

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

Bakteriální biofilmy v ústní dutině psů

Bakalářská práce

Autor práce: Anna Dudková

Chov zájmových zvířat

Specializace: Kynologie

Vedoucí práce: Ing. Lucie Malíková, Ph.D.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Bakteriální biofilmy v ústní dutině psů" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne _____

Poděkování

V první řadě bych ráda touto cestou poděkovala Ing. Lucii Malíkové, Ph.D. za odborné vedení mé práce, za vstřícnost, trpělivost a čas, který mi věnovala. Dále bych ráda poděkovala MUDr. Monice a Thomasi Kavkovým, Jaroslavě Jůzové a Aleši Kulichovi, Martinu Slaninovi a Jiřímu Čeladníkovi, Mgr. Natálii Čmejlové, Bc. Anetě Žižkové, Rudolfu Růžkovi, Bc. Veronice a Bc. Janovi Šmerhovským a Adéle Beinhauerové. Výše uvedeným děkuji nejen za propůjčení psího chrupu, ale především za důvěru a přenechání plné zodpovědnosti při hlídání jejich chlupatých radostí. Děkuji Tereze Mattanelli, DiS. za ochotu a sdělení svých zkušeností z praxe dentální hygienistky. Také děkuji Ing. Haně Vojtové za nekonečný tisk studijních materiálů. A v neposlední řadě děkuji svým rodičům za podporu po celou dobu mého studia.

Bakteriální biofilmy v ústní dutině psů

Souhrn

Předložená bakalářská práce pojednává o bakteriálních biofilmech a jejich působení na vznik chorob v ústní dutině psů, zejména pak o zánětu dásní a parodontitidě. V rozvoji chorob ústní dutiny hrají mikrobiální biofilmy a jejich akumulace klíčovou roli. Reprezentují složité společenství mikroorganismů vzájemně spojených extracelulárními polymerními látkami, které poskytují ochranu před imunitním systémem a zároveň před antibiotiky, což ztěžuje léčbu infekce jimi způsobenou. Bakteriální biofilmy se shromažďují nejen v ústní dutině psů, ale taktéž se s nimi lze setkat kupříkladu v přírodě, na sliznicích dýchacích cest či na zdravotnických prostředcích, včetně chirurgických implantátů.

Úvod práce zohledňuje krátkou historii biofilmů, kdy se za průkopníka považuje J. W. Costerton, který v roce 1985 zavedl pojem „biofilm“. V dnešní době jsou biofilmy až z 80 % zodpovědné za různá infekční onemocnění. Mechanismus tvorby spočívá v reversibilním nebo irreverzibilním přichycení k povrchu, kde dochází k jejich maturaci. Později vytvářejí bakterie kolonie a výsledkem je disperze do prostředí, či na další místa v těle. Na jejich tvorbě se podílí mnoho faktorů prostředí, příkladem může být pH, teplota okolního prostředí, přítomnost kyslíku nebo glukózy.

Další část práce se zaměřuje na choroby ústní dutiny, přičemž se věnuje pozornost mikrobiomu v ústní dutině, zánětu dásní a parodontitidě. Periodontální onemocnění se ve veterinární medicíně řadí k jedné z nejvíce frekventovaných chorob, se kterými se majitelé psů setkávají. Představuje výsledek složité interakce mezi mikroorganismy v ústní dutině a imunitním systémem jedince. Zastupuje komplexní chorobu, na kterou mají vliv různé faktory včetně bakterií, věku jedince, anatomie lebky, stravy, genetické predispozice (nejvíce inklinují plemena v hmotnostní kategorii mezi 6,5–15 kg) a celkový zdravotní stav zvířete. Narušením homeostatického stavu ve složení bakteriálního společenství, dochází k pomnožení patogenních druhů bakterií *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gulae* a *Campylobacter rectus*. Gingivitida neboli zánět dásně (*gingivitis*) naznačuje počátek onemocnění ústní dutiny, jejíž přítomnost lze rozpoznat zarudnutím dásně se spontánním krvácením. Zánět dásní je reverzibilní a k regeneraci dásní lze dosáhnout čištěním zubním kartáčkem. V důsledku nedostatečné péče, se stav může zhoršit a nastane parodontitida (*parodontitis*), která je charakterizována velkým množstvím zubního kamene, tvorbou parodontálních kapes a možným odstupem dásní až s případnou ztrátou zubů. Mezi původce parodontitidy náleží bakterie *Porphyromonas aerobius* a *Fusobacterium nucleatum*.

V závěrečné části práce jsou zmíněny diagnostické metody a terapeutické přístupy k léčbě bakteriálních biofilmů. Zlatou střední cestou při prevenci onemocnění dutiny ústní je pravidelná očista zubů zubním kartáčkem, optimálně ve spojení s výživovými doplňky. Biofilmy lze také eliminovat za pomoci ultrazvukového škálovače. Mimo použití nanomateriálů (stříbro, titan, zinek nebo zlato) a různých přírodních extraktů, vstupuje do popředí zájmu léčba za využití bakteriofágů, kteří úspěšně napadají buňky bakterií a způsobují jejich lýzu (rozklad).

Klíčová slova: psí chrup, biofilm, antibiotická rezistence, periodontální onemocnění

Bacterial biofilms in the oral cavity of dogs

Summary

The presented bachelor thesis deals with bacterial biofilms and their effect on the development of diseases in the oral cavity of dogs, especially gingivitis and periodontitis. Microbial biofilms and their accumulation play a key role in the development of oral diseases. They represent a complex community of microorganisms interconnected by extracellular polymeric substances that provide protection from the immune system and from antibiotics, making it difficult to treat infections caused by them. Bacterial biofilms not only collect in the oral cavity of dogs, but can also be found in nature, on the mucous membranes of the respiratory tract or on medical devices, including surgical implants.

The introduction of the paper takes into account the short history of biofilms, with J. W. Costerton being considered a pioneer, who introduced the term „biofilm“ in 1985. Nowadays, biofilms are responsible for up to 80 % of various infectious diseases. The mechanism of formation involves reversible or irreversible attachment to a surface where they matriculate. Later, the bacteria form colonies and the result is dispersion into the environment or to other sites in the body. Many environmental factors are involved in their formation, examples being pH, ambient temperature, presence of oxygen or glucose.

The next part of the thesis focuses on oral diseases, paying attention to the oral microbiome, gingivitis and periodontitis. Periodontal disease is one of the most frequent diseases encountered by dog owners in veterinary medicine. It is the result of a complex interaction between microorganisms in the oral cavity and the immune system of the individual. It represents a complex disease that is influenced by a variety of factors including bacteria, age of the individual, skull anatomy, diet, genetic predisposition (breeds in the weight category between 6.5 – 15 kg are most susceptible) and the overall health of the animal. Disruption of the homeostatic state in the composition of the bacterial community leads to an increase in pathogenic species of *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gulae* and *Campylobacter rectus*. Gingivitis indicates the onset of oral disease, the presence of which can be recognised by reddening of the gingiva with spontaneous bleeding. Gingivitis is reversible and regeneration of the gums can be achieved by brushing with a toothbrush. As a result of inadequate care, the condition may worsen, resulting in periodontitis, which is characterised by large amounts of tartar, the formation of periodontal pockets and possible receding gums and eventual tooth loss. The causative agents of periodontitis include *Porphyromonas aerobius* and *Fusobacterium nucleatum*.

In the final part of the thesis, diagnostic methods and therapeutic approaches to the treatment of bacterial biofilms are mentioned. The golden mean in the prevention of oral diseases is regular toothbrushing, optimally in conjunction with nutritional supplements. Biofilms can also be eliminated using an ultrasonic scaler. In addition to the use of nanomaterials (silver, titanium, zinc or gold) and various natural extracts, treatment using bacteriophages, which successfully attack the bacterial cells and cause their lysis (decomposition), is coming to the fore.

Keywords: canine dentition, biofilm, antibiotic resistance, periodontal disease

Obsah

1	Úvod	8
2	Cíl práce.....	9
3	Literární rešerše.....	10
3.1	Bakteriální biofilm	10
3.1.1	Mechanismy formace biofilmu v ústní dutině psů.....	11
3.1.2	Lokalizace biofilmu	13
3.1.2.1	Vliv faktorů prostředí na formaci biofilmů.....	14
3.1.3	Složení biofilmu.....	16
3.2	Choroby ústní dutiny psů.....	17
3.2.1	Mikrobiom v ústní dutině	18
3.2.2	Zánět dásní.....	19
3.2.3	Parodontitida.....	20
3.2.3.1	Příčiny vzniku, příznaky, etiologie	21
3.2.3.2	Stádia, formy.....	24
3.3	Diagnostika	26
3.3.1	Preventivní opatření (očista zubů, stravovací a životní styl).....	30
3.3.2	Konvenční terapie (odstranění biofilmu, antibiotická léčba).....	33
3.3.3	Nové přístupy v léčbě bakteriálních biofilmů.....	34
4	Závěr	38
5	Literatura	40
6	Seznam obrázků.....	52
7	Seznam použitých zkratk	53
8	Samostatné přílohy	I

1 Úvod

Zdravotní stav ústní dutiny je důležitým ukazatelem celkové pohody (welfare), délky a kvality života, a to nejen u lidí (Summers et al. 2019). Přítomnost bakteriálních biofilmů způsobuje různá infekční onemocnění a vzhledem k jejich značné antimikrobiální rezistenci, je potřeba vynaložit významné úsilí pro jejich eliminaci (Sedarat & Taylor-Robinson 2022). U psů postihuje onemocnění ústní dutiny až 80 % jedinců starších 2 let (Albuquerque et al. 2012). Za hlavní etiologický faktor jsou považovány bakterie a jejich akumulace na povrchu zubu (Harvey 2017), které posléze uvolňují toxiny, jež dráždí dásně a způsobují její zánět (Chandakavathe 2019). Rozšíření zplodin bakterií (amoniak a těkavé mastné kyseliny), může způsobit značné obtíže v rámci putování krevním řečištěm dále do těla, za současného napadení srdce, jater nebo ledvin (Cunha et al. 2022, Niemiec 2008). K onemocnění přispívá nejen nedostatečná péče o chrup, ale i imunosuprese, v důsledku nesprávného podávání antibiotických léčiv (Lobprise 2021).

Často detekovatelnými příznaky onemocnění ústní dutiny jsou halitóza (zápach z úst), ptyalismus (nadměrné slinění), zanícené krvácející dásně (Kačířová et al. 2022), v důsledku čehož mohou psi vykazovat obtíže při příjmu potravy nebo při hře s hračkami (Holmstrom 2019, Niemiec 2011).

Onemocnění ústní dutiny je třeba nebrat na lehkou váhu a cílit na její prevenci. Dnes se proti tvorbě zubního plaku nabízí použití probiotik s řadou výživových doplňků, které směřují k navrácení mikrobiální dysbiózy, ale také ke snížení halitózy (výtažky esenciálních olejů, čajové polyfenoly nebo zinečnaté soli) (Jank 2021, Mirghani et al. 2022).

Problematika bakteriálních biofilmů bude nadále předmětem intenzivního výzkumu s cílem nalezení inovativních přístupů v prevenci a jejich léčbě. Vyjma zapojení nanotechnologie s aplikací nanomateriálů (Dos Santos Ramos et al. 2018), se velmi slibnou léčbou osvědčuje bakteriofágová terapie (Kowalski et al. 2022).

2 Cíl práce

Cílem práce je vypracování literární rešerše na téma bakteriální biofilmy, se zaměřením na ústní dutinu psů.

3 Literární rešerše

3.1 Bakteriální biofilm

Mezi prvními se o biofilmech zmínil nizozemský přírodovědec Anthony van Leeuwenhoek, který svým primitivním mikroskopem v 70. letech 17. století pozoroval shluky mikrobů v rámci vlastního vzorku povlaku z jazyka a zubů. Bohužel se v následujícím století biofilmy do popředí zájmu nedostaly a ani pro mikrobiology nebyly zajímavým tématem k diskusi (Høiby 2017). Howard C. Jones a kolektiv v roce 1969 aplikovali pro zkoumání biofilmů, přítomných na filtrech v čistírně odpadních vod, techniku skenovací a transmisní elektronové mikroskopie. Na základě morfologie buněk jejich pozorování úspěšně prokázalo, že jsou biofilmy složeny z různých organismů, rovněž také, že je matrix buněk složen primárně z polysacharidu. Detekce byla provedena použitím polysacharidového barviva – rutheniová červeň zároveň s fixačním prostředkem tetroxidu osmia (Jones et al. 1969). O pár let později roku 1973 se Characklis opět pohyboval v prostředí průmyslových vodních systémů, kde studoval mikrobiální usazeniny a prokázal, že je chování biofilmů v přírodě velmi houževnaté ve smyslu odolnosti vůči dezinfekčním prostředkům (konkrétně se jednalo o chlór) (Characklis et al. 1990). S příchodem roku 1980 John William Costerton a jeho kolektiv společně publikovali snímky z elektronového mikroskopu. Byly na nich vyobrazeny mikrokolonie *Pseudomonas aeruginosa* v plicích pacienta po cystické fibróze. Posléze k nim přidali i články o bakteriálním glykokalyxu vyskytujícím se v přírodě – pojem „glykokalyx“ byl později nahrazen pojmem „biofilm“ – do lékařské mikrobiologie jej Costerton zavedl v roce 1985. Sám se tak stal průkopníkem pojetí o biofilmech, a v průběhu let se zajímal nejen o chronické infekce jimi způsobené, ale také prokázal jejich zvýšenou antimikrobiální rezistenci (Høiby 2017). Posledních dvacet let se při charakterizaci biofilmů využívalo standardní mikrobiologické kultivační techniky nebo rastrovací elektronové mikroskopie (SEM), pozdější dramatická změna v chápání biofilmů spočívala v použití konfokálního laserového mikroskopu, který dokáže charakterizovat ultrastrukturu biofilmu, se současným zkoumáním genů podílejících se na adhezi a tvorbě biofilmu jako takového (Donlan 2002).

Bakteriální biofilm je označován jako shluk mikroorganismů chráněných polysacharidovým komplexem, kdy právě jejich kolonizací dochází ke vzniku biofilmu (Holmstrom 2019). Ve valné většině jsou takto nahromaděné buňky schopné adherovat k povrchům nebo jsou zanořeny do vlastní matrix (Flemming et al. 2016), která je složena z proteinů, polysacharidů, a také extracelulární DNA (eDNA). V rámci ochrany, kterou matrix poskytuje, jsou bakterie schopné účinně využít svých vlastních strategií proti obranným systémům hostitele (Vestby et al. 2020). Nenávratné přichycení k povrchům nebo k sobě navzájem je zajištěno díky extracelulárním polymerním látkám (EPS). EPS zahrnují řadu stavebních látek, a sice proteinů, celulózy, alginátů, extracelulární kyseliny teichoovou a další organické sloučeniny, které hrají důležitou roli při formaci např. glukosaminů, lipidů, nukleových kyselin, fosfolipidů, polysacharidů nebo eDNA (Flemming et al. 2016). Dalším benefitem matrix EPS je poskytování stabilního chemického prostředí, které je esenciální pro životnost biofilmu. Mimo jiné také zvyšuje rezistenci vůči antimikrobiálním látkám či obranným mechanismům hostitele (Karygianni et al. 2020).

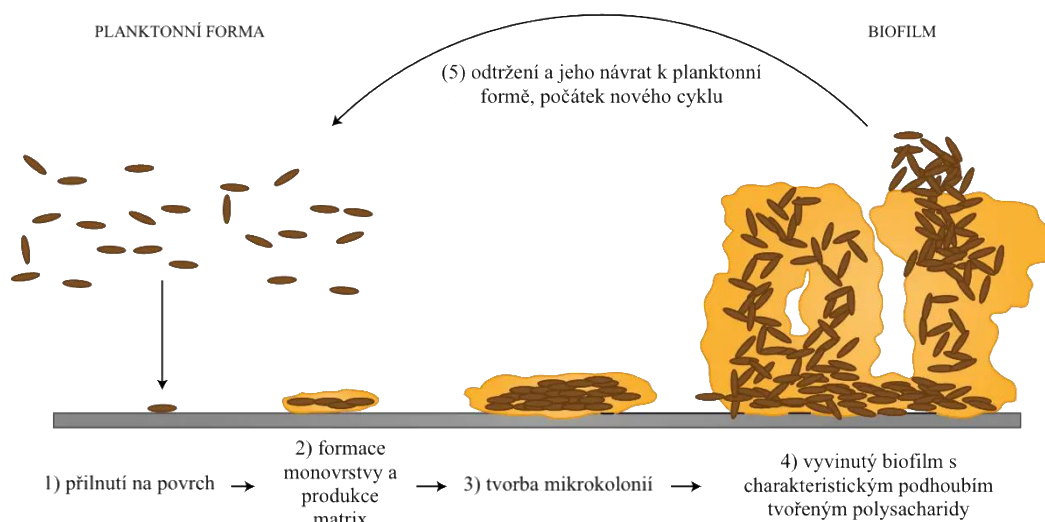
Biofilmy samy o sobě fungují jako ochranný obal, který je odolný vůči extrémním podmínkám vnějšího prostředí, příkladem je teplota, ultrafialové záření nebo pH. V těchto extrémních podmínkách vykazují mikroorganismy překvapivě rozmanitý život. Podle svého způsobu života tak získaly charakteristické označení – extrémofilové – jejich název je právě odvozen od výskytu v různých nepříznivých podmínkách, např. acidofilové, alkaliofilové, termofilové atd. Každá skupina má také vlastní specifický mechanismus pro přežití a následnou tvorbu biofilmu (Khan & Rao 2023).

Bakterie dovedou během svého života střídat dva způsoby růstu: planktonní a přisedlý způsob. Při planktonní (plovoucí formě), jsou buňky volně plovoucí. Při přisedlé formě jsou buňky společně s dalšími mikrobiálními populacemi pohromadě, a díky matrix přichyceny k povrchům (Berlanga & Guerrero 2016). Zatímco jsou planktonní bakterie určeny především ke kolonizaci nových míst, bakterie v biofilmu poskytují bezpečnější prostředí pro rozmnožování a přežití, což částečně vysvětluje jejich zvýšenou odolnost biofilmu vůči antibiotikům, dezinfekčním prostředkům nebo imunitnímu systému hostitele (Hernández-Jiménez et al. 2013).

Podle National Institute of Health jsou biofilmy až z 80 % zodpovědné za tvorbu mikrobiálních infekcí. Biofilmy kolonizují na kůži, sliznicích dýchacích a močových cest, nebo v trávicím traktu (Prashanth et al. 2023). Předpokládá se, že se bude jejich prevalence výrazným tempem stupňovat, a to z důvodu zvýšení počtu bakteriálních kmenů rezistentních vůči antibiotikům, nedostatku vhodných biomarkerů nebo obtížné diagnostiky biofilmu jako takového (Khatoon et al. 2018).

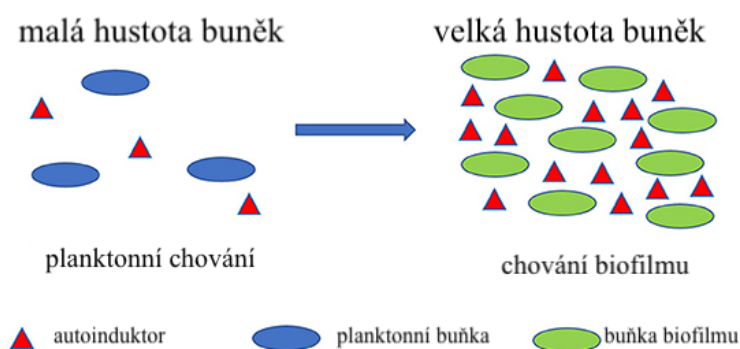
3.1.1 Mechanismy formace biofilmu v ústní dutině psů

Tvorbu biofilmových společenstev (znázorňuje Obrázek 1) zahrnuje komplexní a dynamické události nejen za pomoci EPS, taktéž se vyžaduje transkripce odlišné sady genů ve srovnání se shodnými planktonními formami (Jamal et al. 2018). Matrix EPS podporuje adhezi (přichycení na povrch) mikrobů jak k biotickým, tak i abiotickým povrchům, také buňky obklopuje a udržuje je tak pohromadě, koheze poté označuje přichycení mezi buňkami (Khatoon et al. 2018, Karygianni et al. 2020).



Obrázek 1 Mechanismus tvorby bakteriálního biofilmu (Převzato z Pabbati et al. 2021)

Biofilmy regulují hustotu své populace pomocí signalizačního mechanismu mezi buňkami tak, aby hustota buněk nedosáhla neudržitelné úrovně (Verderosa et al. 2019). Quorum sensing (QS) (ilustruje Obrázek 2) označuje zároveň schopnost vnitrodruhové, současně i mezidruhové komunikace. QS nachází své využití také v regulaci různých buněčných funkcí bakterií. Tím umožňuje bakteriím měnit genovou expresi prostřednictvím procesů jako je konjugace, transformace a transdukce. Dále pomáhá bakteriím sekretovat faktory virulence, vyvolávat bioluminiscenci, zvyšovat rezistenci vůči antibiotikům (Watson et al. 2023, Pallaval 2018), napomáhat šíření prospěšných mutací a v neposlední řadě zlepšovat přístup k živinám. Specifickou roli hrají signální molekuly známé jako autoinduktory. Jejich neustálá produkce je zprostředkována bakteriálními buňkami, zároveň platí, že s rostoucí hustotou buněk, se zvyšuje i hladina autoinduktorů. Bakterie se díky autoinduktorům chovají jako mnohobuněčný organismus, což reflektuje jejich schopnost přizpůsobit se měnícím se podmínkám prostředí (Verderosa et al. 2019). Vzniklý biofilm je z velké části tvořen makromolekulami z proteinů a glykoproteinů – fibronektin, fibrinogen, albumin a imunoglobuliny. Svým složením tak poskytuje ideální substrát, na kterém mohou bakterie a další mikroorganismy ulpívat (Watson et al. 2023, Pallaval 2018).



Obrázek 2 Ilustrace Quorum sensing (Převzato z Verderosa et al. 2019)

Tvorba nového biofilmu zahrnuje pouze několik dní, kdy na jeho povrchu postupně kolonizují anaerobní gramnegativní bakterie (*Bacterioides* spp., *Porphyromonas* spp. a *Treponema* spp.), taktéž i grampozitivní bakterie, a sice *Actinomyces* spp., *Eubacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp. a *Streptococcus* spp. (Hardham et al. 2005). Na kolonizaci periodontálních kapes nebo destrukci periodontálních tkání se podílejí patogeny jako *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia* a *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, přičemž přítomnost *P. gingivalis*, *T. forsythia* a *P. intermedia* byla pozorována ve výrazně vyšším měřítku u pacientů s parodontitidou než u zdravých jedinců (Puletic et al. 2020).

Samotnou tvorbu biofilmu poté charakterizují následující fáze:

- 1) přichycení k povrchu (reversibilní, irreversibilní)
- 2) vývoj a zrání (maturace)
- 3) tvorba mikrokolonií
- 4) rozptýlení (disperze) (Watson et al. 2023)

1) Přichycení k povrchu

Přichycení buněk k povrchu a navzájem mezi sebou, umožňují bakteriální výběžky (fimbrie, bičíky) a taktéž společná souhra fyzikálních sil (Van der Waalsovy síly, sterické nebo elektrostatické interakce). Postupně se zformuje tenká vrstva známá jako kondičiační film, skládající se z polysacharidů a proteinů (fibronektin, fibrinogen, trombospondin, laminin, kolagen, von Willebrandův faktor) (Khatoon et al. 2018). Lepší přilnavost poskytují hydrofobní a nepolární povrchy (teflon, plasty) oproti hydrofilním a polárním povrchům (sklo, kovy) (Jamal et al. 2018).

2) Vývoj a zrání (maturace)

Fáze zrání zahrnuje mnoho kroků postupně vedoucích k produkci EPS, agregaci buněk, jejich chemické interakce, QS a v neposlední řadě tvorbě mikro a makrokolonií. Bakteriální buňky dále vylučují EPS, které stabilizují síť biofilmu a poskytují ochranu před antibakteriálními látkami. Na stabilizaci biofilmu se také podílí eDNA (Khatoon et al. 2018).

Důležitou funkcí při maturaci biofilmu je schopnost buněk komunikovat mezi sebou navzájem, což je umožněno díky vylučování signálních molekul – autoinduktorů (Jamal et al. 2018). Příkladem je N-acylový homoserin lakton (AHL). Postupně dochází ke zvětšení velikosti a tloušťky mikrokolonie na hodnotu blízkou se 100 μm , čímž dochází ke vzniku makrokolonie. Kolonie se rovněž uzavírají do EPS, kde již probíhá mezibuněčná signalizace a QS (Khatoon et al. 2018).

3) Tvorba mikrokolonií

Po přichycení mikroorganismů k povrchu, začíná proces množení a dělení mikrobiálních buněk, což vede ke tvorbě mikrokolonií. Jejich tvorbu iniciují určité chemické signalizace, které jsou vylučovány buňkami EPS. Různorodé složení mikrobiálních společenstev přispívá k vzájemné výměně substrátů, distribuci důležitých metabolických produktů a vylučování zplodin metabolismu, díky čemuž dochází ke tvorbě kompletního prostředí pro společné soužití dvou nebo více metabolicky odlišných bakteriálních společenstev (Jamal et al. 2018).

4) Rozptýlení (disperze)

Schopnosti disperze využívají bakterie ke svému rozšíření, a to jako jednotlivé buňky nebo jako shluk bakterií, kdy zakládají nové biofilmy v různých oblastech těla (Khatoon et al. 2018). Takto zralý biofilm disponuje maximální hustotou buněk, tudíž se považuje za trojrozměrné společenství (Verderosa et al. 2019). Buňky jsou rovněž schopny regulace tvorby bičíků, a tedy přeměnu z přisedlé formy na pohyblivou (Khatoon et al. 2018).

Při procesu odtržení produkují buňky často sacharolytické enzymy, díky nimž dochází k rozkladu extracelulárního polysacharidu, což vede k uvolnění povrchových bakterií do nových oblastí nebo povrchů. Například *Escherichia coli* produkuje enzym zvaný N-acetyl-heparosan lyázu, *P. aeruginosa* společně s *Pseudomonas fluorescens* produkují alginát lyázu (Jamal et al. 2018). Pseudomonádám je tento alginát nápomocen při fagocytárním útokům a současně se zaměřuje na volné radikály uvolňované makrofágy (Aguilar et al. 2007). Známý enzym hyaluronidázu využívají nejen spermie pro lýzu *zony pellucidy* u oocyty (Lin et al. 1994), ale také jej využívá *Streptococcus equi* pro lýzu EPS matrix (Jamal et al. 2018).

3.1.2 Lokalizace biofilmu

V dnešní době kolonizují biofilmy živé organismy včetně řas, rostlin, zvířat a člověka (Khan & Rao 2023). Lze se s nimi setkat i v podvodním prostředí – v hlubokomořských ložiscích způsobených vulkány, vývěrech nebo horkých pramenech. Jejich přítomnost v takto nepříznivých podmínkách naznačuje fakt, že biofilmy jsou schopné poskytovat mikroorganismům ochranu proti extrémním podmínkám okolního prostředí (Khan & Rao 2023).

Navzdory snaze o zachování vysokého procenta sterility, jsou bakterie schopny adherovat na povrchy zdravotnických prostředků, a to zejména na močových katetrech nebo katetrech pro peritoneální dialýzu, kardiostimulátorech a defibrilátorech či endotracheálních trubicích (Watson et al. 2023, Jamal et al. 2018). Dále lze biofilmy nalézt i na dalších místech, jakými jsou průmyslové či syntetické povrchy – protézy, ortopedické implantáty, srdeční chlopně, zubní materiály nebo kontaktní čočky (Dincer et al. 2020). V rámci infekcí tělních implantátů jsou příčinou nozokomiální patogeny (vzniklé v souvislosti s pobytem ve zdravotnickém zařízení), příkladem jsou *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecium*, *Enterobacter spp.*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa* a *Acinetobacter baumannii* (Prashanth et al. 2023).

Není pravidlem, že mikrobiální společenství ulpívají pouze na površích, ale také je lze nalézt ve společnosti s jinými mikrobiálními buňkami. Jejich přítomnost je možná ve vyšším počtu, obzvláště v sekretech hostitele (Høiby 2017) nebo ve tkáních (například v plicích osob trpících cystickou fibrózou či v chronických ranách) (Vickery 2019).

Biofilm tvořící se na zdravotnických površích je často vůči endogenní obraně hostitele odolný – obvykle se tedy využívá kombinace antibiotické terapie s případným odstraněním nekrotické tkáně. Léčba kombinovanou antibiotickou terapií však s sebou přináší komplikace v podobě rozvoje bakteriálních kmenů rezistentních vůči antibiotikům (Watson et al. 2023).

3.1.2.1 Vliv faktorů prostředí na formaci biofilmů

Pro úspěšnou tvorbu biofilmu je nejdůležitějším aspektem vhodný substrát. Tvrdé povrchy, jakými jsou kov, sklo nebo teflon, představují lepší potenciál pro rozvoj biofilmu (Sedarat & Taylor-Robinson 2022). I při procesu zpracování potravin ulpívají bakterie na površích jako je nerezová ocel, silikonová pryž nebo plast. Tvorba biofilmů na površích potravin znamená velké zdravotní riziko z důvodu stálého zdroje kontaminace (Roy et al. 2021). Určitou roli hraje i hladina kyslíku a živin v prostředí, ve kterém se bakterie nacházejí (Sedarat & Taylor-Robinson 2022), dále teplota, pH, koncentrace glukózy či aktivita vody (Roy et al. 2021). Například při nedostatku živin jsou bakterie díky tvorbě extracelulární matrix, tvořící ochranný štít, schopny přežít v nepříznivých podmínkách či vzdorovat imunitnímu systému hostitele nebo antibiotikům (Sedarat & Taylor-Robinson 2022). Biofilmy tak častěji vyhledávají místa a povrchy s vysokou vlhkostí, pravidlem to ale není a například ve velmi suchých místech bez přístupu vody dokážou setrvat, a to dlouhodobě (Otter et al. 2015). Sítě bakteriálního biofilmu jsou velmi propracované a poskytují tak možnost rozsáhlého využití všemi typy mikroorganismů. Výsledkem je účinné obcházení imunitní reakce hostitele a úspěšné pokračování v cestě do těla (Ghosh & Ray 2021).

Tvorba biofilmu může být ovlivněna i teplotou okolní atmosféry. Pokud se bakterie nacházejí v příjemném teplotním prostředí, zvyšují příjem živin. Metabolismus živin závisí na enzymech, které regulují vývoj různých fyziologických a biochemických pochodů u bakterií. Optimální teplota podporuje růst bakterií a v momentě, kdy se teplota odchýlí od normálu, snižuje se rychlost růstu bakterií, s čímž se pojí i vývoj biofilmu jako takového (Alotaibi 2021). Totiž při teplotách mezi 25 až 42 °C, ve srovnání s nižšími teplotami v rozmezí 4 až 10 °C, formují biofilmy silnější vrstvu (Roy et al. 2021). Největší procento odolnosti vykazovaly biofilmy při teplotě 24 °C (Çam & Brinkmeyer 2020). Při zvýšení teploty z 20 °C na 37 °C prokázaly bakterie *S. aureus* intenzivnější hydrofobicitu a silnější přilnavost k povrchům. Zvýšená teplota indukuje EPS ke tvorbě gelovité látky a v případě, že teplota zahřátí přetrvává, mění se gel na roztok (Alotaibi 2021).

Zdá se, že i koncentrace glukózy svým způsobem ovlivňuje tvorbu biofilmu. Optimální koncentrací pro tvorbu biofilmu je 0,5 % glukózy. Přítomnost glukózy může poskytovat bakteriím v médiu více energie, což snižuje potřebu tvorby biofilmu jako ochrany. Zároveň přítomnost glukózy indukuje změny v extracelulární matrix a reguluje expresi bílkovin (Silva et al. 2022). Některé mikroorganismy jako *E. coli* a *Pseudomonas putida* přidáním glukózy jako zdroje uhlíku reagují zvýšenou tvorbou biofilmu (Alotaibi 2021).

U *S. epidermidis*, je pH považováno za důležitý determinant v primární přilnavosti k povrchům. Při vysoce kyselém pH (pH 3) a alkalickém pH (pH 12), byla tvorba biofilmu *S. aureus* nižší, ve srovnání s hodnotou pH 7. Při zásaditém pH byl pozorován špatně strukturovaný a velmi tenký biofilm. V kontrastu s planktonními buňkami, odolají přisedlé buňky v biofilmu změnám pH lépe. U většiny bakterií se pro polysacharidovou sekreci pohybuje optimální hodnota pH 7 (Alotaibi 2021). *Streptococcus mutans*, *S. sobrinus* a *Lactobacillus acidophilus*, přítomní v zubním kazu, vysoce přežívají při nízkém pH, přičemž jejich nejvyšší metabolická aktivita byla pozorována při pH 6–6,5 (Sharma et al. 2023).

Přísun konkrétních látek ovlivňuje různé pochody uvnitř biofilmu, například jejich metabolismus, kolonizaci povrchů nebo rychlost replikace. Schopnost setrvat v tekutinách s nízkým obsahem živin projevují některé gramnegativní mikroorganismy jako je *P. aeruginosa* nebo *Enterobacter* spp. (Donlan 2001). Nedostatečný přísun železa omezuje bakteriím vývoj (Sharma et al. 2023), oproti tomu zejména živiny bohaté na bílkoviny jejich vývoj podporují (Kotay et al. 2020). Normální růst vykazují biofilmy při koncentraci NaCl nižší než 4 %, ale vyšší koncentrace soli růst omezují (Iliadis et al. 2018). U bakterií rodu *Staphylococcus* může mít NaCl vliv na tvorbu biofilmu (Silva et al. 2022).

Přilnutí bakterií k povrchům a následný vývoj biofilmu může záviset i na dostupnosti kyslíku (Silva et al. 2022). V důsledku nedostatku kyslíku může být metabolická aktivita bakteriálního biofilmu snížena (Alotaibi 2021). Většinou projevují bakterie za anaerobních podmínek podstatně menší tvorbu biofilmu (Silva et al. 2022). *E. coli* ke tvorbě biofilmu přítomnost kyslíku přímo vyžaduje, ale například bakterie *P. aeruginosa* nemá při nízké dostupnosti kyslíku problém biofilm nadále tvořit (Alotaibi 2021). Stepanović a kolektiv ale prokázali, že změny v koncentracích kyslíku neměly u bakterií rodu *Staphylococcus* na tvorbu biofilmu vliv (Stepanović et al. 2003). V anaerobních podmínkách probíhá tvorba biofilmu s největší pravděpodobností za pomoci polysacharidu intercelulárního adhezínu (PIA), kyseliny teichoové a bílkovin (Silva et al. 2022). PIA náleží složkám extracelulární matrix. Jedná se o polysacharid, který přispívá k důležitým mechanismům bakteriální patogenity, především ke

tvorbě biofilmu, vyhnout se imunitnímu systému (Nguyen et al. 2020), anebo také k ochraně biofilmu před stresovými faktory prostředí, jako je například pH (Alotaibi 2021). K produkci PIA dochází v závislosti na podmínkách životního prostředí, společně s mnoha regulačními mechanismy. V důsledku své úlohy v patogenezi, vyvolal PIA značný zájem jako potenciální složka vakcíny. Zvláště u biofilmu tvořeného bakteriemi rodu *Staphylococcus*, přispívá PIA významně k jeho tvorbě, odolnosti vůči antimikrobiálním peptidům či požití fagocyty (Nguyen et al. 2020).

3.1.3 Složení biofilmu

Celkový objem biofilmu je až z 65 % složen z proteinů tvořící extracelulární matrix, zbytek zaujímají mikroorganismy (Jamal et al. 2018).

EPS charakterizuje matrix s lepkavým profilem, tvořící médium nejen pro distribuci živin a kyslíku. Díky matrix EPS si biofilm udržuje svou pevnost (Jamal et al. 2018). Uspořádání společenství buněk v těsné blízkosti umožňuje komunikaci mezi buňkami a usnadňuje výměnu genetického materiálu prostřednictvím horizontálního přenosu genů (Verderosa et al. 2019), zároveň splňuje úlohu v rámci platformy pro uchycení buněk k povrchu – ty jsou z valné většiny tvořeny vodou (97 %), proteiny (>2 %) (složených z D-aminokyselin), polysacharidy (1–2 %), nukleovými kyselinami DNA, RNA (<1 %), ionty (vázané i volné). Díky tomuto složení dochází k ochraně mikroorganismů před vnějšími nebezpečím, a sice proti složkám obranného systému hostitele či antibiotické léčbě (Watson et al. 2023, Khatoon et al. 2018).

Kanátky přítomné v EPS jsou vyplněny vodou a fungují také jako oběhový systém sloužící k odstranění odpadních produktů – poskytují kyslík, živiny a další metabolity pro správnou funkčnost biofilmu (Khan & Rao 2023).

Mezi nejrozšířenější organický polymer náleží v přírodě celulóza. V rámci biofilmů přebírá funkci ochranného štítu v primárních fázích vývoje (Solano et al. 2002). Je ale nezbytné produkci celulózy regulovat, totiž nadměrná exprese má v ojedinělých případech negativní vliv na samotnou tvorbu biofilmu – narušuje se adheze mezi amyloidními vlákny za současného maskování nadbytečným množstvím celulózy. Této nadměrné exprese využívá *E. coli* pro svou odolnost proti vysychání (Gualdi et al. 2008).

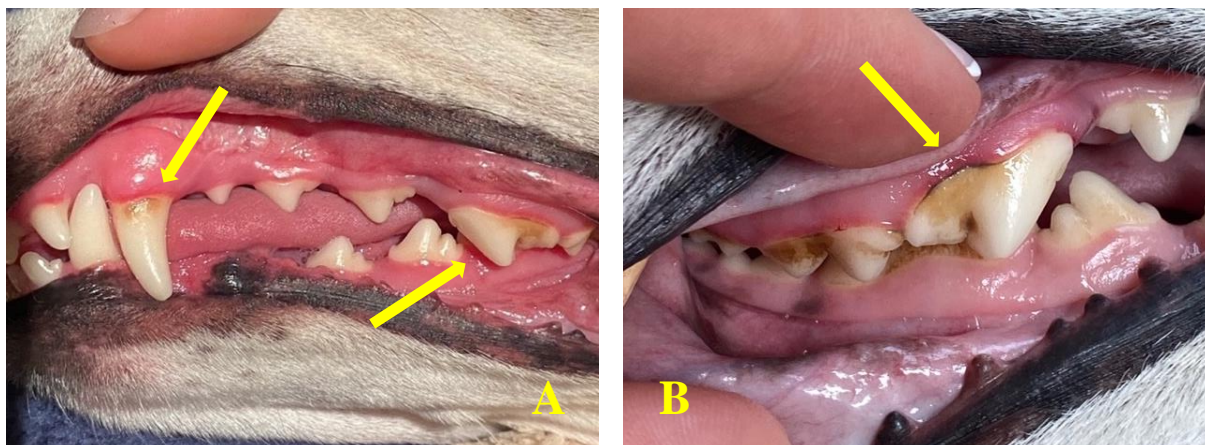
Alginát je tvořen kyselinou L-guluronovou a D-manuronovou. Funkčně chrání bakterie před vnějším stresem a zlepšuje schopnost adheze na površích (Hay et al. 2009). Pokud se produkce alginátu zvýší, což vede ke tvorbě dobře strukturovaného biofilmu, vykazují bakterie vyšší stupeň rezistence vůči antibiotikům (Limoli et al. 2017).

V době nedostatku živin přichází na pomoc eDNA – posiluje strukturu biofilmu, která se uplatňuje při spojování mikrokolonií a rozšiřování biofilmu do okolí, pozitivem zesílené struktury je zvýšená odolnost vůči antibiotikům (Wang et al. 2015). Zároveň snižuje přítomnost eDNA pH, nízké pH podněcuje aktivaci dvou faktorů, prvním je PhoPQ (faktor regulující virulenci), druhým PmrAB (faktor rezistence vůči aminoglykosidům) (Wilton et al. 2016). Například *P. aeruginosa* uskutečňuje produkci eDNA dvěma způsoby: jeden se nabízí bez QS, kdy se uvolňuje velmi málo eDNA, druhý v pozdní fázi log (QS dependent), zde se uvolňuje naopak velké množství eDNA (Montanaro et al. 2011). Rozdíl reprezentuje mutantní kmen *P. aeruginosa*, jenž v důsledku defektního genu pro expresi fenazinových molekul, produkuje méně eDNA, ve srovnání s nemutantním kmenem (Das et al. 2012).

3.2 Choroby ústní dutiny psů

Ve veterinární medicíně je výskyt periodontálního onemocnění poměrně častým dějem, zároveň postihuje dospělé jedince s prevalencí 80 % u psů starších dvou let (Albuquerque et al. 2012). Choroby dutiny ústní představují složitou interakci mezi ústními mikroby a imunitním systémem (Santibáñez et al. 2021). V rámci běžných onemocnění u psů, jsou problémy se zuby označovány jako onemocnění s největším dopadem na celkové zdraví (welfare), délku a kvalitu života (Summers et al. 2019). Zejména je tomu tak z důvodu vysoké prevalence, trvání a závažnosti onemocnění (Whyte et al. 2022). Periodontální onemocnění se řadí spíše mezi multifaktoriální onemocnění, i když jsou bakterie a jejich akumulace na povrch zubu považovány za hlavní etiologický faktor (Harvey 2017). Vliv na přítomnost onemocnění má celkový zdravotní stav zvířete, s čímž se rovněž pojí mikrobiální společenství přítomné v ústní dutině, plemenná příslušnost, strava, genetická predispozice (Tavares et al. 2023), postupující věk, nadváha zvířete (Wallis et al. 2021), hormony, zubní kámen, systémové faktory a medikace (Harvey 2017).

K onemocnění nejvíce inklinují plemena v rámci v hmotnostní kategorie 6,5–9 kg (jorkšířský teriér, kokršpaněl, west highland white teriér, border teriér, pudl) (O'Neill et al. 2021) a plemena s hmotností 9–15 kg (americký kokršpaněl, americký eskymácký pes, bostonský teriér, kavalír king charles španěl (Příloha I), francouzský buldoček (Příloha III), šeltie) (Wallis et al. 2021). Nižší frekvenci výskytu reprezentují střední a velká plemena, včetně labradorských retrívrů, rotvajlerů, německých ovčáků (Příloha II) a stafordšířských bulteriérů (Příloha III) (O'Neill et al. 2021). V roce 2021 se Corrin Wallis a kolektiv věnoval prevalenci periodontálního onemocnění u konkrétních plemen: chrt (38,7 %), šeltie (30,6 %), papillon (29,7 %), toy pudl (28,9 %), miniaturní pudl (28,2 %), jezevčík (28,1 %), bišonek (27,9 %), kavalír king charles španěl (27,3 %), americký eskymácký pes (27,0 %), cairn teriér (26,0 %), west highland white teriér (26,6 %), pomeranian (26,4 %), foxteriér (25,6 %), jorkšířský teriér (25,4 %), maltézský psík (25,4 %) (Příloha I), baset (25,3 %), kokršpaněl (25,3 %), knírač (23,7 %) a bígl (23,2 %) (Wallis et al. 2021). Jak se bude časná gingivitida nebo již pokročilé stádium periodontálního onemocnění dále vyvíjet, je výsledkem komplexní souhry mezi imunitní odpovědí hostitele a bakteriálními patogeny (Kern et al. 2023). Určité zhoršení se objevuje u jedinců s rozdílnou morfologií lebky, kde je důvodem např. stísněný chrup nebo malokluze (Wallis et al. 2021). Mezi příznaky, kterými se postižené zvíře projevuje, řadíme halitózu (zápach z úst) (*foetor ex ore*), ptyalismus (nadměrné slinění), zanícené dásně s případným krvácením nebo již viklající se zuby (Kačířová et al. 2022). Většina studií potvrzuje, že nejčastěji jsou postiženy špičáky, premoláry a moláry (zejména čtvrtý premolár a první molár) (blíže na Obrázku 3) (Wallis & Holcombe 2020). Přítomný zánět nebo bolest jsou často skrytými příznaky, a nemusí být tedy v mnoha případech majitelem rozpoznány (Whyte et al. 2022). Klíčem k úspěšnému zvládnutí periodontálního onemocnění je práce s bakteriemi zubního plaku spojená s kombinací návštěv dentální hygieny, včetně pravidelného čištění zubů, aplikací nabízených ústních doplňků, případně žvýkacích hraček (Cunha et al. 2022).



Poznámka: fena, whippet ve věku 5 let; (A) laterální pohled zprava, (B) laterální pohled zleva
Obrázek 3 Šipky znázorňují nejčastější lokalizaci zubního plaku, zdroj: autor BP

3.2.1 Mikrobiom v ústní dutině

Ústní dutina představuje rozmanitou niku, která poskytuje prostor jedinečnému ekosystému mikrobiálních společenstev (Ruparell et al. 2020), identifikováno je zde více než 700 druhů bakterií (Frédéric et al. 2018). Převážně se jedná o grampozitivní aerobní bakterie (Holmstrom 2019). Přítomnost těchto bakterií je u zdravých psů přirozená a přináší i mnohé benefity v rámci prevence před kolonizací patogeny, trávení částí potravy nebo stimulace imunitního systému (Niemiec et al. 2020). Narozdíl od ústního mikrobiomu člověka, se mikrobiom psů diferencuje tak, že dochází pouze k 16 % shodě bakteriálních taxonů (Santibáñez et al. 2021).

Termín „mikrobiom“ označuje vztah mezi mikroorganismy a hostitelem. Příkladem je symbiotický vztah – konkrétně se jedná o komenzalismus, mutualismus nebo patogenní vztah (Sudhakara et al. 2018). Symbiotický mikrobiom má na hostitele pozitivní vliv, avšak určité změny v mikrobiálním složení ústní dutiny mohou zhoršit imunitní odpověď hostitele, což ve výsledku přispívá k chronickým zánětlivým stavům a patologiím (Beikler et al. 2021). Reprezentantem symbiotického vztahu je *E. coli*, přítomná v tenkém a tlustém střevě většiny savců, nápomocná při trávení cukrů (Khatoon et al. 2018). Naopak komenzálové přítomní v ústní dutině zajišťují mikrobiální rovnováže ochranu a prospěšní jsou zejména při zabránění růstu patogenů spojených s parodontitidou (Sanz et al. 2017). Přítomnost specifických bakterií *P. gingivalis*, *T. forsythia*, vzájemně s *T. denticola* a *A. actinomycetemcomitans* zvyšují riziko parodontitidy (Santibáñez et al. 2021, Eick et al. 2017).

Studiu bakteriálních komunit za přítomnosti gingivitidy a periodontálního onemocnění se v roce 2023 věnoval Oliveira Tavares a kolektiv, přičemž bylo zjištěno, že ústní dutina zdravých zvířat byla nejčastěji osídlena rody *Neisseria* spp. (17,9 %) a *Staphylococcus* spp. (15,4 %), zatímco u zvířat onemocněných parodontitidou přibývalo zástupců rodů *Corynebacterium*, *Pasteurella* a *Moraxella* (Tavares et al. 2023). Se zhoršujícím se onemocněním začínají na povrchu zubu postupně kolonizovat i gramnegativní bakterie (Holmstrom 2019), příkladem je *P. gingivalis* (Willis & Gabaldón 2020), jež je považována za klíčový patogen, schopná způsobovat dysbiózu mezi ústním biofilmem a hostitelem (Eick et al. 2017).

Předpokládá se, že *T. forsythia* běžně obývá orální mikrobióm psů, zatímco bakterie *T. denticola* a *P. gulae* jsou přítomny pouze u psů s periodontálním onemocněním (Kačírová et al. 2022), kdy častou dominantní dvojicí jsou rody *Porphyromonas* a *Tannerella* spp. (Santibáñez et al. 2021). Rod *Porphyromonas* má schopnost pronikat do epiteliálních buněk, aktivovat produkci zánětlivých cytokinů, ovlivňovat přirozenou obranyschopnost imunitního systému a následně zhoršovat průběh periodontálního onemocnění (Kern et al. 2023).

Možný je však i případný přenos parodontálních druhů mezi lidmi a jejich psy (Yamasaki et al. 2012). Potvrzen byl na základě sekvenční analýzy možný přenos *Porphyromonas gulae* z majitele na zvíře, z čehož je třeba mít na paměti, že domácí zvířata mohou být potencionálními přenašeči některých parodontálních patogenů, proto je nutné omezovat jejich těsný fyzický kontakt a zajistit personální hygienu (Kačírová et al. 2022). Přítomnost patogenního druhu *Fusobacterium nucleatum* byla zjištěna i v placentě, což může mít negativní následky na celkový průběh březosti (Hajishengallis 2015).

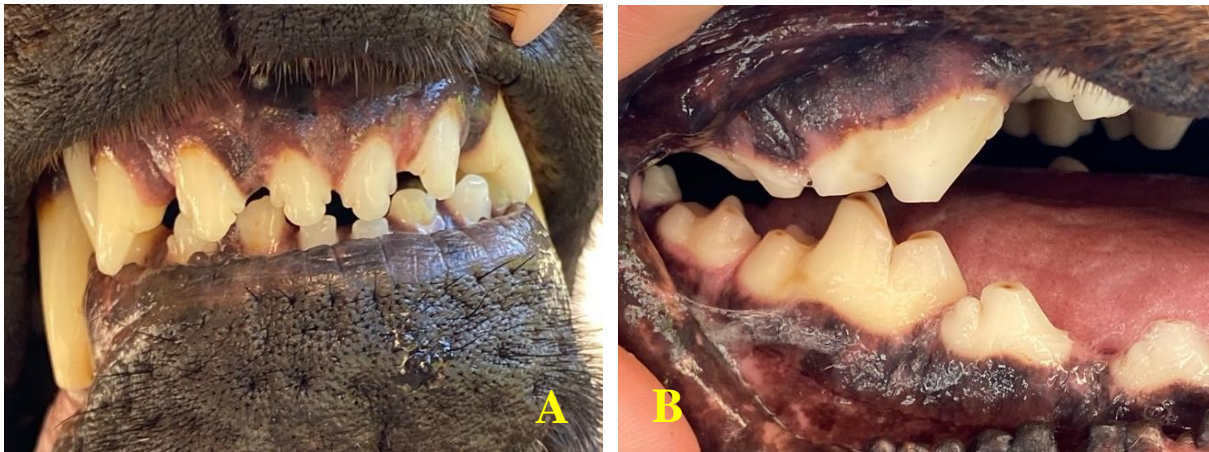
3.2.2 Zánět dásní

Gingivitida neboli zánět dásně (*gingivitis*) (Lobprise & Dodd 2019) lze na první pohled snadno rozpoznat zbarvením okrajové dásně. Zdravá daseň má totiž korálově růžové zbarvení (znázorňuje Obrázek 4) (Niemiec 2021), bohužel však u tmavě zbarvené dásně (viz Obrázek 5) je obtížnější tuto skutečnost posoudit (Niemiec et al. 2020). Ve valné většině případů se daseň na první pohled projevuje jako zanícená a při kontrole může spontánně krváčet. Časté krvácení však naznačuje již vysoký stupeň gingivitidy (Gorrel 2013). Zánět dásní se vyhodnocuje kombinací vizuální kontroly za současného použití periodontální sondy. Sonda se jemným dotykem přikládá k dásni na okraji každého zubu pro zjištění přítomnosti krvácení (Perrone 2021).

Zubní plak se na povrchu zubů objevuje do 24 hodin a je téměř v každém případě tvořen bakteriemi ústní dutiny (Niemiec et al. 2020). V primárních fázích je zánět stále reverzibilním dějem (Gorrel 2013), k obnovení zanícených dásní a zároveň k odstranění zubního plaku lze dosáhnout díky pravidelnému čištění za pomoci kartáčku (Holmstrom 2019). Při zánětu dásní není tedy potřeba antibiotické léčby (Gorrel 2013), avšak v případech pokročilejšího stádia je použití vhodných antibiotik na místě (Willis & Gabaldón 2020). Výskyt parodontálních mikroorganismů není omezen pouze na subgingivální kapsy (mezery mezi dásní a zubem), nachází se i na různých sliznicích v těle. Studie prokázaly přítomnost patogenů na bukalní sliznici, kde mohou sloužit jako rezervoár pro infekci tkáně (Wei et al. 2019). Mezi patogeny u psů řadíme nejčastěji *P. gulae* (71,2 %), *T. forsythia* (77,3 %) a *Campylobacter rectus* (66,7 %) (Yamasaki et al. 2012).



Obrázek 4 Korálově růžové zbarvení zdravé dásně (Převzato z Eickhoff 2020)



Poznámka: pes, doberman ve věku 8 let; (A) kraniální pohled na zuby, (B) laterální pohled
Obrázek 5 Tmavý pigment zdravé dásně, zdroj: autor BP

3.2.3 Parodontitida

Parodontitida (*parodontitis*) označuje zánětlivé onemocnění ústní dutiny způsobené bakteriálním povlakem na povrchu zubů (Albuquerque et al. 2012). Jedná se o výsledek neléčené nebo právě probíhající gingivitidy (Wallis et al. 2021) charakteristicky se projevující zánětem tkání obklopujících zub (Holmstrom 2019), ústupem dásní s postupnou gingivální recesí (odhalení krčků zubů), tvorbou parodontální kapsy (Niemiec et al. 2020), a nakonec i možnou ztrátou zubů (Van Dyke & Sima 2020). Mezi původce parodontitidy náleží bakterie *P. aerobicus* a *F. nucleatum*, které jsou mimo jiné schopné vytvářet biofilmy nejen v ústní dutině, ale také na různých površích (Jamal et al. 2018). Bez chirurgického zásahu je parodontitida nevratná, ale v rámci terapie je možno její příznaky alespoň zčásti zmírnit (Wallis et al. 2021).

Existují dvě kategorie, a sice chronická a agresivní parodontitida. Valná většina pacientů trpí právě chronickou parodontitidou (Sudhakara et al. 2018).

Chronická parodontitida je převážně způsobená přemnoženými gramnegativními anaerobními bakteriemi (Wiggs & Lobprise 1997) a je výsledkem chronického zánětu dásní,

obvykle v důsledku hromadění plaku a zubního kamene. Dásně reagují postupným oddělením od zubu, což dává v meziprostoru vzniku abnormální mezeře (kapse) (Coventry et al. 2000). Ve výsledku dochází k poškození parodontální tkáně různého stupně (Könönen et al. 2019). Přetrvávající zánět přispívá k progresi periodontální onemocnění (Cunha et al. 2022).

U chronické parodontitidy je diagnostika v mnoha případech bezbolestná, avšak pouhá prohlídka zubního chrupu je nedostatečná, a proto je vyžadováno specifických diagnostických metod (sondáž parodontu, rentgenový snímek) (Coventry et al. 2000).

Naopak agresivní parodontitida se vyznačuje svou rychlostí destrukce interproximálního vazivového úponu a ztrátou podpůrné alveolární kosti (Wei et al. 2019), za současného poškození nejméně tří zubů (Wallis & Holcombe 2020). Předpokládá se, že množství zubního plaku není přímo úměrné s rozsahem postižení, často bývá totiž u postižených zubů malá přítomnost plaku. Jak bude agresivní forma reagovat na konvenční parodontologickou léčbu není jasné, nicméně v porovnání s chronickou formou, je celková prognóza u pacientů daleko neuspokojivá (Singh et al. 2013).

3.2.3.1 Příčiny vzniku, příznaky, etiologie

Ústní mikrobiom je obzvláště komplexní a rozmanitý (Santibáñez et al. 2021), kdy se skládá ze dvou hlavních složek bakterií, a sice grampozitivních a gramnegativních bakterií (Sudhakara et al. 2018), díky čemuž se formuje rozmanité prostředí pro bakteriální komunity, které žijí v ústní dutině spolu s hostitelem v homeostáze (Sondorová et al. 2022). Z této skutečnosti vyplývá, že i v případě zdravého parodontu jsou na dásni neustále přítomny imunitní buňky podporující rovnováhu mezi (ústními) biofilmy a hostitelem (Darveau 2010). Pokud dojde z jakéhokoliv důvodu k narušení této rovnováhy, začnou mikroorganismy ulpívat na povrchu zubů, kde uvolňují toxiny, jež ve finále dráždí dásně a způsobují tak její zánět (Chandakavathe 2019). Počátek onemocnění nemusí být zcela jasný, avšak s postupem času se objevují určité příznaky dokazující bolestivost zubů. Zvíře mnohdy vykazuje patologické změny ledvin, myokardu, jater, jistý úbytek na hmotnosti, třepání hlavy nebo její tření o zem a v neposlední řadě abnormálně agresivní či jakkoliv úzkostný projev (Wallis & Holcombe 2020). Příležitostně se mohou taktéž objevit obtíže při příjmu potravy, přítomnost krve ve slinách (Holmstrom 2019), popřípadě krvácení dásní při čištění zubů nebo při hře s hračkami (Niemic 2011). Nicméně jedním z prvních příznaků, kterých si majitelé u psa všimnou, je nepříjemný zápach z úst (Holmstrom 2019). Zápach pochází především z povlaku jazyka, gingivální štěrbině nebo parodontálních kapes. Důvodem jsou mikroorganismy uvnitř plaku, příkladem je *P. gingivalis* nebo *Fusobacteria* – způsobují totiž hnilobu se současným uvolněním těkavých sirných sloučenin, zejména sulfidických (sirovodík, methylmerkaptan, dimethylsulfid) (Coventry et al. 2000), dále je uvolňován amoniak, bakteriální endotoxiny nebo proteolytické enzymy (Cunha et al. 2022).

Vstupní branou periodontálního onemocnění je právě orální dysbióza (Sudhakara et al. 2018), kdy jsou iniciátorem zejména bakterie, které se v ústní dutině spojují s matrix slinných glykoproteinů a extracelulárních polysacharidů za vzniku plaku, jenž následně přilne k povrchu zubu (Lobprise & Dodd 2019). Dysbiózou rozumíme škodlivou změnu v zastoupení jednotlivých složek mikrobiomu, které se odlišují svým složením. Změna může být v rámci vztahu mikrobiomu a hostitele, úbytku prospěšných symbiontů nebo zvýšení patogenního

potenciálu (Sudhakara et al. 2018). Právě samotná dysbióza v ústní dutině bývá často spojená s disregulací imunitního systému hostitele. Je známo, že produkce H_2O_2 je mechanismus, který využívají některé komenzální bakterie k potlačení přerůstání patobiontů (Herrero et al. 2018). Mimo jiné je ústní dutina psů místem časté akumulace zbytků potravy (angl. food debris) nebo impaktovaných chlupů. Děje se tomu tak na zubech nebo v prostoru mezi nimi. Takto nahromaděné zbytky potravy se mohou obdobně nazvat *materia alba* (bílá hmota) (Logan 2006). Jedná se o neorganizovanou žluto-bílou hmotu bez konkrétní struktury, kterou lze odstranit proudem vody nebo zubním kartáčkem. V dutině ústní je zejména tvořena odloupenými epitelii, krevními buňkami nebo náhodným shlukem mikroorganismů. Naopak histologicky strukturovanou a na povrchu zubu již pevně uchycenou hmotu reprezentuje zubní plak (Mutschelknauss & Diedrich 2002), jenž je zároveň rozhodujícím substrátem při počátku onemocnění (Logan 2006). Charakterizujeme jej jako organickou matrix skládající se z bakterií v ústech, buněčných zbytků, extracelulárních polysacharidů, lipidů a slinných glykoproteinů. Díky glykoproteinům a polysacharidům adherují bakterie k povrchu zubu (Lindhe et al. 1975). Mezi prvními se na nově vzniklém plaku objevují bakterie rodu *Streptococcus*, později se připojují další druhy nebo molekuly (slinné muciny, aglutininové glykoproteiny či glukany) (Rosan & Lamont 2000). Rozlišujeme supragingivální plak (naddásňový), který se formuje nad a podél gingiválního okraje a jeho složení se především skládá z grampozitivních aerobních organismů. Oproti tomu plak subgingivální (poddásňový), formován uvnitř dásňového žlábků (*sulcus gingivalis*), je tvořen gramnegativními anaerobními organismy (Mutschelknauss & Diedrich 2002).

Přítomná sklovinná pelikula na povrchu zubu, zastupuje úlohu tenkého filmu neboli kutikuly. Tato ochranná vrstva je složena z proteinů a glykoproteinů ze slin a gingivální krevikulární tekutiny (Logan 2006). Díky pelikule mohou bakterie adherovat na povrch zubu, a následně jej kolonizovat, což jim umožňuje setrvat na povrchu zubu navzdory mechanickým silám způsobenými jazykem nebo prouděním slinné tekutiny (Rosan & Lamont 2000). Bakterie poté absorbují vápenaté a fosfátové ionty ze slin, přičemž samy kalcifikují (Holmstrom 2019, Jamal et al. 2018). V případě, že se nahromaděný zubní plak neodstraní, stává se z něj postupně tvrdá, houbovitá hmota, a sice zubní kámen (*calculus dentis*) (Obrázek 6) (James et al. 2021). Tato tvrdá mineralizovaná slupka zubního plaku, se dále podílí na rozvoji gingivitidy a parodontitidy – nese totiž úlohu substrátu pro ukládání nového nemineralizovaného plaku (Assunção et al. 2021), čemuž je dáno díky zdrsňenému povrchu, na který se mohou bakterie lépe uchytit. Ke tvorbě zubního kamene může docházet do 48 hodin po usazení zubního plaku (Logan 2006). Taktéž jej podle lokalizace rozlišujeme na subgingivální a supragingivální. Zubní kámen lokalizován v supragingivální oblasti je zbarven žlutavě bílou, kdežto subgingivální zubní kámen vykazuje hnědé až černé zbarvení, v důsledku odbouraného hemoglobinu rozložených erytrocytů (Mutschelknauss & Diedrich 2002). Mimo jiné i sliny přispívají ke tvorbě zubního plaku a kamene. Psí sliny jsou přirozeně zásaditější než lidské, přičemž průměrné pH slin je 8,53. Při alkalickém pH se zvyšuje nasycení slin vápníkem a fosforem, které se stávají stavebními kameny pro tvorbu zubního kamene. Zásaditější pH slin pravděpodobně vysvětluje i absenci zubního kazu (Jank 2021).

Na nahromaděný a přetrvávající zubní plak reagují dásně zarudnutím (znázorněno na Obrázku 7) a otokem. Častá je tendence ke krvácení (Sanz et al. 2017). S postupujícím zánětem přestane dásně přiléhat k zubu a v meziprostoru se formuje kapsa. Při nedostatečné léčbě se

kapsa prohlubuje a v ní obsažené zbytky potravy zánět zhoršují (Holmstrom 2019). Parodontální kapsy tak vytvářejí optimální prostředí pro růst anaerobních proteolytických bakterií (Frédéric et al. 2018), které následně produkují několik metabolitů, zejména se jedná o amoniak a těkavé mastné kyseliny (Niemiec 2008). Tyto metabolity mohou spolu s jejich toxiny putovat v rámci krevního řečiště dále do těla zvířete, což následně vede k renálním, jaterním nebo kardiovaskulárním následkům (Cunha et al. 2022).

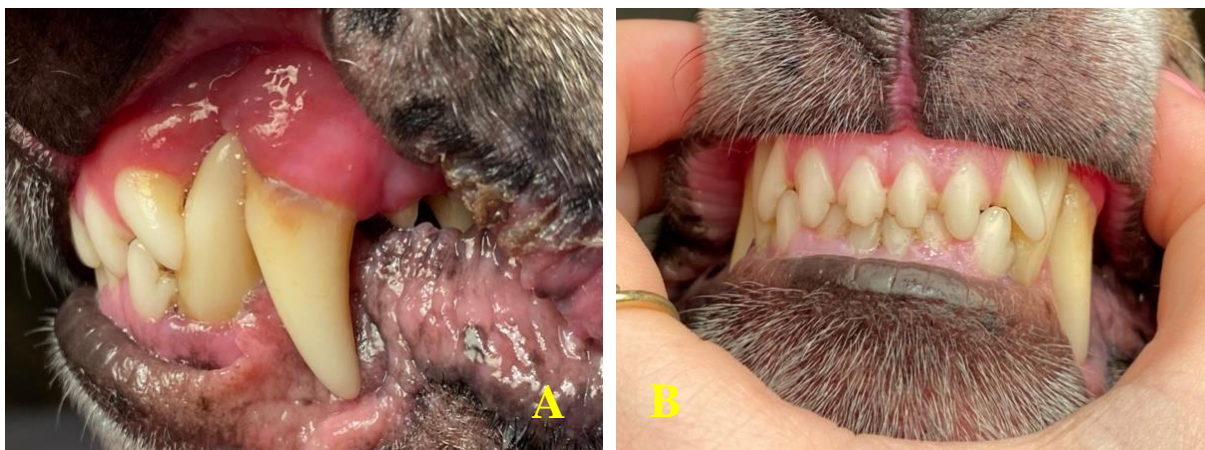
Systémové postižení organismu spouští zánětlivá kaskáda, a sice v reakci na bakteriální infekci. Obranný mechanismus organismu je poté povolán k zneškodnění subgingiválních bakterií. Bakterie a jejich škodlivé vedlejší produkty jsou však schopny prostoupit do krevního oběhu, zejména je tomu umožněno díky zvětšenému prostoru mezi buňkami štěrbinového epitelu a zvýšenou cévní propustností. Mimo bakterií mají vliv i vlastní zánětlivé mediátory jedince – cytokiny (Niemiec 2021).

Dalším rizikovým faktorem může být nedostatečná péče o chrup, taktéž i imunosuprese způsobená nesprávným podáváním léčiv nebo metabolická onemocnění ovlivňující systémové zdraví zvířete (Lobprise 2021). U lidí zaznamenáváme nekonečné množství rizikových faktorů, jako je kouření nebo žvýkání tabáku samotného, špatná ústní hygiena, hormonální změny u dívek/žen, ortodontické anomálie nebo systémová onemocnění, jako je AIDS, diabetes (Chandakavathe 2019), předčasný porod nebo kardiovaskulární onemocnění (Frédéric et al. 2018).



Poznámka: (A) lokalizace zubního kamene na špičáku (fena, havanský psík ve věku 12 let), (B) zubní kámen na čtvrtém premoláru (fena, miniaturní bulteriér ve věku 7 let)

Obrázek 6 Nános zubního kamene, zdroj: autor BP



Poznámka: fena, miniaturní bulteriér ve věku 7 let; (A) laterální pohled, (B) kraniální pohled na zuby
 Obrázek 7 Zarudnutá dásěň v reakci na nahromaděný zubní plak, zdroj: autor BP

3.2.3.2 Stádia, formy

Počátek onemocnění charakterizuje mnoho faktorů, včetně zubního plaku a společenství mikroorganismů přítomných na povrchu zubů (Santibáñez et al. 2021). Podle závažnosti poté rozlišujeme 4 stupně zánětu, přičemž každý z nich se vyznačuje zvýšenou parodontální destrukcí (Takedachi et al. 2022). V primárních fázích se na zubech nejprve nachází malé množství zubního plaku, avšak při jeho nahromadění dochází postupem času ke zhoršení stavu celého chrupu (Borilova et al. 2020). Zpočátku je přítomná gingivitida a postupně dochází ke tvorbě parodontální kapsy, následně k destrukci kosti a změny vzhledu ve furkaci, v důsledku čehož se zuby začínají více viklat (Stepaniuk 2019). Furkace (znázorněna na Obrázku 8) označuje místo, kde se spojují kořeny vícekořenových zubů, u nichž jsou častým místem ztráty attachmentu (dentogingivální spojení) (Zacher & Marretta 2022). Ve zdravé dutině ústní nejsou furkace viditelné ani výrazněji hmatatelné při kontrole. Expozice furkace se objevuje v důsledku recese dásní a úbytky kostní hmoty kolem zubů. Vzhledem k progresi parodontálního onemocnění je u těchto zubů častá extrakce (Perrone 2021).

Psi s genetickými predispozicemi k dysregulované imunitní odpovědi, mohou ovlivnit vývoj agresivní formy parodontitidy v rámci susceptibility (náchylnosti) k orální dysbióze (Borilova et al. 2020). Avšak bez ohledu na vysokou genetickou predispozici, parodontální onemocnění iniciuje zubní plak – a pokud není přítomen zubní plak, neexistuje ani infekce, která by odstartovala zánětlivou kaskádu (Niemiec 2021).

Stádium 1

Jedná se o výsledek reakce organismu na přetrvávající zánět dásní a orální dysbiózu (Tonetti et al. 2018). Samotná výška a vzhled alveolárního okraje je v normě (Lobprise & Dodd 2019). Mezi další viditelné příznaky řadíme tvorbu periodontálních kapes, taktéž lze detekovat aktivitu sérum – alanin aminotransferázy (ALT) (Whyte et al. 2014). První stádium tedy reprezentuje hranici mezi gingivitidou a parodontitidou, což nasvědčuje, že prevence a terapie přináší v primární fázi pozitivními výsledky nejen na dutinu ústní, ale i na celkové zdraví psa (Tonetti et al. 2018).

Stádium 2

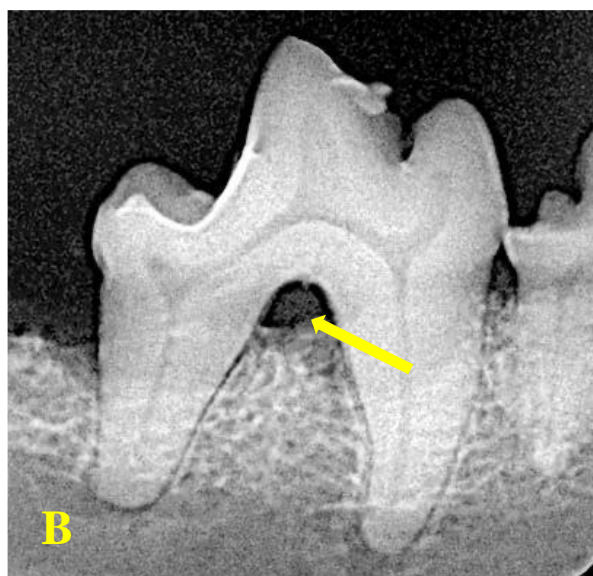
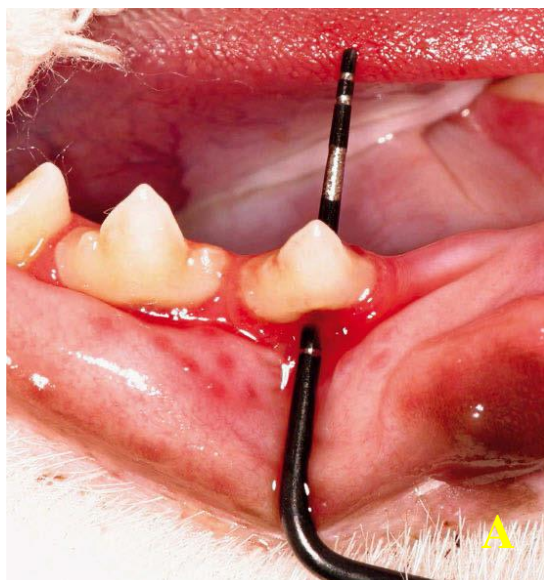
Díky včasnému radiologickému vyšetření lze detekovat známky počínající parodontitidy, která se v tomto stádiu většinou projevuje menší než 25% ztrátou attachmentu nebo případnou furkací u vícekořenových zubů (Lobprise & Dodd 2019). Při této fázi lze již provést vyšetření dutiny ústní, která ve výsledku identifikuje charakteristická poškození zubu. V rámci léčby se ve valné většině případů jedná o odstranění bakteriálního biofilmu s následným pozorováním vývoje onemocnění (Tonetti et al. 2018).

Stádium 3

Při třetím stádiu (zobrazuje Obrázek 9) je již přítomnost rozšířeného poškození tkání obklopujících zub, v důsledku čehož dochází ke vzniku hlubokých periodontálních lézí, které se, bohužel, rozšiřují až ke kořeni zubu, což mnohdy vede i ke ztrátě zubů (Tonetti et al. 2018). Ztráta attachmentu se pohybuje okolo 25–50 %, radiologickým vyšetřením jsou u vícekořenových zubů viditelná poškození furkací druhého stupně (Lobprise & Dodd 2019).

Stádium 4

Čtvrté stádium parodontitidy se vyznačuje zvýšenou viklavostí zubů z důvodu narušení značné části tkáně okolo zubu s jejich následnou ztrátou. Absence zubů poté vede ke ztížení žvýkacích schopností a obtíží spojených se samotným příjmem potravy (Tonetti et al. 2018). Ke ztrátě attachmentu dochází ve více jak 50 % (Lobprise & Dodd 2019).



Poznámka: (A) horizontální pohled na evaluaci úbytku kosti pomocí periodontální sondy, (B) šipka upřesňující lokalizaci furkace na rentgenovém snímku
Obrázek 8 Furkace (Převzato z Eickhoff 2020)



Poznámka: (A) pokročilá parodontitida na pravé straně, zuby jsou zcela pokryty vrstvou zubního kamene, plakem a chlupy – dásně jsou jasně červené s hnisavými usazeninami, (B) těžký ústup parodontálního úponu s pokročilou osteolýzou a furkacemi

Obrázek 9 Třetí stádium parodontitidy (Převzato z Eickhoff 2020)

3.3 Diagnostika

Úvodní diagnostika se zejména zaměřuje na vizuální hodnocení chrupu psa v kombinaci s předoperačními testy, odhalujícími případné zdravotní komplikace, které mohou zhoršit bezpečnost anestezie (např. kardiopulmonální onemocnění, anémie, hepatopatie). Zvláště se věnuje pozornost dásním – zdali je přítomný jejich zánět, a pokud ano, tak v jakém rozsahu. Dále se věnuje pozornost zubnímu plaku, zubnímu kameni, zjevným známkám ústupu dásně, viditelnosti a míře obnažení kořenů zubů. V neposlední řadě se při konzultativním vyšetření dutiny ústní věnuje pozornost všem zjevným patologickým změnám – pohyblivým či již chybějícím zubům. Nutno zmínit, že absence zubů nemusí být nutně důsledkem parodontálního onemocnění, v těchto případech tomu tak může být z důvodu extrakce (zlomenina, resorpce zubu) nebo se jedná o vrozený problém (Wallis & Holcombe 2020, Niemiec 2021).

Samotná diagnostika parodontitidy je založena na klinických a radiografických informacích o parodontální stavbě a případném úbytku alveolární kosti (Tonetti et al. 2018). Důležitým prvním krokem je periodontální sondáž, optimálně i pořízení rentgenového snímku, který umožňuje přesně určit rozsah onemocnění. Zejména u psů malého plemene, je rentgenový snímek velmi nápomocný. Pomáhá lékaři nepřehlédnout periodontální kapsy nebo rozpoznat zuby určené k extrakci (Niemiec 2011). Závažnost neboli stupeň onemocnění se nejčastěji diagnostikuje kombinací vizuálního pozorování a vyšetření dutiny ústní parodontální sondou (Gorrel 2013).

Periodontální sondy se při diagnostice využívají k sondáži dásňového žlábků (*sulcus gingivalis*) a parodontálních tkání (Obrázek 10). Typická sonda má kulatý nebo plochý konec s kalibrovanou stupnicí v milimetrech, která umožňuje měřit hloubku dásňového žlábků a identifikovat případné problémy, jako je zánět dásní, expozici furkace nebo pohyblivost zubů (Kirby & Miller 2018, Perrone 2021). Dále se při diagnostice psího chrupu využívají zubní explorátory/ průzkumníky. Jedná se o nástroje s ostrým koncem, který může být rovný nebo zakřivený. Průzkumníky se různí tvarem a ostroostí hrotu (blíže na Obrázku 11). Své využití nachází v rámci kontroly zubního kazu, plaku, zubního kamene nebo defektů skloviny (Kirby & Miller 2018).

K předběžnému všeobecnému posouzení zdraví zubů a ústní dutiny se využívá různých indexů: gingivální index (GI) index plaku (PI), index zubního kamene (CI), index orálního zdraví (OHI), index krvácení z dásní (GBI) a koncentrace těkavých sirných sloučenin (VSC). Bodovací systém se pohybuje od 0 do 3, přičemž 0 je normální (Gawor et al. 2018, Niemiec 2011).

Gingivální index

GI neboli index krvácivosti dásní se hodnotí následovně: (GI0) – zánět dásní není přítomen, (GI1) – mírný zánět a změna barvy, žádné krvácení při kontrole, (GI2) – mírný zánět a krvácení při sondování, (GI3) – těžký zánět se spontánním krvácením do dásní (Niemiec 2011, Perrone 2021).

Plakový index

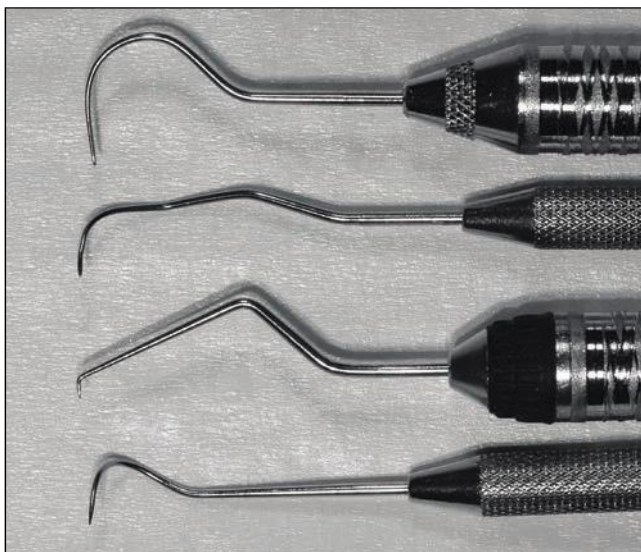
PI hodnotí přítomnost plaku na povrchu každého zubu: (PI0) – pro oko není plak na povrchu zubu viditelný, za pomoci sondy ano, (PI1) – plak pokrývá méně než jednu třetinu povrchu, (PI2) – znamená, že oblast dásní je pokrytá tenkou až středně silnou vrstvou plaku, (PI3) – plak pokrývá více než dvě třetiny povrchu zubu a vyplňuje oblast dásňového žlábků (Niemiec 2011, Perrone 2021).

Index zubního kamene (angl. calculus index)

CI posuzuje zubní kamene: (CI0) – na povrchu není viditelný žádný zubní kámen, (CI1) – zubní kámen pokrývá méně než jednu třetinu povrchu a maximálně 0,5 mm na šířku nebo tloušťku, (CI2) – nejvýše 1,0 mm, sahající jen mírně pod volný gingivální okraj, (CI3) – podkrytí více než 2/3 zubu přesahující 1,0 mm na šířku nebo tloušťku nad nebo pod linkou dásně (Niemiec 2011, Perrone 2021).



Obrázek 10 Sondáž dásňového žlábků (*sulcus gingivalis*) periodontální sondou (Převzato z Perrone 2021)



Obrázek 11 Rozdílné zakřivení a ostrost hrotů zubních explorátorů (Převzato z Reiter & Gracis 2018)

Spolehlivým ukazatelem celkového zdraví ústní dutiny je gingivální krevikulární tekutina (GKT) (Obrázek 12), která zastupuje velmi specifickou tekutinu přítomnou v ústní dutině, konkrétně v dásňovém žlábků. Často se jedná o proteiny (albumin, transferin, imunoglobulin G), subgingivální mikrobiální plak a jeho bakterie, deskvamované epitelální buňky, tkáň, zánětlivé faktory (cytokiny, fosfatázy, proteázy). Jinými slovy lze GKT také identifikovat jako exsudát, který je přítomný při zánětu, anebo jako tkáňový transudát při homeostáze (Griffiths 2003, Khurshid et al. 2017).

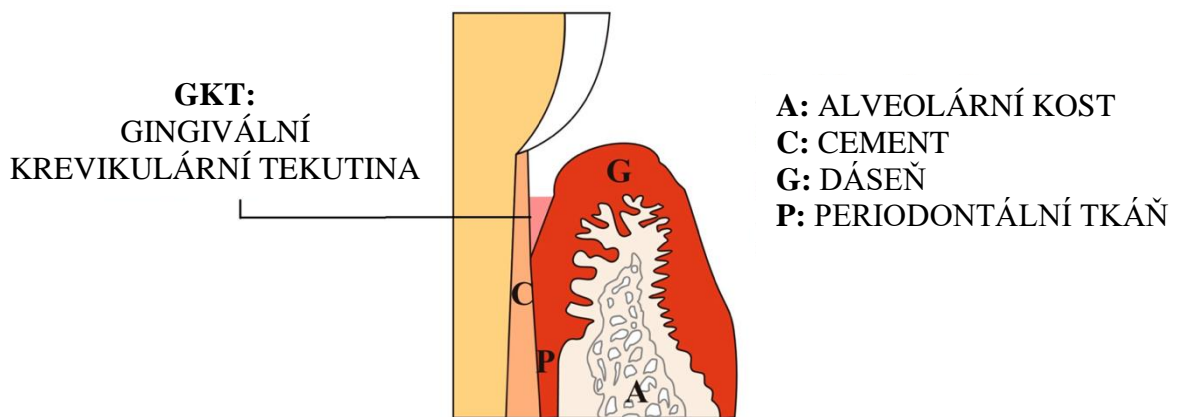
Rovněž i sliny jsou slibné pro diagnostiku periodontálního onemocnění, a sice z důvodu jejich snadné dostupnosti a možnosti opakovaného odebrání vzorků za využití neinvazivních metod, které by mohly být pacientovi nepříjemné. Totiž při zánětu jsou slinná alfa amyláza spolu s mucinem známými biochemickými parametry. Alfa amyláza se podílí na vzniku získané sklovinné pelikuly, zároveň se účastní na kolonizaci a metabolismu bakterií zodpovědných za vznik zubního plaku. Součástí slin je také lysozym, jenž kolonizaci bakterií snižuje a sám o sobě vykonává antimikrobiální aktivitu (Perazzi et al. 2022). Reaguje především s peptidoglykany, čímž zahajuje proces rozkladu buněčné stěny bakterií (Cunha et al. 2022).

V rámci diagnostiky je nutno detekovat výskyt biofilmu v různých oblastech ústní dutiny, osvědčená metoda dle Logan & Boyce (Marshall-Jones et al. 2017) využívá přesné lokalizace biofilmu aplikací speciálních barviv – jódu, genciánové violeti, erytrozinu, bazického fuchsínu, potravinářských barviv, fluoresceinu nebo dvoubarevných odhalovačů ve formě tablet, roztoků, pastilek či ústních výplachů. Po aplikaci barviva se zasažené oblasti biofilmem charakteristicky zabarví (Obrázek 13) (Fasoulas et al. 2019), intenzita je hodnocena na třibodové stupnici následovně: 1 = růžová (žádný biofilm), 2 = červená (nový biofilm), 3 = fialová (starý biofilm) (Marshall-Jones et al. 2017). Často je tomu tak v místech, kde se přirozený proces samočištění jazykem a slinami není schopen efektivně uplatnit (Fasoulas et al. 2019).

Méně využívanou diagnostickou metodou je test OraStrip: ten reaguje na přítomnost thiolů, neumožňuje však určit stupeň onemocnění (Holmstrom 2019). Za thiole považujeme

produkty anaerobních bakterií přítomných při parodontitidě. Výsledek testovacími proužky se objeví během 10 sekund jejich zabarvením. Bez použití testovacích proužků je diagnostika onemocnění možná pouze při plné anestezii zvířete (Lobprise & Dodd 2019).

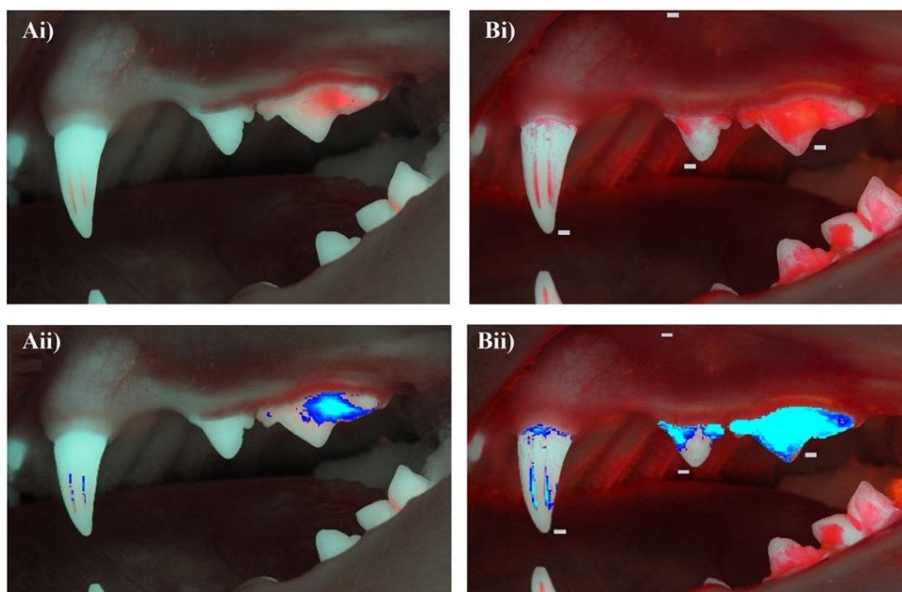
Lepší výsledky ve srovnání s modifikovanou Logan & Boyce metodou (hodnotící index zubního plaku) přináší novější planimetrická metoda – kvantitativní světlem indukovaná fluorescence (QLF™). QLF snímá obraz s následnou počítačovou analýzou za současného využití přirozených fluorescentních vlastností plaku a zubní skloviny. Fluorescence je viditelná až po osvětlení chrupu neškodným modrým světlem, na které reagují některé ústní bakterie a v nich obsažené porfyriny červeným zářením (Obrázek 14). Výsledkem je procentuální index plaku (PPI) (Fasoulas et al. 2019).



Obrázek 12 Znázornění lokalizace krevikulární tekutiny (Převzato z Khurshid et al. 2017)



Obrázek 13 Charakteristické fialové zabarvení zasažených oblastí biofilmem (Převzato z Cunha et al. 2022)



Obrázek 14 Ústní bakterie vykazující červené záření vlivem porfyrinů (Převzato z Marshall-Jones et al. 2017)

3.3.1 Preventivní opatření (očista zubů, stravovací a životní styl)

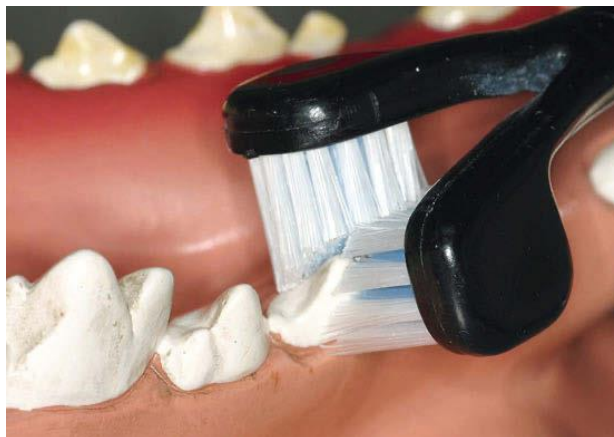
K redukci zubního plaku lze využít jak mechanických, tak chemických technik. Fyzické odstranění biofilmu zubního plaku se však stále jeví jako jedna z neúčinnějších metod (Darveau 2010). Zlatou střední cestou v redukci zubního plaku je však čištění zubů kartáčkem (Enlund et al. 2020), které by se u psích pacientů mělo započít již ve věku šesti měsíců. Jednoduše proto, že majitel tak získá náskok před onemocněním a zvíře díky brzkému věku snadněji přilne k péči o zuby (Niemiec 2021). Dostačující je použití nylonového kartáčku s měkkými štětinami. Prstové kartáčky se nedoporučují, a to z důvodu nedostatečné masáže subgingivální oblasti zubů a možného rizika pokousání majitele. Substitucí jsou lidské zubní kartáčky s měkkými štětinami a trh nabízí i oboustranné kartáčky, které přispívají k lepší technice čištění vzhledem k morfologii zubu (přiblíženo na obr. 15) (Gawor & Niemiec 2021). Eventuálně lze použít i mechanické (sonické a rotační) zubní kartáčky (Cunha et al. 2022), ale je u nich obava z vibračního pohybu, který nemusí být psům zcela příjemný (Gawor & Niemiec 2021). Technika čištění poté spočívá v aplikaci krouživých pohybů s nakloněným kartáčkem v úhlu 45–60° (Cunha et al. 2022). U pacientů, kteří disponují zdravou ústní dutinou, se pro zachování stavu doporučuje čištění zubů minimálně 3x týdně, frekvence 1x za týden se považuje jako nedostatečná. V případě již prokazaného gingiválního zánětu nebo periodontálního onemocnění je nutná každodenní intervence, optimálně i dvakrát denně (Gawor & Niemiec 2021). Platí, že čím vyšší frekvence je čištění zubů, tím účinnější je redukce zubního plaku (Cunha et al. 2022). V kombinaci s řadou veterinárních zubních past, často obsahujících chelátor vápníku, lze zvýšit účinnost boje proti zubnímu plaku a kameni. Je třeba mít ale na paměti, že zubní plak není z velké části patogenní, a tak není možné považovat zubní pastu jako velkého hráče při boji proti zubnímu plaku a zánětu dásní (Gawor & Niemiec 2021).

U psů se v rámci prevence proti periodontálnímu onemocnění nabízí také použití probiotik. Ta mohou pozitivně působit k udržení zdravého mikrobiomu dutiny ústní nebo

mohou být použita s konvenční léčbou u vzniklých případů (Cunha et al. 2022). Probiotika jsou živé mikroorganismy, a pokud jsou podávány s rozvahou, poskytují hostiteli zdravotní výhody (Mirghani et al. 2022) O úloze probiotik se uvažuje v rámci jejich obecné schopnosti inhibice tvorby bakteriálních biofilmů. Jedná se o redukci virulence patogenních bakterií, potlačení QS systémů, tvorba antiadhezních látek nebo změna optimálního prostředí biofilmu změnou pH, výživy nebo gradientu kyslíku (Mirghani et al. 2022). Cílem úpravy ústní mikrobioty je eliminace konkrétních potenciálně patogenních bakterií za pomoci probiotických bakteriálních kmenů u lidí. Rod *Porphyromonas* spp. byl identifikován jako nejčastěji se vyskytující patogen u psů a koček. Mimo jiné produkují probiotické bakterie i antibakteriální látky, jako je peroxid vodíku, kyselina mléčná a bakteriociny (Haukioja et al. 2006). Bakteriociny mohou způsobovat u patogenů lýzu vytvořením pórů do buněčných stěn. Kyselina mléčná mění pH v mikroprostředí biofilmu a potlačuje různé signalizační systémy (Mirghani et al. 2022). Přirozeně se v mléčných výrobcích vyskytující některé druhy *Lactobacillus* a *Bifidobacterium* mají schopnost přilnout ke sliznici ústní dutiny a zubů (Haukioja et al. 2006).

V současné době je k dispozici řada výživových produktů, které obsahují specifické složky určené k úpravě mikrobioty ústní dutiny se zaměřením nejen na prevenci tvorby zubního plaku, ale také na snížení halitózy. Mezi tyto složky náleží: zinečnaté soli (organické i anorganické), které mají určité bakteriostatické vlastnosti, esenciální oleje (eukalyptus) a čajové polyfenoly. Jedinou obavou při používání zinečnatých solí u psů je potenciální toxicita zinku. Doporučení FEDIAF stanovilo zákonný bezpečnostní limit zinku na 227 mg/kg sušiny krmiva pro dospělé psy (Jank 2021). Další možností je specializovaná terapie proresolving, která umožňuje lipidovými mediátory obnovit mikrobiom jedince a navrátit tak mikrobiální dysbiózu do původního stavu (Van Dyke & Sima 2020).

Krmení je základním prvkem domácí péče, a tedy i vzájemná souhra mezi stravou a nutričním složením může ovlivňovat prostředí v ústní dutině, včetně tvorby zubního plaku (Cunha et al. 2022). Změny mohou být zaměřeny na mikrobiom ústní dutiny, pH, obsah minerálních látek a stav imunity. Předpokládá se, že změna pouze jednoho z výše uvedených prvků, by mohla pozitivně ovlivnit výsledek onemocnění (Jank 2021). Konzistence (textura) krmiva má na změny v ústní dutině vliv, zvláště pak měkká (tj. mletá) strava způsobuje větší hromadění zubního plaku (Clarke et al. 2010). Příjmem suché granulované stravy podporuje pes mechanickou abrazi povrchu zubu. Rovněž se nabízí určité veterinární diety, jež regulují



Obrázek 15 Oboustranný zubní kartáček (Převzato z Eickhoff 2020)

zubní plak obsahem vlákniny nebo přidáním polyfosfátů. Totiž ve slinách obsažený uhličitan vápenatý je polyfosfáty navázán, a tím je na zubech zabráněno vzniku mineralizovaných usazenin, a tedy zubnímu kameni (Stepaniuk 2019). Suchá krmiva ke snížení hromadění plaku potahují látkou ze skupiny askorbátfosforečnanu sodného, která je příbuzná kyselině askorbové (vitaminu C). Snižít hromadění zubního plaku tak lze nejen díky speciálnímu složení suchých granulí, ale také působením specifických složek do krmiva přidávaných (Clarke et al. 2010). Po mnoho let se postulovalo, že nižší množství zubního plaku je důsledkem „přirozené potravy“, a ačkoliv se to zdá být rozumné, nejsou publikovány žádné údaje založené na důkazech, které by toto tvrzení potvrzovaly (Marx et al. 2016).

Vyjma speciálních diet existuje při péči o ústní dutinu celá řada nejrůznějších žvýkacích pamlsků, často navrženy tak, aby podporovaly žvýkání a umožňovaly mechanické čištění povrch zubu. Mnohdy obsahují přísady různých chemických sloučenin, např. chelátory vápníku nebo jiné látky, které na sebe vážou těkavé sloučeniny způsobující halitózu a zvyšují tak účinnost proti zubnímu plaku (Gawor & Niemiec 2021). Mnoho nabízených žvýkacích pamlsků (kravská kopyta, řeznické kosti, paroží) má velmi tvrdou strukturu, což často vede ke zlomení zubu, endodontickému onemocnění a skrytým periapikálním infekcím. Dobrým pravidlem pro kontrolu bezpečnosti těchto pamlsků lze jednoduše provést nehtem. Pokud nemůžeme udělat do výrobku nehtem důlek, je příliš tvrdý a jeho použití bychom měli zvážit (Nemec et al. 2013, Stepaniuk 2019). Řada výrobků (granule, pamlsky, ústní vody aj.) v tomto segmentu získala certifikát VOHC (Veterinary Oral Health Council). Posláním Veterinární Rady je přezkoumávat produkty pro účinnou kontrolu zubního plaku a zubního kamene v ústní dutině (Gawor & Niemiec 2021). Trh nabízí s tímto označením řadu produktů a jedním z nich je Plaque Off™, obsahující mořskou řasu chaluhy bublinaté (*Ascophyllum nodosum*). Ve formě prášku se přidává do krmné dávky a její účinek spočívá ve stimulaci obranného systému ústní dutiny a změně obsahu slin (Gawor et al. 2018).

Vápník je prvkem vyskytujícím se ve vysokém množství ve slinách. Jednou z nabízených strategií kontroly tvorby zubního kamene je chelatace vápníku polyfosfátovými solemi, důležitý je také typ chelatační látky např. hexametafosforečnan sodný snížil po jednom měsíci podávání usazování zubního kamene o 36 % a tripolyfosforečnan sodný o 55 % (Jank 2021).

Při použití chemických sloučenin dochází k zásahu do složení a metabolismu biofilmu. Chemické sloučeniny totiž narušují polymikrobiální biofilm nebo přímo zabraňují samotné tvorbě biofilmu (Anil et al. 2016).

Často využívanou sloučeninou je chlórhexidin (CHX). Zmíněným CHX rozumíme kationický biguanid, který narušuje buněčnou stěnu bakterií a sráží jejich cytoplazmu. Mimo jiné se vyznačuje i antimykotickými a antivirovými vlastnostmi (Ray & Eubanks 2009). Existují glukonátové a acetátové ústní výplachy s 0,1–0,12% obsahem CHX. K dispozici je také v podobě gelů nebo zubních přípravků. Avšak jeho použití s sebou nepochybně přináší i negativní aspekty. Činí tak nepříjemná hořká chuť, ale i samotná aplikace CHX by měla být směřována na povrch zubů s vynecháním tkání, neboť je pravděpodobné, že přímý kontakt se sliznicemi a užití ve vysokých koncentracích způsobuje závažné podráždění (Stepaniuk 2019), pozorována je i ztráta chuti, zvýšená mineralizace plaku či pigmentace skloviny (Cunha et al. 2022). Trh nabízí veterinárně značený orální gel s askorbátem zinečnatým, který se svými účinky prokázal ve snižování množství zubního plaku a zánětu dásní. Přijetí v tomto podání by

mělo působit pozitivně, a to i díky absenci hořké chuti. V neposlední řadě obsahuje kyselinu askorbovou podporující syntézu kolagenu (Gawor & Niemiec 2021).

V humánní stomatologii byl v roce 2014 38% fluorid diamin stříbrný (SDF) Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv schválen jako lokální léčba a od té doby se rutinně zařadil do praxe a zároveň na seznam základních léčiv Světové zdravotnické organizace (WHO). SDF tedy zastupuje jeden z předních prvků využívaných v mnoha přípravcích v prevenci a v boji proti zubnímu kazu (Kern et al. 2023). V upravené vodě se fluorid z gastrointestinálního traktu vstřebává a je distribuován do celého těla, což s sebou přináší určité riziko toxicity (Cunha et al. 2022). Zejména nadměrné požití může být smrtelné, z tohoto důvodu je důležité aplikovat vyšší koncentraci fluoridu přímo na izolované zuby a minimalizovat tak absorpci měkkými tkáněmi (Stepaniuk 2019). Dle farmakokinetické studie u lidí ale SDF při případném požití gastrointestinálním traktem riziko toxicity nepředstavuje. Předpokládá se tak, že i ve veterinární medicíně vlastní SDF potenciál v bezpečné a účinné preventivní terapii nebo již reálné léčbě periodontálního onemocnění (Kern et al. 2023). Nicméně vzhledem k nižší frekvenci výskytu zubního kazu u domácích zvířat, nachází fluorid své využití v rámci lokální aplikace (ve formě gelů nebo pěn), kdy působí antibakteriálně a snižuje přecitlivělost zubů (Stepaniuk 2019). U lidí studie zjistila, že SDF účinně inhibuje růst rodu *P. gingivalis*, avšak známým nežádoucím účinkem je jeho schopnost nenávratně zbarvit ošetřené místo do černa (Kern et al. 2023).

3.3.2 Konvenční terapie (odstranění biofilmu, antibiotická léčba)

Léčba biofilmových infekcí vyžaduje multidisciplinární spolupráci – klinické mikrobiologie, chirurgie, interní medicíny či farmakologie (Wu et al. 2015). K odstranění biofilmu je třeba vynaložit značné úsilí v rámci užití správných antibiotik či aplikace enzymů rozkládajících extracelulární matrix, neboť bakterie usazené v biofilmu jsou odolnější než samotné planktonní buňky (Sedarat & Taylor-Robinson 2022). Silná fyzikální bariéra neumožňuje antibiotikům proniknout do biofilmu, čehož bakteriální buňky využívají k přežití za přítomnosti antibiotik (Prashanth et al. 2023). Biofilm je pevně přirostlý k okolní tkáni, rezistentní vůči biocidům a je schopen unikat lokální imunitní odpovědi organismu (Attinger & Wolcott 2012). Výsledky konvenční léčby parodontálního onemocnění (kontrola biofilmu, zlepšení ústní hygieny, mechanické odstraňování zubního plaku, použití lokálních nebo systémových antimikrobiálních látek), se neprokázaly jako zcela účinné (Kowalski et al. 2022).

Debridement je důležitou součástí antibiofilmové terapie spočívající v odstranění kontaminované, přirostlé a neživé (až nekrotické) tkáně a kůže z rány a jejího okolí (Ousey & Ovens 2023). Běžnou metodou je hydrochirurgický debridement, při němž se využívá ultrazvukového proudu vody. Tento chirurgický zákrok zlepšuje průtok krve v místě rány a podporuje růst granulační tkáně (Kovacs et al. 2023). Díky takto ošetřené tkáni se odstraní přítomné bakterie a biofilm. Včasný debridement účinně potlačuje cyklus tvorby biofilmu (Ousey & Ovens 2023). Na rány se také připouští použití obvazů obsahujících povrchově aktivní látky, včetně roztoků a gelů, které umožňují změkčení, rozpouštění a snadnější oplachování exsudátu a nečistot z rány vodou (Percival et al. 2018). Výsledkem je menší poškození tkáně při čištění, což napomáhá vlastnímu procesu reparace tkáně (Hengzhuang et al. 2011).

Léčba parodontálního onemocnění si žádá jistou profylaxi v rámci profesionálního odstranění supragingiválního nebo subgingiválního zubního plaku a zubního kamene. Tento proces lze provádět manuálně kombinací škrabky a kyret nebo mechanicky za pomoci odstraňovače zubního kamene (ultrazvuku) (Fernandes et al. 2012, Cunha et al. 2022). Běžně se využívají dva typy subgingiválních kyret: Gracey kyrety a scalery. Existují dva hlavní podtypy ultrazvuků: magnetrostrikční a piezoelektrické generátory, přičemž oba jsou poháněny elektrickým pohonem a vibrují přibližně při 25 000–45 000 Hz (Niemiec 2021). Díky vysokým vibracím působí na zubní kámen a biofilm mechanická síla, která způsobuje jejich rozdrčení (Barry & Kanematsu 2015). Zuby se posléze vyleští a na oblast v okolí dásňového žlábků se nanese 0,9% fyziologický nebo 0,12% roztok chlorhexidinu (Fernandes et al. 2012). Cílem profesionální očisty jsou čisté a hladké zuby (vyobrazuje Obrázek 16), přičemž je třeba poznamenat, že veškeré úkony jsou prováděny v celkové anestezii (Niemiec 2021).



Poznámka: fena anglického kokršpaněla ve věku 3 let

Obrázek 16 Výsledek čištění zubního kamene za pomoci ultrazvuku, zdroj: autor BP

3.3.3 Nové přístupy v léčbě bakteriálních biofilmů

Antibiotika vytvářejí příznivé podmínky pro přemnožení některých bakterií. K bakteriálním infekcím jsou všeobecně náchylnější pacienti ve vyšším věku nebo pacienti postižení chronickým onemocněním či imunodeficiencí (Reiter & Castejon-Gonzales 2018).

Vlivem selekčního tlaku došlo k vývoji určitých fenotypů bakterií. Patogeny ESKAPE (*E. faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* a *Enterobacter* spp.) disponují rezistencí vůči antibiotikům, a to i ve vysokých koncentracích. Bohužel je tato rezistence důsledkem pochybení v aplikaci zejména širokospektrálních antibiotik (Sahli et al. 2022, Kumar et al. 2023). Příkladem neúspěšných antibiotik jsou perorálně podávané beta-laktamy, chinolony, aminoglykosidy nebo makrolidová antibiotika (Mirghani et al. 2022). Ve světě k šíření bakteriální rezistence vůči antibiotikům přispívá všeobecná zvýšená mobilita dnešní společnosti. Počet domácích zvířat se v dnešní době také výrazně zvýšil, ale ve srovnání s potravinovými zvířaty se jim v šíření bakteriální rezistence nevěnuje tolik pozornosti (Reiter & Castejon-Gonzales 2018).

Již více než 50 let nabízí zdravotnictví terapii za využití bakteriofágů. Bakteriofágy replikují své DNA v bakteriích, případně způsobují jejich lýzu (usmrcení), a sice i takových bakterií, které jsou vůči antibiotikům rezistentní důsledkem fyzikálních, chemických a genetických faktorů (Wu et al. 2015, Gordon & Ramirez 2024). Ve srovnání s výzkumem a zaváděním nových antimikrobiálních látek, je izolace nových fágů, co se rychlosti a ceny týče, výhodnější variantou oproti konvenční antibiotické léčbě. Bakteriofágy nenarušují lidské či zvířecí buňky (Gordon & Ramirez 2024), zároveň nezasahují do složení přirozeného mikrobiomu, kdežto vlivem antibiotik velmi často dochází k dysbióze mikrobiomu (Kowalski et al. 2022).

Prvotní studie fágů pocházejí z počátku roku 1915, kdy Frederick W. Twort popsal existenci faktoru, který rozpouští bakteriální kultury (Twort 1915). V roce 1995 provedli Doolittle a kolektiv první případovou studii, kdy byl k odstranění biofilmu vylučovaného *E. coli* použit virus Escherichia T4, obecně známý jako fág (Doolittle et al. 1995). Nástupem antibiotické léčby ve 40. letech 20. století upadla fágová terapie do pozadí zájmu. V dnešní době ale přetrvávající problém multirezistentních bakterií přivedl paradoxně pozornost zpět k terapii za pomoci bakteriofágů (Gordon & Ramirez 2024).

Bakteriofágy (fágy) jsou viry, které cílově infikují bakterie bez napadení jiných mikroorganismů (Kovacs et al. 2023). Objeveno bylo již více než 5000 fágů, přičemž většina z nich náleží třídě *Caudoviricetes*. Fágy se považují za baktericidní, je tomu tak díky jejich vykazující aktivitě proti multirezistentním bakteriím, která se od antibiotik odlišuje (Gordon & Ramirez 2024). Pronikají totiž do EPS matrix, kam se antibiotika nedostanou (Kovacs et al. 2023). Na hostiteli jsou fágy vlastní replikací závislí a současně tato vysoce specifická interakce závisí na receptorovém vazebném proteinu, který je umístěn na ocasním vlákne (Chang et al. 2022). Genom bakteriofága se replikuje v bakteriální cytoplazmě, přičemž způsobuje lýzu bakteriální buňky za současného uvolnění nových virionů (Kovacs et al. 2023).

Fágy lze v závislosti na průběhu infekce rozdělit na dva typy: lytické (virulentní) a lyzogenní (mírné) (Gordon & Ramirez 2024). Lytické fágy se spoléhají na buněčný mechanismus hostitele, ve kterém se replikují a přepisují fágové proteiny. Po úspěšném dozrání potomstva dochází k uvolnění nově vytvořené částice fága a hostitel hyne (Kovacs et al. 2023). Lyzogenní fágy při infekci začleňují svůj genom do chromozomu hostitelské bakterie vytvořením latentního stavu – profág. Jako součást bakteriálního chromozomu se replikují prostřednictvím buněčného dělení a v latentním stavu vyčkávají až do doby, kdy se stresem nebo poškozením buňky lytický cyklus opětovně aktivuje (Kovacs et al. 2023, Gordon & Ramirez 2024). Průnik fágů do biofilmu se uskutečňuje pomocí dvou hlavních enzymů –

depolymerázy a lyziny. Rozkládají kapsulární polysacharidy, respektive peptidoglykany tvořící stěnu bakteriální buňky. Lyziny, jakožto hydrolytické enzymy, jsou obecně produkované na konci fágového lytického replikačního cyklu. Kromě schopnosti rozkládat stěny bakterií, mohou lyziny rozkládat i extracelulární polymerní matrix biofilmu, díky čemuž se naskytuje možnost zaměřit se na přidržené bakterie zde přítomné (Chang et al. 2022).

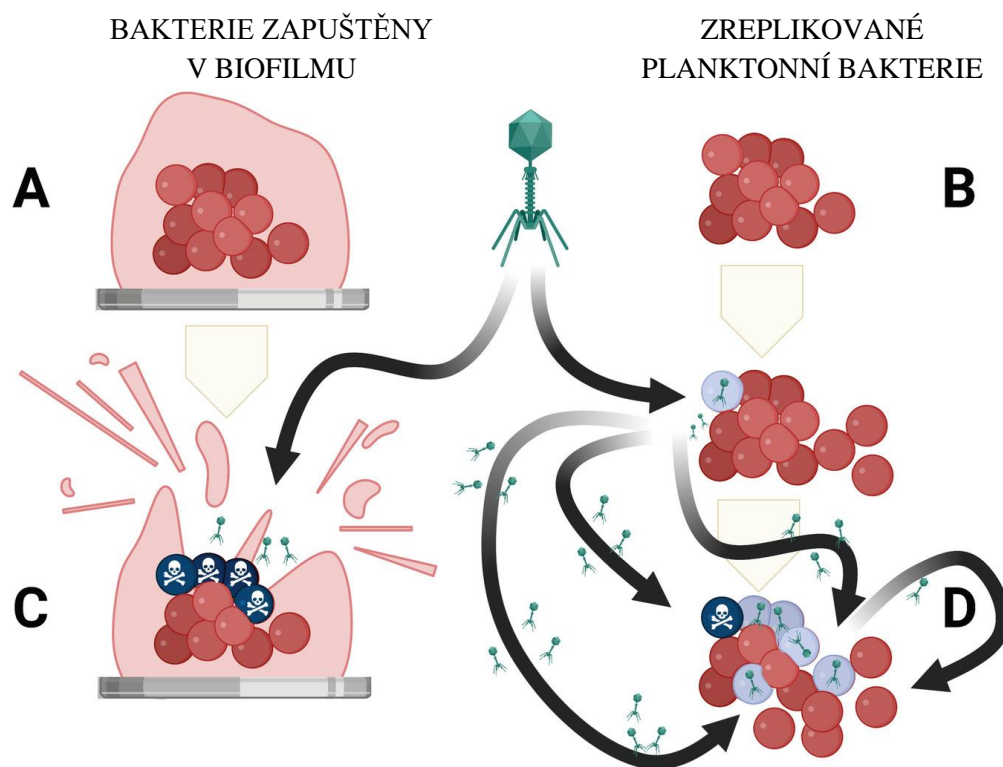
Bakteriofágová terapie (ilustruje Obrázek 17) zahrnuje přípravu jednoho fága, případně směsi různých fágů jsou známé jako fágové koktejly. Širší rozsah fágů, s jimiž mohou bakterie integrovat, má potenciál oddálení vzniku rezistentních bakterií. Vzhledem k multibakteriálnímu společenství biofilmů je koktejlová terapie žádanější. Po strukturní úpravě či po spojení s jinými antimikrobiálními sloučeninami, by mohly fágy vytvořit geneticky modifikované nebo kombinované terapie (Chang et al. 2022).

Přestože se fágová terapie již nějakou dobu nabízí jako alternativní léčba biofilmů, celosvětově se takové podpory bohužel nedočkala, a to ani u farmaceutického průmyslu, v důsledku čehož chybí vědecké důkazy, které by použití fágů popisovaly a podporovaly (Gordon & Ramirez 2024).

Další slibnou strategií, jak biofilmy vymýtit nebo dokonce inhibovat jejich tvorbu, se jeví kombinace disperzních látek biofilmu s antibiotiky. Náleží zde využití oxidu dusnatého/nitroxidů, inhibitory QS systému, léčba monoklonálními protilátkami, používání přírodních produktů (chloroform, andrografolid, ethanolový extrakt *Houttuynia Cordata Poulitice*, emodin dimethylether a ajoene) a v neposlední řadě využití antimikrobiálních peptidů/aminokyselin (Mirghani et al. 2022, Hawas et al. 2022). Oxid dusnatý (NO) zastupuje důležitý mediátor zánětu, který je ve zvýšené míře pozorován u lidské parodontitidy, pro jejíž kontrolu se uvažuje použití přípravků, které by produkci NO snižovaly (Gawor & Niemiec 2021).

Inhibitory QS systému účinně inhibují regulační geny a faktory virulence, zároveň zvyšují účinnost některých léků synergickým působením (Mirghani et al. 2022). K inhibici QS může dojít potlačením syntézy autoinduktorů, degradací signálních molekul, narušením vazby signálu a inhibicí kaskády signální transdukce, jejímž výsledkem je dysregulovaná signalizace biofilmu a následná inhibice biofilmu (Hawas et al. 2022).

Příroda dnes nabízí různé rostlinné extrakty jako je chloroformový extrakt, andrografolid, extrakt z ethanolu, extrakt z granátového jablka (*Punica granatum*), propolis, chitosan, houttuýfonát sodný, emodin methylether a emodin (Mirghani et al. 2022, Cunha et al. 2022). Například chloroformový extrakt z *Andrographis paniculata* prokázal u infekcí způsobených *P. aeruginosa* významné snížení faktorů extracelulární virulence kontrolovaných QS. Jako antimikrobiální látka se houttuýfonát sodný získaný z oleje rostliny *Houttuynia cordata* v klinické praxi používá již mnoho let jako antimikrobiální látka (Mirghani et al. 2022). Antibakteriální účinky byly popsány i u polyfenolů různého původu (např. zeleného čaje). Nejsilnější účinek má katechin, který po dvou měsících snižuje množství bakterií rodu *Porphyromonas* v zubním plaku u psů. Účinnost se potvrdila také proti *Prevotella* spp., *Streptococcus slaivarius*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius* a *Streptococcus sanguis*, a proto lze očekávat pozitivní výsledky aplikace polyfenolů u psů s periodontálním onemocněním (Jank 2021).



Poznámka: (A) patogenní bakterie vytvářející biofilm, (B) patogen přítomen ve stavu replikativních planktonních bakterií, (C) bakteriofágy vykazující antibiofilmovou aktivitu, (D) fágy aktivně infikují replikující se bakterie

Obrázek 17 Ilustrace bakteriofágové terapie biofilmů (Převzato z Ferry 2024)

Dnes se uvažuje, že zvýšená antimikrobiální rezistence je obecnou vlastností biofilmů (Sahli et al. 2022). Cílená strategie v boji proti bakteriálním biofilmům zahrnuje dodávání antimikrobiálních sloučenin do biofilmu, snaha je omezit adhezivní stádium při tvorbě biofilmu nebo pomocí nanoenzymů omezit sekreci matrix EPS. Oxidační stres navozuje produkci hydroxylových, superoxidových radikálů a radikálů peroxidu vodíku, v důsledku čehož je poškozena DNA, proteiny bakterií a kompozice biofilmu (Kumar et al. 2023).

Nanotechnologie souvisí s vývojem, používáním materiálů a s aplikací konceptů manipulace s materiály na atomové, molekulární a makromolekulární úrovni (Dos Santos Ramos et al. 2018). Přináší inovativní řešení využití nanočástic (NP) z kovů, polymerních NP (dendrimery), lipidových nanočástic nebo polymerních konjugátů s léčivy. Zvýšená účinnost synergické aplikace NP s antibiotiky vede k intenzivnější eradikaci biofilmů. Kovové NP se skládají z čistých kovů (např. stříbro, titan, zinek nebo zlato), solí kovů nebo jejich oxidů. Velikost NP se pohybuje v rozmezí od 10 do 100nm. Kovy vykazují antibiofilmové, a zároveň antibakteriální vlastnosti. Staly se tak díky svým fyzikálně-chemickým vlastnostem slibnými kandidáty pro kontrolu široké škály bakteriálních patogenů (Jones et al. 2008, Kumar et al. 2023). Alternativními přístupy jsou vysoce difuzovatelné nanoprotilátky nebo mikromolekulové lékové formy, nové antipatogenní biofilmové látky a technologie pro úpravu genů CRISPR (Mirghani et al. 2022).

4 Závěr

Cílem bakalářské práce bylo zpracovat ucelený přehled o bakteriálních biofilmech a jejich přítomnosti v ústní dutině psů.

Bakteriální biofilmy jsou tvořeny EPS, která poskytuje ochranu před vlivy vnějšího prostředí, včetně antibiotik. Přítomnost biofilmů v ústní dutině vede k progresi periodontálního onemocnění s až 80 % prevalencí u psů starších dvou let. Znamky přítomnosti periodontálního onemocnění zahrnují halitózu, nadměrné slinění, třepání hlavou nebo tření tlamy o zem, zanícené dásně s případným krvácením nebo již viklající se zuby.

Ústní mikrobiom poskytuje jedinečný prostor pro mikroorganismy, které zahrnují více než 700 druhů bakterií, přičemž *P. gingivalis*, *T. forsythia* a *T. denticola* jsou spojovány s parodontitidou. Pokud dojde k narušení ve složení bakteriálních kmenů, a tedy k homeostáze ústní dutiny, začínají bakterie produkovat toxiny způsobující zánět dásní a aktivaci imunitního systému hostitele. Je třeba mít na paměti, že domácí zvířata mohou být potenciálními přenašeči některých parodontálních patogenů, a proto je důležité omezovat jejich těsný fyzický kontakt a dbát na osobní hygienu.

Počáteční stádium periodontálního onemocnění – gingivitidu (zánět dásní), je možné na první pohled snadno rozeznat změnou zbarvení dásně. Zdravá dásněň má korálově růžovou barvu, zatímco dásněň s již přítomným zánětem je oteklá a při kontrole může spontánně krváčet. V primárních fázích je zánět dásní reverzibilní a lze jej odstranit pravidelným čištěním zubů. Zbytky potravy společně s bakteriemi napomáhají vzniku zubního plaku, který se na povrchu zubu objevuje do 24 hodin. Pokud nedojde k adekvátnímu odstranění zubního plaku, později mineralizuje a dává vznik zubnímu kameni.

Parodontitida je důsledkem neléčené gingivitidy. Projevuje se zánětem dásní, jejich ústupem, tvorbou parodontálních kapes, což může vést ke ztrátě zubů. Existují čtyři stadia parodontitidy, která se diferencují závažností a úrovní parodontální destrukce. Také se rozlišuje, zdali se jedná o chronickou nebo agresivní formu parodontitidy. Bakterie a toxiny produkované v parodontálních kapsách mohou putovat do těla zvířete a způsobovat systémové onemocnění jater, ledvin nebo srdce.

Diagnostika parodontitidy pak spočívá v kombinaci klinických a radiografických informací o stavu parodontální tkáně a alveolární kosti. Lze využít také různých indexů (GI, PI a CI). Měření gingivální krevikulární tekutiny a analýza slin mohou být rovněž užitečnými složkami pro diagnostiku. Detekce biofilmu se provádí pomocí různých barviv, která charakteristicky zabarvují postižené oblasti, novější metodou je kvantitativní světlem indukovaná fluorescence (QLF™).

Čištění zubním kartáčkem však zůstává jednou z neúčinnějších metod při léčbě a prevenci onemocnění ústní dutiny. Často využívanou chemickou sloučeninou je chlórhexidinu s antimikrobiálními vlastnosti. K udržení zdravé ústní mikrobioty se také nabízí použití probiotik. Důležitou roli hraje také správná výživa psů, která může ovlivnit prostředí v dutině ústní a tvorbu zubního plaku. Suché granulované krmivo podporuje mechanickou abrazi povrchu zubu a snižuje hromadění plaku, účinnost se zefektivňuje vyšším obsahem vlákniny nebo přidáním polyfosfátů.

Jedním z hlavních problémů spojených s bakteriálními biofilmy je jejich rezistence vůči antibiotikům. Slibnou alternativou v léčbě bakteriálních biofilmů se prokazuje bakteriofágová

terapie, která cíleně využívá viry k napadení bakterií, ve kterých následně replikují své DNA a způsobují jejich lýzu. Další strategií je inhibice QS nebo využití nanotechnologie. Vzhledem k rostoucí problematice rezistence bakterií vůči antibiotikům je nezbytné hledat nové a inovativní způsoby léčby bakteriálních infekcí. Bakteriální biofilmy představují značnou výzvu pro lékařský výzkum a vývoje nových účinných terapeutických přístupů.

5 Literatura

- Aguilar C, Vlamakis H, Losick R, Kolter R. 2007. Thinking about *Bacillus subtilis* as a multicellular organism. *Current Opinion in Microbiology* **10**(6): 638–643.
- Albuquerque C, Morinha F, Requicha J, Martins T, Dias I, Guedes-Pinto H, Bastos E, Viegas C. 2012. Canine periodontitis: the dog as an important model for periodontal studies. *Veterinary journal*, **191**(3): 299–305.
- Alotaibi GF. 2021. Factors Influencing Bacterial Biofilm Formation and Development. *American Journal of Biomedical Science & Research*, **12**: 617–626.
- Anil S, Bhandi SH, Chalisserry EP, Jafer M, Hosmani J. 2016. Chemical Plaque Control Strategies in the Prevention of Biofilm-associated Oral Diseases. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, **17**(4): 337–343.
- Assunção GSM, Ocarino NM, Sofal LC, Serakides R. 2021. Dentinal Lesions in Dogs with Dental Calculus. *Journal of Comparative Pathology*, **185**: 8–17.
- Attinger C, Wolcott R. 2012. Clinically Addressing Biofilm in Chronic Wounds. *Advances in Wound Care*, **1**(3): 127–32.
- Barry DM, Kanematsu H. 2015. Physical Removal of Biofilm. In: *Biofilm and Materials Science*. Cham: Springer International Publishing. Pages 163–167.
- Beikler T, Bunte K, Chan Y, Weiher B, Selbach S, Peters U, Klocke A, Watt RM, Flemmig TF. 2021. Oral Microbiota Transplant in Dogs with Naturally Occurring Periodontitis. *Journal of Dental Research*, **100**(7): 764–770.
- Berlanga M, Guerrero R. 2016. Living together in biofilms: the microbial cell factory and its biotechnological implications. *Microbial Cell Factories*, **15**(1): 165.
- Borilova Linhartova P, Danek Z, Deissova T, Hromcik F, Lipovy B, Szaraz D, Janos J, Fassmann A, Bartova J, Drizhal I, Izakovicova Holla L. 2020. Interleukin Gene Variability and Periodontal Bacteria in Patients with Generalized Aggressive Form of Periodontitis. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**(13): 4728.
- Çam S, Brinkmeyer R. 2020. The effects of temperature, pH, and iron on biofilm formation by clinical versus environmental strains of *Vibrio vulnificus*. *Folia Microbiologica*, **65**(3): 557–566.

- Clarke DE, Servet E, Hendriks W, Thomas DG, Weidgraaf K, Biourge VC. 2010. Effect of Kibble Size, Shape, and Additives on Plaque in Cats. *Journal of Veterinary Dentistry*, **27**(2): 84–89.
- Coventry J, Griffiths G, Scully C, Tonetti M. 2000. ABC of oral health: Periodontal disease. *BMJ*, **321**(7252): 36–39.
- Cunha E, Tavares L, Oliveira M. 2022. Revisiting Periodontal Disease in Dogs: How to Manage This New Old Problem? *Antibiotics*, **11**(12): 1729.
- Darveau RP. 2010. Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nature Reviews Microbiology*, **8**(7): 481–490.
- Das T, Manefield M, Rohde H. 2012. Pyocyanin Promotes Extracellular DNA Release in *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS ONE*, **7**(10)
- Dincer S, Uslu F, & Delik A . 2020. Antibiotic Resistance in Biofilm. In: Dincer, S., Sümence Özdenefe, M., & Arkut, A. (eds.), *Bacterial Biofilms* [online]. IntechOpen.
- Donlan RM. 2001. Biofilm Formation: A Clinically Relevant Microbiological Process. *Clinical Infectious Diseases*, **33**(8):1387–1392.
- Donlan RM. 2002. Biofilms: Microbial Life on Surfaces. *Emerging Infectious Diseases*, **8**(9): 881–890.
- Doolittle, M. M., Cooney, J. J., & Caldwell, D. E. 1995. Lytic infection of *Escherichia coli* biofilms by bacteriophage T4. *Can. J. Microbiol*, **41**(1): 12–18.
- Dos Santos Ramos MA, Da Silva P, Spósito L, De Toledo L, Bonifácio B, Rodero CF, Dos Santos K, Chorilli M, Bauab TM. 2018. Nanotechnology-based drug delivery systems for control of microbial biofilms: a review. *International Journal of Nanomedicine*, **13**: 1179–1213.
- Eick S, Kindblom C, Mizgalska D, Magdoń A, Jurczyk K, Sculean A, Stavropoulos A. 2017. Adhesion of *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythia* to dentin and titanium with sandblasted and acid etched surface coated with serum and serum proteins – An in vitro study. *Archives of Oral Biology*, **75**: 81–88.
- Eickhoff M. 2020. *Atlas of Dentistry in Cats and Dogs*. Online. Stuttgart: Georg Thieme Verlag. ISBN 9783132432826.
- Enlund KB, Brunius C, Hanson J, Hagman R, Höglund OV, Gustås P, Pettersson A. 2020. Dental home care in dogs - a questionnaire study among Swedish dog owners, veterinarians and veterinary nurses. *BMC Veterinary Research*, **16**(1): 90.

- Fasoulas A, Pavlidou E, Petridis D, Mantzorou M, Seroglou K, Giaginis C. 2019. Detection of dental plaque with disclosing agents in the context of preventive oral hygiene training programs. *Heliyon*, **5**(7): e02064.
- Fernandes NA, Batista Borges AP, Carlo Reis EC. 2012. Prevalence of periodontal disease in dogs and owners' level of awareness – a prospective clinical trial. *Revista Ceres* **59**(4): 446–451.
- Ferry T. 2024. A Review of Phage Therapy for Bone and Joint Infections. In: *Bacteriophage Therapy. Methods in Molecular Biology*. New York, NY: Springer US, **2734**: 207–235.
- Flemming, H. C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S. A., & Kjelleberg, S. (2016). Biofilms: An emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology*, **14**(9): 563–575.
- Frédéric LJ, Michel B, Selena T. 2018. Oral microbes, biofilms and their role in periodontal and peri-implant diseases. *Materials*, **11**(10): 1802.
- Gawor J, Jank M, Jodkowska K, Klim E, Svensson UK. 2018. Effects of Edible Treats Containing *Ascophyllum nodosum* on the Oral Health of Dogs: A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Single-Center Study. *Frontiers in Veterinary Science*, **5**: 168.
- Gawor J, Niemiec B. 2021. *The Veterinary Dental Patient*. Online. Wiley. ISBN 9781118974735.
- Ghosh S, Ray RR. 2021. Immune Response to Biofilm. In: *Biofilm-Mediated Diseases: Causes and Controls*. Singapore: Springer Singapore. Pages 127–155.
- Gordon M, Ramirez P. 2024. Efficacy and Experience of Bacteriophages in Biofilm-Related Infections. *Antibiotics*, **13**(2): 125.
- Gorrel C. 2013. *Veterinary Dentistry for the General Practitioner: Second Edition*. In *Veterinary Dentistry for the General Practitioner: Second Edition*. Elsevier. ISBN: 9780702049439
- Griffiths GS. 2003. Formation, collection, and significance of gingival crevice fluid. *Periodontology 2000*, **31**: 32–42.
- Gualdi L, Tagliabue L, Bertagnoli S, Ieranò T, De Castro C, Landini P. 2008. Cellulose modulates biofilm formation by counteracting curli-mediated colonization of solid surfaces in *Escherichia coli*. *Microbiology*, **154**: 2017–2024.
- Hajishengallis G. 2015. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nature Reviews Immunology*, **15**(1): 30–44.

- Hardham J, Dreier K, Wong J, Sfintescu C, Evans RT. 2005. Pigmented-anaerobic bacteria associated with canine periodontitis. *Veterinary Microbiology*, **106**: 119–128.
- Harvey JD. 2017. Periodontal Microbiology. *Dental Clinics of North America*, **61**(2): 253–269.
- Haukioja A, Yli-Knuuttila H, Loimaranta V, Kari K, Ouwehand AC, Meurman JH, Tenovou J. 2006. Oral adhesion and survival of probiotic and other lactobacilli and bifidobacteria in vitro. *Oral Microbiology and Immunology*, **21**(5): 326–332.
- Hawas S, Verderosa AD, Totsika M. 2022. Combination Therapies for Biofilm Inhibition and Eradication: A Comparative Review of Laboratory and Preclinical Studies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **12**: 850030.
- Hay ID, Remminghorst U, Rehm BHA. 2009. MucR, a Novel Membrane-Associated Regulator of Alginate Biosynthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied and Environmental Microbiology*, **75**(4): 1110–1120.
- Hengzhuang W, Wu H, Ciofu O, Song Z, Høiby N. 2011. Pharmacokinetics/Pharmacodynamics of Colistin and Imipenem on Mucoid and Nonmucoid *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **55**(9): 4469–4474.
- Hernández-Jiménez E, del Campo R, Toledano V, Vallejo-Cremades MT, Muñoz A, Largo C, Arnalich F, García-Río F, Cubillos-Zapata C, López-Collazo E. 2013. Biofilm vs. planktonic bacterial mode of growth: Which do human macrophages prefer? *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **441**(4): 947–952.
- Herrero ER, Fernandes S, Verspecht T, Ugarte-Berzal E, Boon N, Proost P, Bernaerts K, Quirynen M, Teughels W. 2018. Dysbiotic Biofilms Deregulate the Periodontal Inflammatory Response. *Journal of Dental Research*, **97**(5): 547–555.
- Høiby N. 2017. A short history of microbial biofilms and biofilm infections. *APMIS*, **125**(4): 272–275.
- Holmstrom ES. 2019. *Veterinary Dentistry: A Team Approach*. 3rd edition. Elsevier. ISBN 978-0-3234-8527-2.
- Chandakavathe BN. 2019. *Periodontal Disease: Causes, Symptoms and Treatment*. Modern Research in Dentistry 4.
- Chang C, Yu X, Guo W, Guo C, Guo X, Li Q, Zhu Y. 2022. Bacteriophage-Mediated Control of Biofilm: A Promising New Dawn for the Future. *Frontiers in Microbiology*, **13**: 825828.

- Characklis WG, McFeters GA, Marshall KC. 1990. Physiological ecology in biofilm systems. In: Characklis WG, Marshall KC, editors. *Biofilms*. New York: John Wiley & Sons, Pages 341–394.
- Iliadis I, Daskalopoulou A, Simões M, Giaouris E. 2018. Integrated combined effects of temperature, pH and sodium chloride concentration on biofilm formation by *Salmonella enterica* ser. Enteritidis and Typhimurium under low nutrient food-related conditions. *Food Research International*, **107**: 10–18.
- Jamal M, Ahmad W, Andleeb S, Jalil F, Imran M, Nawaz MA, Hussain T, Ali M, Rafiq M, Kamil MA. 2018. Bacterial biofilm and associated infections. *Journal of the Chinese Medical Association*, **8**(1)1: 7–11.
- James P, Worthington HV, Parnell C, Harding M, Lamont T, Cheung A, Whelton H, Riley P. 2021. Chlorhexidine mouthrinse as an adjunctive treatment for gingival health. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2021.
- Jank M. 2021. Nutrition, Oral Health, and Feeding Dental Patients. In J. Gawor & B. Niemiec (Eds.), *The Veterinary Dental Patient*.
- Jones HC, Roth IL, Saunders WM. 1969. Electron microscopic study of a slime layer. *J Bacteriol*, **99**(1): 316–25.
- Jones N, Ray B, Ranjit KT, Manna AC. 2008. Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, **279**(1): 71–76.
- Kačirová J, Sondorová M, Maďari A, Styková E, Mucha R, Nemcová R, Marečáková N, Farbáková J, Maďar M. 2022. Detection of Periodontal Pathogens from Dental Plaques of Dogs with and without Periodontal Disease. *Pathogens*, **11**(4): 480.
- Karygianni L, Ren Z, Koo H, Thurnheer T. 2020. Biofilm Matrixome: Extracellular Components in Structured Microbial Communities. *Trends in Microbiology*, **28**(8): 668–681.
- Kern A, Renteria T (W), Rothen ML, Mancl LA, Milgrom P. 2023. Effectiveness of silver diamine fluoride 38% on reduction of gingivitis in dogs: a randomized clinical trial. *Frontiers in Veterinary Science*, **10**: 1255834.
- Khan A, Rao TS. 2023. Natural biofilms: Structure, development, and habitats. In: *Understanding Microbial Biofilms*. Elsevier. Pages 187-206.
- Khatoun Z, McTiernan CD, Suuronen EJ, Mah T-F, Alarcon EI. 2018. Bacterial biofilm formation on implantable devices and approaches to its treatment and prevention. *Heliyon*, **4**(12): e01067

- Khurshid Z, Mali M, Naseem M, Najeeb S, Zafar M. 2017. Human Gingival Crevicular Fluids (GCF) Proteomics: An Overview. *Dentistry Journal*, **5**(1): 12.
- Kirby S, Miller B. 2018. Dental and oral examination and recording. In: *BSAVA Manual of Canine and Feline Dentistry and Oral Surgery*. British Small Animal Veterinary Association. Pages 33–48.
- Könönen E, Gursoy M, Gursoy U. 2019. Periodontitis: A Multifaceted Disease of Tooth-Supporting Tissues. *Journal of Clinical Medicine*, **8**(8): 1135.
- Kotay SM, Parikh HI, Barry K, Gweon HS, Guilford W, Carroll J, Mathers AJ. 2020. Nutrients influence the dynamics of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase producing enterobacterales in transplanted hospital sinks. *Water Research*, **176**:115707
- Kovacs CJ, Rapp EM, McKenzie SM, Mazur MZ, Mchale RP, Brasko B, Min MY, Burpo FJ, Barnhill JC. 2023. Disruption of Biofilm by Bacteriophages in Clinically Relevant Settings. *Military Medicine*.
- Kowalski J, Górska R, Cieślik M, Górski A, Jończyk-Matysiak E. 2022. What Are the Potential Benefits of Using Bacteriophages in Periodontal Therapy? *Antibiotics*, **11**(14): 446.
- Kumar L, Bisen M, Harjai K, Chhibber S, Azizov S, Lahlhenmawia H, Kumar D. 2023. Advances in Nanotechnology for Biofilm Inhibition. *ACS Omega*, **8**(24): 21391–21409.
- Limoli DH, Whitfield GB, Kitao T, Ivey ML, Davis MR, Grahl N, Hogan DA, Rahme LG, Howell PL, O'Toole GA, Goldberg JB, Harwood CS, Skarr E, Whiteley M. 2017. *Pseudomonas aeruginosa* Alginate Overproduction Promotes Coexistence with *Staphylococcus aureus* in a Model of Cystic Fibrosis Respiratory Infection. *MBio*, **8**(2): e00186-17, DOI 10.1128/mBio.00186-17.
- Lin Y, Mahan K, Lathrop WF, Myles DG, Primakoff P. 1994. A hyaluronidase activity of the sperm plasma membrane protein PH-20 enables sperm to penetrate the cumulus cell layer surrounding the egg. *The Journal of cell biology*, **125**(5): 1157–1163.
- Lindhe J, Hamp SE, Loe H. 1975. Plaque induced periodontal disease in beagle dogs. *Journal of Periodontal Research*, **10**(5), 243–255.
- Lobprise HB, Dodd JR. 2019. *Wiggs's Veterinary Dentistry*. Wiley Lobprise HB, Dodd JR (B). 2019. *Wiggs's Veterinary Dentistry*. Wiley-Blackwell. ISBN: 978-1-118-81612-7
- Lobprise HB. 2021. *Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult Clinical Companion: Small Animal Dentistry*. 3rd Edition. Wiley-Blackwell. ISBN: 978-1-119-58441-4

- Logan EI. 2006. Dietary Influences on Periodontal Health in Dogs and Cats. In: *Veterinary Clinics of North America – Small Animal Practice* **36**(6):1385-401
- Marshall-Jones ZV, Wallis CV, Allsopp JM, Colyer A, Davis IJ, Holcombe LJ. 2017. Assessment of dental plaque coverage by Quantitative Light-induced Fluorescence (QLF) in domestic short-haired cats. *Research in Veterinary Science*, **111**: 99–107.
- Marx FR, Machado GS, Pezzali JG, Marcolla CS, Kessler AM, Ahlstrøm Ø, Trevizan L. 2016. Raw beef bones as chewing items to reduce dental calculus in Beagle dogs. *Australian Veterinary Journal*, **94**(1-2): 18-23.
- Mirghani R, Saba T, Khaliq H, Mitchell J, Do L, Chambi L, Diaz K, Kennedy T, Alkassab K, Huynh T, Elmi M, Martinez J, Sawan S, Rijal G. 2022. Biofilms: Formation, drug resistance and alternatives to conventional approaches. *AIMS Microbiology*, **8**(3): 239–277.
- Montanaro L, Poggi A, Visai L, Ravaioli S, Campoccia D, Speziale P, Arciola CR. 2011. Extracellular DNA in Biofilms. *The International Journal of Artificial Organs*, **34**(9): 824–831.
- Mutschelknauss RE, Diedrich P. c2002. *Praktická parodontologie: klinické postupy*. Praha: Quintessenz.
- Nemec A, Verstraete FJM, Jerin A, Šentjurs M, Kass PH, Petelin M, Pavlica Z. 2013. Periodontal disease, periodontal treatment and systemic nitric oxide in dogs. *Research in Veterinary Science*, **94**(3): 542–544.
- Nguyen HTT, Nguyen TH, Otto M. 2020. The staphylococcal exopolysaccharide PIA – Biosynthesis and role in biofilm formation, colonization, and infection. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, **18**: 3324–3334.
- Niemiec B, Gawor J, Nemec A, Clarke D, McLeod K, Tutt C, Gioso M, Steagall PV, Chandler M, Morgenegg G, Jouppi R. 2020. World Small Animal Veterinary Association Global Dental Guidelines. *Journal of Small Animal Practice*, **61**(7): 395–403.
- Niemiec B. 2011. *Small Animal Dental, Oral and Maxillofacial Disease*. CRC Press. ISBN 9781840761726
- Niemiec B. 2021. *Breed Predispositions to Dental and Oral Disease in Dogs*. Wiley-Blackwell. ISBN: 978-1-119-55204-8
- Niemiec BA. 2008. Periodontal Disease. *Topics in Companion Animal Medicine*, **23**(2): 72–80.

- O'Neill DG, Mitchell CE, Humphrey J, Church DB, Brodbelt DC, Pegram C. 2021. Epidemiology of periodontal disease in dogs in the UK primary-care veterinary setting. *Journal of Small Animal Practice*, **62**(12): 1051–1061.
- Otter JA, Vickery K, Walker JT, deLancey Pulcini E, Stoodley P, Goldenberg SD, Salkeld JAG, Chewins J, Yezli S, Edgeworth JD. 2015. Surface-attached cells, biofilms and biocide susceptibility: implications for hospital cleaning and disinfection. *Journal of Hospital Infection*, **89**(1): 16–27.
- Ousey K, Ovens L. 2023. Comparing methods of debridement for removing biofilm in hard-to-heal wounds. *Journal of Wound Care*, **32**: S4–S10.
- Pabbati R, Aerupula M, Shaik F, Kondakindi VR. 2021. Nanoparticles for Biofilm Control. In: *Nanotechnology for Advances in Medical Microbiology. Environmental and Microbial Biotechnology*. Singapore: Springer Nature Singapore. Pages 227–247.
- Pallaval Veera Bramhachari. 2018. Introduction to Quorum Sensing Research in Diverse Microbial Systems. In: *Implication of Quorum Sensing System in Biofilm Formation and Virulence*. Singapore: Springer Singapore. Pages 3–6.
- Perazzi A, Ricci R, Contiero B, Iacopetti I. 2022. Evaluation of Salivary Biochemistry in Dogs with and without Plaque, Calculus, and Gingivitis: Preliminary Results. *Animals*, **12**(9): 1091.
- Percival, SL, Malone M, Mayer D, Salisbury AM, Gregory Schultz GS. 2018. Role of anaerobes in polymicrobial communities and biofilms complicating diabetic foot ulcers. *International Wound Journal*, **15**: 776–782.
- Perrone RJ. 2021. *Small Animal Dental Procedures for Veterinary Technicians and Nurses*. 2nd edition. John Wiley & Sons.
- Prashanth K, Sawant AR, Panda L. 2023. Genetic basis of biofilm formation and their role in antibiotic resistance, adhesion, and persistent infections in ESKAPE pathogens. In: *Understanding Microbial Biofilms*. Elsevier. Pages 395–414.
- Puletic M, Popovic B, Jankovic S, Brajovic G. 2020. Detection rates of periodontal bacteria and herpesviruses in different forms of periodontal disease. *Microbiology and Immunology*, **64**(12): 815–824.
- Ray JD, Eubanks DL. 2009. Dental Homecare: Teaching Your Clients to Care for Their Pet's Teeth. *Journal of Veterinary Dentistry*, **26**(1): 57–60.
- Reiter AM, Castejon-Gonzalez A. 2018. Perioperative considerations in dentistry and oral surgery. In: *BSAVA Manual of Canine and Feline Dentistry and Oral Surgery*. British Small Animal Veterinary Association. Pages 338–370.

- Reiter AM, Gracis M. 2018. BSAVA Manual of Canine and Feline Dentistry and Oral Surgery. 4th edition. Wiley-Blackwell. ISBN: 978-1-905-31960-2
- Rosan B, Lamont RJ. 2000. Dental plaque formation. *Microbes and Infection*, **2**(13): 1599–1607.
- Roy PK, Ha AJ-W, Mizan MFR, Hossain MI, Ashrafudoulla M, Tousehik SH, Nahar S, Kim YK, Ha S-D. 2021. Effects of environmental conditions (temperature, pH, and glucose) on biofilm formation of *Salmonella enterica* serotype Kentucky and virulence gene expression. *Poultry Science*, **100**(7): 101209.
- Ruparell A, Inui T, Staunton R, Wallis C, Deusch O, Holcombe LJ. 2020. The canine oral microbiome: variation in bacterial populations across different niches. *BMC Microbiology*, **20**(1): 42.
- Sahli C, Moya SE, Lomas JS, Gravier-Pelletier C, Briandet R, Hémadi M. 2022. Recent advances in nanotechnology for eradicating bacterial biofilm. *Theranostics*, **12**(5): 2383–2405.
- Santibáñez R, Rodríguez-Salas C, Flores-Yáñez C, Garrido D, Thomson P. 2021. Assessment of Changes in the Oral Microbiome That Occur in Dogs with Periodontal Disease, **8**(12): 291.
- Sanz M, Beighton D, Curtis MA, Cury JA, Dige I, Dommisch H, Ellwood R, Giacaman RA, Herrera D, Herzberg MC, Könönen E, Marsh PD, Meyle J, Mira A, Molina A, Mombelli A, Quirynen M, Reynolds EC, Shapira L, Zaura E. 2017. Role of microbial biofilms in the maintenance of oral health and in the development of dental caries and periodontal diseases. Consensus report of group 1 of the Joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, **18**: S5–S11.
- Sedarat Z, Taylor-Robinson AW. 2022. Biofilm Formation by Pathogenic Bacteria: Applying a *Staphylococcus aureus* Model to Appraise Potential Targets for Therapeutic Intervention. *Pathogens*, **11**(4): 388.
- Sharma S, Kaushik V, Tiwari V. 2023. Role of biofilms in hospital-acquired infections (HAIs). In: *Understanding Microbial Biofilms*. Elsevier. Pages 209–245.
- Silva V, Pereira JE, Maltez L, Poeta P, Igrejas G. 2022. Influence of Environmental Factors on Biofilm Formation of *Staphylococci* Isolated from Wastewater and Surface Water. *Pathogens*, **11**(10): 1069.
- Singh B, Garg A, Garg R. 2013. Aggressive Periodontitis: A Review. *Dental Journal of Advance Studies*, **01**(03):129-135

- Solano C, García B, Valle J, Berasain C, Ghigo J-M, Gamazo C, Lasa I. 2002. Genetic analysis of *Salmonella enteritidis* biofilm formation: critical role of cellulose. *Molecular Microbiology*, **43**(3): 793–808.
- Sondorová M, Kučera J, Kačírová J, Krchová Nagyová Z, Šurín Hudáková N, Lipták T, Maďar M. 2022. Prevalence of Periodontal Pathogens in Slovak Patients with Periodontitis and Their Possible Aspect of Transmission from Companion Animals to Humans. *Biology (Basel)*. **11**(10):1529
- Stepaniuk, K. 2019. Periodontology. In Lobprise, H.B., Dodd, J.R. (eds.) *Wiggs's Veterinary Dentistry*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons Inc. Pages 81–108.
- Stepanović S, Djukić V, Djordjević V, Djukić S. 2003. Influence of the incubation atmosphere on the production of biofilm by staphylococci. *Clinical Microbiology and Infection*, **9**(9): 955–958.
- Sudhakara P, Gupta A, Bhardwaj A, Wilson A. 2018. Oral Dysbiotic Communities and Their Implications in Systemic Diseases. *Dentistry Journal*, **6**(2): 10.
- Summers JF, O'Neill DG, Church D, Collins L, Sargan D, Brodbelt DC. 2019. Health-related welfare prioritisation of canine disorders using electronic health records in primary care practice in the UK. *BMC Veterinary Research*, **15**(1): 163.
- Takedachi M, Shimabukuro Y, Sawada K, Koshimizu M, Shinada K, Asai H, Mizoguchi A, Hayashi Y, Tsukamoto A, Miyago M, Nishihara F, Nishihata T, Shimabukuro M, Kurakami H, Sato T, Hamazaki Y, Iwayama T, Fujihara C, Murakami S. 2022. Evaluation of periodontitis-related tooth loss according to the new 2018 classification of periodontitis. *Scientific Reports*, **12**: 11893.
- Tavares M de O, dos Reis LD, Lopes WR, Schwarz LV, Rocha RKM, Scariot FJ, Echeverrigaray S, Delamare APL. 2023. Bacterial community associated with gingivitis and periodontitis in dogs. *Research in Veterinary Science*, **162**: 104962.
- Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. 2018. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *Journal of Periodontology*, **89**: S159–S172.
- Twort FW. 1915. An Investigation on the Nature of Ultra-Microscopic Viruses. *The Lancet* 186, 1241–1243. DOI: 10.1016/S0140-6736(01)20383-3.
- Van Dyke TE, Sima C. 2020. Understanding resolution of inflammation in periodontal diseases: Is chronic inflammatory periodontitis a failure to resolve? *Periodontology 2000*, **82**(1): 205–213.

- Verderosa AD, Totsika M, Fairfull-Smith KE. 2019. Bacterial Biofilm Eradication Agents: A Current Review. *Frontiers in Chemistry*, **7**: 824.
- Vestby LK, Grønseth T, Simm R, Nesse LL. 2020. Bacterial Biofilm and its Role in the Pathogenesis of Disease. *Antibiotics*, **9**(2): 59.
- Vickery K. 2019. Microbial biofilms in healthcare: Formation, prevention and treatment. *Materials* **12**(12).
- Wallis C, Holcombe LJ. 2020. A review of the frequency and impact of periodontal disease in dogs. *Journal of Small Animal Practice*, **61**(9): 529–540.
- Wallis C, Saito EK, Salt C, Holcombe LJ, Desforges NG. 2021. Association of periodontal disease with breed size, breed, weight, and age in pure-bred client-owned dogs in the United States. *The Veterinary Journal*, **275**: 105717.
- Wang S, Liu X, Liu H, Zhang L, Guo Y, Yu S, Wozniak DJ, Ma LZ. 2015. The exopolysaccharide Psl–eDNA interaction enables the formation of a biofilm skeleton in *Pseudomonas aeruginosa*. *Environmental Microbiology Reports*, **7**(2): 330–340.
- Watson F, Swann M, Zimmer A, Chen R, Foulkes L, Percival SL. 2023. Aspects of biofilms on medical devices. In: *Understanding Microbial Biofilms*. Elsevier. Pages 91–105.
- Wei Y, Shi M, Zhen M, Wang C, Hu W, Nie Y, Wu X. 2019. Comparison of Subgingival and Buccal Mucosa Microbiome in Chronic and Aggressive Periodontitis: A Pilot Study. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **9**: 53.
- Whyte A, Bonastre C, Monteagudo LV, Les F, Obon J, Whyte J, Tejedor MT. 2014. Canine stage 1 periodontal disease: A latent pathology. *The Veterinary Journal*, **201**(1): 118–120.
- Whyte A, San Román – Llorens F, Whyte J, Monteagudo LV, Tejedor MT. 2022. Prevalence of common oral conditions in dogs and cats attending a veterinary teaching hospital in Spain. *Revue Vétérinaire Clinique*, **57**: 17–24.
- Wiggs RB, Lobprise HB. 1997. Periodontology. In: *Veterinary Dentistry, Principles and Practice*, Lippincott Raven Publishers, Philadelphia, PA, 186-231.
- Willis JR, Gabaldón T. 2020. The human oral microbiome in health and disease: From sequences to ecosystems. *Microorganisms*, **8**(2): 308.
- Wilton M, Charron-Mazenod L, Moore R, Lewenza S. 2016. Extracellular DNA Acidifies Biofilms and Induces Aminoglycoside Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **60**(1): 544–553.

Wu H, Moser C, Wang HZ, Høiby N, Song ZJ. 2015. Strategies for combating bacterial biofilm infections. *International Journal of Oral Science*, **23**;7(1):1-7

Yamasaki Y, Nomura R, Nakano K, Naka S, Matsumoto-Nakano M, Asai F, Ooshima T. 2012. Distribution of periodontopathic bacterial species in dogs and their owners. *Archives of Oral Biology*, **57**(9): 1183–1188.

Zacher A, Marretta SM. 2022. Diagnosis and Management of Furcation Lesions in Dogs – A Review. *Journal of Veterinary Dentistry*, **39**(2): 151–172.

6 Seznam obrázků

Obrázek 1 Mechanismus tvorby bakteriálního biofilmu (Převzato z Pabbati et al. 2021)	11
Obrázek 2 Ilustrace Quorum sensing (Převzato z Verderosa et al. 2019)	12
Obrázek 3 Šípky znázorňují nejčastější lokalizaci zubního plaku, zdroj: autor BP	18
Obrázek 4 Korálově růžové zbarvení zdravé dásně (Převzato z Eickhoff 2020)	20
Obrázek 5 Tmavý pigment zdravé dásně, zdroj: autor BP	20
Obrázek 6 Nános zubního kamene, zdroj: autor BP	22
Obrázek 7 Zarudnutá dásně v reakci na nahromaděný zubní plak, zdroj: autor BP	24
Obrázek 8 Furkace (Převzato z Eickhoff 2020)	25
Obrázek 9 Třetí stádium parodontitidy (Převzato z Eickhoff 2020)	26
Obrázek 10 Sondáž dásňového žlábků (<i>sulcus gingivalis</i>) periodontální sondou (Převzato z Perrone 2021)	27
Obrázek 11 Rozdílné zakřivení a ostrost hrotů zubních exploračních (Převzato z Reiter & Gracis 2018)	28
Obrázek 12 Znázornění lokalizace krevikulární tekutiny (Převzato z Khurshid et al. 2017)	29
Obrázek 13 Charakteristické fialové zbarvení zasažených oblastí biofilmem (Převzato z Cunha et al. 2022)	29
Obrázek 14 Ústní bakterie vykazující červené záření vlivem porfyrinů (Převzato z Marshall-Jones et al. 2017)	30
Obrázek 15 Oboustranný zubní kartáček (Převzato z Eickhoff 2020)	31
Obrázek 16 Výsledek čištění zubního kamene za pomoci ultrazvuku, zdroj: autor BP	34
Obrázek 17 Ilustrace bakteriofágové terapie biofilmů (Převzato z Ferry 2024)	37
Obrázek 18 ÚD psa plemene maltézský psík ve věku 14 let, zdroj: autor BP	I
Obrázek 19 ÚD feny plemene maltézský psík ve věku 4 let, zdroj: autor BP	I
Obrázek 20 ÚD psa plemene kavalír king charles španěl ve věku 2 let, zdroj: autor BP	I
Obrázek 21 ÚD feny plemene německý ovčák ve věku 3 let, zdroj: autor BP	II
Obrázek 22 ÚD psa plemene německý ovčák ve věku 10 let, zdroj: autor BP	II
Obrázek 23 ÚD psa plemene stafordšířský bulteriér ve věku 3 let, zdroj: autor BP	III
Obrázek 24 ÚD feny plemene francouzský buldoček ve věku 3 let, zdroj: autor BP	III

7 Seznam použitých zkratek

AHL	N-acylový homoserin lakton
ALT	Alanin aminotransferáza
CI	Index zubního kamene
eDNA	Extracelulární DNA
EPS	Extracelulární polymerní látky
FEDIAF	Evropská federace výrobců krmiv pro domácí zvířata
GBI	Index krvácivosti dásní
GI	Gingivální index
GKT	Gingivální krevikulární tekutina
CHX	Chlórhexidin
NO	Oxid dusnatý
NP	Nanočástice
OHI	Index orálního zdraví
PhoPQ	Faktor regulující virulenci
PI	Index plaku
PIA	Intracelulární adhezin
PmrAB	Faktor rezistence vůči aminoglykosidům
PPI	Procentuální index plaku
QLF	Kvantitativní světlem indukovaná fluorescence
QS	Quorum sensing
SDF	Fluorid diamin stříbrný
SEM	Rastrovací elektronová mikroskopie
ÚD	Ústní dutina
VOHC	Výbor orálního zdraví zvířat
VSC	Koncentrace těkavých sirných sloučenin
WHO	Světová zdravotnická organizace

8 Samostatné přílohy



Obrázek 18 ÚD psa plemene maltézský psík ve věku 14 let, zdroj: autor BP



Obrázek 19 ÚD feny plemene maltézský psík ve věku 4 let, zdroj: autor BP



Obrázek 20 ÚD psa plemene kavalír king charles španěl ve věku 2 let, zdroj: autor BP



Obrázek 21 ÚD feny plemene německý ovčák ve věku 3 let, zdroj: autor BP



Obrázek 22 ÚD psa plemene německý ovčák ve věku 10 let, zdroj: autor BP



Obrázek 23 ÚD psa plemene stafordšírský bulteriér ve věku 3 let, zdroj: autor BP



Obrázek 24 ÚD feny plemene francouzský buldoček ve věku 3 let, zdroj: autor BP