

# SENSORVEILEDNING

<b>Emnekode:</b>	<b>IRBIO20011</b>
<b>Emnenavn:</b>	<b>Medisinske laboratorieemner 1</b>
<b>Eksamensform:</b>	<b>Skriftlig hjemmeeksamen</b>
<b>Dato:</b>	<b>19.03.2021</b>
<b>Faglærer(e):</b>	<b>Ida Aagård</b> <b>Maria Dung Cao</b>
<b>Eventuelt:</b>	Noen oppgaver er selvrettende i Inspira og derfor ingen sensorveiledning til disse.



## **MLE1 V21 Oppgave 2 sensorveiledning:**

Forklar hvordan komplement systemet aktiveres, hvilke mekanismer som er involvert, hvilke komponenter som deltar og hva sluttproduktet, og resultatet av det, blir ved full aktivering? (8 poeng)

*Komplementsystemet er en del av det medfødte immunsystemet, og er en gruppe inaktive proteiner, mange av dem enzymer (proteaser), i blod og vev. Ved en infeksjon vil noen av proteinene aktiveres og spalte og aktivere andre komplement proteiner i en nøye regulert rekkefølge.*

*Systemet kan aktiveres på tre ulike måter som alle setter i gang en kaskade av spaltningprodukt og alle ender på samme måte;*

*1: den klassiske aktiveringsveien (C1 – C9) – hvor mikrober dekket av antistoff enten av IgM eller IgG klasse som binder første proteinet i kaskaden, ett av proteinene i C1 komplekset (C1q), som så aktiverer neste protein (C1r), som igjen aktiverer C1q, som så spalter C4 og C2 og disse spaltningproduktene driver resten av kaskaden mot dannelsen av et membran attack complex (MAC) (C5b – C9). Dette komplekset danner sylindere som lager hull i fosfolipidmembranen til mikroben hvor ioner strømmer ut og vann strømmer inn – mikroben lyses og dør.*

*2: den alternative aktiveringsveien – hvor C3b binder til overflaten av en mikrobe og setter i gang kaskaden derfra. Endeproduktet er også her MAC som lyses mikroben.*

*3: lektinveien – hvor mannose – bindende lektin (MBL) binder til suktermolekyler på f.eks bakterier og aktiverer proteaser som i sin tur spalter C4 og C2 og tilslutt følger samme rute som den klassiske aktiveringsveien og sluttproduktet er det samme MAC komplekset og lysing av mikroben.*

## **MLE1 V21 Oppgave 3 sensorveiledning:**

Fyll inn de riktige utsagnene ved å dra og slippe boksene nedenfor: (12 poeng)

**A2 strukturer**

**A3 er felles for ulike mikrober**

A4 stamceller

A6 erytrocytter

**A8 nøytrofile granulocytter**

**A9 mastceller**

A10 restriksjon

*A11 eosinofile granulocytter*

*A12 basofile granulocytter*

A13 cytokiner

A14 rearrangering

A15 rekombinasjon

**A16 monocytter/makrofager**

**A17 NK celler**

**A18 humoral**

**A19 cellemediert immunitet**

**A20 spesialisert**

**A21 B lymfocytter**

**A22 T lymfocytter**

**A23 dendrittiske celler**

**A24 antigenpresenterende celler**

**A25 B lymfocytter**

**A26 CD4+ T lymfocytter**

**A27 CD8+ T lymfocytter**

**A28 Antigener**  
**A29 T lymfocytene**  
**A30 HLA**  
 A31 spesifisitet  
 A32 mangfold  
**A33 benmargen**  
**A34 benmarg**  
**A35 thymus**  
**A36 lymfeknutene**  
 A37 milten  
 A38 leveren  
 A39 toleranse  
**A40 mange, spesielle reseptorer**  
 A41 huden  
 A42 tarmen

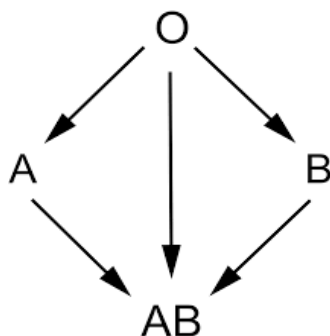
Det medfødte immunsystemet bekjemper mikrober med en gang infeksjonen finner sted og instruerer det adaptive immunsystemet i hvordan responsen mot ulike mikrober skal være for effektiv bekjempelse. Det medfødte immunsystemet gjenkjenner et begrenset utvalg av **A2 strukturer** som **A3 er felles for ulike mikrober** og som gjenkjennes av **A40 mange, spesielle reseptorer**. Cellene i det medfødte immunsystemet inkluderer **A8 nøytrofile granulocytter, A9 mastceller, A16 monocytter/makrofager og A17 NK celler**. Det adaptive immunsystemet består av to deler: **A18 humoral og A19 cellemediert immunitet**, og er mer **A20 spesialisert** enn det medfødte immunsystem. Celletypene i det adaptive immunsystem inkluderer **A21 B lymfocytter og A22 T lymfocytter**, i tillegg til **A23 dendritiske celler** som er en type såkalte **A24 antigenpresenterende celler**. **A25 B lymfocytter** produseres og modnes i **A33 benmargen** og produserer antistoffer med hjelp fra **A26 CD4+ T lymfocytter**, mens **A27 CD8+ T lymfocytter** kan drepe virusinfiserte celler direkte. **A28 Antigener** fra mikrober må presenteres for **A29 T lymfocytene** sammen med **A30 HLA** for at en immunrespons skal kunne settes i gang. T lymfocytter produseres i **A34 benmarg** og modnes i **A35 thymus**. Antigenpresentasjon foregår for det meste i **A36 lymfeknutene**.

***OBS: Denne oppgaven er gjennomgått manuelt hos alle kandidatene og det er korrigert for/gitt poeng for riktig svar som har havnet i «feil» rekkefølge, slik at systemet har vurdert det til å være galt svar, og for andre celletyper som også regnes som en del av det medfødte immunsystemet – som f.eks basofile og eosinofile granulocytter.***

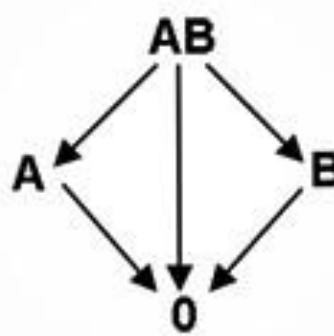
### MLE1 V21 Oppgave 6 sensorveiledning:

Forklar disse figurene, gjør rede for grunnen til at det er sann og hvorfor dette er elementært i transfusjonsmedisinen: (12 poeng)

A)



B)



A) Erytrocytter av blodtype 0 kan gis til alle mottakere, uansett blodtype. Erytrocytter av blodtype A kan gis til mottakere med blodtype A og AB. Erytrocytter av blodtype B kan gis til mottakere med blodtype B og AB. Erytrocytter av blodtype AB kan bare gis til mottakere med blodtype AB.

B) Plasma av blodtype AB kan gis til alle mottakere, uansett blodtype. Plasma av blodtype A kan gis til mottakere med blodtype A og 0. Plasma av blodtype B kan gis til mottakere med blodtype B og 0. Plasma av blodtype 0 kan bare gis til mottakere med blodtype 0.

Forklaringen er at erytrocytter av blodtype 0 ikke har noen blodtypeantigener (hverken A eller B) i sin cellemembran, men i plasma er det blodtypeantistoffer mot begge antigener (Landsteiners lov; alle har naturlig forekommende blodtypeantistoffer – anti-A og anti-B – mot blodtypeantigener de selv ikke har). Røde blodlegemer av type 0 (uten antigenene A og B) kan derfor gis til alle andre blodtyper uansett hvilke blodtypeantistoffer (anti-A eller anti-B) mottaker måtte ha i sitt plasma, uten at det er fare for transfusjonsreaksjoner, siden det ikke vil være noen antigener disse antistoffene kan binde seg til. Personer med blodtype A har A antigener i cellemembranen til erytrocyttene og antistoffer mot B antigener i sitt plasma og kan derfor kun gi blod til mottakere med blodtype A eller AB, siden disse mangler anti-A i sitt plasma. Tilsvarende har personer med blodtype B, B antigener i cellemembranen til sine erytrocytter og antistoffer mot A antigener i sitt plasma, og kan gi blod kun til mottakere med blodtype B eller AB. Personer med blodtype AB har begge blodtypeantigenene i erytrocyttenes cellemembran og ingen antistoffer i sitt plasma og kan kun gi blod til samme blodtype (AB). For plasma er det motsatt siden man her må ta hensyn til hvilke antistoffer som befinner seg i plasmaet i forhold til hvilke antigener mottaker har på sine røde blodlegemer. Man kan ikke gi plasma som inneholder antistoffer mot et antigen som mottaker har. Hvis man gir blod eller plasma til mottakere uten å følge disse retningslinjene, vil antistoffer mot blodtypeantigenene A og B binde seg til erytrocyttene med tilsvarende antigener og hemolysere dem. Det gir en hemolytisk transfusjonsreaksjon som i verste fall kan være dødelig.

### **MLE1 V21 Oppgave 7 sensorveiledning:**

Beskriv pretransfusjonsundersøkelsene som gjøres hos blodbanken når det er bestilt erytrocyttkonsentrater til en pasient, forklar hva som undersøkes, forklar metodeprinsippene og forklar hva som må gjøres om pasienten har irregulære antistoffer. (10 poeng)

*Blodprøve må tas av pasienten av to ulike prøvetakere, til to ulike tidspunkt og typingen av disse to prøvene må være identiske. Resultatene av undersøkelsene av disse prøvene er gyldig i 4 dager, etter det må nye prøver tas.*

*Blodbanken gjør da aller først en "Type&Screen". Type innebærer AB0 og Rh(D) typing av blodet til pasienten. AB0 typing foregår ved at man blander erytrocyttene (5% erytrocytt suspensjon er vanlig) til pasienten med kjente A og B antistoffer (forward) og ser etter agglutinasjoner. Som kontroll tester man også plasmaet til pasienten mot testceller (5% celled suspensjon er vanlig) med kjente A og B antigener (revers kontroll) og registrerer agglutinasjoner. Da skal det fremtre to positive og to negative agglutinasjonsreaksjoner som vil vise hvilken AB0 type pasienten har. I tillegg testes erytrocyttene til pasienten mot antistoffer mot Rh(D) antigenet (anti-D) for å bestemme Rh type (+ eller –) med evt agglutinasjon. Til AB0 typing brukes det ofte gelkort med antistoffene anti-A og anti-B i gelen (forward) i tillegg til brønner uten tilsetning til revers kontroll, samt en brønn tilsatt anti-D for Rh typing. Manuelt kan glasssteknikk brukes, hvor man blander dette i glassrør, eller på*

*bioplate, hvor dråper med pasientens erythrocytter blandes med dråper med antistoff i to kamre og testceller blandes med pasientens plasma i to andre kamre.*

*Screen innebærer at plasmaet til pasienten screenes for irregulære blodtypeantistoffer av IgG type (ikke de naturlig forekommende IgM anti-A og anti-B) ved å bruke et panel med 3 testceller med kjent sammensetning av blodtypeantigener. Metoden er en indirekte antiglobulinteknikk (IAT) hvor plasmaet til pasienten blandes med testcellene og en evt antistoff/antigen binding synliggjøres ved tilsetning av Coombs reagens (et anti humant globulinreagens (AHG) - et nytt antistoff som binder Fc delen til andre antistoff). Denne metoden utføres i gelkort med tilsatt Coombs reagens i gelen. Autokontroll tas også med her for å utelukke autoantistoffer, da testes pasientens plasma mot egne erythrocytter. En evt agglutinasjon i brønnene i gelkortet vil her vise tilstedeværelsen av irregulære antistoffer og ved en slik positiv screening har man da detektert irregulære antistoffer som så må identifiseres. Identifiseringen gjøres med et utvidet panel med 11 testceller som inneholder de vanligste blodtypeantigenene og samme teknikk som ved screeningen (IAT). Alle testceller som brukes til dette er av blodtype 0 og har kjent sammensetning av blodtypeantigener i membranen. Et antigram må brukes for å utelukke antistoffer i forhold til der hvor det ikke har forekommet en agglutinasjonsreaksjon. Noen antigener kan være skjult av andre antigener og dermed utilgjengelige for antistoffene. Da må enzymteknikk brukes for å klippe bort de antigenene som blokkerer, slik at antistoffene kan finne og binde seg til sine respektive antigener. Alle positive reaksjoner må kunne forklares, slik at alle irregulære antistoffer blir identifisert. Når irregulære antistoff i pasientens plasma er identifisert, kan man finne donorblod uten de tilsvarende antigenene, slik at transfusjonsreaksjoner unngås.*

*Enkelt forlik gjøres elektronisk hos de store blodbankene og innebærer at det sjekkes at blodet fra potensielle donorer er ABO forlikelig med pasientens plasma. Manuelt gjøres det ved å blande pasientens plasma med donors røde blodlegemer og se etter agglutinasjoner. Her er det IgM antistoffer man ser etter og man kan også detektere naturlig forekommende anti-M (som er av IgM type) med denne kontrollen. Hvis enkelt forlik blir positiv, kan man ikke bruke blodet fra den donoren til den pasienten. Ved negativt enkelt forlik kan blodet brukes forutsatt at screening også er negativ.*

*Ved enhver positiv screening (også ved tidligere undersøkelser) blir det i tillegg utført utvidet forlik, hvor man kontrollerer at alle irregulære antistoffer i pasientens plasma er identifisert og at det ikke er noen andre antistoffer av IgG type som forårsaker agglutinasjon av donors erythrocytter. Da tester man erythrocytter fra donor hvor blodtypeantigenene pasienten har irregulære antistoffer mot er fraværende, mot pasientens plasma. Utvidet forlik gjøres kun ved positiv screening, uavhengig av enkelt forlik.*

*(I akutte situasjoner vil det ikke være tid til å utføre noen av disse pretransfusjonsundersøkelsene og det vil bli gitt akuttblod av type 0, Rh(D) – (også Kell negativt til damer i fertil alder), inntil pasientens blodtype er konstatert og man kan gå over til å gi typelikt blod.)*

### **MLE1 V21 Oppgave 8 sensorveiledning:**

Forklar forskjellen på metodene IAT og DAT, hvilke undersøkelser de brukes til og ved hvilke tilstander det er aktuelt å bruke dem. (4 poeng)

*IAT er en indirekte antiglobulinteknikk, hvor erythrocytter først inkuberes med plasma som potensielt inneholder antistoffer som kan binde seg til sine tilsvarende antigener på erythrocyttene. Så tilsettes humane antiglobuliner (AHG - Coombs reagens) som binder Fc*

*delen til de erytrocyttbundne antistoffene. Denne bindingen gir agglutinasjon og positiv IAT. Hvis ingen antistoffer fra plasmaet har bundet seg til erytrocyttene, er IAT negativ. Kontroll på metoden ved negativ IAT, er tilsetning av sensibiliserte erytrocytter (erytrocytter med antistoffer i membranen) og agglutinasjon vil da skje. IAT brukes både ved screening og identifisering av irregulære antistoffer, samt ved utvidet forlik og antistofftitrering.*

*DAT er en direkte antiglobulinteknikk, hvor humant antiglobulin tilsettes erytrocytter direkte, uten at erytrocyttene har vært inkubert med plasma først som ved IAT, for å sjekke om de allerede har antistoffer bundet til seg. Binding av antistoffer kan ha forekommet in vivo (i kroppen) og det er det man ser etter med DAT. Denne teknikken brukes til deteksjon av autoantistoffer, ved transfusjonsreaksjoner og ved mistanke om dannelse av irregulære blodtypeantistoffer hos gravide mot erytrocyttantigener hos foster eller nyfødt – hvor babyens blodlegemer da testes.*

### **MLE1\_V21 Oppgave 13 sensorveiledning:**

Du analyserer en patologisk kontroll på koagulasjonsinstrumentet Start Max, instrumentet gir følgende svar:

**Parallell 1: INR på 1,1**

**Parallell 2: INR på 2,3**

1. Hva er grensen på toleranse i prosent (%) mellom parallellene på Start Max? Hvilket av de to resultatene tror du er riktig? Begrunn svaret.

*Løsning (1,5 poeng):*

*Avviket mellom parallellene skal være mindre enn 5% i toleranse (dvs. 5% fra gjennomsnittet). Studentene har ikke blitt spurt om å beregne eller oppgi formelen.*

*Studentene har lært at INR har en normal referanse på ca. 1,0 og terapeutisk område på 2,0-3,0. Siden det ble brukt en patologisk kontroll så er det større sannsynlighet for at svaret på 2,3 i INR er riktig, men avviket er for stor til å kunne stole på resultatene.*

2. Nevn tre (3) feilkilder som kan føre til de resultatene over.

*Løsning (2 poeng):*

*Her kan studentene nevne mange ulike feilkilder. Det skal gis poeng hvis feilkildene er riktige selv om de ikke er nevnt her. Eksempler:*

- *Feil fortynning hvis kontrollen er fortynnet i hvert sitt rør*
- *Ikke tilsatt nok reagenser eller tilsatt for mye reagenser i den ene prøven*
- *Glemte å prime pipetten*
- *Feil blanding*
- *Tilsatt flere stålkuler*
- *Etc.*

3. Hva bør du gjøre før du kan analysere pasientprøver?

*Løsning (1,5 poeng):*

*Siden toleransen er > 5% så må kontrollen analyseres på nytt (begge parallellene). For å kunne analysere pasientprøver må toleransen mellom parallellene være < 5%, i tillegg så må kontrollverdien (gjennomsnittet av parallellene) være innenfor øvre og nedre kontrollgrenser.*

### **MLE1 V21 Oppgave 15 sensorveiledning:**

1. Gi en kort tolking av prøvesvarene og blodutstryket.

*Løsning (2 poeng):*

*Høy CRP og økt WBC er forbundet med infeksjonen. RBC er innenfor referanseområdet. Lav Hb under referanseområdet kan tyde på anemi. Lave verdier på MCV og MCH kan tyde på mikrocytose (unormalt små erythrocytter) og hypokrom (lav metning/lav mengde hemoglobin).*

*Blodutstryket viser anisocytose (ulike størrelse på erythrocyttene) og target celler. Noen celler ser ut til å være mikrocytære og hypokrom.*

2. Se bort ifra infeksjonen. Hvilke typer sykdom kan prøvesvarene og blodutstryket tyde på?

*Løsning (1 poeng):*

*Både jernmangel anemi og thalassemi kjennetegnes ved lav Hb, mikrocytose, hypokrom og anisocytose. Tilstedeværelse av target celler er også vanlig ved begge sykdommene.*

3. Hvilke analyser bør legen bestille for å utrede sykdommen(e)? Begrunn svaret.

*Løsning (3 poeng):*

*a) For utredning av thalassemi kan legen bestille genanalyse (mutasjonsanalyse). Thalassemi skyldes mutasjon i en eller flere globingener.*

*b) For utredning av jernmangel anemi kan det tas følgende prøver:*

- S-ferritin (jernlager) er lav ved jernmangel, men normal ferritin utelukker ikke jernmangel fordi økt ferritin kan skyldes en aktiv prosess i forbindelse med f.eks. en infeksjon.*
- S-transferrinreseptor kan være høy med jernmangel.*
- S-jern (Fe) og S-transferrin kan også måles, men disse analyttene kan ha betydelige intra- og interindividuelle variasjoner og påvirkes av andre preanalytiske variabler.*
- Jernfarging av benmargen kan også utføres, men det er sjelden nødvendig.*

4. Bør legen vente med å bestille nye blodprøver? Begrunn svaret.

*Løsning (2 poeng):*

*Siden pasienten har en pågående infeksjon og CRP er høy så bør legen vente med å bestille ferritin. Ferritin kan øke ved en aktiv prosess og gi feil tolkning av kroppens jernlager derfor bør den bestilles når infeksjonen er over. Hvis Ferritin skal bestilles med det samme, så bør også retikulocyt-Hb bestilles i tillegg. Ved høy CRP og lav retikulocyt-Hb er det tegn på jernmangel med en aktiv prosess. Genanalyse vil ikke være påvirket av infeksjonen og kan derfor bestilles med det samme.*

## MLE1 V21 Oppgave 17 sensorveiledning:

1. Tolk spredningsdiagrammene WBC Differensial, Mono Poly I, Low-Hi FL sammen med flaggemeldingene og aktuelle prøvesvar som er utenfor referanseområder (gjelder leukocytter og erytrocytter). Kan det gis ut svar på 5-diff?

Løsning (6 poeng):

- 5-diff viser total økt antall leukocytter som skyldes forhøyet antall lymfocytter og monocytter. WBC differensial spredningsdiagrammet viser forhøyet antall lymfocytter og monocytter. Det er en overlapp mellom lymfocytter og monocytter, instrumentet klarer ikke å skille mellom de to populasjonene. Disse cellene er lite komplekse, viser til lave verdier på 7° vinkelen (x-akse) og varierer mye i størrelse, stor spredning på 0° vinkelen (y-akse).
- Antall og % andel av lymfocytter og monocytter er markert med stjerne «\*», dvs. at disse er mistenkelige parameter som kan skyldes preanalytisk variabler, analytisk variabler eller patologisk funn. Parametere med stjerne skal ikke gis ut.
- Sammenlignet med en normal prøve så er antall nøytrofiler lav og de vises nesten ikke i spredningsdiagrammet. Nøytrofiler er markert med "s" = suspekt, som viser til at det er noe suspekt og unormal med denne populasjonen. IG meldingen viser til umodne nøytrofiler granulocytter.
- Mono Poly I spredningsdiagrammet viser at det er vanskelig å skille mellom lymfocytter og monocytter. Cellene varierer mye i størrelse, stor spredning på 0° vinkelen (x-akse) og lite lobularitet, 90° vinkelen (y-akse). BLAST melding betyr tilstedeværelse av store mononukleære celler som havner i monocyttopopulasjonen og VARLYM betyr atypiske lymfocytter. Begge disse flaggemeldingene har en høy indeks på 0,90 som betyr at det er stor sannsynlighet for en patologisk populasjon.
- Flagget nvWBC (non viable white blood cells) indikerer at mindre enn 90% av leukocytene er levedyktige. WVF (White Viable fraction) på 0.560 betyr at prøven inneholder en stor andel av døde leukocytter. Dette vises i Low-Hi FL spredningsdiagrammet hvor cellene til høyre av diagrammet har tatt til seg FL3 fluorescens. Disse er døde leukocytter eller patologiske celler.
- Pasienten har leukocytose (total økt antall leukocytter), men basert på disse funnene er det stor sannsynlighet for at prøven inneholder patologiske celler som blastceller og atypiske lymfocytter. Disse cellene kan forstyrre differensialtellingen og gi feil svar, derfor kan vi ikke gi ut svar på differensialtellingen, men vi kan gi ut svar på totalt antall leukocytter. Pasienten har også lavt antall erytrocytter, lav Hb og hematokritt (HCT).

2. Hvorfor kan vi ikke gi ut svar på antall trombocytter? Gi forslag til hvilken metode som kan brukes for å telle antall trombocytter?

Løsning (2 poeng):

Optisk måling av trombocytter er veldig lav ( $PLT_o = 4,89 \times 10^9/L$ ). Det er en del fragmenter (mulig cellerester fra døde celler) som forstyrrer målingen (svarte prikker). Impedanskurven er unormalt lav og det er ikke utgitt verdi på  $PLT_i$ . Ved slike tilfeller bør antall trombocytter



*telles ved bruk av en immunologisk metode basert på at spesifikke antistoffer reagerer med CD61 antigener på trombocytene.*

3. Beskriv blodutstryket.

*Løsning (2 poeng):*

*Blodutstryket viser tilstedeværelse av blastceller som normalt ikke skal være tilstede i blodet. Blastceller er umodne dysfunksjonelle celler. Blastceller kjennetegnes ved at de ofte er større enn modne celler og inneholde en stor kjerne og lite cytoplasma. Kjernen kan inneholde nukleoler (kjernelegeme) som på bildet.*

4. Gi forslag til diagnose basert på funnene. Nevn kort hvilke tilleggsanalyser som bør utføres for å bekrefte diagnosen?

*Løsning (2 poeng):*

*Basert på prøveresultatene og blodutstryket så tyder dette på en akutt leukemi med stor andel av blastceller i blodet. Erytrocyttene er også blitt påvirket. For å klassifisere om det er akutt myelogen eller akutt lymfatisk leukemi må det utføres tilleggsanalyser som f.eks.:*

- *Benmargsutstryk og benmargaspirasjon*
- *Cytogenetikk (kromosomundersøkelse under mikroskop)*
- *Immuncytokjemi (påvisning av spesifikke antigener)*
- *Flowcytometrisk immunfenotyping (markørundersøkelse)*
- *Genetisk analyse (eks. mutasjonsundersøkelse)*