

UNIVERZITA KARLOVA  
**3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA**

*Stomatologická klinika*



**Dagmara Cigánková**

**Identifikace parodontálních patogenů pomocí  
MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie**

**Identification of periodontal pathogens using MALDI-TOF mass  
spectrometry**

*Bakalářská práce*

Praha, červen 2023

Autor práce: Dagmara Cigánková

Studijní program: Dentální hygienistka

Bakalářský studijní obor: Specializace ve zdravotnictví

Vedoucí práce: **MUDr. Wanda Urbanová, Ph.D.**

Konzultant: **MUDr. Adel El – Lababidi, Ph.D.**

Pracoviště vedoucího práce: **Stomatologická klinika 3.LF UK**

Předpokládaný termín obhajoby: červen 2023

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem předkládanou práci vypracovala samostatně a použila výhradně uvedené citované prameny, literaturu a další odborné zdroje. Současně dávám svolení k tomu, aby má bakalářská práce byla používána ke studijním účelům.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací. Potvrzuji, že tištěná i elektronická verze v Studijním informačním systému UK je totožná.

V Praze dne 20. 6. 2023

Dagmara Cigánková

## **Poděkování**

Na tomto místě bych ráda poděkovala své školitelce odb. as. MUDr. Wandě Urbanové, Ph.D. za její čas, pomoc, trpělivé a odborné vedení mé bakalářské práce, vstřícnost při konzultacích, věcné připomínky a cenné rady. Ráda bych poděkovala odb. as. MUDr. Adelovi El – Lababidimu, Ph.D. za všechna užitečná doporučení, odborný dohled a možnost provést kontrolní odběr v jeho stomatologické klinice. Dále bych ráda poděkovala Mgr. Lucii Mališové, Ph.D. za čas, podporu, ochotu a pomoc při zprostředkování a realizaci praktické části mé bakalářské práce v mikrobiologické laboratoři, doc. Ing. Janě Vránové, CSc. za pomoc při statistickém vyhodnocení získaných dat a v neposlední řadě celé mé rodině a blízkým, kteří mě celou dobu podporovali a motivovali.

## Seznam použitých zkratk

V rámci své bakalářské práce jsem pro zjednodušení textu jak teoretické, tak praktické části využila několik zkratk, které jsem shrnula do následujícího přehledu:

<b>Aa, AAC</b>	=	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
<b>Ab</b>	=	Specifické protilátky
<b>Ag</b>	=	Specifické bakteriální antigeny
<b>BspA</b>	=	Protein bohatý na leucin
<b>CO<sub>2</sub></b>	=	Oxid uhličitý
<b>Cr</b>	=	<i>Campylobacter rectus</i>
<b>DNA, DNK</b>	=	Deoxyribonukleová kyselina
<b>ELISA</b>	=	enzyme linked immune sorbent assay
<b>Fn</b>	=	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
<b>HCCA</b>	=	Kyselina 3,5-dimethoxy-4-hydroxykořičová
<b>IgA</b>	=	Imunoglobulin A
<b>IgG</b>	=	Imunoglobulin G
<b>IL</b>	=	Interleukin
<b>PCR</b>	=	Polymerázová řetězová reakce
<b>Pg</b>	=	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<b>Pi</b>	=	<i>Prevotella intermedia</i>
<b>Pm</b>	=	<i>Peptostreptococcus micros</i>
<b>Prth</b>	=	Enzym proteáza
<b>RNA</b>	=	Ribonukleová kyselina
<b>RTG</b>	=	Rentgen, rentgenový
<b>Td</b>	=	<i>Treponema denticola</i>
<b>Tf</b>	=	<i>Tannerella forsythia</i>

V textu teoretické a praktické části této bakalářské práce jsou použity obrázky, tabulky a grafy. **Není-li v textu uvedeno jinak, pak tyto materiály jsou dílem autorky.**

# Obsah

Obsah .....	6
Úvod .....	9
1 Teoretická část .....	11
1.1 Definice parodontu, jeho anatomie a histologie .....	11
1.1.1 Funkce parodontu .....	12
1.1.2 Gingiva .....	14
1.1.3 Periodoncium .....	18
1.1.4 Zubní cement .....	21
1.1.5 Kost alveolárního výběžku .....	24
1.1.6 Fyziologické změny na parodontu v průběhu života .....	26
1.2 Zubní mikrobiální povlak .....	27
1.2.1 Vlastnosti zubního povlaku .....	29
1.2.1 Dělení zubního povlaku .....	29
1.2.2 Složení zubního povlaku .....	31
1.2.3 Tvorba a vývoj zubního povlaku .....	32
1.2.4 Zubní kámen .....	35
1.3 Mikrobiologie vybraných onemocnění gingivy a parodontu .....	37
1.3.1 Vybraná onemocnění gingivy .....	37
1.3.2 Plakem podmíněné gingivitidy .....	38
1.3.3 Vybraná onemocnění parodontu .....	39
1.3.4 Chronická parodontitida .....	39
1.3.5 Agresivní parodontitidy .....	40
1.4 Parodontální patogeny .....	41
1.4.1 Bakteriální kolonizace a invaze do tkání parodontu .....	43
1.4.2 Bakteriální mechanismy destrukce tkání parodontu .....	44
1.4.3 <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> , AAC, Aa .....	45
1.4.4 <i>Porphyromonas gingivalis</i> , Pg .....	46
1.4.5 <i>Prevotella intermedia</i> , Pi .....	48
1.4.6 <i>Fusobacterium nucleatum</i> , Fn .....	49
1.4.7 <i>Peptostreptococcus micros</i> , Pm .....	49
1.4.8 <i>Tannerella forsythia</i> , Tf .....	50
1.4.9 <i>Treponema denticola</i> , Td .....	51
1.4.10 <i>Campylobacter rectus</i> , Cr .....	52

1.4.11	Mikrobiologie gingivitidy .....	52
1.4.12	Mikrobiologie parodontitidy .....	53
1.4.13	Mikrobiologie chronické parodontitidy .....	53
1.4.14	Mikrobiologie agresivních parodontitid .....	54
1.5	Mikrobiologické diagnostické metody .....	56
1.5.1	Odběr vzorků.....	56
1.5.2	Přímá mikroskopie.....	57
1.5.3	Kultivační techniky .....	58
1.5.4	Imunologické techniky.....	59
1.5.5	Molekulárně biologické techniky .....	60
1.5.6	DNA-sondy .....	60
1.5.7	PCR – polymerázová řetězová reakce.....	61
1.5.8	DNA-DNA hybridizační technika Checkerboard.....	61
1.5.9	MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie .....	62
1.5.10	Využití hmotnostní spektrometrie .....	63
1.5.11	Hodnotící kritéria a určení rozsahu skóre úspěšnosti identifikace MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie.....	64
1.5.12	Princip identifikace mikroorganismů pomocí MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie .....	66
2	Praktická část .....	69
2.1	Cíl práce .....	69
2.2	Hypotézy .....	69
2.3	Soubor .....	71
2.4	Materiál.....	71
2.5	Metodika .....	72
2.5.1	Očkování agarových ploten.....	72
2.5.2	Identifikace bakterií .....	75
2.6	Výsledky .....	79
2.6.1	Výsledky anaerobní kultivace a identifikace pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF.....	79
2.6.2	Kazuistika .....	82
3	Diskuze .....	84
	Závěr a doporučení do praxe.....	88
	Souhrn .....	89
	Summary .....	91
	Seznam použité literatury .....	93

Seznam obrázků, tabulek a grafů .....	98
Seznam příloh .....	100
Přílohy .....	101



## Úvod

Onemocnění parodontu jsou celosvětově rozšířeným problémem a dle různých epidemiologických studií se týkají až 90 % světové populace. V České republice, kde jsou parodontopatie hlavní příčinou předčasné ztráty zubů, potřebuje nějakou formu ošetření parodontu až 85 % jedinců ve věku 20–70 let. Samotnou parodontitidu bychom našli až u jedné třetiny české populace ve věku 35–40 let.<sup>1</sup> Z uvedených statistik je zřejmé, že je více než žádoucí tuto situaci změnit, a to nejen efektivní prevencí a správnou ústní hygienou, ale i včasnou a efektivní diagnostikou jakékoliv formy onemocnění parodontu, neboť tyto onemocnění úzce souvisí nejen se zdravím orálním, ale týkají se také vzdálenějších tkání a orgánů a tím pádem celkového zdraví každého jedince.

Cílem této bakalářské práce je shrnout destrukční mechanismy parodontálních patogenů na tkáň parodontu a zároveň poukázat na důležitost mikrobiologických vyšetření v parodontologii, jakožto pomocných postupů při stanovení diagnózy a nasazení vhodné podpůrné léčby. Rovněž má tato práce za cíl prokázat, jestli je anaerobní kultivace a následná identifikace parodontálních patogenů pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF úspěšným mikrobiologickým diagnostickým postupem a jestli hmotnostní spektrometrie najde uplatnění i v oboru parodontologie.

Má bakalářská práce je rozdělená na dvě části – teoretickou a praktickou. Teoretická část se zabývá problematikou anatomie parodontu, zubního mikrobiálního povlaku a především problematikou parodontálních patogenů, jejich mechanismem destrukce parodontálních tkání a mikrobiologickými diagnostickými metodami, kterými je možné tyto patogeny identifikovat. V rámci praktické části byl proveden výzkum, kde byly odebrány vzorky biologického materiálu od souboru pacientů s různými formami onemocnění parodontu. Následně byla provedena anaerobní

---

<sup>1</sup> ŠEDÝ, Jiří. *Kompendium stomatologie*. Praha: Stanislav Juhaňák – Triton, 2016, s. 674, ISBN 978-80-7553-220-6.

kultivace. Referenční vykultivované bakteriální kolonie byly podrobeny identifikaci hmotnostním spektrometrem MALDI-TOF. Výsledky identifikace pomocí hmotnostní spektrometrie a porovnání výsledků náhodného vzorku s výsledky DNA testů, které se v parodontologii hojně používají, napomohou k prokázání či vyvrácení našeho předpokladu, že anaerobní kultivace a následná identifikace bakterií pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF je vhodná mikrobiologická diagnostická metoda pro uplatnění v oboru parodontologie.

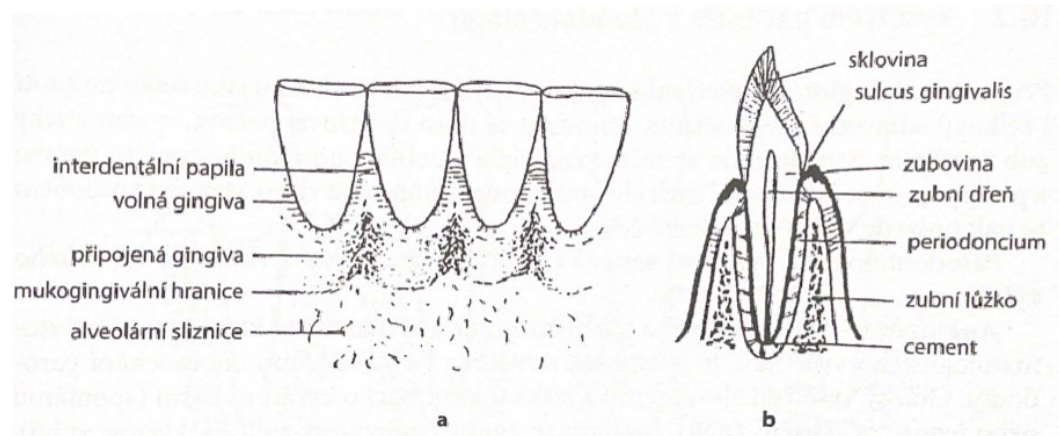
# 1 Teoretická část

## 1.1 Definice parodontu, jeho anatomie a histologie

Parodont neboli závěsný aparát zubu, jinými slovy také podpůrný aparát zubu nebo podpůrné tkáně zubu, můžeme definovat jako funkční systém měkkých a tvrdých tkání, jehož existence je vázána na přítomnost zubu v dutině ústní. Představuje soubor čtyř základních tkání, které obklopují a ukotvují zub v zubním alveolu a zároveň přispívají k zachování homeostázy v organismu.<sup>2</sup>

Podpůrný aparát zubu se skládá jak z měkkých tkání (gingiva, periodoncium), tak z tvrdých zubních tkání (zubní cement, alveolární kost) (viz. obrázek 1 a 2). Z ontogenetického hlediska můžeme tyto tkáně rozdělit na tkáně ektomezenchymálního původu, což jsou periodoncium, kořenový zubní cement a vlastní alveolární kost, gingiva je původu ektodermálního.<sup>3</sup>

Obrázek 1 – Schematické znázornění anatomie parodontu

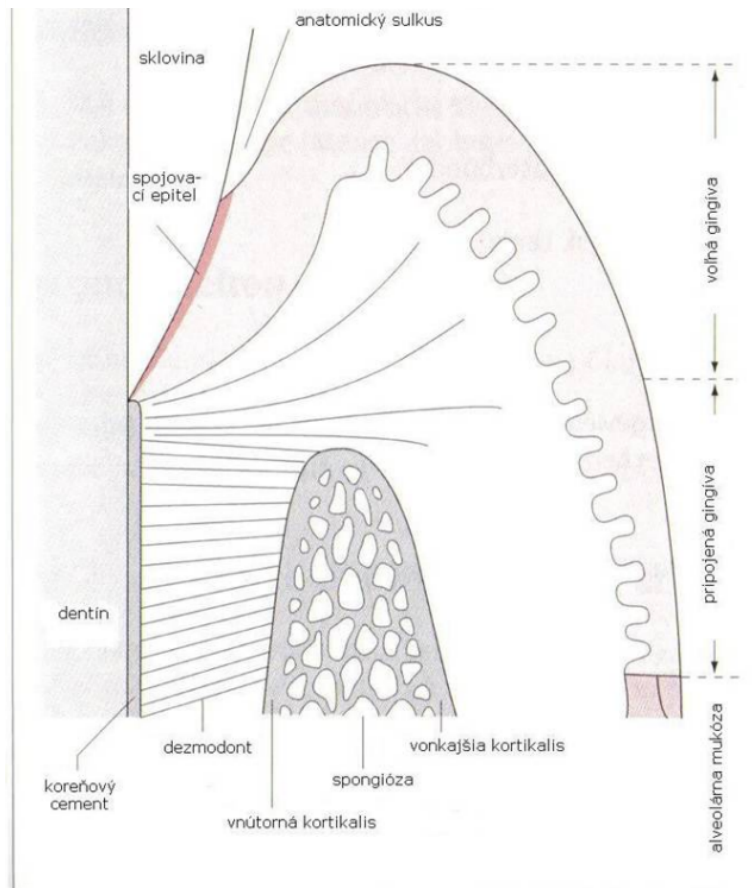


Zdroj: MAZÁNEK, Jiří. Stomatologie pro dentální hygienistky a zubní instrumentářky. s. 227

<sup>2</sup> MAZÁNEK, Jiří. *Stomatologie: minimum pro praxi*. Praha: Triton, 1999, s. 38, ISBN 80-7254-032-7.

<sup>3</sup> EICKHOLZ, Peter. *Parodontologie od A do Z: základy pro praxi*. Praha: Quintessenz, 2013, s. 3, ISBN 978-80-86979-10-6.

Obrázek 2 – Schematické znázornění stavby parodontu



Zdroj: KOVALOVÁ, Eva a kolektiv. Parodontológia I. s. 6

### 1.1.1 Funkce parodontu

Každý zub v ústní dutině s přilehlým parodontem tvoří funkční jednotku. Funkcí parodontu je několik – funkce mechanická, sensorická, nutritivní, imunologická a formativní.

- *Funkce mechanická* – je nejvýznamnější, zdravý parodont musí snášet zatížení, které na něj působí skrze zub. Má schopnost měnit směr a sílu tlaků a tahů a přenést je na struktury celé čelisti, nejen na kost alveolárního výběžku.
- *Funkce sensorická* – parodont, jakožto oblast bohatě inervovaná velkým množstvím senzitivních větví, které zároveň inervují také pulpu, patří mezi nejcitlivější struktury

zubu. Vykazuje obrovskou rozlišovací schopnost, dokáže mezi zuby rozeznat cizí těleso o velikosti několika tisícín milimetru a zároveň je senzitivní součástí reflexního oblouku, který zabraňuje fraktuře zubu při skousnutí tvrdého předmětu. Tento reflex je pomalejší, jestliže se jedná o zub devitalizovaný – riziko fraktury zubu stoupá. Nervy jsou schopny rozeznat tah, tlak, bolest i pohyb.

- *Funkce nutritivní* – vyživovací – obstarává ji síť krevních a lymfatických cév, která zabezpečuje výživu jednotlivých tkání parodontu a zubu.
- *Funkce imunologická* – obranná, patří také mezi velice významné funkce parodontu. Zodpovídá za ni především dentogingivální uzávěr (attachment), který je přirozenou bariérou mezi vnějším a vnitřním prostředím dutiny ústní.
- *Funkce formativní* – posunlivá – jejím úkolem je správné umístění zubu v alveolu. Parodont je schopen posunu jak okluzálního, tak posunu horizontálního. Okluzální posun nastává v důsledku opotřebení okluzálních plošek zubů směrem koronárním. Typicky se to projeví při ztrátě antagonistu – zubu protilehlé čelisti, kdy se daný zub může ocitnout až v supraokluzi. O posunu horizontálním mluvíme v případě, že jsou zuby posouvány do stran. Hlavním cílem této přestavby je ustavení funkčního parodontu v nově vzniklé pozici zubu, principem je apozice a resorpce kosti alveolárního výběžku, apozice zubního cementu a funkční nasměrování periodontálních ligament. Tato schopnost přizpůsobit se je hlavním principem ortodontické léčby.<sup>4</sup>

---

<sup>4</sup> ŠEDÝ, Jiří a René FOLTÁN. *Klinická anatomie zubů a čelistí*. Praha: Triton, 2009, s. 38, ISBN 978-80-7387-312-7.

### 1.1.2 Gingiva

Dáseň (gingiva) je nejpovrchovější parodontální tkáň. Ze všech tkání parodontu je jediná viditelná a vyšetření přímo dostupná.<sup>5</sup> Je to modifikovaná mastikační sliznice, která kryje část alveolárního výběžku (nepokrývá sliznici tvrdého patra) a část zubu, na němž její okraj sleduje paralelně cementosklovinnou hranici.<sup>6</sup>

Stavba gingivy je odlišná od stavby ostatní sliznice ústní dutiny, obsahuje totiž větší množství silných kolagenních vláken a zároveň jí chybí slizniční svalovina. Její epitel rozdělujeme do tří typů – epitel orální, epitel sulkulární a epitel spojovací. Epitel orální kryje gingivu ze strany vestibulární – ční do *cavitas oris propria*, sulkulární epitel pokrývá povrch *sulcus gingivalis* a epitel spojovací (junkční), najdeme v oblasti dentogingiválního uzávěru.<sup>7</sup>

Její povrch kryje vnější mnohvrstevný rohovějící dlaždicový epitel, z vnitřní strany je stěna gingivy krytá epitelem mnohvrstevným dlaždicovým nerohovějícím, který na dně dásňového žlábků (*sulcus gingivalis*) plynule přechází v epitel spojovací.<sup>8</sup> Současně s epiteliální tkání tvoří gingivu také vazivová vrstva (*lamina propria*), která je bohatě nervově i cévně zásobená. Jedná se o fibrilární tkáň tvořenou především svazky kolagenních vláken (struktura gingivy na řezu viz. obrázek 3).<sup>9</sup>

---

<sup>5</sup> MAZÁNEK, Jiří. *Stomatologie: minimum pro praxi*. s. 39

<sup>6</sup> EICKHOLZ, Peter. *Parodontologie od A do Z: základy pro praxi*. s. 3-5

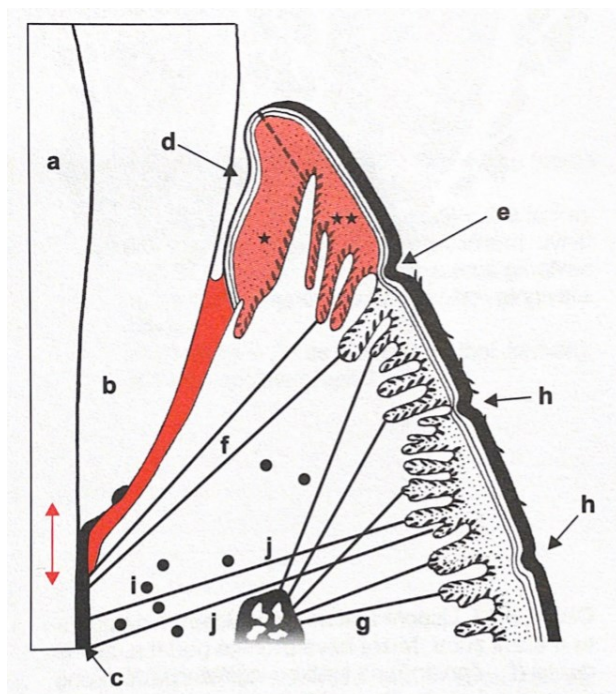
<sup>7</sup> ŠEDÝ, Jiří a René FOLTÁN. *Klinická anatomie zubů a čelistí*. s. 34.

<sup>8</sup> KOVAĽOVÁ, Eva a Zuzana ŤAPAJOVÁ. *Parodontológia I*. Prešov: Prešovská univerzita v Prešove, 2006. s. 8. ISBN 80-8086-518-5.

<sup>9</sup> EICKHOLZ, Peter. *Parodontologie od A do Z: základy pro praxi*. s.3.

Obrázek 3 – Vnitřní struktura gingivy na řezu (schéma)

a – dentín, b – sklovina, c – zubní cement, d – sulcus gingivalis, e – sulcus paramarginalis, f – fibrae gingivodentales, g – fibrae alveologingivales, h – stippling, i – fibraecircumdentales, j – fibrae dentogingivales, červeně – dentogingivální uzávěr, růžově – volná gingiva, červené šipky – cement překrývající okraj korunky, ★ – vnitřní gingivální epitel, ★★ – vnější gingivální epitel



Zdroj: KLEPÁČEK, Ivo. *Klinická anatomie ve stomatologii*. s. 119

Z morfoloického a topograficko-anatomického hlediska gingivu rozdělujeme na volnou – marginální a připojenou – alveolární. Marginální gingiva se v trojúhelníkových prostorech mezi zuby (*trigona interdentalia*) formuje do takzvaných bradavkovitých výběžků – interdentálních papil (viz. obrázek 4).<sup>10</sup>

*Marginální gingiva* u zdravého parodontu má světle růžovou barvu, je hladká a široká v rozmezí 0,8–2,5 mm.<sup>11</sup> Není přímo připojená

<sup>10</sup> KLEPÁČEK, Ivo. *Klinická anatomie ve stomatologii*. Praha: Grada, 2001, s.115 ISBN 80-7169-770-2.

<sup>11</sup> HELLWIG, Elmar, Thomas ATTIN a Joachim KLIMEK. *Záchovná stomatologie a parodontologie*. Praha: Grada, 2003, s.239 ISBN 80-247-0311-4.

k povrchu zubní korunky, tudíž tvoří prostor mezi zubem a papilou, který se nazývá dásňový žlábek (*sulcus gingivalis*). Na jeho dně se nachází nejdůležitější část gingivy a parodontu, takzvaný attachment neboli dentogingivální spojení.<sup>12</sup> Na toto místo je z cévního řečiště vylučována plazmě podobná tekutina s obsahem proteinů a sacharidů – *liquor gingivalis*, která má antimikrobiální a protizánětlivé účinky. Tato tekutina rovněž napomáhá epitelu přilnout k zubu.<sup>13</sup> Přibližně na úrovni dna *sulcus gingivalis* najdeme u třetiny zdravé populace z vestibulární strany paramarginální rýhu, která odděluje gingivu marginální a gingivu alveolární.<sup>14</sup>

*Alveolární gingiva* zasahuje od mukogingivální hranice do úrovně dna gingiválního sulcu. Má šířku 1–9 mm, u starších lidí může šířka přibývat. Na jejím povrchu po osušení nacházíme asi u 40 % populace dospělých lidí takzvaný stippling (dolíčkování, tečkování).<sup>15</sup> Toto jemné dolíčkování ukazuje místo příponu snopců vazivových vláken ke gingiválnímu epitelu.<sup>16</sup> V některých literaturách se uvádí, že stippling dává alveolární gingivě „vzhled pomerančové kůry“.<sup>17</sup> Jak uvádí Mutschelknauss: „Tento nález je velice důležitý, protože zřetelné změny jsou zjistitelné už při počínajícím zánětu.“<sup>18</sup> Při zánětu, v důsledku otoku stippling totiž vymizí.<sup>19</sup>

Alveolární gingiva je v pevném spojení s kostí alveolárního výběžku, nemá podslizniční vazivo.<sup>20</sup> Můžeme říct, že doslova srůstá s periostem kosti alveolární, a tak vytváří mukoperiost.<sup>21</sup> Toto připojení ke kostnímu

<sup>12</sup> MAZÁNEK, Jiří. *Stomatologie: minimum pro praxi*. s.39

<sup>13</sup> KLEPÁČEK, Ivo. *Klinická anatomie ve stomatologii*. s.115.

<sup>14</sup> ŠKACH, Miroslav a kolektiv autorů. *Základy parodontologie: učebnice pro lékařské fakulty*. Praha: Avicenum, 1984, s. 11.

<sup>15</sup> HELLWIG, Elmar, Thomas ATTIN a Joachim KLIMEK. *Záchovná stomatologie a parodontologie*. s. 239.

<sup>16</sup> KLEPÁČEK, Ivo. *Klinická anatomie ve stomatologii*. s. 115.

<sup>17</sup> LINDHE, Jan. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry. 5th edition*. Oxford: Blackwell Munksgaard, 2008, s. 8 ISBN 978-1-4051-6099-5

<sup>18</sup> MUTSCHELKNAUSS, Ralf E. a Peter DIEDRICH. *Praktická parodontologie: klinické postupy*. Praha: Quintessenz, 2002. Quintessenz bibliothek. s. 36. ISBN 80-902118-8-7.

<sup>19</sup> ŠEDÝ, Jiří a René FOLTÁN. *Klinická anatomie zubů a čelistí*. s. 33.

<sup>20</sup> URBAN, František. *Stomatologie*. Druhé přepracované a doplněné vydání. Praha: Avicenum Zdravotnické nakladatelství, 1976, s. 37

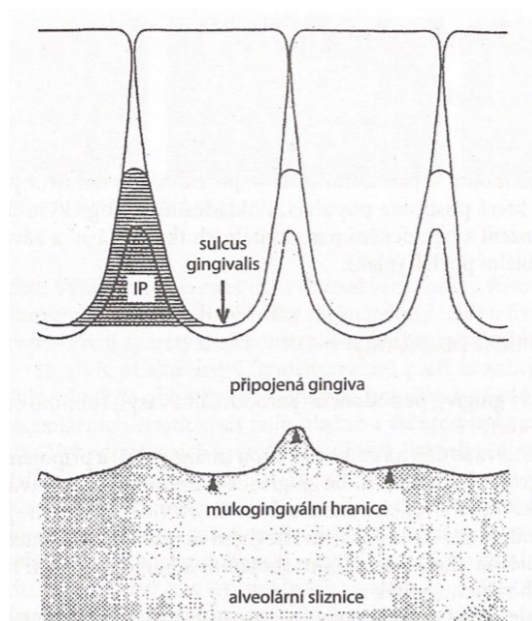
<sup>21</sup> ŠEDÝ, Jiří a René FOLTÁN. *Klinická anatomie zubů a čelistí*. s.33.



podkladu je tak pevné, že můžeme pozorovat kontury kosti a jednotlivých zubních lůžek.<sup>22</sup>

Rozhraní mezi gingivou a alveolární sliznicí je tvořeno takzvanou mukogingivální hranicí (*linea girlandiformis*). Je jasně viditelná jako ohraničený vlnitý přechod, kde se výrazně mění růžová barva dásní v sytě červenou barvu orální sliznice. Připojená gingiva v tuto orální sliznici, která je podložena řídkým vazivem, volně přechází.<sup>23</sup>

Obrázek 4 – Schematické znázornění anatomie gingivy



Zdroj: MAZÁNEK, Jiří. Stomatologie pro dentální hygienistky a zubní instrumentářky.s.228

<sup>22</sup> MUTSCHELKNAUSS, Ralf E. a Peter DIEDRICH. *Praktická parodontologie: klinické postupy*. s. 36.

<sup>23</sup> KLEPÁČEK, Ivo. *Klinická anatomie ve stomatologii*. s. 115.

### 1.1.3 Periodoncium

Periodoncium je soubor závěsných vazů, který zajišťuje pevné a zároveň pružné spojení zubu s kostním alveolem a okolními tkáněmi parodontu.<sup>24</sup> Tyto vazy, které mají podobu kolagenních vláken uspořádaných do silných vazivových svazků (ligament), jsou produkovány vysoce specializovanými buňkami – fibroblasty, které zabezpečují nejen produkci, ale také obnovu periodontálního ligamenta v průběhu života jedince.<sup>25</sup> Periodontální vazy nalezneme v úzkém prostoru, který se nazývá periodontální štěrbina. Nachází se mezi stěnou alveolu a kořenovým cementem zubu. Je široká zhruba 0,25 milimetru, přičemž nejužší je ve středu (0,15 milimetru) a naopak nejširší je v oblasti kořenového hrotu (0,35 milimetru).

Periodontální vazy můžeme z topograficko-anatomického hlediska rozdělit na vazy supraalveolární (*plexus fibrosus marginalis*) a vazy intraalveolární (*ligamentum periodontale*).

- *Supraalveolární vazy* zabezpečují spojení okrsků *lamina propria mucosae* interdentálních papil a vrcholků kostních sept alveolů. Dělíme je podle jejich místa úponu a struktur, které navzájem spojují, na vazy:
  - *cirkulární* (obkružují zub)
  - *dentogingivální* (spojují zub a gingivu)
  - *alveologingivální* (spojují kost a gingivu)
  - *dentoperiostální* (spojují zub a kost)

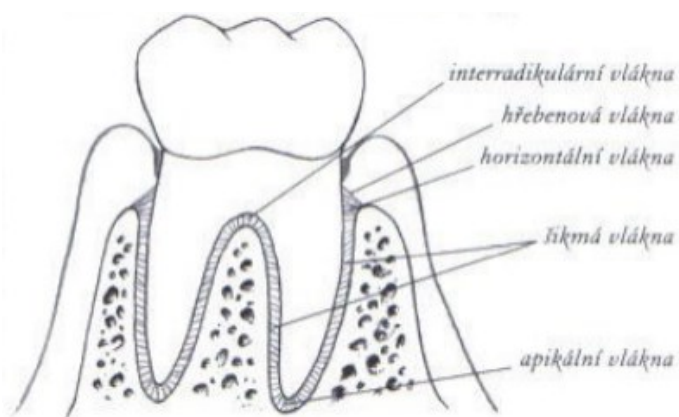
---

<sup>24</sup> SLEZÁK, Radovan. *Preklinická parodontologie*. Hradec Králové: Nucleus HK, 2007. Edice zubního lékařství (Nucleus HK). s. 20. ISBN 978-80-87009-18-5.

<sup>25</sup> STEJSKALOVÁ, Jitka. *Konzervační zubní lékařství*. 2. vyd. Praha: Galén, 2008. Zubní lékařství, s.14. ISBN 978-80-7262-540-6.

- *Intraalveolární vazy* (také Sharpeyovy vazy) spojují povrch zubního kořene se zubním alveolem a oblasti furkací kořenů vícekořenových zubů s vrcholky kostních sept mezi jednotlivými zubními alveoly (viz. obrázek 5). Dělíme je podle průběhu a podle místa, kde se nacházejí na:
  - *hřebenová*
  - *horizontální*
  - *šikmá*
  - *apikální*
  - *interradikulární*<sup>26</sup>

Obrázek 5 – Intraalveolární periodontální vazy a jejich rozmístění (schéma)



Zdroj: SLEZÁK, Radovan. *Preklinická parodontologie*. s.20

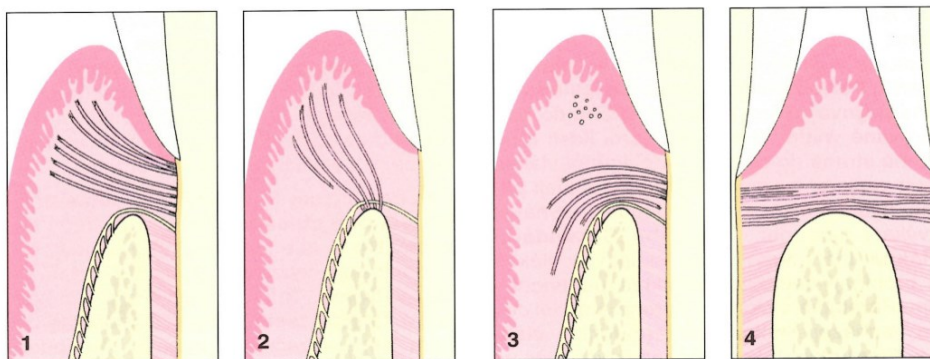
Periodoncium rovněž slouží jako rezervoár buněk nezbytných pro zachování a tvorbu kosti alveolárního výběžku a kořenového cementu zubu (osteoblasty, cementoblasty), ale obsahuje také buňky, které je resorbují (osteoklasty, cementoklasty). Jejich úkolem je přestavba a remodelace

<sup>26</sup> SLEZÁK, Radovan. *Preklinická parodontologie*. s. 20.

těchto tkání v procesu hojení, což je vzhledem k vysokému počtu buněk a vysoké regenerační schopnosti velice rychlý proces.<sup>27</sup>

Obrázek 6 – Funkční průběh vláken marginální a připojené gingivy na sagitálním řezu

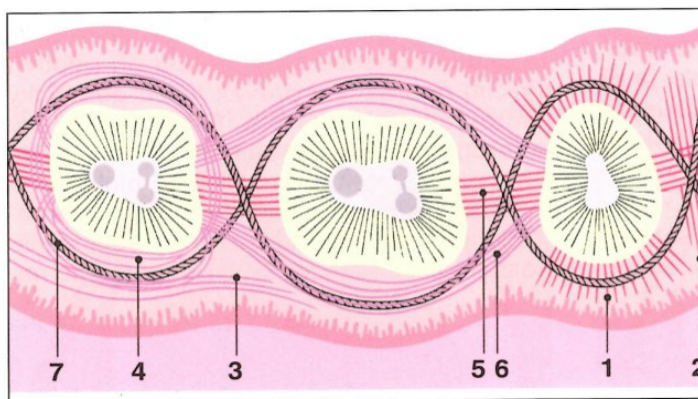
1 – dentogingivální vlákna (koronární a horizontální), 2 – alveologingivální vlákna, 3 – dentogingivální (apikální) a cirkulární vlákna, 4 – transeptální vlákna



Zdroj: MUTSCHELKNAUSS, Ralf E. Praktická parodontologie: klinické postupy. s.44

Obrázek 7 – Struktura gingiválních vláken na horizontálním řezu

1 – dentogingivální vlákna, 2 – mezipapilární vlákna, 3 – intergingivální vlákna, 4 – semicirkulární a cirkulární vlákna, 5 – transeptální vlákna, 6 – intercirkulární vlákna, 7 – transgingivální vlákna



Zdroj: MUTSCHELKNAUSS, Ralf E. Praktická parodontologie: klinické postupy. s.44

<sup>27</sup> EICKHOLZ, Peter. *Parodontologie od A do Z: základy pro praxi*. s.6.

#### 1.1.4 Zubní cement

Je tvrdá avaskulární mineralizovaná zubní tkáň pokrývající celý povrch kořene zubu od kořenového hrotu až po cementosklovinou hranici. Z vývojového i histologického hlediska je tato tkáň příbuzná kosti.<sup>28</sup> Řadí se jak mezi zubní, tak mezi tkáně parodontu. Zubní cement překrývá celou plochu dentinu (kromě oblastí pokryté sklovinou) v různě silné vrstvě v závislosti na místě. Jeho tloušťka činí koronárně 50 až 150 mikronů, apikálně 200 až 600 mikronů (0,2 až 0,6 mm).<sup>29</sup>

Jelikož cement přiléhá na povrch kořene ve vrstvách, můžeme ho dle starší klasifikace morfologicky rozdělit na dva typy: primární a sekundární. Vnitřní vrstva kořenového cementu, tzv. primární acelulární cement neobsahuje cementocyty – je bezbuněčný. Vnější vrstva – cement sekundární celulární cementocyty obsahuje.<sup>30</sup> Kromě buněk cement obsahuje i kolagenové fibrily, které mají radiální a cirkulární uspořádání. Do jeho povrchu se upínají Sharpeyova vlákna periodontálních ligament, jejichž úkolem je spojení zubu s kostí alveolárního výběžku, tudíž pevné ale zároveň pružné ukotvení zubu v čelisti.<sup>31</sup>

Primární cement vzniká nejdříve; nejčastěji ho najdeme v prvních dvou koronárních třetinách kořene zubu. V apikální třetině může být minimálně nebo zcela chybí. Jedná se v podstatě o tenkou vrstvu mineralizované hmoty, do které kotví vazivová vlákna závěsného aparátu periodoncia – *liggamenta periodontalia*.<sup>32</sup>

V apikální třetině kořene na primární acelulární cement navazuje cement sekundární celulární, který směrem ke hrotu zvětšuje objem. Tento typ cementu se vytváří později v důsledku stárnutí, ale také v oblastech, které jsou vystaveny zvýšenému zatížení nebo traumatickému zásahu.

---

<sup>28</sup>URBAN, František. *Stomatologie*. s. 32

<sup>29</sup>KOVAĽOVÁ, Eva a Zuzana ŤAPAJOVÁ. *Parodontológia I*. s. 182.

<sup>30</sup>MINČÍK, Jozef. *Kariologie*. Praha: StomaTeam, 2014, s.40 ISBN 978-80-904377-2-2.

<sup>31</sup>KOVAĽOVÁ, Eva a Zuzana ŤAPAJOVÁ. *Parodontológia I*. s. 182.

<sup>32</sup>KLEPÁČEK, Ivo. *Klinická anatomie ve stomatologii*. s. 24.

Nejčastěji ho nacházíme v místě bifurkací a v oblasti kořenového hrotu.<sup>33</sup> Jak uvádí Klepáček: „Přítomnost buněčného cementu signalizuje úbytek vláken periodoncia v příslušných oblastech.“<sup>34</sup>

Novější klasifikace dle Schrödera rozlišuje až pět typů zubního cementu.<sup>35</sup>

- *Acelulární afibrilární cement (primární)* se nachází v oblasti krčku (cemento-sklovinné hranice), kde kryje drobné úseky skloviny.
- *Acelulární fibrilární cement (primární)* nacházíme v cervikální a střední třetině zubního kořene. Rozlišujeme ho na vnitřní (intrinsic), který neobsahuje Sharpeyova vlákna a neplní úlohu úponu a zevní (extrinsic), který naopak obsahuje významné množství Sharpeyových vláken, která jsou kolmo ukotvena přímo v dentinu, tudíž tento typ cementu plní úlohu úponu.
- *Celulární fibrilární cement (sekundární)* je ve srovnání s cementem primárním více mineralizovaný a obsahuje méně kolagenních vláken. Nachází se převážně v apikální oblasti u hrotu kořene, nebo v oblasti furkací. Jeho tvorba je adaptačním mechanismem na úbytek tvrdých zubních tkání ve fyziologické rovině a má reparativní funkci při patologických stavech, jakými jsou resorpce nebo fraktury kořene. Je tvořen cementoblastmi a obsahuje cementocyty.
- *Intermediární cement* obsahuje zbytky epiteliálních buněk Hertwigovy pochvy, které jsou součástí základní substance cementu. Nachází se v oblasti cemento-sklovinné hranice.

---

<sup>33</sup> KLEPÁČEK, Ivo. *Klinická anatomie ve stomatologii*. s. 24.

<sup>34</sup> KLEPÁČEK, Ivo. *Klinická anatomie ve stomatologii*. s. 24

<sup>35</sup> MINČÍK, Jozef. *Kariologie*. s. 40.

- *Cementoid (precement)* je nemineralizovaný a tvoří tenkou vrstvu na povrchu acelulárního fibrilárního cementu, která slouží jako protiresorpční bariéra.<sup>36</sup>

Povrch cementu není rovný a hladký, obsahuje nerovnosti, tzv. resorpční lakuny, které v některých případech dosahují hloubky až 80 mikrometrů.<sup>37</sup> Retence plaku je v těchto nerovnostech výrazně vyšší než na hladkých ploškách zubu. Snadno se v nich zachytí mikroorganismy a zaklíní se minerály tvořící zubní kámen, proto je ošetření povrchu cementu a dokonalé ohlazení volné části zubního kořene naprosto zásadní pro úspěšnou léčbu zánětu.<sup>38</sup>

Cement se navrstvuje v průběhu celého života,<sup>39</sup> reaguje na zevní tlakové a tahové podněty procesem zvaným apozice. Rozlišujeme hypertrofii a hyperplazii cementu. Cementová hypertrofie je jeho funkční adaptací, cement tak reaguje na zvýšené přetížení parodontu. Hyperplazie cementu je nefunkční zbytnění pozorováno u zubů bez antagonistů a zubů, kde v periapikální oblasti probíhají chronické procesy. U cementové hyperplazie se počet parodontálních ligament snižuje.<sup>40</sup> Stav, kdy se cement nadměrně patologicky zbytní, se nazývá hypercementóza.<sup>41</sup>

#### 1.1.4.1 Cemento-sklovinná hranice

Z klinického hlediska cemento-sklovinná hranice, někdy nazývána i krčková linie, sehrává velmi významnou roli.<sup>42</sup> Anatomicky tato hranice odděluje korunku od kořene, v jejím místě se setkává sklovina, která pokrývá dentin korunky s acelulárním cementem, který kryje kořenový dentin.<sup>43</sup>

<sup>36</sup> MINČÍK, Jozef. *Kariologie*. s. 40.

<sup>37</sup> KOVALOVÁ, Eva a Zuzana ŤAPAJOVÁ. *Parodontológia I*. s. 182.

<sup>38</sup> ŠEDÝ, Jiří a René FOLTÁN. *Klinická anatomie zubů a čelistí*. s. 28.

<sup>39</sup> KOVALOVÁ, Eva a Zuzana ŤAPAJOVÁ. *Parodontológia I*. s. 184.

<sup>40</sup> MINČÍK, Jozef. *Kariologie*. s. 40.

<sup>41</sup> ŠEDÝ, Jiří a René FOLTÁN. *Klinická anatomie zubů a čelistí*. s. 28. <sup>42</sup>

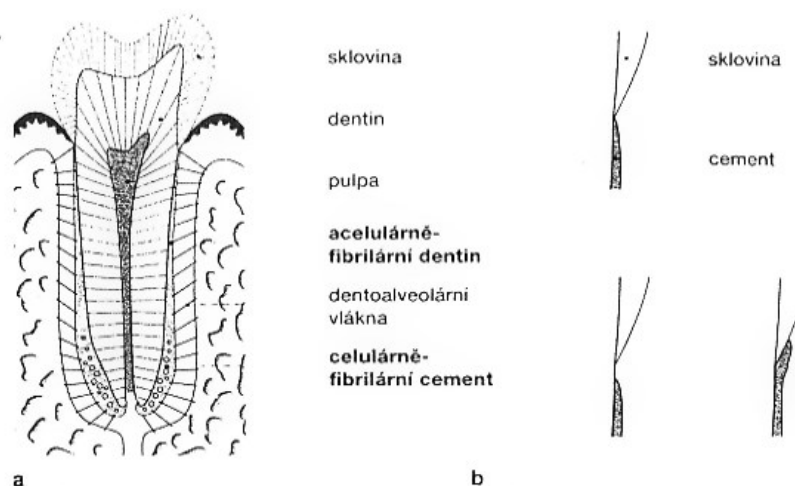
ŠEDÝ, Jiří a René FOLTÁN. *Klinická anatomie zubů a čelistí*. s. 28. <sup>43</sup>

KOVALOVÁ, Eva a Zuzana ŤAPAJOVÁ. *Parodontológia I*. s. 188.

Její morfologie je individuální a variabilní. V 60 % případů cement překrývá sklovinu, zhruba u 30 % jedinců v místě, kde končí sklovina plynule navazuje cement a ve zbylých 10 % případů se tyto tkáně nedotýkají vůbec, tudíž zde najdeme odhalený proužek dentinu, který je predilekčním místem vzniku zubního kazu.<sup>44</sup>

Obrázek 8

a – lokalizace a rozdělení celulárního a acelulárního fibrilárního cementu na povrchu zubu v podélném řezu  
 b – typy cemento-sklovinné hranice (cement nasedá přímo tam, kde sklovina končí, nechává malou oblast dentinu odhalenou, přechází na sklovinu a překrývá ji



Zdroj: HELLWIG, Elmar a kolektiv. Záchovná stomatologie a parodontologie. s.23

### 1.1.5 Kost alveolárního výběžku

*Alveolární výběžek (processus alveolaris)* je výběžek kosti horní a dolní čelisti se zubními lůžky (alveoly), ve kterých jsou pevně a zároveň pružně zapuštěny zuby. Na jeho zevní ploše se nachází tzv. juga alveolaria, vyklenutí podmíněná polohou zubních kořenů.<sup>45</sup> Alveolární výběžek je

<sup>44</sup> ŠEDÝ, Jiří a René FOLTÁN. *Klinická anatomie zubů a čelistí*. s. 28.

<sup>45</sup> KOVAĽOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont*. Prešov: Prešovská univerzita v Prešove, 2012, s. 169, ISBN 978-80-555-0567-1.



remodelovaný po celý život jedince a po ztrátě zubu dochází k jeho ústupu.<sup>46</sup>

*Alveolární kost* neboli kost alveolárního výběžku je nejvíc marginálně uložená část čelistní kosti, která vytváří výše zmíněný alveolární výběžek. Je vysoce metabolicky aktivní a skládá se z kostních buněk – osteoblastů, osteoklastů, osteocytů, organických a anorganických látek.<sup>47</sup> Organické látky zahrnují kolagen, glykoproteiny a proteoglykany. Anorganická složka se skládá z krystalů hydroxyapatitu rovnoběžně uspořádaných ke kolagenním vláknům.<sup>48</sup> Apatitové krystalky kromě toho, že zajišťují určitý stupeň rigidity kosti, slouží také jako rezerva hladiny kalcia v krvi.<sup>49</sup>

Kost alveolárního výběžku se skládá ze tří složek:

- Kost kompaktní (*lamina compacta*) – je trámčitá kost, která je na povrchu kryta periostem. Nachází se na povrchu alveolárního výběžku a je k ní přirostlá alveolární gingiva.
- Kost kompaktní, která je perforovaná a obklopuje kořeny zubů (*lamina cribrosa*) – tyto perforace umožňují vstup nervovcévního svazku, který vyživuje a inervuje zub, a dále umožňují ukotvení vazivových vláken.
- Kost spongiózní (*substantia spongiosa*) – houbovitá vrstva kosti, která je řidší a nachází se uvnitř mezi *lamina compacta* a *lamina cribrosa*.<sup>50</sup> Svým objemem tvoří spongiózní kost nejvíce hmoty kosti alveolárního výběžku.<sup>51</sup>

Alveolární kost je stále funkčně zatížená – důsledkem toho je její neustálá remodelace. Tato remodelace, kromě toho že umožňuje posuny

<sup>46</sup> HELLWIG, Elmar, Thomas ATTIN a Joachim KLIMEK. *Záchovná stomatologie a parodontologie*. s. 245.

<sup>47</sup> ŠKACH, Miroslav a kolektiv autorů. *Základy parodontologie: učebnice pro lékařské fakulty*. s. 11.

<sup>48</sup> KOVAĽOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont*. s. 169.

<sup>49</sup> ŠKACH, Miroslav a kolektiv autorů. *Základy parodontologie: učebnice pro lékařské fakulty*. s. 19.

<sup>50</sup> KOVAĽOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont*. s. 170.

<sup>51</sup> ŠEDÝ, Jiří a René FOLTÁN. *Klinická anatomie zubů a čelistí*. s. 31.

zubů například při léčbě ortodontickým aparátem, udržuje také stálou šířku periodontální štěrbinu – tím pádem nezaniká v důsledku apozice cementu.<sup>52</sup>

*Zubní alveol* neboli zubní lůžko je místo, kam je každý zub zasazen. Mezi jednotlivými zubními lůžky a mezi jednotlivými zubními kořeny u vícekořenových zubů jsou kostěné přepážky – septa. Tato septa, podle toho, kde se nacházejí dělíme na *septa interalveolaria* (septa mezi alveoly) a *septa interradicularia* (septa mezi zubními kořeny).<sup>53</sup>

Morfologie zubního lůžka je závislá na morfologii zubu a jeho kořene, které mu přináležejí. Stěnu zubního lůžka tvoří vrstva tvrdé kompaktní kosti – tzv. *lamina dura*. Mezi zánětlivé změny, ke kterým dochází při onemocnění parodontu patří resorpce *lamina dura* a úbytek alveolární kosti.<sup>54</sup>

### 1.1.6 Fyziologické změny na parodontu v průběhu života

Parodont je pevný, proměnlivý a přizpůsobivý funkční systém. Během života a vlivem stárnutí úpon attachmentu průběžně sestupuje apikálním směrem, čímž dochází k obnažování kořene zubu. Posléze dochází k atrofii alveolárního hřebene a přilehlé gingivy.

Důvodem úbytku tkání je degenerace buněk v důsledku věku a jejich rozpad kvůli působení toxinů orálních bakterií.<sup>55</sup> Jak uvádí Klepáček: „Předpokládá se, že morfologii parodontu ovlivňují během života dva souběžné děje – trvale probíhající zubní erupce a postupná redukce gingivy a tkáně zubního lůžka.“<sup>56</sup> Pokud dojde ke ztrátě antagonisty, protilehlý zub začne vyčnívat nad zubní oblouk – tento děj nazýváme pokračující (kompenzační) zubní erupce. Tento stav může být doprovázený dalším zvyšováním alveolárního hřebene. Naopak, může dojít také k redukci alveolárního hřebene, a to v situaci, kdy se obnažuje kořen zubu.<sup>57</sup>

<sup>52</sup> URBAN, František. *Stomatologie*. s. 39

<sup>53</sup> ŠEDÝ, Jiří a René FOLTÁN. *Klinická anatomie zubů a čelistí*. s. 31.

<sup>54</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont*. s. 171.

<sup>55</sup> KLEPÁČEK, Ivo. *Klinická anatomie ve stomatologii*. s. 116.

<sup>56</sup> KLEPÁČEK, Ivo. *Klinická anatomie ve stomatologii*. s. 116.

<sup>57</sup> KLEPÁČEK, Ivo. *Klinická anatomie ve stomatologii*. s. 116.

## 1.2 Zubní mikrobiální povlak

Prostředí ústní dutiny z mikrobiálního hlediska sestává z mnoha biotopů, které mají odlišný charakter. Jsou to například struktury jako jazyk, bukální sliznice, gingiva, zuby, ale také slina nebo sulkulární tekutina. Tato prostředí se navzájem liší, čímž je daná složitost a proměnlivost dějů, které zde probíhají. Z našeho hlediska je významná etiopatogeneze plakem podmíněných parodontopatií, kde se kromě vlastností sliny, sulkulární tekutiny a tvrdých zubních tkání významně uplatňují mikroorganismy zubního mikrobiálního povlaku.<sup>58</sup>

Existuje mnoho způsobů, jak můžeme definovat zubní povlak. Všeobecně uznávanou definici zubního mikrobiálního povlaku formuloval Kilian. Podle ní je zubní mikrobiální povlak charakterizován jako: „Vysoce organizovaná ekologická jednotka sestávající z velkého množství bakterií usazených v makromolekulární matrix bakteriálního a slinného původu.“<sup>59</sup> Dle Kovařové je definice následující: „Plak (biofilm) je zubní mikrobiální povlak na povrchu zubů, jejich náhrad a dásní, má svou strukturu, nedá se vypláchnout, dá se jenom odstranit mechanicky.“<sup>60</sup> Minčík uvádí že: „Zubní plak je strukturovaný zubní mikrobiální biofilm, který se vytváří na povrchu zubů. Skládá se z bakterií, bakteriálních metabolických produktů, zbytků potravy a součástí slin. Z ekologického hlediska je zubní plak (biofilm) – vysoce organizované společenství různých bakterií, adherujících k určitému povrchu.“<sup>61</sup>

Z výše uvedeného vyplývá, že zuby, ale i další struktury nacházející se v ústní dutině, velmi dobře umožňují kumulaci velkého množství bakterií a jejich extracelulárních produktů.<sup>62</sup> Zubní mikrobiální povlak je tedy povlak získaný.<sup>63</sup> Při nedostatečné nebo zanedbané ústní hygieně si plak svoji

<sup>58</sup> KILIAN, Jan. *Prevence ve stomatologii*. 2. rozš. vyd. Praha: Galén, 1999, s. 35. ISBN 80-7262-022-3.

<sup>59</sup> KILIAN, Jan. *Prevence ve stomatologii*. s. 35.

<sup>60</sup> KOVAŘOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont.* s. 194.

<sup>61</sup> MINČÍK, Jozef. *Kariologie*. s. 62.

<sup>62</sup> KILIAN, Jan. *Prevence ve stomatologii*. s. 35.

<sup>63</sup> SLEZÁK, Radovan. *Praktická parodontologie*. Praha: Quintessenz, 1995. Quintessenz bibliothek, s. 31 ISBN 80-901024-8-4.

charakteristickou strukturu dokáže vytvořit už během několika hodin.<sup>64</sup> Za nejdůležitější předpoklad pro kolonizaci povrchu zubu a jeho vznik můžeme považovat schopnost *bakteriální adherence*. Tento děj významně ovlivňuje povrchová energie a zubní pelikula tvořena glykoproteiny. Mikroorganismy v plaku jsou schopné vzájemné komunikace za účelem co nejlépe umožnit svoje přežití.<sup>65</sup>

Měkký, nevyzrálý a nemineralizovaný zubní povlak má dvě hlavní složky. Jednou je *materia alba*, která nemá charakteristické uspořádání, a druhou složkou je typicky strukturovaný *vlastní plak*.<sup>66</sup> Tyto dvě složky je zapotřebí od sebe odlišit, právě kvůli významným rozdílům v jejich vlastnostech. *Materia alba* je bílá hmota krémovité (někde se uvádí kašovitě) konzistence. Vzniká volnou kumulací zbytků potravy, buněk, odloupaných epitelů a mikroorganismů.<sup>67</sup> Tato hmota, jak je výše uvedeno, nemá svou vlastní charakteristickou strukturu, neadheruje k povrchu zubu a lze jí odstranit pouze vypláchnutím ústní dutiny, nebo proudem vody. Zbytky potravy zůstávají zejména v místech habituálně nečistých, tedy tam, kde nedochází k samočištění. Nejčastěji to jsou cervikální oblast zubů nebo mezizubní prostory.<sup>68</sup> Zbytky potravy samy o sobě patogenní nejsou, ale vytváří významná retenční místa pro zubní plak.<sup>69</sup>

Kromě *materia alba* je od plaku nutné odlišit i pigmentace (zbarvení zubů), jejichž příčina souvisí s konzumací vysoce pigmentovaných nápojů a potravin jako jsou káva, černý čaj, červená řepa, nebo červené víno. S tvorbou pigmentací na povrchu zubů také úzce souvisí kouření.<sup>70</sup>

---

<sup>64</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont.* s. 194.

<sup>65</sup> MINČÍK, Jozef. *Kariologie.* s. 62.

<sup>66</sup> ŠKACH, Miroslav a kolektiv autorů. *Základy parodontologie: učebnice pro lékařské fakulty.* s. 34.

<sup>67</sup> KILIAN, Jan. *Prevence ve stomatologii.* s. 35.

<sup>68</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont.* s. 195.

<sup>69</sup> HELLWIG, Elmar, Thomas ATTIN a Joachim KLIMEK. *Záchovná stomatologie a parodontologie.* s. 247. <sup>70</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont.* s. 195.

### 1.2.1 Vlastnosti zubního povlaku

Zubní mikrobiální povlak (plak) řadíme do primárního komplexu příčin způsobujících a ovlivňujících zánětlivá onemocnění parodontu.<sup>71</sup> Můžeme říct, že se jedná o složitý, proměnlivý a dynamický ekosystém, který zahrnuje velice variabilní a pestrou směs mikrobiálních kmenů, které žijí, jak uvádí Urban: „...v synergních intermikrobiálních vztazích s celým komplexem enzymů a produktů mikrobiálního metabolismu.“<sup>72</sup> V jednom miligramu vyzrálého plaku se nachází až 100 až 300 milionů bakterií.<sup>73</sup>

Je to tuhý, plstnatý, lepkavý biofilm, který pevně adhezuje k povrchu zubů a dalších struktur v ústní dutině. Nově vytvořený má bílou barvu, starší vyzrálější plak se barví do žluta.<sup>74</sup> Charakteristické je, že struktura a složení zubního povlaku se liší podle jeho lokalizace.<sup>75</sup>

### 1.2.1 Dělení zubního povlaku

Zubní mikrobiální povlak rozdělujeme na plak *koronární*, *fisurální* a *gingivální* podle toho, na které části zubu je uložený. Gingivální zubní plak ještě dále topograficky dělíme na plak *supragingivální* a *subgingivální*.<sup>76</sup> Speciální formou zubního povlaku je *zooglea* – plak, který se nachází na dásni z její vnější strany.<sup>77</sup>

- *Koronární zubní povlak* se ukládá na zubní korunce – především v její cervikální třetině, v mezizubních prostorech na proximálních ploškách a na okluzních ploškách zubů, kterým chybí antagonisté. Obsahuje převážně streptokoky, aktinomycety a veilonely.

<sup>71</sup> HELLWIG, Elmar, Thomas ATTIN a Joachim KLIMEK. *Záchovná stomatologie a parodontologie*. s. 247.

<sup>72</sup> URBAN, František. *Stomatologie*. s. 44

<sup>73</sup> KOVAĽOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orálna hygiena IV. Základy orálnej medicíny – Biológia - Imunológia - Parodont*. s. 195.

<sup>74</sup> KOVAĽOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orálna hygiena IV. Základy orálnej medicíny – Biológia - Imunológia - Parodont*. s. 195.

<sup>75</sup> KILIAN, Jan. *Prevence ve stomatologii*. s. 35.

<sup>76</sup> ŠKACH, Miroslav a kolektiv autorů. *Základy parodontologie: učebnice pro lékařské fakulty*. s. 33.

<sup>77</sup> MUTSCHELKNAUSS, Ralf E. a Peter DIEDRICH. *Praktická parodontologie: klinické postupy*. s. 5.

- *Fisurální zubní povlak* najdeme v jamkách a rýhách fisurálního komplexu na okluzních ploškách zubů laterálních úseků chrupu. Mikrobiální flóra není tak rozmanitá – najdeme zde z velké části grampozitivní koky a tyčinky. Mikroorganismy jsou v přímém kontaktu se sklovinou a palisádovité uspořádání zde chybí.
- *Supragingivální zubní povlak* se kumuluje nad cementosklovinnou hranicí v gingivální oblasti, nezasahuje však do gingiválního sulcu. Tento povlak má velice podobné složení jako povlak koronární.
- *Subgingivální zubní povlak* přítomný v parodontálních kapsách je rozdílný hlavně kvůli charakteru prostředí, ve kterém se nachází. Bakterie totiž nemusí být schopné adherence, jejich kolonizace není narušována žádným zevním vlivem jako například samočisticí schopnost hladkých plošek zubů při příjmu potravy, nebo abrazí obecně. Jelikož se jedná o prostředí, kde je nedostatek kyslíku, mluvíme zde o bakteriích převážně anaerobních – gramnegativní koky, tyčinky a spirochéty, které netvoří extracelulární polysacharidy – tím pádem subgingivální povlak adhezuje jen volně – nazýváme ho *plovoucí plak* (anglicky *swimming plaque*). Charakteristickými mikroorganismy tohoto plaku jsou bakterie rodu *Bacteroides*, rodu *Capnocytophaga*, *Fusobacterium nucleatum*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* a další.<sup>78</sup>

---

<sup>78</sup> KILIAN, Jan. *Prevence ve stomatologii*. s. 38.

### 1.2.2 Složení zubního povlaku

Zubní povlak má tři hlavní složky, kterými jsou získaná pelikula, mikroorganismy plaku a intermikrobiální substance (matrix).<sup>79</sup>

Získaná pelikula (ve starších literaturách se uvádí také název kutikula) je tenká acelulární vrstva, která vzniká na povrchu zubu již několik vteřin až minut po jeho dokonalém vyčištění. Skládá se ze slinných sulfoproteinů, fosfoproteinů a později i glykoproteinů.<sup>80</sup>

Pelikule je přisuzováno několik obranných funkcí. Má schopnost odolávat působení slabých kyselin, čímž chrání povrch zubní skloviny. Rovněž slouží jako zásobník iontů vápníku a fosforu a do určité míry brání jejich uvolňování, což sehrává důležitou roli při remineralizaci skloviny.

Kromě funkcí prospěšných pro tvrdé zubní tkáně pelikula významně ovlivňuje schopnost adheze mikroorganismů k povrchu zubů. V důsledku toho, že pelikula slouží jako substrát pro bakteriální kolonizaci, může dojít k začátku tvorby zubního povlaku.<sup>81</sup>

Intermikrobiální substance neboli intermikrobiální matrix je hmota, která vyplňuje prostor mezi jednotlivými bakteriemi. Je vytvořená ze slinných glykoproteinů (případně glykoproteinů z gingivální tekutiny) a extracelulárních polysacharidů mikrobiálního původu – glukánů (dextransy, mutany) a fruktanů (levany).<sup>82</sup> Matrix tvoří zhruba 25 % celkového objemu zubního mikrobiálního povlaku.<sup>83</sup>

Mikroorganismy tvoří až 70 až 80 % celkového objemu zubního povlaku. V jednom milimetru krychlovém plaku se jich nachází nejméně 10<sup>8</sup> jednotek.<sup>84</sup> Podařilo se izolovat asi 400 až 500 druhů a poddruhů, které lze

<sup>79</sup> KOVAĽOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orálnej medicíny – Biológia - Imunológia - Parodont.* s. 195.

<sup>80</sup> DŘÍŽHAL, I.; SLEZÁK, R.: *Základy parodontologie.* Praha: Karolinum, 1993, s. 63. ISBN 80-7066-811-3.

<sup>81</sup> KILIAN, Jan. *Prevence ve stomatologii.* s. 36.

<sup>82</sup> DŘÍŽHAL, I.; SLEZÁK, R.: *Základy parodontologie.* s. 64.

<sup>83</sup> KOVAĽOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orálnej medicíny – Biológia - Imunológia - Parodont.* s. 196.

<sup>84</sup> DŘÍŽHAL, I.; SLEZÁK, R.: *Základy parodontologie.* s. 64.

rozdělit do skupin dle různých vlastností. Podle způsobu života a potřeby kyslíku je dělíme na aeroby, anaeroby a fakultativní anaeroby, podle tvaru na koky, tyčky, spirochety a další.<sup>85</sup>

### 1.2.3 Tvorba a vývoj zubního povlaku

Tvorbu a vývoj zubního povlaku nelze chápat jenom jako zvětšování jeho objemu a nabývání na tloušťce – jedná se především o změnu složení mikrobiálního obsazení v průběhu času a pochopení fungování celého bakteriálního ekosystému.<sup>86</sup>

#### 1. fáze – fáze pelikuly

Jak již bylo v předešlém textu zmíněno, zubní pelikula je získaná vrstva skládající se ze slinných proteinů, která se tvoří na povrchu dokonale vyčištěného zubu téměř okamžitě. Především se jedná o albumin, amylázu, lysozym, glukosyltransferázu, imunoglobuliny třídy IgA a IgG a také fosforylovaný albumin.<sup>87</sup> Ty mají schopnost vázat se na vápenaté a fosfátové ionty apatitu.<sup>88</sup>

Její tloušťka nejrychleji přibývá do dvou hodin od začátku její tvorby – tehdy činí přibližně 100 nanometrů. Do 48 hodin od počátku její tvorby nabyde pelikula 500–1000 nanometrů.<sup>89</sup>

#### 2. fáze – časná kolonizace

V druhé fázi vývoje zubního povlaku, kterou rovněž nazýváme časnou kolonizací plaku, dochází k postupné bakteriální kolonizaci získané pelikuly. Toto osídlování bakteriemi přecházejícími z okolí přímým kontaktem z nedostatečně očištěných zubních plošek a ze

---

<sup>85</sup> KOVAĽOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orálna hygiena IV. Základy orálnej medicíny – Biológia - Imunológia - Parodont.* s. 196.

<sup>86</sup> KILIAN, Jan. *Prevence ve stomatologii.* s. 36.

<sup>87</sup> KILIAN, Jan. *Prevence ve stomatologii.* s. 36.

<sup>88</sup> MINČÍK, Jozef. *Kariologie.* s. 63.

<sup>89</sup> DŘÍŽHAL, I.; SLEZÁK, R.: *Základy parodontologie.* s. 63.



sliny nastává již během 4 až 48 hodin. Mikroorganismy na pelikulu nasedají zpravidla v předurčeném pořadí.<sup>90</sup>

Nejdříve jsou to bakterie s největší schopností adheze.<sup>91</sup> Mezi úplně prvními najdeme grampozitivní koky, zejména streptokoky – *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis* a aktinomycey.<sup>92</sup> Zmíněné mikroorganismy mají totiž na svém povrchu tzv. *glykokalix* – strukturu tvořenou souborem vláken, které se označují jako fimbrie a pili. Na koncích těchto vláken nalezneme vazebné molekuly – lecitiny a adhezíny, které mají specifickou afinitu k sacharidové složce získané pelikuly (přitahuje je). Neméně důležitou je však i schopnost zmíněných bakterií, zejména streptokoků, produkovat extracelulární polysacharidy, které plní funkci energetické rezervy a zároveň poskytují možnost k uchycení a kolonizaci povrchu zubů dalšími mikroorganismy. Toto stádium trvá přibližně 8 až 12 hodin, během kterých je povrch zubu pokryt tenkou, ale zato kontinuální vrstvou zubního povlaku.<sup>93</sup>

Kromě bakterií, které tvoří značnou část kultivované flóry (prvních 24 hodin až 95 % streptokoků), se v plaku objevují i komponenty hostitelského organismu, jako jsou slinné glykoproteiny, epitelie a polymorfonukleární lymfocyty.<sup>94</sup>

### 3. fáze – pozdní kolonizace

Pokud nedojde k mechanickému narušení povlaku, jeho vrstva mohutní, množství mikroorganismů se zvyšuje a dochází ke kvalitativním změnám v jejich zastoupení.

Postupně se objevují vláknité mikroorganismy, grampozitivní tyčky, gramnegativní koky, gramnegativní tyčky a posléze i orální

<sup>90</sup> KILIAN, Jan. *Prevence ve stomatologii*. s. 36.

<sup>91</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont*. s. 196.

<sup>92</sup> KILIAN, Jan. *Prevence ve stomatologii*. s. 36.

<sup>93</sup> DŘÍŽHAL, I.; SLEZÁK, R.: *Základy parodontologie*. s. 63.

<sup>94</sup> KILIAN, Jan. *Prevence ve stomatologii*. s. 37.

spirochéty.<sup>95</sup> Jak uvádí Kilian: „...metabolismus aerobních bakterií snižuje oxidoredukční potenciál plaku, a tím zlepšuje podmínky pro fakultativní i obligátní anaeroby.“<sup>96</sup> Kromě toho mohutnějící a narůstající tloušťka zubního povlaku poskytuje zlepšení životních podmínek pro anaerobní mikroorganismy.<sup>97</sup> Difuze kyslíku je čím dál tím víc omezená, což ale zároveň neprospívá aerobním bakteriím.<sup>98</sup> Plynule se objevují fakultativně až striktně anaerobní mikroorganismy, kdy zhruba po třech týdnech již zcela převažují.<sup>99</sup> Primární kolonizace aerobními bakteriemi je nezbytná pro pozdější nasedání gramnegativních druhů.<sup>100</sup>

#### 4. fáze – zrání plaku

V další fázi tvorby se zubní povlak vyznačuje sice větší rozmanitostí druhů, ale zato se ztrácí jeho organizovanost. Pokračující kumulace a následné vyvrávání plaku je možné díky intermikrobiální matrix, která slouží jako mezibunečná síť. Její hlavní složkou jsou již zmiňované extracelulární polysacharidy.<sup>101</sup>

Zralý plak dosáhne svého specifického uspořádání asi po třech týdnech.<sup>102</sup> Bakteriální kolonie jsou uloženy palisádovitě, filamenta a koky paralelně v pravém úhlu k zubní sklovině, se kterou jsou v přímém kontaktu, neboť pelikula byla rozrušena bakteriálními enzymy.<sup>103</sup> Ve zralém plaku nalezneme typické mikroskopické struktury zvané „corn cobs“. Jedná se o kukuřičnému klasu podobné paličkovité útvary, které sestávají z gramnegativního vlákna (filamenta) obaleného drobnými grampozitivními koky.<sup>104</sup> Popsaná

<sup>95</sup> DŘÍŽHAL, I.; SLEZÁK, R.: Základy parodontologie. s. 63.

<sup>96</sup> KILIAN, Jan. *Prevence ve stomatologii*. s. 37.

<sup>97</sup> DŘÍŽHAL, I.; SLEZÁK, R.: Základy parodontologie. s. 64.

<sup>98</sup> KILIAN, Jan. *Prevence ve stomatologii*. s. 37.

<sup>99</sup> DŘÍŽHAL, I.; SLEZÁK, R.: Základy parodontologie. s. 64.

<sup>100</sup> KILIAN, Jan. *Prevence ve stomatologii*. s. 37.

<sup>101</sup> KILIAN, Jan. *Prevence ve stomatologii*. s. 37.

<sup>102</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont*. s. 196.

<sup>103</sup> KILIAN, Jan. *Prevence ve stomatologii*. s. 37.

<sup>104</sup> DŘÍŽHAL, I.; SLEZÁK, R.: Základy parodontologie. s. 64.

byla i horizontální stratifikace – anaerobních mikroorganismů směrem k povrchu (směrem k dutině ústní) vzhledem k podmínkám ubývá, aerobních naopak přibývá.<sup>105</sup>

Na povrchu tohoto zubního povlaku je bezstrukturní acelulární vrstva *materia alba*. Jsou pozorovány i počátky kalcifikace, což má za následek tvorbu zubního kamene. Z uvedeného vyplývá, že zubní kámen vznikne jenom za předešlé přítomnosti zubního povlaku.<sup>106</sup>

#### 5. fáze – mineralizace plaku

Postupná tvorba mineralizačních center uvnitř zralého plaku má za následek vznik zubního kamene. Tato centra jsou tvořena vápenatými solemi, které se vysráží ze sliny. Podrobněji je proces popsán v nadcházející kapitole (1.2.4).

#### 1.2.4 Zubní kámen

Zubní kámen (*calculus dentis*) vzniká mineralizací vrstvy zubního mikrobiálního povlaku.<sup>107</sup> Mineralizační centra, jež postupně splývají v jeden celek mineralizovaného zubního kamene, se objevují již po třech týdnech od začátku tvorby zubního povlaku. S tvrdými zubními tkáněmi jsou depozita zubního kamene spojena prostřednictvím kalcifikované pelikuly. Mineralizace pokračuje až do doby, kdy soli ze slin dosahují 70 až 80% hmotnosti plaku.<sup>108</sup> Najdeme je především ve formě fosforečnanu a uhličitanu vápenatého, zatímco jeho organickou složku tvoří proteiny a sacharidy.<sup>109</sup>

Podobně jako zubní mikrobiální povlak se i zubní kámen usazuje na všech nedostatečně vyčištěných površích v ústní dutině – například na

<sup>105</sup> KILIAN, Jan. *Prevence ve stomatologii*. s. 37.

<sup>106</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont*. s. 197.

<sup>107</sup> ŠKACH, Miroslav a kolektiv autorů. *Základy parodontologie: učebnice pro lékařské fakulty*. s. 33.

<sup>108</sup> KILIAN, Jan. *Prevence ve stomatologii*. s. 38.

<sup>109</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont*. s. 198.

povrchu zubních náhrad a protetických suprastruktur.<sup>110</sup> Jeho tvorbu ovlivňuje široká škála faktorů od úrovně ústní hygieny, dietních opatření, užívaných farmak, složení sliny či bakteriálního složení ústní dutiny a zubního plaku.<sup>111</sup>

Zubní kámen můžeme stejně jako zubní mikrobiální povlak rozdělit dle jeho lokalizace. Dělíme jej na supragingivální a subgingivální.

*Supragingivální zubní kámen* se vytváří nad okrajem marginální gingivy, kde ho můžeme při vyšetření vidět i pouhým okem, nebo detekovat sondou. Tento typ zubního kamene bývá světlý až světle hnědý, u kuřáků však může nabýt až černé barvy.<sup>112</sup> Predilekčními místy jeho vzniku jsou plošky zubů, které se nacházejí v blízkosti vývodů velkých slinných žláz – zejména orální plošky zubů frontálního úseku v dolní čelisti a bukální plošky molárů horní čelisti.<sup>113</sup> V určitých případech, kdy zubu nebo skupině zubů chybí antagonisti – tudíž nejsou zařazeny do mastikace a odpadá proces samoočišťování – se může zubní kámen tvořit a pokrývat i celé plochy zubů.<sup>114</sup> Tento typ zubního kamene je však naproti subgingiválnímu poměrně měkký a dá se relativně jednoduše mechanicky odstranit.<sup>115</sup>

*Subgingivální zubní kámen* nalezneme pod úrovní cementosklovinné hranice, pod okrajem marginální gingivy – většinou v pravých a nepravých parodontálních kapsách.<sup>116</sup> Ukládá se na povrch kořene zubu. Obvykle ho můžeme vidět po odtažení marginální gingivy, někdy také prosvítá a barva gingivy nad zubním kamenem je zašedlá.<sup>117</sup> Dobře průkazný se jeví na RTG snímku.<sup>118</sup> Naproti supragingiválnímu, subgingivální kámen bývá většinou

---

<sup>110</sup> ŠKACH, Miroslav a kolektiv autorů. *Základy parodontologie: učebnice pro lékařské fakulty*. s. 34.

<sup>111</sup> LIMBACK, Hardy. *Preventivní stomatologie*. Praha: Grada Publishing, 2017, s. 57-59. ISBN 978-80-271-0094-1

<sup>112</sup> ŠKACH, Miroslav a kolektiv autorů. *Základy parodontologie: učebnice pro lékařské fakulty*. s. 34.

<sup>113</sup> KOVAĽOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont*. s. 198.

<sup>114</sup> URBAN, František. *Stomatologie*. s. 49.

<sup>115</sup> ŠKACH, Miroslav a kolektiv autorů. *Základy parodontologie: učebnice pro lékařské fakulty*. s. 34.

<sup>116</sup> KOVAĽOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont*. s. 198.

<sup>117</sup> ŠKACH, Miroslav a kolektiv autorů. *Základy parodontologie: učebnice pro lékařské fakulty*. s. 34.

<sup>118</sup> ŠKACH, Miroslav a kolektiv autorů. *Základy parodontologie: učebnice pro lékařské fakulty*. s. 34.

tmavší – často hnědý až černý.<sup>119</sup> Toto zbarvení způsobuje většinou přítomnost odbouraného hemoglobinu rozložených erytrocytů.<sup>120</sup> Dalším rozdílem je jeho tvrdost – je tvrdší, a i v souvislosti s místem jeho nálezu jde mnohem obtížněji odstranit. Tento typ zubního kamene nemá predilekční lokalizaci.<sup>121</sup>

Zubní kámen má zásadní význam v etiopatogenezi plakem podmíněných parodontopatií, zejména na podkladě mechanické iritace a jako významný retenční faktor zubního povlaku.<sup>122</sup>

### **1.3 Mikrobiologie vybraných onemocnění gingivy a parodontu**

Onemocnění parodontu se týkají všech struktur popsaných v kapitole 1.1 – gingivy, periodontálních vláken, zubního cementu a kosti alveolárního výběžku.

#### **1.3.1 Vybraná onemocnění gingivy**

Onemocnění gingivy jsou vymezené pouze na povrchovou strukturu parodontu – gingivu. Často jsou na ní přítomné první zánětlivé změny, které ale ještě mají zvrtný ráz. Zánětlivé onemocnění gingivy nazýváme gingivitida.

V rámci skupiny onemocnění – gingivitid, je můžeme etiologicky rozdělit na plakem podmíněnou gingivitidu a onemocnění gingivy se zubním mikrobiálním povlakem etiologicky nesouvisející.<sup>123</sup> V naší práci se s ohledem na její celkové zaměření budeme věnovat plakem podmíněné gingivitidě.

<sup>119</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont.* s. 198.

<sup>120</sup> MUTSCHELKNAUSS, Ralf E. a Peter DIEDRICH. *Praktická parodontologie: klinické postupy.* s. 36.

<sup>121</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont.* s. 198.

<sup>122</sup> ŠEDÝ, Jiří. *Kompendium stomatologie.* s. 677

<sup>123</sup> EICKHOLZ, Peter. *Parodontologie od A do Z: základy pro praxi.* s. 33.

### 1.3.2 Plakem podmíněné gingivitidy

Gingivitidy dále rozdělujeme dle jejich rozsahu na lokalizovanou a generalizovanou formu. Lokalizovaná forma je vymezena na určitou část chrupu – nalezneme ji v okolí jednoho či více zubů. Při generalizované formě je postižena gingiva všech zubů.<sup>124</sup>

Plakem podmíněná gingivitida je onemocnění charakterizované zarudnutím a zduřením interdentální papily i marginální a alveolární gingivy. Při zánětu barevně splynou a hranice mezi nimi se nedají odlišit. Tyto struktury vykazují bolestivost na pohmat až spontánně, v závislosti na rozvinutosti stádia onemocnění. V důsledku bolestivosti a zduření může mít jedinec zhoršenou osobní orální hygienu. Dalším příznakem přítomného zánětu gingivy je krvácení na podnět, nebo v některých případech až spontánní krvácení. Podle míry krvácivosti vyšetřujeme stupeň zánětu. Další reakcí na zánět je zvýšená produkce sulkulární tekutiny. Gingiva pod attachmentem začne produkovat zánětlivý exsudát, který stéká směrem apikálním – čímž se exsudát hromadí v gingiválním sulku a omývá vnitřní epiteliální kryt gingivy. Zároveň zde působí jako médium, skrze které se do místa zánětu dostanou první buňky imunitního systému – polymorfonukleární leukocyty. Gingivitida může mít průběh akutní nebo chronický, nepozorujeme při ní úbytek kosti alveolárního výběžku ani ztrátu attachmentu.<sup>125</sup>

Gingivitidy jsou buďto primární – izolované, kde etiologický faktor způsobuje onemocnění gingivy přímo, nebo sekundární – kde je postižení gingivy druhotné a může být doprovodným příznakem nějakého celkového onemocnění. Podle míry zduření (zvětšení) gingivy rozeznáváme prosté zvětšení, zánětlivé zduření až gingivitidy hyperplastické. Jelikož je ale toto postižení omezeno pouze na gingivální tkáň, paradontální kapsy, které vzniknou na základě zvětšení objemu gingivy nazýváme nepravé.<sup>126</sup>

---

<sup>124</sup> ŠEDÝ, Jiří. *Kompendium stomatologie*. s. 713.

<sup>125</sup> ŠEDÝ, Jiří. *Kompendium stomatologie*. s. 712-715.

<sup>126</sup> ŠEDÝ, Jiří. *Kompendium stomatologie*. s. 713.

Při důkladném dodržování osobní orální hygieny, důsledném odstranění zubního plaku a dodržování pokynů zubního lékaře či dentální hygienistky se však gingiva vyhojí *ad integrum*.<sup>127</sup> Neléčená chronická gingivitida může přejít až do chronické parodontitidy.<sup>128</sup>

### 1.3.3 Vybraná onemocnění parodontu

Onemocnění parodontu postihují veškeré parodontální struktury. Mají rozsáhlou klasifikaci, avšak pro účely této práce je stěžejní rozdělení pouze na parodontitidy chronické a agresivní.

### 1.3.4 Chronická parodontitida

Chronická parodontitida je nejrozšířenější formou parodontitidy. Jedná se o pomalu progredující zánětlivé onemocnění, které kromě struktur parodontu má nepříznivý vliv také na celkové systémové zdraví jedince.<sup>129</sup>

Hlavní etiologickou příčinou je zubní mikrobiální povlak. Obligátní příznaky parodontitidy tvoří trojice hlavních znaků – zánět (gingivitida), přítomnost parodontálních kapes a ztráta alveolární kosti prokazatelná na rentgenovém snímku, souhrnně označené jako parodontologická trias.<sup>130</sup>

Kromě úbytku kosti, gingivitidy a přítomnosti parodontálních kapes pozorujeme ztrátu attachmentu a podpůrných tkání celkově. S tím jsou spojeny inklinace, posuny a pohyblivost zubů. Mohou být přítomné parodontální abscesy, pulpoparodontální postižení, postižení furkací a v pozdním stádiu až luxace zubů.<sup>131</sup> Rozeznáváme lokalizovanou formu – postižené jsou konkrétní zuby, a generalizovanou formu – postižen je celý chrup.<sup>132</sup> V zahraniční literatuře se uvádí, že o lokalizovanou parodontitidu

<sup>127</sup> HELLWIG, Elmar, Thomas ATTIN a Joachim KLIMEK. *Záchovná stomatologie a parodontologie*. s. 270.

<sup>128</sup> ŠEDÝ, Jiří. *Kompendium stomatologie*. s. 715.

<sup>129</sup> NEWMAN, Michael G., Henry H. TAKEI a Perry R. KLOKKEVOLD, CARRANZA, Fermin A., ed. *Carranza's clinical periodontology*. 12th edition. Philadelphia, Pa.: Elsevier Saunders, 2015, s. 342, ISBN 978-0-323-18824-1.

<sup>130</sup> NEWMAN, Michael G., Henry H. TAKEI a Perry R. KLOKKEVOLD, CARRANZA, Fermin A., ed. *Carranza's clinical periodontology*. s. 342.

<sup>131</sup> HELLWIG, Elmar, Thomas ATTIN a Joachim KLIMEK. *Záchovná stomatologie a parodontologie*. s. 270.

<sup>132</sup> SLEZÁK, Radovan. *Preklinická parodontologie*. s. 12.

se jedná, jestliže je ztrátou attachmentu a úbytkem kosti postiženo do 30 % chrupu, o generalizovanou, jestliže je chrup postižen ve více než 30 %.<sup>133</sup>

### 1.3.5 Agresivní parodontitidy

Agresivní parodontitidy tvoří skupinu parodontitid, které se projevují rapidně rychlou destrukcí alveolární kosti a podpůrných tkání, často nepřiměřenou k věku, celkovému zdraví a k úrovni orální hygieny jedince.<sup>134</sup> Agresivní parodontitida může mít podobně jako chronická parodontitida – lokalizovanou i generalizovanou formu.<sup>135</sup> Setkáváme se s nimi zejména u mladých lidí, nejčastěji mezi 20. až 35. rokem života.<sup>136</sup>

- **Lokalizovaná juvenilní parodontitida**

Jedná se o zánětlivé onemocnění parodontu, které se vyznačuje přítomností těžkých lézí parodontu, u kterých dochází k rychle progredující osteolýze. Lokalizovaná juvenilní parodontitida postihuje především střední řezáky a první moláry.<sup>137</sup> Přesto, že ve většině případů je orální hygiena jedince uspokojivá a nenacházíme velké množství povlaků, je toto onemocnění charakterizováno velice rychlou destrukcí parodontálních tkání.<sup>138</sup> Může se objevit už v 10 letech věku postiženého jedince a v případě zanedbání léčby může vést v průběhu jednoho až dvou let k úplné ztrátě závěsného aparátu napadených zubů.<sup>139</sup>

---

<sup>133</sup> REDDY, Shantipriya. *Essentials of Clinical Periodontology and Periodontics*. Third edition. New Delhi: Jaypeed Brothers Medical Publishers, 2011, s. 221, ISBN 978-93-5025-037-2.

<sup>134</sup> NEWMAN, Michael G., Henry H. TAKEI a Perry R. KLOKKEVOLD, CARRANZA, Fermin A., ed. *Carranza's clinical periodontology*. s. 352.

<sup>135</sup> STRAKA, Michal. *Etiopatogeneze parodontitid a jejich vztah k systémovým onemocněním*. Přeložil David MONDOK. Praha: StomaTeam, 2016, s. 90, ISBN 978-80-904377-3-9.

<sup>136</sup> ŠEDÝ, Jiří. *Kompendium stomatologie*. s. 731.

<sup>137</sup> HELLWIG, Elmar, Thomas ATTIN a Joachim KLIMEK. *Záchovná stomatologie a parodontologie*. s. 271.

<sup>138</sup> WALLACE MACFARLANE, Thomas a Lakshman P. SAMARANAYAKE. *Clinical Oral Microbiology*. Elsevier Science, 2014, s. 124, ISBN 978-14-831-8363-3.

<sup>139</sup> HELLWIG, Elmar, Thomas ATTIN a Joachim KLIMEK. *Záchovná stomatologie a parodontologie*. s. 271.



- **Prepubertální a pubertální parodontitida**

Prepubertální a pubertální parodontitida začíná už mezi 2. a 4. rokem života postiženého jedince – při prořezávání mléčných zubů. Většinou se jedná o děti, které mají nějakou poruchu obranyschopnosti, například funkční defekty granulocytů či monocytů. Rozlišujeme lokalizovanou a generalizovanou formu. Při formě generalizované může dojít až ke ztrátě mléčných zubů. Často bývají postiženy všechny mléčné zuby a gingiva je výrazně zánětlivě změněna.<sup>140</sup>

- **Rychle progredující parodontitida**

Rychle progredující parodontitida má počátek mezi pubertou a 35. rokem života postiženého jedince.<sup>141</sup> Může jít o pozdní stádium lokalizované juvenilní parodontitidy. Tato forma je charakterizovaná fázemi – fáze rozsáhlé a aktivní destrukce kosti, kdy je přítomný i výrazný zánět gingivy střídají fáze klidu.<sup>142</sup>

- **Refrakterní parodontitidy**

Pojem refrakterní parodontitidy souhrnně zastává skupinu agresivních parodontitid rezistentních vůči terapii. Dochází u nich k masivním ztrátám parodontálních tkání. Může docházet k recidivám.<sup>143</sup>

## 1.4 Parodontální patogeny

Orální mikroorganismy sehrávají primární roli v etiopatogenezi zánětlivých onemocnění parodontu. Různé formy gingivitid a parodontitid nevzniknou bez přítomnosti určitých mikrobiálních patogenů, jejich

---

<sup>140</sup> HELLWIG, Elmar, Thomas ATTIN a Joachim KLIMEK. *Záchovná stomatologie a parodontologie*. s. 270-271.

<sup>141</sup> HELLWIG, Elmar, Thomas ATTIN a Joachim KLIMEK. *Záchovná stomatologie a parodontologie*. s. 271.

<sup>142</sup> WALLACE MACFARLANE, Thomas a Lakshman P. SAMARANAYAKE. *Clinical Oral Microbiology*. s. 128.

<sup>143</sup> ŠEDÝ, Jiří. *Kompendium stomatologie*. s. 688.

kolonizace a pozdějšího průniku do měkkých tkání parodontu. Na tyto patologické změny lidský organismus reaguje sérií místních a systémových zánětlivých a imunologických reakcí.<sup>144</sup>

Pojem parodontopatogenní bakterie – neboli parodontální patogeny – souhrnně označuje skupinu bakterií, které jsou škodlivé zejména pro parodont a jeho anatomické struktury. Na rozdíl od bakterií kariogenních parodontopatogenní bakterie nezpracovávají cukr, nedokáží vytvářet kyseliny ani přežít v kyselém prostředí. Můžeme je taky označit jako bakterie asacharotické. Pro své přežití potřebují neutrální až zásadité prostředí. Jako zdroj potravy využívají bílkoviny, vitamin K, hemin a další živiny, které často získávají z krve.<sup>145</sup>

Velká část z parodontopatogenních bakterií je anaerobní, tedy nepřežívá za přítomnosti kyslíku. Tuto velkou skupinu bakterií můžeme rozdělit na bakterie fakultativně anaerobní a bakterie striktně anaerobní.<sup>146</sup> V souvislosti s touto podmínkou je nacházíme nejčastěji v subgingiválním prostoru, v parodontálních kapsách, ale také v hlubokých rýhách na jazyku.<sup>147</sup>

Činnost parodontopatogenních bakterií spočívá v jejich soudržnosti, schopnosti se rozmnožovat a odvíjí se od jejich vlastností. Aby byly schopny úspěšně tvořit ekosystém, musí mít vhodné podmínky na život. To velice úzce souvisí s ústní hygienou jedince. Pokud je nedokonalá, dochází ke kumulaci zubního plaku na všech površích ústní dutiny. Bakterie vytváří intermikrobiální matrix, skrze kterou si vyměňují živiny. Se stoupajícím počtem bakteriálních kolonií vzniká souvislá bakteriální masa, s vhodnými anaerobními podmínkami, která se nedá zničit jinak než mechanicky –

---

<sup>144</sup> STRAKA, Michal. *Etiopatogeneze parodontitid a jejich vztah k systémovým onemocněním*. s. 19.

<sup>145</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont*. s. 145.

<sup>146</sup> VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná*. Brno: Neptun, 2001, s. 33, ISBN 80-902896-2-2.

<sup>147</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont*. s. 145.

v našem případě zubním kartáčkem, ultrazvukovou koncovkou nebo ručními nástroji.<sup>148</sup>

Základní vlastností parodontopatogenních bakterií je to, že náš organismus na jejich přítomnost velice rychle reaguje v podobě zahájení imunitní reakce.<sup>149</sup>

#### **1.4.1 Bakteriální kolonizace a invaze do tkání parodontu**

Kolonizace měkkých a tvrdých tkání parodontu a invaze bakterií jsou procesy, které je nutné rozlišovat z mikrobiologických, histopatogenetických i etiopatogenetických důvodů.

Bakteriální kolonizace znamená osídlení tkání parodontu bez toho, aby mikroorganismy nějakým způsobem do tkání pronikly. Tyto kolonie můžou tkáň lokálně dráždit a vyvolávat povrchový zánět marginálního parodontu. Naproti tomu bakteriální invaze už představuje výraznější patologický proces napadení parodontálních tkání mikroorganismy, které do nich penetrují a vyvolávají hlubší infekci.<sup>150</sup>

Organismus disponuje určitou obrannou kapacitou, která spočívá ve využití slizničně-sekrečního imunitního systému, jehož složkou jsou například slina či gingivální nebo sulkulární tekutina.<sup>151</sup> Když však množství nebo virulence bakterií přesáhne udržitelnou hranici, nastává invaze parodontálních patogenů do parodontálních tkání. Bakterie postupují směrem apikálním skrze již poškozený spojovací epitel, vyvolávají osteolýzu a vzniká kombinovaná parodontální kapsa.<sup>152</sup> Jak uvádí Straka „Rozlišení kolonizace a invaze bakterií do tkání parodontu je základem farmakologické strategie jak při léčbě parodontitid, tak i celkového

---

<sup>148</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont.* s. 145.

<sup>149</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont.* s. 145.

<sup>150</sup> STRAKA, Michal. *Etiopatogeneze parodontitid a jejich vztah k systémovým onemocněním.* s. 20.

<sup>151</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont.* s. 122.

<sup>152</sup> STRAKA, Michal. *Etiopatogeneze parodontitid a jejich vztah k systémovým onemocněním.* s. 20.

diagnostického posuzování asociace mezi etablovanými parodontitidami a jejich systémovými komplikacemi.“<sup>153</sup>

#### 1.4.2 Bakteriální mechanismy destrukce tkání parodontu

Už z názvu parodontopatogenní bakterie vyplývá, že se jedná o bakterie, které vyvolávají destrukci parodontálních tkání. Jejich schopnost poškodit parodont závisí na tom, jak jsou agresivní, jaká je jejich virulence a také na tom, jak velká bakteriální invaze už v tkáních probíhá.

Mechanismy poškození tkání parodontu:

- Enzymy – parodontopatogenní bakterie produkují enzymy, které rozpouštějí tkáň mezi buňkami, což vede k jejich přímé destrukci – příkladem je enzym kolagenáza, který rozpouští kolagen obsažený v periodontálních vazech. Dalším příkladem bakteriálních enzymů jsou hyaluronidáza, plazmokoaguláza, proteáza, peptidáza, elastáza, fosfatáza, lipáza apod.
- Exotoxiny – nejznámější je leukotoxin – toxin, který má schopnost ničit polymorfonukleární leukocyty, čímž zpomaluje imunitní obrannou reakci hostitele
- Endotoxiny – lipopolysacharidy, které se uvolňují z buněčné stěny gramnegativních bakterií po jejich usmrcení. Vyvolávají silnou zánětlivou reakci.
- Další škodlivé látky – amoniak, indol, sírovodík, mastné kyseliny<sup>154</sup>

---

<sup>153</sup> STRAKA, Michal. *Etiopatogeneze parodontitid a jejich vztah k systémovým onemocněním*. s. 20.

<sup>154</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont*. s. 146.

### 1.4.3 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, AAC, Aa

*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* je gramnegativní fakultativně anaerobní bakterie patřící do rodu *Haemophilus* A. Pro svůj růst potřebuje oxid uhličitý, je velice citlivá na kyselé prostředí – pokud pH klesne pod hodnotu 6, schopnost její reprodukce výrazně klesá. Tento patogen souvisí s agresivními parodontitidami, zejména s lokalizovanou juvenilní parodontitidou, ale při průniku do krevního oběhu může způsobit endokarditidu nebo perikarditidu.<sup>155</sup> Kromě toho může být zodpovědná osteomyelitidu či mozkový absces.<sup>156</sup>

Známe pět sérotypů bakterie Aa, které se označují malými tiskacími písmeny a až e, přičemž můžeme u jednoho jedince izolovat více než jeden z nich.<sup>157</sup> Při parodontitidách bývá v parodontálních kapsách přítomný především sérotyp b.<sup>158</sup>

Aa produkuje velké množství exogenních cytotoxinů (amoniak, sírovodík), které omezují životaschopnost buněk a urychlují jejich odumření. Produkuje také leukotoxin, který ničí polymorfonukleární leukocyty a znemožňuje jejich chemotaxi. Mezi endogenní toxiny Aa patří lipopolysacharidy z bakteriální bunkové stěny, které se uvolní po rozpadu bakterie. Lipopolysacharidy stimulují resorpci kosti alveolárního výběžku skrze osteoklasty. Aa je příčinou nadměrné sekrece cytokinu IL-1 $\beta$  z makrofágů. Enzymy, které tato bakterie produkuje (kolagenáza, proteáza) mají schopnost destruovat tkáň parodontu – rozpouštět kolagen v periodontálních vláknech, rozpouštět proteiny. Aa se na postižených místech nachází v subgingiválním prostoru – v parodontálních kapsách, a i

<sup>155</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont.* s. 147.

<sup>156</sup> VOTAVA, Miroslav, Zdeněk BROUKAL a Jiří VANĚK. *Lékařská mikrobiologie pro zubní lékaře.* Brno: Neptun, 2007, s.265, ISBN 978-80-86850-03-0.

<sup>157</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont.* s. 147.

<sup>158</sup> VOTAVA, Miroslav, Zdeněk BROUKAL a Jiří VANĚK. *Lékařská mikrobiologie pro zubní lékaře.* s. 265.

navzdory náležitému mechanickému ošetření dále dochází k další ztrátě attachmentu.<sup>159</sup>

Tento parodontální patogen můžeme diagnostikovat více způsoby. Možná je diagnostika pomocí DNA testů, čímž zjistíme konkrétní specifický kmen a jeho procentuální zastoupení. Tato metoda je v parodontologii hojně používaná. Další možnost je diagnostika pomocí kultivace bakterií.<sup>160</sup> K úspěšnému vypěstování je potřeba zvýšenou tenzi oxidu uhličitého a poněkud bohatší půdy.<sup>161</sup>

#### 1.4.4 *Porphyromonas gingivalis*, Pg

*Porphyromonas gingivalis* je bakterie, která patří do skupiny gramnegativních anaerobních nepohyblivých tyček. Řadí se do rodu *Bacteroides*. Často se označuje jako primární mikrobiální patogen pro vznik onemocnění parodontu.<sup>162</sup> Vykazuje velice slabou až žádnou sacharolytickou aktivitu – nedokáže fermentovat glukózu ani jiné sacharidy.<sup>163</sup> Pg ke své výživě a růstu využívá železo.<sup>164</sup> Tato bakterie má velký virulentní potenciál a vysokou prevalenci u pacientů s chronickou parodontitidou, zejména u jejích těžších chronických forem. To z ní dělá primárně dominantní patogen právě u této skupiny onemocnění parodontu.<sup>165</sup>

Pg destruuje parodontální tkáň mnoha způsoby. Nejdřív se spojí s ostatními mikroorganismy subgingiválního plaku, poté pronikne do epiteliálních buněk, čímž poškodí mezibuněčné spojení. Penetruje dále do hlubších tkání parodontu až nakonec kolonizuje alveolární kost. Najdeme ji

<sup>159</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont.* s. 147.

<sup>160</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont.* s. 147.

<sup>161</sup> VOTAVA, Miroslav, Zdeněk BROUKAL a Jiří VANĚK. *Lékařská mikrobiologie pro zubní lékaře.* s. 265.

<sup>162</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont.* s. 148.

<sup>163</sup> VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie speciální.* Brno: Neptun, 2003, s.96, ISBN 80-902896-6-5.

<sup>164</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont.* s. 148.

<sup>165</sup> STRAKA, Michal. *Etiopatogeneze parodontitidy a jejich vztah k systémovým onemocněním.* s. 27.

tedy jako součást subgingiválního plaku, v hlubších parodontálních kapsách, v akutních lézích a také na jazyku, kde způsobuje typický zápach z úst (*foetor ex ore, halitosis*)<sup>166</sup>

Pg k útoku na první obrannou bariéru využívá velké fimbrie, které slouží jako adheziny. Pomocí nich se bakterie naváže na buňky hostitelských tkání a brání jim tak v rozmnožování, v regeneraci, poškozují je a mění jejich funkce. To že Pg buňky poškodí jí umožní penetrovat do hlubších vrstev, až penetruje na povrch alveolární kosti, kde se usadí – začne kost kolonizovat. Rozpouští krystaly apatitu, kolagenová vlákna a proniká až do povrchové vrstvy kosti kde napadá osteoblasty. To z ní dělá invazivní tkáňový patogen přímo zodpovědný za destrukci alveolární kosti.<sup>167</sup>

Kromě toho Pg tvoří různé škodlivé látky, produkuje řadu toxických enzymů. Pomocí enzymu kolagenázy štěpí kolagen, coby základní stavební součást tkání parodontu, pomocí enzymu proteázy ničí molekuly imunoglobulinů a složek komplementu, čímž výrazně zpomaluje schopnost obrany imunitního systému. Dále uvolňuje exotoxin – leukotoxin, který je zodpovědný za paralizaci polymorfonukleárních leukocytů. Obsahuje také endotoxin stimulující uvolňování prozánětlivých mediátorů z makrofágů a fibroblastů – zejména prostaglandinu E2 a interleukinu 1 $\beta$ . Další látka, která prostřednictvím osteoklastů podporuje resorpci alveolární kosti je lipopolysacharid uvolněný z buňkové stěny.<sup>168</sup>

Ke kultivaci Pg jsou vhodné krevní agary speciálně určené pro anaerobní mikroorganismy, obohacené vitaminem K, kvasničným extraktem a heminem. Bezprostředně po naočkování se misky umístí

---

<sup>166</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont.* s. 148-149.

<sup>167</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont.* s. 148-149.

<sup>168</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont.* s. 149.

k inkubaci do anaerobní atmosféry s CO<sub>2</sub>.<sup>169</sup> Pg vytváří černé pigmentace, tudíž i její kolonie na krevním agaru mají černou barvu.<sup>170</sup>

#### 1.4.5 *Prevotella intermedia*, Pi

*Prevotella intermedia* je stejně jako Pg gramnegativní anaerobní nepohyblivá tyčka, která vytváří černé pigmenty. Řadí se do rodu *Prevotella*. Tato bakterie vykazuje značnou sacharolytickou činnost. Na svůj růst využívá především látky steroidní povahy (hormony), a právě z tohoto důvodu se ve zvýšené míře vyskytuje u těhotných žen. Rozmnožuje se v sulkulární tekutině. Základními růstovými faktory jsou hormony estrogenu, progesteron, hemin a vitamin K.

Pi se vyskytuje v subgingiválním plaku a její přítomnost můžeme prokázat u všech forem parodontitidy. Typicky se nachází jako ostatní parodontopatogenní bakterie v parodontálních kapsách, nebo v periimplantárních kapsách. Jedná se však o typicky oportunní kmen, který je za normálních okolností součástí běžné fyziologické flóry ústní dutiny i poševní sliznice.<sup>171</sup> Kultivace má stejné podmínky jako u rodu *Porphyromonas*.<sup>172</sup>

Pi produkuje enzymy kolagenázu a IgA proteázu. Kolagenáza rozkládá kolagen, IgA proteáza ničí slinné imunoglobuliny IgA, které jsou významnou složkou imunitního systému a zároveň inhibuje aktivitu polymorfonukleárních leukocytů.<sup>173</sup>

---

<sup>169</sup> VOTAVA, Miroslav, Zdeněk BROUKAL a Jiří VANĚK. *Lékařská mikrobiologie pro zubní lékaře*. s. 273.

<sup>170</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont*. s. 148.

<sup>171</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont*. s. 150-151.

<sup>172</sup> VOTAVA, Miroslav, Zdeněk BROUKAL a Jiří VANĚK. *Lékařská mikrobiologie pro zubní lékaře*. s. 273.

<sup>173</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont*. s. 151.



#### 1.4.6 *Fusobacterium nucleatum*, Fn

*Fusobacterium nucleatum* je klíčový mikroorganismus při tvorbě plaku, díky jeho schopnosti spojovat se s jinými orálními mikroorganismy.<sup>174</sup> Jde o anaerobní gramnegativní tyčku štíhlého větvenovitého tvaru.<sup>175</sup> Kromě parodontitidy jej nacházíme pravidelně i v kapsách v okolí implantátů – u periimplantitidy.<sup>176</sup> Zajímavé je, že Fn patří do typické Plaut-Vincentovy anaerobní bakteriální flóry, která je charakteristická u akutní nekrotizující ulcerózní gingivitidy.<sup>177</sup> Spolu s porfyromonádami, mají vykultivované kultury fusobakterií zvláště odpudivý zápach.<sup>178</sup>

#### 1.4.7 *Peptostreptococcus micros*, Pm

*Peptostreptococcus micros* patří do skupiny anaerobních grampozitivních koků.<sup>179</sup> Anaerobní grampozitivní koky mají schopnost produkovat velké množství kyseliny mléčné. Ta vzniká jako produkt fermentace a má zánětlivé a cytotoxické účinky.<sup>180</sup> Tento konkrétní parodontální patogen se vyskytuje zejména při agresivních parodontitidách.<sup>181</sup> V ústní dutině se ještě podílí na rozvoji peritonsilárních abscesů.<sup>182</sup>

Jeho patogenita spočívá především v přítomnosti tzv. kapsuly na jejich povrchu. Kapsule je slizová vrstva, která chrání bakterii před zevními vlivy a zvyšuje virulenci bakterie, jelikož usnadňuje přilnavost k povrchu a znesnadňuje rozeznání bakterie imunitním systémem – toto bakteriální pouzdro totiž překrývá bakteriální antigeny. Imunitní systém však tento

<sup>174</sup> HAN, Yiping W. *Fusobacterium nucleatum*: a commensal-turned pathogen. *Current Opinion in Microbiology* [online]. 2015, 23(1), 141-147 [cit. 2022-04-18]. Dostupné z: doi: 10.1016/j.mib.2014.11.013.

<sup>175</sup> VOTAVA, Miroslav, Zdeněk BROUKAL a Jiří VANĚK. *Lékařská mikrobiologie pro zubní lékaře*. s. 273.

<sup>176</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont*. s. 150.

<sup>177</sup> VOTAVA, Miroslav, Zdeněk BROUKAL a Jiří VANĚK. *Lékařská mikrobiologie pro zubní lékaře*. s. 274.

<sup>178</sup> VOTAVA, Miroslav, Zdeněk BROUKAL a Jiří VANĚK. *Lékařská mikrobiologie pro zubní lékaře*. s. 273.

<sup>179</sup> BEDNÁŘ, Marek, Věra FRAŇKOVÁ, Jiří SCHINDLER, Andrej SOUČEK a Jiří VÁVRA. *Lékařská mikrobiologie: Bakteriologie Virologie Parazitologie*. Praha: Marvil, 1996, s. 291.

<sup>180</sup> DOUBRAVOVÁ, Anna. *Tvorba biofilmu u anaerobních bakterií*. Pardubice, 2018. bakalářská práce (Bc.). Univerzita Pardubice. Fakulta chemicko-technologická

<sup>181</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont*. s. 150.

<sup>182</sup> VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie speciální*. s.158.

patogen přesto rozpoznává a jako reakce na jeho přítomnost se zvyšuje produkce prozánětlivých mediátorů – cytokinů, chemokinů a matrix-metalloproteinázy z makrofágů.<sup>183</sup>

#### 1.4.8 *Tannerella forsythia*, Tf

*Tannerella forsythia* patří do skupiny základních parodontálních patogenů. Jedná se o gramnegativní anaerobní bakterii, řadící se do rodu *Cytophaga-Bacteroides*. Tf je přítomná při parodontitidě, jak u její chronické, tak u její agresivní formy.<sup>184</sup>

V patogenezi se uplatňují nejen škodlivé bakteriální produkty, ale i samotný povrch bakterie. Jedním z patogenních mechanismů je například produkce proteinu bohatého na leucin (BspA), který se vylučuje i nachází na buňkové stěně. Váže se na fibrinogen a další extracelulární složky, což je nevyhnutné pro adhezi a invazi do hostitelských buněk. Tf dále produkuje enzym proteázu (Prth), který využívá pro degradaci proteinů parodontální tkáně postiženého jedince.<sup>185</sup>

Dalším škodlivým produktem bakterie jsou glykosidázy, které sehrávají roli při porušení integrity a degradaci tkání parodontu.<sup>186</sup> Konkrétním příkladem je neuraminidasa (sialidasa).<sup>187</sup> Tf má navíc na povrchu tzv. S-vrstvu, což nejenže umožňuje jednodušší adhezi a invazi bakterie do hostitelských tkání, ale tato vrstva ještě znemožňuje rozpoznat

---

<sup>183</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont.* s. 150.

<sup>184</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont.* s. 151.

<sup>185</sup> MANOHAR, Krishna. *Tannerella forsythia*. *Microbe Wiki* [online]. Gambier, Ohio: Kenyon College Department of Biology, 2016 [cit. 2022-04-18]. Dostupné z: [https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Tannerella\\_forsythia](https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Tannerella_forsythia)

<sup>186</sup> MANOHAR, Krishna. *Tannerella forsythia*. *Microbe Wiki* [online]. Gambier, Ohio: Kenyon College Department of Biology, 2016 [cit. 2022-04-18]. Dostupné z: [https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Tannerella\\_forsythia](https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Tannerella_forsythia)

<sup>187</sup> VOTAVA, Miroslav, Zdeněk BROUKAL a Jiří VANĚK. *Lékařská mikrobiologie pro zubní lékaře.* s. 273.

patogen buňkami imunitního systému, čím je oddálená imunitní reakce hostitele.<sup>188</sup>

Přítomnost a aktivita této bakterie v parodontu jsou spouštěčem prozánětlivých mediátorů, jako jsou chemokiny z osteoblastů nebo cytokiny z monocytů. Cytokiny spouštějí zánětlivou reakci a uplatňují se v procesu resorpce kosti alveolárního výběžku.<sup>189</sup>

#### 1.4.9 *Treponema denticola*, Td

*Treponema denticola* je gramnegativní parodontopatogenní bakterie řadící se do skupiny orálních spirochet rodu *Treponema*.<sup>190</sup> Je pohyblivá, štíhlá, spirálovitého tvaru a velice flexibilní. Běžně se vyskytuje jako součást subgingiválního plaku.<sup>191</sup> Při nevyhovující ústní hygieně se nachází v gingiválním sulku a způsobuje parodontitidu.<sup>192</sup> Konkrétním příkladem onemocnění parodontu v souvislosti s tímto patogenem může být například refrakterní parodontitida, ale i akutní nekrotizující ulcerózní gingivitida.<sup>193</sup>

Treponemy mají typickou bakteriální stěnu, na jejímž povrchu se nachází mukopolysacharidová kapsula. Dále je vnější membrána, kterou tvoří polypeptidy a lipopolysacharidy (endotoxiny).<sup>194</sup> Td na destrukci parodontálních tkání využívá endotoxiny a jejich enzymatickou aktivitu. Tyto endotoxiny dokáží odbourat kolagen a želatinu.<sup>195</sup>

---

<sup>188</sup> MANOHAR, Krishna. *Tannerella forsythia*. *Microbe Wiki* [online]. Gambier, Ohio: Kenyon College Department of Biology, 2016 [cit. 2022-04-18]. Dostupné z: [https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Tannerella\\_forsythia](https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Tannerella_forsythia)

<sup>189</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont*. s. 151.

<sup>190</sup> VOTAVA, Miroslav, Zdeněk BROUKAL a Jiří VANĚK. *Lékařská mikrobiologie pro zubní lékaře*. s. 326.

<sup>191</sup> PATEL, Neena. *Treponema denticola*. *Microbe Wiki* [online]. Gambier, Ohio: Kenyon College Department of Biology, 2011 [cit. 2022-04-18]. Dostupné z: [https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Treponema\\_denticola](https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Treponema_denticola)

<sup>192</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont*. s. 152.

<sup>193</sup> PATEL, Neena. *Treponema denticola*. *Microbe Wiki* [online]. Gambier, Ohio: Kenyon College Department of Biology, 2011 [cit. 2022-04-18]. Dostupné z: [https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Treponema\\_denticola](https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Treponema_denticola)

<sup>194</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont*. s. 152.

<sup>195</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont*. s. 152.

#### 1.4.10 *Campylobacter rectus*, Cr

*Campylobacter rectus* je gramnegativní mikroaerofilní a pohyblivá bakterie. Také se řadí do skupiny parodontálních patogenů.<sup>196</sup> V porovnání míst výskytu se *Campylobacter rectus* vyskytuje častěji v místech s pokročilým stupněm parodontitidy než v pasivních lézích.<sup>197</sup>

Podobně jako Tf, i Cr má povrchovou S-vrstvu, která výrazně ulehčuje adhezii i invazi do parodontálních tkání a zároveň znesnadňuje rozpoznání patogenu buňkami imunitního systému. Dále produkuje cytotoxiny.<sup>198</sup>

#### 1.4.11 Mikrobiologie gingivitidy

Obecně se v této podkapitole budeme věnovat hlavně nejrozšířenější, a to chronické marginální plakem podmíněné gingivitidě.

V počátečním stádiu mají v gingiválním sulku převahu zejména grampozitivní fakultativně anaerobní mikroorganismy. Přibližně po jednom týdnu začne narůstat počet kapnofilních a striktně anaerobních mikroorganismů (aktinomycet, kapnocytofágů a anaerobních gramnegativních tyček). V chronicky zaníceném sulku – tedy v konečném stádiu chronické marginální gingivitidy je mikrobiální složení velice pestré, avšak převládají anaeroby – obzvláště hovoříme o bakteriích *Porphyromonas gingivalis* a *Prevotella intermedia*, což jsou bakterie rostoucí v černých koloniích, nebo také o orálních spirochétách. Krvácení z dásní na podkladě zánětu přispívá k zmožení právě černě pigmentovaných anaerobních tyček, neboť jim krev slouží jako zdroj heminu

---

<sup>196</sup> IHARA, Hideaki, Tadashi MIURA, Tetsuo Kato TETSUO KATO, Kazuyuki ISHIHARA, Taneaki NAKAGAWA, Satoru YAMADA a Katsuji OKUDA. Detection of *Campylobacter rectus* in periodontitis sites by monoclonal antibodies. *Journal of Periodontal research* [online]. 2003, **38**(1), 64-72 [cit. 2022-04-18]. Dostupné z: doi:10.1034/j.1600-0765.2003.01627.x.

<sup>197</sup> KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont*. s. 152.

<sup>198</sup> IHARA, Hideaki, Tadashi MIURA, Tetsuo Kato TETSUO KATO, Kazuyuki ISHIHARA, Taneaki NAKAGAWA, Satoru YAMADA a Katsuji OKUDA. Detection of *Campylobacter rectus* in periodontitis sites by monoclonal antibodies. *Journal of Periodontal research* [online]. 2003, **38**(1), 64-72 [cit. 2022-04-18]. Dostupné z: doi:10.1034/j.1600-0765.2003.01627.x.

potřebného pro jejich výživu a růst.<sup>199</sup> S krvácením gingivy bylo kromě *Porphyromonas gingivalis* a *Prevotella intermedia* také spojeno zvýšené množství bakterií *Actinomyces viscosus*.<sup>200</sup>

#### 1.4.12 Mikrobiologie parodontitidy

Z patofyziologického i morfologického hlediska je v parodontální kapse vysoce anaerobní prostředí, kterého pH se drží v hodnotách mezi 7,4 až 7,8 – tudíž je relativně zásadité. Sulkulární tekutina, vzniklá jako reakce na probíhající zánět, je bohatá na proteiny, což je pro výživu a růst anaerobů velice výhodné, jelikož jsou vybaveny řadou proteolytických enzymů. Čím hlubší parodontální kapsa, tím výhodnější podmínky pro anaerobní bakterie.

Charakteristickými pro parodontitidu jsou zejména gramnegativní anaerobní tyčky jako *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* a *Tannerella forsythia*, dále orální spirochety jako *Treponema denticola* a gramnegativní kapnofilní bakterie jako *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* a *Capnocytophaga sputigena*.

Dle studií se opakovaně prokazuje úzký vztah mezi smíšenou infekcí gramnegativních anaerobních tyček a orálních spirochét a vznikem parodontitidy.<sup>201</sup>

#### 1.4.13 Mikrobiologie chronické parodontitidy

V současné době se stále častěji prezentuje zvýšená přítomnost určitých konkrétních bakteriálních druhů u určitých forem parodontitid. Na základě mnoha studií je možné prohlásit, že dominujícím patogenem pro chronickou parodontitidu je *Porphyromonas gingivalis* a jiné bakterie červeného komplexu. Dalším mikroorganismem, který byl opakovaně potvrzen v hlubokých parodontálních kapsách, je *Tannerella forsythia*.

---

<sup>199</sup> VOTAVA, Miroslav, Zdeněk BROUKAL a Jiří VANĚK. *Lékařská mikrobiologie pro zubní lékaře*. s. 486.

<sup>200</sup> STRAKA, Michal. *Etiopatogeneze parodontitid a jejich vztah k systémovým onemocněním*. s. 24.

<sup>201</sup> VOTAVA, Miroslav, Zdeněk BROUKAL a Jiří VANĚK. *Lékařská mikrobiologie pro zubní lékaře*. s. 487.

*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* byl u chronické parodontitidy potvrzen asi v 30 až 40 % případů.<sup>202</sup> Mikrobiální obsazení je však v tomto případě velice široké, takže v souvislosti s chronickou parodontitidou se zmiňuje také jako významný patogen *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Veillonella parvula*, *Haemophilus*, *Peptostreptococcus micros*, *Capnocytophaga* a *Campylobacter species*.<sup>203</sup>

#### 1.4.14 Mikrobiologie agresivních parodontitid

Pojem agresivní parodontitidy vymezuje skupinu onemocnění parodontu – parodontitid, u kterých ztráta kosti alveolárního výběžku je neúměrná věku a neúměrná ústní hygieně jedince. Důsledkem může být předčasná ztráta zubů.

Agresivní parodontitidy:

- **Lokalizovaná juvenilní parodontitida**

U lokalizované juvenilní parodontitidy se jako se specifickým mikrobiálním agens setkáváme zejména s bakterií *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.<sup>204</sup> Mikrobiologické studie ukazují, že téměř všechna lokalizovaná místa juvenilní parodontitidy obsahují právě Aa, který může tvořit až 90 % celkové kultivovatelné mikroflóry. Další organismy nalezené v parodontálních kapsách ve významném množství zahrnují *Porphyromonas gingivalis*, *Eikenella corrodens*, *Campylobacter rectus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides capillus*, *Eubacterium brachy*, *Capnocytophaga species*, orální spirochéty, *Prevotella intermedia*, *Treponema species* a *Tannerella forsythia*.<sup>205</sup>

---

<sup>202</sup> STRAKA, Michal. *Etiopatogeneze parodontitid a jejich vztah k systémovým onemocněním*. s. 25-26.

<sup>203</sup> REDDY, Shantipriya. *Essentials of Clinical Periodontology and Periodontics*. s. 63.

<sup>204</sup> VOTAVA, Miroslav, Zdeněk BROUKAL a Jiří VANĚK. *Lékařská mikrobiologie pro zubní lékaře*. s. 487.

<sup>205</sup> NEWMAN, Michael G., Henry H. TAKEI a Perry R. KLOKKEVOLD, CARRANZA, Fermin A., ed. *Carranza's clinical periodontology*. s. 165.

- **Prepubertální a pubertální parodontitida**

Ačkoliv bylo studováno poměrně málo případů, zdá se že ani *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* ani *Porphyromonas gingivalis* nejsou při těchto parodontitidách dominantními patogeny. Kultivační studie ukazují, že běžně izolované jsou *Bacteroides intermedius* a *Selenomonas sputigena*.<sup>206</sup>

- **Rychle progredující parodontitida**

U této formy onemocnění je nápadná koncentrace orálních spirochét spolu s porfyromonádami, prevotelami a aktinobacily.<sup>207</sup> Z mikrobiologického hlediska má mnoho podobností s lokalizovanou juvenilní parodontitidou, avšak konkrétně jednoznačně dominují *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* a *Treponema species* – například *Treponema denticola*. Studie rovněž naznačují i vysoký podíl *Eubacterium nodatum*, *Campylobacter gracilis*, *Campylobacter showae* a *Prevotella nigrescens*. Naproti tomu *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* je přítomen méně.<sup>208</sup>

- **Refrakterní parodontitidy**

V souvislosti s refrakterními parodontitidami hovoříme znovu jako o primárním patogenu zejména o bakterii *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, ale v místech postižených tímto onemocněním najdeme také bakterie typu *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* a *Campylobacter rectus*.<sup>209</sup>

---

<sup>206</sup> WALLACE MACFARLANE, Thomas a Lakshman P. SAMARANAYAKE. *Clinical Oral Microbiology*. s. 127.

<sup>207</sup> VOTAVA, Miroslav, Zdeněk BROUKAL a Jiří VANĚK. *Lékařská mikrobiologie pro zubní lékaře*. s. 487.

<sup>208</sup> NEWMAN, Michael G., Henry H. TAKEI a Perry R. KLOKKEVOLD, CARRANZA, Fermin A., ed. *Carranza's clinical periodontology*. s. 165-166.

<sup>209</sup> REDDY, Shantipriya. *Essentials of Clinical Periodontology and Periodontics*. s. 64.

## 1.5 Mikrobiologické diagnostické metody

Při onemocněních parodontu je v dnešní době vhodné použít i různé mikrobiologické diagnostické metody.<sup>210</sup> Co se diagnostiky onemocnění parodontu týče, v první řadě se opíráme o výsledky klinických vyšetření – hloubka parodontálních kapes naměřena pomocí sondáže, míra krvácení na podnět, ztráta attachmentu, stupeň viklavosti zubů, míra postižení furkací a v neposlední řadě vyhodnocení souboru cílených intraorálních RTG snímků – parodontologického RTG statusu. K doplnění a podpoření klinického nálezu, verifikaci diagnózy a diagnostice zvláštních forem parodontitidy se mikrobiologické vyšetřovací metody ukazují jako velice přínosné<sup>211</sup> a jsou významným zdrojem informací pro stanovení plánu léčby.<sup>212</sup> Na jeho základě se nejen zachytí aktivní fáze onemocnění, ale také cíleně nasadí antimikrobiální chemoterapeutika nebo antibiotika.<sup>213</sup>

### 1.5.1 Odběr vzorků

Odebírání biologického materiálu ze všech postižených míst by bylo náročné a nákladné. Studie prokázaly, že při odběru vzorků z nejhlubší parodontální kapsy každého kvadrantu dosáhneme s přibližně 95 % pravděpodobností dostatečných důkazů o všech přítomných parodontálních patogenech. Vzorky by měly být odebrané z kapsy, která vykazuje aktivitu – je v ní přítomný hnis nebo krvácení.<sup>214</sup>

Vzorky lze odebírat dvěma způsoby – pomocí sterilní kyrety nebo sterilních papírových čepů. Při použití komerčních testů si však nelze vybrat, ty jsou založeny téměř výhradně na odběru pomocí papírových

---

<sup>210</sup> VOTAVA, Miroslav, Zdeněk BROUKAL a Jiří VANĚK. *Lékařská mikrobiologie pro zubní lékaře*. s. 489.

<sup>211</sup> MUTSCHELKNAUSS, Ralf E. a Peter DIEDRICH. *Praktická parodontologie: klinické postupy*. s. 173.

<sup>212</sup> EICKHOLZ, Peter. *Parodontologie od A do Z: základy pro praxi*. s. 80.

<sup>213</sup> MUTSCHELKNAUSS, Ralf E. a Peter DIEDRICH. *Praktická parodontologie: klinické postupy*. s. 173.

<sup>214</sup> EICKHOLZ, Peter. *Parodontologie od A do Z: základy pro praxi*. s. 81.



čepů.<sup>215</sup> Porovnání obou odběrových technik ukázalo, že pomocí kyrety lze získat ještě vyšší počet mikrobů než s použitím papírových čepů.<sup>216</sup>

Oblast plánovaného odběru nejdříve vysušíme, aby nedošlo ke kontaminaci slinou. Papírový čep uchopíme pomocí pinzety a lehce zavedeme do subgingiválního prostoru vyšetřované parodontální kapsy. Necháme 10 až 20 sekund absorbovat sulkulární tekutinu, vyjmeme a neprodleně vložíme do transportního média ve zkumavce.<sup>217</sup>

### 1.5.2 Přímá mikroskopie

Mikroskopické vyšetření vzorku můžeme provést buďto v zástinu, nebo ve fázovém kontrastu. Rozdíl mezi nimi je ten, že při mikroskopii v zástinu se pozorované objekty jeví světle ohraničené na tmavém podkladu a naopak, ve fázovém kontrastu jsou viditelné tmavě na podkladu světlém. Oba způsoby nám však umožňují rozlišit bakterie pouze v závislosti na jejich morfologii a pohyblivosti. Můžeme rozlišit koky, pohyblivé a nepohyblivé tyčky, filamenta, spirochety a fusiformní bakterie. Podle procentuálního vyjádření zastoupení bakteriálních druhů lze konstatovat stav parodontu, možné je i orientační posouzení zvláštních forem parodontitidy.<sup>218</sup> V inaktivní parodontální kapse převažují koky a nepohyblivé tyčky, v kapse aktivní nalézáme spíše pohyblivé tyčky a spirochety.<sup>219</sup>

Vzorek subgingiválního plaku odebereme z parodontální kapsy, suspendujeme jej v roztoku želatiny či ve slině a nanese na podložní sklíčko.<sup>220</sup> Preparát by měl být odečten do jedné hodiny po provedení

---

<sup>215</sup> EICKHOLZ, Peter. *Parodontologie od A do Z: základy pro praxi*. s. 81.

<sup>216</sup> JERVØE-STORM, Pia-Merete, Hazem ALAHDAB, Max KOLTZSCHER, Rolf FIMMERS a Søren JEPSEN. Comparison of curet and paper point sampling of subgingival bacteria as analyzed by real-time polymerase chain reaction. *Journal of Periodontology* [online]. 2007, **78**(5), 909-917 [cit. 2022-04-18]. Dostupné z: doi:10.1902/jop.2007.060218.

<sup>217</sup> EICKHOLZ, Peter. *Parodontologie od A do Z: základy pro praxi*. s. 81.

<sup>218</sup> MUTSCHELKNAUSS, Ralf E. a Peter DIEDRICH. *Praktická parodontologie: klinické postupy*. s. 173.

<sup>219</sup> EICKHOLZ, Peter. *Parodontologie od A do Z: základy pro praxi*. s. 82.

<sup>220</sup> EICKHOLZ, Peter. *Parodontologie od A do Z: základy pro praxi*. s. 81.

odběru plaku z kapsy, po této době totiž klesá pohyblivost bakterií, případně dochází k jejich rozpadu.<sup>221</sup>

Výhodou metody přímé mikroskopie je, že je jednoduše proveditelná přímo v zubní ordinaci a zároveň může sloužit jako motivace pro pacienta.<sup>222</sup> Její nevýhodou je, že nezískáme informace potřebné pro nasazení podpůrné antibiotické léčby.<sup>223</sup>

### 1.5.3 Kultivační techniky

Jednou z metod využívaných pro přímý průkaz původce onemocnění je kultivace. Jejím cílem je izolace původce v čisté kultuře pro účely jeho identifikace nebo pro jeho další charakterizaci.<sup>224</sup>

Mikrobiologická detekce bakterií pomocí kultivace je stále referenčním standardem, co se diagnostiky bakteriálních onemocnění týče.<sup>225</sup> Bakteriální kmeny rostou v závislosti na atmosféře, teplotě a kultivačních půdách.<sup>226</sup> Pro úspěšné provedení však tato metoda vyžaduje živé bakteriální kmeny a jelikož jsou parodontopatogenní bakterie převážně anaerobní, je zapotřebí odebrat vzorek velice pečlivě. K převozu do laboratoře je nutné využít transportní médium a vzorek do 24 hodin zpracovat.<sup>227</sup>

Výhoda kultivace spočívá v možnosti zachycení širokého spektra mikroorganismů a poměrně přesné analýzy s dobrou rozlišovací schopností, která přináší rozsáhlé informace o spektru subgingivální flóry.<sup>228</sup> Pro posuzování diagnostických postupů je kultivace stále jedinou

---

<sup>221</sup> MUTSCHELKNAUSS, Ralf E. a Peter DIEDRICH. *Praktická parodontologie: klinické postupy*. s. 173.

<sup>222</sup> MUTSCHELKNAUSS, Ralf E. a Peter DIEDRICH. *Praktická parodontologie: klinické postupy*. s. 173.

<sup>223</sup> EICKHOLZ, Peter. *Parodontologie od A do Z: základy pro praxi*. s. 82.

<sup>224</sup> MELTER, Oto a Annika MALMGREN. *Principy a praktika lékařské mikrobiologie*. Praha: Karolinum, 2014, s. 29, ISBN 978-80-246-2414-3.

<sup>225</sup> ŠEDÝ, Jiří. *Kompendium stomatologie*. s. 692.

<sup>226</sup> MUTSCHELKNAUSS, Ralf E. a Peter DIEDRICH. *Praktická parodontologie: klinické postupy*. s. 174.

<sup>227</sup> ŠEDÝ, Jiří. *Kompendium stomatologie*. s. 692.

<sup>228</sup> ŠEDÝ, Jiří. *Kompendium stomatologie*. s. 692.

referenční metodou a zároveň jedinou metodou, pomocí které jsme schopni zjistit rezistenci bakteriálních kmenů na antibiotika.<sup>229</sup>

Nevýhodou kultivace je, že tento postup časově a technicky náročný.<sup>230</sup> Vyžaduje přítomnost živých bakterií – proto je při transportu a zpracování nutné dodržet anaerobní podmínky. Kvůli těmto požadavkům lze anaerobní kultivaci provádět pouze v specializovaných laboratořích.<sup>231</sup>

#### 1.5.4 Imunologické techniky

Tyto diagnostické postupy jsou založené na principu reakcí antigenu s protilátkou, což je vlastně základní princip průběhu imunitních reakcí.<sup>232</sup> Bakterie se identifikují pomocí specifických protilátek (Ab), které se váží na specifické bakteriální antigeny (Ag). Tyto Ag-Ab komplexy pak zobrazujeme a kvantifikujeme.<sup>233</sup>

*Imunofluorescence* spočívá v tom, že protilátka se přímo nebo nepřímo označí fluorescenčním barvivem, a poté je možné pozorovat komplexy Ag-Ab s použitím fluorescenčního mikroskopu.<sup>234</sup>

Dalším zástupcem metody průkazu mikroorganismů se stejným principem je *enzyme linked immuno sorbant assay* (ELISA), u které probíhá průkaz reakce mezi antigenem a protilátkou na základě reakce barviva a enzymu.<sup>235</sup> Existuje víc možností, jak tuto metodu provést – přímá, nepřímá, inhibiční, membránová, kompetitivní atd.<sup>236</sup>

Latex-aglutinační test nebo latexová aglutinace je postup, kde se pro průkaz antigenů používají částice latexu. Na povrch molekuly latexu se naváže protilátka, která reaguje s antigenem cílových buněk, což způsobí,

<sup>229</sup> MUTSCHELKNAUSS, Ralf E. a Peter DIEDRICH. *Praktická parodontologie: klinické postupy*. s. 174.

<sup>230</sup> EICKHOLZ, Peter. *Parodontologie od A do Z: základy pro praxi*. s. 82.

<sup>231</sup> MUTSCHELKNAUSS, Ralf E. a Peter DIEDRICH. *Praktická parodontologie: klinické postupy*. s. 174.

<sup>232</sup> MUTSCHELKNAUSS, Ralf E. a Peter DIEDRICH. *Praktická parodontologie: klinické postupy*. s. 174.

<sup>233</sup> EICKHOLZ, Peter. *Parodontologie od A do Z: základy pro praxi*. s. 82.

<sup>234</sup> EICKHOLZ, Peter. *Parodontologie od A do Z: základy pro praxi*. s. 82-83.

<sup>235</sup> MUTSCHELKNAUSS, Ralf E. a Peter DIEDRICH. *Praktická parodontologie: klinické postupy*. s. 175.

<sup>236</sup> VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie – vyšetřovací metody*. Brno: Neptun, 2010, s. 214-215, ISBN 978-80-86850-04-8.

že se latexové molekuly propojí – vytvoří síť.<sup>237</sup> Projeví se to tvorbou pouhým okem viditelných shluků.<sup>238</sup>

### 1.5.5 Molekulárně biologické techniky

Základním principem molekulárně biologických testů je využití jedinečné genetické informace uložené na kruhovém chromozomu bakterií – DNA; či RNA. Nejdříve je potřeba z odebraných vzorků subgingiválního zubního povlaku bakteriální DNA enzymatickým rozkladem izolovat, následně purifikovat a v závislosti na technologii, kterou máme k dispozici diagnosticky dokázat.<sup>239</sup> Výhodou je, že tyto techniky jsou vysoce senzitivní a pro jejich provedení není nutné mít živé bakterie, jako je tomu například u kultivačních technik.<sup>240</sup>

### 1.5.6 DNA-sondy

Každý druh bakterie má své specifické sekvence DNA, dle kterých jej dokážeme identifikovat a prokázat. Metoda DNA-sond, DNK-sond nebo obecně genových sond je metoda, která využívá potenciál a jedinečnost genetické informace DNA.<sup>241</sup>

DNA-sonda je sekvence jednovláknové deoxyribonukleové kyseliny DNA, která je komplementární k DNA, kterou chceme dokázat. Specificky se k ní váže (hybridizuje), a jelikož je DNA-sonda chemicky označena, toto spojení, jestliže je úspěšné, se stane viditelným – po hybridizaci se „rozsvítí“. To znamená že sonda splnila svůj úkol a bakterii jsme schopni prokázat.<sup>242</sup>

Detekce bakterií se pak provede buďto enzymatickou reakcí anebo měřením radioaktivity. DNA-sondy známe celochromozomální, klonované a

---

<sup>237</sup> MUTSCHELKNAUSS, Ralf E. a Peter DIEDRICH. *Praktická parodontologie: klinické postupy*. s. 175.

<sup>238</sup> VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie – vyšetřovací metody*. s. 213.

<sup>239</sup> EICKHOLZ, Peter. *Parodontologie od A do Z: základy pro praxi*. s. 84.

<sup>240</sup> EICKHOLZ, Peter. *Parodontologie od A do Z: základy pro praxi*. s. 83.

<sup>241</sup> MUTSCHELKNAUSS, Ralf E. a Peter DIEDRICH. *Praktická parodontologie: klinické postupy*. s. 176.

<sup>242</sup> VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie – vyšetřovací metody*. s. 217.

oligonukleotidové.<sup>243</sup> Tuto metodu je možné použít i pro detekci sekvencí DNA, které už prošly zmnožením pomocí PCR techniky.<sup>244</sup>

### 1.5.7 PCR – polymerázová řetězová reakce

Polymerázová řetězová reakce, v poslední době známá jako metoda PCR, spočívá v reprodukci úseků deoxyribonukleové kyseliny s následným průkazem. V parodontologii se tato diagnostická metoda uplatňuje stále častěji, jelikož je velice citlivá, odhaluje i nekultivovatelné mikroorganismy a výrazně ulehčuje taxonomickou i fylogenetickou klasifikaci bakterií.<sup>245</sup>

Zjednodušeně se dá říct, že po izolaci bakteriální DNA lze amplifikovat (namnožit) přesně definovanou část šroubovice DNA v počtu několika milionů kopií, protože pro molekulární vyšetření je často potřebné získat poměrně velké množství určitého úseku genetické informace.<sup>246</sup> Průkaz je pak možný pomocí už zmíněné DNA-sondy, nebo elektroforézou s následným obarvením.<sup>247</sup>

### 1.5.8 DNA-DNA hybridizační technika Checkerboard

DNA-DNA hybridizační technika Checkerboard neboli volným překladem technika DNA-DNA šachovnicové hybridizace nabízí řadu výhod pro studium více vzorků obsahujících komplexní směs mikroorganismů.<sup>248</sup>

K hybridizaci DNA se využívají DNA-sondy umístěné na nosné membráně, která umožňuje detekci několika druhů bakterií v jednom vzorku plaku současně.<sup>249</sup>

Výhodou je, že je poměrně levná, rychlá, citlivá a lze rozpoznat i obtížně kultivovatelné nebo nekultivovatelné druhy bakterií. Další výhodou

<sup>243</sup> MUTSCHELKNAUSS, Ralf E. a Peter DIEDRICH. *Praktická parodontologie: klinické postupy*. s. 176-177.

<sup>244</sup> EICKHOLZ, Peter. *Parodontologie od A do Z: základy pro praxi*. s. 84.

<sup>245</sup> MUTSCHELKNAUSS, Ralf E. a Peter DIEDRICH. *Praktická parodontologie: klinické postupy*. s. 178.

<sup>246</sup> EICKHOLZ, Peter. *Parodontologie od A do Z: základy pro praxi*. s. 84.

<sup>247</sup> VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie – vyšetřovací metody*. s. 217.

<sup>248</sup> SOCRANSKY, Sigmund S a Anne D HAFFAJEE. Periodontal microbial ecology. *Periodontology* 2000 [online]. 2005, **38**(1), 135-187 [cit. 2022-04-18]. Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-0757.2005.00107.x.

<sup>249</sup> EICKHOLZ, Peter. *Parodontologie od A do Z: základy pro praxi*. s. 86.

je, že vzorky není nutno ředit nebo amplifikovat.<sup>250</sup> Nevýhodou však zůstává skutečnost, že pro provedení této metody se vyžadují vysoce odborné znalosti a je možno ji provést pouze ve speciálně vybavených laboratořích, proto se pro rutinní použití nehodí.<sup>251</sup>

Přehled výhod a nevýhod nejpoužívanějších diagnostických metod je k nahlédnutí v přílohách (viz. příloha 1).

### 1.5.9 MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie MALDI je analytickou metodou využívanou nejen pro identifikaci bakterií. Stanovuje hmotnost atomů a molekul jejich převedením na ionty (ionizací), načež jsou následně tyto ionty pomocí laseru za přítomnosti matrice urychleny silným elektrickým polem a průletem ve vakuu.<sup>252</sup>

V hmotnostní spektrometrii MALDI-TOF je zdrojem iontů desorpce a ionizace za pomoci matrice (MALDI) a hmotnostním analyzátozem je analyzátor doby letu (TOF). Aby se molekuly analytu proměnili na plynnou fázi naráží měkká ionizace, kterou produkuje laser, na matrici malých molekul. Jednoduše můžeme říci, že vzorky jsou ionizované laserem. Toto se děje, aniž by došlo k jejich fragmentaci nebo rozkladu.<sup>253</sup>

Směs matrice a analyzovaného vzorku, které jsou nanесeny na kovovém terčíku zasáhne pulz laseru. Matrice absorbuje energii tohoto pulzu, rozloží se na molekuly plynného skupenství a ionizuje molekuly analyzovaného vzorku. Ionty analyzované látky jsou při prostupu silným elektrickým polem (25–30 kV) urychlené. Vstoupí do vakua, které je v trubici analyzátoru doby letu a jejich rychlost se stane úměrnou hmotnosti a náboji.

<sup>250</sup> SOCRANSKY, Sigmund S a Anne D HAFFAJEE. Periodontal microbial ecology. *Periodontology* 2000 [online]. 2005, **38**(1), 135-187 [cit. 2022-04-18]. Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-0757.2005.00107.x.

<sup>251</sup> EICKHOLZ, Peter. *Parodontologie od A do Z: základy pro praxi*. s. 86.

<sup>252</sup> ŠNAJDROVÁ, Martina. Identifikace vláknitých hub pomocí MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie. Č. Bud., 2014. Bakalářská práce (Bc.). Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích. Zdravotně sociální fakulta

<sup>253</sup> MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Creative Proteomics* [online]. New York, USA: Creative Proteomics, 2022 [cit. 2022-04-18]. Dostupné z: <https://www.creative-proteomics.com/technology/maldi-tof-mass-spectrometry.htm>

Analyzátor doby letu (TOF) měří dobu letu částice, z čehož následně vypočte rychlost částice jako poměr molekulové hmotnosti a náboje částice.<sup>254</sup>

Lasery používají jak ultrafialových, tak infračervených vlnových délek. Nejběžněji matricemi používanými v současnosti jsou kyselina  $\alpha$ -kyano-4-hydroxyskořicová, kyselina 2,5-dihydroxybenzoová, kyselina 3,5-dimethoxy-4-hydroxyskořicová a 2,6-dihydroxyacetofenon.<sup>255</sup>

### 1.5.10 Využití hmotnostní spektrometrie

V současnosti se hmotnostní spektrometrie využívá nejen v mikrobiologii ale i v klinické praxi.<sup>256</sup> Tato metoda mikrobiologické diagnostiky je totiž průlomem, který celý diagnostický proces nejen zásadně urychlí, ale i podá klinicky validní výsledek. Jedná se o zejména o závažné nebo vzácně se vyskytující septické stavy nebo infekce, kdy může včasný výsledek pozitivně ovlivnit prognózu pacienta.<sup>257</sup>

Jak uvádí RNDr. Ing. Libor Staněk a MUDr. Filip Prusík z pražské laboratoře CUBE, kde tuto technologii k identifikaci využívají ve svém článku: „Velkým přínosem je tato metoda v diagnostice všech původců infekčních nemocí způsobených jak nemocničními, tak komunitními patogeny. Spektrum patogenů je velice široké, zahrnující pomalu rostoucí anaerobní patogeny, dále nutričně náročné patogeny, patogeny vyvolávající střevní infekce, kam patří hlavně v letním období salmonely, kampylobakterie, yersinie, respirační patogeny, mezi něž patří hemofily, streptokoky, patogeny způsobující uroinfekce, infekce genitálního aparátu,

---

<sup>254</sup> ŠNAJDROVÁ, Martina. Identifikace vláknitých hub pomocí MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie. Č. Bud., 2014. Bakalářská práce (Bc.). Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích. Zdravotně sociální fakulta

<sup>255</sup> MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Creative Proteomics* [online]. New York, USA: Creative Proteomics, 2022 [cit. 2022-04-18]. Dostupné z: <https://www.creative-proteomics.com/technology/maldi-tof-mass-spectrometry.htm>

<sup>256</sup> MATOUŠKOVÁ, Adéla. Využití MALDI-TOF spektrometrie ve výuce studentů učitelství chemie. Brno, 2017. Bakalářská práce (Bc.). Masarykova Univerzita v Brně, Pedagogická fakulta [cit. 2023-02-03]. Dostupné z: <https://is.muni.cz/th/qyox6/bakalarska-prace-matouskova.pdf>

<sup>257</sup> STANĚK, Libor a Filip PRUSÍK. Využití a přínos sofistikované metody MALDI-TOF. *Synlabianer: Odborný časopis pro lékaře* [online]. Praha, 2020, 15-16 [cit. 2023-02-06]. Dostupné z: <https://synlabianer.cz/wp-content/uploads/2020/02/20006TM-SYNLAB-synlabianer-012020-07.pdf>

ale i kvasinek a plísní, možná je také identifikace vzorků zvířat či stěrů z prostředí. Za zmínku stojí také možnost využití pro detekci některých mechanismů rezistence (průkaz karbapenemáz), eventuelně pro přímou identifikaci z hemokultur.<sup>258</sup> Hmotnostní spektrometrie se využívá také na detekci a měření hladin specifických biomarkerů v tělesných tekutinách, jako jsou krev nebo moč. Příkladem je měření specifických biomarkerů probíhajícího onkologického onemocnění (rakoviny).<sup>259</sup> Za objev prokazatelný přínos technologie hmotnostní spektrometrie – neboli MALDI TOF MS, byla v roce 2002 obdržena Nobelova cena za chemii.<sup>260</sup>

### **1.5.11 Hodnotící kritéria a určení rozsahu skóre úspěšnosti identifikace MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie**

Počátečním účelem využití metody MALDI-TOF byla analýza peptidů a proteinů. Dnes analyzujeme i nukleové kyseliny, nízkomolekulární organické i anorganické látky.<sup>261</sup>

Každý mikroorganismus při identifikaci pomocí hmotnostního spektrometru uvolňuje ze své buněčné stěny určité spektrum vysokomolekulárních látek jako jsou proteiny, glykoproteiny nebo polysacharidy, které můžeme rovněž označit jako tzv. molecular fingerprints, neboli molekulární otisky prstů. Jedná se v podstatě o molekulární indikátor, který je druhově specifický. Analytický program, který využívá technologie MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie v prvním kroku identifikace převádí naměřená hmotnostní spektra na seznam píků (peaks).

---

<sup>258</sup> STANĚK, Libor a Filip PRUSÍK. Využití a přínos sofistikované metody MALDI-TOF. *Synlabianer: Odborný časopis pro lékaře* [online]. Praha, 2020, 15-16 [cit. 2023-02-06]. Dostupné z: <https://synlabianer.cz/wp-content/uploads/2020/02/20006TM-SYNLAB-synlabianer-012020-07.pdf>

<sup>259</sup> PAUL, Debasish, Avinash KUMAR, Akshada GAJBHIYE, Manas K. SANTRA a Rapole SRIKANTH. Mass spectrometry-based proteomics in molecular diagnostics: discovery of cancer biomarkers using tissue culture. *BioMed Research International* [online]. Hindawi Publishing Corporation, 2013, 16 [cit. 2023-04-26]. Dostupné z: doi:10.1155/2013/783131

<sup>260</sup> STANĚK, Libor a Filip PRUSÍK. Využití a přínos sofistikované metody MALDI-TOF. *Synlabianer: Odborný časopis pro lékaře* [online]. Praha, 2020, 15-16 [cit. 2023-02-06]. Dostupné z: <https://synlabianer.cz/wp-content/uploads/2020/02/20006TM-SYNLAB-synlabianer-012020-07.pdf>

<sup>261</sup> MATOUŠKOVÁ, Adéla. Využití MALDI-TOF spektrometrie ve výuce studentů učitelství chemie. Brno, 2017. Bakalářská práce (Bc.). Masarykova Univerzita v Brně, Pedagogická fakulta



V druhém kroku následně tento seznam srovnává se souborem všech vzorů (profilů), jež jsou uloženy v referenční databázi.<sup>262</sup>





Skóre úspěšnosti identifikace udává těsnost shody mezi spektrem zkoumaného kmene a referenčním spektrem. Hodnota výsledného skóre slouží k posouzení spolehlivosti výsledku identifikace, jelikož určuje míru pravděpodobnosti správného rozlišení identifikovaného kmene.<sup>263</sup>

Srovnávací algoritmus vypočte tři samostatné hodnoty pro tři charakteristiky vzorku a referenčního spektra, přičemž výsledné skóre identifikace je záporný dekadický logaritmus součinu těchto tří hodnot. Konkrétně:

- se stanoví počet signálů v referenčním spektru, které jsou srovnávanému neznámému spektru nejvíce podobné
- stanoví se počet signálů neznámého spektra, které se nejvíce přibližují hodnotám referenčního spektra
- vypočte se symetrie srovnávaných tzv. signálních párů – signály neznámého identifikovaného spektra a referenčního spektra

Kromě číselného výsledku skóre jsou pro lehčí, rychlejší orientaci a interpretaci výsledků vypočtené hodnoty zobrazeny i barevně (zelená, žlutá, červená).<sup>264</sup>

Tabulka 1 – Hodnocení spolehlivosti identifikace

Barva	Rozsah skóre	Popis
	2,300 –3,000	Druh byl s vysokou pravděpodobností identifikován
	2,000 –2,299	Rod identifikován s jistotou, druh pravděpodobně
	1,700 –1,999	Pravděpodobná identifikace rodu
	0,000 –1,699	nespolehlivá identifikace

Zdroj: ŠNAJDROVÁ, Martina. Identifikace vláknitých hub pomocí MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie. s.37

<sup>262</sup> BRUKER DALTONIK GMBH, MALDI Biotyper 3.0 uživatelský manuál [online]. Bremen, Německo: Bruker Daltonik, 2011 [cit. 2023-04-28]. s.17

<sup>263</sup> ŠNAJDROVÁ, Martina. Identifikace vláknitých hub pomocí MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie. Č. Bud., 2014. Bakalářská práce (Bc.). Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích. Zdravotně sociální fakulta

<sup>264</sup> BRUKER DALTONIK GMBH, MALDI Biotyper 3.0 uživatelský manuál [online]. Bremen, Německo: Bruker Daltonik, 2011 [cit. 2023-04-28]. s.18

### 1.5.12 Princip identifikace mikroorganismů pomocí MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie

MALDI-TOF MS je anglickou zkratkou pro matrix assisted laser desorption/ionization – time of flight, mass spectrometry. Volně přeloženo se tedy jedná o hmotnostní spektrometrii s ionizací/desorpcí laserem za přítomnosti matrice v kombinaci s detektorem doby letu.<sup>265</sup>

Základem pro úspěšnou identifikaci zkoumaného vzorku je stanovení jeho molekulové hmotnosti. Výhodou je, že k provedení stačí jenom minimální množství bakteriální kultury, která se nanese na detekční kovový terčik.<sup>266</sup> Ten obsahuje jednotlivé pozice (spoty), dle kterých je možné se v jednotlivých vzorcích jednoduše orientovat. Na jednu pozici se zpravidla nanese jeden kmen.<sup>267</sup>

Následně se všechny pozice s nanesenými bakteriálními kulturami překryjí matricí (často  $\alpha$ -kyano-4-hydroxyskořicová) a nechají se volně zaschnout. Tato matrice je potřebná k vyextrahování jednotlivých proteinů, které jsou důležité k následujícímu měření.<sup>268</sup>

Dále má matrice schopnost absorbovat UV záření z laserového pulsu a převádět jej na tepelnou energii, což má za následek, že se matrice zahřeje a odparuje spolu se vzorkem – dochází k desorpci (uvolnění iontů vzorku). Zároveň dochází k ionizaci molekul vzorku předáním  $H^+$  od molekul matrice a vzniklé ionty přechází do hmotnostního analyzátoru. Tím, že je matrice schopná absorbovat energii laserového záření a předat náboj

---

<sup>265</sup> ŠAFRÁNKOVÁ, Renáta. Využití MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie i dalších metod při identifikaci mikroorganismů. Hradec Králové, 2021. Autoreferát disertační práce. Univerzita Karlova v Hradci Králové, Lékařská fakulta. [cit. 2023-02-03]. Dostupné z: <https://dspace.cuni.cz/bitstream/handle/20.500.11956/128278/140093551.pdf?sequence=4&isAllowed=y>.

<sup>266</sup> STANĚK, Libor a Filip PRUSÍK. Využití a přínos sofistikované metody MALDI-TOF. Synlabianer: Odborný časopis pro lékaře [online]. Praha, 2020, 15-16 [cit. 2023-02-06]. Dostupné z: <https://synlabianer.cz/wp-content/uploads/2020/02/20006TM-SYNLAB-synlabianer-012020-07.pdf>

<sup>267</sup> ŠAFRÁNKOVÁ, Renáta. Využití MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie i dalších metod při identifikaci mikroorganismů. Hradec Králové, 2021. Autoreferát disertační práce. Univerzita Karlova v Hradci Králové, Lékařská fakulta.

<sup>268</sup> STANĚK, Libor a Filip PRUSÍK. Využití a přínos sofistikované metody MALDI-TOF. Synlabianer: Odborný časopis pro lékaře [online]. Praha, 2020, 15-16 [cit. 2023-02-06]. Dostupné z: <https://synlabianer.cz/wp-content/uploads/2020/02/20006TM-SYNLAB-synlabianer-012020-07.pdf>

molekulám analytu, plní svou hlavní funkci – a to zabránit štěpení molekul nežádoucím způsobem (degradaci).<sup>269</sup>

Zdrojem záření, které doslova pomocí fotonů bombarduje analyt s matricí, je nejčastěji pulzní UV laser. Ve většině případů se jedná o N<sub>2</sub> laser s typickou frekvencí 20–50 Hz a vlnovou délkou záření  $\lambda = 337 \text{ nm}$ .<sup>270</sup>

Hmotnostní analyzátor (TOF) měří dobu letu separovaných iontů, které jsou urychleny pomocí elektrického pole (mezi kovovým detekčním terčíkem a vstupní štěrbinou analyzátoru je přítomné napětí). Tyto ionty nabydou určitou rychlost v závislosti na jejich náboji a hmotnosti, což znamená, že různé ionty mají různé rychlosti, a tedy dopadnou na detektor v rozdílném čase (lehčí molekuly dorazí k detektoru dříve, těžší molekuly dorazí k detektoru později). Detektor ionty zachytí a matematicky vypočítá poměr hmotnosti  $m$  a velikosti náboje  $z$ , pomocí vzorce  $m/z$ .<sup>271</sup>

Identifikace je vyhodnocena pomocí porovnání vlastních výsledků s obrovskou databází spekter, na základě kterých je úspěšnost vyjádřena číselnou hodnotou – hodnotou skóre (viz. tabulka 1). Charakteristický profil pro identifikaci mikroorganismů poskytují ribosomální proteiny, tvořící až 21% z celkového proteinového obsahu buňky.<sup>272</sup>

---

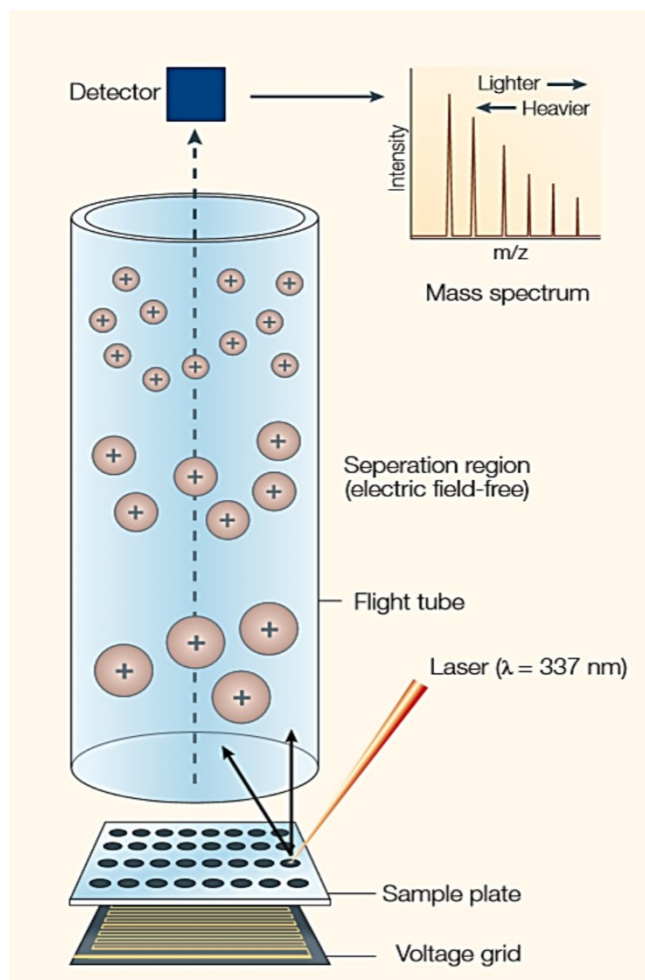
<sup>269</sup> MATOUŠKOVÁ, Adéla. Využití MALDI-TOF spektrometrie ve výuce studentů učitelství chemie. Brno, 2017. Bakalářská práce (Bc.). Masarykova Univerzita v Brně, Pedagogická fakulta

<sup>270</sup> ŠAFRÁNKOVÁ, Renáta. Využití MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie i dalších metod při identifikaci mikroorganismů. Hradec Králové, 2021. Autoreferát disertační práce. Univerzita Karlova v Hradci Králové, Lékařská fakulta.

<sup>271</sup> MATOUŠKOVÁ, Adéla. Využití MALDI-TOF spektrometrie ve výuce studentů učitelství chemie. Brno, 2017. Bakalářská práce (Bc.). Masarykova Univerzita v Brně, Pedagogická fakulta

<sup>272</sup> ŠAFRÁNKOVÁ, Renáta. Využití MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie i dalších metod při identifikaci mikroorganismů. Hradec Králové, 2021. Autoreferát disertační práce. Univerzita Karlova v Hradci Králové, Lékařská fakulta.

Obrázek 9 – Schematické znázornění principu technologie MALDI-TOF MS



Zdroj: ŠAFRÁNKOVÁ, Renáta. Využití MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie i dalších metod při identifikaci mikroorganismů. s. 8

## 2 Praktická část

Praktická část bakalářské práce je zaměřena na mikrobiologickou diagnostiku onemocnění parodontu s využitím anaerobní kultivace a následné identifikace parodontálních patogenů pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF.

Dle mnoha vědeckých epidemiologických studií a odborné literatury můžeme konstatovat, že plakem podmíněné parodontopatie jsou problémem, který se týká většiny populace. Pro jejich úspěšnou parodontologickou léčbu je důležité využití vhodných pomocných vyšetřovacích metod, na základě kterých je možné identifikovat konkrétní patogeny, které onemocnění způsobují.

### 2.1 Cíl práce

V praktické části bakalářské práce byl proveden odběr biologického materiálu od každého z pacientů za účelem mikrobiologické diagnostiky s využitím anaerobní kultivace a následné identifikace parodontálních patogenů pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF (Microflex, Brüker Daltonics, Germany). Cílem bylo zjistit a potvrdit, zda jsou tyto pomocné diagnostické postupy vhodné na použití v parodontologii.

### 2.2 Hypotézy

#### Hypotéza č. 1

*„Předpokládám, že anaerobní kultivace a následná identifikace pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF je vhodná metoda pro diagnostiku patogenů přítomných při onemocnění parodontu, a výsledky jsou porovnatelné s jinými mikrobiologickými diagnostickými metodami používanými v parodontologii.“*

Tato hypotéza vychází především z odborné literatury a odborných vědeckých článků, ve kterých autoři považují anaerobní kultivaci jako

referenční standard pro diagnostiku parodontálních patogenů. Jedná se hlavně o odbornou literaturu *Praktická parodontologie – Klinické postupy* od Mutschelknausse (2002)<sup>273</sup>, dále odbornou literaturu *Parodontologie od A do Z* od Eickholze (2013)<sup>274</sup>, či taiwanskou vědeckou studii doktorky Wei z roku 2021, kde identifikovali parodontální patogeny právě pomocí anaerobní kultivace a hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF.<sup>275</sup>

## **Hypotéza č. 2**

*„Očekávám, že alespoň u 70 % pacientů s onemocněním parodontu bude pozitivní nález Porphyromonas gingivalis.“*

Tato hypotéza vychází z íránské studie doktora Rafieiho z roku 2018, která byla provedena za účelem odhadu prevalence *Porphyromonas gingivalis*, bakterie, která je považovaná za hlavní mikrobiálního agens v incidenci parodontálních onemocnění.

## **Hypotéza č. 3**

*„Domnívám se, že alespoň u 50 % pacientů bude pozitivní nález Streptococcus intermedius nebo Streptococcus gordonii.“*

Domnívám se tak na základě výsledků taiwanské studie doktorky Wei z roku 2021, kde byl zjištěn vysoký výskyt *Streptococcus gordonii* a *Streptococcus intermedius*, jakožto potencionálních markerů u pacientů s přítomným onemocněním parodontu.

---

<sup>273</sup> MUTSCHELKNAUSS, Ralf E. a Peter DIEDRICH. *Praktická parodontologie: klinické postupy*. s. 174.

<sup>274</sup> EICKHOLZ, Peter. *Parodontologie od A do Z: základy pro praxi*. s. 82.

<sup>275</sup> WEI, Yu-Shan, Yi-Ru CHANG, Yi-Ting TSAI, et al. The distribution of cultivable oral anaerobic microbiota identified by MALDI-TOF MS in healthy subjects and in patients with periodontal disease. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* [online]. 2021, **192** [cit. 2022-04-04]. ISSN 07317085. Dostupné z: doi: 10.1016/j.jpba.2020.113647

## 2.3 Soubor

V rámci praktické části této bakalářské práce byl vybrán soubor 12 pacientů s onemocněním parodontu (gingivitida, parodontitida) ve věku 29 až 75 let, čtyři ženy a osm mužů. Každý pacient byl nejdříve podrobený vyšetření a byly mu provedeny gingivální a parodontologické indexy. Dle naměřených hodnot se vybraly vhodná místa pro odběr biologického materiálu z každého kvadrantu. Vzorky byly následně do dvou hodin zpracovány v mikrobiologickém laboratoriu k anaerobní kultivaci a následné identifikaci pomocí hmotnostní spektrometrie.

Odběr proběhl u každého z 12 pacientů v období od 6. 1. 2022 do 3. 3. 2022 ve Fakultní nemocnici Královské Vinohrady, ve výukovém centru 3. lékařské fakulty Karlovy Univerzity v pavilonu X – v ordinacích dentální hygieny. Celkem bylo získáno 12 vzorků od 12 pacientů. U jednoho z těchto pacientů bylo navíc udělané vyšetření pomocí DNA testů.

## 2.4 Materiál

Kultivační půdou byla Columbia krevní agar s přidáním 5 % defibrinované ovčí krve v Petriho miskách (Oxoid, Česká republika). Jako matici jsme vybrali kyselinu  $\alpha$ -kyano-4-hydroxyskořicová HCCA (Bruker Daltonics, GmbH Bremen, Germany).

Další pomůcky a přístrojové vybavení: odběrový tampon Transystem s Amiesovou půdou s aktivním uhlím (Dispolab, Česká republika), sterilní kyreta, nitrilové vyšetřovací rukavice, sterilní jednorázové mikrobiologické kličky 10  $\mu$ l (Hebios), anaerostat 35 °C 5 % CO<sub>2</sub> (Thermo Scientific), AnaeroGen™ 3,5L sáčky pro vytvoření anaerobního prostředí (Thermo Scientific), termostát 36  $\pm$  1 °C (Thermo Scientific), dřevěné párátka, jednorázové plastové pipety, automatická pipeta (Eppendorf), kovový terčík Micro SCOUT – 96 pozic (Bruker Daltonics, GmbH Bremen, Germany) a MALDI-TOF hmotnostní spektrometr microflex™ series (Microflex, Bruker Daltonics, Germany).

## 2.5 Metodika

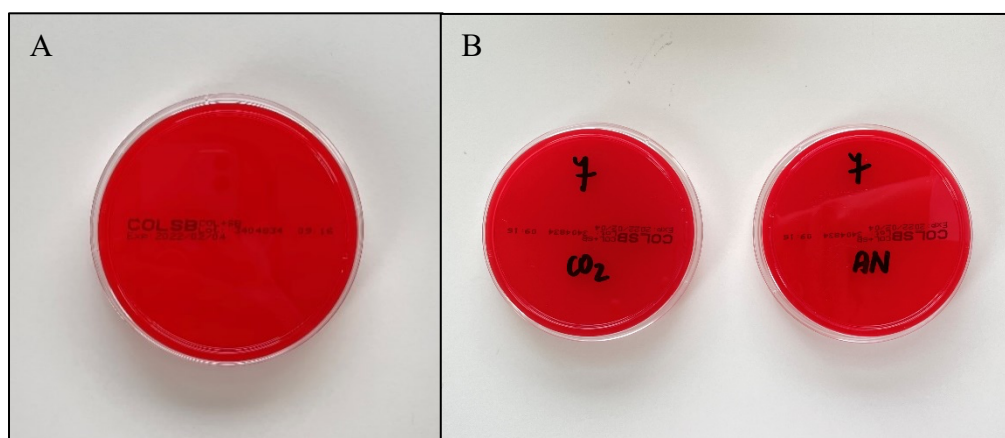
Odběr úspěšně proběhl u každého z 12 pacientu. Každý odběr byl proveden pomocí sterilních odběrových tamponů a sterilní kyrety, z nejhlubší naměřené parodontální kapsy každého kvadrantu. V odběrové oblasti se zajistilo suché pracovní prostředí, aby nedošlo ke kontaminaci slinou. Odběrový tampon byl neprodleně po odebraní vzorku vložený do transportní půdy obohacené o černé uhlí a nanejvýš do dvou hodin zpracován v mikrobiologickém laboratoriu Státního Zdravotního Ústavu (Národní referenční laboratoř pro antibiotika). Všichni pacienti se na studii podíleli dobrovolně s informovaným souhlasem (viz. příloha 2).

### 2.5.1 Očkování agarových ploten

Kmeny byly vyočkovány na krevní agar. Na každého pacienta byly použité dva agary – jeden pro aerobní kultivaci se zvýšenou koncentrací CO<sub>2</sub>, druhý pro anaerobní kultivaci.

Obrázek 10

A – Columbia krevní agar (Oxoid), použitý k anaerobní kultivaci  
B – označené krevní agary připravené na naočkování



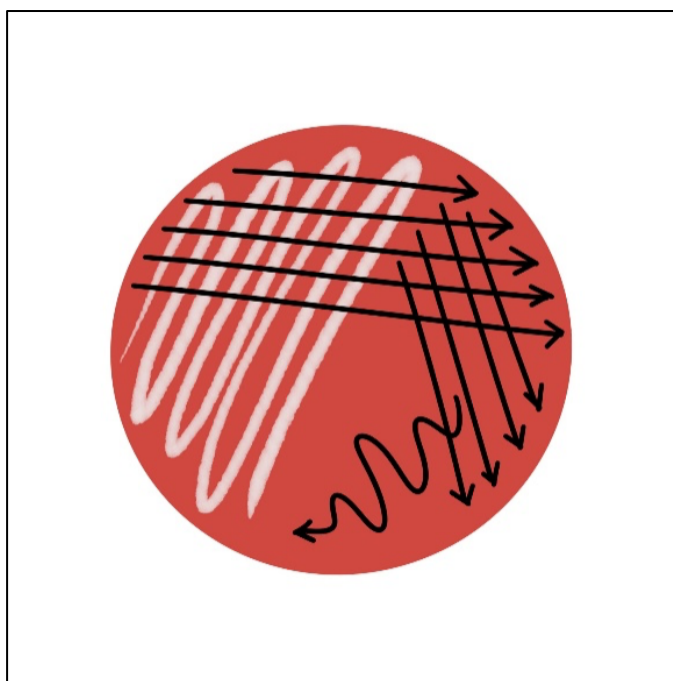
Zdroj: archiv autorky

Každá krevní agarová plotna byla do poloviny naočkována vatovým tamponem s odebraným biologickým materiálem (viz. obrázek 10 – znázorněné bílou). Sterilními mikrobiálními kličkami byl následně proveden



křížový roztěr, kterým dochází k postupnému ředění kultury s cílem získat čistých bakteriálních kolonií. Křížový roztěr byl proveden dle obecného schématu (viz. obrázek 11). Poté byly agary kultivovány v prostředí s 5 % CO<sub>2</sub> v inkubátoru (viz. obrázek 14) o teplotě 35 +/-1 °C, nebo v anaerostatu (viz. obrázek 13) při stejné teplotě (35 +/-1 °C). Aby byla v anaerostatu zajištěna optimální atmosféra, po vložení naočkovaných agarových ploten byl dovnitř přidán sáček pro vytvoření anaerobního prostředí AnaeroGen™ 3,5L (ThermoScientific) (viz. obrázek 12). V atmosféře s CO<sub>2</sub> se bakteriální kolonie kultivovali 18 hodin, v anaerobním prostředí kvůli pomalému růstu anaerobních bakterií až dva dny.

Obrázek 11 – schéma provedeného křížového roztěru  
(černě ve směru šipek)



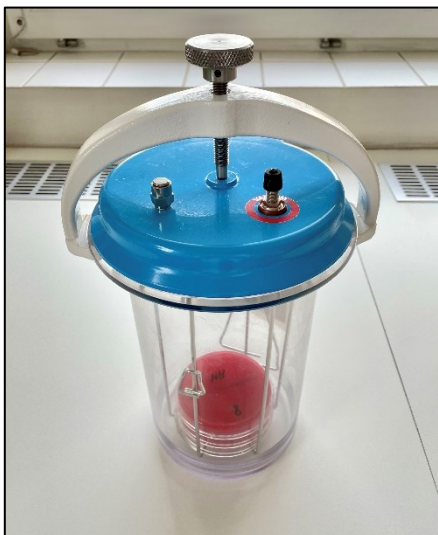
Zdroj: archiv autorky

Obrázek 12 – AnaeroGen™ 3,5L  
sáčky pro vytvoření anaerobního  
prostředí (Thermo Scientific)



Zdroj: archiv autorky

Obrázek 13 – Anaerostat  
s naočkovanými agarovými plotnami



Zdroj: archiv autorky

Obrázek 14 – inkubátor s atmosférou  
5% CO<sub>2</sub>

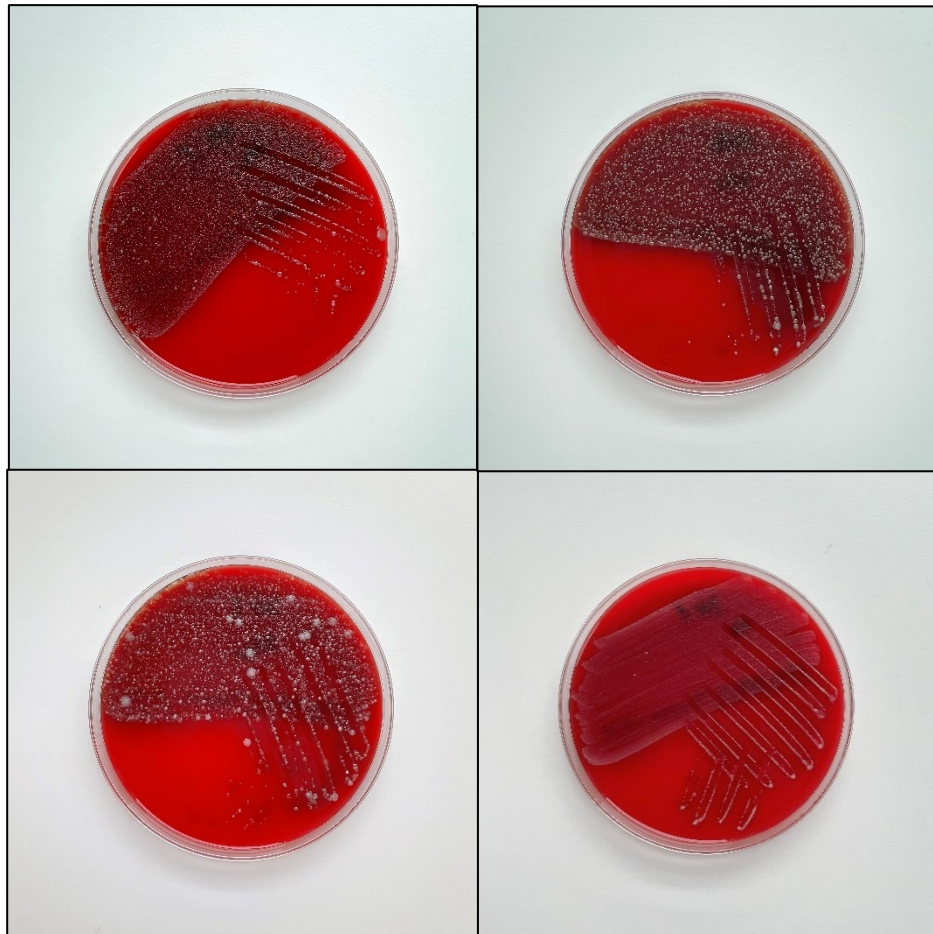


Zdroj: archiv autorky

### 2.5.2 Identifikace bakterií

Pro potřeby identifikace pomocí hmotnostní spektrometrie byly z každé agarové plotny vybrány reprezentativní kolonie dle tvaru, velikosti, barvy, typu hemolýzy, povrchu nebo morfologie okraje. Z každé vybrané kolonie byl odebrán vzorek pomocí dřevěného párátko a poté nanesen na jednu samostatnou kruhovou pozici kovového terčíku (obrázek č. 18). Na každou pozici s odebranými koloniemi se automatickou pipetou nanesl 1 mikrolitr matrice, kyseliny  $\alpha$ -kyano-4-hydroxybenzoové (HCCA). Po úplném zaschnutí nanesené matrice se kovový terčík s odebranými bakteriemi vložil do hmotnostního spektrometra MALDI TOF-SM na identifikaci (obrázek č. 19). Ze všech vzorků se podařilo spolehlivě identifikovat 32 různých bakteriálních druhů.

Obrázek 15 – agarové plotny s vykultivovanými bakteriálními koloniemi



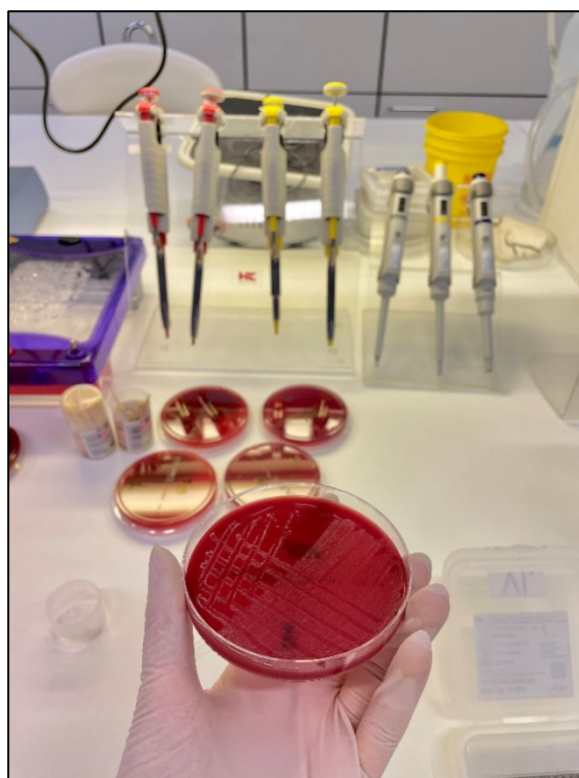
Zdroj: archiv autorky

Obrázek 16 – agarová plotna při pohledu proti světlu, pro lepší pozorování vykultivovaných bakteriálních kolonií



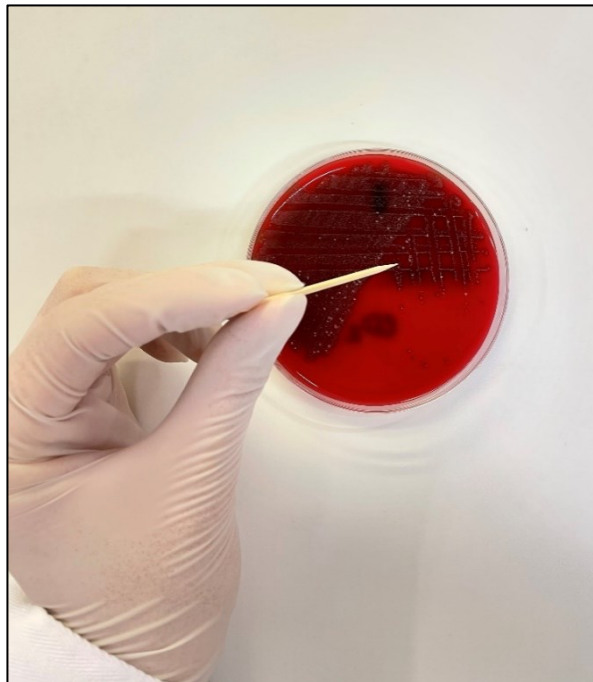
Zdroj: archiv autorky

Obrázek 17 – příprava pomůcek před identifikací vykultivovaných bakteriálních kolonií



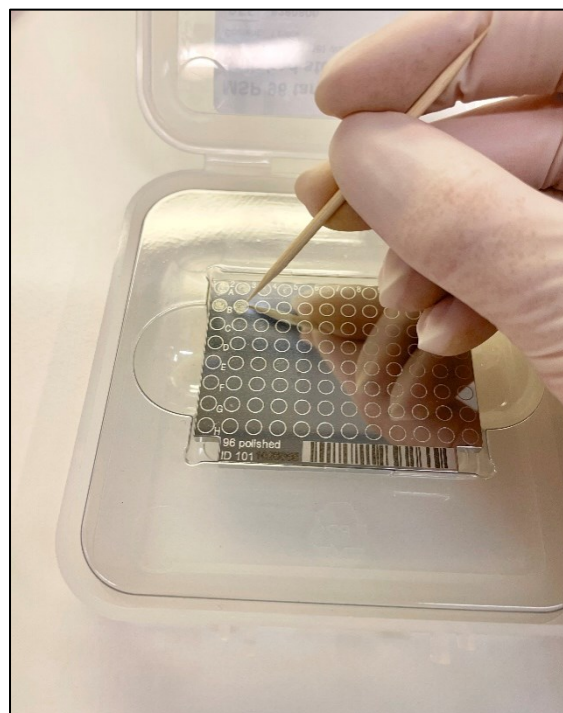
Zdroj: archiv autorky

Obrázek 18 – odebrání jednotlivých kolonií



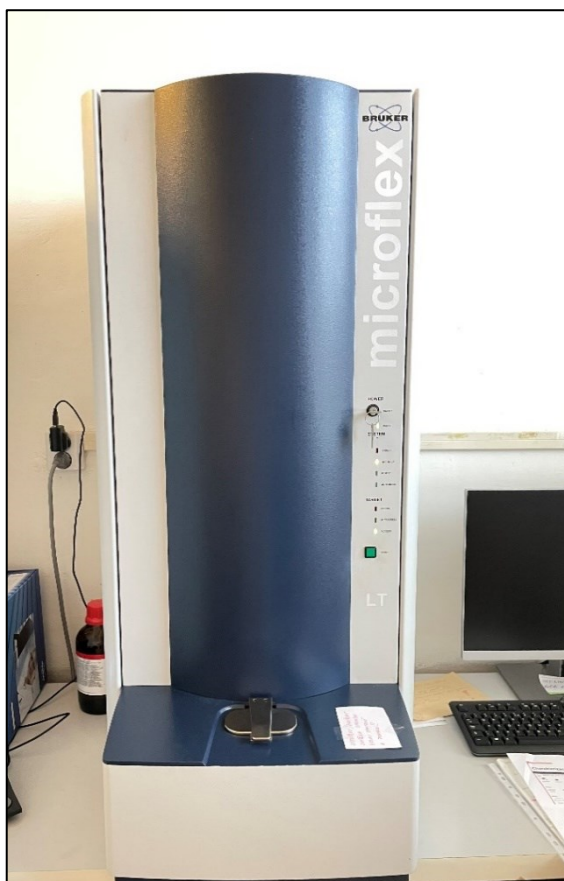
Zdroj: archiv autorky

Obrázek 19 – nanášení vzorků biologického materiálu jednotlivých bakteriálních kolonií na políčka kovového terčiku Micro SCOUT



Zdroj: archiv autorky

Obrázek 20 – MALDI-TOF hmotnostní spektrometr  
microflex™ series (Bruker)



Zdroj: archiv autorky

## 2.6 Výsledky

### 2.6.1 Výsledky anaerobní kultivace a identifikace pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF

Na základě výsledků byly sestaveny následující grafy. Z celkového počtu 12 pacientů, kterým byl proveden odběr, bylo pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF identifikovaných 32 různých bakterií. Výsledky identifikace jsou přiloženy (viz. příloha 3).

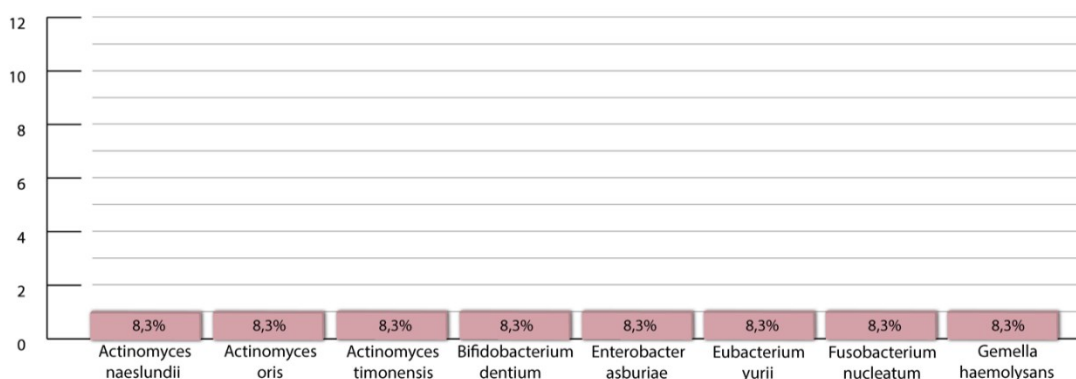
Tabulka 2 - seznam identifikovaných orálních bakterií

Identifikované bakterie ze všech odebraných vzorků uspořádané abecedně	
<i>Actinomyces naeslundii</i>	<i>Prevotella intermedia</i>
<i>Actinomyces oris</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Actinomyces timonensis</i>	<i>Rothia dentocariosa</i>
<i>Bifidobacterium dentium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Enterobacter asburiae</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Eubacterium yurii</i>	<i>Streptococcus constellatus</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>
<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Neisseria elongata</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Neisseria flavescens</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>Neisseria macacae</i>	<i>Streptococcus parasanguinis</i>
<i>Neisseria subflava</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Peptostreptococcus stomatis</i>	<i>Streptococcus sanguinis</i>
<i>Prevotella buccae</i>	<i>Streptococcus sobrinus</i>
<i>Prevotella dentalis</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Prevotella denticola</i>	<i>Veillonella rogosae</i>

Pro jednoduchou interpretaci výsledků byly všechny bakterie a jejich procentuální incidence shrnuty do následujících grafů. Hodnoty jsou vypočteny z celkového počtu pacientů – 12. Pro přehlednost grafů bylo zvoleno uspořádání jednotlivých bakterií v abecedním pořadí.

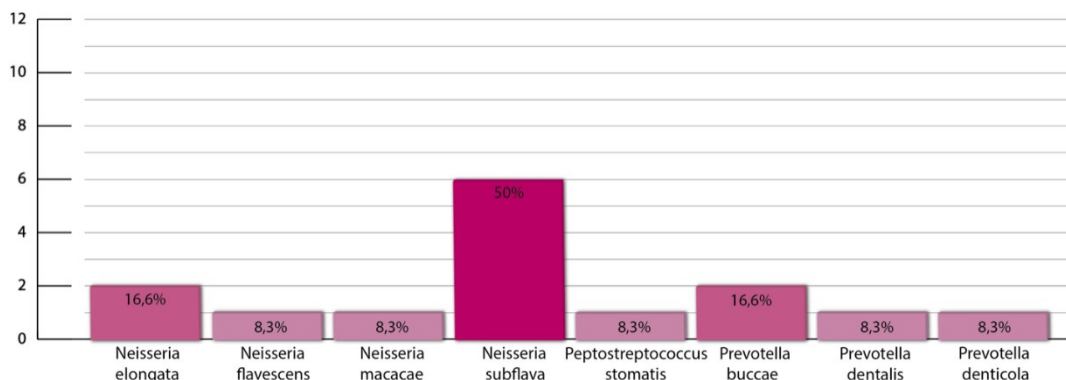
Bakterie *Actinomyces naeslundii*, *Actinomyces oris*, *Actinomyces timonensis*, *Bifidobacterium dentium*, *Enterobacter asburiae*, *Eubacterium yurii*, *Fusobacterium nucleatum* a *Gemella haemolysans* byly identifikované v 8,3 % případů. Ze všech jmenovaných se mezi významné parodontální patogeny, které prokazatelně způsobují těžší formu parodontálního onemocnění řadí *Fusobacterium nucleatum*.

Graf 1 – identifikované bakterie a jejich incidence



Další graf pojednává o nálezích bakterií *Neisseria flavescens*, *Neisseria macacae*, *Peptostreptococcus stomatis*, *Prevotella dentalis* a *Prevotella denticola* – také v 8,3 % případů. Vyšší incidenci měly bakterie *Neisseria elongata* a *Prevotella buccae*, a to v 16,6 % případů. Významný byl nález bakterie *Neisseria subflava* u 50 % pacientů.

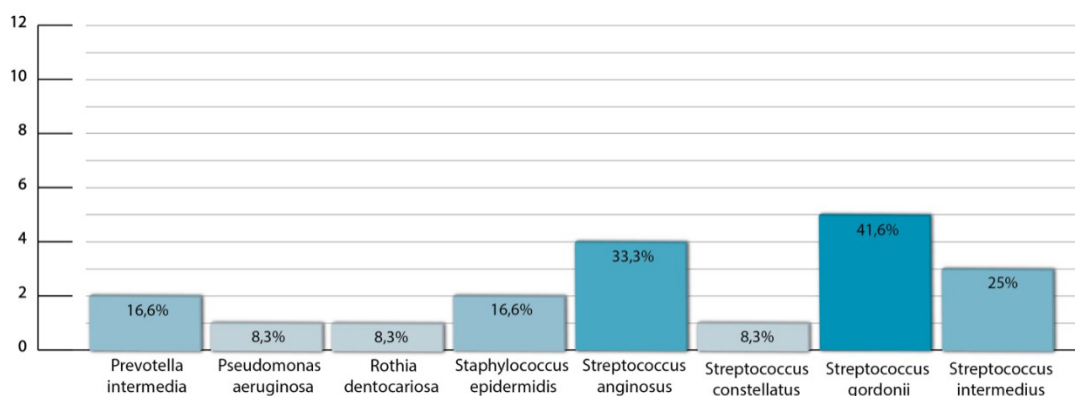
Graf 2 – identifikované bakterie a jejich incidence





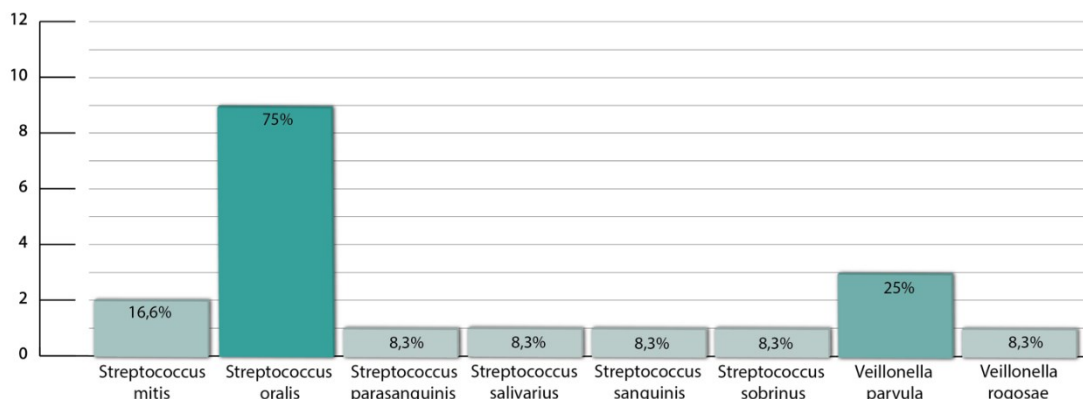
Graf č. 3 zobrazuje výsledky týkající se bakterií *Pseudomonas aeruginosa*, *Rothia dentocariosa* a *Streptococcus constellatus*, které byly nalezeny v 8,3 % případů. Dále v 16,6 % případů byl zaznamenán nález bakterií *Prevotella intermedia* a *Staphylococcus epidermidis*. *Streptococcus intermedius* se vyskytoval v 25 % případů. U 33,3 % pacientů byl potvrzen nález *Streptococcus anginosus* a u 41,6 % pacientů byl identifikovaný *Streptococcus gordonii*. Mezi významné parodontální patogeny ze všech jmenovaných se řadí *Prevotella intermedia*.

Graf 3 – identifikované bakterie a jejich incidence



V pořadí čtvrtý graf shrnuje nález bakterií *Streptococcus parasanguinis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus sobrinus* a *Veillonella rogosae* v 8,3 % identifikací. Vyšší incidenci má *Streptococcus mitis* v 16,6 % případů, *Veillonella parvula* v 25 % případů a ze všech identifikovaných bakterií byl jakožto nejčastější orální bakteriální mikroorganismus nalezen *Streptococcus oralis*, a to u 75 % pacientů.

Graf 4 – identifikované bakterie a jejich incidence



### 2.6.2 Kazuistika

Pacient číslo 12, muž, 46 let, kuřák, v iniciální fázi parodontologické terapie, léčen v praxi LababidiDent s.r.o., ošetřující parodontolog odb. as. MUDr. Adel El – Lababidi, Ph. D. na základě vyšetření indikoval provedení testu DNA.

Tabulka 3 – seznam identifikovaných orálních bakterií u pacienta č.12

Pacient 12 – identifikace hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF	Pacient 12 – výsledky DNA testů
<i>Bifidobacterium dentium</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Parvimonas micra</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Tannerella forsythia (Bacteroides forsythus)</i>
<i>Streptococcus anginosus</i>	<i>Treponema denticola</i>
<i>Streptococcus gordonii</i>	-
<i>Streptococcus intermedius</i>	-
<i>Streptococcus mitis</i>	-
<i>Streptococcus oralis</i>	-
<i>Veillonella parvula</i>	-
<i>Veillonella rogosae</i>	-

U pacienta číslo 12 byl na základě indikace ošetřujícího parodontologa souběžně proveden jak odběr pro anaerobní kultivaci a následnou identifikaci pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF, tak odběr pro mikrobiologickou diagnostiku pomocí DNA testů.

Výsledky anaerobní kultivace a následné identifikace bakterií pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF u pacienta č. 12 potvrdily nálezy 10 orálních bakterií.

Výsledky DNA testů u pacienta č. 12 potvrdily nálezy čtyř parodontálních patogenů a to – *Tannerella forsythia* silně pozitivní s vysokým rizikem, *Fusobacterium nucleatum* silně pozitivní se středním rizikem, *Parvimonas micra* silně pozitivní se středním rizikem a *Treponema denticola* středně pozitivní se středním rizikem. Tato kazuistika ukazuje na to, že výsledky nemusí být vždy homogenní na první pokus, a tedy je potřeba dalšího výzkumu s více pacienty.

Obrázek 21 - laboratorní zpráva s výsledky DNA testů VariOr® Dento Plus pacienta č. 12

### Laboratorní zpráva

#### DNA průkaz parodontálních patogenů testem VariOr-Dento:

Komplex	Patogeny	Zkratka	Nález
Aa	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	Aa	--
Červený	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Pg	--
	<i>Tannerella forsythia</i> ( <i>Bacteroides forsythus</i> )	Tf	+++
	<i>Treponema denticola</i>	Td	++
Oranžový	<i>Parvimonas micra</i>	Pm	+++
	<i>Prevotella intermedia</i>	Pi	--
	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Fn	+++
Asociován s oranž.	<i>Campylobacter rectus</i>	Cr	+
	<i>Eubacterium nodatum</i>	En	++
Zelený	<i>Eikenella corrodens</i>	Ec	+
	<i>Capnocytophaga sp.</i>	Cs	--
Rezistence k β-laktamovým ATB			-
Celkové riziko resorpce závěsného aparátu			<b>Střední</b>

**Legenda:** (–) nedetekován, odpovídá počtu bakterií  $<10^3$       (–) bez rizika      (–) nízké riziko  
 (+) slabě pozitivní, odpovídá počtu bakterií  $10^3 - 10^4$       (+) střední riziko      (+) vysoké riziko  
 (++) středně pozitivní, odpovídá počtu bakterií  $10^4 - 10^5$   
 (+++) silně pozitivní, odpovídá počtu bakterií  $>10^5$

Zdroj: odb. as. MUDr. Adel El – Lababidi, Ph.D.

### 3 Diskuze

Cílem této bakalářské práce bylo zdůraznit důležitost mikrobiologických diagnostických metod a jejich využití v parodontologii. Aby byla léčba co nejlépe cílená a úspěšná, je potřeba zjistit podrobný průběh onemocnění a jaké parodontální patogeny se podílejí na jeho vzniku.

V této bakalářské práci jsme chtěli zjistit a prokázat, jestli je anaerobní kultivace a následná identifikace orálních bakterií, potažmo parodontálních patogenů, pomocí hmotnostní spektrometrie vhodnou mikrobiologickou diagnostickou metodou v souvislosti s onemocněním parodontu. Dále jsme chtěli porovnat do jaké míry se výsledky kultivace a následné identifikace pomocí hmotnostní spektrometrie a výsledky DNA testů shodují.

#### Hypotéza č. 1

*„Předpokládám, že anaerobní kultivace a následná identifikace pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF je vhodná metoda pro diagnostiku přítomných parodontálních patogenů při onemocnění parodontu, výsledky porovnatelná s jinými mikrobiologickými diagnostickými metodami používanými v parodontologii.“*

Tato hypotéza byla stanovena na základě poznatků z odborné literatury a odborných vědeckých studií. Většina autorů odborné literatury se zaměřením na parodontologii se shoduje, že anaerobní kultivace je referenčním standardem pro mikrobiologickou diagnostiku. Dle Mutschelknausse je zároveň stále jedinou metodou, pomocí které jsme schopni zjistit citlivost různých bakteriálních kmenů na antibiotika nebo chemoterapeutika.<sup>276</sup> S tímto tvrzením se ztotožňuje rovněž Šedý, který dále uvádí, že pomocí anaerobní kultivace se dá zachytit široké spektrum mikroorganismů, přináší rozsáhlé informace o spektru subgingivální flóry a

---

<sup>276</sup> MUTSCHELKNAUSS, Ralf E. a Peter DIETRICH. *Praktická parodontologie: klinické postupy*. s. 174.

je poměrně přesná, s dobrou rozlišovací schopností.<sup>277</sup> Tato hypotéza byla dále stanovena i na základě odborné vědecké studie doktorky Wei a kolektivu z roku 2021<sup>278</sup>, kde byla právě v souvislosti s identifikací a porovnáním orální anaerobní mikroflóry u pacientů s onemocněním parodontu využita anaerobní kultivace a následná identifikace pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF.

Hypotéza nebyla potvrzena ani vyvrácena. Přes nesporné výhody MALDI-TOF MS, jako je rychlost, přesnost a cenová výhodnost, se při zpracování objevily odlišnosti mezi výsledky DNA testů a výsledky identifikace MALDI-TOF. Na základě jediné kazuistiky však není možné metody relevantně porovnávat, a proto je potřeba dalšího výzkumu. Bylo však prokázáno, že pomocí této technologie je možné anaerobní parodontální patogeny identifikovat a verifikovat.

## **Hypotéza č. 2**

*„Očekávám, že alespoň u 70 % pacientů s onemocněním parodontu bude pozitivní nález *Porphyromonas gingivalis*.“*

Hypotéza č. 2 vychází z vědecké odborné studie doktora Rafieho a kolektivu, která byla provedena za účelem odhadu prevalence *Porphyromonas gingivalis* v incidenci parodontálních onemocnění. Mým předpokladem bylo, že se hypotéza potvrdí, jelikož *Porphyromonas gingivalis* je významný parodontální patogen považovaný za hlavní mikrobiální agens v souvislosti s onemocněním parodontu.

Výsledky anaerobní kultivace a následné identifikace pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF však tuto hypotézu nepotvrdily. Důvodů může být několik. Přesto, že je bakterie *Porphyromonas gingivalis* považovaná za hlavní mikrobiální agens v souvislosti s onemocněními

---

<sup>277</sup> ŠEDÝ, Jiří. *Kompendium stomatologie*. s. 692.

<sup>278</sup> WEI, Yu-Shan, Yi-Ru CHANG, Yi-Ting TSAI, et al. The distribution of cultivable oral anaerobic microbiota identified by MALDI-TOF MS in healthy subjects and in patients with periodontal disease. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* [online]. 2021, **192** [cit. 2022-04-04]. ISSN 07317085. Dostupné z: doi: 10.1016/j.jpba.2020.113647

parodontu, není možné s jistotou potvrdit, zda se v některém z odebraných vzorků skutečně nacházela. Jelikož byl výzkum omezen na soubor 12 pacientů, je pravděpodobnost výskytu konkrétní bakterie relativní. Avšak, anaerobní bakterie jsou velice citlivé na prostředí, ve kterém se nacházejí. Výsledky identifikace nemusely vyjít ve prospěch *Porphyromonas gingivalis* i kvůli nevyhovujícímu způsobu odběru nebo nevyhovujícímu způsobu následného transportu – ke kultivaci jsou totiž potřebné živé kolonie a konkrétně bakterie *Prophyromonas gingivalis* je na kultivaci náročná.

### Hypotéza č. 3

*„Domnívám se, že alespoň u 50 % pacientů bude pozitivní nález Streptococcus intermedius nebo Streptococcus gordonii.“*

Hypotéza č. 3 vychází z výsledků taiwanské vědecké studie doktorky Wei z roku 2021. Autoři této studie jako vedlejší zjištění uvádějí nezanedbatelný výskyt bakterií *Streptococcus gordonii* a *Streptococcus intermedius* u pacientů s probíhajícím onemocněním parodontu, s porovnáním se zdravými pacienty. V souvislosti se zmíněným zjištěním studie uvažuje o těchto bakteriích jako o potenciálních biomarkerech pro parodontální onemocnění.<sup>279</sup>

Hypotéza č. 3 byla potvrzena. Výsledky identifikace MALDI-TOF po zpracování vzorků doopravdy ukázaly, že výskyt *Streptococcus gordonii* nebo *Streptococcus intermedius* byly spolehlivě identifikované v 50 %, tedy byly potvrzeny u 6 z 12 pacientů. Lze proto konstatovat, že je možné, že *Streptococcus gordonii* a *Streptococcus intermedius* souvisí s probíhajícím onemocněním parodontu a že je můžeme považovat za potenciální biomarkery probíhajícího parodontálního onemocnění.

---

<sup>279</sup> WEI, Yu-Shan, Yi-Ru CHANG, Yi-Ting TSAI, et al. The distribution of cultivable oral anaerobic microbiota identified by MALDI-TOF MS in healthy subjects and in patients with periodontal disease. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* [online]. 2021, 192 [cit. 2022-04-04]. ISSN 07317085. Dostupné z: doi: 10.1016/j.jpba.2020.113647

Není vyloučeno, že anaerobní kultivace a následná identifikace bakterií pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF je pro identifikaci parodontálních patogenů, které jsou ve velké většině anaerobní bakterie účinná, ale kvůli jednodušším podmínkám při odběru a zpracování se DNA testy stále jeví jako vhodnější volba. Zároveň ale, jelikož doba, technologie a celkové provedení mikrobiologických diagnostických metod jde stále ku předu, není vyloučeno, že by se výzkum mohl v řádu dalších let opakovat, s větším souborem pacientů a s větším množstvím výsledků anaerobní kultivace s identifikací pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF a výsledků DNA testů. K nalezení jednoznačného závěru k této problematice je potřeba dalšího a rozsáhlejšího výzkumu.

## Závěr

Tato bakalářská práce shrnuje destrukční mechanismus nejvýznamnějších parodontálních patogenů na tkáň parodontu a zároveň poukazuje na důležitost mikrobiologického vyšetření, jakožto pomocného vyšetření při stanovení diagnózy v případě onemocnění parodontu.

Jejím cílem bylo ověřit vhodnost kultivace a následné identifikace orálních bakterií pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF, její celkovou úspěšnost a možnosti využití v oboru parodontologie. Hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF je metoda, která pro mikrobiologické laboratoře znamená průlom v diagnostice, ať už se jedná o identifikaci bakterií, nebo kvasinek.

Teoretická část práce popisuje podrobnou anatomii závěsného aparátu zubů, shrnuje základní poznatky o zubním mikrobiálním povlaku a v neposlední řadě se podrobně věnuje mikrobiologii jednotlivých parodontálních onemocnění, mikrobiologii nejvýznamnějších parodontálních patogenů a shrnutí možností mikrobiologické diagnostiky používaných v parodontologii.

Praktická část této bakalářské práce se věnuje odběru vzorků biologického materiálu od pacientů, za účelem jejich mikrobiologické diagnostiky s využitím kultivace a následné identifikace parodontálních patogenů pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF (Microflex, Brüker Daltonics, Germany). Cílem bylo zjistit a potvrdit, zda jsou tyto pomocné diagnostické postupy vhodné na použití v parodontologii. Na konci praktické části je kazuistika, která porovnává výsledky kultivace a identifikace pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF u náhodně vybraného pacienta s výsledky DNA testů se záměrem zjistit, jestli a do jaké míry se výsledky těchto dvou metod shodují.



## Souhrn

Onemocnění parodontu provází pestrá mikroflóra. Za určité klinické projevy jsou zodpovědné určité skupiny bakterií = parodontální patogeny. Důležitý je jejich vysoký počet v místě infekce a účast dalších mikroorganismů, které často potencují jejich patogenní účinek. Pokud po profesionálním mikroinvazivním ošetření a dentální hygieně nedojde ke zlepšení klinického stavu, je vhodné zařadit do léčebného plánu mikrobiologickou diagnostiku, prostřednictvím které lze kontrolovat výsledky, průběh onemocnění a zároveň slouží jako podklad pro nasazení podpůrné antibiotické léčby, která je v parodontologii zásadní.

**Cíl:** Cílem této bakalářské práce je poukázat na důležitost mikrobiologických vyšetření v parodontologii, jakožto pomocných diagnostických postupů. Rovněž má tato práce za cíl ověřit, jestli je kultivace a následná identifikace parodontálních patogenů pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF úspěšným mikrobiologickým diagnostickým postupem a jestli hmotnostní spektrometrie najde uplatnění i v oboru parodontologie.

**Metodika:** V praktické části byl proveden výzkum, zaměřený na odběr vzorků biologického materiálu od pacientů s onemocněním parodontu, a následná kultivace s identifikací pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF.

**Výsledky:** V praktické části bakalářské práce bylo dokázáno a potvrzeno, že pomocí kultivace a následné identifikace pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF je možné verifikovat i parodontální patogeny.

**Závěr:** Mikrobiologická diagnostika je neoddelitelnou součástí řádného vyšetření a následného stanovení léčebného plánu u mnoha parodontologických pacientů. Není možné potvrdit ani vyvrátit spolehlivost kultivace a následné identifikace hmotnostní spektrometrií MALDI-TOF v parodontologii a je nutný další rozsáhlejší výzkum. Bylo prokázáno, že pomocí této technologie je možné anaerobní parodontální patogeny

identifikovat a verifikovat. Při odběru biologického materiálu z parodontálních kapes pacienta je však nutné zohlednit náročné podmínky anaerobních bakterií na atmosféru a transport do mikrobiologické laboratoře.

## Summary

Periodontal disease is accompanied by a variety of microflora and certain groups of bacteria – periodontal pathogens, are responsible for certain clinical manifestations. What is important is their high number at the site of infection and the participation of other microorganisms, which often potentiate their pathogenic effect. If after professional micro-invasive treatment and dental hygiene there is no improvement in the clinical condition, it is advisable to include a microbiological diagnosis in the treatment plan, through which the results, the course of the disease can be controlled, while serving as a basis for the use of supportive antibiotic treatment, which is essential in periodontology.

**Aim:** The bachelor thesis aims to highlight the importance of microbiological examination methods in periodontology, as auxiliary diagnostic procedures. This work also aims to demonstrate if anaerobic culture and subsequent identification of periodontal pathogens using MALDI-TOF mass spectrometry is a successful microbiological diagnostic procedure and if mass spectrometry also finds application in the field of periodontology.

**Methodology:** In the practical part, research was conducted by sampling biological material from patients with periodontal disease, followed by anaerobic cultivation and identification using mass spectrometry MALDI-TOF.

**Results:** In the practical section of the final thesis, it was proven and confirmed that periodontal pathogens can be verified by anaerobic cultivation and subsequent identification using MALDI-TOF mass spectrometry.

**Conclusion:** Microbiological diagnosis is an inseparable part of a proper examination and subsequent determination of a treatment plan for many periodontological patients. It is not possible to confirm or disprove the reliability of anaerobic cultivation and subsequent identification by mass

spectrometry MALDI-TOF in periodontology, and more extensive research is needed. What has been reliably proven is, that anaerobic periodontal pathogens can be identified and verified using this technology. However, when taking biological material from the patient's periodontal pockets, it is necessary to consider the challenging conditions and needs of the anaerobic bacteria, like the atmosphere and the transport to the microbiological laboratory.

## Seznam použité literatury

- BEDNÁŘ, Marek, Věra FRAŇKOVÁ, Jiří SCHINDLER, Andrej SOUČEK a Jiří VÁVRA. *Lékařská mikrobiologie: Bakteriologie Virologie Parazitologie*. Praha: Marvil, 1996
- BRUKER DALTONIK GMBH, MALDI Biotyper 3.0 uživatelský manuál [online]. Bremen, Německo: Bruker Daltonik, 2011 [cit. 2023-04-28].
- DOUBRAVOVÁ, Anna. *Tvorba biofilmu u anaerobních bakterií*. Pardubice, 2018. bakalářská práce. (Bc.) Univerzita Pardubice. Fakulta chemicko-technologická.
- DŘÍZHAL, Ivo a Radovan SLEZÁK. *Základy parodontologie*. Praha: Karolinum, 1993. ISBN 80-7066-811-3.
- EICKHOLZ, Peter. *Parodontologie od A do Z: základy pro praxi*. Praha: Quintessenz, 2013. ISBN 978-80-86979-10-6.
- HAN, Yiping W. Fusobacterium nucleatum: a commensal-turned pathogen. *Current Opinion in Microbiology* [online]. 2015, **23**(1), 141-147 [cit. 2022-04-18]. Dostupné z: doi: 10.1016/j.mib.2014.11.013.
- HELLWIG, Elmar, Thomas ATTIN a Joachim KLIMEK. *Záchovná stomatologie a parodontologie*. Praha: Grada, 2003. ISBN 80-247-0311-4.
- IHARA, Hideaki, Tadashi MIURA, Tetsuo Kato TETSUO KATO, Kazuyuki ISHIHARA, Taneaki NAKAGAWA, Satoru YAMADA a Katsuji OKUDA. Detection of Campylobacter rectus in periodontitis sites by monoclonal antibodies. *Journal of Periodontal research* [online]. 2003, **38**(1), 64-72 [cit. 2022-04-18]. Dostupné z: doi:10.1034/j.1600-0765.2003.01627.x.
- JERVØE-STORM, Pia-Merete, Hazem ALAHDAB, Max KOLTZSCHER, Rolf FIMMERS a Søren JEPSEN. Comparison of curet and paper point sampling of subgingival bacteria as analyzed by real-time polymerase chain reaction. *Journal of Periodontology* [online]. 2007, **78**(5), 909-917 [cit. 2022-04-18]. Dostupné z: doi:10.1902/jop.2007.060218.
- KILIAN, Jan. *Prevence ve stomatologii*. 2. rozš. vyd. Praha: Galén, 1999. ISBN 80-7262-022-3.

KLEPÁČEK, Ivo. *Klinická anatomie ve stomatologii*. Praha: Grada, 2001. ISBN 80-7169-770-2.

KOVAL'OVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena IV. Základy orální medicíny – Biologie - Imunologie - Parodont*. Prešov: Prešovská univerzita v Prešove, 2012. ISBN 978-80-555-0567-1.

KOVAL'OVÁ, Eva a Zuzana ŤAPAJOVÁ. *Parodontologie I*. Prešov: Prešovská univerzita v Prešove, 2006. ISBN 80-8086-518-5.

LINDHE, Jan. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry. 5th edition*. Oxford: Blackwell Munksgaard, 2008. ISBN 978-1-4051-6099-5.

LIMEBACK, Hardy. *Preventivní stomatologie*. Praha: Grada Publishing, 2017. ISBN 978-80-271-0094-1.

MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Creative Proteomics* [online]. New York, USA: Creative Proteomics, 2022 [cit. 2022-04-18]. Dostupné z: <https://www.creative-proteomics.com/technology/maldi-tof-mass-spectrometry.htm>

MANOHAR, Krishna. *Tannerella forsythia*. *Microbe Wiki* [online]. Gambier, Ohio: Kenyon College Department of Biology, 2016 [cit. 2022-04-18]. Dostupné z: [https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Tannerella\\_forsythia](https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Tannerella_forsythia)

MATOUŠKOVÁ, Adéla. *Využití MALDI-TOF spektrometrie ve výuce studentů učitelství chemie*. Brno, 2017. Bakalářská práce (Bc.). Masarykova Univerzita v Brně, Pedagogická fakulta [cit. 2023-02-03]. Dostupné z: <https://is.muni.cz/th/qyox6/bakalarska-prace-matouskova.pdf>

MAZÁNEK, Jiří. *Stomatologie pro dentální hygienistky a zubní instrumentářky*. Praha: Grada Publishing, 2015. ISBN 978-80-247-4865-8.

MAZÁNEK, Jiří. *Stomatologie: minimum pro praxi*. Praha: Triton, 1999. ISBN 80-7254-032-7.

MELTER, Oto a Annika MALMGREN. *Principy a praktika lékařské mikrobiologie*. Praha: Karolinum, 2014. ISBN 978-80-246-2414-3.

MINČÍK, Jozef. *Kariologie*. Praha: StomaTeam, 2014, s.40 ISBN 978-80-904377-2-2.

MUTSCHELKNAUSS, Ralf E. a Peter DIEDRICH. *Praktická parodontologie: klinické postupy*. Praha: Quintessenz, 2002. Quintessenz bibliothek. ISBN 80-902118-8-7.

NEWMAN, Michael G., Henry H. TAKEI a Perry R. KLOKKEVOLD, CARRANZA, Fermin A., ed. *Carranza's clinical periodontology*. 12th edition. Philadelphia, Pa.: Elsevier Saunders, 2015. ISBN 978-0-323-18824-1.

PATEL, Neena. *Treponema denticola*. *Microbe Wiki* [online]. Gambier, Ohio: Kenyon College Department of Biology, 2011 [cit. 2022-04-18]. Dostupné z: [https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Treponema\\_denticola](https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Treponema_denticola)

PAUL, Debasish, Avinash KUMAR, Akshada GAJBHIYE, Manas K. SANTRA a Rapole SRIKANTH. Mass spectrometry-based proteomics in molecular diagnostics: discovery of cancer biomarkers using tissue culture. *BioMed Research International* [online]. Hindawi Publishing Corporation, 2013, 16 [cit. 2023-04-26]. Dostupné z: doi:10.1155/2013/783131

REDDY, Shantipriya. *Essentials of Clinical Periodontology and Periodontics*. Third edition. New Delhi: Jaypeed Brothers Medical Publishers, 2011. ISBN 978-93-5025-037-2.

SLEZÁK, Radovan. *Praktická parodontologie*. Praha: Quintessenz, 1995. Quintessenz bibliothek. ISBN 80-901024-8-4.

SLEZÁK, Radovan. *Preklinická parodontologie*. Hradec Králové: Nucleus HK, 2007. Edice zubního lékařství (Nucleus HK). ISBN 978-80-87009-18-5.

SOCRANSKY, Sigmund S. a Anne D. HAFFAJEE. Periodontal microbial ecology. *Periodontology 2000* [online]. 2005, **38**(1), 135-187 [cit. 2022-03-30]. ISSN 0906-6713. Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-0757.2005.00107.x

STANĚK, Libor a Filip PRUSÍK. Využití a přínos sofistikované metody MALDI-TOF. Synlabianer: Odborný časopis pro lékaře [online]. Praha, 2020, 15-16 [cit. 2023-02-06]. Dostupné z: <https://synlabianer.cz/wp-content/uploads/2020/02/20006TM-SYNLAB-synlabianer-012020-07.pdf>

STEJSKALOVÁ, Jitka. *Konzervační zubní lékařství*. 2. vyd. Praha: Galén, 2008. Zubní lékařství. ISBN 978-80-7262-540-6.

STRAKA, Michal. *Etiopatogeneze parodontitid a jejich vztah k systémovým onemocněním*. Přeložil David MONDOK. Praha: StomaTeam, 2016. ISBN 978-80-904377-3-9.

ŠAFRÁNKOVÁ, Renáta. Využití MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie i dalších metod při identifikaci mikroorganismů. Hradec Králové, 2021. Autoreferát disertační práce. Univerzita Karlova v Hradci Králové, Lékařská fakulta. [cit. 2023-02-03]. Dostupné z: <https://dspace.cuni.cz/bitstream/handle/20.500.11956/128278/140093551.pdf?sequence=4&isAllowed=y>.

ŠEDÝ, Jiří a René FOLTÁN. *Klinická anatomie zubů a čelistí*. Praha: Triton, 2009. ISBN 978-80-7387-312-7.

ŠEDÝ, Jiří. *Kompendium stomatologie*. Praha: Stanislav Juhaňák – Triton, 2016. ISBN 978-80-7553-220-6.

ŠKACH, Miroslav. *Základy parodontologie: Učebnice pro lékařské fakulty*. Praha: Avicenum, 1984. ISBN chybí

ŠNAJDROVÁ, Martina. *Identifikace vláknitých hub pomocí MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie*. České Budějovice, 2014. Bakalářská práce. (Bc.). Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích. Zdravotně sociální fakulta.

URBAN, František. *Stomatologie*. Druhé přepracované a doplněné vydání. Praha: Avicenum Zdravotnické nakladatelství, 1976.

VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie – vyšetřovací metody*. Brno: Neptun, 2010. ISBN 978-80-86850-04-8.

VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.



VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná*. Brno: Neptun, 2001. ISBN 80-902896-2-2.

VOTAVA, Miroslav, Zdeněk BROUKAL a Jiří VANĚK. *Lékařská mikrobiologie pro zubní lékaře*. Brno: Neptun, 2007. ISBN 978-80-86850-03-0.

WALLACE MACFARLANE, Thomas a Lakshman P. SAMARANAYAKE. *Clinical Oral Microbiology*. Elsevier Science, 2014. ISBN 978-14-831-8363-3.

WEI, Yu-Shan, Yi-Ru CHANG, Yi-Ting TSAI, et al. The distribution of cultivable oral anaerobic microbiota identified by MALDI-TOF MS in healthy subjects and in patients with periodontal disease. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* [online]. 2021, **192** [cit. 2022-04-04]. ISSN 07317085. Dostupné z: doi: 10.1016/j.jpba.2020.113647

## Seznam obrázků, tabulek a grafů

### Seznam obrázků

Obrázek 1 – Schematické znázornění anatomie parodontu .....	11
Obrázek 2 – Schematické znázornění stavby parodontu .....	12
Obrázek 3 – Vnitřní struktura gingivy na řezu (schéma).....	15
Obrázek 4 – Schematické znázornění anatomie gingivy .....	17
Obrázek 5 – Intraalveolární periodontální vazy a jejich rozmístění (schéma).....	1
9 Obrázek 6 – Funkční průběh vláken marginální a připojené gingivy na sagitálním řezu .....	20
Obrázek 7 – Struktura gingiválních vláken na horizontálním řezu.....	20
Obrázek 8 .....	24
Obrázek 9 – Schematické znázornění principu technologie MALDI-TOF MS .....	68
Obrázek 10 .....	72
Obrázek 11 – schéma provedeného křížového roztěru .....	72
Obrázek 12 – AnaeroGen™ 3,5L sáčky pro vytvoření anaerobního prostředí (Thermo Scientific) .....	74
Obrázek 13 – Anaerostat s naočkovanými agarovými plotnami .....	74
Obrázek 14 – inkubátor s atmosférou 5% CO <sub>2</sub> .....	74
Obrázek 15 – agarové plotny s vykultivovanými bakteriálními koloniemi .	75
Obrázek 16 .....	75
Obrázek 17 – příprava pomůcek před identifikací vykultivovaných bakteriálních kolonií .....	76
Obrázek 18 – odebrání jednotlivých kolonií .....	77
Obrázek 19 – nanášení vzorků biologického materiálu jednotlivých bakteriálních kolonií na políčka kovového terčiku Micro SCOUT .....	77
Obrázek 20 – MALDI-TOF hmotnostní spektrometr microflex™ series (Bruker).....	78
Obrázek 21 – laboratorní zpráva s výsledky DNA testů VariOr® Dento Plus pacienta č. 12	
Graf 12 – identifikované bakterie a jejich incidence ...	82

## **Seznam tabulek**

Tabulka 1 – Hodnocení spolehlivosti identifikace .....	65
Tabulka 2 - seznam identifikovaných orálních bakterií .....	79
Tabulka 3 – seznam identifikovaných orálních bakterií u pacienta č.12...	82

## **Seznam grafů**

Graf 1 – identifikované bakterie a jejich incidence.....	80
Graf 2 – identifikované bakterie a jejich incidence.....	80
Graf 3 – identifikované bakterie a jejich incidence.....	81
Graf 4 – identifikované bakterie a jejich incidence.....	82

## **Seznam příloh**

Příloha 1: Přehled výhod a nevýhod různých diagnostických metod.....	101
Příloha 2: Informovaný souhlas .....	102
Příloha 3: Výsledky identifikace MALDI-TOF MS .....	103

# Přílohy

Příloha 1: Přehled výhod a nevýhod různých diagnostických metod

Výhody	Nevýhody
<b>Mikroskopie v zástině/ fázový kontrast</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>– průkaz spirochet</li> <li>– vhodná pro motivaci pacienta</li> <li>– proveditelná v ordinaci</li> <li>– výsledek rychle k dispozici (min.)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– bez rozlišení druhů</li> <li>– bakterie musí být živé</li> <li>– použitelnost vzorku časově omezena (max.1 hodina)</li> </ul>
<b>Kultivace</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>– referenční metoda</li> <li>– velmi široké spektrum</li> <li>– antibiogram, možné zjištění rezistence</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– finančně nákladná a pracná</li> <li>– časově náročná (1–4 týdny)</li> <li>– nutné živé bakterie</li> <li>– náročný transport</li> <li>– některé druhy nejsou kultivovatelné</li> <li>– nutná je laboratoř</li> <li>– často nevalná citlivost (silně závisí na metodě)</li> </ul>
<b>Průkaz reakce antigen/protilátka (např. ELISA)</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>– zjistitelné specifické bakterie</li> <li>– citlivost (průkaznost 100–103 buněk)</li> <li>– možný test „chair-side“</li> <li>– výsledek rychle k dispozici (15 min.)</li> <li>– relativně finančně nenáročná</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– eventuálně křížová reakce potom klesá specifita</li> </ul>
<b>DNK sondy</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>– průkaz specifických bakterií</li> <li>– velmi citlivé (průkaznost cca 100 buněk)</li> <li>– výsledek k dispozici v několika dnech</li> <li>– relativně levné</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– nutná laboratoř, eventuálně křížová reakce, pak klesá specifita</li> </ul>
<b>Polymerázová řetězová reakce</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>– průkaz specifických bakterií</li> <li>– vysoká citlivost (průkaznost &lt;100 buněk)</li> <li>– výsledek k dispozici během několika dní</li> <li>– relativně levná</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– nutná laboratoř</li> <li>– náchylnost na rušivé vlivy</li> </ul>
<b>Enzymatické testy</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>– možný „chair side test“</li> <li>– výsledek rychle k dispozici (15 min.)</li> <li>– finančně výhodné</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– často nižší specifita (průkaznost: 104 buněk)</li> </ul>
<p>U údajů týkajících se hranic průkaznosti a časů vyhodnocení se jedná o hrubý odhad.</p>	

Zdroj: MUTSCHELKNAUSS, Ralf E. Praktická parodontologie: klinické postupy. s.182

## Informovaný souhlas s ošetřením a zveřejněním údajů



Souhlasím s ošetřením Dagmarou Cigánkovou, studentkou 3. ročníku oboru Dentální hygienistka na 3. lékařské fakultě Univerzity Karlovy. Souhlasím s odběrem biologického materiálu pro výzkumní část bakalářské práce na téma Parodontopatogenní bakterie a jejich vztah k onemocnění parodontu. Dávám souhlas s anonymním zveřejněním údajů, které jsem studentce dobrovolně poskytl/a.

.....

Jméno pacienta

.....

Datum narození

V Praze dne .....

.....

Podpis pacienta

Příloha 3: Výsledky identifikace MALDI-TOF MS

## MALDI Biotyper Classification Results

**Bruker Logo**

### Project Info:

Project Name: 211115-0915-101166  
 Project Description:  
 Project Owner: Admin@FLEX-PC  
 Project Creation Date/Time: 2021-11-15T09:17:16.657  
 Project Analyte Count: 13  
 Project Type: Development  
 QC: not present  
 QC Position:

### Result Overview

Organism names which are in blue and underlined are linked to the matching hint table below.

Analyte Name	Analyte ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second best match)	Score Value
<a href="#"><u>G10</u></a> (+) (B)	1/1	Streptococcus sanguinis	<a href="#"><u>1.88</u></a>	Streptococcus sanguinis	<a href="#"><u>1.85</u></a>
<a href="#"><u>G11</u></a> (-) (C)	1/2	not reliable identification	<a href="#"><u>1.44</u></a>	not reliable identification	<a href="#"><u>1.34</u></a>
<a href="#"><u>G12</u></a> (+) (B)	1/3	Peptostreptococcus stomatis	<a href="#"><u>1.71</u></a>	not reliable identification	<a href="#"><u>1.64</u></a>
<a href="#"><u>H1</u></a> (-) (C)	1/4	not reliable identification	<a href="#"><u>1.58</u></a>	not reliable identification	<a href="#"><u>1.52</u></a>
<a href="#"><u>H2</u></a> (-) (C)	2/1	not reliable identification	<a href="#"><u>1.51</u></a>	not reliable identification	<a href="#"><u>1.42</u></a>
<a href="#"><u>H3</u></a> (-) (C)	2/2	not reliable identification	<a href="#"><u>1.64</u></a>	not reliable identification	<a href="#"><u>1.57</u></a>
<a href="#"><u>H4</u></a> (-) (C)	2/3	not reliable identification	<a href="#"><u>1.57</u></a>	not reliable identification	<a href="#"><u>1.51</u></a>
<a href="#"><u>H5</u></a> (+++)(A)	2/4	Streptococcus parasanguinis	<a href="#"><u>2.36</u></a>	Streptococcus parasanguinis	<a href="#"><u>2.3</u></a>
<a href="#"><u>H6</u></a> (+) (B)	3/1	Actinomyces oris	<a href="#"><u>1.73</u></a>	Actinomyces oris	<a href="#"><u>1.71</u></a>
<a href="#"><u>H7</u></a> (++) (A)	3/2	Prevotella intermedia	<a href="#"><u>2.12</u></a>	Prevotella intermedia	<a href="#"><u>1.96</u></a>
<a href="#"><u>H8</u></a> (++) (A)	3/3	Eubacterium yurii	<a href="#"><u>2.12</u></a>	Eubacterium yurii	<a href="#"><u>1.95</u></a>
<a href="#"><u>H9</u></a> (-) (C)	3/4	not reliable identification	<a href="#"><u>1.39</u></a>	not reliable identification	<a href="#"><u>1.33</u></a>
<a href="#"><u>H10</u></a> (-) (C)	3/5	not reliable identification	<a href="#"><u>1.66</u></a>	not reliable identification	<a href="#"><u>1.58</u></a>

# MALDI Biotyper Classification Results

Bruker Logo

## Project Info:

Project Name: 211113-1148-101166  
 Project Description:  
 Project Owner: Admin@FLEX-PC  
 Project Creation Date/Time: 2021-11-13T11:51:12.585  
 Project Analyte Count: 22  
 Project Type: Development  
 QC: not present  
 QC Position:

## Result Overview

Organism names which are in blue and underlined are linked to the matching hint table below.

Analyte Name	Analyte ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second best match)	Score Value
<a href="#">A1</a> (-) (C)	DH1 /1a	not reliable identification	1.29	not reliable identification	1.15
<a href="#">A2</a> (++) (A)	1c	Streptococcus sanguinis	2.13	Streptococcus sanguinis	2.09
<a href="#">A3</a> (++) (A)	2c	Neisseria elongata	2.2	Neisseria elongata	2.17
<a href="#">A4</a> (-) (C)	3c	no peaks found	∞.0	no peaks found	∞.0
<a href="#">A5</a> (+) (C)	1n	Prevotella buccae	1.94	<a href="#">Veillonella parvula</a>	1.77
<a href="#">A6</a> (++) (B)	DH2/1a	Streptococcus salivarius	2.17	Streptococcus vestibularis	2.09
<a href="#">A7</a> (++) (A)	2a	Streptococcus parasanguinis	2.1	Streptococcus parasanguinis	2.02
<a href="#">A8</a> (-) (C)	1c	no peaks found	∞.0	no peaks found	∞.0
<a href="#">A9</a> (+++)(A)	2c	Streptococcus parasanguinis	2.3	Streptococcus parasanguinis	2.21
<a href="#">A10</a> (-) (C)	3c	no peaks found	∞.0	no peaks found	∞.0
<a href="#">A11</a> (++) (A)	1n	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	2.11	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	2.08
<a href="#">A12</a> (-) (C)	2n	no peaks found	∞.0	no peaks found	∞.0
<a href="#">B1</a> (-) (C)	3n	not reliable identification	1.25	not reliable identification	1.25
<a href="#">B2</a> (++) (B)	DH3/1a	<a href="#">Enterobacter asburiae</a>	2.14	<a href="#">Enterobacter cloacae</a>	2.12



<u>B3</u> (-) (C)	2a	no peaks found	≤ 0	no peaks found	≤ 0
<u>B4</u> (-) (C)	3a	not reliable identification	1.27	not reliable identification	1.25
<u>B5</u> (++) (B)	4a	Neisseria subflava	2.03	Neisseria perflava	2.02
<u>B6</u> (-) (C)	1c	no peaks found	≤ 0	no peaks found	≤ 0
<u>B7</u> (++) (B)	2c	Neisseria subflava	2.11	Neisseria subflava	2.1
<u>B8</u> (+) (B)	3c	Neisseria flavescens	1.76	Neisseria subflava	1.7
<u>B9</u> (++) (A)	1n	Prevotella intermedia	2.18	Prevotella intermedia	2.1
<u>B10</u> (+) (B)	2n	Eubacterium yurii	1.92	Eubacterium yurii	1.79

# MALDI Biotyper Classification Results

**Bruker Logo**

## Project Info:

Project Name: 220111-1035-101166  
 Project Description:  
 Project Owner: Admin@FLEX-PC  
 Project Creation Date/Time: 2022-01-11T10:37:41.239  
 Project Analyte Count: 25  
 Project Type: Development  
 QC: not present  
 QC Position:

## Result Overview

Organism names which are in blue and underlined are linked to the matching hint table below.

Analyte Name	Analyte ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second best match)	Score Value
<a href="#">A9</a> (++) (B)	A4	Neisseria subflava	<a href="#">2.2</a>	Neisseria perflava	<a href="#">2.15</a>
<a href="#">A10</a> (++) (B)	B4	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	<a href="#">2.17</a>	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	<a href="#">2.14</a>
<a href="#">A11</a> (++) (A)	C4	Streptococcus anginosus	<a href="#">2.2</a>	Streptococcus anginosus	<a href="#">2.04</a>
<a href="#">A12</a> (++) (B)	D4	Neisseria subflava	<a href="#">2.17</a>	Neisseria subflava	<a href="#">2.16</a>
<a href="#">B1</a> (++) (A)	E4	Streptococcus anginosus	<a href="#">2.23</a>	Streptococcus anginosus	<a href="#">2.09</a>
<a href="#">B2</a> (+++ (A)	F4-A	Prevotella buccae	<a href="#">2.31</a>	Prevotella buccae	<a href="#">2.26</a>
<a href="#">B3</a> (-) (C)	G4-A	not reliable identification	<a href="#">1.31</a>	not reliable identification	<a href="#">1.28</a>
<a href="#">B4</a> (-) (C)	H4-A	not reliable identification	<a href="#">1.35</a>	not reliable identification	<a href="#">1.24</a>
<a href="#">B5</a> (-) (C)	I4-A	not reliable identification	<a href="#">1.63</a>	not reliable identification	<a href="#">1.61</a>
<a href="#">B6</a> (+++ (A)	J4-A	Streptococcus intermedius	<a href="#">2.42</a>	Streptococcus intermedius	<a href="#">2.34</a>
<a href="#">B7</a> (-) (C)	A5	not reliable identification	<a href="#">1.18</a>	not reliable identification	<a href="#">1.17</a>
<a href="#">B8</a> (-) (C)	B5	not reliable identification	<a href="#">1.57</a>	not reliable identification	<a href="#">1.55</a>
<a href="#">B9</a> (+) (B)	C5	Streptococcus sobrinus	<a href="#">1.92</a>	Streptococcus sobrinus	<a href="#">1.83</a>
<a href="#">B10</a> (++) (A)	D5	Streptococcus sobrinus	<a href="#">2.24</a>	Streptococcus sobrinus	<a href="#">2.24</a>

<u>B11</u> (-)(C)	E5	not reliable identification	1.52	not reliable identification	1.45
<u>B12</u> (++)(A)	F5	Rothia dentocariosa	2.04	Rothia dentocariosa	2.01
<u>C1</u> (-)(C)	G5	not reliable identification	1.32	not reliable identification	1.3
<u>C2</u> (+++)(A)	H5	Streptococcus sobrinus	2.37	Streptococcus sobrinus	2.26
<u>C3</u> (-)(C)	I5-A	no peaks found	≤ 0	no peaks found	≤ 0
<u>C4</u> (-)(C)	J5-A	not reliable identification	1.52	not reliable identification	1.42
<u>C5</u> (+)(B)	K5-A	<a href="#">Fusobacterium nucleatum</a>	1.72	not reliable identification	1.53
<u>C6</u> (++)(C)	L5-A	Streptococcus sobrinus	2.15	Streptococcus sobrinus	2.13
<u>C7</u> (+)(B)	M5-A	Prevotella dentalis	1.71	not reliable identification	1.33
<u>C8</u> (-)(C)	K4-A	not reliable identification	1.68	not reliable identification	1.62
<u>C9</u> (-)(C)	N5-A	not reliable identification	1.59	not reliable identification	1.58

# MALDI Biotyper Classification Results

**Bruker Logo**

## Project Info:

Project Name: 220117-0940-101166  
 Project Description:  
 Project Owner: Admin@FLEX-PC  
 Project Creation Date/Time: 2022-01-17T09:43:31.313  
 Project Analyte Count: 27  
 Project Type: Development  
 QC: not present  
 QC Position:

## Result Overview

Organism names which are in blue and underlined are linked to the matching hint table below.

Analyte Name	Analyte ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second best match)	Score Value
<a href="#">A1</a> (+++)(B)	8/1/1	Neisseria subflava	2.33	Neisseria subflava	2.32
<a href="#">A2</a> (-)(C)	8/1/2	no peaks found	<0	no peaks found	<0
<a href="#">A3</a> (+++)(B)	8/1/3	Neisseria subflava	2.31	Neisseria subflava	2.28
<a href="#">A4</a> (++)(A)	8/1/4	Streptococcus gordonii	2.04	Streptococcus gordonii	1.89
<a href="#">A5</a> (++)(B)	7/1/5	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	2.2	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	2.11
<a href="#">A6</a> (-)(C)	7/1/6	not reliable identification	1.68	not reliable identification	1.53
<a href="#">A7</a> (+++)(B)	7/1/7	Neisseria subflava	2.35	Neisseria subflava	2.34
<a href="#">A8</a> (++)(A)	7/2/8	<a href="#">Veillonella parvula</a>	2.12	<a href="#">Veillonella parvula</a>	2.11
<a href="#">A9</a> (+)(B)	7/2/9	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	1.72	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	1.7
<a href="#">A10</a> (-)(C)	7/2/10	not reliable identification	1.58	not reliable identification	1.52
<a href="#">A11</a> (+)(B)	7/2/11	Streptococcus intermedius	1.81	Streptococcus intermedius	1.71
<a href="#">A12</a> (++)(A)	7/2/12	Streptococcus anginosus	2.27	Streptococcus anginosus	2.17
<a href="#">B1</a> (-)(C)	8/2/1	not reliable identification	1.17	not reliable identification	1.16
<a href="#">B2</a> (++)(B)	8/2/2	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	2.06	<a href="#">Streptococcus pneumoniae</a>	2.03

<u>B3</u> (++) (C)	8/2/3	Prevotella intermedia	2	Prevotella intermedia	1.92
<u>B4</u> (++) (A)	8/2/4	Prevotella intermedia	2.14	Prevotella intermedia	2.11
<u>B5</u> (-) (C)	7/2/5	not reliable identification	1.67	not reliable identification	1.58
<u>B6</u> (++) (A)	6/1/6	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	2.09	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	2.07
<u>B7</u> (-) (C)	6/1/7	not reliable identification	1.35	not reliable identification	1.29
<u>B8</u> (+) (B)	6/1/8	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	1.94	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	1.94
<u>B9</u> (-) (C)	6/1/9	no peaks found	≤ 0	no peaks found	≤ 0
<u>B10</u> (+) (B)	6/1/10	<a href="#">Actinomyces timonensis</a>	1.7	not reliable identification	1.18
<u>B11</u> (-) (C)	6/2/11	not reliable identification	1.34	not reliable identification	1.23
<u>B12</u> (-) (C)	6/2/12	not reliable identification	1.53	not reliable identification	1.44
<u>C1</u> (-) (C)	7/1/1	not reliable identification	1.51	not reliable identification	1.48
<u>C2</u> (+) (B)	6/2/2	Streptococcus gordonii	1.96	Streptococcus gordonii	1.91
<u>C3</u> (++) (A)	6/2/3	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	2.04	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	1.99

# MALDI Biotyper Classification Results

**Bruker Logo**

## Project Info:

Project Name: 220124-0946-101166  
 Project Description:  
 Project Owner: Admin@FLEX-PC  
 Project Creation Date/Time: 2022-01-24T09:49:04.593  
 Project Analyte Count: 26  
 Project Type: Development  
 QC: not present  
 QC Position:

## Result Overview

Organism names which are in blue and underlined are linked to the matching hint table below.

Analyte Name	Analyte ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second best match)	Score Value
<a href="#">E6</a> (+) (B)	9/1/1	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	1.99	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	1.97
<a href="#">E7</a> (+) (B)	9/1/2	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	1.88	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	1.87
<a href="#">E8</a> (++) (B)	9/1/3	Neisseria subflava	2.1	Neisseria flavescens	2.06
<a href="#">E9</a> (++) (A)	9/1/4	Staphylococcus epidermidis	2.13	Staphylococcus epidermidis	2.06
<a href="#">E10</a> (+) (B)	9/2/1	Streptococcus gordonii	1.77	Streptococcus gordonii	1.73
<a href="#">E11</a> (+) (B)	9/2/2	<a href="#">Veillonella parvula</a>	1.71	not reliable identification	1.63
<a href="#">E12</a> (+) (B)	9/2/3	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	1.98	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	1.98
<a href="#">E1</a> (++) (A)	9/2/4	Streptococcus constellatus	2	Streptococcus constellatus	1.99
<a href="#">E2</a> (+) (B)	9/2/5	<a href="#">Veillonella parvula</a>	1.73	not reliable identification	1.58
<a href="#">E3</a> (++) (B)	10/1/1	<a href="#">Streptococcus mitis</a>	2.11	<a href="#">Streptococcus pneumoniae</a>	2.07
<a href="#">E4</a> (++) (A)	10/1/2	Neisseria macacae	2.11	Neisseria lactamica	1.9
<a href="#">E5</a> (++) (A)	10/1/3	Neisseria subflava	2.12	Neisseria subflava	2
<a href="#">E6</a> (++) (A)	10/2/1	Streptococcus gordonii	2.05	Streptococcus gordonii	2.04
<a href="#">E7</a> (+) (B)	10/2/2	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	1.94	<a href="#">Streptococcus mitis</a>	1.93

<u>F8</u> (++) (A)	10/2/3	Streptococcus gordonii	2.09	Streptococcus gordonii	2.05
<u>F9</u> (-) (C)	10/2/4	not reliable identification	1.62	not reliable identification	1.52
<u>F10</u> (+) (B)	10/2/5	Streptococcus gordonii	1.93	Streptococcus gordonii	1.88
<u>F11</u> (-) (C)	11/1/1	not reliable identification	1.6	not reliable identification	1.52
<u>F12</u> (+++)(A)	11/1/2	Pseudomonas aeruginosa	2.37	Pseudomonas aeruginosa	2.16
<u>G1</u> (++) (A)	11/1/3/a	Streptococcus anginosus	2.03	Streptococcus anginosus	2.03
<u>G2</u> (++) (A)	11/1/3/b	Streptococcus anginosus	2.16	Streptococcus anginosus	2.12
<u>G3</u> (++) (A)	11/2/1	Streptococcus anginosus	2.19	Streptococcus anginosus	2.08
<u>G4</u> (++) (A)	11/1/4	Neisseria elongata	2.1	Neisseria elongata	1.91
<u>G5</u> (++) (B)	11/2/2	<u>Streptococcus oralis</u>	2.17	<u>Streptococcus oralis</u>	2.12
<u>G6</u> (+++)(A)	11/2/3	Prevotella denticola	2.41	Prevotella denticola	2.36
<u>G7</u> (++) (A)	11/2/4	Actinomyces naeslundii	2.02	Actinomyces naeslundii	1.99

# MALDI Biotyper Classification Results

**Bruker Logo**

## Project Info:

Project Name: 220307-0900-101166  
 Project Description:  
 Project Owner: Admin@FLEX-PC  
 Project Creation Date/Time: 2022-03-07T09:05:40.849  
 Project Analyte Count: 23  
 Project Type: Development  
 QC: not present  
 QC Position:

## Result Overview

Organism names which are in blue and underlined are linked to the matching hint table below.

Analyte Name	Analyte ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second best match)	Score Value
<u>D7</u> (-) (C)	X1/1/1	no peaks found	-0.0	no peaks found	-0.0
<u>D8</u> (+) (C)	X1/1/2	Gemella haemolysans	1.89	Gemella haemolysans	1.86
<u>D9</u> (+) (B)	X2/1/1	<u>Streptococcus mitis</u>	1.82	<u>Streptococcus mitis</u>	1.82
<u>D10</u> (-) (C)	X3/1/1	no peaks found	-0.0	no peaks found	-0.0
<u>D11</u> (++) (A)	X3/1/2	Streptococcus anginosus	2.12	Streptococcus anginosus	2.01
<u>D12</u> (++) (A)	X3/1/3	Streptococcus anginosus	2.05	Streptococcus anginosus	2.03
<u>E1</u> (++) (A)	X4/1/1	Staphylococcus epidermidis	2.11	Staphylococcus epidermidis	1.98
<u>E2</u> (++) (A)	X1/2/1	<u>Streptococcus oralis</u>	2.08	<u>Streptococcus oralis</u>	2.02
<u>E3</u> (+) (B)	X1/2/2	Streptococcus anginosus	1.96	Streptococcus anginosus	1.96
<u>E4</u> (++) (A)	X1/2/3	<u>Streptococcus oralis</u>	2.04	<u>Streptococcus mitis</u>	1.9
<u>E5</u> (++) (A)	X2/2/1	<u>Streptococcus oralis</u>	2.14	<u>Streptococcus oralis</u>	2.12
<u>E6</u> (++) (A)	X2/2/2	Bifidobacterium dentium	2.28	Bifidobacterium dentium	2.2
<u>E7</u> (++) (B)	X3/2/1	<u>Veillonella rogosae</u>	2.28	<u>Veillonella parvula</u>	2.25
<u>E8</u> (++) (A)	X3/2/2	<u>Streptococcus oralis</u>	2.06	<u>Streptococcus oralis</u>	2.06



<a href="#">E9</a> (++) (A)	X3/2/3	Streptococcus anginosus	<a href="#">2.13</a>	Streptococcus anginosus	<a href="#">2.1</a>
<a href="#">E10</a> (++) (A)	X4/2/1	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	<a href="#">2.14</a>	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	<a href="#">2.14</a>
<a href="#">E11</a> (+++)(A)	X4/2/2	Streptococcus intermedius	<a href="#">2.34</a>	Streptococcus intermedius	<a href="#">2.32</a>
<a href="#">E12</a> (++) (A)	X4/2/3	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	<a href="#">2.26</a>	<a href="#">Streptococcus oralis</a>	<a href="#">2.22</a>
<a href="#">F1</a> (++) (A)	X4/2/4	Streptococcus intermedius	<a href="#">2.28</a>	Streptococcus intermedius	<a href="#">2.23</a>
<a href="#">F2</a> (++) (A)	X4/2/5	Streptococcus gordonii	<a href="#">2.06</a>	Streptococcus gordonii	<a href="#">2</a>
<a href="#">F3</a> (+++)(A)	X4/2/6	<a href="#">Veillonella parvula</a>	<a href="#">2.31</a>	<a href="#">Veillonella parvula</a>	<a href="#">2.19</a>
<a href="#">F4</a> (+++)(B)	X4/2/7	Streptococcus intermedius	<a href="#">2.46</a>	Streptococcus intermedius	<a href="#">2.45</a>
<a href="#">F5</a> (+++)(A)	X4/2/8	Streptococcus intermedius	<a href="#">2.31</a>	Streptococcus intermedius	<a href="#">2.29</a>