismů na různých topografických místech v rámci biofilmu. Tato informace přispívá k lepšímu porozumění jejich interakcí a chování v rámci komplexního mikrobiálního společenství (Clever a Garnett, 2023).

## 2 DENTÁLNÍ BIOFILM

Ústní mikrobiom je jedním z nejsložitějších mikrobiálních společenství. Zahrnuje celou škálu různých mikroorganismů, např. bakterie, houby, viry, archea a prvoky (Zhang a kol., 2018). V dutině ústní je možné identifikovat až 700 druhů bakterií, což z ní činí duhou největší bakteriální komunitu lidského těla (Radaic a Kapila, 2021). Různorodá prostředí dutiny ústní (např. sliny, epitelové sliznice, hřbet jazyka nebo povrch zubů) poskytují ideální podmínky pro růst mikrobiálních společenstev. Růst je navíc podpořen vlastnostmi povrchů umožňujících adhezi, přítomností kyslíku a dalších látek přiváděných slinami (Valm, 2019).

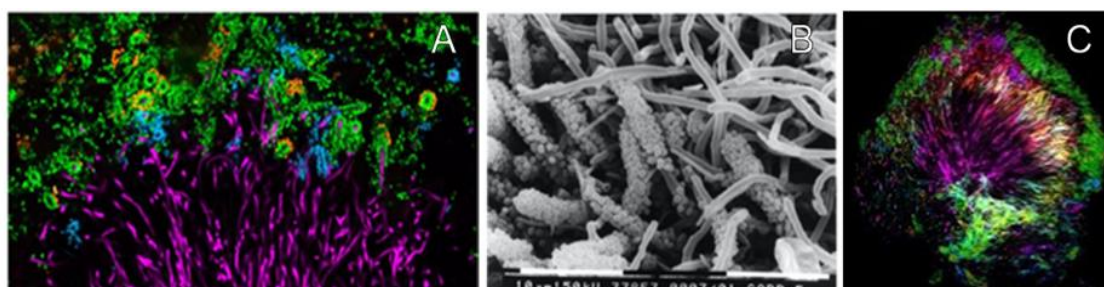
Kolonizace sliznice dutiny ústní je ve srovnání s ostatními povrchy omezená. Na bukalní sliznici najdeme jen monovrstvy bakterií, které pravidelně vznikají a zanikají. Oproti tomu na jazyku se již vyskytují vícevrstvé bakteriální povlaky podobné biofilmu. Předpokládá se tedy, že jazyk osídluje větší množství rozmanitějších mikroorganismů ve srovnání s ostatními slizničními povrchy. Na zubech je však míra kolonizace ještě větší. Jejich neodlupující se povrch totiž poskytuje vhodné prostředí pro vývoj biofilmu. Zubní plak se tvoří postupnou kolonizací různými mikroby a zůstává v průběhu času stabilní (Zhang a kol., 2018).

Kolonizace povrchu zubu probíhá ve více fázích. Nejprve vznikne na čisté zubní sklovině vrstva glykoproteinů, tzv. získaná pelikula. Bakterie se na tuto vrstvu vážou pomocí afinitních adhezínů, jež interagují se substráty v pelikule (Abranches a kol., 2018). Tyto bakterie označujeme jako ranné kolonizátory a patří mezi ně hlavně orální streptokoky a následně také Gram-pozitivní tyčinky, a to hlavně *Actinomyces* (Larsen a Fiehn, 2017). Později toto prostředí kolonizují bakterie, např. *Fusobacterium*, které rozpoznávají proteinové či polysacharidové receptory na povrchu ranných kolonizátorů. Po rozpoznání receptoru se naváží na ranné kolonizátory a vytvoří se tak komplexní biofilm (Huang a kol., 2011; Larsen a Fiehn, 2017). Bakterie jsou během vývoje biofilmu metabolicky aktivní a využívají endogenní živiny přiváděné především slinami. Díky tomu se tvoří extracelulární matrice, bakterie ještě lépe přilnou k povrchu a jsou více chráněny před působením mechanických vlivů zahrnujících pohyby jazyka či oplachování tekutinami (Heller a kol., 2016).

### 2.1 Struktura dentálního biofilmu

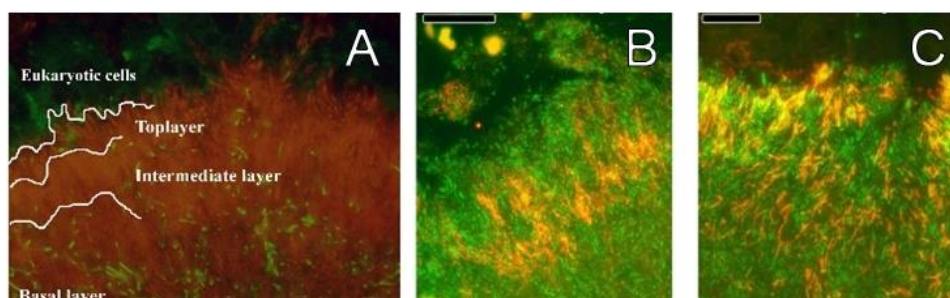
Bakterie se na zubním povrchu vyskytují ve dvou formách, a to buď jako subgingivální biofilm (pod dásní), nebo jako supragingivální biofilm (nad dásní). Složení a struktura těchto dvou typů biofilmů se mírně liší (Zhang a kol., 2018). V supragingiválním plaku se vyskytují

především bakteriální kmeny *Firmicutes* a *Actinobacteria*. Tyto bakterie jsou uspořádané ve formě dlouhých vláknitých struktur a na jejich okrajích se nachází kokovité bakterie. Svým vzhledem připomínají kukuřičné klasy (Obrázek 3) (Radaic a Kapila, 2021). Pomocí fluorescenční *in situ* hybridizace bylo podrobněji prozkoumáno prostorové uspořádání dentálního biofilmu. Byla zjištěna jeho složitá struktura tvořená hustou sítí vláken. Tato struktura se označuje jako „ježek“, a to kvůli jejím ostnatým a radiálně orientovaným vláknům (Obrázek 3) (Mark Welch a kol., 2016).



**Obrázek 3:** Struktura supragingiválního biofilmu; A, B – struktura podobná „kukuřičnému klasu“; C – struktura označovaná jako „ježek“ (upraveno dle Mark Welch a kol., 2016)

V subgingiválním biofilmu se vyskytují převážně kmeny *Fusobacteria*, *Actinobacteria* či *Spirocheta*. Tyto biofilmy jsou uspořádány většinou do čtyř různých vrstev. Jednotlivé vrstvy jsou znázorněny na Obrázku 4. Bazální vrstva se nachází v blízkosti zubního povrchu a vyskytují se v ní především *Actinomyces* spp. Druhá vrstva je složena z větvenovitých bakterií, např. kmenů *Fusobacteria* či *Bacteroidetes* a třetí vrstvu tvoří vláknité, tyčkovité a kokoidní bakterie spadající do shluku *Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides*. Na povrchu biofilmu je výstelková vrstva, která je v těsném kontaktu s eukaryotními buňkami (Radaic a Kapila, 2021).



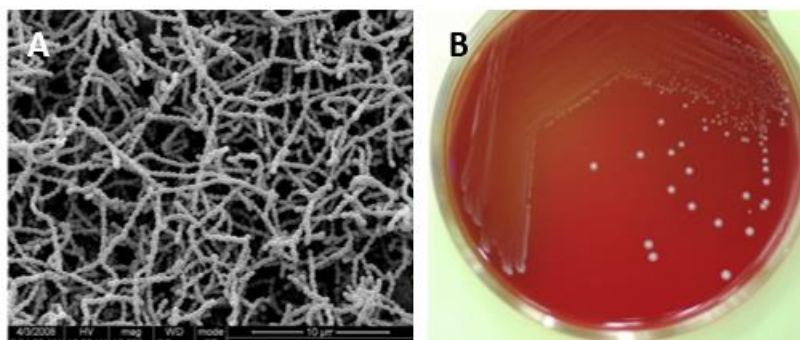
**Obrázek 4:** Vrstvy subgingiválního biofilmu; A – zeleně znázorněny buňky *Actinomyces*; B – žlutě znázorněn *Fusobacterium nucleatum*; C – žlutě znázorněny buňky *Tannerella* sp. (upraveno dle Zijnga a kol., 2010)

## 2.2 Bakterie v dentálním biofilmu

V ústní mikroflóře člověka můžeme najít 50–200 druhů bakterií. Většina z nich patří do jednoho ze šesti hlavních kmenů, a to *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Fusobacteria*, *Proteobacteria* a *Spirochaetes* (Valm, 2019).

### 2.2.1 Orální streptokoky

Orální streptokoky představují skupinu bakterií rodu *Streptococcus*. Patří mezi ně druhy jako *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis* a *Streptococcus gordonii*. Streptokoky jsou Gram-pozitivní, fakultativně anaerobní koky uspořádané ve dvojicích nebo řetězcích (Obrázek 5). Bakterie tohoto rodu netvoří spory a jsou nepohyblivé. Kultivují se na krevním agaru, na kterém rostou v bílých kulatých koloniích s  $\alpha$ -hemolýzou (viridace), jak je znázorněno na Obrázku 5. Optimální podmínky pro růst tvoří prostředí s nízkým obsahem kyslíku, 5–10 % CO<sub>2</sub> a teplota 25–45 °C (ideálně 37 °C). Orální streptokoky jsou biochemicky velice aktivní (např. fermentace sacharidů, hydrolyza eskulinu). Patří k primárním kolonizátorům při vývoji dentálního biofilmu a řadí se mezi podmíněné patogeny (Zhou a Li, 2015a).



**Obrázek 5:** Orální streptokoky; A – řetězky *S. salivarius* při pozorování v elektronovém mikroskopu; B – kolonie *S. mutans* na krevním agaru (upraveno dle Zhou a Li, 2015a)

*Streptococcus mutans* je nejvýznamnější druh z tohoto rodu. Je schopen fermentovat mannitol, sorbitol, rafinózu, laktózu, inulin, manózu, a to zejména za vzniku kyselin. Hydrolyzuje eskulin, ale nikoliv arginin a želatinu. Také neprodukuje peroxid vodíku (Zhou a Li, 2015a). *Streptococcus mutans* se přirozeně vyskytuje na povrchu zubů a je považován za hlavního původce zubního kazu (Huang a kol., 2011). Mezi hlavní faktory virulence patří schopnost produkce velkého množství organických kyselin, schopnost přežít v nízkém pH a

také schopnost tvořit extracelulární glukagon. Glukagon je zásadní pro počáteční adhezi, kolonizaci a akumulaci na povrchu zubu (Lemos a kol., 2013).

*Streptococcus salivarius* je druh streptokoka fermentující glukózu, sacharózu, maltózu, rafinózu, inulin, salicin a kyselinu mléčnou. Dokáže hydrolyzovat eskulin a močovinu. Na agarových plotnách tvoří mukózní kolonie, což je charakteristické pro tento druh (Zhou a Li, 2015a). Tyto bakterie kolonizují dutinu ústní a horní cesty dýchací již několik hodin po narození dítěte. Kolonizace napomáhá bezpečnému osidlování těchto tkání dalšími bakteriemi (Julák, 2012). Avšak *Streptococcus salivarius* byl identifikován také u lidí s endokarditidou (Zhou a Li, 2015a).

*Streptococcus sanguinis* fermentuje glukózu, maltózu, sacharózu, trehalózu a salicin za vzniku kyselin. Dokáže hydrolyzovat eskulin. Tvoří peroxid vodíku, což se využívá k odlišení od druhu *Streptococcus mutans*. Na kultivační půdě se sacharózou rostou v drsných koloniích se vzhledem broušeného skla. Tyto bakterie jsou hlavní složkou zubního plaku. Syntetizují kyselinu para-aminobenzoovou a tvoří tak vhodné prostředí pro množení dalších druhů streptokoků, zejména *Streptococcus mutans* (Zhou a Li, 2015a). Zároveň jsou považovány za klíčové probiotikum a jsou spojovány s výskytem na zdravých parodontálních tkáních. Výše zmíněnou produkcí peroxidu vodíku totiž inhibují růst anaerobních parodontálních patogenů (Huang a kol., 2011). Při poranění v dutině ústní se *Streptococcus sanguinis* může dostat do krevního oběhu, kolonizovat srdeční chlopně a podílejí se také na vzniku endokarditidy (Julák, 2012).

### 2.2.2 *Actinomyces naeslundii*

*Actinomyces naeslundii* je Gram-pozitivní fakultativně anaerobní bakterie, jejíž tvar připomíná tyčku až štíhlé vlákno. Mohou se však větvit a mohou být uspořádány v palisádách, krátkých řetízcích či ve shlucích. Tyto bakterie netvoří spory, nejsou acidorezistentní a ani pohyblivé. Test na katalázu je negativní, ale dokáží fermentovat glukózu na kyselinu octovou, mléčnou či jantarovou (Feingold a Meislich, 2018; Zhou a Li, 2015a). Kultivace těchto bakterií trvá až 20 dní a tvoří drsné, pavučinovitě, někdy pigmentované kolonie. Na krevním agaru není patrná hemolýza (Zhou a Li, 2015a). Mají nízkou virulenci a vyskytují se jako běžný komenzál v ústní dutině, střevech a pochvě (Bhandari a Gonzales Zamora, 2017).

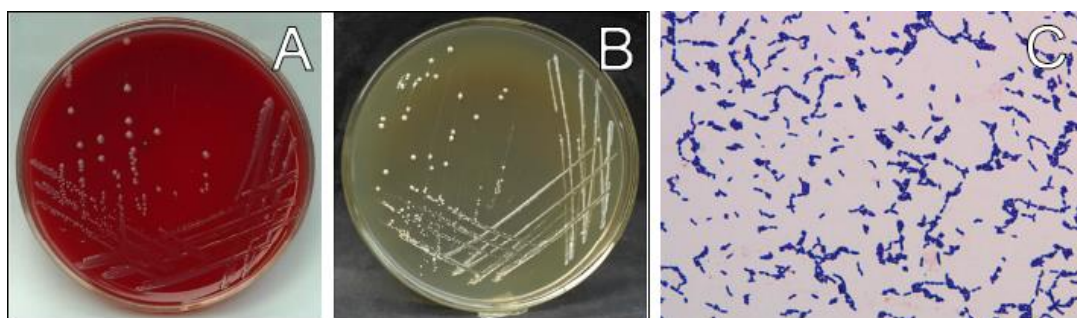
V dutině ústní patří k ranným kolonizátorům při tvorbě dentálního biofilmu. V počáteční fázi růstu biofilmu pomáhají udržovat ekologickou rovnováhu acidifikací biofilmu. *Actinomyces naeslundii* totiž přeměňují laktát na slabší kyseliny za vzniku dusitanu, který

inhibuje tvorbu kyselin (de Oliveira a kol., 2020). Pokud je biofilm starší, může se podílet na vzniku zubního kazu a onemocnění parodontu. Chrání totiž mnoho dalších mikrobiálních druhů před účinky peroxidu vodíku, který spotřebovává při oxidaci bílkovin (Huang a kol., 2011).

### 2.2.3 *Lactobacillus casei*

*Lactobacillus casei* patří mezi Gram-pozitivní anaerobní bakterie, typicky se vyskytuje ve formě pravidelných tyček. Většinou je uspořádán v palisádách či řetízcích. Tento bakteriální druh nesporeluje a výjimečně je schopen pohybu. Jedná se o fakultativně heterofermentativní bakterii fermentující hexózy a pentózy na kyselinu mléčnou a octovou (Zhou a Li, 2015a). *Lactobacillus* dobře roste v širokém rozmezí pH a teplot (Julák, 2012). Pro kultivaci se běžně využívají média jako krevní agar, BHI a Rogosa agar. Na těchto půdách tvoří mléčně bílé, zaoblené, hladké a neprůhledné kolonie o průměru přibližně 1 mm. Tyto charakteristické kolonie jsou zobrazeny na Obrázku 6. Tento druh bakterie kolonizuje zejména střevo, dutinu ústní a pochvu. Rovněž se přirozeně vyskytuje v mléce a mléčných produktech (Zhou a Li, 2015a).

V dutině ústní je běžně detekován v zubním plaku. Většinou se vyskytuje v malé buněčné denzitě, protože má nízkou afinitu k povrchu zubů. Jejich přilnutí k zubům je však podporováno bakteriemi *Streptococcus mutans*, které laktobacilům poskytují glukosyltransferázové enzymy. Kvůli hojné produkci kyseliny mléčné a růstu v širokém rozmezí pH je tato bakterie spojována s tvorbou zubního kazu (Huang a kol., 2011).



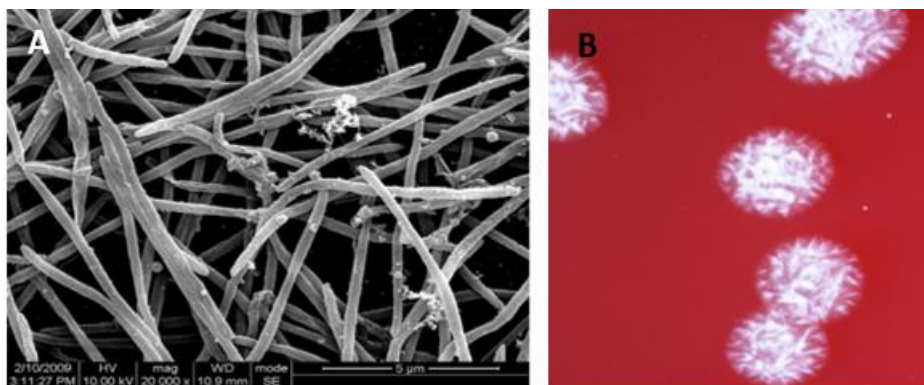
**Obrázek 6:** *Lactobacillus casei* na kultivačních půdách; A – krevní agar; B – Rogosa agar; C – buňky *L. casei* obarvené dle Grama (upraveno dle Zhou a Li, 2015a)

### 2.2.4 *Fusobacterium nucleatum*

*Fusobacterium nucleatum* jsou Gram-negativní obligátně anaerobní bakterie štíhlého, vřetenovitého tvaru, jak je vidět na Obrázku 7. Tyto bakterie netvoří spory a nepohybují se. Nevykazují přílišnou biochemickou aktivitu, ale jsou schopné produkovat indol a DNÁzu.

Většina kmenů produkuje sulfan a může aglutinovat erythrocyty. Kultivace probíhá na krevním agaru, na kterém tvoří nepravidelné, průsvitné kolonie se zápachem (Zhou a Li, 2015b). Tento druh je běžně přítomný např. v dutině ústní, gastrointestinálním traktu a sliznici horních dýchacích cest (Chen a kol., 2022).

*Fusobacterium nucleatum* je převládající bakterií ve zralém dentálním biofilmu a její schopnost koagregace s jinými bakteriálními druhy je klíčová pro spojení mezi primárními a sekundárními kolonizátory (Huang a kol., 2011). Koagregace je zprostředkována specifickými proteiny a receptory ve vnější membráně. Např. RaD, CmpA a Aid1 umožňují připojení k časným kolonizátorům, zatímco FomA a Fap2 podporují agregaci s pozdními kolonizátory. Pomocí těchto interakcí se může sdružovat s různými dalšími bakteriemi v dutině ústní. Může tak koagregovat i s parodontálními patogeny a tím podpořit tvorbu a zrání plaku způsobujícího parodontální onemocnění (Chen a kol., 2022).



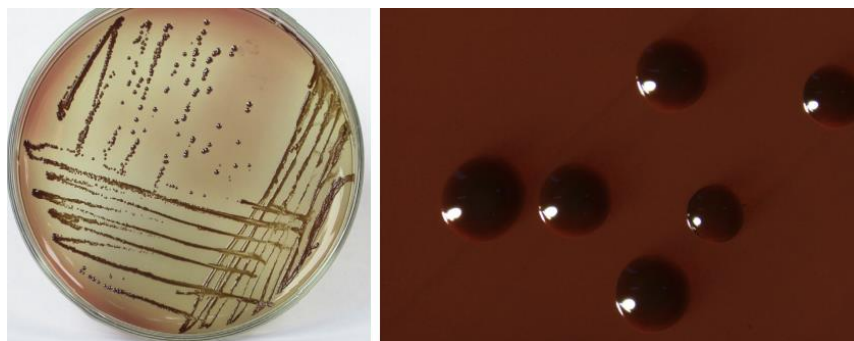
**Obrázek 7:** *Fusobacterium nucleatum*; A – buňky *Fusobacterium nucleatum* pozorované elektronovým mikroskopem; B – charakteristické kolonie *Fusobacterium* na krevním agaru (upraveno dle Zhou a Li, 2015b)

### 2.2.5 *Porphyromonas gingivalis*

*Porphyromonas gingivalis* jsou Gram-negativní, obligátně anaerobní krátké tyčky. Tyto bakterie jsou nesporulující a nepohyblivé. Optimální teplota růstu je 37 °C a ke kultivaci se využívá krevní agar nebo PYG agar. Na těchto agarech tvoří lesklé, vypouklé, tmavé kolonie s hladkým povrchem, jak je znázorněno na Obrázku 8. K růstu vyžadují hemoglobin a vitamin K1 (Zhou a Li, 2015b). *Porphyromonas gingivalis* jsou asacharolytické bakterie a energii získávají fermentací aminokyselin. Mezi hlavní faktory virulence patří kapsida, fimbrie, proteinázy, enzymy a lipopolysacharidy spojené s vnější membránou. Tyto bakterie mohou produkovat inhibitory proteináz či imunoglobuliny (Holt a kol., 1999). Rovněž produkují řadu

kyselin, vč. kyseliny máselné, octové a v menší míře propionové, izomáselné a fenylactové (Zhou a Li, 2015b).

Tyto bakterie se přirozeně vyskytují v dutině ústní a významně se podílí na vzniku parodontitidy. K jejímu rozvoji přispívá zejména produkce kyseliny máselné a lipopolysacharidů. Kyselina máselná ovlivňuje adhezní molekuly v gingiválních epiteliálních buňkách. Lipopolysacharidy stimulují protizánětlivé cytokiny, osteoklasty a kostní tkáň, což může vést k onemocnění dutiny ústní (Mysak a kol., 2014).



**Obrázek 8:** Kolonie *Porphyromonas gingivalis* na krevním agaru (upraveno dle Zhou a Li, 2015)

### 2.2.6 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* jsou Gram-negativní fakultativně anaerobní krátké tyčky. Buňky mohou být uspořádány jednotlivě, ve dvojicích nebo výjimečně v řetězcích. Jedná se o nepohyblivé a nesporulující bakterie. Pro kultivaci jsou vhodné krevní agary, na kterých tvoří kulaté bílé kolonie. Optimální podmínky pro růst zahrnují teplotu 37 °C a mikroaerofilní prostředí s 5–10 % CO<sub>2</sub>. Tento rod je pozitivní na přítomnost katalázy, oxidázy a ureázy a může redukovat dusičnany. Také fermentuje fruktózu, glukózu, maltózu a manózu, při čemž produkuje organické kyseliny. Bakterie se vyskytují v subgingiválním plaku dutiny ústní. Převážně se vyskytují u lidí s parodontitidou, ale můžeme je detekovat též u zdravých jedinců (Zhou a Li, 2015b).

Mezi hlavní faktory virulence patří adhezivní pili typu IV, exopolysacharidy, exotoxiny (leukotoxin, cytoletální distenční toxin), lipopolysacharidy a různé enzymy. Leukotoxin je jedním z hlavních virulentních faktorů, který může poškozovat imunitní systém hostitele a zvyšovat riziko ztráty parodontálního úponu. Lipopolysacharid hraje zásadní roli v úbytku alveolární kosti, protože indukuje infiltraci zánětlivých buněk (makrofágy, polymorfonukleáry a lymfocyty) do oblasti postižené parodontitidou, což vede k resorpci kosti a poškození parodontální tkáně (Gholizadeh a kol., 2017).

## 2.2.7 Další bakterie dentálního biofilmu

Kromě výše uvedených bakterií můžeme v dentálním biofilmu dále detekovat např. *Actinomyces viscosus*, *Bifidobacterium dentium* či *Lactobacillus reuteri*. Příklady dalších významných bakterií a jejich vliv na dutinu ústní jsou uvedené v Tabulce 1.

*Tabulka 1: Bakterie vyskytující se v dentálním biofilmu a jejich vliv na dutinu ústní (upraveno dle Das a kol., 2023; Zhou a Li, 2015a; Zhou a Li, 2015b)*

Název bakterie	Čeleď	Gramovo barvení	Vliv na zdraví dutiny ústní
<i>Actinomyces viscosus</i>	<i>Actinomycetaceae</i>	Gram-pozitivní	Podíl v počátečním vývoji zubního plaku, může způsobovat kaz kořenů zubů
<i>Bifidobacterium dentium</i>	<i>Bifidobacteriaceae</i>	Gram-pozitivní	Součást zdravé mikroflóry dutiny ústní
<i>Corynebacterium matruchotii</i>	<i>Corynebacteriaceae</i>	Gram-pozitivní	Tvorba zubního plaku a parodontitidy
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Lactobacillaceae</i>	Gram-pozitivní	Příznivě ovlivňuje zdraví dutiny ústní, prevenci zánětu dásní a kazů
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Lactobacillaceae</i>	Gram-pozitivní	Zabraňuje tvorbě zubního plaku, prevence gingivitidy
<i>Neisseria</i> spp.	<i>Neisseriaceae</i>	Gram-negativní	Součástí normální ústní mikroflóry, udržuje zdravé prostředí ústní dutiny
<i>Prevotella intermedia</i>	<i>Prevotellaceae</i>	Gram-negativní	Asociace s těžkými formami parodontitidy
<i>Rothia dentocariosa</i>	<i>Micrococcaceae</i>	Gram-pozitivní	Součást zdravé mikroflóry dutiny ústní
<i>Streptococcus mitis</i>	<i>Streptococcaceae</i>	Gram-pozitivní	Součást zdravé mikroflóry dutiny ústní
<i>Streptococcus oralis</i>	<i>Streptococcaceae</i>	Gram-pozitivní	Tvorba zubního plaku, spojen s infekční endokarditidou
<i>Tannerella forsythia</i>	<i>Porphyromonadaceae</i>	Gram-negativní	Patogen agresivní parodontitidy
<i>Veillonella</i> spp.	<i>Veillonellaceae</i>	Gram-negativní	Součást zdravé mikroflóry dutiny ústní

## 2.3 Klinické dopady dentálního biofilmu

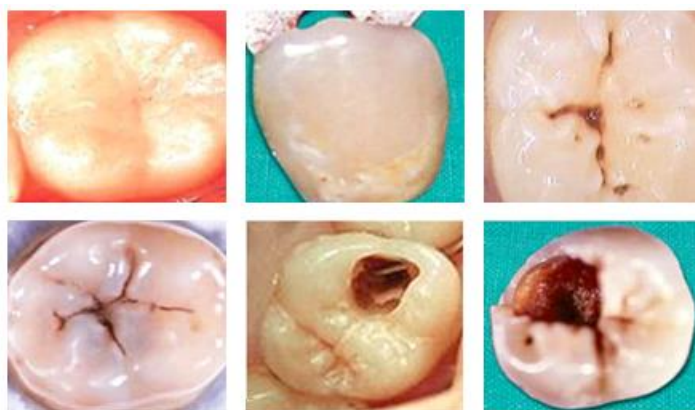
V ústním mikrobiomu zdravého jedince převažují za normálních podmínek neškodné bakterie, můžeme zde ale najít i ty patogenní. Bakterie se v biofilmu vyskytují v homeostáze. Tato rovnováha podporuje vzájemné soužití, aniž by docházelo k poškozování mikroorganismů

nebo hostitele. V případě narušení rovnováhy se mikrobiom dostává do stavu dysbiózy. Nejčastěji je to způsobeno nedostatečnou ústní hygienou, nadbytečným příjmem sacharidů nebo užíváním tabáku. V dysbiotickém biofilmu převažují patogenní mikroorganismy, které způsobují zubní kaz, gingivitidu či parodontitidu (Radaic a Kapila, 2021).

### **2.3.1 Zubní kaz**

Zubní kaz je celosvětově nejčastější onemocnění dutiny ústní. Neléčeným zubním kazem trpí asi 2,5 miliardy dospělých a 573 miliónů dětí na celém světě. Jedná se o multifaktoriální onemocnění ovlivněné mnohými mikrobiálními, genetickými a environmentálními faktory (Zhang a kol., 2022). Zubní kaz je charakterizován jako lokální destrukce tvrdých tkání zubu, dentinu a skloviny (Peres a kol., 2019). Zubní kaz vzniká v případě změny normální ústní mikroflóry na acidogenní, acidurickou a kariogenní populaci. Tato změna je způsobena častou konzumací cukrů (Rathee a Sapra, 2023).

K destrukci zubu dochází v důsledku produkce organických kyselin (hlavně kyselina mléčná), kterou bakterie produkují jako vedlejší produkt při fermentaci sacharidů (Valm, 2019). V procesu tvorby zubního kazu se střídá období demineralizace a remineralizace (Peres a kol., 2019). Vysoký příjem sacharidů tak vede ke zvýšené produkci kyselin. Tím dojde ke snížení pufrovací kapacity slin a vzniká prostředí s nízkým pH (Zhang a kol., 2018). Při poklesu pH dochází k demineralizaci povrchové vrstvy zubu, zvětšuje se pórovitost skloviny, rozšiřují se prostory mezi krystaly a povrch měkne. Kyseliny se tak mohou dostat hlouběji do struktury zubu a demineralizovat jej pod povrchem. V tomto okamžiku se na povrchu skloviny hromadí vápník a fosfát (reakční produkty demineralizace). Tyto produkty mohou sklovinu chránit před dalším úbytkem minerálů. Pokud jsou sacharidy z dutiny ústní odstraňovány mohou sliny díky pufrovací kapacitě vrátit pH biofilmu do neutrálních hodnot. Vápník, fosfát a fluorid tak mohou remineralizovat povrch zubu. Pokud kyselé podmínky přetrvávají poklesne pH pod kritický bod a úbytek minerálů je vyšší pod povrchem než na povrchu zubu a dochází k tzv. podpovrchové lézi. Při dostatečné ztrátě minerálů se na zubu objeví viditelná bílá skvrna (první náznak tvorby zubního kazu) (Rathee a Sapra, 2023). Tento stav lze zastavit, a to hlavně působením fluoridu (Peres a kol., 2019). Pokud kaz dále postupuje, vzniká ve sklovině mikrodutina. Povrchové léze se časem zhroutí a v zubu zůstane makroskopický otvor (Rathee a Sapra, 2023). Tento stav většinou způsobuje značnou bolest, může způsobit infekci, sepsi a nakonec i ztrátu zubu (Peres a kol., 2019). Proces vzniku zubního kazu je znázorněn na Obrázku 9.



**Obrázek 9:** Proces vzniku zubního kazu (upraveno dle Gugnani a kol., 2011)

Pátrání po příčinách zubního kazu sahá až do roku 5000 př. n. l. V této době sumerské texty popisovaly „zubního červa“ jako původce zubního kazu. Koncem 19. století byla navržena „chemoparazitická teorie zubního kazu“. Tato teorie vycházela z předpokladu, že konzumované sacharidy jsou vlivem mikroorganismů přeměňovány na kyseliny, což vede k demineralizaci zubu. Kvůli omezeným možnostem kultivace však nebyl identifikován žádný konkrétní druh. Teprve až ve 20. století byly identifikováni původci zubního kazu, a to *Streptococcus mutans* a některé druhy rodu *Lactobacillus* (Radaic a Kapila, 2021). Zubní kaz však může vzniknout i bez přítomnosti těchto bakterií, stejně tak tyto druhy mohou být přítomny i bez vzniku zubního kazu (Larsen a Fiehn, 2017). V současné době platí hypotéza o vzniku zubního kazu, podle které není zubní kaz způsoben specifickým druhem mikroorganismů působícím samostatně, ale je výsledkem posunu mikrobioty zubního biofilmu směrem k více kariogenním a acidotolerantním druhům (Rathee a Sapra, 2023). Tento posun je zapříčiněn zvýšeným příjmem zkvasitelných sacharidů, nedostatečnou ústní hygienou nebo snížením průtoku slin v důsledku podávání léků (Larsen a Fiehn, 2017).

Molekulárně-biologické studie založené na analýze sekvence genu 16S rRNA odhalily, že mikroflóra zubního kazu je velice složitá. Kromě sacharidy fermentujících orálních streptokoků zahrnuje zubní kaz dále také bakterie rodů *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Atopobium*, *Propionibacterium*, *Scardovia* a *Veillonella* (Zhang a kol., 2018). Konkrétní druhy některých bakterií způsobující zubní kaz jsou uvedené v Tabulce 2.

**Tabulka 2:** Vybrané bakterie související se vznikem zubního kazu (Zhang a kol., 2022)

Mikrobiální druh	Infikovaná tkáň	Role při tvorbě zubního kazu
<i>Streptococcus mutans</i>	Sklovina, dentin	Iniciace a progresse zubního kazu
<i>Streptococcus sobrinus</i>	Neposouzeno	Neposouzeno
<i>Lactobacillus salivarius</i>	Dentin	Progrese zubního kazu

**Tabulka 2: Pokračování** Vybrané bakterie související se vznikem zubního kazu (Zhang a kol., 2022)

Mikrobiální druh	Infikovaná tkáň	Role při tvorbě zubního kazu
<i>Lactobacillus gasseri</i>	Dentin	Progrese zubního kazu
<i>Lactobacillus fermentum</i>	Dentin	Progrese zubního kazu
<i>Lactobacillus casei</i>	Dentin	Progrese zubního kazu
<i>Actinomyces israelii</i>	Neposouzeno	Iniciace a progrese zubního kazu
<i>Actinomyces gerencseriae</i>	Neposouzeno	Iniciace a progrese zubního kazu
<i>Actinomyces naeslundii</i>	Neposouzeno	Iniciace a progrese zubního kazu
<i>Scardovia wiggsiae</i>	Dentin	Progrese zubního kazu
<i>Bifidobacterium dentium</i>	Dentin	Progrese zubního kazu
<i>Bifidobacterium longum</i>	Dentin	Progrese zubního kazu
<i>Bifidobacterium breve</i>	Dentin	Progrese zubního kazu
<i>Prevotella melaninogenica</i>	Sklovina a dentin	Progrese zubního kazu
<i>Veillonella dispar</i>	Sklovina a dentin	Iniciace a progrese zubního kazu
<i>Veillonella parvula</i>	Sklovina a dentin	Iniciace a progrese zubního kazu
<i>Veillonella denticariosi</i>	Sklovina a dentin	Iniciace a progrese zubního kazu

### 2.3.2 Parodontitida

Parodontitida je multifaktoriální zánětlivé onemocnění spojené s expanzí mikroorganismů na okraji dásně (Valm, 2019). Při parodontitidě dochází k destrukci podpůrného aparátu zubu, jako jsou vazy či alveolární kost (Obrázek 10). V konečném důsledku může dojít ke ztrátě zubu (Kwon a kol., 2021). Kromě toho parodontální onemocnění může souviset s některými systémovými onemocněními, a to např. s kardiovaskulárními chorobami či revmatoidní artritidou. Také může mít negativní vliv na těhotenství (Valm, 2019).

Parodontitida se dělí do dvou typů – chronická a agresivní. Chronická parodontitida se vyskytuje asi u 50 % populace nad 50 let. Toto onemocnění vzniká, pokud je supragingivální biofilm ponechán bez zásahu. Tento biofilm se rozšíří do parodontální kapsy a vytvoří subgingivální biofilm. Biofilm a probíhající zánět prohlubují parodontální kapsy a ničí parodontální vlákna zajišťující uchycení zubů v kosti. Tato destrukce je nevratná, a tak může dojít ke ztrátě zubu. Agresivní parodontitida se vyvine jen u malého procenta dospělých. Při agresivní parodontitidě může dojít k destrukci tkáně velice rychle a může být obtížné zastavit progresi tohoto onemocnění. I tento typ parodontitidy je iniciován bakteriemi v subgingiválním biofilmu. Navíc ještě může být spojena s funkčními abnormalitami neutrofilů či jiných částí imunitního systému (Larsen a Fiehn, 2017).

Parodontitida vzniká postupným ukládáním zubního plaku. V prostředí tak dochází k přechodu z aerobních na anaerobní podmínky. Díky tomu mohou zub kolonizovat anaerobní bakterie. Právě anaerobní bakterie jsou spojeny s parodontálním onemocněním (Mehrotra

a Singh, 2023). Nejvíce se na něm podílí bakterie jako *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* a *Tannerella forsythia*. Sekvenačními technologiemi byla objevena řada dalších mikrobiálních druhů spojených s tímto onemocněním, např. *Filifactor alocis*, *Peptostreptococcus stomatis*, *Prevotella*, *Synergistes*, *Megasphaera*, *Selenomonas* či *Desulfobulbus* (Zhang a kol., 2018). U lokalizované agresivní parodontitidy mladistvých byl navíc detekován *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* sérotyp b (Larsen a Fiehn, 2017).



**Obrázek 10:** Parodontitida s vrstvou zubního kamene (Jakubovics a kol., 2021)

## 2.4 Detekce dentálního biofilmu

Detekce zubního plaku je důležitou složkou v oblasti ústní hygieny. Správná detekce dentálního plaku zlepšuje účinnost dezinfekce úst a může výrazně snížit výskyt parodontálních onemocnění či zubního kazu (Grassi a kol., 2022).

Vizuální detekce zubního plaku je obtížná. Zubní plak a povrch zubu jsou těžko odlišitelné, proto se zubní plak barví detekčními roztoky (Obrázek 11). Jako barviva lze použít erythrosin či brilantní modř. Barvivo zbarví zubní plak na základě hodnoty pH. Nový zubní plak je po obarvení červený, zatímco starší zubní plak je modrý (Oh a kol., 2019). Od zobrazování zubního plaku pomocí barviv se však upouští. Tato metoda nemusí být spolehlivá kvůli nízké citlivosti. Navíc je problém, že barvivo zbarví nejen zubní plak, ale i měkkou tkáň, což může snížit jeho specifitu a způsobit estetické problémy (Cardoso a kol., 2021). Častěji využívanou vizuální metodu detekce zubního plaku se stala detekce červené fluorescence po excitaci modrým světlem (Obrázek 11). Tato fluorescence pravděpodobně pochází z porfyrinů syntetizovaných anaerobními orálními bakteriemi (Liu a kol., 2017). Intenzita fluorescence souvisí se zralostí biofilmu. Starší a silnější biofilm má vyšší intenzitu červené fluorescence než méně zralý biofilm (Cardoso a kol., 2021).



**Obrázek 11:** Vizualizace zubního plaku (upraveno dle Oh a kol., 2019; van der Veen a kol., 2016)

K detekci zubního plaku se začínají využívat i neuronové sítě umělé inteligence. Hlavní složkou neuronové sítě je umělý neuron. Jejich skládáním a propojením pomocí matematických operací se vytváří síť. Tato síť má za cíl vyřešit konkrétní úkol – na základě klasifikace snímku určit, zda je detekován zubní kaz. Pokud je k dispozici dostatek dat a výpočetních zdrojů, lze neuronové sítě trénovat (Schwendicke a kol., 2020). Velký potenciál má umělá inteligence v diagnostice zubního plaku u dětí. Na mléčném zubu je obtížné odlišit plak od povrchu zubu, a navíc je plak většinou přítomen v omezeném množství. Klasické klinické metody identifikace plaku (explorátor, odhalovací roztok) jsou nepohodlné a časově náročné. Jako vhodnou alternativou se jeví právě umělá inteligence. Při porovnání přesnosti detekce zubního plaku umělou inteligencí a stomatologem nebyly pozorovány významné rozdíly. Je však zapotřebí dalšího vývoje metody. Je nutné získat větší množství dat (fotografií zubů), aby se zlepšila přesnost umělé inteligence. Také je potřeba zdokonalit algoritmus počítačového učení a v neposlední řadě je potřeba zjistit, na jakém principu model umělé inteligence rozpoznává plak. Pokud budou tato omezení odstraněna, mohl by být model umělé inteligence běžně používán také k detekci zubního plaku na stálých zubech či dokonce na zubních náhradách (keramické korunky, implantáty) (You a kol., 2020).

Existují i metody, kterými lze identifikovat bakterie v zubním plaku. Nejstarším způsobem jsou konvenční přístupy. Ty využívají vhodná selektivní kultivační média s následnou identifikací pomocí mikroskopu. V dentálním biofilmu se však nachází i bakterie, které nelze kultivovat. Z tohoto důvodu se používají modernější metody. Jednou z nich je detekce fragmentu genu 16S rRNA, který nese každá bakterie. Tato technika využívá metody založené na polymerázové řetězcové reakci. Může probíhat v jednom nebo více přístupech zahrnujících amplifikaci a sekvenování daného genu. Nevýhodou těchto testů je jejich omezení jen na detekci vybraného počtu patogenů (Ray, 2022). Další možností detekce biofilmu je metoda sekvenování nové generace. Pomocí této techniky lze sekvenovat 16S rRNA nebo i celý genom (metagenomika) mikrobiální komunity. Vysoce výkonné sekvenování 16S rRNA může definovat složení biofilmu na úrovni rodu či druhu. Sekvenování celého genomu může naopak

poskytnout taxonomické rozlišení na úrovni kmene či druhu. Genomové sekvenování navíc poskytuje informace o metabolických vlastnostech mikrobiálních společenstev (Zhang a kol., 2021).

## 2.5 Prevence a léčba dentálního biofilmu

Zdraví dutiny ústní je nedílnou součástí celkového zdraví a má zaručený vliv na kvalitu života. K udržení nebo zlepšení zdraví ústní dutiny je potřeba pravidelně odstraňovat zubní plak a bránit jeho hromadění na zubech a přilehlých gingiválních tkáních. K tomu lze použít mechanické a chemické metody. Nejrozšířenější prostředek pro pravidelnou ústní hygienu je **čištění zubů zubním kartáčkem**. Dodnes panuje neshoda o tom, jak často a jak dlouho si zuby čistit. Obecně uznávaným doporučením je čistit si zuby dvakrát denně alespoň 2 minuty (Valkenburg a kol., 2019). Primárním místem usazování zubního plaku jsou mezizubní prostory. Do těchto prostor se nelze účinně dostat vlákna zubního kartáčku, proto je nutné použít mezizubní kartáčky či dentální nitě. Důkladné čištění těchto míst významně pomáhá snižovat rozsah a závažnost zubního kazu a periodontálních onemocnění (Sälzer a kol., 2020). Pro zefektivnění odstranění plaku je vhodné použít také chemické techniky. Chemická činidla proti zubnímu plaku jsou běžnou součástí fluoridových zubních past či ústních vod. Zubní pasta obsahuje tradičně abraziva. Abraziva pomáhají odstranit zbarvení pelikul a vyleštit zuby. Další účinné látky v zubní pastě jsou např. enzymy, aminalkoholy, triklosan (antibakteriální a antimykotické účinky), kvarterní amoniové sloučeniny, chlorhexidin (k redukci zubního plaku a ústních bakterií), různé soli kovů (soli zinku) nebo fluorid cínatý (snižuje výskyt zubního kazu, antimikrobiální účinky). Fluoridové zubní pasty a jejich aktivní složky jsou používány jako preventivní opatření před vznikem zubního kazu (Valkenburg a kol., 2019).

V oblasti odstraňování orálního biofilmu se začaly využívat i **nanotechnologie**. Kovové a nekovové částice a jejich oxidy hrají významnou roli při eradikaci biofilmů. Jejich penetrabilita a zvýšená rozpustnost z nich činí skvělá média pro dodávání léčiv. Díky antimikrobiálním a antiadhezivním vlastnostem a snadnému přenosu jsou zvláště užitečné k odstraňování orálního biofilmu. K odstranění biofilmu v dutině ústní se nejčastěji používají nanočástice kovů a oxidů kovů (stříbro, měď, titan, zinek). Tyto kovy prokázaly vysoké antimikrobiální a antibiofilmové účinky. Lze je najít v některých produktech pro péči o zubní zdraví, např. v zubních pastách. Kromě anorganických částic lze k odstranění biofilmu použít i částice organické. Jedná se např. o grafen či chitosan. Většina nanočástic je navržena tak, aby reagovaly na změny prostředí. Např. mohou reagovat na pH, kdy při poklesu pH urychlí

uvolňování léčiva. Jiné nanomateriály mohou být citlivé na světlo či teplotu. Existují také polymerní nanočástice, jež se používají k transportu antibiofilmových činidel v různých formách, např. nanoemulze, nanovlákná či nanokapsle (Ray a Pattnaik, 2024).

Dysbiotický orální biofilm lze odstranit i s použitím antibiotik. Antibiotika však odstraní i komenzální bakterie, a navíc je zvýšené riziko rezistence bakterií vůči antibiotiku. Proto jsou zapotřebí nové antimikrobiální molekuly, jež by účinně modulovaly ústní dysbiósu. Jako vhodné řešení se ukázaly **antimikrobiální peptidy** (AMP). AMP mají široké spektrum antimikrobiální aktivity a mohou být účinné při eradikaci bakterií tvořících biofilm (Radaic a Kapila, 2021). Antimikrobiální peptidy mohou být přírodní nebo syntetické. Přírodní AMP jsou běžnou součástí imunitního systému a jsou tvořeny krátkými řetězci aminokyselin. Nejčastější mechanismus jejich působení je permeabilizace buněčné membrány (Jiao a kol., 2019). Ve stomatologii se AMP používají převážně jako povlaková činidla na implantátech (Das a kol., 2023).

Pro podporu zdravého ústního biofilmu se doporučuje použití **probiotika**, což jsou živé mikroorganismy prospěšné pro lidský organismus. Orální podávání probiotik potlačuje růst škodlivé mikroflóry a moduluje slizniční imunitu v dutině ústní. *In vitro* studie prokázaly, že některé kmeny laktobacilů a streptokoků izolované ze zdravé ústní dutiny mají antibakteriální aktivitu proti *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* a *Fusobacterium nucleatum*. Bylo zjištěno, že *Lactococcus lactis* produkuje neisin, který zabraňuje a narušuje tvorbu orálního biofilmu a má vliv na složení orálního biofilmu. Klinické studie ukázaly, že probiotika jsou schopna snížit zánět dásní, množství zubního plaku, úbytek alveolární kosti a modulovat protizánětlivé účinky. Nevýhodou probiotik je, že efektivní jsou pouze, pokud se dostane vysoký počet probiotických buněk do cílového místa (parodontální kapsa, zubní kaz). Mnoho probiotických buněk také umírá během zpracování potravinářských produktů v důsledku nízkého pH a kyslíku. Alternativou může být zapouzdření probiotik do mikro- a nanorozměrných systémů pro dodávání léčiv, které buňky chrání před faktory prostředí (Radaic a Kapila, 2021).

**Antimikrobiální fotodynamická terapie** (APDT) a **antimikrobiální sonodynamická terapie** (ASDT) jsou techniky používané k odstraňování infekcí spojených s orálním biofilmem. ASDT i APDT mají stejný mechanismus účinku, ale liší se způsobem aktivace senzibilizátorů. Oba produkují jako výsledek reakce reaktivní formy kyslíku (ROS). Principem fungování APDT je interakce mezi fotosenzibilizátorem a nízkoenergetickým laserovým světlem v přítomnosti kyslíku. Vznikají reaktivní formy kyslíku, jež mají baktericidní účinek. Fotosenzibilizátory mohou být aplikovány různými způsoby jako orální požití, intravenózní

injekce či topická aplikace. Oproti tomu ASDT využívá ultrazvukové vlny k aktivaci sonosenzibilátorů (Pourhajibagher a kol., 2024). U ASDT vznikne ROS po působení UV záření na sonosenzibilátor v přítomnosti kyslíku. Ultrazvuk způsobuje akustickou kavitaci mající za následek vznik, růst a kolaps plynových bublin. Kolaps bubliny uvolňuje energii, která je přeměněna na kyslík a vzniká ROS. ROS působí baktericidně, tzn. ničí buněčnou membránu a poškozují DNA (Pourhajibagher a kol., 2022).

K odstranění biofilmů se testuje také **použití mikro a nanorobotů**. Tyto roboty se pohybují po předem definovaných trasách, mohou dodávat antibiofilmová činidla. Díky malým rozměrům mohou proniknout i do špatně přístupných míst a účinněji zacílit léčbu. Jednou z výhod jejich velikosti je schopnost pronikat do matrice biofilmu a narušit jeho tvorbu, dokonce i odstranit již vytvořený biofilm (Ray a Pattnaik, 2024). Největší potenciální využití ve stomatologii mají magneticky pohánění roboti. Nejčastěji využívaní by mohli být šroubovítí nanoroboti z oxidu křemíku potaženého železem. Tento typ robotů se může dostat do kořenových kanálků a efektivněji odstranit biofilm komplikující léčbu dentálního onemocnění (Dasgupta a kol., 2022). Využití těchto technologií je zatím ve vývojové fázi. Můžeme však očekávat, že v blízké budoucnosti by mohly nanorobotické zubní pasty nahradit ty běžně dostupné (Ray a Pattnaik, 2024).

## 3 DALŠÍ ONEMOCNĚNÍ SPOJENÁ S TVORBOU BIOFILMŮ

Jak bylo uvedeno v předchozím textu, bakterie ve struktuře biofilmu jsou odolnější vůči působení antibiotik a obranných mechanismů organismu oproti planktonním buňkám. Z tohoto důvodu jsou infekce související s tvorbou biofilmu obtížně léčitelné a často přechází do chronické formy.

Nejznámější místo výskytu biofilmu lidského těla jsou dolní cesty dýchací. Biofilmy můžeme nalézt také v chronických ranách, močových cestách, při zánětu středního ucha, u infekční endokarditidy, u infekcí souvisejících s implantáty či u osteomyelitidy (Bai a kol., 2019; Mirzaei a kol., 2020; Perry a Tan, 2023; Zhao a kol., 2023b).

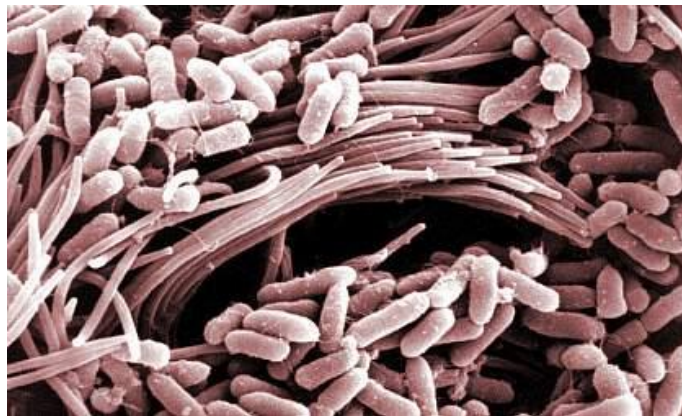
### 3.1 Infekce dýchacích cest

#### 3.1.1 Cystická fibróza

Cystická fibróza je autozomálně recesivní onemocnění. Toto onemocnění postihuje buňky tvořící hlen nebo pot. Nejvíce postižené jsou zpravidla plíce (Rafeeq a Murad, 2017). Jedná se o multisystémové onemocnění způsobené mutacemi v genu CFTR. Tento gen kóduje epiteliální chloridový kanál a moduluje aktivitu epiteliálních sodíkových kanálů. Porucha tohoto genu vede k narušení rovnováhy iontů a tekutin v postižených buňkách potních žláz, dýchacích cest, slinivky břišní a dalších orgánů. To vede k akutním a chronickým komplikacím spojeným s mukociliární dysfunkcí, např. respirační infekce nebo respirační selhání (Blankenship a kol., 2024). Snížený objem parciální tekutiny a zhoršené vylučování hlenu je příčinou nedostatečné obrany hostitele proti bakteriálním infekcím (Høiby a kol., 2017). Pacienti jsou nejčastěji postiženi chronickou infekcí plic. Tyto infekce mohou vést k recidivujícím zánětům a obstrukcím dýchacích cest, což může způsobit trvalé poškození (Mulcahy a kol., 2014).

Nejčastějším patogenem tvořícím biofilm v plicích je *Pseudomonas aeruginosa* (Obrázek 12). Zvýšené množství hlenu a snížená koncentrace kyslíku v plicích vytváří ideální prostředí pro růst této bakterie (Zhao a kol., 2023a). Kromě *Pseudomonas aeruginosa* můžeme v biofilmu identifikovat i další druhy bakterií, jako např. komplex *Burkholderia cepacia*, *Achromobacter xylosoxidans* a *Stenotrophomonas maltophilia*. U dětí můžeme detekovat také *Haemophilus influenzae*. Z Gram-pozitivních bakterií jsou to *Staphylococcus aureus* či různé druhy streptokoků. Kromě bakterií se zde mohou nacházet také mikroskopické houby

(např. *Aspergillus fumigatus*). Tato plíseň může způsobit aspergilom, alergickou pulmonální aspergilózu nebo invazivní aspergilózu (Ding a kol., 2021).



**Obrázek 12:** *Pseudomonas aeruginosa* v dýchacích cestách při onemocnění cystickou fibrózou (Moninger, 2016)

### 3.1.2 Ventilátorová pneumonie (VAP)

U pacientů přijatých na jednotku intenzivní péče se může objevit ventilátorová pneumonie (VAP). Je to nejčastější nosokomiální infekce a nastává při endotracheální intubaci. Endotracheální trubice je nejčastěji vyrobena z polyvinylchloridu. Tento materiál je levný, ale také poskytuje ideální povrch pro ulpívání patogenů. Při intubaci je endotracheální trubice kolonizována patogeny, které mohou vytvořit biofilm (Bai a kol., 2019).

Mezi bakterie způsobující VAP patří *Pseudomonas aeruginosa*, která se obvykle na kolonizaci podílí s nepatogenními streptokoky, např. *Streptococcus epidermidis* a *Streptococcus mitis* (Bai a kol., 2019). Dále se v biofilmu mohou vyskytovat i *Proteus mirabilis*, *Porphyromonas gingivalis* či *Candida albicans* (Ding a kol., 2021).

### 3.1.3 Protrahovaná bakteriální bronchitida a bronchiektázie

Protrahovaná bakteriální bronchitida je zánět dolních cest dýchacích (Riedler, 2015). Postihuje převážně malé děti, u kterých způsobuje dlouhotrvající vlhký kašel. Kašel ustoupí u většiny dětí po podání antibiotik, ale u malého procenta pacientů může přecházet v bronchiektázii (Marsh a kol., 2022). Při bronchiektázii dochází k nevratnému rozšíření průdušek (Magis-Escurra a Reijers, 2015). Dilatace průdušek způsobuje poruchu mukociliární clearance. Nedostatečné odstraňování bakterií a hlenu z dýchacích cest vede k přetrvávající infekci či zánětu (Chalmers a kol., 2018). Dále může dojít k poškození stěn průdušek nebo ke zvýšené kolonizaci nežádoucími bakteriemi (Magis-Escurra a Reijers, 2015).

V biofilmech souvisejících s těmito klinickými problémy jsou nejvíce zastoupeny *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae* a *Staphylococcus* spp. (Perry a Tan, 2023). U pacientů s bronchiectázií můžeme najít i netuberkulózní mykobakterie, konkrétně komplex *Mycobacterium avium* (Chalmers a kol., 2018).

### 3.2 Infekce chronických ran

Chronické rány jsou definovány jako rány, které se nezahojí během obvyklého časového rámce (přibližně 6 týdnů). Patří mezi ně chirurgické rány, bérčové vředy, diabetické vředy na končetinách či dekubity (Su a kol., 2022). Vzhled chronické rány je znázorněn na Obrázku 13. Biofilm se vyskytuje asi u 78 % všech chronických ran (Zhao a kol., 2023b). Výskyt biofilmu v ráně brání jejímu zdárnému hojení. Bakterie hojení ovlivňují přímo – produkcí destruktivních enzymů a toxinů. Avšak také nepřímo – tělo se snaží infekce zbavit tím, že stimuluje polymorfonukleáry a bílé krvinky. To vede k chronickému zánětu. Chronický zánět uvolňuje volné radikály a lytické enzymy. Tím jsou negativně ovlivněny buněčné procesy při hojení ran (Su a kol., 2022).

Biofilmy v ráně jsou z pravidla vícedruhové (Su a kol., 2022). Mikroorganismy často pochází z pacientovy mikroflóry či z jeho okolí. Nejčastěji v ráně najdeme *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp. Tyto mikroorganismy jsou aerobní. Pokud v ráně kyslík spotřebují, umožní růst i anaerobním druhům, zejména kmenům *Bacteroides* či *Prevotella* sp. (Brown a kol., 2021).



**Obrázek 13:** Infekce chronické rány na dolní končetině (Fonder a kol., 2008)

Je důležité poznamenat, že biofilmy nesouvisí jen s chronickými ránami. Mohou vznikat i v místě **popálenin**. Ztráta kožní vrstvy a denaturace proteinů v oblasti popálenin podporuje

mikrobiální kolonizaci a následný vznik biofilmu (Damyanova a kol., 2024). Biofilm zpomaluje hojení ran, protože způsobuje nepřetržitý zánět nízkého stupně. Tento zánět brání tvorbě granulační tkáně a reepitelizaci. Tyto procesy mohou vést nakonec i k rozvoji vážných chorobných stavů, případně až k sepsi (Su a kol., 2022).

V prvních fázích po popálení je povrch rány často kolonizován stafylokoky, protože jsou součástí běžné kožní mikroflóry, ale také odolají tepelnému poškození. Během prvního týdne mohou být v ráně přítomny další mikroorganismy jako *Pseudomonas aeruginosa*, různé druhy bakterií rodu *Serratia* či některé druhy virů a hub, např. *Candida* (Su a kol., 2022).

### 3.3 Infekce močových cest

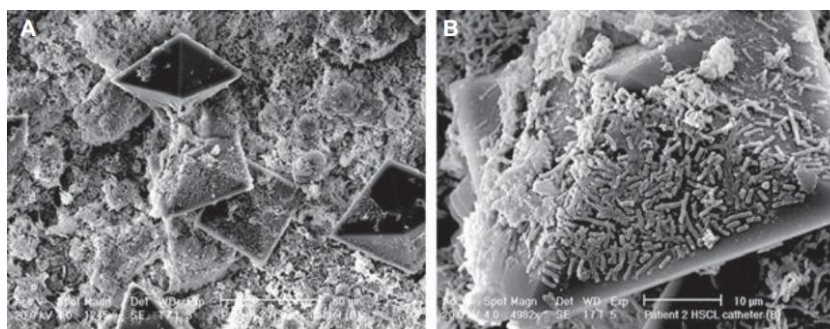
Infekce močových cest představují významný zdravotní problém. Tyto infekce souvisí nejčastěji se zavedením močového katetru. Katetr je jedna z nejběžněji používaných zdravotnických pomůcek. Zavádí se do močového měchýře přes močovou trubici a slouží k měření výdeje moči, jako prevence jejího zadržování nebo inkontinence. V močovém měchýři se mikroorganismy běžně nachází v planktonním stavu a je nepravděpodobné, že by byly schopny vyvolat infekci močových cest. Po zavedení katetru na něj mohou přilnout a vytvořit biofilm. Riziko vzniku biofilmu a následné infekce močových cest spojených s katetrem (CAUTI) se zvyšuje s délkou doby, po kterou je katetr zaveden (Bai a kol., 2019). CAUTI představují zhruba polovinu nozokomiálních infekcí (Rubi a kol., 2022). Kromě katetru se mohou biofilmy vytvořit také v konkrementech nebo na epitelu močového měchýře (Tofte a kol., 2017).

Biofilm způsobující CAUTI může být krystalizovaný, nebo nekrystalizovaný. Závisí to na druhu bakterií způsobujících infekci. Krystalizované biofilmy (Obrázek 14) se vyskytují v důsledku infekce bakteriemi produkujícími ureázu. Většinou jde o druhy *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* a *Providencia rettgeri*. Tyto bakterie rozkládají močovinu na amoniak a uhličitanové ionty. Zvýšená hladina amoniaku vede ke zvýšení celkového pH moči v močovém měchýři. Toto alkalické prostředí způsobuje krystalizaci vápníku a hořčíku. Nekrystalizované biofilmy jsou tvořeny bakteriemi, které ureázu neprodukují, popř. ji produkují pouze v malé míře. Produkce ureázy je nízká, a proto nedojde ke změně pH nad hodnotu 8, jež je potřebná pro tvorbu krystalů. Mezi tyto druhy patří *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *Morganella morganii* a *Providencia stuartii*. Bylo zjištěno, že např. *Pseudomonas aeruginosa* a *Klebsiella pneumoniae* nejsou

schopny tvořit krystalické biofilmy. Místo toho produkují velké množství mukoidního materiálu, který může způsobit ucpání katetru a snížit tak průtok moči (Bai a kol., 2019).

U pacientů s CAUTI se mohou vyskytnout komplikace jako cystitida, kameny v močovém měchýři, prostatitida, epidymitida, septikémie a endotoxický šok. To mimo jiné poukazuje na vážnost těchto infekcí (Bai a kol., 2019). Navíc až 80 % infekcí močových cest je způsobeno uropatogenní *E. coli*. V biofilmu se mohou vyskytovat i další bakterie jako *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus saprophyticus* a *Staphylococcus epidermidis* (Damyanova a kol., 2024).

Zajímavé je, že infekce močových cest postihuje častěji ženy. Je to způsobeno anatomickou blízkostí konečníku, pochvy a močové trubice. Mnohem náchylnější jsou ženy po menopauze, kvůli absenci hormonu estrogeneru. Tento hormon podporuje kyselost vaginální tekutiny. Kyselost je klíčová pro růst laktobacilů, významných lidských obranných faktorů proti patogenním bakteriím (Mirzaei a kol., 2020). U mužů je situace odlišná. V mužské uretře se vyskytují nejčastěji enterokoky, *Staphylococcus epidermidis* a difteroidy. Patogeny na urotelu mohou napadnout tkáň ledvin a způsobit chronickou bakteriální prostatitidu a pyelonefritidu. Tyto komplikace mohou mít vážné důsledky na celkové zdraví pacienta (Mirzaei a kol., 2020).



**Obrázek 14:** Krystalizovaný biofilm při infekci močových cest; A – krystaly v biofilmu na močovém katetru; B – zvětšený krystal s bakteriální kolonizací (Stickler, 2008)

### 3.4 Zánět středního ucha

Zánět středního ucha je nejčastějším onemocněním u dětí, zejména u kojenců a dětí do tří let. Komplikace zánětu středního ucha jsou hlavní příčinou ztráty sluchu. Patogeny se do středního ucha dostanou přes Eustachovu trubici. Pomocí molekulárně-biologických testů byla zjištěna přítomnost *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* a *Moraxella catarrhalis*. Výskyt těchto mikroorganismů byl potvrzen až u 80 % kojenců se zánětem středního ucha (Zhao a kol., 2023a). *Streptococcus pneumoniae* je vysoce virulentní, zánětlivý

a způsobuje symptomatické onemocnění. *Haemophilus influenzae* a *Moraxella catarrhalis* jsou méně agresivní a spíše způsobují bezpříznakové chronické infekce (Welp a Bomberger, 2020).

Bakterie tvořící biofilm jsou často zodpovědné za vznik chronického hnisavého zánětu středního ucha. Pro tento zánět je typická přítomnost perforované bubínkové membrány a sekrece výpotku z ucha, trvající déle než dva měsíce. Tento stav je obtížně léčitelný a rezistentní. Kromě již zmíněných bakterií vyskytujících se u akutního zánětu můžeme u chronické formy detekovat ještě *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* či *Klebsiella pneumoniae* (Zafer a kol., 2024).

### 3.5 Infekční endokarditida

Infekční endokarditida je infekce kardiovaskulárního endotelu. Vyskytuje se na srdečních chlopních, endokardu srdeční komory, na povrchu aorty a jiných cév. Jedná se o vzácné život ohrožující onemocnění. Postihuje nejčastěji osoby s předchozím strukturálním onemocněním srdce (např. stenóza aortální a mitrální chlopně, defekt komorové či síňové přepážky). Častěji se vyskytuje u pacientů s protetickými chlopněmi nebo zavedenými srdečními zařízeními (Sheppard, 2022).

Většinu případů tohoto onemocnění způsobují Gram-pozitivní koky rodů *Staphylococcus*, *Streptococcus* a *Enterococcus*. Za nativní nozokomiální chlopní endokarditidu jsou zodpovědné druhy *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus lugdunensis* a *Staphylococcus capitis*. Infekční endokarditidu mohou způsobit i streptokoky, a to zejména orální streptokoky (např. *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus mitis* a *Streptococcus sanguinis*). Častou příčinou endokarditidy nativní i protetické chlopně, vyskytující se u starších či kriticky nemocných pacientů, je zpravidla *Enterococcus faecalis* (Nappi a kol., 2022). Infekce na protetických chlopních je časná, nebo pozdní. V časné fázi najdeme na chlopni nejčastěji stafylokoky a dále zástupce druhu *Candida* i Gram-negativní tyčinky. V pozdější fázi od operace jsou běžnými patogeny koaguláza-negativní stafylokoky, streptokoky i entrokoky (Sharma a kol., 2023).

Patogeneze onemocnění spočívá v adhezi bakterií na subendotel srdečních chlopní, povrchy chlopních protéz nebo poškozený endotel. Bakterie využívají hostitelské polysacharidy a fibronektin pro adhezi. Následně rostou v matrici fibrinových destiček a dozrávají v biofilm. Tento biofilm může narušit funkci chlopně, vést k rozpadu chlopních cípů a k invazi do okolních buněk. Disperze bakterií z biofilmu může vyvolat systémové projevy sepse a bakteriémie (Mirzaei a kol., 2020).

Infekční endokarditida je obtížně léčitelná a mortalita v nemocnici přesahuje 20 %. Až v polovině případů je nutný chirurgický zákrok pro zvýšení srdeční aktivity a zaléčení infekce (Mirzaei a kol., 2020).

### 3.6 Infekce související s implantáty

Infekce v souvislosti s implantátem jsou významným zdravotním problémem charakterizovaným tvorbou mikrobiálního biofilmu na povrchu implantátu. Tyto infekce jsou spojeny se zvýšenými náklady pro zdravotnické systémy. Jedním z hlavních problémů je obtížná diagnostika mikroorganismů způsobujících tyto infekce. Léčba je složitá a ve většině případů je pro účinné zvládnutí infekce nezbytné odstranění implantátu (Oliva a kol., 2021).

Mikroorganismy, jež se na vzniku těchto infekcí nejčastěji podílí, jsou součástí kožní mikroflóry. Tyto organismy se mohou dostat k implantátu během chirurgického zákroku nebo v období bezprostředně po operaci (Conen a kol., 2020). Nejběžnějším původcem jsou koaguláza-negativní stafylokoky (zejména *Staphylococcus epidermidis*). Méně častý, ale virulentnější je *Staphylococcus aureus* (VanEpps a Younger, 2016). Kromě těchto bakterií mohou být přítomny i streptokoky, Gram-negativní bacily, enterokoky nebo i anaeroby, jako např. *Propionibacterium acnes* (Li a kol., 2023). Přehled mikroorganismů a infekcí související s implantáty je uveden v Tabulce 3.

Infekce **protetických kloubů** představuje vážné komplikace. Tyto infekce mohou nastat v různých časových fázích po operaci. Lze je rozdělit na časné a pozdní. Časná infekce se projevuje během prvních tří měsíců po operaci. V místě implantátu vzniknou systémové známky zánětu (otok, zarudnutí a zvýšená teplota) (Izakovicova a kol., 2019). Původcem časné formy jsou vysoce virulentní patogeny (*Staphylococcus aureus*, streptokoky a enterokoky). Pozdní infekce se projevuje méně výraznými příznaky, které se objevují pozvolna a jsou méně intenzivní. Mezi tyto příznaky patří hlavně bolest kloubů. Tento typ infekce se vyskytuje od 3 do 24 měsíců po chirurgickém zákroku. Je vyvolán málo virulentními mikroorganismy, např. koaguláza-negativními stafylokoky či druhem *Cutibacterium* (Izakovicova a kol., 2019; Trampuz a Widmer, 2006).

**Tabulka 3: Přehled patogenů způsobujících infekce na implantátech (upraveno dle Li a kol., 2023)**

<b>Aplikace</b>	<b>Mikroorganismy způsobující infekci</b>
Ortopedické pomůcky	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> a <i>Staphylococcus hominis</i>
Protetické srdeční chlopně	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Candida albicans</i> a <i>Aspergillus</i>
Zubní implantáty	Gram-negativní anaerobní bakterie ( <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> a <i>Veillonella</i> spp.)
Urologické přístroje	<i>Staphylococcus aureus</i> a <i>Staphylococcus epidermis</i>
Kostní aloštěpy	Viry způsobující hepatitidu, <i>Mycobacterium tuberculosis</i> a virus lidské imunodeficience
Kontaktní čočky a rohovkové implantáty	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> a Gram-pozitivní koky
Prsní implantáty	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus</i> spp., <i>Staphylococcus epidermidis</i> a <i>Propionibacterium acnes</i>

### 3.7 Osteomyelitida

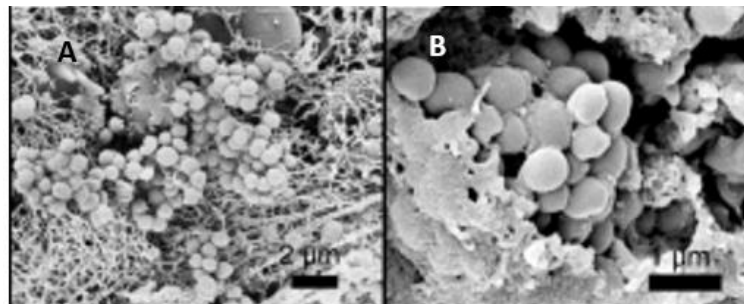
Jedná se o infekci kosti vedoucí k zánětlivé destrukci kosti a kostní nekróze (Brady a kol., 2006). Podle zdroje infekce rozlišujeme dva základní typy – hematogenní a exogenní. Hematogenní osteomyelitida je způsobena mikroorganismy, které se ke kosti dostanou krevním řečištěm, zatímco exogenní osteomyelitida vzniká po úrazech či operacích a souvisí s vnitřními fixačními pomůckami. Toto infekční onemocnění je nejčastěji lokalizováno v holenní a stehenní kosti, ale může se objevit také v obratlích (Zimmerli a Sendi, 2017). Pokud není infekce dobře zaléčena, může mikroorganismus přilnou k povrchu odumřelé kosti a infekce se změnit na chronickou. Chronická hematogenní osteomyelitida se vyskytuje především u dětí v rozvojových zemích. Je to dáno tím, že se zde vyskytuje mnoho infekcí, které nejsou včas zaléčeny antibiotiky. U dospělých se tento typ infekce objevuje vzácně (Zimmerli a Sendi, 2017).

Spektrum mikroorganismů závisí na typu osteomyelitidy. U hematogenní chronické osteomyelitidy u kojenců a dětí je nejčastějším původcem *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae* či *Escherichia coli*. U dospělých dominuje *Staphylococcus aureus*, ale můžeme se setkat i s původci jako *Enterococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp., *Mycobacterium* spp. a různé

druhy anaerobů či hub, vč. *Candida* spp. (Brady a kol., 2006). U pacientů s exogenní osteomyelitidou po úrazu najdeme převážně koaguláza-negativní stafylokoky, *Staphylococcus aureus* a v menší míře také i Gram-negativní tyčinky či *Enterococcus* spp. Převaha koaguláza-negativních stafylokoků je způsobena přítomností implantátu, který zvyšuje patogenitu nízkovirulentních mikroorganismů (Zimmerli a Sendi, 2017). U nitrožilních uživatelů drog se kromě výše zmíněných ve velké míře vyskytují *Pseudomonas aeruginosa* a *Serratia marcescens* (Brady a kol., 2006).

*Staphylococcus aureus* (Obrázek 15) je nejčastějším mikroorganismem akutní i chronické osteomyelity. Tato bakterie je schopná exprimovat adhezivní proteiny, které reagují na složky kostní matrix, zejména na fibronectin. Tyto proteiny jsou klíčové pro adhezenci ke kosti a tvorbu biofilmu. V *in vitro* podmínkách bylo prokázáno, že biofilmy *Staphylococcus aureus* snižují životaschopnost osteoblastů a zvyšují kostní resorpci.

Léčba chronické osteomyelity je značně komplikovaná kvůli tvorbě biofilmu. V pokročilých stádiích nemoci je antibiotická terapie nedostatečná a musí být kombinována s chirurgickým zákrokem (Zimmerli a Sendi, 2017).



**Obrázek 15:** Bakterie *Staphylococcus aureus* související s osteomyelitidou; A – koky adherující k fibrinovým vláknům; B – shluky *S. aureus* tvořící bakteriální lusky (upraveno dle Masters a kol., 2019)

## ZÁVĚR

Tato bakalářská práce poskytuje ucelený přehled o biofilmech s důrazem na dentální biofilmy, jejich strukturu, vývoj a vliv na zdraví člověka. Důkladně jsou popsány mechanismy, jakými biofilmy přispívají k rozvoji onemocnění (zubní kaz, parodontitida a další systémové infekce spojené s biofilmovými komunitami). Práce zdůrazňuje složitost interakcí mezi mikroorganismy v biofilmech a jejich odolnost proti tradičním terapeutickým metodám.

V práci je také podrobně popsána detekce biofilmu zahrnující různé metody od Christensenovy metody v mikrotitračních destičkách až po pokročilé techniky, mezi které patří mikrofluidní zařízení či konfokální laserový skenovací mikroskop. Tyto metody umožňují vizualizaci struktury biofilmu a jeho dynamického růstu. Skenovací elektronová mikroskopie a rastrovací elektrochemická mikroskopie jsou užitečné pro hodnocení interakcí mezi bakteriemi a povrchem substrátu.

Výzkumy v oblasti dentálního biofilmu pokračují v hledání efektivních metod pro jeho detekci a odstraňování, s novými technologiemi jako je fluorescenční zobrazování a využití umělé inteligence pro zlepšení diagnostiky. V boji proti negativním dopadům biofilmu se rovněž zkoumají preventivní strategie zahrnující mechanické a chemické čištění zubů, nové antimikrobiální molekuly a probiotika, která podporují zdravou mikroflóru ústní dutiny. Účelné by bylo porovnání tradičních a nových metod (využívající umělou inteligenci) pro detekci zubního plaku. Toto pozorování by obsahovalo statistické údaje o úspěšnosti jednotlivých metod u konkrétního člověka. Součástí rozšíření by byli i materiály využité k trénování umělé inteligence.

## POUŽITÁ LITERATURA

1. ABDALLAH, Marwan, Corinne BENOLIEL, Djamel DRIDER, Pascal DHULSTER a Nour-Eddine CHIHIB, 2014. Biofilm formation and persistence on abiotic surfaces in the context of food and medical environments. *Archives of Microbiology* [online]. **196**(7), 453–472. Dostupné z: doi:10.1007/s00203-014-0983-1
2. ABRANCHES, Jacqueline, Lin ZENG, Jessica K. KAJFASZ, Sara R. PALMER, Brinta CHAKRABORTY, Z. T. WEN, Vincent P. RICHARDS, L. Jeannine BRADY a José. A. LEMOS, 2018. Biology of Oral Streptococci. *Microbiology Spectrum* [online]. **6**(5), 10.1128/microbiolspec.gpp3-0042-2018. Dostupné z: doi:10.1128/microbiolspec.gpp3-0042-2018
3. APARNA, Madhu Sharma a Sarita YADAV, 2008. Biofilms: microbes and disease. *Brazilian Journal of Infectious Diseases* [online]. **12**, 526–530. Dostupné z: doi:10.1590/S1413-86702008000600016
4. AZEREDO, Joana, Nuno F. AZEVEDO, Romain BRIANDET, Nuno CERCA, Tom COENYE, Ana Rita COSTA, Mickaël DESVAUX, Giovanni DI BONAVENTURA, Michel HÉBRAUD, Zoran JAGLIC, Miroslava KACÁNIOVÁ, Susanne KNØCHEL, Anália LOURENÇO, Filipe MERGULHÃO, Rikke Louise MEYER, George NYCHAS, Manuel SIMÕES, Odile TRESSE a Claus STERNBERG, 2017. Critical review on biofilm methods. *Critical Reviews in Microbiology* [online]. **43**(3), 313–351. Dostupné z: doi:10.1080/1040841X.2016.1208146
5. AZIMI, Sheyda, Alexander D. KLEMENTIEV, Marvin WHITELEY a Stephen P. DIGGLE, 2020. Bacterial Quorum Sensing During Infection. *Annual Review of Microbiology* [online]. **74**(1), 201–219. Dostupné z: doi:10.1146/annurev-micro-032020-093845
6. BAI, Fang, Zhao CAI a Liang YANG, 2019. Recent progress in experimental and human disease-associated multi-species biofilms. *Computational and Structural Biotechnology Journal* [online]. **17**, 1234–1244. Dostupné z: doi:10.1016/j.csbj.2019.09.010
7. BAMFORD, Natalie C., Cait E. MACPHEE a Nicola R. STANLEY-WALL, 2023. Microbial Primer: An introduction to biofilms – what they are, why they form and their impact on built and natural environments: This article is part of the Microbial Primer collection. *Microbiology* [online]. **169**(8). Dostupné z: doi:10.1099/mic.0.001338
8. BHANDARI, Keshav a Jose GONZALES ZAMORA, 2017. Actinomyces naeslundii Bacteremia in an Elderly Woman With Type 2 Diabetes Mellitus. *Infectious Diseases in Clinical Practice* [online]. **25**(6), e23. Dostupné z: doi:10.1097/IPC.0000000000000528
9. BLANKENSHIP, Sydney, Aaron R. LANDIS, Emily HARRISON WILLIAMS, Jacelyn E. PEABODY LEVER, Bryan GARCIA, George SOLOMON a Stefanie KRICK, 2024. What the future holds: cystic fibrosis and aging. *Frontiers in Medicine* [online]. **10**, 1340388. Dostupné z: doi:10.3389/fmed.2023.1340388
10. BRADY, Rebecca A., Jeff G. LEID, John Willam. COSTERTON a Mark SHIRTLIFF, 2006. Osteomyelitis: Clinical overview and mechanisms of infection persistence. *Clinical Microbiology Newsletter* [online]. **28**(9), 65–72. Dostupné z: doi:10.1016/j.clinmicnews.2006.04.001
11. BROWN, Helen L., Aled CLAYTON a Phil STEPHENS, 2021. The role of bacterial extracellular vesicles in chronic wound infections: Current knowledge and future challenges. *Wound Repair and Regeneration* [online]. **29**(6), 864–880. Dostupné z: doi:10.1111/wrr.12949
12. CARDOSO, Aretusa, Juliana Terra FERNANDES, Sandra Kalil BUSSADORI, Anna Carolina Ratto Tempestini HORLIANA, Kristianne Porta Santos FERNANDES, Marcela Leticia Leal GONÇALVES a Lara Jansiski MOTTA, 2021. Use of optical fluorescence for the diagnosis of dental biofilm in young permanent molars - A case series. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* [online]. **34**, 102216. Dostupné z: doi:10.1016/j.pdpdt.2021.102216

13. CLEAVER, Leanne a James A. GARNETT, 2023. How to study biofilms: technological advancements in clinical biofilm research. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* [online]. **13**. Dostupné z: doi:10.3389/fcimb.2023.1335389
14. CONEN, Anna, Andreas RAABE, Karl SCHALLER, Christoph A. FUX, Peter VAJKOCZY a Andrej TRAMPUZ, 2020. Management of neurosurgical implant-associated infections. *Swiss Medical Weekly* [online]. **150**(1718), w20208–w20208. Dostupné z: doi:10.4414/smw.2020.20208
15. DAMYANOVA, Tsvetozara, Petya D. DIMITROVA, Dayana BORISOVA, Tanya TOPOUZOVA-HRISTOVA, Emi HALADJOVA a Tsvetelina PAUNOVA-KRASTEVA, 2024. An Overview of Biofilm-Associated Infections and the Role of Phytochemicals and Nanomaterials in Their Control and Prevention. *Pharmaceutics* [online]. **16**(2), 162. Dostupné z: doi:10.3390/pharmaceutics16020162
16. DAS, Antarikshya, Swadheena PATRO, Faizan Zarreen SIMNANI, Dibyangshee SINGH, Adrija SINHA, Khushbu KUMARI, Patnala Vedika RAO, Sarita SINGH, Nagendra Kumar KAUSHIK, Pritam Kumar PANDA, Mrutyunjay SUAR a Suresh K. VERMA, 2023. Biofilm modifiers: The disparity in paradigm of oral biofilm ecosystem. *Biomedicine & Pharmacotherapy* [online]. **164**, 114966. Dostupné z: doi:10.1016/j.biopha.2023.114966
17. DASGUPTA, Debayan, Shanmukh PEDDI, Deepak Kumar SAINI a Ambarish GHOSH, 2022. Mobile Nanobots for Prevention of Root Canal Treatment Failure. *Advanced Healthcare Materials* [online]. **11**(14), 2200232. ISSN 2192-2659. Dostupné z: doi:10.1002/adhm.202200232
18. DAVEY, Mary Ellen a George A. O'TOOLE, 2000. Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular Genetics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* [online]. **64**(4), 847–867. Dostupné z: doi:10.1128/MMBR.64.4.847-867.2000
19. DE CARVALHO, Carla C. C. R., 2017. Biofilms: Microbial Strategies for Surviving UV Exposure. In: *Ultraviolet Light in Human Health, Diseases and Environment* [online]. s. 233–239. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-56017-5\_19
20. DE OLIVEIRA, Rosa Virginia Dutra, Fernanda Salloume Sampaio BONAFÉ, Denise Madalena Palomari SPOLIDORIO, Cristiane Yumi KOGA-ITO, Aline Leite DE FARIAS, Kelly R. KIRKER, Garth A. JAMES a Fernanda Lourenção BRIGHENTI, 2020. Streptococcus mutans and Actinomyces naeslundii Interaction in Dual-Species Biofilm. *Microorganisms* [online]. **8**(2), 194. Dostupné z: doi:10.3390/microorganisms8020194
21. DINCER, Sadik, Melis Sümengen ÖZDENEFE a Afet ARKUT, 2020. *Bacterial Biofilms* [online]. London, UNITED KINGDOM: IntechOpen. ISBN 9781839688195 Dostupné z: http://ebookcentral.proquest.com/lib/upce-ebooks/detail.action?docID=30390186
22. DING, Li, Jieliang WANG, Shihao CAI, Hugh SMYTH a Zhengrong CUI, 2021. Pulmonary biofilm-based chronic infections and inhaled treatment strategies. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. **604**, 120768. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijpharm.2021.120768
23. DONLAN, Rodney M., 2002. Biofilms: Microbial Life on Surfaces. *Emerging Infectious Diseases* [online]. **8**(9), 881–890. Dostupné z: doi:10.3201/eid0809.020063
24. DUFOUR, Delphine, Vincent LEUNG a Céline M. LÉVESQUE, 2010. Bacterial biofilm: structure, function, and antimicrobial resistance. *Endodontic Topics* [online]. **22**(1), 2–16. Dostupné z: doi:10.1111/j.1601-1546.2012.00277.x
25. FEINGOLD, Anat R. a Debrah MEISLICH, 2018. Anaerobic Gram-Positive Nonsporulating Bacilli (Including *Actinomyces*). In: Sarah S. LONG, Charles G. PROBER a Marc FISCHER, ed. *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases (Fifth Edition)* [online]. s. 1019-1022. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-323-40181-4.00195-X
26. FONDER, Margaret A., Gerald S. LAZARUS, David A. COWAN, Barbara ARONSON-COOK, Angela R. KOHLI a Adam J. MAMELAK, 2008. Treating the chronic wound: A practical approach to the care of nonhealing wounds and wound care dressings. *Journal of the American Academy of Dermatology* [online]. **58**(2), 185–206. Dostupné z: doi:10.1016/j.jaad.2007.08.048

27. GHOLIZADEH, Pourya, Ali PORMOHAMMAD, Hosein ESLAMI, Behrooz SHOKOUHI, Vahid FAKHRZADEH a Hossein Samadi KAFIL, 2017. Oral pathogenesis of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Microbial Pathogenesis* [online]. **113**, 303–311. Dostupné z: doi:10.1016/j.micpath.2017.11.001
28. GRASSI, Roberta, Gianna Maria NARDI, Marta MAZUR, Roberto DI GIORGIO, Livia OTTOLENGHI a Fabrizio GUERRA, 2022. The Dental-BIOfilm Detection TECHnique (D-BioTECH): A Proof of Concept of a Patient-Based Oral Hygiene. *Medicina* [online]. **58(4)**, 537. Dostupné z: doi:10.3390/medicina58040537
29. GUGNANI, Neeraj, IK PANDIT, Nikhil SRIVASTAVA, Monika GUPTA a Megha SHARMA, 2011. International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): A New Concept. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry* [online]. **4(2)**, 93–100. Dostupné z: doi:10.5005/jp-journals-10005-1089
30. GUZMÁN-SOTO, Irene, Christopher MCTIERNAN, Mayte GONZALEZ-GOMEZ, Alex ROSS, Keshav GUPTA, Erik J. SUURONEN, Thien-Fah MAH, May GRIFFITH a Emilio I. ALARCON, 2021. Mimicking biofilm formation and development: Recent progress in in vitro and in vivo biofilm models. *iScience* [online]. **24(5)**, 102443. Dostupné z: doi:10.1016/j.isci.2021.102443
31. HELLER, Debora, Eva J. HELMERHORST, Adam C. GOWER, Walter L. SIQUEIRA, Bruce PASTER a Frank G. OPPENHEIM, 2016. Microbial Diversity in the Early In Vivo-Formed Dental Biofilm. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. **82(6)**, 1881–1888. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.03984-15
32. HØIBY, Niels, 2017. A short history of microbial biofilms and biofilm infections. *APMIS* [online]. **125(4)**, 272–275. Dostupné z: doi:10.1111/apm.12686
33. HØIBY, Niels, Thomas BJARNSHOLT, Claus MOSER, Peter Østrup JENSEN, Mette KOLPEN, Tavs QVIST, Kasper AANÆS, Tanja PRESSLER, Marianne SKOV a Oana CIOFU, 2017. Diagnosis of biofilm infections in cystic fibrosis patients. *APMIS* [online]. **125(4)**, 339–343. Dostupné z: doi:10.1111/apm.12689
34. HOLT, Stanley, Lakshmyya KESAVALU, Stephen WALKER a Caroline GENCO, 1999. Virulence factors of *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontology 2000* [online]. **20**, 168–238. Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-0757.1999.tb00162.x
35. HUANG, Ruijie, Mingyun LI a Richard L. GREGORY, 2011. Bacterial interactions in dental biofilm. *Virulence* [online]. **2(5)**, 435–444. Dostupné z: doi:10.4161/viru.2.5.16140
36. CHALMERS, James D., Anne B. CHANG, Sanjay H. CHOTIRMALL, Raja DHAR a Pamela J. MCSHANE, 2018. Bronchiectasis. *Nature Reviews Disease Primers* [online]. **4(1)**, 45. Dostupné z: doi:10.1038/s41572-018-0042-3
37. CHEN, Yuanxin, Zhijie HUANG, Zhengming TANG, Yisheng HUANG, Mingshu HUANG, Hongyu LIU, Dirk ZIEBOLZ, Gerhard SCHMALZ, Bo JIA a Jianjiang ZHAO, 2022. More Than Just a Periodontal Pathogen –the Research Progress on *Fusobacterium nucleatum*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* [online]. **12**. Dostupné z: doi:10.3389/fcimb.2022.815318
38. IZAKOVICOVA, Petra, Olivier BORENS a Andrej TRAMPUZ, 2019. Periprosthetic joint infection: current concepts and outlook. *EFORT Open Reviews* [online]. **4(7)**, 482–494. Dostupné z: doi:10.1302/2058-5241.4.180092
39. JAKUBOVICS, Nicholas S., Steven D. GOODMAN, Lauren MASHBURN-WARREN, Graham P. STAFFORD a Fabian CIEPLIK, 2021. The dental plaque biofilm matrix. *Periodontology 2000* [online]. **86(1)**, 32–56. Dostupné z: doi:10.1111/prd.12361
40. JIAO, Yang, Franklin R. TAY, Li-na NIU a Ji-hua CHEN, 2019. Advancing antimicrobial strategies for managing oral biofilm infections. *International Journal of Oral Science* [online]. **11(3)**, 1–11. Dostupné z: doi:10.1038/s41368-019-0062-1
41. JULÁK, Jaroslav, 2012. *Klinicky významné bakterie*. 1. vyd. Praha: Triton. ISBN 978-80-7387-588-6.

42. KWON, TaeHyun, Ira B. LAMSTER a Liran LEVIN, 2021. Current Concepts in the Management of Periodontitis. *International Dental Journal* [online]. **71**(6), 462–476. Dostupné z: doi:10.1111/idj.12630
43. LARSEN, Tove a Nils-Erik FIEHN, 2017. Dental biofilm infections – an update. *APMIS* [online]. **125**(4), 376–384. Dostupné z: doi:10.1111/apm.12688
44. LEMOS, José A., Robert G. QUIVEY, Hyun KOO a Jacqueline ABRANCHES, 2013. Streptococcus mutans: a new Gram-positive paradigm? *Microbiology* [online]. **159**(Pt\_3), 436–445. Dostupné z: doi:10.1099/mic.0.066134-0
45. LI, Panxin, Rui YIN, Juanli CHENG a Jinshui LIN, 2023. Bacterial Biofilm Formation on Biomaterials and Approaches to Its Treatment and Prevention. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **24**(14), 11680. Dostupné z: doi:10.3390/ijms241411680
46. LI, Yung-Hua a Xiaolin TIAN, 2012. Quorum Sensing and Bacterial Social Interactions in Biofilms. *Sensors* [online]. **12**(3), 2519–2538. Dostupné z: doi:10.3390/s120302519
47. LIU, Xiaoli, Huaiying YAO, Xihong ZHAO a Chaorong GE, 2023. Biofilm Formation and Control of Foodborne Pathogenic Bacteria. *Molecules* [online]. **28**(6), 2432. Dostupné z: doi:10.3390/molecules28062432
48. LIU, Zhao, Juliana GOMEZ, Soniya KHAN, Deborah PERU a Roger ELLWOOD, 2017. Red fluorescence imaging for dental plaque detection and quantification: pilot study. *Journal of Biomedical Optics* [online]. **22**(9), 096008. Dostupné z: doi:10.1117/1.JBO.22.9.096008
49. MAGIS-ESCURRA, Cecile a Monique He REIJERS, 2015. Bronchiectasis. *BMJ clinical evidence*. **2015**, 1507. ISSN 1752-8526.
50. MARK WELCH, Jessica L., Blair J. ROSSETTI, Christopher W. RIEKEN, Floyd E. DEWHIRST a Gary G. BORISY, 2016. Biogeography of a human oral microbiome at the micron scale. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. **113**(6), E791–E800. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1522149113
51. MARSH, Robyn L, Michael J BINKS, Heidi C SMITH-VAUGHAN, Maxine JANKA, Sharon CLARK, Peter RICHMOND, Anne B CHANG a Ruth B THORNTON, 2022. Prevalence and subtyping of biofilms present in bronchoalveolar lavage from children with protracted bacterial bronchitis or non-cystic fibrosis bronchiectasis: a cross-sectional study. *The Lancet Microbe* [online]. **3**(3), e215–e223. Dostupné z: doi:10.1016/S2666-5247(21)00300-1
52. MASTERS, Elysia A., Ryan P. TROMBETTA, Karen L. DE MESY BENTLEY, Brendan F. BOYCE, Ann Lindley GILL, Steven R. GILL, Kohei NISHITANI, Masahiro ISHIKAWA, Yugo MORITA, Hiromu ITO, Sheila N. BELLO-IRIZARRY, Mark NINOMIYA, James D. BRODELL, Charles C. LEE, Stephanie P. HAO, Irvin OH, Chao XIE, Hani A. AWAD, John L. DAISS, John R. OWEN, Stephen L. KATES, Edward M. SCHWARZ a Gowrishankar MUTHUKRISHNAN, 2019. Evolving concepts in bone infection: redefining “biofilm”, “acute vs. chronic osteomyelitis”, “the immune proteome” and “local antibiotic therapy”. *Bone Research* [online]. **7**(1), 1–18. Dostupné z: doi:10.1038/s41413-019-0061-z
53. MEHROTRA, Neha a Saurabh SINGH, 2023. Periodontitis. In: *StatPearls* [online]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK541126/>
54. MIRZAEI, Rasoul, Rokhsareh MOHAMMADZADEH, Mohammad Yousef ALIKHANI, Mohammad SHOKRI MOGHADAM, Sajad KARAMPOOR, Sima KAZEMI, Alireza BARFIPOURSALAR a Rasoul YOUSEFIMASHOUF, 2020. The biofilm-associated bacterial infections unrelated to indwelling devices. *IUBMB Life* [online]. **72**(7), 1271–1285. Dostupné z: doi:10.1002/iub.2266
55. MONINGER, Tom, 2016. How cystic fibrosis promotes lung infections. *National Institutes of Health (NIH)* [online]. Dostupné z: <https://www.nih.gov/news-events/nih-research-matters/how-cystic-fibrosis-promotes-lung-infections>

56. MULCAHY, Lawrence R., Vincent M. ISABELLA a Kim LEWIS, 2014. Pseudomonas aeruginosa Biofilms in Disease. *Microbial Ecology* [online]. **68**(1), 1–12. Dostupné z: doi:10.1007/s00248-013-0297-x
57. MYSK, Jaroslav, Stepan PODZIMEK, Pavla SOMMEROVA, Yelena LYUYA-MI, Jirina BARTOVA, Tatjana JANATOVA, Jarmila PROCHAZKOVA a Jana DUSKOVA, 2014. *Porphyromonas gingivalis*: Major Periodontopathic Pathogen Overview. *Journal of Immunology Research* [online]. **2014**, e476068. Dostupné z: doi:10.1155/2014/476068
58. NAPPI, Francesco, Giorgia MARTUSCELLI, Francesca BELLOMO, Sanjeet Singh AVTAAR SINGH a Marc R. MOON, 2022. Infective Endocarditis in High-Income Countries. *Metabolites* [online]. **12**(8), 682. Dostupné z: doi:10.3390/metabo12080682
59. OH, Hye-Young, Eun-Sil CHOI, Eun-Mi CHOI a Hie-Jin NOH, 2019. Inter-rater agreement among multiple examiners for the assessment of plaque scores between quantitative light-induced fluorescence-digital and two-tone disclosing solution-stained digital images. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* [online]. **28**, 277–281. Dostupné z: doi:10.1016/j.pdpdt.2019.10.004
60. OLIVA, Alessandra, Maria Claudia MIELE, Dania AL ISMAIL, Federica DI TIMOTEO, Massimiliano DE ANGELIS, Luigi ROSA, Antimo CUTONE, Mario VENDITTI, Maria Teresa MASCELLINO, PIERA VALENTI a Claudio Maria MASTROIANNI, 2021. Challenges in the Microbiological Diagnosis of Implant-Associated Infections: A Summary of the Current Knowledge. *Frontiers in Microbiology* [online]. **12**. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2021.750460
61. PERES, Marco A., Lorna M. D. MACPHERSON, Robert J. WEYANT, Blánaid DALY, Renato VENTURELLI, Manu R. MATHUR, Stefan LISTL, Roger Keller CELESTE, Carol C. GUARNIZO-HERREÑO, Cristin KEARNS, Habib BENZIAN, Paul ALLISON a Richard G. WATT, 2019. Oral diseases: a global public health challenge. *The Lancet* [online]. **394**(10194), 249–260. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(19)31146-8
62. PERRY, Elena K. a Man-Wah TAN, 2023. Bacterial biofilms in the human body: prevalence and impacts on health and disease. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* [online]. **13**. Dostupné z: doi:10.3389/fcimb.2023.1237164
63. POURHAJIBAGHER, Maryam, Rashin BAHRAMI a Abbas BAHADOR, 2022. An *ex vivo* evaluation of physico-mechanical and anti-biofilm properties of resin-modified glass ionomer containing ultrasound waves-activated nanoparticles against *Streptococcus mutans* biofilm around orthodontic bands. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* [online]. **40**, 103051. Dostupné z: doi:10.1016/j.pdpdt.2022.103051
64. POURHAJIBAGHER, Maryam, Rashin BAHRAMI a Abbas BAHADOR, 2024. Revolution of artificial intelligence in antimicrobial, anti-biofilm, and anti-inflammatory techniques: Smart photo-sonodynamic appliance in the internet of dental things (IoDT). *Medical Hypotheses* [online]. **184**, 111270. Dostupné z: doi:10.1016/j.mehy.2024.111270
65. RADAIC, Allan a Yvonne L. KAPILA, 2021. The oralome and its dysbiosis: New insights into oral microbiome-host interactions. *Computational and Structural Biotechnology Journal* [online]. **19**, 1335–1360. Dostupné z: doi:10.1016/j.csbj.2021.02.010
66. RAFEEQ, Misbahuddin M. a Hussam Aly Sayed MURAD, 2017. Cystic fibrosis: current therapeutic targets and future approaches. *Journal of Translational Medicine* [online]. **15**(1), 84. Dostupné z: doi:10.1186/s12967-017-1193-9
67. RATHEE, Manu a Amit SAPRA, 2023. Dental Caries. In: *StatPearls* [online]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551699/>
68. RAY, Rina Rani, 2022. Dental biofilm: Risks, diagnostics and management. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* [online]. **43**, 102381. Dostupné z: doi:10.1016/j.bcab.2022.102381

69. RAY, Rina Rani a Smaranika PATTNAIK, 2024. Technological advancements for the management of oral biofilm. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* [online]. **56**, 103017. Dostupné z: doi:10.1016/j.bcab.2023.103017
70. READING, Nicola C. a Vanessa SPERANDIO, 2006. Quorum sensing: the many languages of bacteria. *FEMS Microbiology Letters* [online]. **254**(1), 1–11. Dostupné z: doi:10.1111/j.1574-6968.2005.00001.x
71. RENNER, Lars D. a Douglas B. WEIBEL, 2011. Physicochemical regulation of biofilm formation. *MRS Bulletin* [online]. **36**(5), 347–355. Dostupné z: doi:10.1557/mrs.2011.65
72. RIEDLER, Josef, 2015. Protrahiert-bakterielle Bronchitis: Häufige Ursache des chronischen Hustens. *Monatsschrift Kinderheilkunde* [online]. **163**(12), 1241–1245. Dostupné z: doi:10.1007/s00112-015-3385-9
73. RUBI, Hodam, Gargi MUDEY, Radha KUNJALWAR, Hodam RUBI, Gargi MUDEY a Radha KUNJALWAR, 2022. Catheter-Associated Urinary Tract Infection (CAUTI). *Cureus* [online]. **14**(10). Dostupné z: doi:10.7759/cureus.30385
74. RULÍK, Martin a Veronika HOLÁ, 2012. Mikrobiální biofilmy 1. Všudypřítomný a přitom málo známý fenomén. *Živa*. **60**(3), 104–106. ISSN 0044-4812.
75. SÄLZER, Sonja, Christian GRAETZ, Christof E. DÖRFER, Dagmar E. SLOT a Fridus A. VAN DER WEIJDEN, 2020. Contemporary practices for mechanical oral hygiene to prevent periodontal disease. *Periodontology 2000* [online]. **84**(1), 35–44. Dostupné z: doi:10.1111/prd.12332
76. SHARMA, Satish, James MOHLER, Supriya D. MAHAJAN, Stanley A. SCHWARTZ, Liana BRUGGEMANN a Ravikumar AALINKEEL, 2023. Microbial Biofilm: A Review on Formation, Infection, Antibiotic Resistance, Control Measures, and Innovative Treatment. *Microorganisms* [online]. **11**(6), 1614. Dostupné z: doi:10.3390/microorganisms11061614
77. SHEPPARD, Mary N., 2022. Infective endocarditis. *Diagnostic Histopathology* [online]. **28**(4), 199–208. Dostupné z: doi:10.1016/j.mpdhp.2022.01.003
78. SCHLAFER, Sebastian a Rikke L. MEYER, 2017. Confocal microscopy imaging of the biofilm matrix. *Journal of Microbiological Methods* [online]. **138**, What's next in microbiology methods? Emerging methods, 50–59. Dostupné z: doi:10.1016/j.mimet.2016.03.002
79. SCHWENDICKE, Falk, Wojciech SAMEK a Joachim KROIS, 2020. Artificial Intelligence in Dentistry: Chances and Challenges. *Journal of Dental Research* [online]. **99**(7), 769–774. Dostupné z: doi:10.1177/0022034520915714
80. STEWART, Philip S., 2014. Biophysics of biofilm infection. *Pathogens and Disease* [online]. **70**(3), 212–218. Dostupné z: doi:10.1111/2049-632X.12118
81. STICKLER, David J., 2008. Bacterial biofilms in patients with indwelling urinary catheters. *Nature Clinical Practice Urology* [online]. **5**(11), 598–608. Dostupné z: doi:10.1038/ncpuro1231
82. SU, Yajuan, Jaime T. YRASTORZA, Mitchell MATIS, Jenna CUSICK, Siwei ZHAO, Guangshun WANG a Jingwei XIE, 2022. Biofilms: Formation, Research Models, Potential Targets, and Methods for Prevention and Treatment. *Advanced Science* [online]. **9**(29), 2203291. Dostupné z: doi:10.1002/advs.202203291
83. TOFTE, Nete, Alex C. Y. NIELSEN, Hannah TRØSTRUP, Christine B. ANDERSEN, Michael VON LINSTOW, Birgitte HANSEN, Finn BIERING-SØRENSEN, Niels HØIBY a Claus MOSER, 2017. Chronic urinary tract infections in patients with spinal cord lesions – biofilm infection with need for long-term antibiotic treatment. *APMIS* [online]. **125**(4), 385–391. Dostupné z: doi:10.1111/apm.12685
84. TRAMPUZ, Andrej a Andreas F. WIDMER, 2006. Infections associated with orthopedic implants. *Current Opinion in Infectious Diseases* [online]. **19**(4), 349. Dostupné z: doi:10.1097/01.qco.0000235161.85925.e8

85. TURAN, Nouha Bakaraki, Dotse Selali CHORMEY, Çağdaş BÜYÜKPINAR, Güleda Onkal ENGIN a Sezgin BAKIRDERE, 2017. Quorum sensing: Little talks for an effective bacterial coordination. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. **91**, 1–11. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2017.03.007
86. VALKENBURG, Cees, Fridus A. VAN DER WEIJDEN a Dagmar E. SLOT, 2019. Plaque control and reduction of gingivitis: The evidence for dentifrices. *Periodontology 2000* [online]. **79**(1), 221–232. Dostupné z: doi:10.1111/prd.12257
87. VALM, Alex M., 2019. The Structure of Dental Plaque Microbial Communities in the Transition from Health to Dental Caries and Periodontal Disease. *Journal of Molecular Biology* [online]. **431**(16), 2957–2969. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmb.2019.05.016
88. VAN DER VEEN, Monique H., Catherine M. C. VOLGENANT, Bart KEIJSER, Jacob (Bob) M. TEN CATE a Wim CRIELAARD, 2016. Dynamics of red fluorescent dental plaque during experimental gingivitis—A cohort study. *Journal of Dentistry* [online]. **48**, 71–76. Dostupné z: doi:10.1016/j.jdent.2016.02.010
89. VANEPPS, J. Scott a John G. YOUNGER, 2016. Implantable Device-Related Infection. *Shock* [online]. **46**(6), 597–608. Dostupné z: doi:10.1097/SHK.0000000000000692
90. WELP, Allison L. a Jennifer M. BOMBERGER, 2020. Bacterial Community Interactions During Chronic Respiratory Disease. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* [online]. **10**. Dostupné z: doi:10.3389/fcimb.2020.00213
91. WILSON, Christina, Rachel LUKOWICZ, Stefan MERCHANT, Helena VALQUIER-FLYNN, Jeniffer CABALLERO, Jasmin SANDOVAL, Macduff OKUOM, Christopher HUBER, Tessa Durham BROOKS, Erin WILSON, Barbara CLEMENT, Christopher D WENTWORTH a Andrea E HOLMES, 2017. Quantitative and Qualitative Assessment Methods for Biofilm Growth: A Mini-review. *Research & reviews. Journal of engineering and technology*. **6**(4), <http://www.rroj.com/open-access/quantitative-and-qualitative-assessment-methods-for-biofilm-growth-a-minireview-.pdf>. ISSN 2347-2324.
92. YIN, Wen, Yiting WANG, Lu LIU a Jin HE, 2019. Biofilms: The Microbial “Protective Clothing” in Extreme Environments. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **20**(14), 3423. Dostupné z: doi:10.3390/ijms20143423
93. YOU, Wenzhe, Aimin HAO, Shuai LI, Yong WANG a Bin XIA, 2020. Deep learning-based dental plaque detection on primary teeth: a comparison with clinical assessments. *BMC Oral Health* [online]. **20**(1), 141. Dostupné z: doi:10.1186/s12903-020-01114-6
94. ZAFER, Mai M., Gamal A. MOHAMED, Sabrin R. M. IBRAHIM, Soumya GHOSH, Charné BORNMAN a Mahmoud A. ELFAKY, 2024. Biofilm-mediated infections by multidrug-resistant microbes: a comprehensive exploration and forward perspectives. *Archives of Microbiology* [online]. **206**(3), 101. Dostupné z: doi:10.1007/s00203-023-03826-z
95. ZHANG, Josie Shizhen, Chun-Hung CHU a Ollie Yiru YU, 2022. Oral Microbiome and Dental Caries Development. *Dentistry Journal* [online]. **10**(10), 184. Dostupné z: doi:10.3390/dj10100184
96. ZHANG, Ya, Yinliang QI, Edward C. M. LO, Colman MCGRATH, May Lei MEI a Ruoxi DAI, 2021. Using next-generation sequencing to detect oral microbiome change following periodontal interventions: A systematic review. *Oral Diseases* [online]. **27**(5), 1073–1089. Dostupné z: doi:10.1111/odi.13405
97. ZHANG, Yangheng, Xiang WANG, Houxuan LI, Can NI, Zhibin DU a Fuhua YAN, 2018. Human oral microbiota and its modulation for oral health. *Biomedicine & Pharmacotherapy* [online]. **99**, 883–893. Dostupné z: doi:10.1016/j.biopha.2018.01.146
98. ZHAO, Ailing, Jiazheng SUN a Yipin LIU, 2023a. Understanding bacterial biofilms: From definition to treatment strategies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* [online]. **13**. Dostupné z: doi:10.3389/fcimb.2023.1137947
99. ZHAO, Fan, Yajuan SU, Junying WANG, Svetlana ROMANOVA, Dominick J. DIMAIO, Jingwei XIE a Siwei ZHAO, 2023b. A Highly Efficacious Electrical Biofilm Treatment System for Combating

- Chronic Wound Bacterial Infections. *Advanced Materials* [online]. **35**(6), 2208069. Dostupné z: doi:10.1002/adma.202208069
- 100.ZHOU, Xuedong a Yuqing LI, 2015a. Chapter 3 - Supragingival Microbes. In: *Atlas of Oral Microbiology* [online]. Oxford: Academic Press, s. 41–65. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-802234-4.00003-3
- 101.ZHOU, Xuedong a Yuqing LI, 2015b. Chapter 4 - Subgingival Microbes. In: *Atlas of Oral Microbiology* [online]. Oxford: Academic Press, s. 67–93. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-802234-4.00004-5
- 102.ZIJNGE, Vincent, M. Barbara M. van LEEUWEN, John E. DEGENER, Frank ABBAS, Thomas THURNHEER, Rudolf GMÜR a Hermie J. M. HARMSEN, 2010. Oral Biofilm Architecture on Natural Teeth. *PLOS ONE* [online]. **5**(2), e9321. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0009321
- 103.ZIMMERLI, Werner a Parham SENDI, 2017. Orthopaedic biofilm infections. *APMIS* [online]. **125**(4), 353–364. Dostupné z: doi:10.1111/apm.12687