

**MUNI
MED**

Vybraná laboratorní vyšetření významná pro zubního lékaře

KZL VI. 9.



Krevní obraz a základní biochemické vyšetření, vyšetření hemostázy

- Praktický zubní lékař doporučuje indikaci u podezření na některá celková onemocnění nebo před některými výkony popř. využívá výsledků získaných od PL nebo specialisty.

Hodnoty se mohou od sebe lišit nevýznamně lišit podle laboratoří, je vhodné, jsou – li referenční hodnoty uvedeny u výsledků.



Sedimentace erytrocytů

- **Sedimentace erytrocytů** je běžné laboratorní vyšetření, které udává rychlost klesání erytrocytů ve vzorku nesrážlivé krve. Podle průkopníků tohoto testu se vyšetření rovněž označuje jako Fahræus Westergren (FW).



Sedimentace erytrocytů

Erytrocyty mají tendenci vytvářet válcovité shluky (tzv. **penízkovatění erytrocytů**), které sedimentují rychleji než samostatné erytrocyty. Tvorbu shluků podporují některé bílkoviny, hlavně fibrinogen a gama-globuliny. Díky tomu se sedimentace krve zrychluje zejména při zánětech, infekčních chorobách, těhotenství apod.



Sedimentace erytrocytů

- Hodnota sedimentace krve u zdravých jedinců se pohybuje v tomto rozmezí:
 - ♂ 2–5 mm/hod
 - ♀ 3–8 mm/hod



Sedimentace erytrocytů

- Vzhledem k tomu, že se sedimentace erytrocytů urychluje s věkem, byla stanovena následující rovnice zohledňující věk vyšetřované osoby:
 - ♂ sedimentace erytrocytů (mm/hod) \leq věk / 2,
 - ♀ sedimentace erytrocytů (mm/hod) \leq (věk + 10) / 2.
- Příčinou rychlejší sedimentace erytrocytů u žen je menší počet červených krvinek a zvýšená koncentrace fibrinogenu.



C-reaktivní protein

- C-reaktivní protein (CRP) patří mezi reaktanty akutní fáze s rychlou odpovědí. Je produkován játry, jeho plazmatická koncentrace se zvyšuje již 6 hodin po vypuknutí zánětlivého procesu nebo jiném náhlém poškození tkání, maxima dosahuje za 24 - 48 hodin. Koncentrace vzrůstá až 1000 krát proti fyziologické hodnotě, je dominujícím proteinem akutní fáze.
- Stanovení CRP v plazmě se používá k prokázání přítomnosti zánětlivého procesu, k diagnostice a monitorování infekčního onemocnění, na pomoc při léčbě revmatických onemocnění a při diferenciální diagnostice gastrointestinálních symptomů.



C-reaktivní protein

- **10 - 50 mg/l** indikuje mírný zánět - lokální bakteriální infekce (např. zánět močového měchýře, zánět průdušek, absces), poškození operací nebo úrazem, infarkt myokardu, hluboká žilní trombóza, klidové stádium revmatického onemocnění, malignity, většina virových infekcí
- **do 100 mg/l** indikuje těžší onemocnění a vyšší stupeň zánětu, vyžadující nějaký zákrok
- **nad 100 mg/l** znamená těžký průběh onemocnění a obvykle indikuje přítomnost bakteriální infekce
- **Prognostická hodnota**
- Přetrvávající zvýšení hladiny CRP v plazmě indikuje neustávající zánět a obvykle znamená neúspěšnou terapii a špatnou prognózu (např. u maligních onemocnění, infekce a infarktu myokardu).

–

–



C- reaktivní protein

- **hodnota CRP** do 5 mg/l je považována za normální stav.
- **hodnota CRP** 6-30mg/l znamená virové onemocnění a doporučuje se test za 1-2 dny opakovat.
- **hodnota CRP** nad 30mg/l již značí velmi pravděpodobně bakteriální infekci.
- **hodnoty** okolo 300 mg/l a více znamenají již velmi závažnou bakteriální zánět v těle.



písmena ve zkratkách (např. AL, PL, ...)

Tab. 32: Přehled vybraných fyziologických hodnot u dospělého

Název, označení zkratkou	Fyz. rozmezí	Změna	Patol. stav
KREV*			
RBC Erythrocyty (Ery)	♂ 4,5–6,3x10 ¹² /l ♀ 4,2–5,4x10 ¹² /l	↓ ↑	anémie polycytémie, dehydratace
Hb hemoglobin	♂ 14–18 g/dl ♀ 12–16 g/dl	↓ ↑	anémie dehydratace, polycytémie
HTK, HTC, hematokrit	0,32–0,53		
WBC leukocyty (Le)	3,6–9,6.10 ⁹ /l	↓ ↑	leukopénie záněty, leukémie
Lymfocyty (Ly)	1,2–3,4.10 ⁹ /l	↓ ↑	lymfopenie virové záněty
granulocyty	1,4–6,5.10 ⁹ /l	↓ ↑	neutropenie bakteriální záněty
PLT trombocyty (trombo)	100–300.10 ⁹ /l	↓ ↑	narušení srážlivosti trombofilie
Diferenciální rozpočet:			
segmenty (Seg)	36–66 %	↓ ↑	virové záněty, leukémie bakteriální záněty
tyče	5–11 %	↑	bakteriální záněty
eozinofily	do 5 %	↑	alergie, parazitární infekce
bazofily	do 0,5 %		

Název, označení zkratkou	Fyz. rozmezí	Změna	Patol. stav
lymfocyty (Ly)	24–44 %	↓ ↑	bakteriální záněty virové záněty
Monocyty (Mo)	do 10 %	↑	EB viróza

Zdroj: Bartáková V, Houba R, Zemen J
 Rukověť zubního lékaře
 Ošetřování pacientů
 s komplikujícím zdravotním
 ČSK 2005



Tab. 32: Pokračování

Název, označení zkratkou	Fyz. rozmezí	Změna	Patol. stav
BÍLKOVINY V SÉRU***			
celková bílkovina	65–80 g/l	↓ ↑	hyperhydratace, malnutrice, únik dehydratace, myelom
albumin	32–45 g/l	↓ ↑	únik, malnutrice dehydratace
myoglobin	5–70 µg/l	↑	poranění svalů, IM
CRP C-reaktivní protein	♂ do 5,8 mg/l ♀ do 4,0 mg/l	↑	bakteriální záněty, malignity, IM
ENZYMY V SÉRU ***			
ALT alaninaminotransferáza	♂ do 0,8 µkat/l ♀ do 0,55 µkat/l	↑	onem. jater a žluč. systému, postižení svalů
AST aspartátaminotrasferáza	♂ do 0,65 µkat/l ♀ do 0,5 µkat/l	↑	onem. jater a žluč. systému, postižení svalů, akutní IM
ALP alkalická fosfatáza	♂ do 2,7 µkat/l ♀ do 2,3 µkat/l	↑	onem. jater a žluč. systému, kostí (zvýšená aktivita osteoblastů)
ACP Kyselá fosfatáza	do 80 nkat/l	↑	zvýšené odbourávání kost (osteoporóza, metastázy)
GMT gamaglutamyltranspeptidáza	♂ do 1,1 µkat/l ♀ do 0,6 µkat/l	↑	onem. jater a žluč. systému
AMS amylázy	1,25–5,0 µkat/l	↑	pankreatitida, záněty slinných žláz, renální insuficience

ACT aktivovaný koagulační čas	70–120 s	↑	při léčbě heparinem
APTT Aktivovaný parciální tromboplastinový test	25–39 s	↑	defekty faktorů V, VIII, IX, X, XI, XII
krvácivost Duke	do 5 min.	↑	poruchy funkce trombocytů
krvácivost Ivy	2–7 min.	↑	poruchy funkce trombocytů
Quick protrombinový čas	10–13 s %	↑	porucha zevního koagulačního systému (p.o. antikoagulancia)
INR (NTP) international normalized ratio	do 1,2	↑	porucha zevního koagulačního systému (p.o. antikoagulancia)
trombinový čas	do 150 % normy	↑	poruchy koncentrace a funkce fibrinogenu
faktor VIII antihemofilický f.	100 µg/l	↓	hemofilie A
PLASMA			
glykémie	3,3–6,1 mmol/l	↓ ↑	hypoglykemic. stavy, poruchy jater diabetes mel a jiné metabo poruchy



IONTY V SÉRU***			
Na sodík	133–150 mmol/l	↓	dehydratace se ztrátou iontů či hyperhydratace
		↑	- dehydratace či hyperhydratace se zadržováním iontů
K draslík	3,8–5,5 mmol/l	↓	nejčastěji porucha ledvin (diuretika)
		↑	nejčastěji renální selhání
Cl chloridy	97–108 mmol/l	↓	metabolická alkalóza (např. zvracení)
		↑	metabolická acidóza (např. průjem)
Ca vápník	2,0–2,75 mmol/l	↓	renál. insuficience, hypoparatyreóza
		↑	hyperparatyreóza, maligní tumory
Mg hořčík	0,66–0,94 mmol/l	↓	snížený příjem
		↑	renální insuficience
Fe železo	♂ 12–27 mol/l ♀ 10–24 μmol/l	↓	nedostatečný příjem, ztráty
		↑	hemolýza, hepatitidy

METABOLITY V SÉRU***			
urea (močovina)	2,0–7,5 mmol/l	↓	jaterní selhání
		↑	dehydratace, renál. selhání
kreatinin	♂ 35–110 μmol/l ♀ 35–100 μmol/l	↓	snížené množství svalové hmoty (podvýživa)
		↑	renální insuficience
bilirubin celkový	do 20 μmol/l	↑	selhávání jater, cholestáza

Zdroj: Bartáková V, Houba R, Zemen J
 Rukověť zubního lékaře
 Ošetřování pacientů
 s komplikujícím zdravotním stavem
 ČSK 2005

Výtěry a stěry

Výtěr z dutiny ústní (před výtěrem si nemocný nesmí minimálně 30 min čistit zuby, jíst, pít a kouřit)

Stěr se provádí sterilní štětičkou ve sterilním obalu, do kterého se štětička po odběru vrací a odesílá do laboratoře. Nejčastěji se stěry zasílají k mikrobiologickému a cytologickému vyšetření.

- Nejčastěji stěr na přítomnost kvasinkové infekce
- Správné transportní médium



Testy pro stanovení rizika rozvoje zubního kazu a onemocnění parodontu

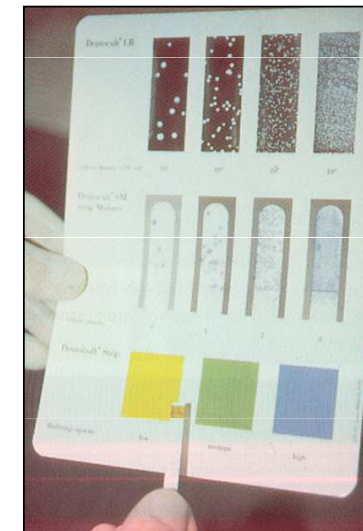
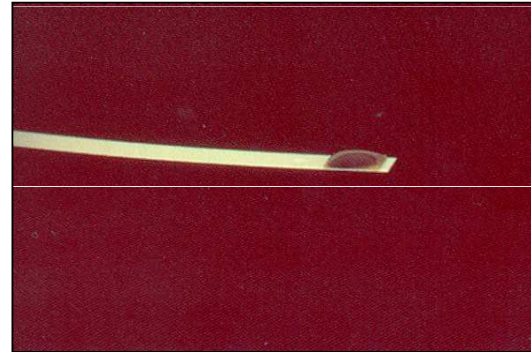
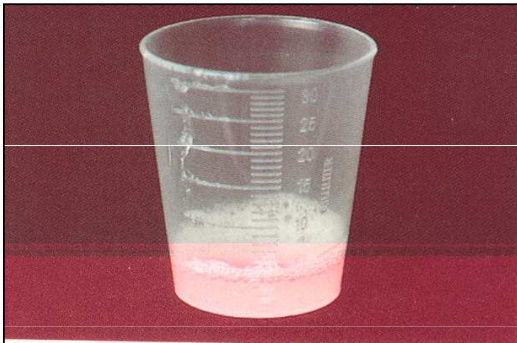
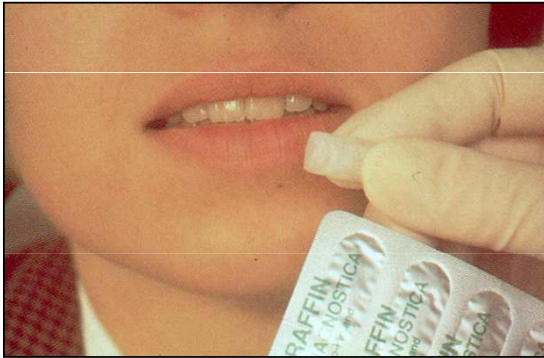
Testy pro stanovení orálních mikrobů

- Determinace vybraných mikroorganismů osidlujících dutinu ústní je založena na několika základních principech, a to na kultivaci bakterií na selektivních médiích, na imunochromatografické detekci antigenu nebo na PCR.

Stanovení kariogenních mikrobů

- Test založený na kultivaci mikrobů (CRT® bacteria Refill 6 - Ivoclar Vivadent) – 2 dny. *S. mutans* a *Lactobacillus* sp.
- Imunochromatografický test (Saliva-Check Mutans -GC Europe), v *S. mutans* – 15 min

Mikrobiologie sliny – CRT a pufrovací kapacity sliny



Stanovení parodontálních bakterií a vícero kariogenních mikrobů

- PCR test (Protean, GenTrend - ČR, aj.)
- Vysoká variabilita genomů
- Správný způsob odběru

Sterilní papírové čepy, sterilní nádobky. Z jednoho odběru lze stanovit i genetickou dispozici parodontitidy.

Výsledky určují i vhodnou atb terapii.



PCR - kariogenní mikroby

- S- mutans a s. sobrinus
- VariOr caries

Stěr u dospělého a dítěte (do 7 let)

U těhotných žen

Ráno před čištěním zubů odběr spec. tyčinkami.



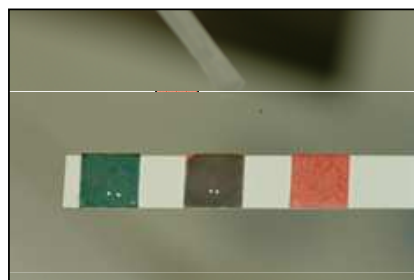
Vyšetření sliny

- Slina: kvantitativní vyšetření Škachovou zkouškou (klidová a stimulovaná slina) Škachův test měří produkci slin za 15 minut, nejprve bez stimulace, poté pacient žvýká 15 minut parafínovou žvýkačku a opět se měří objem vyprodukovaných slin. Hodnotí se součet. Normální hodnota je 8 – 10 ml – 45 ml / 30 min.
- Kvalitativní vyšetření: pH sliny, pufrovací kapacita sliny, rychlost toku, viskozitu a konzistenci nestimulovaných slin, pH pacientovy klidové i stimulované sliny a její množství.

Např. Saliva-Check Buffer, GC Europe

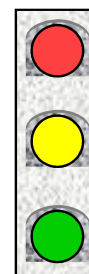
Test pufrovací kapacity sliny - příklad

*Test
pufrovací
kapacity
(kvalita
sliny)*



















zelená= 4 body
zelená/modrá= 3
body
modrá = 2 body
Modrá /červená=
1 point
červená = 0
bodů

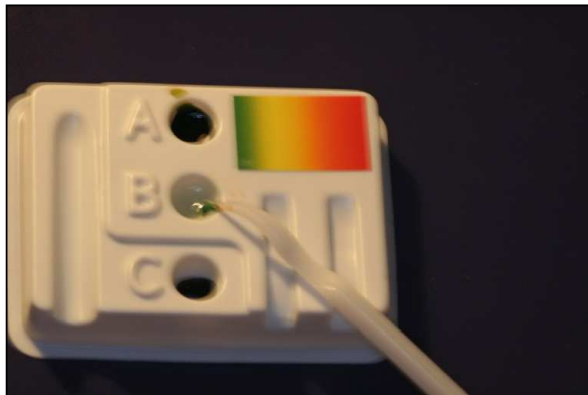
Dohromady bodů	Pufrovací schopnost
0-5	nízká
6-9	střední
10-12	Normální/ vysoká



Protokol vyšetření sliny –příklad setu k vyšetření

Saliva Test Results			 <small>FIRST IS QUALITY</small>	
Name of patient:		File reference:	Date of Test:	
Resting saliva			Stimulated saliva	
Step 1 Hydration	Step 2 Viscosity	Step 3 pH	Step 4 Quantity	Step 5 Buffering
> 60 secs <input type="checkbox"/> 	sticky frothy <input type="checkbox"/> 	5.0-5.8 <input type="checkbox"/> 	< 3.5 ml <input type="checkbox"/> 	0-5 points <input type="checkbox"/> 
30-60 secs <input type="checkbox"/> 	frothy bubbly <input type="checkbox"/> 	6.0-6.6 <input type="checkbox"/> 	3.5 ml- 5.0 ml <input type="checkbox"/> 	6-9 points <input type="checkbox"/> 
< 30 secs <input type="checkbox"/> 	waterly clear <input type="checkbox"/> 	6.8-7.8 <input type="checkbox"/> 	> 5.0 ml <input type="checkbox"/> 	10-12 points <input type="checkbox"/> 

Detekce kariogenicity plaku – motivační význam



5 minut

Odečtení podle barevné stupnice

Motivace pacienta

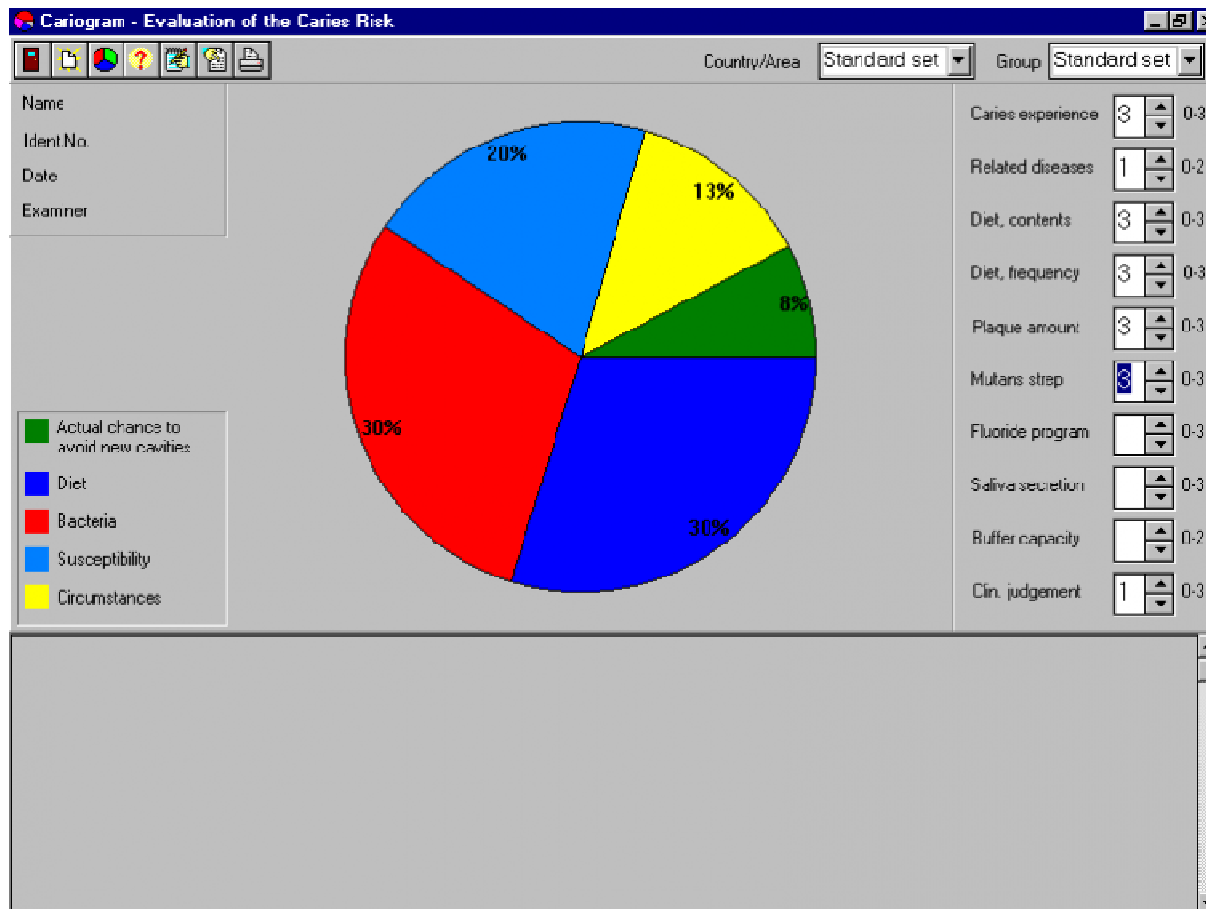


Kariogram



- Grafické znázornění rizika nových kazů pomocí PC programu
- Po vložení dat do programu- program vyjádří „**míru rizika vzniku kazu**“(v %)- **ZELENÝ DIAGRAM** (čím větší výseč, tím je snížena míra kazivosti)
- **TMAVĚ MODROU** výsečí jsou vyjádřeny dietní zvyklosti
- **ČERVENÁ** znázorňuje riziko bakterií
- **ŽLUTÁ** ukazuje další okolní vlivy
- **SVĚTLE MODRÁ** naznačuje podezřelé faktory

Kariogram



Kariogram - zadávané faktory

- **Výskyt kazů-** KPE- zaznamenáváme nynější kazy, výplně, chybějící zuby, nové aktivní léze mohou znamenat vysoké riziko, i když počet stávajících výplní je nízké
- **Onemocnění-** medikace, onemocnění, která mohou ovlivnit tvorbu kazu(diabetes,...)
- **Výživová anamnéza-** zjišťujeme kariogenitu potravin, příjem skrytého a přímého cukru, zaznamenáváme výslednou hodnotu z LB testu- vysoká hodnota LB- více než 500 000LB v 1 ml sliny- vysoké riziko kazu, častý příjem cukru
- **Častost příjmu potravy** – 24 hod / 3 dny sledování- počet a častost jídel/den, výživový protokol
- **Množství plaku-** plak index PI, QHI
- **Streptococcus mutans** – zadáváme hodnotu testu- počet SM v 1 ml sliny- test Dentocult
- **Fluoridace-** užívání F prostředků, častost
- **Slinná sekrece-** test stimulované sliny ml/min
- **Pufrovací kapacita sliny** – Dentobuff test

Komerční testy pro stanovení vrozené náchylnosti k onemocněním dutiny ústní

- Dědičný předpoklad k parodontitidě - na základě analýzy genových polymorfismů.
- Čep ze sulku nebo stěr z bukální sliznice.

Polymerázová řetězová reakce PCR

Polymerázová řetězová reakce (PCR, z anglického Polymerase Chain Reaction) je metoda rychlého zmnožení (amplifikace) vybraného úseku DNA.

Množený (amplifikovaný) úsek DNA je ohraničen tzv. primery (oligonukleotidy), což jsou fragmenty DNA o 20 – 25 nukleotidech, které si díky své komplementaritě přisedají právě ke koncům vybraného úseku. Od přisedlých primerů probíhá syntéza DNA.

Samotnou syntézu provádí termostabilní [DNA polymeráza](#),

- Při PCR je využíváno podobného principu, na jakém dochází k syntéze DNA během replikace DNA v buňce:
 - DNA polymeráza přisedá k jednořetězovému (templátovému) úseku DNA.
 - Podle templátového úseku DNA polymeráza syntetizuje druhý, komplementární řetězec.

Denaturace – dvouřetězcová (dvouvláknová) molekula - dochází k rozrušení vodíkových můstků v dvouřetězcové molekule DNA a k rozvolnění této dvoušroubovice. Vznikají tak dvě jednořetězcové (jednovláknové) molekuly DNA, na které mohou v dalším kroku nasednout primery.

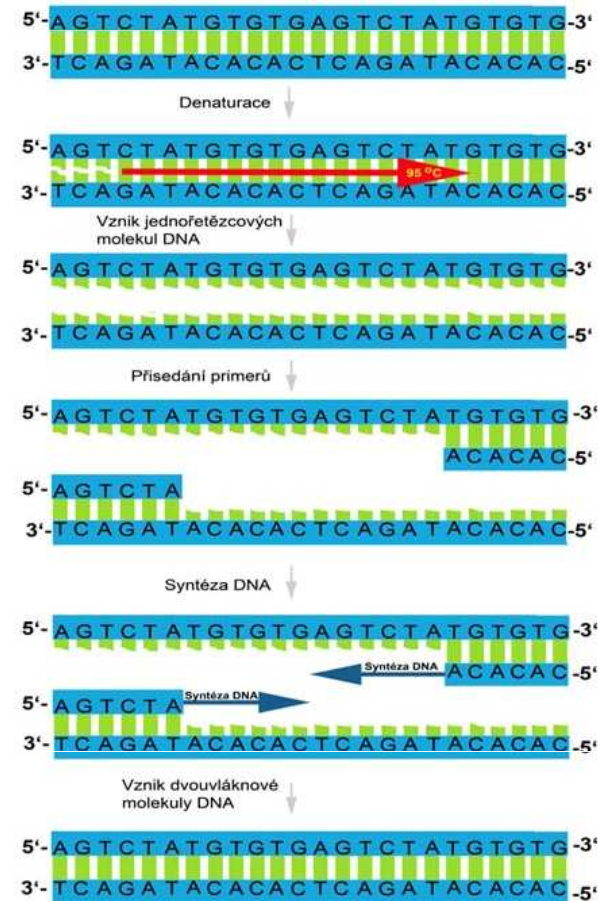
Nasednutí primerů místa DNA.

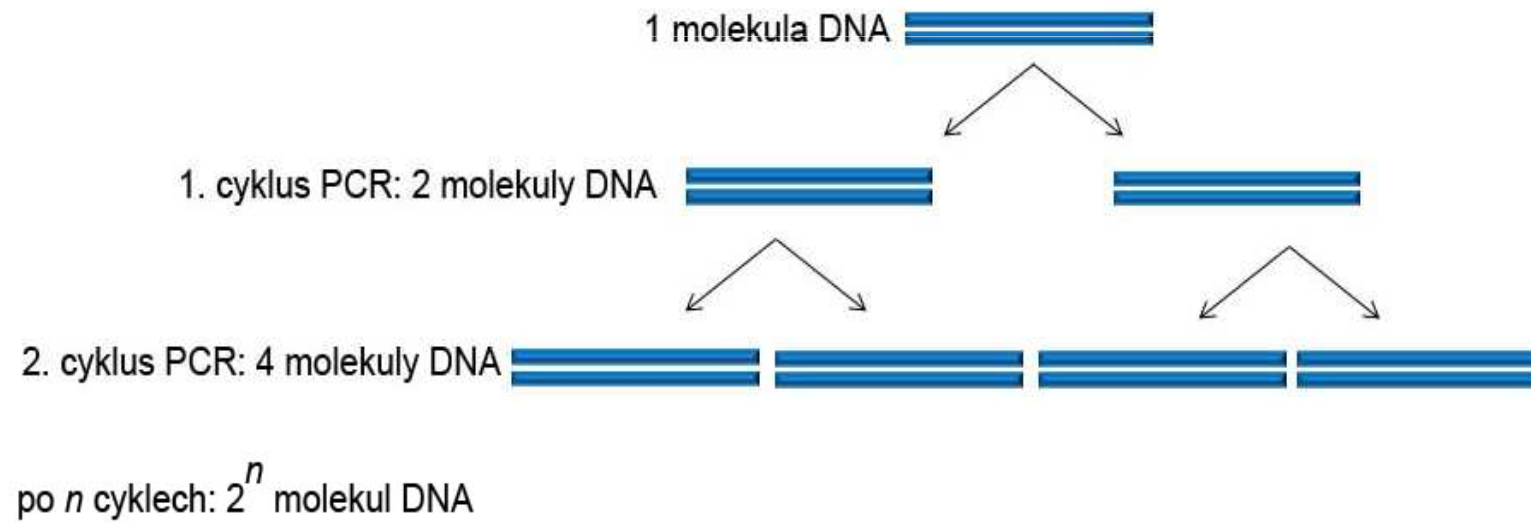
Na dvouvláknové úseky DNA/primer se váže DNA polymeráza.

Syntéza DNA - přirůstá vlákno DNA komplementární k původní molekule DNA.

Tyto kroky se cyklicky opakují. Pro dostatečnou amplifikaci původní molekuly DNA obvykle postačuje 30 cyklů.

Pro dané reakce je třeba určitých teplot.





Další postup po amplifikaci

- Kontrola reakce na elektroforéze (ELFO), případně purifikace reakčního produktu a sekvenování
- **Sekvenování DNA** je souhrnný termín pro biochemické metody, jimiž se zjišťuje pořadí nukleotidů v DNA.

Význam PCR

PCR slouží k namnožení materiálu pro další biotechnologické metody, jako je: sekvenování DNA, analýza genů, DNA fingerprinting, diagnostika infekčních nemocí, zjišťování genetických nemocí, identifikace osob.

**MUNI
MED**

Děkuji za pozornost!

